

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202091135 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2020.10.14(51) Int. Cl. A61K 47/68 (2017.01)  
A61K 47/54 (2017.01)(22) Дата подачи заявки  
2018.11.06

## (54) ГИДРОФИЛЬНЫЕ ЛИНКЕРЫ ДЛЯ КОНЬЮГАТОВ АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО

(31) 15/806,197; PCT/US2017/060434;  
62/669,034(71) Заявитель:  
РЕГЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,  
ИНК. (US)

(32) 2017.11.07; 2017.11.07; 2018.05.09

(33) US

(72) Изобретатель:  
Хан Эми (US)

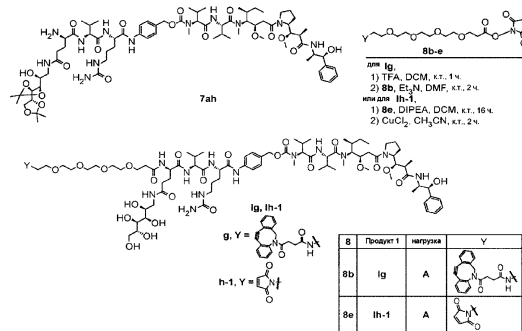
(86) PCT/US2018/059495

(87) WO 2019/094395 2019.05.16

(88) 2019.08.22

(74) Представитель:  
Безрукова О.М. (RU)

(57) В настоящей заявке описаны конъюгаты белок-лекарство и содержащие их композиции, которые могут быть использованы, например, для мишень-специфичной доставки лекарственных средств в клетки. Благодаря введению соединений, композиций и конъюгатов, подобных описанным в данной заявке, в специфичные клетки-мишени уменьшаются побочные эффекты, обусловленные феноменом неспецифичного связывания, например, с нецелевыми клетками. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены соединения, композиции и конъюгаты, которые включают гидрофильные остатки в составе соединений линкер-полезная нагрузка и соответствующих белковых конъюгатов.



A1

202091135

202091135

A1

## **ГИДРОФИЛЬНЫЕ ЛИНКЕРЫ ДЛЯ КОНЪЮГАТОВ АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО**

[01] В данной международной заявке в соответствии с РСТ испрашивается приоритет согласно предварительной заявке на патент США №62/669,034, зарегистрированной 9 мая 2018 года, международной заявке на патент в РСТ/US17/60434 опубликованной под номером WO 2018/089373), зарегистрированной 7 ноября 2017 года, и обычной заявкой № 15/806,197 (опубликованной под номером US 2018/0155389), зарегистрированной 7 ноября 2017 года; содержание всех указанных заявок полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

### **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ**

[02] В настоящей заявке предложен новый белок, например, антитело, конъюгаты с лекарственным средством, содержащие гидрофильные солюбилизирующие группы и/или линкеры, содержащие гидрофильные солюбилизирующие группы, и способы лечения заболеваний, нарушений и состояний, заключающиеся в введении конъюгатов белок-лекарственное средство, содержащих гидрофильные солюбилизирующие группы, и/или их линкеры.

### **ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[03] Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC, КАЛС) – представляют собой антитела, конъюгированные с биологически активным низкомолекулярным соединением. КАЛС селективно доставляют сильнодействующее лекарственное средство в клетки, экспрессирующие мишень, обеспечивая потенциальное ослабление нецелевых побочных эффектов и/или токсичности и улучшенный терапевтический индекс. Липофильная природа многих полезных нагрузок (т.е. лекарств) может неблагоприятно повлиять на свойства КАЛС до такой степени, что полезные нагрузки не будут эффективно доставлены в клетки-мишени. Низкая биодоступность липофильных полезных нагрузок может привести к сужению терапевтических окон для лечения КАЛС. Более того, гидрофобная природа полезных нагрузок может затруднить конъюгацию с антителами, поскольку эта реакция осуществляется в водных условиях. Поэтому сохраняется потребность в разработке гидрофильных линкеров для белковых конъюгатов, например, КАЛС, которые сделают практически осуществимым образование конъюгатов с

липофильными полезными нагрузками, улучшенную модуляцию биологических мишеней и улучшенное терапевтическое окно.

### **КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

**[04]** В настоящей заявке представлены соединения, которые могут быть использованы, например, для лечения заболеваний, состояний и нарушений, включая, но не ограничиваясь перечисленным, заболевания обмена веществ, пролиферативные заболевания и другие заболевания и состояния.

**[05]** В одном варианте осуществления изобретения описанном в настоящем документе, представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль, включающее: имеющий белковую природу связующий агент, который соединен, по меньшей мере, с одной группой, являющейся полезной нагрузкой, и соединен, по меньшей мере, с одной гидрофильной группой через ковалентный линкер, где указанный ковалентный линкер связан прямо или опосредованно со связующим агентом, с группой полезной нагрузки и с гидрофильной группой.

**[06]** В другом варианте осуществления изобретения описанном в настоящем документе, предложено соединение, включающее: реакционноспособную группу, которая соединена, по меньшей мере, с одной группой, являющейся полезной нагрузкой, и которая соединена, по меньшей мере, с одной гидрофильной группой через ковалентный линкер, где указанный ковалентный линкер связан прямо или опосредованно с реакционноспособной группой, с группой полезной нагрузки и с гидрофильной группой.

**[07]** В другом варианте осуществления изобретения описанном в настоящем документе, предложен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий соединение описанное выше в настоящем документе, связанное с антителом или его антиген-связывающим фрагментом.

**[08]** В другом варианте осуществления изобретения описанном в настоящем документе, предложен способ лечения заболевания, состояния или нарушения у нуждающегося в таком лечении пациента, включающий введение пациенту соединения, описанного в настоящем документе. Также предложено применение описанного в настоящем документе соединения для лечения описанного в настоящем документе заболевания, состояния или нарушения. Дополнительно предложено применение описанного в настоящем документе соединения для производства лекарственного средства для лечения описанного в настоящем

документе заболевания, состояния или нарушения. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство.

[09] В другом варианте осуществления изобретения описанном в настоящем документе, предложен способ получения конъюгата антитело-лекарственное средство, включающий стадию приведения в контакт связывающего агента и соединением линкер-полезная нагрузка, описанных в настоящем документе, в условиях, подходящих для образования связи между связывающим агентом и соединением линкер-полезная нагрузка.

### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ**

[010] На Фиг. 1 показаны три типа соединений, являющихся полезной нагрузкой.

[011] На Фиг. 2 показан процесс синтеза, используемый для получения соединений 1a, 1c, 1e, 1f, 1i, 1j, 1k, 1m, 1q, 1b, 1d, 1e-1, 1f-1, 11b, 111d, 111e и 1Vb.

[012] На Фиг. 3 показан процесс синтеза, используемый для получения соединений 1h, 1l, 1g и 1h-1.

[013] На Фиг. 4 показан процесс синтеза, используемый для получения полезных нагрузок B и C.

[014] На Фиг. 5 показан процесс синтеза, используемый для получения полезной нагрузки D.

[015] На Фиг. 6 показан общий способ синтеза A для получения промежуточных продуктов 3a, 3b, 3c, и 3g.

[016] На Фиг. 7 показан общий способ синтеза для получения промежуточных продуктов 3d, и 3f.

[017] На Фиг. 8 показан способ синтеза для получения промежуточного продукта 3e.

[018] На Фиг. 9 показан способ синтеза для получения промежуточного продукта 4a.

[019] На Фиг. 10 показан способ синтеза для получения промежуточного продукта 4b.

[020] На Фиг. 11 показан способ синтеза для получения промежуточных продуктов 5a-г.



- [021] На Фиг. 11А показан способ синтеза для получения промежуточного продукта 10а.
- [022] На Фиг. 11В показан способ синтеза для получения промежуточного продукта 10b.
- [023] На Фиг. 11С показан способ синтеза для получения промежуточных продуктов 10а, 10b, 10с, и 10d.
- [024] На Фиг. 12 показан способ синтеза для получения промежуточного продукта 6с.
- [025] На Фиг. 13 показан способ синтеза для получения промежуточного продукта 6d.
- [026] На Фиг. 13А показан способ синтеза для получения промежуточного продукта 6b.
- [027] На Фиг. 13В показан способ синтеза для получения промежуточного продукта 6f
- [028] На Фиг. 14 показан общий способ синтеза Е для получения промежуточных продуктов 7а, 7с, 7е, 7f, 7i, 7k, 7m, 7q, 7ab, 7ad, 7ae, 7bb, 7cb, и 7fb.
- [029] На Фиг. 15 показан общий способ синтеза F для получения промежуточных продуктов 7h и 7l.
- [030] На Фиг. 15А показан общий способ синтеза для получения промежуточного продукта 7ah.
- [031] На Фиг. 15В показан способ синтеза для получения промежуточного продукта 8с.
- [032] На Фиг. 16 показан общий способ синтеза Г для получения соединения 1а.
- [033] На Фиг. 17 показан общий способ синтеза Н для получения соединений 1а, 1с, 1е, 1f, 1h, 1i, 1j, 1k, 1l, 1m, 1q, 1b, 1d, 1f-1, 11b, 111d, 111e, и 1Vb.
- [034] На Фиг. 18 показаны расщепляемые фрагменты для воздействия Катепсина В на соединение линкер-полезная нагрузка с высвобождением свободной полезной нагрузки.
- [035] На Фиг. 18А показан способ синтеза для получения соединений 1g и 1h-1.

[036] На Фиг. 18В показаны расщепляемые фрагменты для воздействия Катепсина В на соединение линкер-полезная нагрузка с высвобождением свободной полезной нагрузки.

[037] На Фиг. 19 показан пример общего способа синтеза, используемого для получения конъюгатов антитело-лекарственное средство.

[038] На Фиг. 20 показаны реагенты, которые могут быть использованы вместо д-лизина при осуществлении способов, описанных в настоящем документе.

## **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[039] Предложены соединения, композиции и способы, которые могут быть использованы для лечения, например, дислипидемии, заболевания обмена веществ, воспаления или нейродегенеративного заболевания субъекта.

[040] Перед тем как перейти к описанию настоящего изобретения, следует понять что данное изобретение не ограничивается описанными частными способами и экспериментальными условиями, поскольку такие способы и условия могут варьировать. Также следует понимать, что в настоящем документе терминология использована только для описания частных случаев осуществления изобретения и не является ограничивающей, поскольку объем настоящего изобретения ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

[041] Все технические и научные термины, используемые в настоящем изобретении, имеют общепринятые значения, понятные специалистам в области техники, к которой относится настоящее изобретение, если не указано иное. В контексте настоящего изобретения термин «приблизительно», используемый в отношении определенного указанного численного значения, означает значение, которое может отличаться от указанного значения не более чем на 1%. Например, в настоящем документе выражение «приблизительно 100» включает 99 и 101 и все значения между этими числами (например, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4, и т.д.).

[042] Хотя все способы и материалы, сходные с или эквивалентные описанным в настоящем документе, могут быть использованы на практике или при проверке настоящего изобретения, здесь описаны предпочтительные способы и материалы. Все патенты, заявки и не запатентованные публикации, упоминаемые в данном описании изобретения, полностью включены в настоящую заявку посредством ссылки.

## Определения

[043] При упоминании соединений, предложенных в настоящем документе, следующие термины имеют следующие значения, если не указано иное. Все технические и научные термины, используемые в настоящем изобретении, имеют общепринятые значения, понятные специалистам в области техники, к которой относится настоящее изобретение, если не указано иное. В случаях, когда представленный в настоящем изобретении термин имеет несколько определений, приведенные здесь определение имеет приоритет, если не указано иное.

[044] В настоящем документе термин «алкил» относится к одновалентному и насыщенному углеводородному радикалу. Алкил необязательно замещен, и может быть линейным, разветвленным или циклическим, *т.е.* циклоалкилом. Алкилы включают, не ограничиваясь перечисленным, радикалы, содержащие от 1 до 20 атомов углерода, *т.е.* C<sub>1-20</sub> алкил; от 1 до 12 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>1-12</sub> алкил; от 1 до 8 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>1-8</sub> алкил; от 1 до 6 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>1-6</sub> алкил; и от 1 до 3 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>1-3</sub> алкил. Примеры алкильных групп включают, не ограничиваясь перечисленным метил, этил, *n*-пропил, изопропил, *n*-бутил, втор-бутил, трет-бутил, изобутил, пентил, гексил, циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил. Пентильная группа включает, не ограничиваясь перечисленным, *n*-пентили изопентил. Гексильная группа включает, не ограничиваясь перечисленным, *n*-гексил.

[045] В настоящем документе термин «алкилен» относится к двухвалентной алкильной группе. Если не указано иное, алкилен включает, не ограничиваясь перечисленным, от 1 до 20 атомов углерода. Алкиленовая группа может быть необязательно замещено, как описано в настоящем документа для алкила. В некоторых вариантах осуществления изобретения алкилен не замещен.

[046] Обозначение аминокислоты или аминокислотного остатка без указания ее стереохимии включает L-форму и D-форму аминокислоты, или их рацемическую смесь.

[047] В настоящем документе, термин «галоалкил» относится к алкилку, согласно приведенному выше определению, где алкил включает, по меньшей мере, один заместитель, выбранный из галогена, например, фтора (F), хлора (Cl), брома (Br) или йода (I). Примеры галоалкилов включают, не ограничиваясь перечисленным, -CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -CCl<sub>2</sub>F, и -CCl<sub>3</sub>.

**[048]** В настоящем документе, термин «алкенил» относится к одновалентному углеводородному радикалу, содержащему, по меньшей мере, два атома углерода и одну или несколько неароматических углерод-углеродных двойных связей. Алкенил необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкенилы включают, не ограничиваясь перечисленным, радикалы, содержащие от 2 до 20 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>2-20</sub> алкенил; от 2 до 12 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>2-12</sub> алкенил; от 2 до 8 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>2-8</sub> алкенил; от 2 до 6 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>2-6</sub> алкенил; и от 2 до 4 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>2-4</sub> алкенил. Примеры алкенильных групп включают, не ограничиваясь перечисленным, винил, пропенил, бутенил и циклогексенил.

**[049]** В настоящем документе, термин «алкинил» относится к одновалентному углеводородному радикалу, содержащему, по меньшей мере, два атома углерода и одну или несколько углерод-углеродных связей. Алкинил необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкинил включает, не ограничиваясь перечисленным, радикалы, содержащие от 2 до 20 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>2-20</sub> алкинил; от 2 до 12 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>2-12</sub> алкинил; от 2 до 8 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>2-8</sub> алкинил; от 2 до 6 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>2-6</sub> алкинил; и от 2 до 4 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>2-4</sub> алкинил. Примеры алкинильных групп включают, не ограничиваясь перечисленным, этинил, пропинил и бутинил.

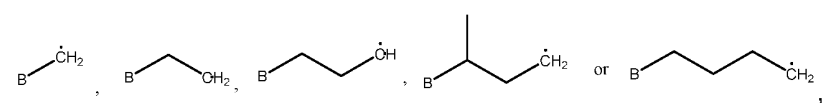
**[050]** В настоящем документе термин «алкокси» относится к одновалентному и насыщенному углеводородному радикалу, в котором углеводород включает одинарную связь с атомом кислорода, и радикал локализован на атоме кислорода, *например*, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-O· в случае этокси. Замещающие алкокси-группы связаны с соединением, в котором они являются заместителями, через атом кислорода замещающей алкокси-группы Алкокси-заместитель. Радикал алкокси не обязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим, *т.е.*, циклоалкокси. Алкоксигруппы включают, не ограничиваясь перечисленным, группы, содержащие от 1 до 20 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>1-20</sub> алкокси; от 1 до 12 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>1-12</sub> алкокси; от 1 до 8 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>1-8</sub> алкокси; от 1 до 6 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>1-6</sub> алкокси; и от 1 до 3 атомов углерода, *т.е.*, C<sub>1-3</sub> алкокси. Примеры алкоксигрупп включают, не ограничиваясь перечисленным метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-

бутоксиды, втор-бутоксиды, трет-бутоксиды, изобутоксиды, пентоксиды, гексоксиды, циклопропоксиды, циклобутоксиды, циклопентоксиды и циклогексоксиды группы.

**[051]** В настоящем документе термин «галоалкокси» относится к группе алкокси, согласно вышеприведенному определению, в которой алкокси включает, по меньшей мере, один заместитель, выбранный из галогенов, *например*, F, Cl, Br, или I.

**[052]** В настоящем документе термин «арил» относится к одновалентной группе, являющейся радикалом или ароматическим соединением, в которой кольцевые атомы представлены атомами углерода. Арил необязательно замещен, и может быть моноциклом или полициклом, *например*, например, бициклом или трициклом. Примеры арильных групп включают, не ограничиваясь перечисленным, группы, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, *т.е.*, C<sub>6-20</sub> арил; от 5 до 15 кольцевых атомов углерода, *т.е.*, C<sub>6-15</sub> арил, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, *т.е.*, C<sub>6-10</sub> арил. Примеры арильных групп включают, не ограничиваясь перечисленным, фенил, нафтил, флуоренил, азуленил, антрил, фенантрил и пиренил.

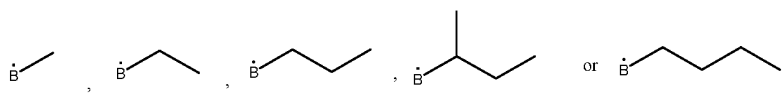
**[053]** В настоящем документе термин «арилалкил» относится к одновалентной группе, являющейся радикалом или алкилом, где алкил замещен ароматическим заместителем, *т.е.*, ароматическое соединение включает одинарную связь с алкильной группой, и где радикал локализован на алкильной группе. Арилалкильная группа соединяется с проиллюстрированной химической структурой через алкильную группу. Арилалкил может быть представлен

структурой, *например*, 

в которой В представляет собой ароматическую группу, *например*, фенил. Арилалкил необязательно замещен, *т.е.*, арильная группа и/или алкильная группа может быть замещена, как показано в настоящем документе. Примеры арилалкилов включают, не ограничиваясь перечисленным, бензил.

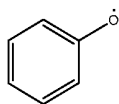
**[054]** В настоящем документе термин «алкиларил» относится к одновалентной группе, представляющей собой радикал или арил, в котором арильное соединение замещено алкильным заместителем, *т.е.*, арильное соединение включает одинарную связь к алкильной группе, и радикал локализован на арильной группе. Алкиларильная группа соединяется с проиллюстрированной химической структурой через арильную группу. Алкиларил может быть

представлен структурой, например,



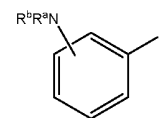
где В представляет собой ароматическую группу, например, фенил. Алкиларил необязательно замещен, т.е. арильная группа и/или алкильная группа может быть замещена, как показано в настоящем документе. Примеры алкиларила, не ограничиваясь перечисленным, толуил.

**[055]** В настоящем документе термин «арилокси» относится к одновалентной группе, представляющей собой радикал или ароматическое соединение, в котором кольцевые атомы представлены атомами углерода, и в кольце имеется заместитель - кислородный радикал, т.е. ароматическое соединение включает одинарную связь с атомом кислорода, и радикал локализован на атоме



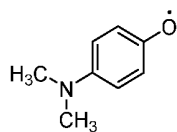
кислорода, например, в случае фенокси. Заместители арилокси соединяются с соединением, которое они замещают, через атом кислорода. Группа арилокси необязательно замещена. Группа арилокси включает, не ограничиваясь перечисленным, радикалы, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, т.е., C<sub>6-20</sub> арилокси; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, т.е., C<sub>6-15</sub> арилокси, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, т.е., C<sub>6-10</sub> арилокси. Примеры группы арилокси включают, не ограничиваясь перечисленным, фенокси, нафтокси, и антрокси.

**[056]** В настоящем документе термин «R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N-арилокси» относится к одновалентной группе, представляющей собой радикал или ароматическое соединение, в котором кольцевые атомы представлены атомами углерода, и в кольце имеется, по меньшей мере, один R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N – заместитель и, по меньшей мере, один кислородный радикал, т.е., ароматическое соединение включает одинарную связь с заместителем R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N – и одинарную связь с атомом



кислорода, и радикал локализован на атоме кислорода, например, Заместители R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N -арилокси соединены с соединением, в котором они являются заместителями, через атом кислорода. R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N -арилокси необязательно замещен. Группы R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N -арилокси включают, не ограничиваясь перечисленным, группы, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, Например, C<sub>6-20</sub> (R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N)η-

арилокси, от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, например, C<sub>6-15</sub> (R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N)<sub>n</sub>-арилокси, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, например, C<sub>6-10</sub> (R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N)<sub>n</sub>-арилокси, где n – количество R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N – заместителей. Примеры групп R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>N - арилокси включают, не ограничиваясь перечисленным, 4-(диметиламино)-



фенокси,

**[057]** В настоящем документе термин «арилен» относится к двухвалентной группе ароматического соединения, в котором кольцевые атомаы представлены только атомами углерода . Арилен необязательно замещен, и может быть моноциклическим или полициклическим соединением, *например*, бициклическим или трициклическим. Примеры ариленовых групп включают, не ограничиваясь перечисленным, группы, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, *т.е.*, C<sub>6-20</sub> арилен; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, *т.е.*, C<sub>6-15</sub> арилен, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, *т.е.*, C<sub>6-10</sub> арилен.

**[058]** В настоящем документе термин «гетероалкил» относится к алкилам, в молекуле которых один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. В настоящем документе термин «гетероалкенил» относится к алкенилам, в молекуле которых один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. В настоящем документе термин «гетероалкинил» относится к алкинилам, в молекуле которых один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. Подходящими атомами являются, не ограничиваясь перечисленным, атомы азота, кислорода и серы. Гетероалкил необязательно замещен. Примеры гетероалкильных групп включают, не ограничиваясь перечисленным, аминоалкил, сульфониалкил и сульфинилалкил. Примеры гетероалкильных групп включают также, не ограничиваясь перечисленным, метиламино, метилсульфонил, и метилсульфинил.

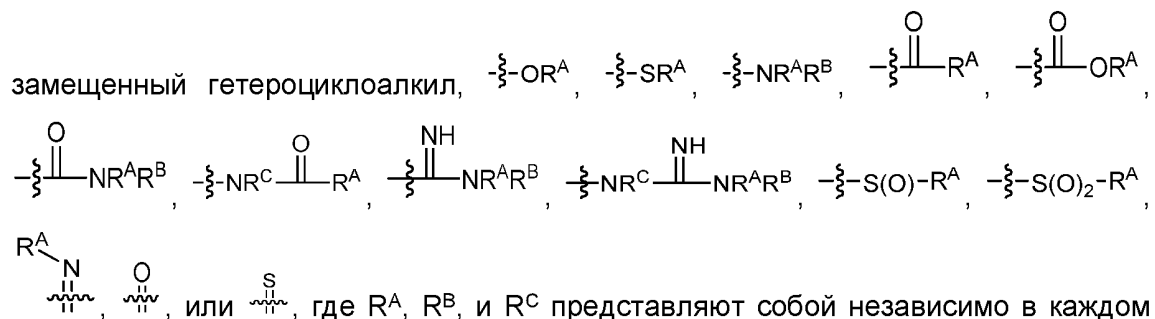
**[059]** В настоящем документе термин «гетероарил» относится к одновалентной группе, являющейся радикалом или ароматическим соединением, в которой кольцевые атомы содержат атомы углерода и, по меньшей мере, один атом кислорода, серы, азота или фосфора. Примеры гетероарильных групп включают, не ограничиваясь перечисленным, группы, содержащие от 5 до 20 кольцевых атомов, от 5 до 15 кольцевых атомов и от 5 до 10 кольцевых атомов. Гетероарил необязательно замещен.

[060] В настоящем документе термин «гетероарилен» относится к арилену, в молекуле которого один или несколько кольцевых атомов ароматического кольца замещены атомом кислорода, серы, азота или фосфора. Гетероарилен необязательно замещен.

[061] В настоящем документе термин «гетероциклоалкил» относится к молекуле циклоалкила, в которой один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. Подходящие гетероатомы включают, не ограничиваясь перечисленным, атомы азота, кислорода и серы. Гетероциклоалкил необязательно замещен. Примеры гетероциклоалкильных групп включают, не ограничиваясь перечисленным, морфолинил, пиперидинил, тетрагидропиранил, пирролидинил, имидозолидинил, оксазолидинил, тиазолидинил, диоксоланил, дитиоланил, оксанил или тианил.

[062] В настоящем документе термин «N-содержащий гетероциклоалкил» относится к циклоалкилу, у которого один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами, и, по меньшей мере, один гетероатом представляет собой атом азота. Помимо азота подходящие гетероатомы включают, не ограничиваясь перечисленным, атомы кислорода и серы. N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещен. Примеры N-содержащих гетероциклоалкильных групп включают, не ограничиваясь перечисленным, морфолинил, пиперидинил, пирролидинил, имидозолидинил, оксазолидинил, или тиазолидинил.

[063] В настоящем документе термин «необязательно замещенный» при использовании для описания радикала, например, необязательно замещенный алкил, означает, что такая группа необязательно связана с одним или несколькими заместителями. Примеры таких заместителей включают, не ограничиваясь перечисленным, гало, циано, нитро, необязательно замещенный галоалкил, азидо, эпокси, необязательно замещенный гетероарил, необязательно





гетероалкил, гетероарил, или гетероциклоалкил, или R<sup>A</sup> и R<sup>B</sup> совместно с атомами, с которыми они соединены, образуют насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, где кольцо необязательно замещено, и где один или несколько кольцевых атомов необязательно замещены гетероатомом. В определенных вариантах осуществления изобретения когда радикал необязательно замещено необязательно замещенным гетероарилом, необязательно замещенным гетероциклоалкилом или необязательно замещенным насыщенным или ненасыщенным карбоциклическим кольцом, заместители на необязательно замещенном гетероариле, необязательно замещенном гетероциклоалкиле или необязательно замещенном насыщенном или ненасыщенном карбоциклическом кольце, если они замещены, то они не замещены заместителями, которые дополнительно необязательно замещены дополнительными заместителями. В некоторых вариантах осуществления изобретения когда описанная в настоящем документе группа необязательно замещена, соединенный с группой заместитель не является замещенным, если не указано иное.

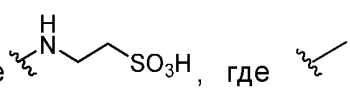

**[064]** В настоящем документе термин «связующий агент» относится к любой молекуле, *например*, белка, способной к специфичному связыванию с определенным партнером по связыванию, *например*, антигеном.

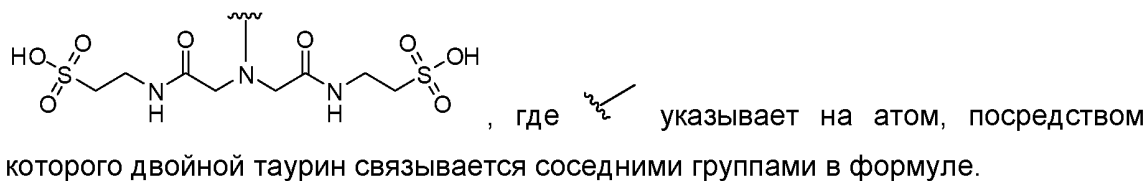
**[065]** В настоящем документе термин «линкер» относится к двухвалентной, трехвалентной или поливалентной группе, которая ковалентно связывает связующего агента с одним или несколькими соединениями, описанными в настоящем документе, *например*, с соединениями, являющимися полезной нагрузкой, и с гидрофильной группой, как описано в настоящем документе.

**[066]** В настоящем документе термин «условия синтеза амидов» относится к условиям проведения реакции, подходящим для образования амида, *например*, посредством взаимодействия с карбоновой кислотой, активированной карбоновой кислотой или ацилгалогенида с амином. В некоторых примерах термин «условия синтеза амидов» относится к условиям проведения реакции, подходящих для образования амидной связи между карбоновой кислотой и амином. В некоторых из этих примеров карбоновая кислота вначале превращается в активированную карбоновую кислоту, перед тем как активированная кислота вступит во взаимодействие с амином с образованием амида. Подходящие условия для образования амида включают, не ограничиваясь перечисленным, использование

реагентов, влияющих на протекание реакции между карбоновой кислотой и амином, включая, но не ограничиваясь перечисленным, дициклогексилкарбодимид (DCC), диизопропилкарбодимид (DIC), (бензотиазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат (BOP), (бензотиазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyBOP), (7-азабензотиазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyAOP), бромтрипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyBrgOP), O-(бензотиазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат (HBTU), O-(бензотиазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторборат (TBTU), 1[Бис(диметиламино)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния 3-оксид гексафторфосфат (HATU), N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолин (EEDQ), N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодимид (EDC), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния гексафторфосфат (CIP), 2-хлор-4,6-диметокси-1,3,5-триазин (CDMT), и карбонилдиимидазол (CDI). В некоторых примерах карбоновую кислоту вначале превращают в активированный сложный эфир карбоновой кислоты с последующей обработкой сложного эфира карбоновой кислоты амином с образованием амидной связи. В определенных вариантах осуществления изобретения карбоновую кислоту обрабатывают реагентом. Реагент активирует карбоновую кислоту посредством депротонирования карбоновой кислоты с последующим образованием комплекса продукта с депротонированной карбоновой кислотой в результате нуклеофильной атаки депротонированно карбоновой кислоты на протонированный реагент. Активированные сложные эфиры некоторых карбоновых кислот впоследствии становятся более чувствительными к атаке амина по сравнению с карбоновой кислотой до активации. Это приводит к образованию амидной связи. По существу, карбоновая кислота описана, как уже активированная. Примерами реагентов являются DCC и DIC.

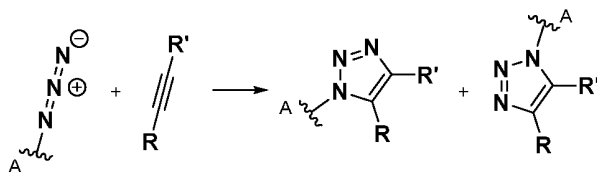
**[067]** В настоящем документе термин «таурин» относится к реактиву

$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{H}$ , или группе , где  указывает на атом, через который таурин связывается с соседними группами в молекуле. В настоящем документе термин «двойной таурин» относится к группе

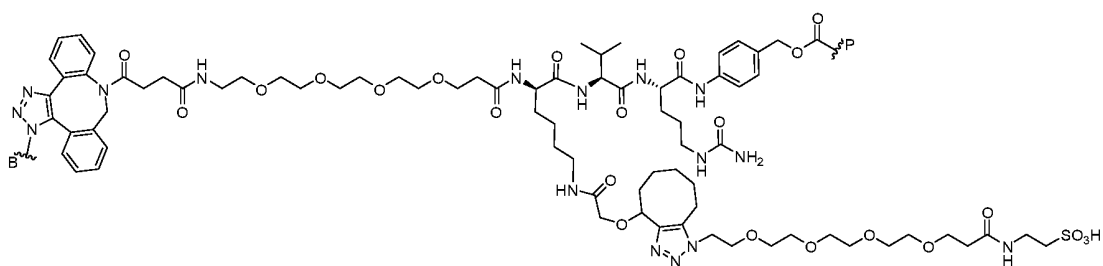


**[068]** В настоящем документе термин «стереоизомерная форма» относится к относительной пространственной ориентации разных групп в соединении. Стереоизомерные формы включают энантимеры, диастереомеры и/или их смеси.

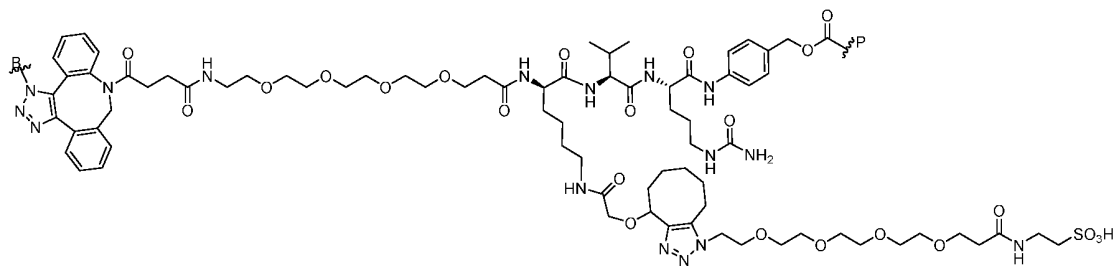
**[069]** В настоящем документе термины «региоизомер», «региоизомеры» или смесь региоизомеров» относится к продукту(ам) 1,3-циклоприсоединения или стерически активируемого алкин-азид-циклоприсоединения (SPAAC), известного также как клик-реакция, которые образуются из подходящих азидов (например, –N<sub>3</sub>, или PEG-N<sub>3</sub> дериватизированных антител), обработанных подходящими алкинами. В определенных вариантах осуществления изобретения например, региоизомеры и смеси региоизомеров характеризуются продуктами показанной ниже клик-реакции:



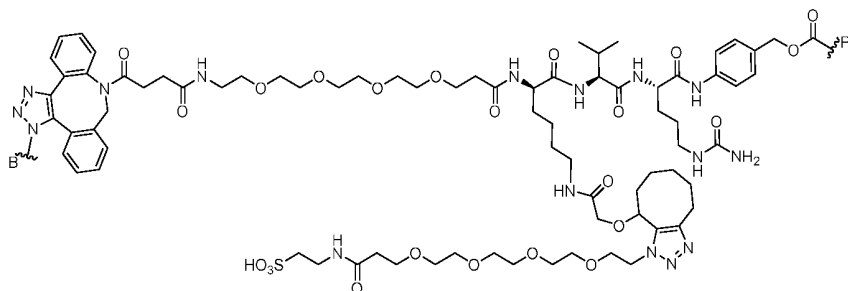
**[070]** Только для примера ниже показаны региоизомеры соединения A1', т.е., соединения A2', A3', A4', где каждый представляет собой связь со связующим агентом, и каждый P представляет собой связь с полезной нагрузкой:



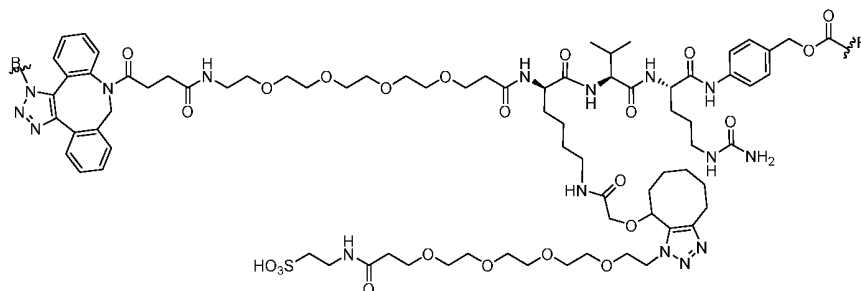
соединение A1'



соединение A2';



соединение A3';



соединение A4'.

[071] В определенных вариантах осуществления изобретения в процессе синтеза продукта может быть использовано более одного подходящего азида и более одного подходящего алкина, при этом каждая пара азид-алкин может участвовать в одной или нескольких независимых клик-реакциях с образованием региоизомерных продуктов клик-реакции. Например, специалисту в данной области техники должно быть понятно, что первый подходящий азид может независимо вступить в реакцию с первым подходящим алкином, и второй подходящий азид может независимо вступить в реакцию со вторым подходящим алкином в ходе образования продукта, что приведет к возникновению четырех возможных региоизомеров, являющихся продуктом клик-реакции, или смеси из четырех возможных региоизомеров, образовавшихся в результате клик-реакции в образце описанного в настоящем документе КАПС. Например, специалисту в

данной области техники должно быть понятно, что первый подходящий азид может независимо вступить в реакцию с первым подходящим в ходе образования продукта, что приведет к возникновению двух возможных региоизомеров, являющихся продуктом клик-реакции, или смеси из двух возможных региоизомеров в образце описанного в настоящем документе линкера-полезной нагрузки.

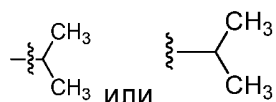
**[072]** В настоящем документе термин «остаток» относится к химическому фрагменту в составе соединения, который остается после химической реакции. Например, термин «аминокислотный остаток» или «N-алкил-аминокислотный остаток» относится к продукту связывания амида или продукту связывания пептида аминокислоты или N-алкил-аминокислоты с подходящим партнером; где, например, после связывания амида или пептида аминокислоты или N-алкил-аминокислоты удаляется молекула воды, что приводит к образованию продукта, содержащего аминокислотный остаток или N-алкил аминокислотный остаток.

**[073]** В настоящем документе термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству (*например*, соединения), достаточному для обеспечения терапевтической пользы пациенту при лечении или ведении заболевания или нарушения, или для задержки развития или минимизации одного или нескольких симптомов, ассоциированных с заболеванием или нарушением.

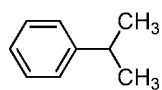
**[074]** В настоящем документе термины «сахар» или «группа сахара» или «остаток сахара» относится к углеводному фрагменту, который может содержать 3 углеводные единицы (триоза), 4 углеводные единицы (тетроза), 5 углеводных единиц (пентоза), 6 углеводных единиц (гексоза), 7 углеводных единиц (гептоза) и может являться моносахаридом, дисахаридом, трисахаридом, тетрасахаридом, пентасахаридом, олигосахаридом или любым другим полисахаридом. В некоторых случаях «сахар» или «группа сахара» или «остаток сахара» содержат фуранозы (*например*, рибофураноза, фруктофураноза) или пиранозы (*например*, глюкопираноза, галактопираноза) или их комбинацию. Неограничивающие примеры моносахаридов включают рибозу, мальтозу, лактозу, лактулозу и трегалозу. Другие «сахара», или «группы сахара», или «остатки сахара» включают полисахариды и/или олигосахариды, включая, но не ограничиваясь перечисленным амилозу, амилопептин, гликоген, инулин и целлюлозу. В некоторых случаях «сахар» или «группа сахара» или «остаток сахара» представляет собой аминсахар. В некоторых случаях «сахар» или «группа сахара» или «остаток

сахара» представляют собой остаток глюкамина (1-амино-1-деокси-D-глюцитола), соединенный с остальной молекулой через аминогруппы с образованием амидной связи с остальной молекулой (т.е. глюкамида).

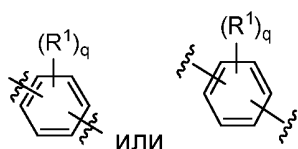
[075] Определенные группы, фрагменты, заместители и атомы отображены с волнистой линией, которая пересекает связь или связи, чтобы указать на атом, через который эти группы, фрагменты, заместители или атомы связаны. Например, фенильная группа, замещенная пропильной группой, показанная следующим образом:



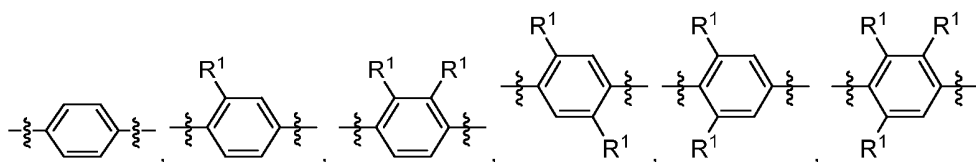
имеет следующую структуру:

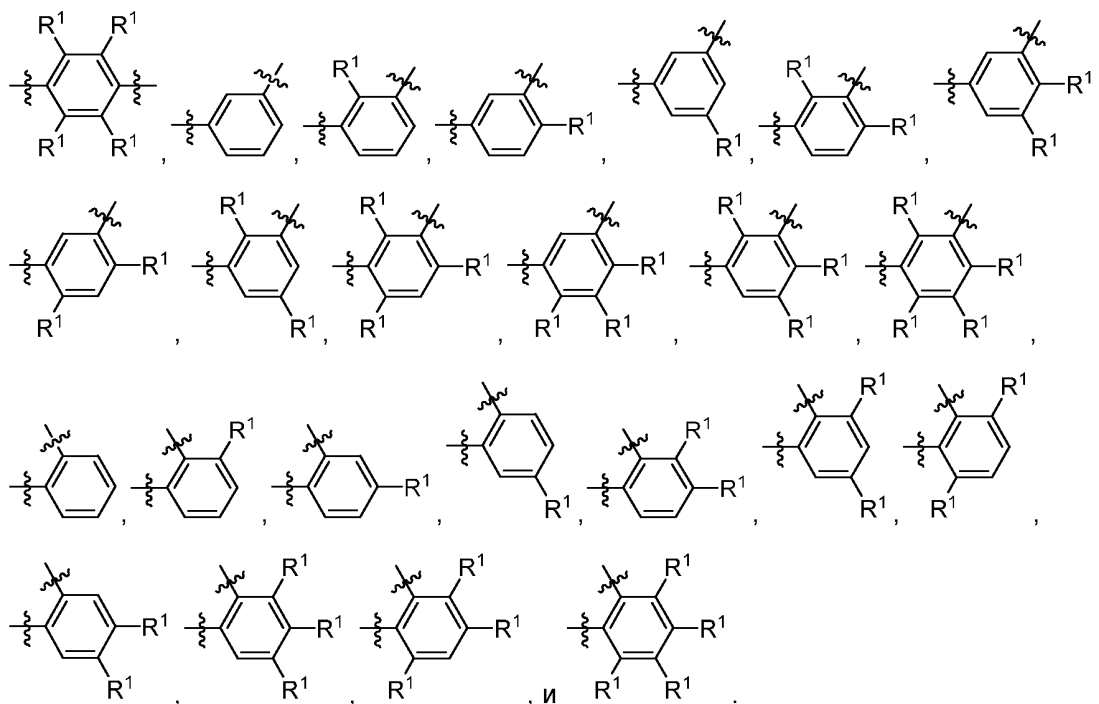


В настоящем документе, иллюстрации, показывающие заместители, связанные с циклической группой (*например*, ароматическим, гетероароматическим, конденсированным кольцом и насыщенным или ненасыщенным циклоалкилом или гетероциклоалкилом) через связь между атомами кольца, подразумевают, если не указано иное, что циклическая группа может быть замещена заместителем в любом положении кольца в циклической группе или на кольца конденсированной кольцевой группы, в соответствии с описанными в настоящем документе методиками или как известно специалистам в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Например, группа



, где подстрочный индекс  $q$  является целым числом от 0 до 4, в которой положения заместителя  $R^1$  описаны для общего случая, т.е., не связаны прямо с вершиной структуры линии соединения, т.е., определенным атомом углерода, включает следующие неограничивающие примеры групп, в которых заместитель  $R^1$  связан с определенным кольцевым атомом углерода:





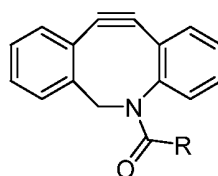
[076] В настоящем документе фраза «гидрофильный линкер (HL)» относится к фрагменту, содержащему гидрофильную группу (HG) в соответствии с определением в настоящем документе, и спейсер **SP<sup>2</sup>** в соответствии с определением в настоящем документе.

[077] В настоящем документе фраза «реакционноспособный линкер» относится к одновалентной группе, которая включает реакционноспособную группу и спейсерную группу, показанные, например, как  $RG'—SP^1$ , где  $RG'$  является реакционноспособной группой и  $SP^1$  является спейсерной группой. В соответствии с описанием в настоящем документе, реакционноспособный линкер может включать одну или несколько реакционноспособных групп или одну или несколько спейсерных групп. Спейсерная группа представляет собой двухвалентный или трехвалентный фрагмент, который образует мостик между реакционноспособной группой и другой группой, такой как полезная нагрузка, или между реакционноспособной группой и связующим агентом. Реакционноспособные линкеры (**L**, **LL**) совместно с полезными нагрузками, с которыми они соединены, создают промежуточные продукты («линкер-полезная нагрузка»), которые используются в качестве синтезированных предшественников для получения описанных в настоящем документе конъюгированных антител. Реакционноспособный линкер содержит одну или несколько реакционноспособных групп **RG** (**RG<sup>1</sup>**, **RG<sup>2</sup>**, или **RG'**), которые являются

функциональными группами или фрагментами, т.е. способны взаимодействовать с реакционноспособными участками другой группы, например, антителом, модифицированным антителом или антиген-связывающим фрагментом антитела, или с гидрофильной группой, как описано в настоящем документе. Фрагмент, образованный в результате взаимодействия реакционноспособной группы с антителом, модифицированным антителом или антиген-связывающим фрагментом антитела, совместно с линкерной группой, включает описанную в настоящем документе часть конъюгата, называемую «линкер связывающего агента» («BL»). В определенных вариантах осуществления изобретения «реакционноспособная группа» является функциональной группой или фрагментом (например, малеимидом или сложным эфиром N-гидроксисукцинимидом (NHS)) который взаимодействует с остатком лиина или цистеина в молекуле антитела или его антиген-связывающего фрагмента.

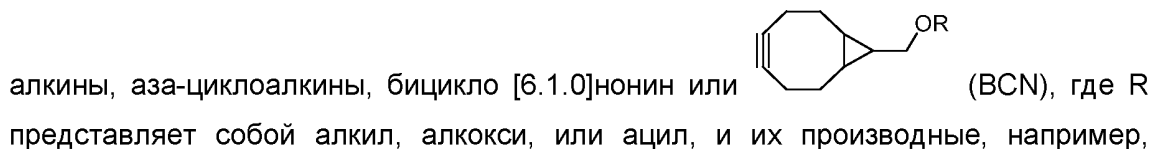
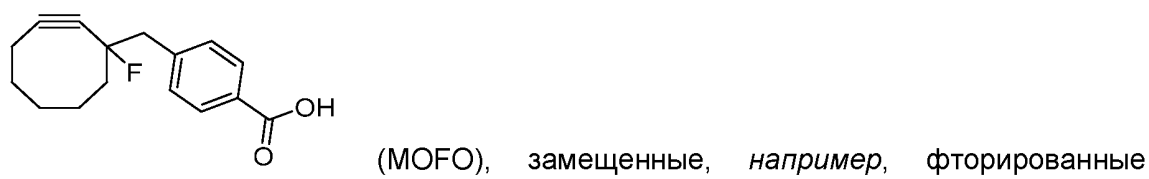
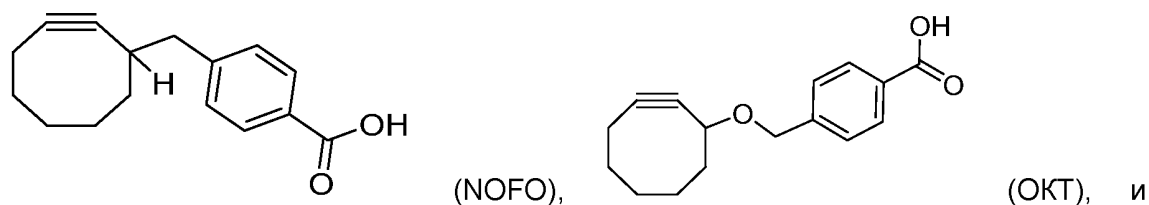
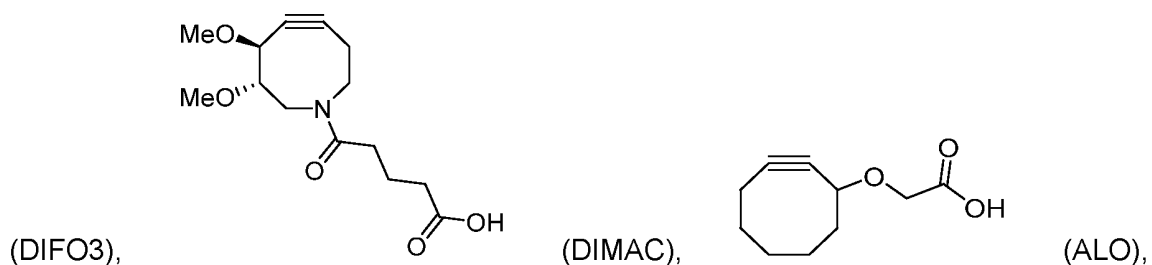
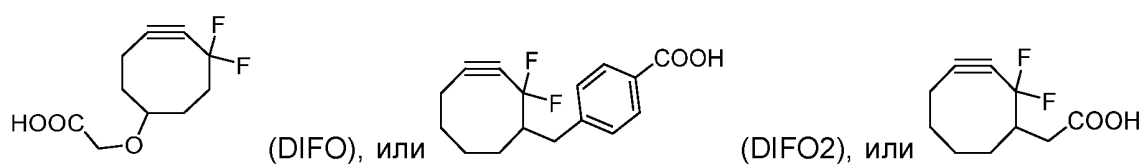
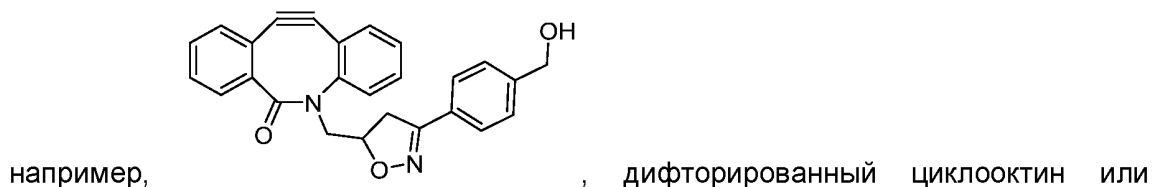
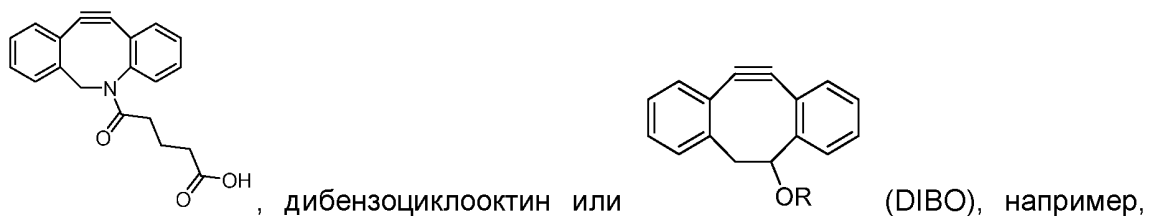
[078] В определенных вариантах осуществления изобретения «реакционноспособная группа» представляет собой функциональную группу или фрагмент, способную вступать в клик-реакцию включая *например*, клик-химия, Huisgen Proc. Chem. Soc. 1961, Wang et al. J. Am. Chem. Soc. 2003, и Agard et al. J. Am. Chem. Soc. 2004). В некоторых вариантах осуществления изобретения включающих такую клик-реакцию, реакционноспособной группой является алкин, способный вступать в реакцию 1,3-циклоприсоединения с азидом. Алкин, способный вступать в реакцию 1,3-циклоприсоединения с азидом, в настоящем документе также обозначается, как «остаток клик-реагента». Такие подходящие реакционноспособные группы включают, не ограничиваясь перечисленным, напряженные алкины, *например*, алкины, подходящие для промотированных напряжением реакций алкин-азид циклоприсоединения (SPAAC), циклоалкины, *например*, циклооктины, бензаннулированные алкины и алкины, способные вступать в реакции 1,3-циклоприсоединения с алкинами в отсутствие медных катализаторов. Подходящие алкины включают также, не ограничиваясь

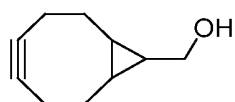
перечисленным, дибензоазациклооктин или



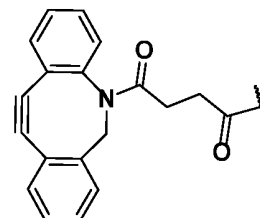
(DIBAC), например,



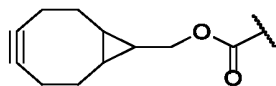




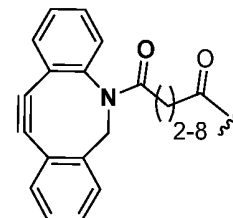
. В частности, полезные алкины включают



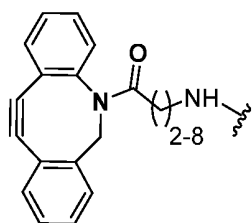
и



. Дополнительные алкины включают



и



**[079]** Промежуточные продукты «линкер-полезная нагрузка», включающие такие реакционноспособные группы, используются для образования конъюгатов с антителами, которые были функционализированы азидными группами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные азидо-полиэтиленгликолевыми группами. В определенных вариантах осуществления изобретения такое функционализированное антитело получают посредством обработки антитела, имеющего, по меньшей мере, один остаток глутамина, *например*, Gln295 в тяжелой цепи, соединением, несущим аминогруппу и азидную группу, в присутствии фермента трансглутаминазы.

**[080]** В определенных вариантах осуществления изобретения антитело, или модифицированное глутамином антитело, или антиген-связывающая молекула содержит, по меньшей мере, один остаток глутамина в, по меньшей мере, одной полипептидной последовательности. В определенных вариантах осуществления изобретения антитело, или модифицированное глутамином антитело, или антиген-связывающая молекула содержит два полипептида в тяжелой цепи, каждый из которых содержит остаток Gln295. В других вариантах осуществления изобретения антитело, или модифицированное глутамином антитело, или антиген-связывающая молекула содержат один или несколько глутаминовых остатков в других участках за пределами Gln 295 в тяжелой цепи. В настоящее изобретение включены описанные в настоящем документе антитела, несущие

мутации N297Q. Вкратце, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитело, включающее остаток глутамина, в присутствии фермента трансглутаминазы обрабатывают первичным амином, более подробным описанным ниже. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включающее остаток Asn297Gln (N297Q), в присутствии фермента трансглутаминазы обрабатывают первичным амином, более подробным описанным ниже. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включающее остаток Gln295 (Q295), в присутствии фермента трансглутаминазы обрабатывают первичным амином, более подробным описанным ниже. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включающее остаток Gln55 (Q55), в присутствии фермента трансглутаминазы обрабатывают первичным амином, более подробным описанным ниже. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения такое антитело может быть получено посредством сайт-специфичного мутагенеза для удаления или инактивации последовательности или для вставки глутаминового остатка на участке независимо от наличия интерферирующей структуры. Такое антитело может быть также выделено из природных или искусственных источников.

**[081]** Аминокислотная последовательность в молекуле антитела может быть пронумерована при использовании известных схем нумерации, включая схемы, описанные в публикациях Kabat et al., (схема нумерации Кабата); Al-Lazikani et al., 1997, *J. Моль. Biol.*, 273:927-948 (схема нумерации Чотия); MacCallum et al., 1996, *J. Моль. Biol.* 262:732-745 (контактная схема нумерации); Lefranc et al., *Dev. Comp. Immunol.*, 2003, 27:55-77 (схема нумерации ИМГТ); и Honegge и Plückthun, *J. Моль. Biol.*, 2001, 309:657-70 (схема нумерации АНо). В настоящем документе использована нумерация Кабата, если не указано иное. Однако выбор схемы нумерации не предполагает различий в последовательностях, где они не существуют, и специалист в данной области техники сможет легко подтвердить положение в последовательности, изучив аминокислотную последовательность одного или нескольких антител. Как правило, если не указано иное, то при указании остатка в константной области тяжелой цепи антитела используется «схема нумерации ЕС» (например, как указано выше в публикации Kabat et al.).

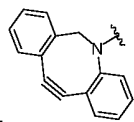
**[082]** Термин «негликозирированное антитело» относится к антителу последовательности гликозилирования, которая может препятствовать реакции трансглутаминации, например, к антителу, в молекуле которого отсутствует

сахаридная группа в положении N297 в одной или в нескольких тяжелых цепях. В частных случаях осуществления изобретения в тяжелой цепи антитела имеется мутация в положении N297. Другими словами, в результате мутации в антителе уже отсутствует остаток аспарагина в положении 297, в соответствии с нумерацией ЕС, описанной в публикации Kabat et al. В частных случаях осуществления изобретения в тяжелой цепи молекулы антитела имеется мутация в положении N297Q или N297D. Такое антитело может быть получено посредством сайт-специфичного мутагенеза, который проводится для удаления или отключения последовательности гликозилирования, или посредством сайт-специфичного мутагенеза, который приводит к вставке остатка глутамина несмотря на интерферирующий участок гликозилирования или другую интерферирующую структуру. Такое антитело может быть также выделено из природных или искусственных источников.

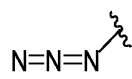
**[083]** Термин «дегликозилированное антитело» относится к антителу, в котором удалена сахаридная группа в положении N297, вследствие чего Q295 становится открытым для трансклутаминирования. Частные случаи осуществления изобретения изложенные в настоящем документе, представляют собой процессы, включающие дополнительную стадию дегликозилирования антитела, например, антитела N297.

**[084]** В некоторых примерах алкин, используемый в реакции биоконъюгации, полезен для проведения клик-реакции конъюгации, катализируемой Cu(I). В некоторых примерах алкин используемый в реакции конъюгации, взаимодействует с 1,2-аминотиолом, вступая в реакцию с 2-цианобензотиазолом (CBT). В некоторых примерах используемым алкином является BCN, производное BCN, или транс-циклооктен (TCO) в реакциях Дильса-Алдера с обратными электронными требованиями. См., Wang et al., J. Am. Chem. Soc.; (Article), 2012, 134 (6), 2950-2953.

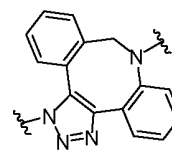
**[085]** В некоторых примерах реакционноспособной группой является алкин,



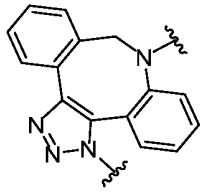
например, , который может вступать в клик-реакцию с азидом, например,



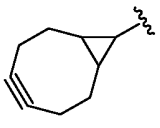
, с образованием продукта клик-реакции, например,



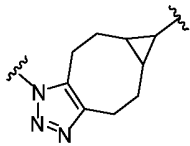
или



. В некоторых примерах группа взаимодействует с азидом, который находится в молекуле модифицированного антитела или в его антиген-связывающем фрагменте. В некоторых примерах реакционноспособной группой

является алкин, например, , который может вступать в клик-реакцию с

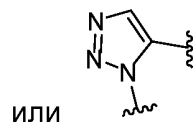
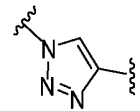
азидом, например,  $\text{N}=\text{N}=\text{N}$  образованием продукта клик-реакции, например,



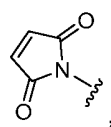
. В некоторых примерах реакционноспособной группой является

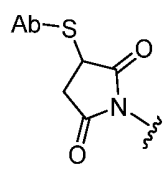
алкин, например, , который может вступать в клик-реакцию с азидом,

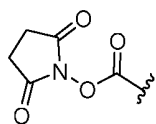
например,  $\text{N}=\text{N}=\text{N}$ , с образованием продукта клик-реакции, например,

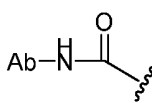


или . В некоторых примерах реакционноспособной группой является

функциональная группа, например, , которая взаимодействует с остатком цистеина в антителе или его антиген-связывающем фрагменте с образованием

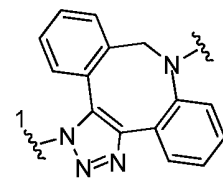
связи с ним, например, , где обозначение Ab относится к антителу или его антиген-связывающему фрагменту, и S относится к атому S в остатке цистеина, через который функциональная группа соединяется с Ab. В некоторых примерах реакционноспособной группой является функциональная группа,

например, , которая взаимодействует с остатком лизина в антителе или его антиген-связывающем фрагменте с образованием связи с ним, например,

, где обозначение Ab относится к антителу или его антиген-связывающему фрагменту, и NH относится к атому NH на боковой цепи остатка лизина, через который функциональная группа соединяется с Ab.

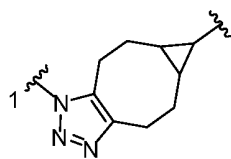
**[086]** В настоящем документе фраза «линкер связующего агента» или “BL” относится к любой двухвалентной, трехвалентной или поливалентной группе или фрагменту, который связывает, сопрягает или соединяет связующий агент (например, антитела или его антиген-связывающего фрагмента) с соединением-полезной нагрузкой, описанным в настоящем документе (например, MMAE, бис-октагидрофенантрен карбоксамидами, стероидами) и, необязательно, с соединениями с одной или несколькими боковыми цепями. Как правило, подходящие линкеры связующих агентов, описанных в настоящем документе, достаточно стабильны для того чтобы служить в течение периода полувыведения антитела из циркулирующей крови и, в то же время, способны высвободить полезную нагрузку после опосредованной антигеном интернализации конъюгата. Линкеры могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми. Расщепляемые линкеры расщепляются в результате внутриклеточного метаболизма после интернализации, например, расщепление происходит в процессе гидролиза, восстановления или ферментативной реакции. Нерасщепляемые линкеры высвобождают соединенную с ними полезную нагрузку посредством осуществляемого лизосомами разложения антитела после интернализации. Подходящие линкеры включают, не ограничиваясь перечисленным, линкеры, не стойкие в кислой среде, линкеры, подверженные гидролизу, линкеры, расщепляемые ферментами, линкеры, расщепляемые при восстановлении, саморасщепляющиеся линкеры и нерасщепляющиеся линкеры. Подходящие линкеры включают также, не ограничиваясь перечисленным, линкеры, представляющие собой или содержащие пептиды, глюкуроны, сукцинимид-тиоэфиры, субъединицы полиэтиленгликоля (ПЭГ), гидразоны, субъединицы мал-капроил, субъединицы дипептидов, субъединицы валин-цитруллин и субъединицы пара-аминобензила (PAB). В некоторых вариантах осуществления изобретения



линкер связующего агента (BL) включает фрагмент, образующийся в результате взаимодействия между реакционноспособной группой (RG) реакционноспособного линкера (RL) и реакционноспособной областью связующего агента, например, антитела, модифицированного антитела или их антиген-связывающего фрагмента.

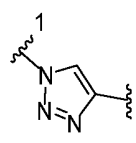


[087] В некоторых примерах BL включает следующий фрагмент:

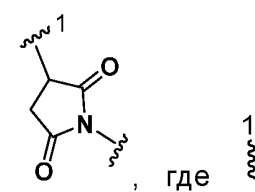
где  представляет собой связь со связующим агентом. В некоторых примерах BL





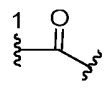
включает следующий фрагмент: , где  представляет собой связь со связующим агентом. В некоторых примерах BL включает следующий





фрагмент: , где  представляет собой связь со связующим агентом. В



некоторых примерах BL включает следующий фрагмент: , где  представляет собой связь с цистеином в молекуле антитела или в его антиген-связывающем фрагменте. В некоторых примерах BL включает следующий



фрагмент: , где  представляет собой связь с лизином в молекуле антитела или в его антиген-связывающем фрагменте.

### Конъюгаты и полезные нагрузки

[088] В некоторых примерах в настоящем документе предложено соединение или его фармацевтически приемлемая соль, содержащее: связующий агент, соединенный, с по меньшей мере, одной полезной нагрузкой, и соединенный с, по меньшей мере, одной гидрофильной группой через ковалентный линкер, где

указанный ковалентный линкер связан прямо или опосредованно со связующим агентом, с полезной нагрузкой и с гидрофильным фрагментом.

**[089]** В некоторых других примерах в настоящем документе предложено соединение или его фармацевтически приемлемая соль, содержащее: белок, соединенный, с по меньшей мере, одной полезной нагрузкой, и соединенный с, по меньшей мере, одной гидрофильной группой, через ковалентный линкер, где указанный ковалентный линкер связан прямо или опосредованно с белком, с полезной нагрузкой и с гидрофильным фрагментом. В некоторых вариантах осуществления изобретения белок является антителом или его антиген-связывающим фрагментом.

**[090]** Как проиллюстрировано в настоящем документе, в некоторых примерах связующий агент соединен прямо с ковалентным линкером, таким как аминокислота лизин. Это означает, что между связующим агентом и ковалентным линкером, представленным аминокислотой лизином, находится одна связь. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также соединен прямо с полезной нагрузкой. Это означает, что между ковалентным линкером и полезной нагрузкой, такой как, в частности, майтанзиноид, MMAE, MMAF, стероид, модулятор LXR, или любая полезная нагрузка, описанная в настоящем документе, находится одна связь. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также соединен прямо с гидрофильным фрагментом. Это означает, что между ковалентным линкером и гидрофильным остатком, таким, как гидрофильные остатки, описанные в настоящем документе, находится одна связь. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер представляет собой аминокислоту лизин или ее производное.

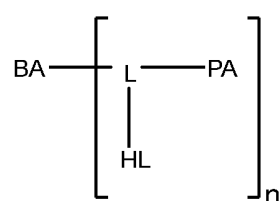
**[091]** В других примерах связующий агент соединен опосредованно с ковалентным линкером. Это означает, что между связующим агентом и ковалентным линкером находится более одной связи. Это означает также, что связующий агент соединен с ковалентным линкером через другую группу. Например, связующий агент может быть соединенным с малеимидной группой, которая соединена с полиэтиленгликолевой группой, соединенной с ковалентным линкером. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также опосредованно соединен с полезной нагрузкой, Это означает, что между ковалентным линкером и полезной нагрузкой, такой как, в частности, майтанзиноид, MMAE, MMAF, стероид, модулятор LXR, или любая полезная



нагрузка, описанная в настоящем документе, находится более одной связи. Это означает также, что ковалентный линкер соединен с полезной нагрузкой через другую группу. Например, ковалентный линкер может быть соединен с дипептидом, в частности, с Вал-Ала или Вал-Цит, не ограничиваясь перечисленным, который может быть соединен с PAB, соединенным с полезной нагрузкой. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер соединен также опосредованно с гидрофильным фрагментом. Это означает, что между ковалентным линкером и гидрофильной группой, такой как гидрофильные остатки, описанные в настоящем документе, находится более одной связи. Это означает также, что ковалентный линкер соединен с гидрофильным фрагментом через другой фрагмент. Например, ковалентный линкер может быть соединен с полиэтиленгликолевой группой, которая может быть соединена с реакционноспособной группой, соединенной с гидрофильным остатком. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер представляет собой аминокислоту лизин или ее производное.

**[092]** В определенных случаях гидрофильный остаток содержит концевую гидрофильную группу. В некоторых случаях гидрофильный остаток содержит, по меньшей мере, одну тауриновую группу. В некоторых случаях гидрофильный остаток содержит группу сульфоновой кислоты. В некоторых случаях гидрофильный остаток содержит концевую группу сульфоновой кислоты. В других случаях гидрофильный остаток содержит более одной группы сульфоновой кислоты. В некоторых случаях гидрофильный остаток содержит более одной концевой группы сульфоновой кислоты.

**[093]** В настоящем документе описаны соединения по формуле (I):

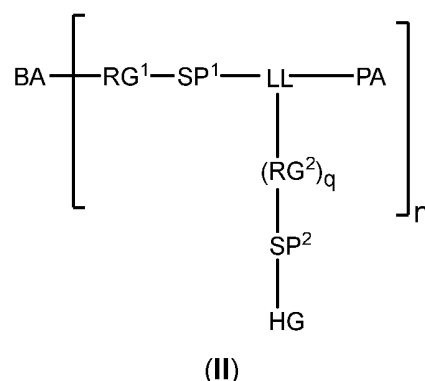


(I)

или их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, стереоизомеры или производные, где в формуле (I), **BA** представляет собой связующий агент; **L** представляет собой трехвалентный линкер; **HL** представляет собой гидрофильный остаток; **PA** - остаток полезной нагрузки; и подстрочный индекс **n** является целым числом от 1 до 30. В некоторых случаях может присутствовать

более одного трехвалентного линкера **L**. В некоторых случаях **n** является целым числом от 1 до 4. В некоторых случаях **n** равен 1. В некоторых случаях **n** равен 2. В некоторых случаях **n** равен 3. В некоторых случаях **n** равен 4.

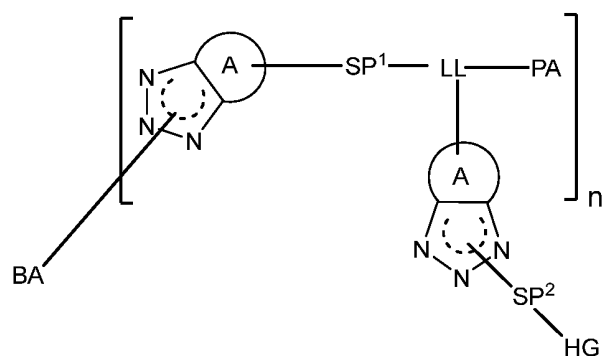
[094] В одном примере соединение по формуле (I) имеет формулу (II):



где в формуле (II), **BA** представляет собой связующий агент; **LL** - трехвалентный линкер; **RG<sup>1</sup>** и **RG<sup>2</sup>** являются остатками реакционноспособной группы; **SP<sup>1</sup>** и **SP<sup>2</sup>** в каждом случае независимо отсутствуют или являются остатком спейсерной группы; **HG** - гидрофильный остаток; **PA** - остаток полезной нагрузки; подстрочный индекс **n** является целым числом от 1 до 30; и подстрочный индекс **q** равен 0 или 1. В некоторых случаях может присутствовать более одного трехвалентного линкера **LL**. В некоторых случаях **n** является целым числом от 1 до 4. В некоторых случаях **n** равен 1. В некоторых случаях **n** равен 2. В некоторых случаях **n** равен 3. В некоторых случаях **n** равен 4. В некоторых случаях **HG** является концевой гидрофильной группой. В некоторых случаях **HG** содержит одну концевую группу сульфоновой кислоты (SO<sub>3</sub>H), или ее соли. В других случаях **HG** содержит более одной концевой группы сульфоновой кислоты или ее соли. В некоторых случаях **HG** содержит одну концевую тауриновую группу или ее соли. В других случаях **HG** содержит более одной концевой тауриновой группы или ее соли. В некоторых случаях **HG** содержит одну концевую группу фосфоновой кислоты (PO<sub>3</sub>H), или ее соль. В других случаях **HG** содержит более одной концевой группы фосфоновой кислоты или ее соли. В некоторых случаях **HG** содержит одну концевую аминную группу или ее соль. В других случаях **HG** содержит более одной концевой аминной группы или ее соли. В других случаях **HG** содержит одну концевую четвертичную аминную группу или ее соли. В других случаях **HG** содержит более одной концевой четвертичной аминной группы или ее соли. В некоторых случаях **HG** содержит одну концевую группу сахара или ее соль. В других случаях **HG** содержит более одной концевой группы сахара или ее соли.

[095] В некоторых случаях соединение по формуле (I) или формуле (II) содержит смесь соединений, где подстрочный индекс  $n$  равен 1, 2, 3 или 4. В некоторых случаях соединение по формуле (I) или формуле (II) содержит смесь соединений, где подстрочный индекс  $n$  равен 2. В некоторых случаях соединение по формуле (I) или формуле (II) содержит смесь соединений, где подстрочный индекс  $n$  равен 4.

[096] В одном примере соединение по формуле (I) имеет формулу (III):



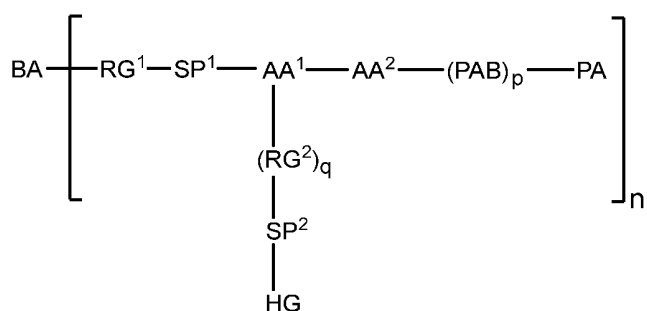
(III)

где

кольцо **A** конденсировано с триазолом и выбрано из группы, включающей циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкил, и гетероциклоалкенил;

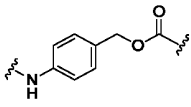

где циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкил, и гетероциклоалкенил необязательно замещены алкилом, -ОН, или  $-NR^aR^b$ , где  $R^a$  и  $R^b$  по отдельности представляют собой алкил или H.

[097] В другом примере соединение по формуле (I) имеет формулу (IV):



(IV).

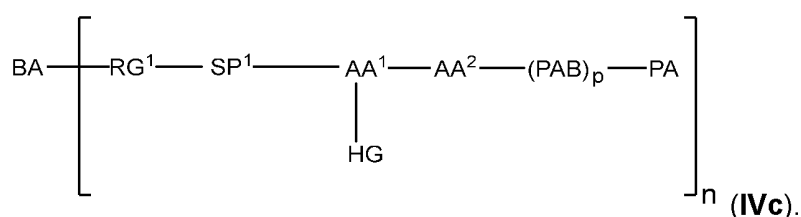
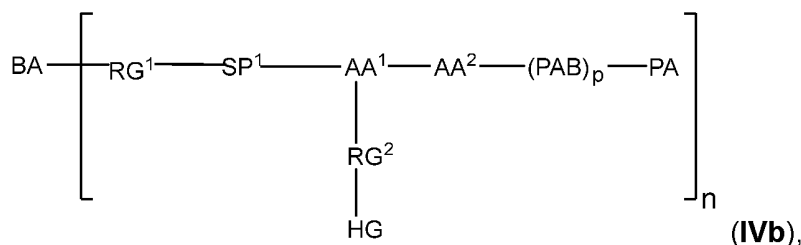
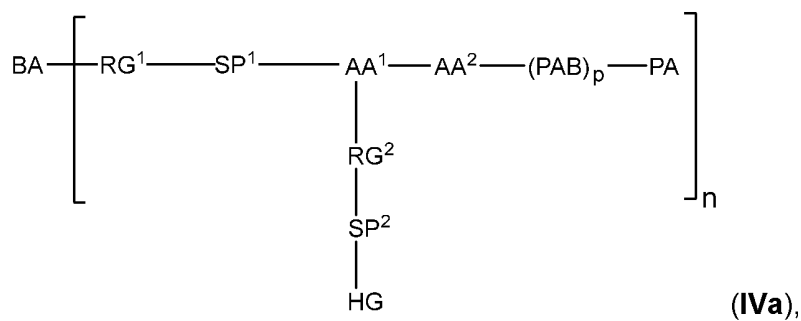
[098] В формуле (IV) **BA**, **RG<sup>1</sup>**, **SP<sup>1</sup>**, **RG<sup>2</sup>**, **SP<sup>2</sup>** и **HG** определены выше, **AA<sup>1</sup>** - трехвалентный линкер, содержащий аминокислотный остаток, и прямо или опосредованно соединен с антителом, с полезной нагрузкой и с гидрофильной группой; **AA<sup>2</sup>** является остатком дипептида, трипептида или тетрапептида; и **PAB**

представляет собой , где  указывает на атом, через который

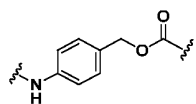
**PAB** соединен с соседними группами в формуле; подстрочный индекс **p** равен 0 или 1; и подстрочный индекс **q** равен 0 или 1. В некоторых случаях подстрочный индекс **p** равен 0 и подстрочный индекс **q** равен 0. В некоторых случаях подстрочный индекс **p** равен 1; и подстрочный индекс **q** равен 0. В некоторых случаях подстрочный индекс **p** равен 0; и подстрочный индекс **q** равен 1. В некоторых случаях подстрочный индекс **p** равен 1; и подстрочный индекс **q** равен 1. В некоторых случаях **SP<sup>1</sup>** содержит от 0 до 5 остатков полиэтиленгликоля (**PEG**). В некоторых случаях **SP<sup>2</sup>** содержит от 0 до 5 остатков **PEG**. В некоторых примерах **SP<sup>1</sup>** независимо в каждом случае выбирают из группы, включающей C<sub>1-6</sub> алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>e</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>e</sub>-C(O)-, -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>-C(O)-, -C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>v</sub>-, полиглицин (например, ((глицин)<sub>4</sub>-серин)<sub>f</sub> где подстрочный индекс **f** является целым числом от 1 до 6), и их комбинации, где подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4, подстрочный индекс **u** является целым числом от 1 до 8, и подстрочный индекс **v** является целым числом от 1 до 8. В некоторых примерах **SP<sup>2</sup>** независимо в каждом случае, выбирают из группы, включающей C<sub>1-6</sub> алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>e</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>e</sub>-C(O)-, -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>-C(O)-, -C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>v</sub>-, полиглицин (например, ((глицин)<sub>4</sub>-серин)<sub>f</sub>, где подстрочный индекс **f** является целым числом от 1 до 6), и их комбинации, где подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4, подстрочный индекс **u** является целым числом от 1 до 8, и подстрочный индекс **v** является целым числом от 1 до 8. В некоторых примерах любой **AA<sup>1</sup>** или **AA<sup>2</sup>** содержит, независимо в каждом случае, аминокислоту, выбранную из группы, включающей аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин, или ее производное, или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** является аминокислотой, которую выбирают из группы, включающей аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин,

глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, или ее производное, или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** является аминокислотой с тремя функциональными группами для соединения с полезной нагрузкой, со связующим агентом (например, антителом или его антиген-связывающим фрагментом), и с линкером, содержащим гидрофильную группу, например, лизин, аспарагин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, глутамин, цистеин, треонин, серин, или тирозин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - лизин или производное лизина. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - L-лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - D-лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - глутамин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - глутаминовая кислота. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - аспарагиновая кислота. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** - валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** - цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** - валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** - аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** - валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** - глицин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** - глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** - лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** - лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** - глутамин-валин-аланин. В определенных вариантах осуществления изобретения ((глицин)<sub>4</sub>-серин)<sub>f</sub> - (глицин)<sub>4</sub>-серин.

[099] В некоторых примерах соединение по формуле (I) или формуле (II) или формуле (III) или формуле (IV) имеет формулу (IVa), формулу (IVb) или формулу (IVc):



[0100] В формуле (IVa), (IVb), и (IVc), **BA**, **RG<sup>1</sup>**, **SP<sup>1</sup>**, **RG<sup>2</sup>**, **SP<sup>2</sup>**, **HG** и подстрочный индекс **p** определены выше, **AA<sup>1</sup>** - трехвалентный линкер содержащий аминокислотный остаток и прямо или опосредованно соединенный с антителом, полезной нагрузкой и гидрофильной группой; **AA<sup>2</sup>** представляет собой остаток дипептида, трипептида или тетрапептида; и **PAB** представляет собой

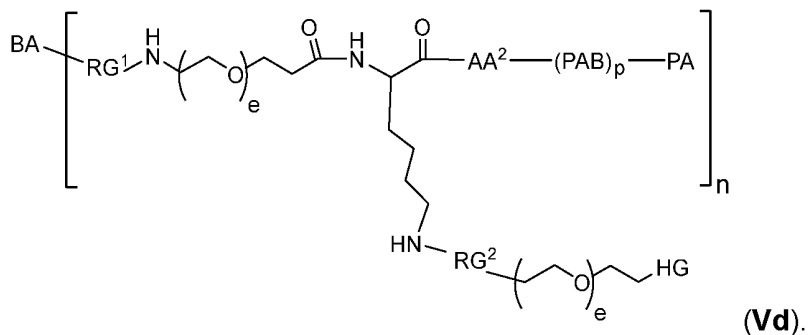
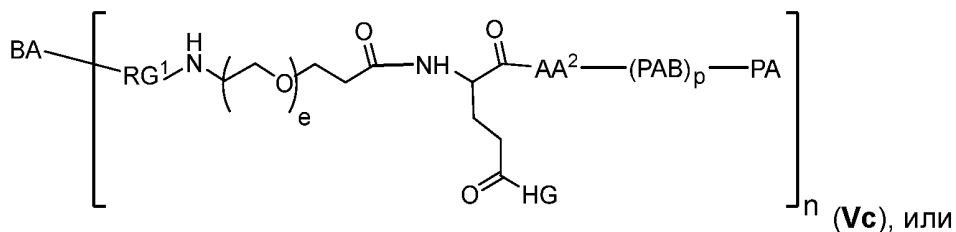
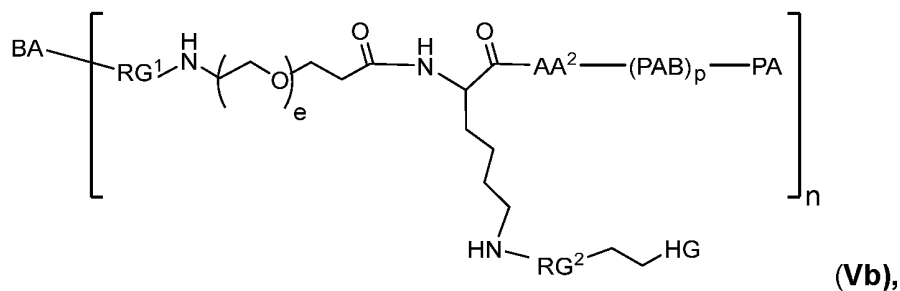
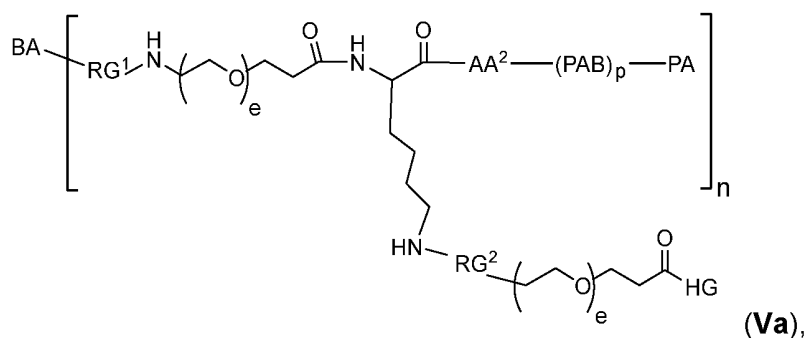


, где указывает на атом, через который **PAB** соединен с соседними группами в формуле. В некоторых случаях подстрочный индекс **p** равен 0. В некоторых случаях подстрочный индекс **p** равен 1. В некоторых случаях **SP<sup>1</sup>** содержит от 0 до 5 остатков полиэтиленгликоля (**PEG**). В некоторых случаях **SP<sup>2</sup>** содержит от 0 до 5 остатков **PEG**. В некоторых примерах **SP<sup>1</sup>** независимо в каждом случае, выбирают из группы, включающей C<sub>1-6</sub> алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>e</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>e</sub>-C(O)-, -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>-C(O)-, -C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>v</sub>-, полиглицин (например, ((глицин)<sub>4</sub>-серин)<sub>f</sub> где подстрочный индекс **f** является целым числом от 1 до 6), и их комбинации, где подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4, подстрочный индекс **u** является целым числом от 1 до 8, и подстрочный индекс **v** является целым числом от 1 до 8. В некоторых примерах **SP<sup>2</sup>** независимо в каждом случае, выбирают из группы, включающей C<sub>1-</sub>

$\text{e}$  алкилен,  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})-$ ,  $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_{\text{e}}$ ,  $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_{\text{e}}-\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_{\text{u}}-\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{\text{v}}-$ , полиглицин (например, ((глицин) $_4$ -серин) $_{\text{f}}$  где подстрочный индекс  $\text{f}$  является целым числом от 1 до 6), и их комбинации, где подстрочный индекс  $\text{e}$  является целым числом от 0 до 4, подстрочный индекс  $\text{u}$  является целым числом от 1 до 8, и подстрочный индекс  $\text{v}$  является целым числом от 1 до 8. В некоторых примерах любой  $\text{AA}^1$  или  $\text{AA}^2$  содержит, независимо в каждом случае, аминокислоту, которую выбирают из группы, включающей аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, или ее производное, или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^1$  является аминокислотой, которую выбирают из группы, включающей аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, или ее производное, или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^1$  - лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^1$  является аминокислотой с тремя функциональными группами для соединения с полезной нагрузкой, со связующим агентом (например, антителом или его антиген-связывающим фрагментом), и с линкером, содержащим гидрофильную группу, например, лизин, аспарагин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, глутамин, цистеин, треонин, серин, или тирозин. В определенных вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^1$  - лизин или производное лизина. В определенных вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^1$  - L-лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^1$  - D-лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^1$  - глутамин. В определенных вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^1$  - глутаминовая кислота. В определенных вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^1$  - аспарагиновая кислота. В определенных вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^2$  - валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^2$  - цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^2$  - валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^2$  - аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^2$  - валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $\text{AA}^2$  - глицин-валин. В

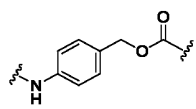
некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** - глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** - лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** - лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** - глутамин-валин-аланин. В определенных вариантах осуществления изобретения ((глицин)<sub>4</sub>-серин)<sub>f</sub> - (глицин)<sub>4</sub>-серин.


**[0101]** В некоторых примерах соединение по формуле (I) или формуле (II) или формуле (III) или формуле (IV) имеет формулу (Va), (Vb), (Vc) или (Vd) соответственно:





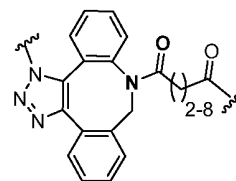
[0102] В формулах (Va), (Vb), (Vc), и (Vd) группы BA, RG<sup>1</sup>, SP<sup>1</sup>, RG<sup>2</sup>, SP<sup>2</sup> и HG соответствуют представленным выше определениям, AA<sup>2</sup> представляет собой остаток дипептида, трипептида или тетрапептида; и PAB представляет собой



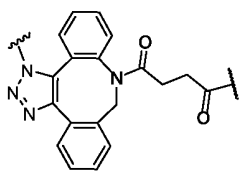
, где  указывает на атом, посредством которого фрагмент PAB связан с соседними группами в формуле; подстрочный индекс p равен 0 или 1; и подстрочный индекс e в каждом случае независимо является целым числом от 0 до 6, или является целым числом от 0 до 5. В некоторых случаях подстрочный индекс p равен 0. В некоторых случаях подстрочный индекс p равен 1. В любом из этих примеров подстрочный индекс e равен 1, 2, 3, или 4. В некоторых примерах подстрочный индекс e равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс e равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс e равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс e равен 4. В некоторых примерах подстрочный индекс e равен 5. В некоторых примерах подстрочный индекс e равен 6. В некоторых примерах SP<sup>1</sup> независимо в каждом случае, выбирают из группы, включающей C<sub>1-6</sub> алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>e</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>e</sub>-C(O)-, -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>-C(O)-, -C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>v</sub>-, полиглицин (например, ((глицин)<sub>4</sub>-серин)<sub>f</sub> где подстрочный индекс f является целым числом от 1 до 6), и их комбинации, где подстрочный индекс e является целым числом от 0 до 4, подстрочный индекс u является целым числом от 1 до 8, и подстрочный индекс v является целым числом от 1 до 8. В некоторых примерах SP<sup>2</sup> независимо в каждом случае, выбирают из группы, включающей C<sub>1-6</sub> алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>e</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>e</sub>-C(O)-, -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>-C(O)-, -C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>v</sub>-, полиглицин (например, ((глицин)<sub>4</sub>-серин)<sub>f</sub> где подстрочный индекс f является целым числом от 1 до 6), и их комбинации, где подстрочный индекс e является целым числом от 0 до 4, подстрочный индекс u является целым числом от 1 до 8, и подстрочный индекс v является целым числом от 1 до 8. В некоторых примерах любой AA<sup>2</sup> содержит, независимо в каждом случае, аминокислоту, которую выбирают из группы, включающей аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, или ее производное, или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления изобретения AA<sup>2</sup> представляет собой валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения AA<sup>2</sup> представляет собой цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления



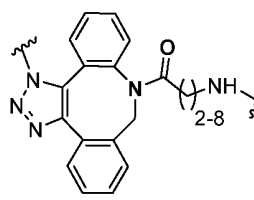
где  указывает на атом, через который **RG<sup>1</sup>** или **RG<sup>2</sup>** соединен с соседними группами в формуле.

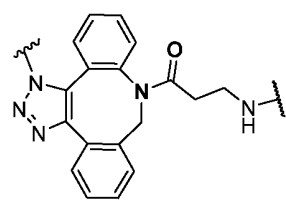


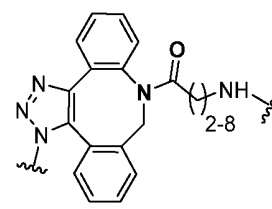
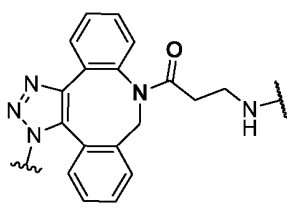
[0104] В определенных вариантах осуществления изобретения

представляет собой  . В определенных вариантах осуществления

изобретения  представляет собой  . В

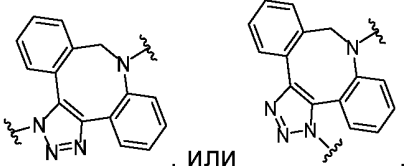
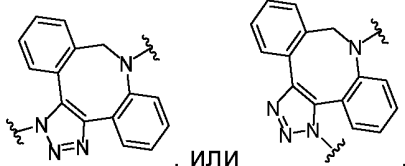
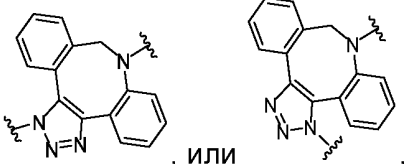
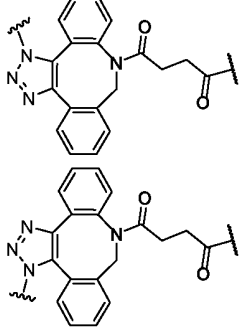
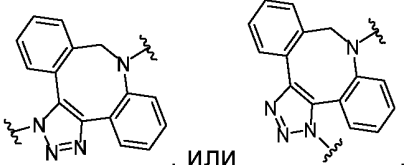
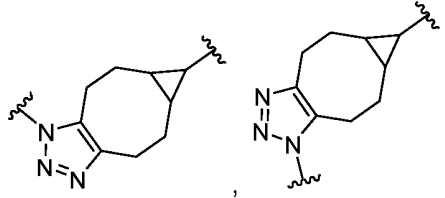
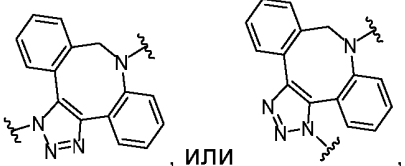
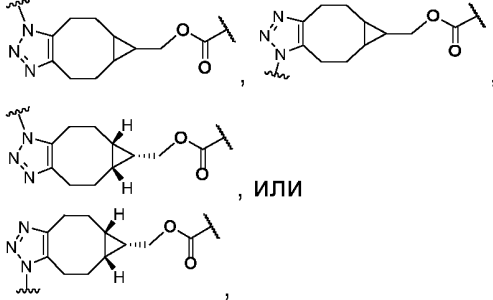
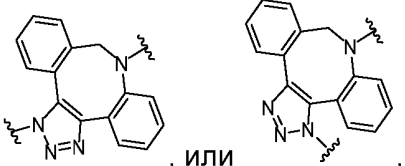
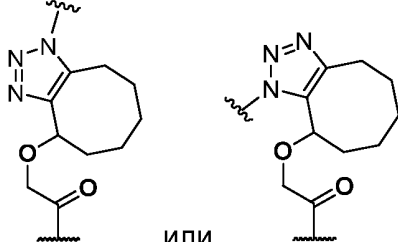
определенных вариантах осуществления изобретения 

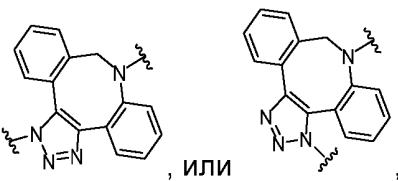
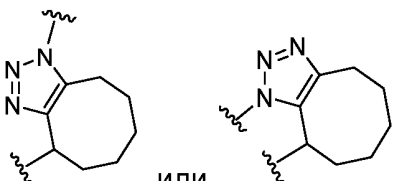
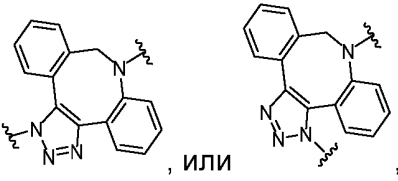
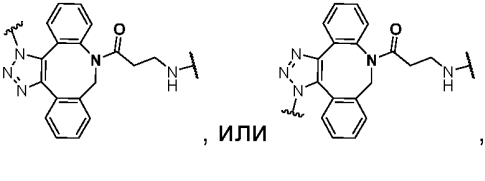
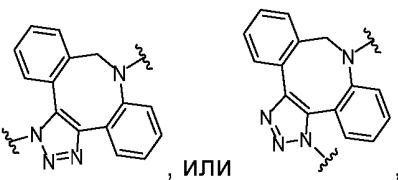
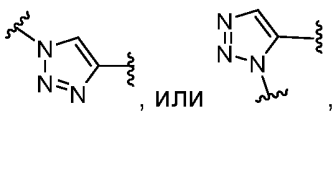
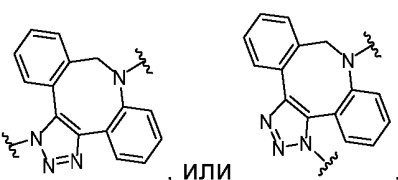
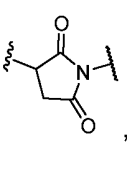
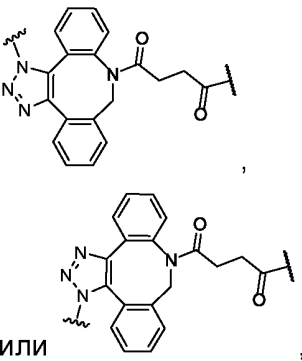
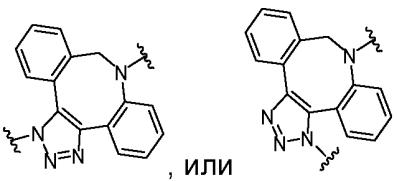
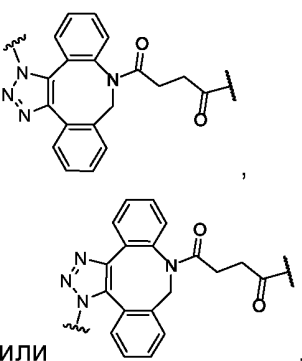
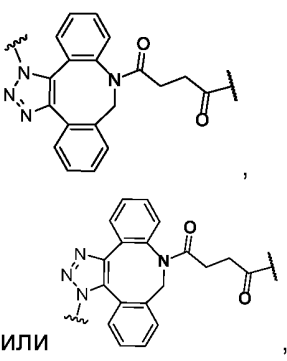
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления

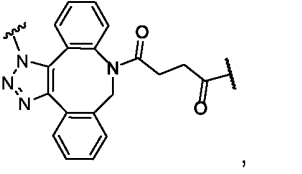
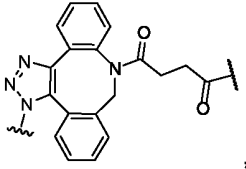
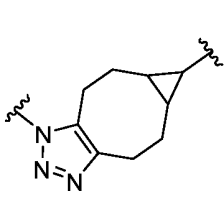
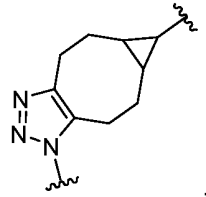
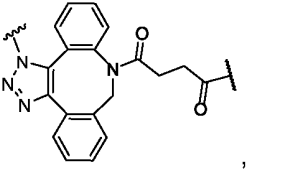
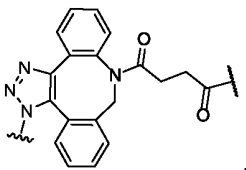
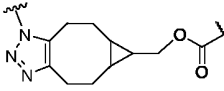
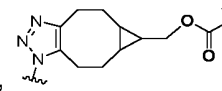
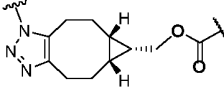
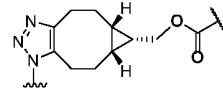
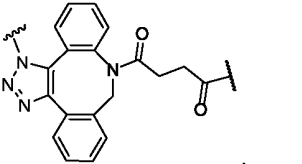
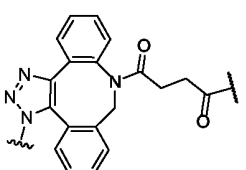
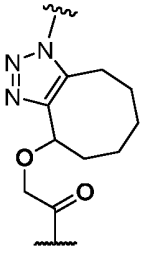
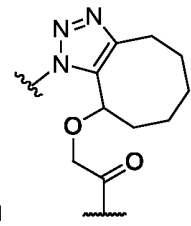
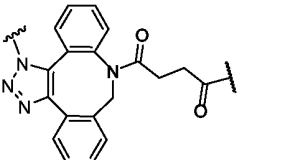
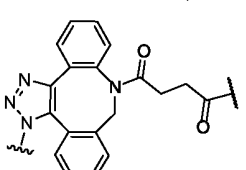
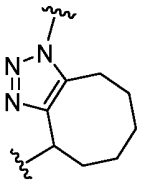
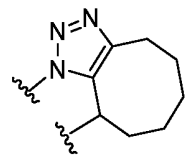
изобретения  представляет собой  .

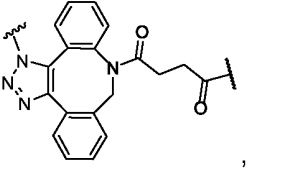
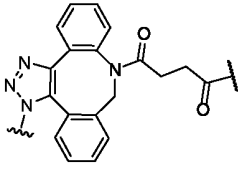
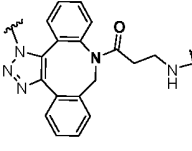
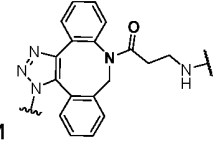
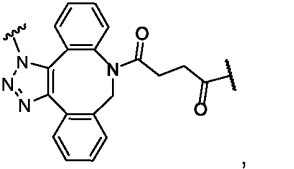
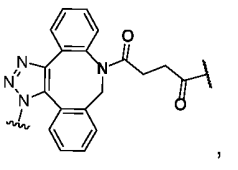
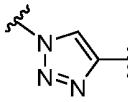
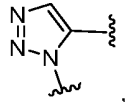
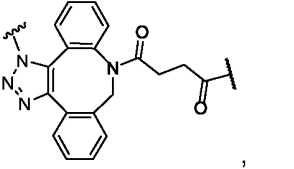
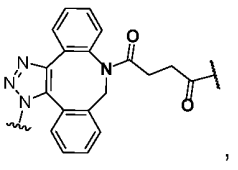
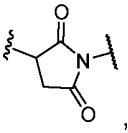
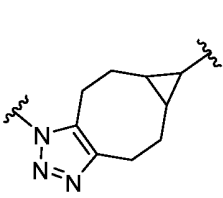
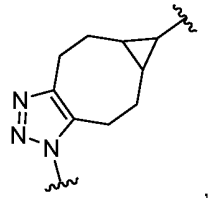
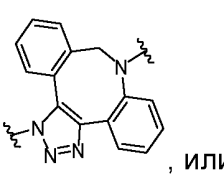
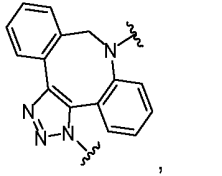
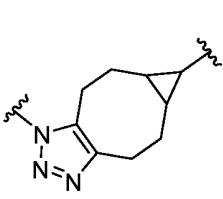
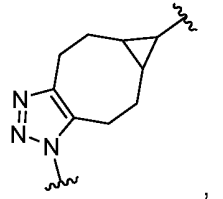
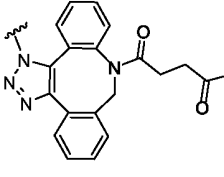
[0105] В определенных случаях **RG<sup>1</sup>** и **RG<sup>2</sup>** в каждом случае независимо принимают значения, показанные в Таблице R.

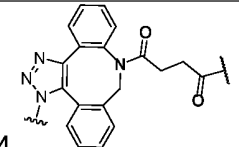
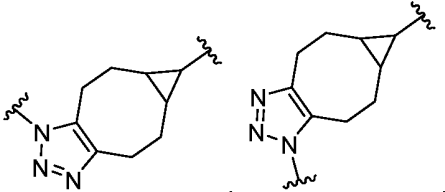
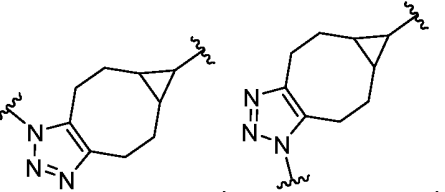
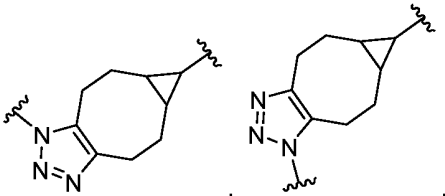
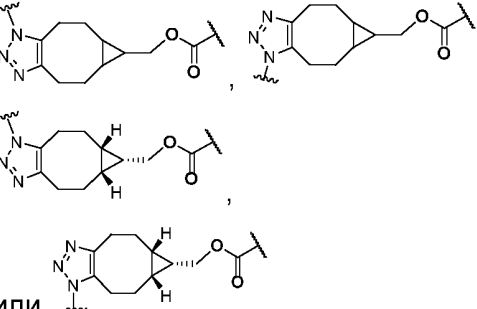
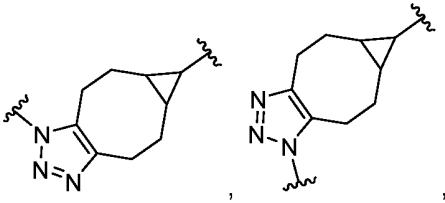
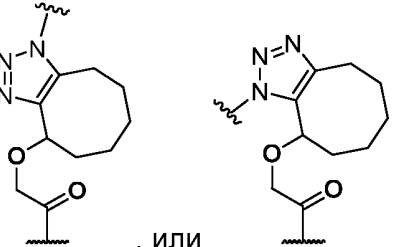
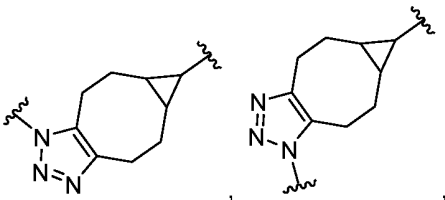
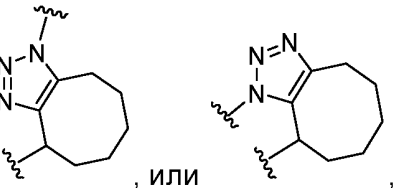
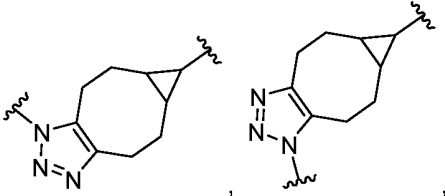
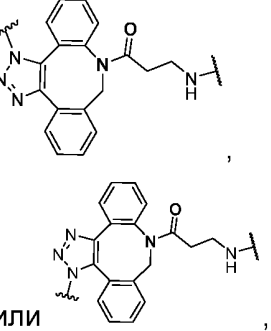
Таблица R

RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ИЛИ ,</p>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ИЛИ ,</p>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ,</p>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ИЛИ ,</p>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ИЛИ ,</p>

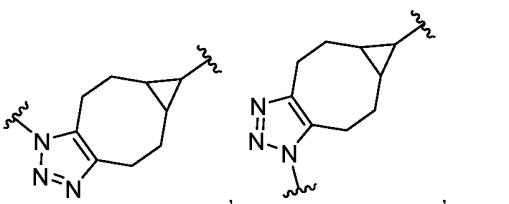
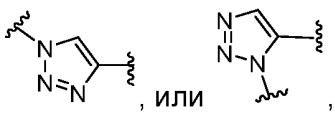
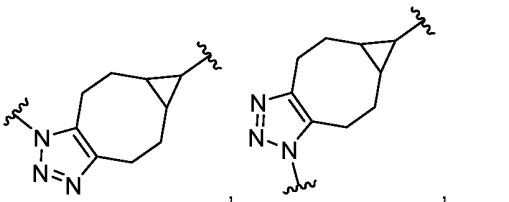
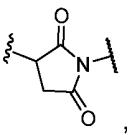
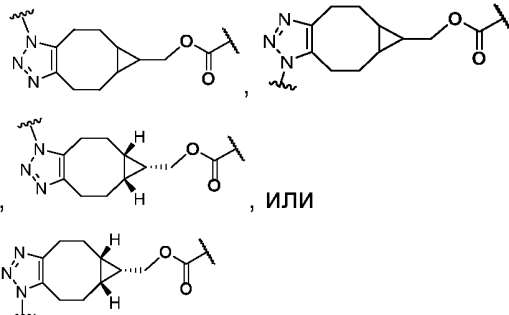
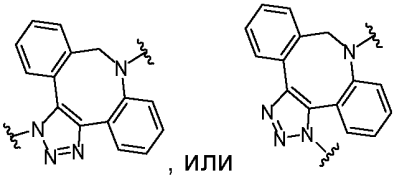
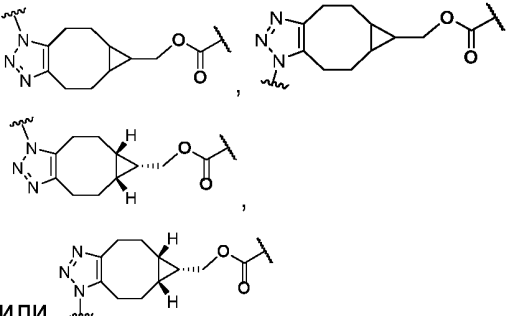
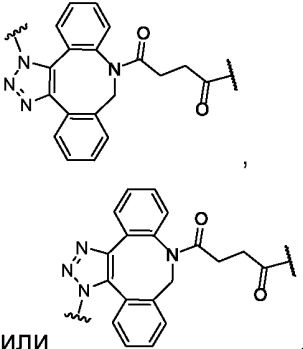
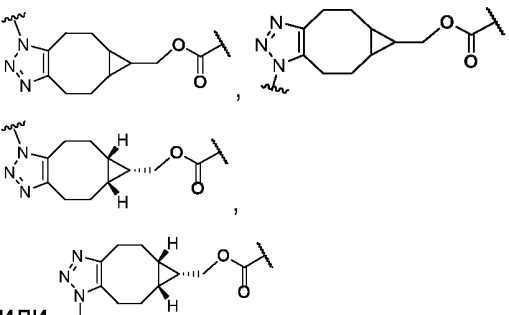
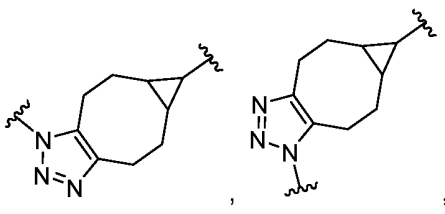
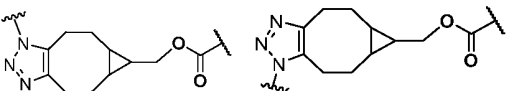
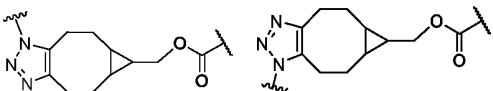
RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ИЛИ ,</p>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ИЛИ ,</p>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ИЛИ ,</p>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ,</p>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ИЛИ ,</p>
 <p>, ИЛИ ,</p>	 <p>, ИЛИ ,</p>

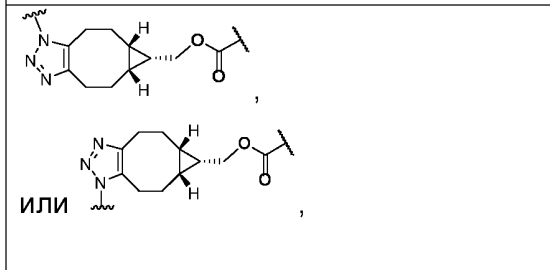
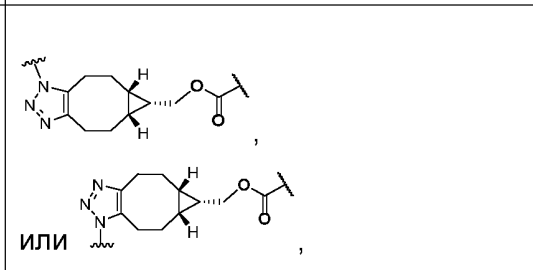
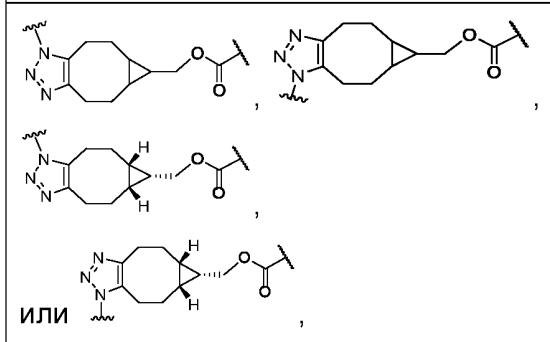
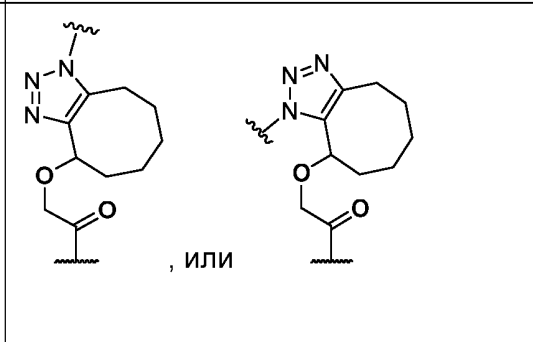
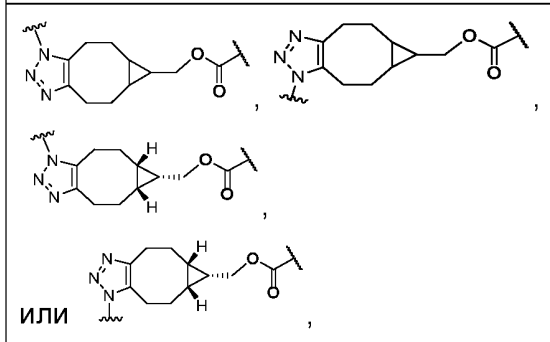
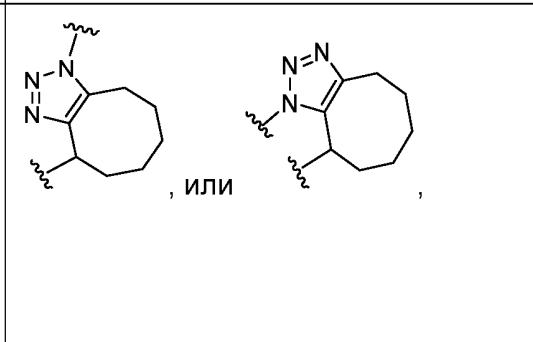
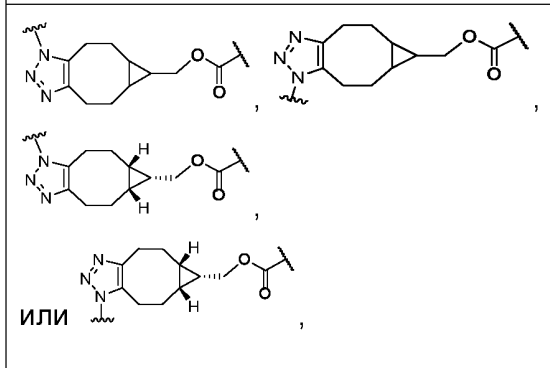
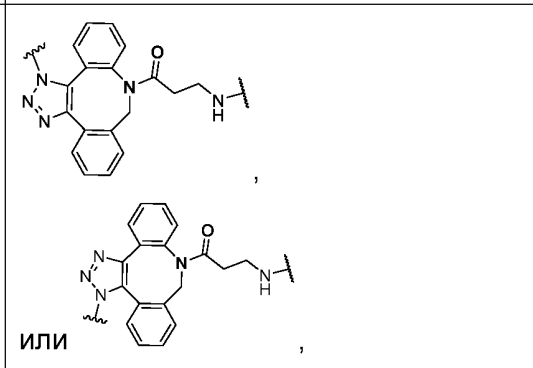
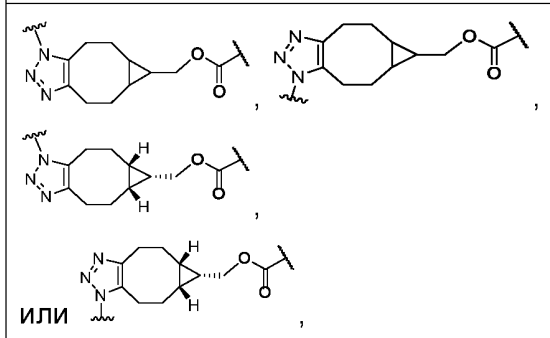
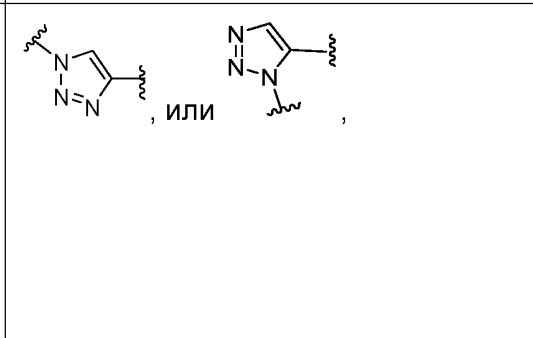
RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
  ИЛИ	 
  ИЛИ	    ИЛИ
  ИЛИ	 ИЛИ 
  ИЛИ	 ИЛИ 

RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
  или	 или 
  или	 или 
  или	
 или 	 или 
 или 	

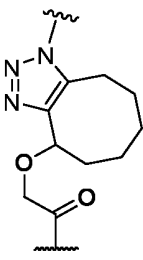
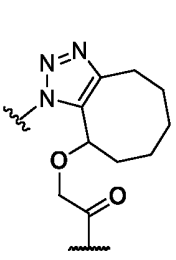
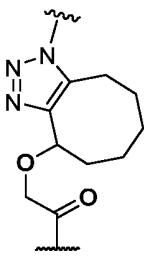
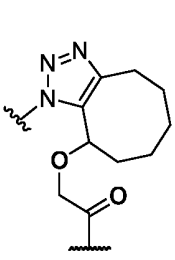
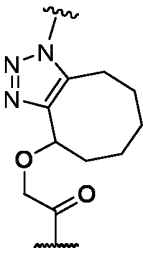
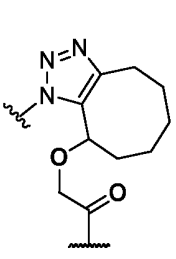
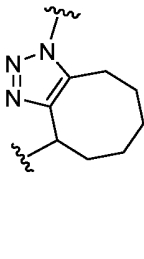
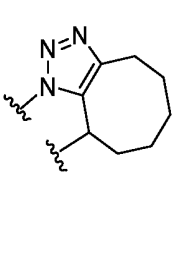
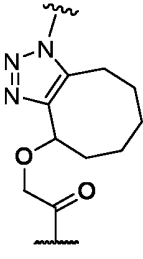
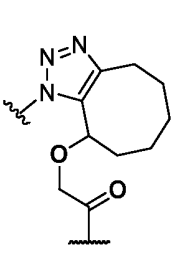
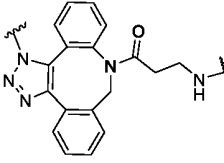
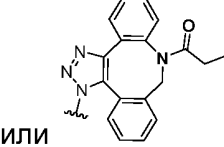
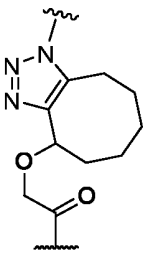
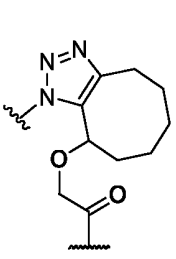
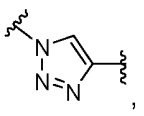
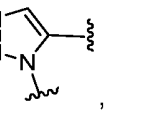
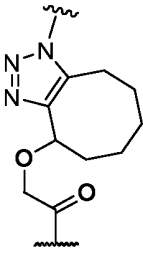
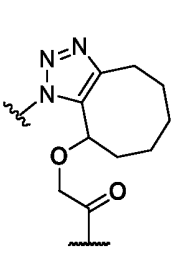
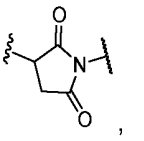
RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
	 <p>ИЛИ</p>
	
	 <p>ИЛИ</p>
	 <p>ИЛИ</p>
	 <p>ИЛИ</p>
	 <p>ИЛИ</p>

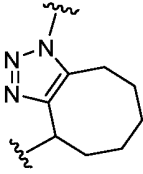
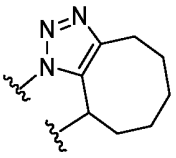
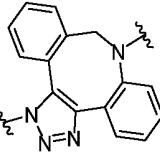
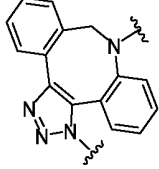
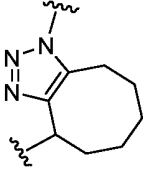
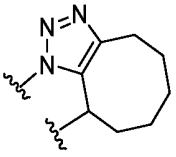
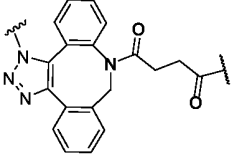
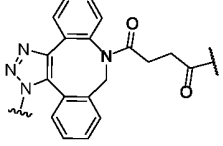
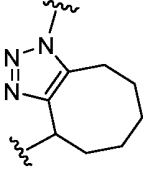
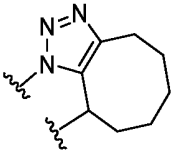
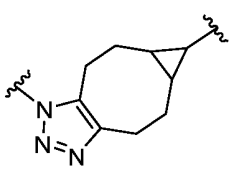
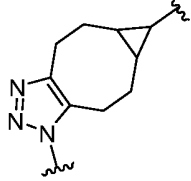
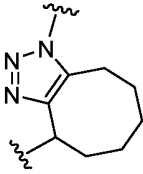
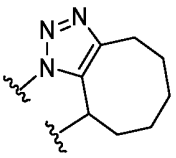
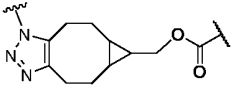
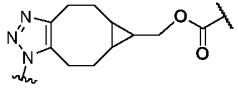
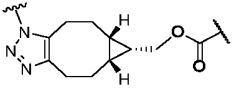
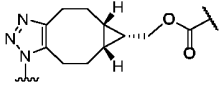
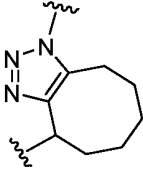
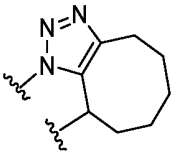
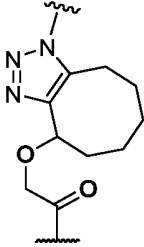
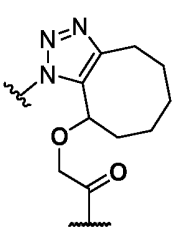
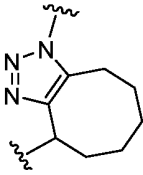
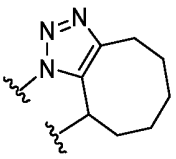
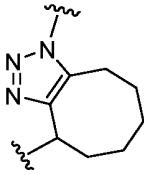
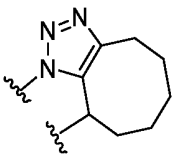


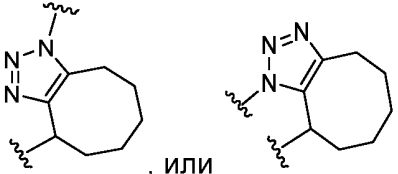
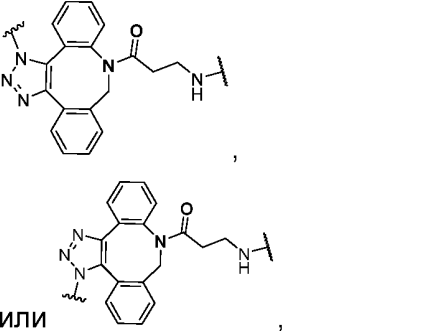
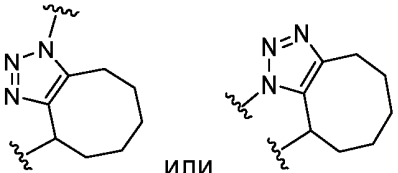
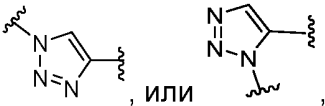
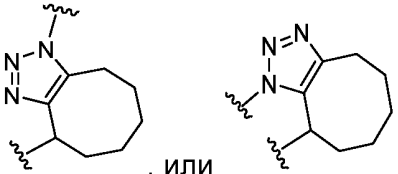
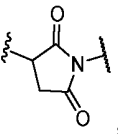
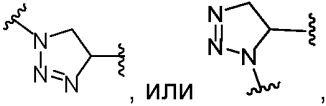
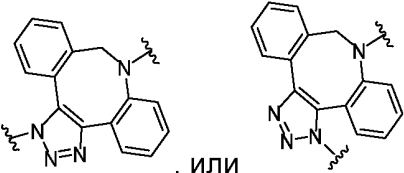
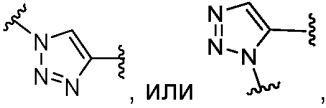
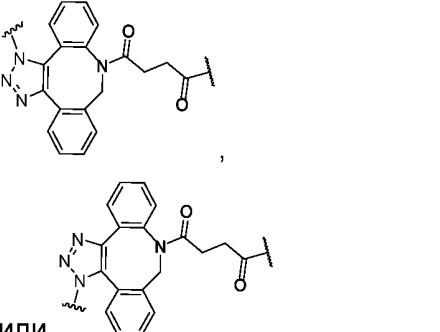
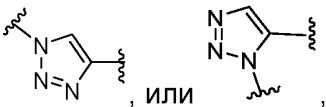
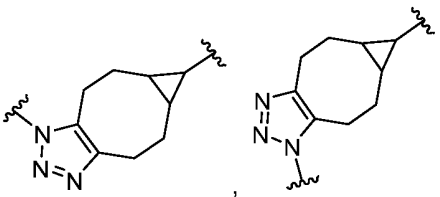
RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
	
	
	
	
	
	

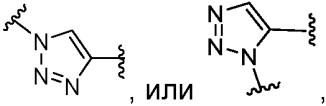
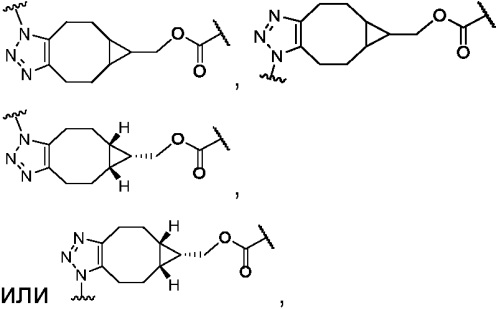
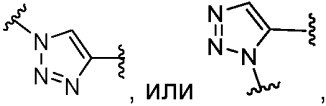
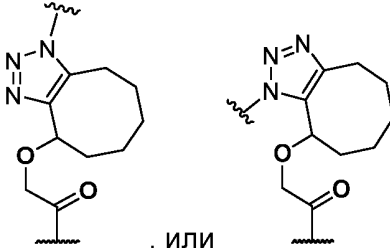
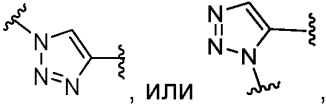
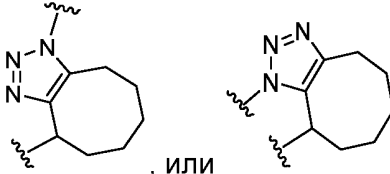
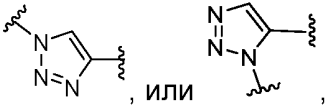
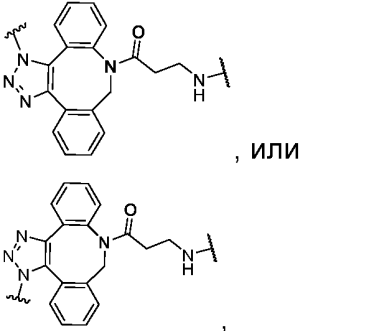
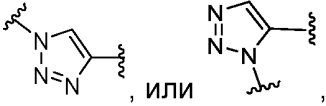
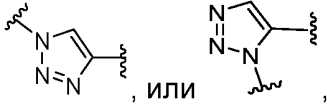
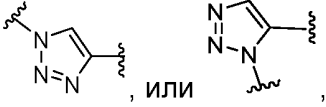
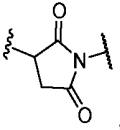
RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
	
	
	
	
	

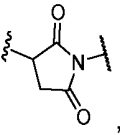
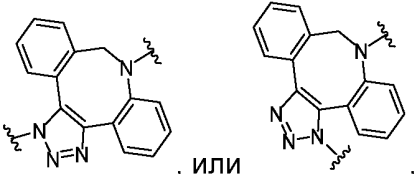
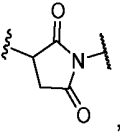
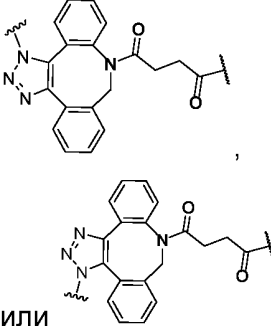
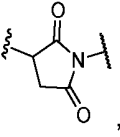
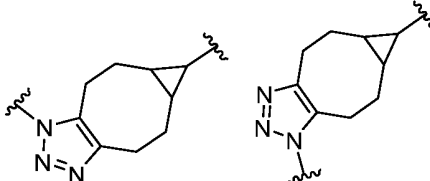
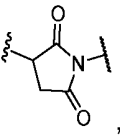
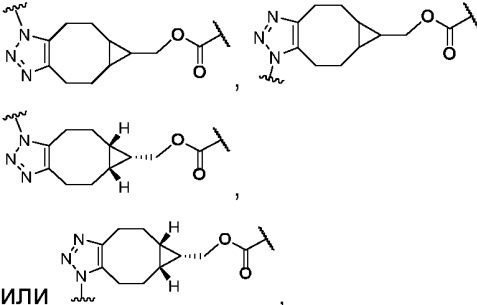
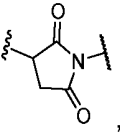
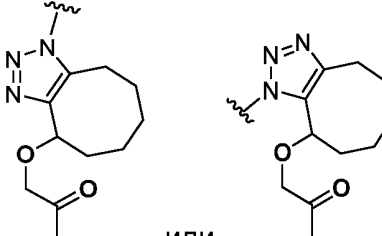
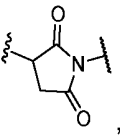
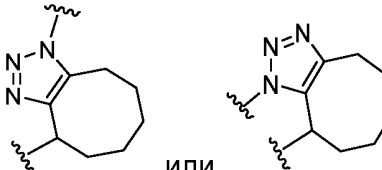
RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
<p>, или</p>	<p>,</p>
<p>, или</p>	<p>, или</p>
<p>, или</p>	<p>или</p>
<p>, или</p>	<p>,</p>
<p>, или</p>	<p>или</p>

RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
 , ИЛИ 	 , ИЛИ 
 , ИЛИ 	 , ИЛИ 
 , ИЛИ 	 ,  , ИЛИ
 , ИЛИ 	 , ИЛИ 
 , ИЛИ 	

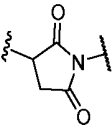
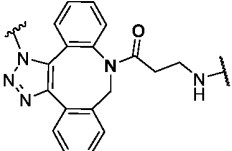
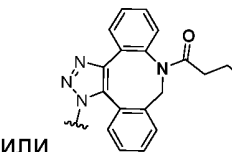
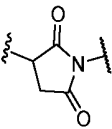
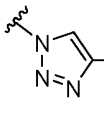
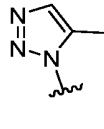
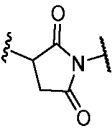
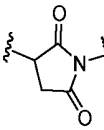
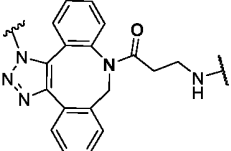
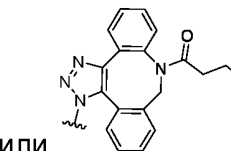
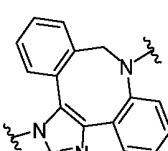
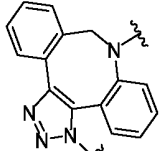
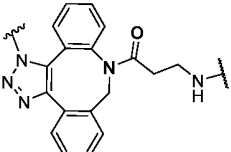
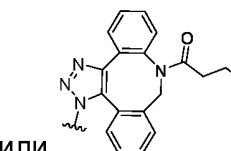
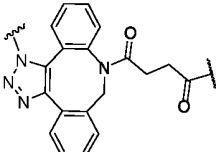
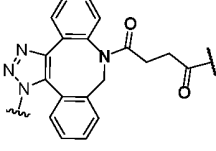
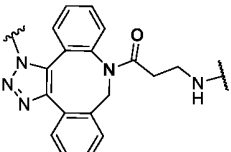
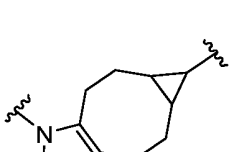
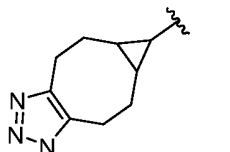
RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
 , ИЛИ  ,	 , ИЛИ  ,
 , ИЛИ  ,	 , ИЛИ  ,
 , ИЛИ  ,	 ,  ,
 , ИЛИ  ,	 ,  ,  , ИЛИ  ,
 , ИЛИ  ,	 , ИЛИ  ,
 , ИЛИ  ,	 , ИЛИ  ,

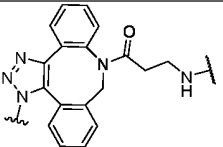
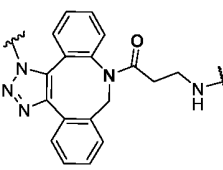
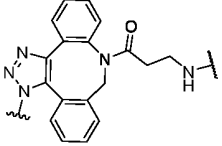
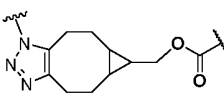
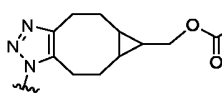
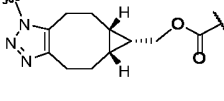
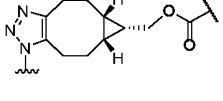
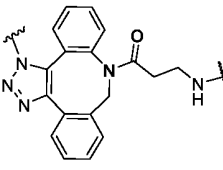
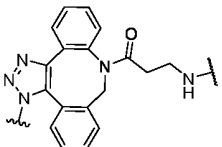
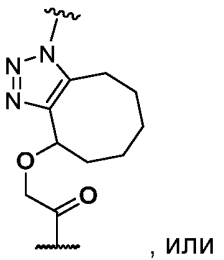
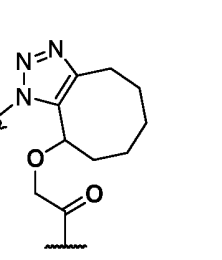
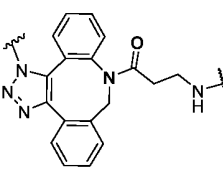
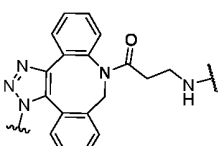
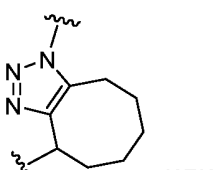
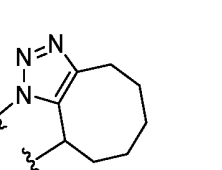
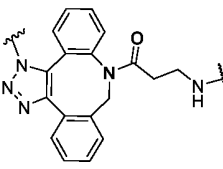
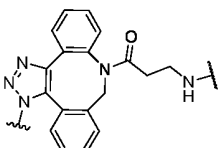
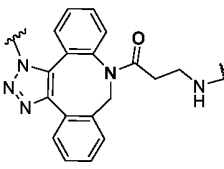
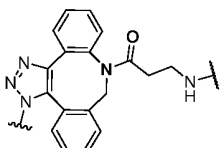
RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
	
	
	
	
	
	

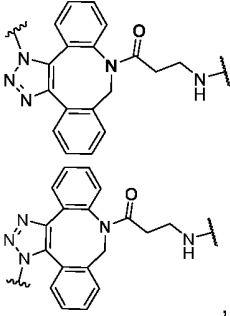
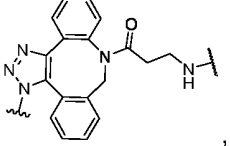
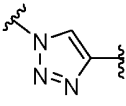
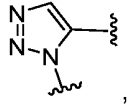
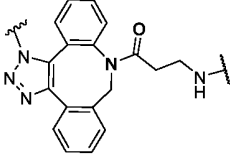
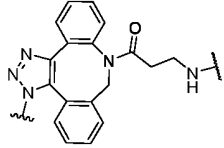
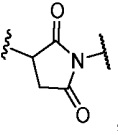
RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
	
	
	
	
	
	

RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
	 , ИЛИ ,
	 , ИЛИ ,
	 ,
	 , ИЛИ ,
	 , ИЛИ
	 , ИЛИ ,



RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
	 или 
	 , или 
	
 или 	 , или 
 или 	 или 
	или  , 

RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
	
  ИЛИ	    ИЛИ
  ИЛИ	 ИЛИ 
  ИЛИ	 ИЛИ 
  ИЛИ	  ИЛИ

RG <sup>1</sup>	RG <sup>2</sup>
 или 	 , или  ,
 или 	 ,

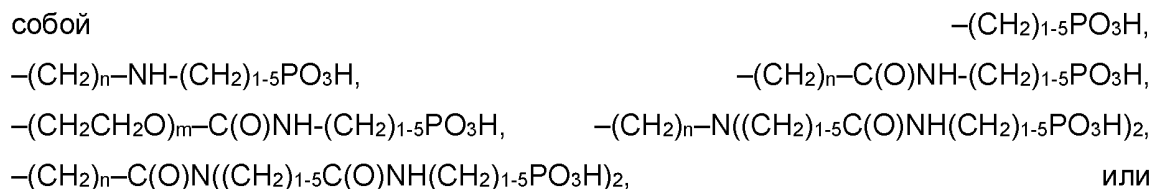
где  указывает на атом, через который **RG<sup>1</sup>** или **RG<sup>2</sup>** соединен с соседними группами в формуле.

[0106] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** представляет собой

$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ ,  $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ ,  
 $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ ,  $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ ,  
 $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ ,  
 $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ , или  
 $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ , где n равен 1, 2, 3, 4 или 5, и m равен 1, 2, 3, 4, или 5. В одном варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ . В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ , где m равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ , где

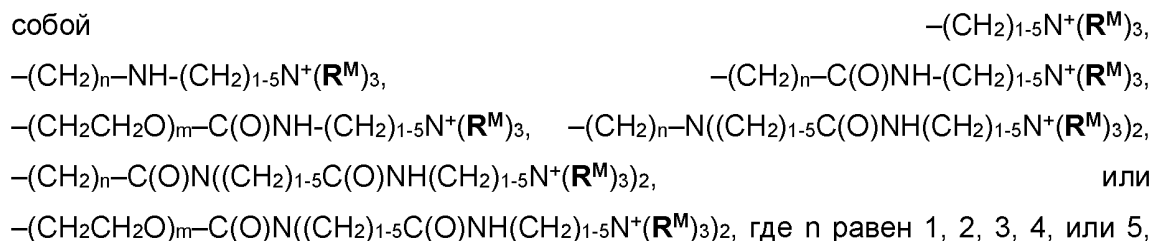
n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$ , где m равен 1, 2, 3, 4, или 5.

**[0107]** В некоторых случаях для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** представляет собой



$-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{PO}_3\text{H})_2$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5, и m равен 1, 2, 3, 4, или 5. В одном варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{PO}_3\text{H}$ . В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{PO}_3\text{H}$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{PO}_3\text{H}$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{PO}_3\text{H}$ , где m равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(\text{CH}_2)_n-\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{PO}_3\text{H})_2$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{PO}_3\text{H})_2$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{PO}_3\text{H})_2$ , где m равен 1, 2, 3, 4, или 5.

**[0108]** В некоторых случаях для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** представляет собой



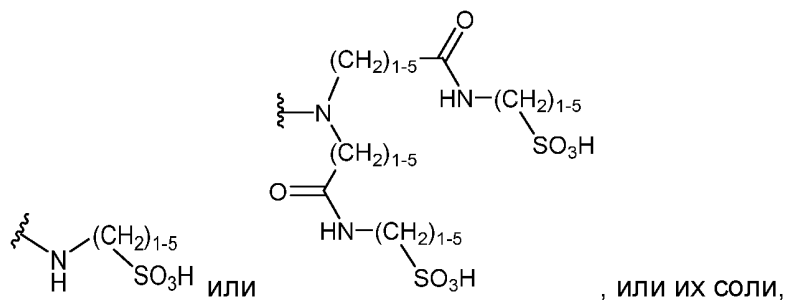
m равен 1, 2, 3, 4, или 5, и  $R^M$  в каждом случае независимо представляет собой H, C<sub>1-6</sub>-алкил, C<sub>3-7</sub>-циклоалкил или C<sub>1-6</sub>-алкил-C<sub>3-7</sub>-циклоалкил, или два  $R^M$  совместно с атомом азота, с которым они соединены, образуют 3-7-членное гетероциклоалкильное кольцо. В одном варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3$ . В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3$ , где m равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3)_2$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3)_2$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3)_2$ , где m равен 1, 2, 3, 4, или 5.

[0109] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** представляет собой

$-(CH_2)_{1-5}N^+Me_3$ ,  $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}N^+Me_3$ ,  $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}N^+Me_3$ ,  
 $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}N^+Me_3$ ,  $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+Me_3)_2$ ,  
 $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+Me_3)_2$ , или  
 $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+Me_3)_2$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5, и m равен 1, 2, 3, 4, или 5. В одном варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_{1-5}N^+Me_3$ . В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}N^+Me_3$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}N^+Me_3$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}N^+Me_3$ , где m равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+Me_3)_2$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+Me_3)_2$ , где n равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет

собой  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{N}^+\text{Me}_3)_2$ , где  $m$  равен 1, 2, 3, 4, или 5.

[0110] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** представляет собой



где указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в

формуле. В одном случае **HG** представляет собой , или его соли. В

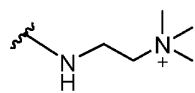
другом случае **HG** представляет собой , или его соли. В


одном случае **HG** представляет собой , или его соли. В другом

случае **HG** представляет собой , или его соли.

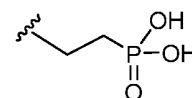
[0111] В некоторых примерах для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** является

амином или солями амина, например, четвертичным амином, например,




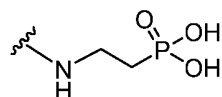
, где  указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.


[0112] В других примерах для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** является



фосфоновой кислотой или солями фосфоновой кислоты, например,

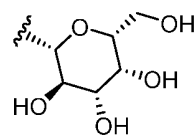
где  указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле. В других примерах для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** является



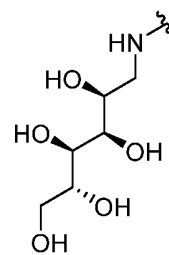
где  указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.

[0113] В других примерах для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** является

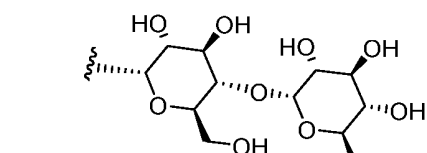
остатком сахара, например,




(галактозы),



(глюкамина),



или (мальтозы), где  указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.

[0114] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc),

формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **SP<sup>1</sup>** и **SP<sup>2</sup>** независимо в каждом случае отсутствуют, или их выбирают из группы, включающей C<sub>1-6</sub> алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>e</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>e</sub>-C(O)-, -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>-C(O)-, -C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>v</sub>-, полиглицин (например, ((глицин)<sub>4</sub>-серин)<sub>f</sub> где подстрочный индекс **f** является целым числом от 1 до 6), и их комбинации, где подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4, подстрочный индекс **u** является целым числом от 1 до 8, и подстрочный индекс **v** является целым числом от 1 до 8. В некоторых случаях **SP<sup>1</sup>** и **SP<sup>2</sup>** независимо в каждом случае принимают значения, показанные в Таблице S.

**ТАБЛИЦА S**

<b>SP<sup>1</sup></b>	<b>SP<sup>2</sup></b>
отсутствует	отсутствует
отсутствует	C <sub>1-6</sub> алкилен,
отсутствует	-NH-,
отсутствует	-C(O)-,
отсутствует	(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,
отсутствует	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -(-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ) <sub>e</sub> -C(O)-,
отсутствует	-C(O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>u</sub> -C(O)-,
отсутствует	-C(O)-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -,
отсутствует	(глицин) <sub>4</sub> -серин
C <sub>1-6</sub> алкилен,	отсутствует
C <sub>1-6</sub> алкилен,	C <sub>1-6</sub> алкилен,
C <sub>1-6</sub> алкилен,	-NH-,
C <sub>1-6</sub> алкилен,	-C(O)-,
C <sub>1-6</sub> алкилен,	(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,
C <sub>1-6</sub> алкилен,	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -(-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ) <sub>e</sub> -C(O)-,
C <sub>1-6</sub> алкилен,	-C(O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>u</sub> -C(O)-,
C <sub>1-6</sub> алкилен,	-C(O)-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -,



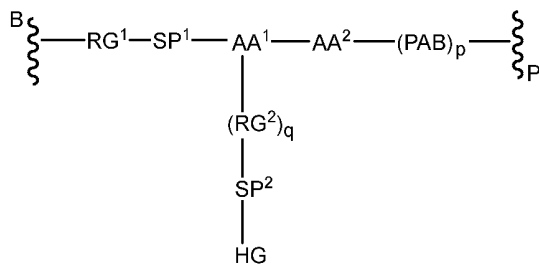
SP <sup>1</sup>	SP <sup>2</sup>
C <sub>1-6</sub> алкилен,	(глицин) <sub>4</sub> -серин
NH-,	отсутствует
NH-,	C <sub>1-6</sub> алкилен,
NH-,	-NH-,
NH-,	-C(O)-,
NH-,	(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,
NH-,	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -(-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ) <sub>e</sub> -C(O)-,
NH-,	-C(O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>u</sub> -C(O)-,
NH-,	-C(O)-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -,
NH-,	(глицин) <sub>4</sub> -серин
NH-,	отсутствует
-C(O)-,	C <sub>1-6</sub> алкилен,
-C(O)-,	-NH-,
-C(O)-,	-C(O)-,
-C(O)-,	(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,
-C(O)-,	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -(-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ) <sub>e</sub> -C(O)-,
-C(O)-,	-C(O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>u</sub> -C(O)-,
-C(O)-,	-C(O)-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -,
-C(O)-,	(глицин) <sub>4</sub> -серин
(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,	отсутствует
(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,	C <sub>1-6</sub> алкилен,
(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,	-NH-,
(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,	-C(O)-,
(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,	(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,
(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -(-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ) <sub>e</sub> -C(O)-,

SP <sup>1</sup>	SP <sup>2</sup>
$(-CH_2-CH_2-O)_e$ ,	$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,
$(-CH_2-CH_2-O)_e$ ,	$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$ ,
$(-CH_2-CH_2-O)_e$ ,	(глицин) <sub>4</sub> -серин
$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,	отсутствует
$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,	C <sub>1-6</sub> алкилен,
$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,	-NH-
$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,	-C(O)-
$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,	$(-CH_2-CH_2-O)_e$ ,
$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,	$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,
$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,	$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,
$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,	$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$ ,
$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,	(глицин) <sub>4</sub> -серин
$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,	отсутствует
$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,	C <sub>1-6</sub> алкилен,
$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,	-NH-
$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,	-C(O)-
$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,	$(-CH_2-CH_2-O)_e$ ,
$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,	$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$ ,
$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,	$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,
$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,	$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$ ,
$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$ ,	(глицин) <sub>4</sub> -серин
$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$ ,	отсутствует
$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$ ,	C <sub>1-6</sub> алкилен,
$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$ ,	-NH-
$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$ ,	-C(O)-

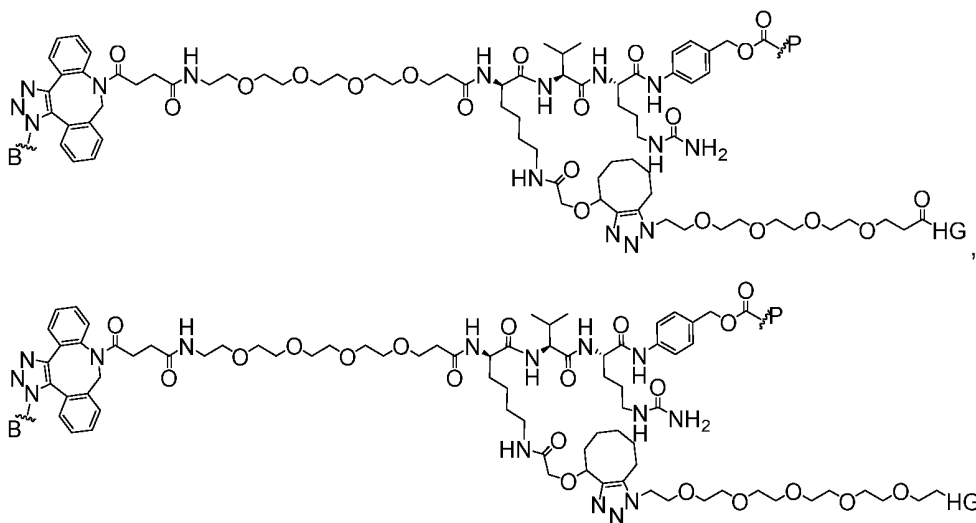
SP <sup>1</sup>	SP <sup>2</sup>
-C(O)-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -	(-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O) <sub>e</sub> ,
-C(O)-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -(-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ) <sub>e</sub> -C(O)-
-C(O)-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -	-C(O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>u</sub> -C(O)-
-C(O)-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -	-C(O)-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -
-C(O)-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -	(глицин) <sub>4</sub> -серин

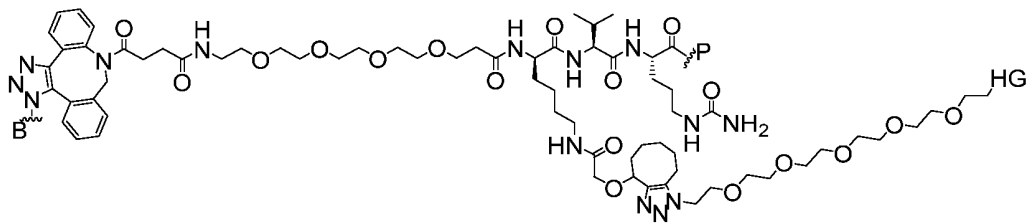
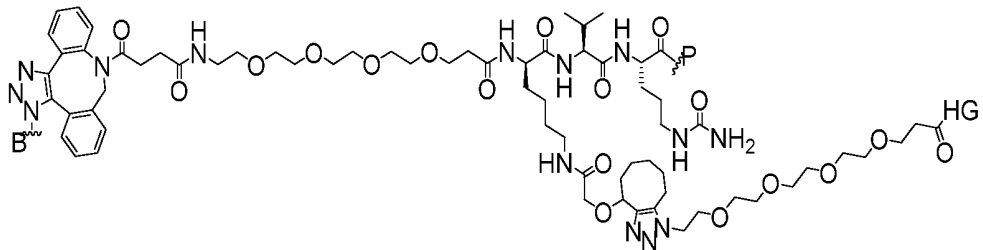
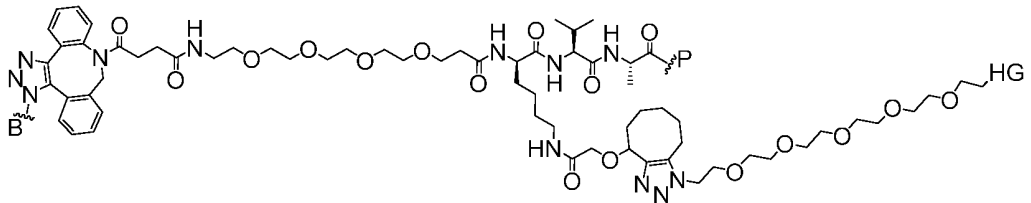
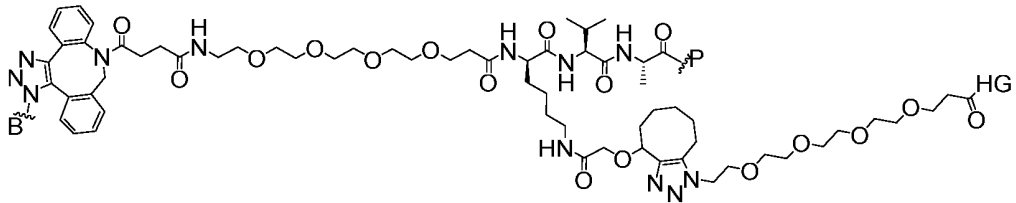
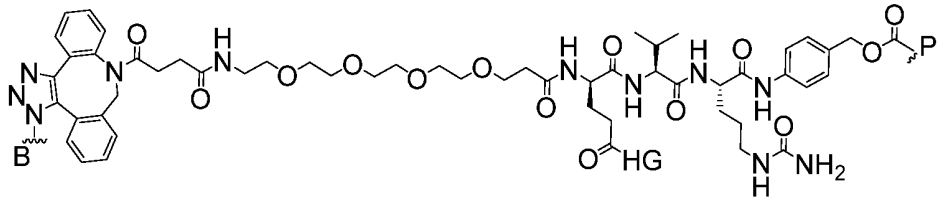
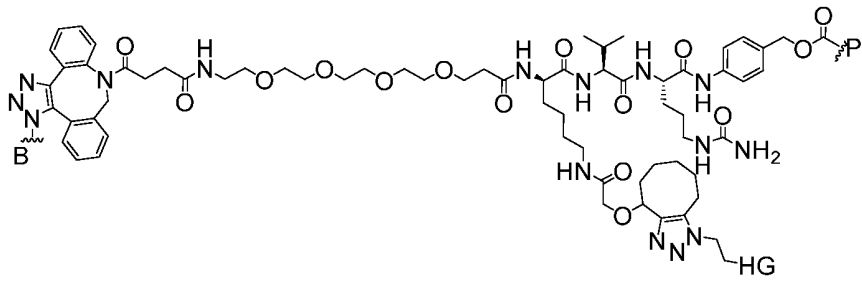
[0115] В соединении по формуле (I), описанном в настоящем документе, может присутствовать любое сочетание строки из Таблицы R со строкой из Таблицы S.

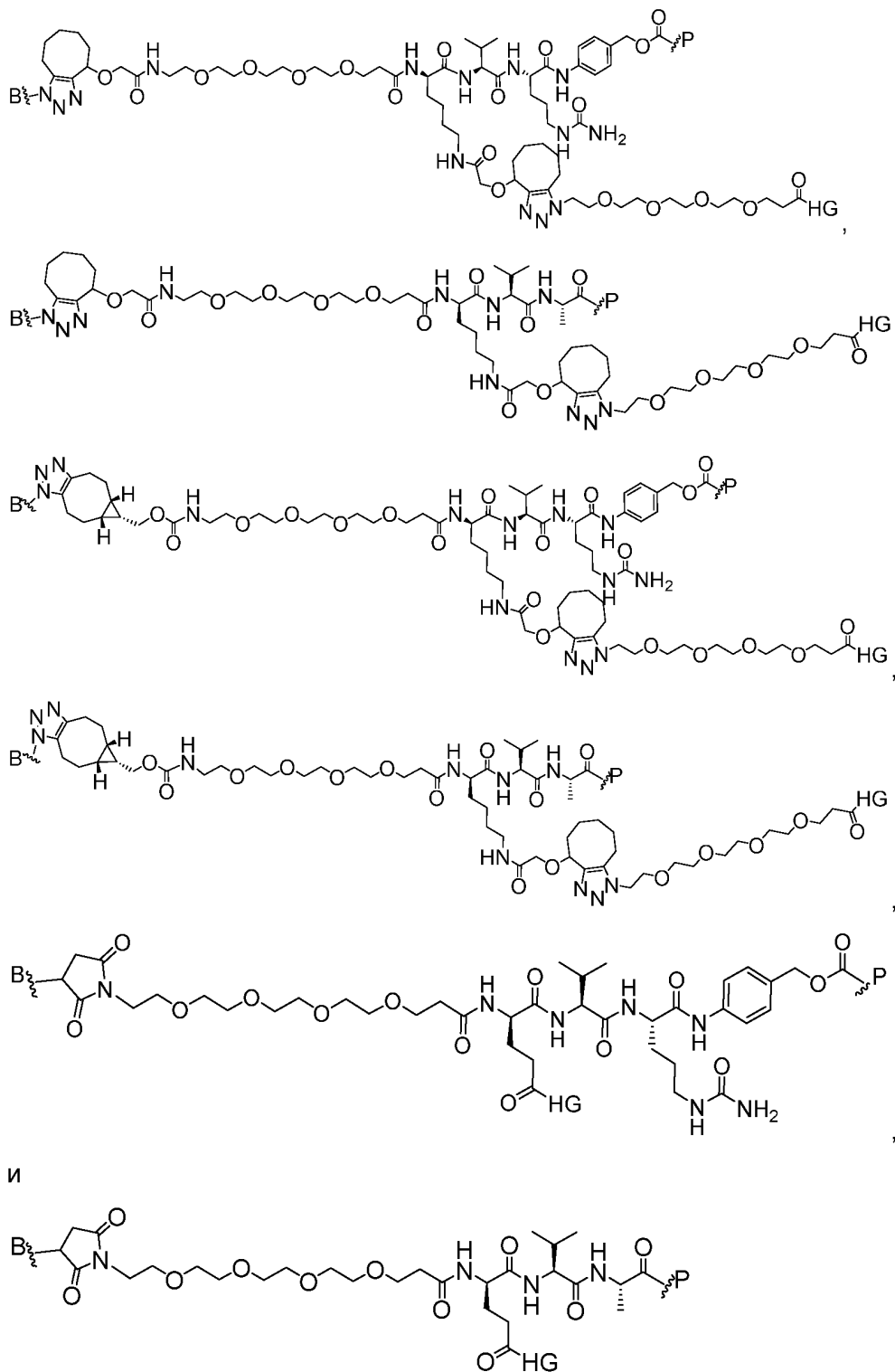
[0116] В некоторых примерах для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd),



выбирают из группы, включающей:





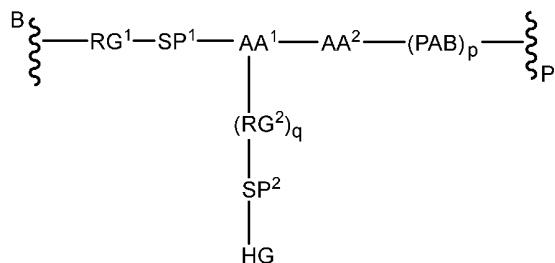


или его стереоизомерной формы, региоизомера или смеси региоизомеров, где

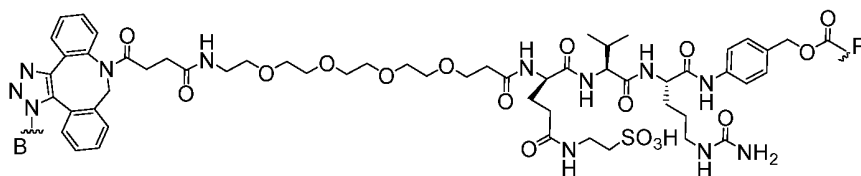
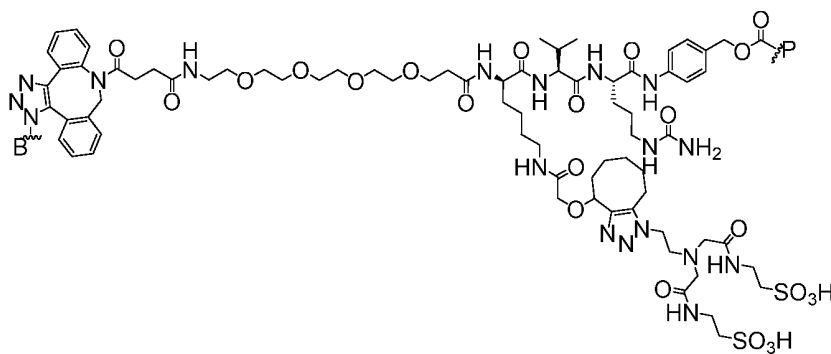
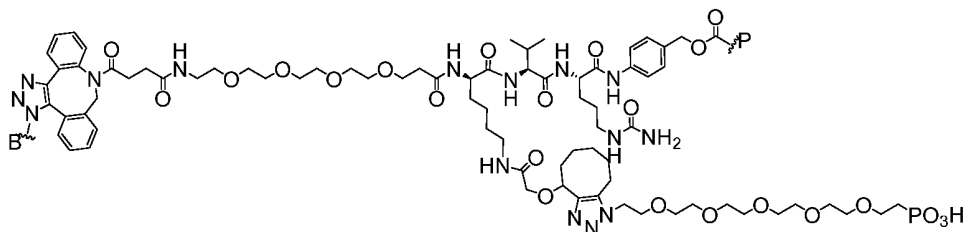
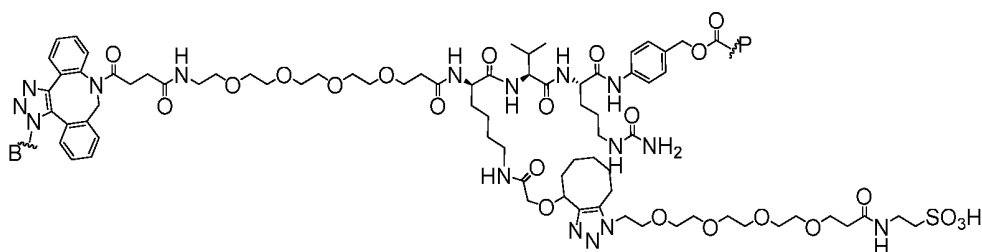
каждый  $Bz$  — представляет собой связь со связующим агентом; и

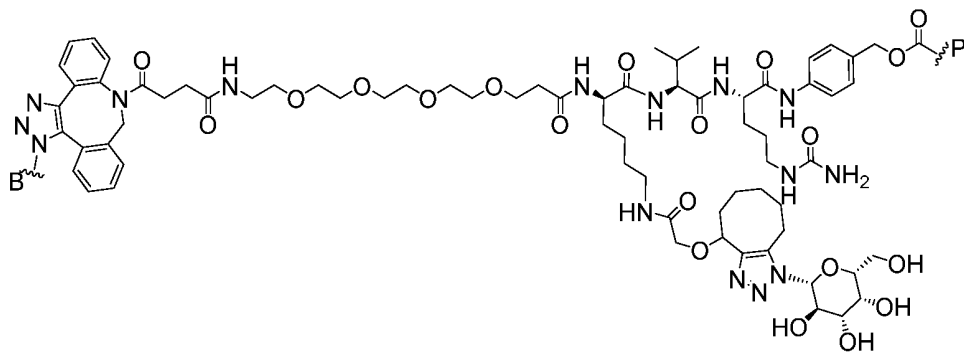
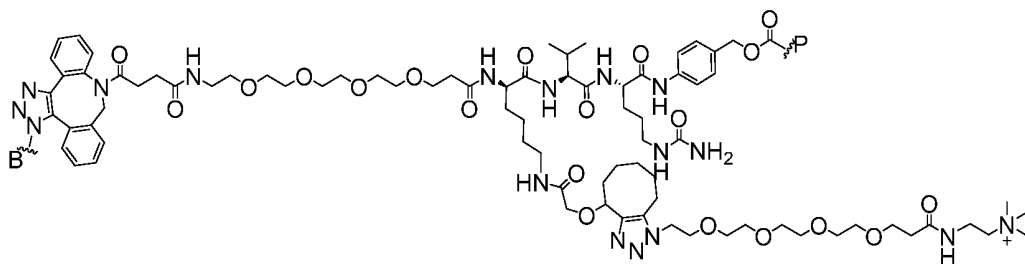
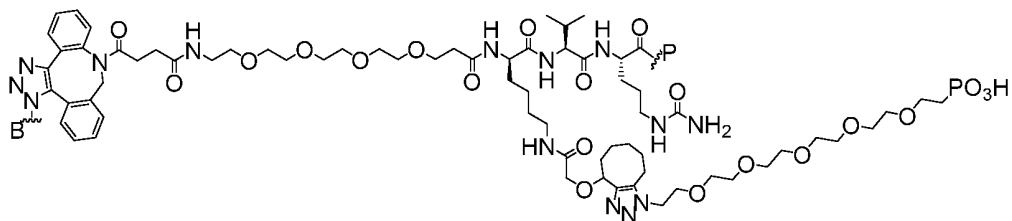
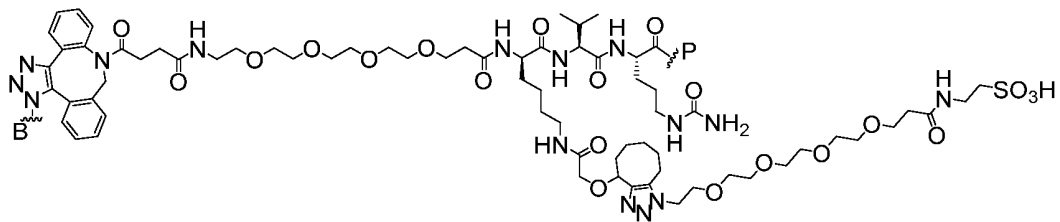
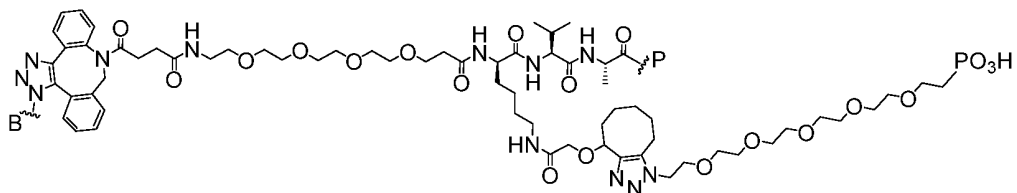
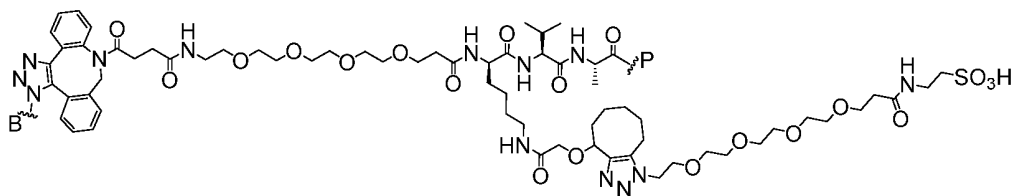
каждый  $\begin{array}{c} \text{P} \\ \text{---} \\ \text{---} \end{array}$  представляет собой связь с остатком полезной нагрузки.

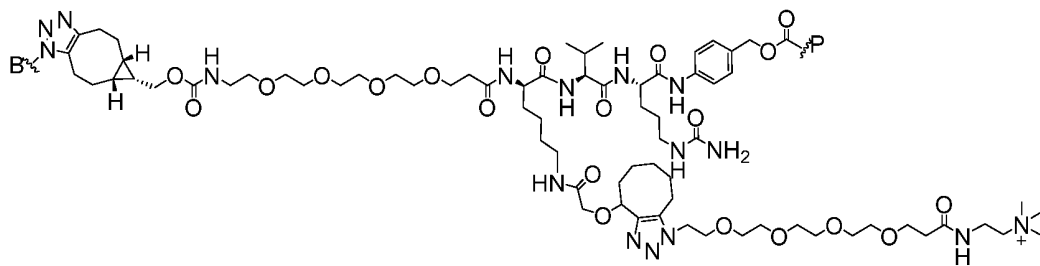
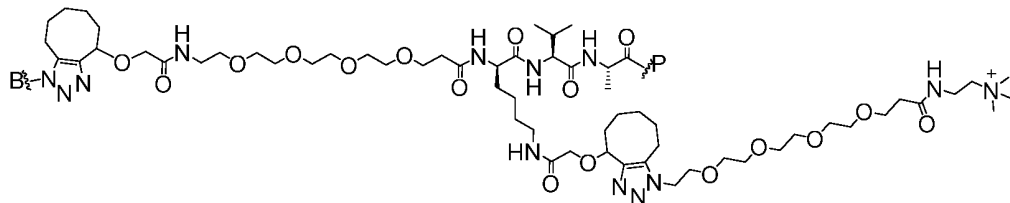
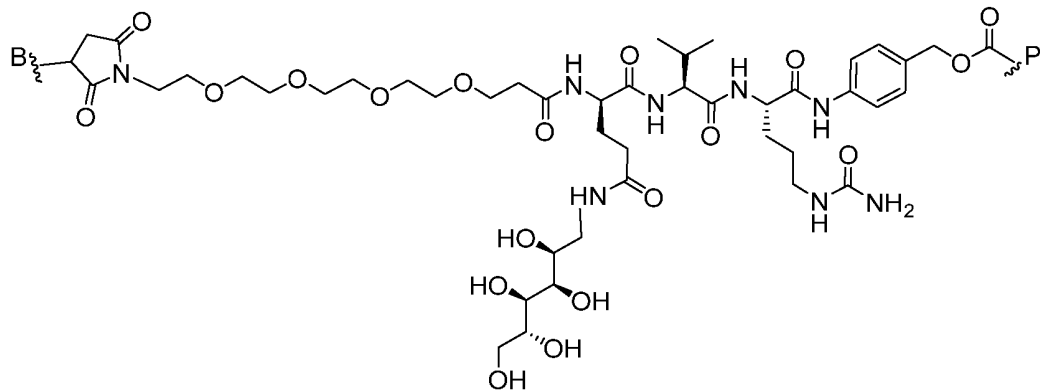
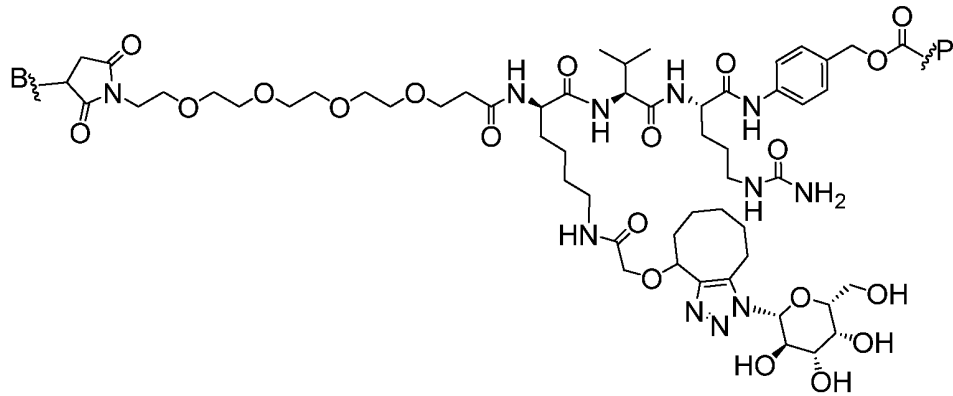
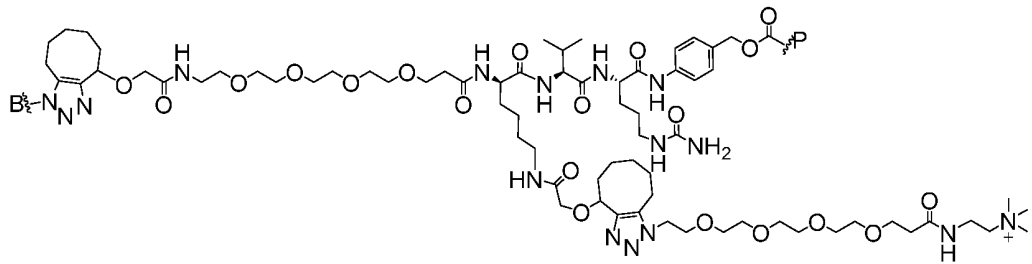
[0117] В некоторых примерах для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd),



выбирают из группы, включающей:

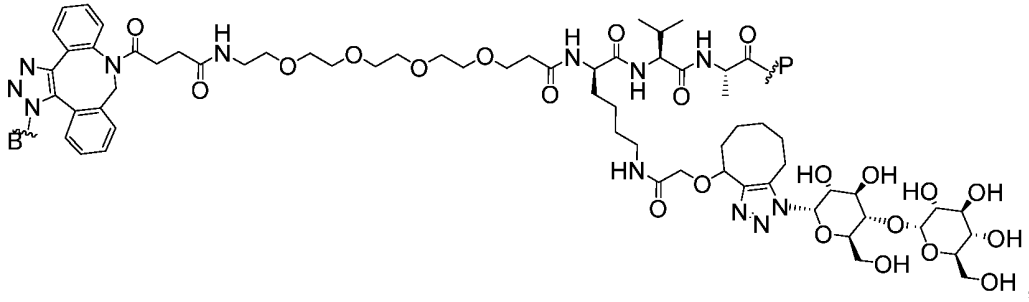






И



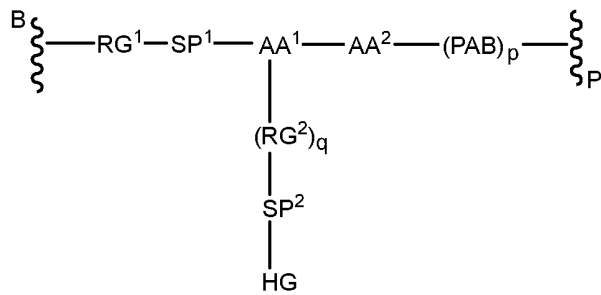


или его стереоизомерной формы, региоизомера или смеси региоизомеров, где

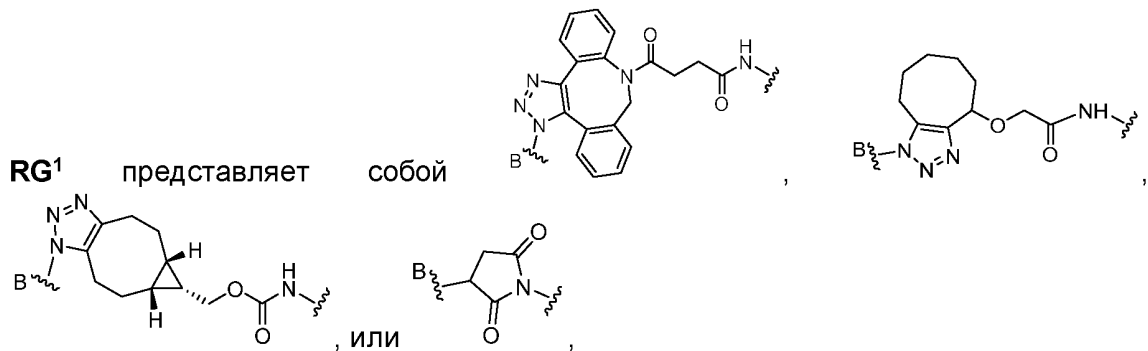
каждый  $B^{\xi}$  представляет собой связь со связующим агентом; и

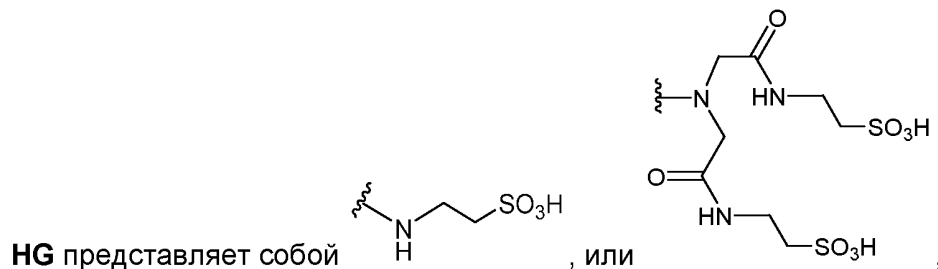
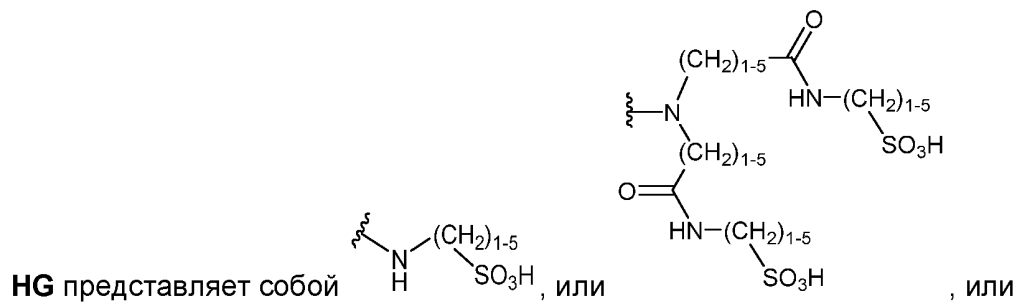
каждый  $\xi$  представляет собой связь с остатком полезной нагрузки.


[0118] В некоторых примерах для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), в структуре




, или его стереоизомерной формы, региоизомеров или смеси региоизомеров,



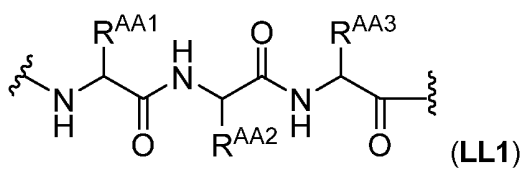


каждый  представляет собой связь со связующим агентом;

каждый  представляет собой связь с остатком полезной нагрузки; и

каждый  указывает на атом, через который группа соединена с остальной молекулой.

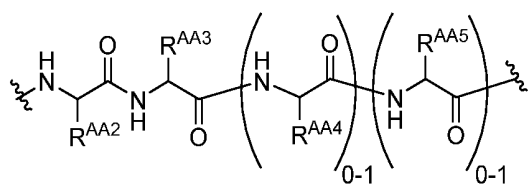
[0119] В некоторых примерах для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **LL** имеет формулу (**LL1**):



где **R<sup>AA1</sup>**, **R<sup>AA2</sup>**, и **R<sup>AA3</sup>** каждый независимо являются боковыми цепями аминокислоты, по меньшей мере, одна из которых связана прямо или опосредованно с **-(RG<sup>2</sup>)<sub>q</sub>-SP<sup>2</sup>-HG**

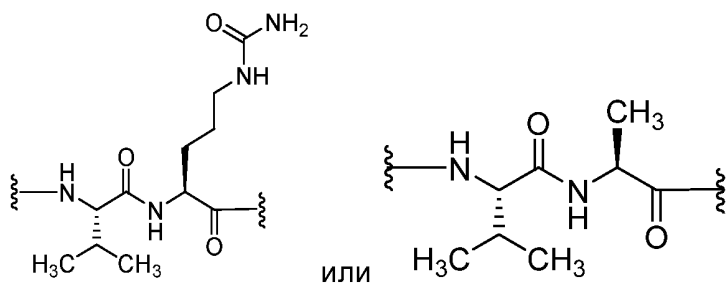
[0120] В некоторых случаях в формуле **LL1**, **R<sup>AA1</sup>** представляет собой боковую цепь лизина, глутамина, глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты, соединенную прямо или опосредованно с **HG**, и **R<sup>AA2</sup>** и **R<sup>AA3</sup>** являются боковыми цепями валина и аланина или валина и цитруллина, соответственно.

[0121] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), AA<sup>2</sup> представляет собой

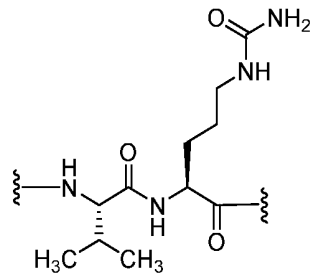


где R<sup>AA2</sup>, R<sup>AA3</sup>, R<sup>AA4</sup>, и R<sup>AA5</sup> каждый независимо являются боковыми цепями аминокислоты, по меньшей мере, одна из которых связана прямо или опосредованно с  $-(RG^2)_q-SP^2-HG$ , где указывает на атом, через который AA<sup>2</sup> соединен с соседними группами в формуле. В некоторых примерах R<sup>AA2</sup>, R<sup>AA3</sup>, R<sup>AA4</sup>, и R<sup>AA5</sup>, независимо в каждом случае являются боковыми цепями аминокислоты, которые выбирают из боковых цепей аланина, валина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана, фенилаланина, пролина, серина, треонина, цистеина, тирозина, аспарагина, глутамина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лизина, аргинина, гистидина, или цитруллина, или соответствующего производного, или их комбинации.

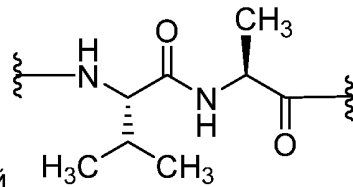
[0122] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), AA<sup>2</sup> представляет собой



где указывает на атом, через который AA<sup>2</sup> соединен с соседними группами в формуле.



В одном случае **AA<sup>2</sup>** представляет собой . В другом случае



**AA<sup>2</sup>** представляет собой .

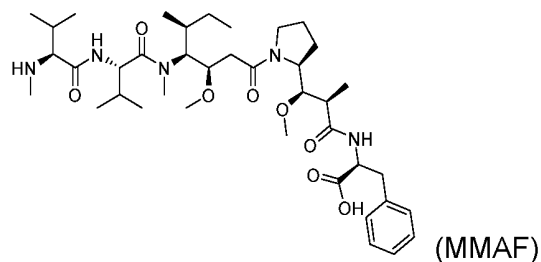
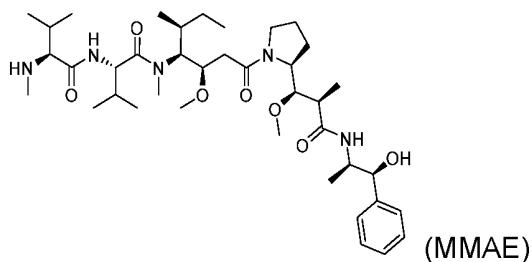
[0123] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), подстрочный индекс e равен 4. В некоторых случаях для любого соединения по формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), подстрочный индекс e равен 5.

[0124] В некоторых вариантах осуществления изобретения для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), связующий агент (BA) является антителом или его антиген-связывающим фрагментом. В некоторых случаях антитело или его антиген-связывающий фрагмент связываются антигеном, экспрессируемым опухолью. В некоторых случаях антитело или его антиген-связывающий фрагмент связываются антигеном, экспрессируемым макрофагом. В некоторых случаях связующий агент (BA) является антителом, или его антиген-связывающим фрагментом, селективным в отношении антигена, который выбирают из группы, включающей AXL, BAFFR, BCMA, компоненты перечня BCR, BDCA2, BDCA4, BTLA, BTNL2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C10 или f54, CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR9, CCR10, CD11c, CD137, CD138, CD14, CD168, CD177, CD19, CD20, CD209, CD209L, CD22, CD226, CD248, CD25, CD27, CD274, CD276, CD28, CD30, CD300A, CD33, CD37, CD38, CD4, CD40, CD44, CD45, CD46, CD48, CD5, CD52, CD55, CD56, CD59, CD62E, CD68, CD69, CD70, CD74, CD79a, CD79b, CD8, CD80, CD86, CD90.2, CD96, CLEC12A, CLEC12B, CLEC7A, CLEC9A, CR1, CR3, CRTAM, CSF1R, CTLA4, CXCR1/2, CXCR4, CXCR5, DDR1, DDR2, DEC-205, DLL4, DR6, FAP, FcR's, FcMR, FcR's, Fire, GITR, HHLA2, HLA класса II, HVEM, ICOSLG, IFNLR1, IL10R1, IL10R2, IL12R, IL13RA1, IL13RA2, IL15R, IL17RA, IL17RB, IL17RC,

IL17RE, IL20R1, IL20R2, IL21R, IL22R1, IL22RA, IL23R, IL27R, IL29R, IL2Rg, IL31R, IL36R, IL3RA, IL4R, IL6R, IL5R, IL7R, IL9R, интегрин, LAG3, LIFR, MAG/Siglec-4, MMR, MSR1, NCR3LG1, NKG2D, NKp30, NKp46, PDCD1, PROKR1, PVR, PVRIG, PVRL2, PVRL3, RELT, SIGIRR, Siglec-1, Siglec-10, Siglec-5, Siglec-6, Siglec-7, Siglec-8, Siglec-9, SIRPA, SLAMF7, TACI, компоненты/ассоциированные соединения из перечня TCR, PTCRA, TCRb, CD3z, CD3, TEK, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TIGIT, TLR2, TLR4, TROY, TSLPR, TYRO, VLDLR, VSIG4, и VTCN1.

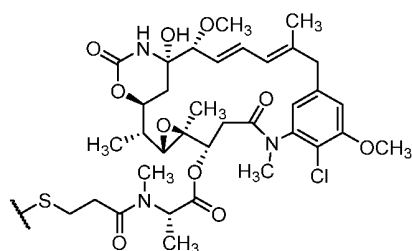
[0125] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **PA** является остатком группы, которую выбирают из группы, включающей доластатин, ауристин, майтанзиноид, растительный алкалоид, таксан, алкалоид барвинка, стероид, и модулятор печеночного рецептора X (LXR). В некоторых случаях **PA** - доластатин. В некоторых случаях **PA** - ауристин. В некоторых случаях **PA** - майтанзиноид. В некоторых случаях **PA** - растительный алкалоид. В некоторых случаях **PA** - таксан. В некоторых случаях **PA** - алкалоид барвинка. В некоторых случаях **PA** - стероид. В некоторых случаях **PA** - модулятор LXR. В некоторых случаях модулятором LXR является агонист LXR. В некоторых вариантах осуществления изобретения модулятором LXR является антагонист LXR. В некоторых примерах **PA** является соединением, показанным на Фиг. 1. В некоторых случаях **PA** - стероид, *например*, глюкокортикоид. Другие полезные нагрузки включают высоко гидрофобные полезные нагрузки, например, не подверженные конъюгации с антителом из-за своей гидрофобной природы, например, такие полезные нагрузки, как пирролобензодиазепины (PBD), SN38 (7-этил-10-гидрокси-кампотецин), и т.д. В определенных вариантах осуществления изобретения, изложенных в настоящем документе, предложены конъюгаты антитело-лекарственное средство по любой из представленных формул, где **PA** – гидрофобная полезная нагрузка.

[0126] В некоторых вариантах осуществления изобретения полезной нагрузкой в формуле (I) является доластатин или его синтетический аналог. В определенных вариантах осуществления изобретения полезными нагрузками в соединениях по формуле (I) являются ауристины, которые имеют структуру монометилауристатина D (MMAD), (MMAE монометилауристатина E (MMAE), или монометилауристатина F (MMAF), или соответствующих стереоизомеров.



[0127] Одной из особенностей соединений по формуле (I), описанных в настоящем изобретении, являются конъюгаты белок-лекарственное средство, *например*, конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие антиген-связывающий белок, *например*, антитело, ауристин в качестве полезной нагрузки и гидрофильный фрагмент.

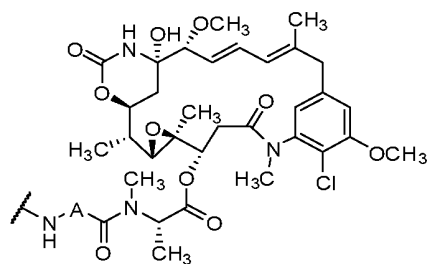
[0128] В определенных вариантах осуществления изобретения полезными нагрузками в соединениях по формуле (I) являются майтанзиноиды. Майтанзиноиды в качестве полезной нагрузки описаны в Заявке на патент США № 15/081,759, зарегистрированной 25 марта 2016 года под названием «ПРОИЗВОДНЫЕ МАЙТАНСИНОИДОВ, КОНЪЮГАТЫ МАЙТАНСИНОИДОВ И СПОСОБЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ» (DERIVATIVES, CONJUGATES THEREOF, И METHODS OF USE), и опубликованной в качестве заявки на патент США под № 2016/0375147, и в Заявке на патент США № 15/414,537, зарегистрированной 24 января 2017 года под названием «ПРОИЗВОДНЫЕ МАЙТАНСИНОИДОВ, КОНЪЮГАТЫ МАЙТАНСИНОИДОВ И СПОСОБЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ» (MAYTANSINOID DERIVATIVES, CONJUGATES THEREOF, И METHODS OF USE) и опубликованной в качестве заявки на патент США под № 9,950,076, которые включены в настоящее изобретение посредством ссылки. В определенных вариантах осуществления изобретения **PA** представляет собой DM1, DM3 или DM4. В определенных вариантах осуществления изобретения **PA** представляет собой



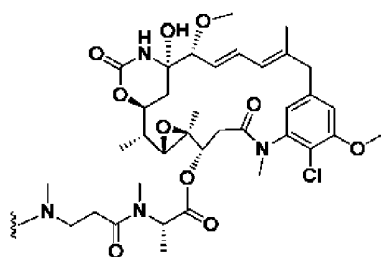
изобретения

**PA**

В определенных вариантах осуществления изобретения **PA** представляет собой



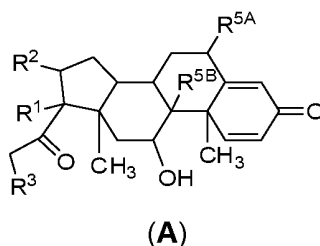
, где **A** необязательно замещенный арилен или гетероарилен. В определенных вариантах осуществления изобретения **РА** представляет собой



. В частных случаях осуществления изобретения волнистая линия указывает на связь с **LL**.

**[0129]** Одной из особенностей соединений по формуле (I), описанных в настоящем документе, являются конъюгаты белок-лекарственное средство, например, конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие антиген-связывающий белок, например, антитело, майтанзиноид в качестве полезной нагрузки и гидрофильный фрагмент.

**[0130]** В определенных вариантах осуществления изобретения полезными нагрузками в соединения по формуле (I) являются глюкокортикоиды по формуле (A):



где

**R<sup>1</sup>** и **R<sup>2</sup>** независимо представляют собой -H, алкил, алкил-C(O)-O-, -OH,

или гало; или **R<sup>1</sup>** и **R<sup>2</sup>** вместе образуют ,

где  $R^4$  представляет собой алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил,

где алкил, арил, арилалкил, и N-содержащий гетероциклоалкил, независимо в каждом случае, необязательно замещены фрагментом  $-NR^{Aa}R^{Ab}$ ;

$R^3$  представляет собой  $-OH$ ,  $R^Z-C(O)-X-$ , гетероалкил, пиперидинил,  $-NR^{Aa}R^{Ab}$ , -оксиарил- $-NR^{Aa}R^{Ab}$  или  $-Z-A'(R^P)_t$ ;

$R^Z$  представляет собой алкил;

$X$  представляет собой O или  $NR^{Aa}$ ;

$Z$  представляет собой S, S(O), S(O)<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> $NR^{Aa}$ , O, C(O) $NR^{Aa}$ , C(O), или  $NR^{Aa}$ ;

$A'$  представляет собой арил, арилалкил, или гетероарил;

$R^P$  независимо в каждом случае, представляет собой гало, необязательно замещенный алкил,  $-OH$ , или  $-NR^{Aa}R^{Ab}$ ;


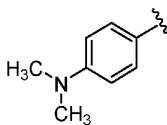
$R^{Aa}$  и  $R^{Ab}$  независимо в каждом случае, представляют собой  $-H$ , необязательно замещенный алкил, или необязательно замещенный арил;

подстрочный индекс  $a$  является целым числом от 0-19; и

$t$  является целым числом от 1-3;

при условии, что:

(1)  $R^3$  не является  $-OH$  (а) когда  $R^1$  представляет собой  $-OH$  или (b) когда

$R^1$  и  $R^2$  вместе образуют , где  $R^4$  - C<sub>1-9</sub>алкил или  и

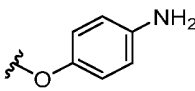

(2)  $R^3$  не является .

и

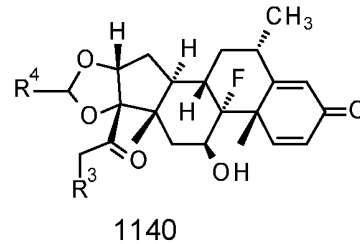
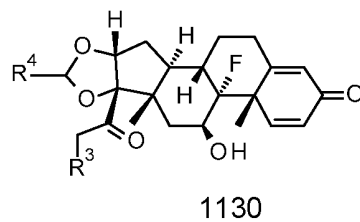
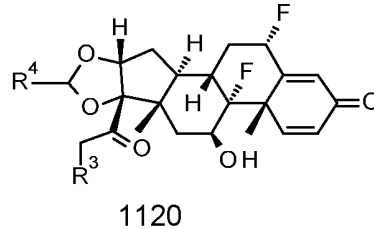
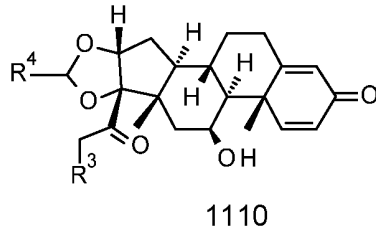
$R^{5A}$  и  $R^{5B}$  каждый независимо представляет собой гало или атом водорода.

[0131] В некоторых таких вариантах осуществления изобретения  $R^3$  представляет собой NH<sub>2</sub>. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения  $R^3$

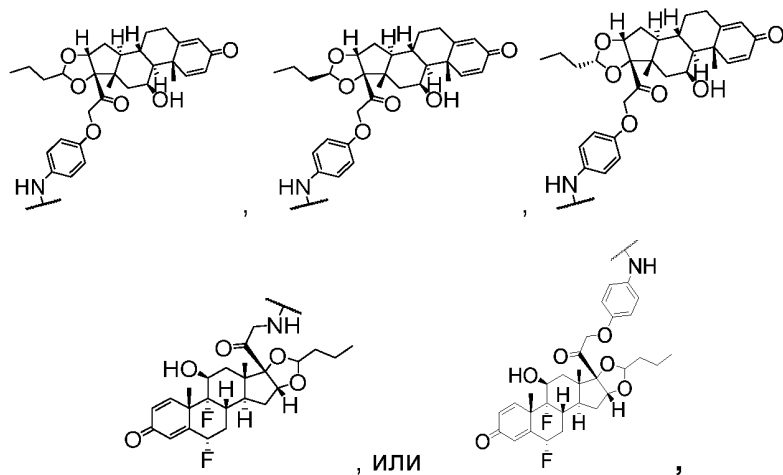


представляет собой  где  указывает на атом, через который  $R^3$  соединен с соседними группами в формуле (I).

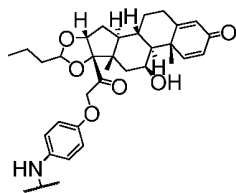
[0132] В определенных вариантах осуществления изобретения **PA** выбирают из



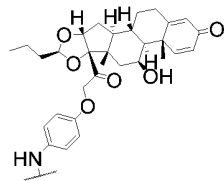
или их фармацевтически приемлемых солей, сольватов или стереоизомеров. В определенных вариантах осуществления изобретения по любой из формул 1110-1140,  $R^3$  представляет собой -O-арил,  $-NR^{Aa}R^{Ab}$ , -алкилен- $-NR^{Aa}R^{Ab}$ , -X-арил- $-NR^{Aa}R^{Ab}$ , -X-гетероарил- $-NR^{Aa}R^{Ab}$ , или N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует, -N-,  $-CH_2-$ , или -O-; где Y отсутствует или  $-CH_2-$ ; и  $R^4$  представляет собой алкил, арил, алкиларил, или арилалкил. В определенных вариантах осуществления изобретения  $R^3$  представляет собой -O-арил- $-NR^{Aa}R^{Ab}$ , -O-гетероарил- $-NR^{Aa}R^{Ab}$ ; где арил или гетероарил необязательно замещены галогеном, дейтерием, гидроксильной или метоксильной группой. В определенных вариантах осуществления изобретения  $R^3$  представляет собой -O-фенил- $-NR^{Aa}R^{Ab}$ , -O-гетероарил- $-NR^{Aa}R^{Ab}$ ; где фенил или гетероарил необязательно замещены галогеном или дейтерием. В определенных вариантах осуществления изобретения  $R^4$  представляет собой н-пропил. В определенных вариантах осуществления изобретения  $R^{Aa}$  и  $R^{Ab}$  каждый независимо являются водородом или алкилом. В частных случаях осуществления изобретения один из  $R^{Aa}$  и  $R^{Ab}$  замещен связью с **LL**. В определенных вариантах осуществления изобретения **PA** представляет собой



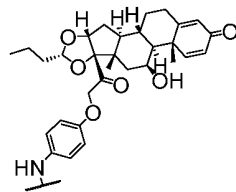
или его фармацевтически приемлемую соль, солват или стереизомер. В определенных вариантах осуществления изобретения **PA** представляет собой



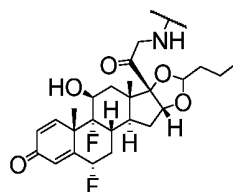
, или его фармацевтически приемлемую соль, солват или стереизомер. В определенных вариантах осуществления изобретения **PA**



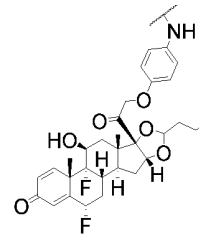
представляет собой , или его фармацевтически приемлемую соль, солват или стереизомер. В определенных вариантах осуществления изобретения



**PA** представляет собой , или его фармацевтически приемлемую соль, солват или стереизомер. В определенных вариантах осуществления

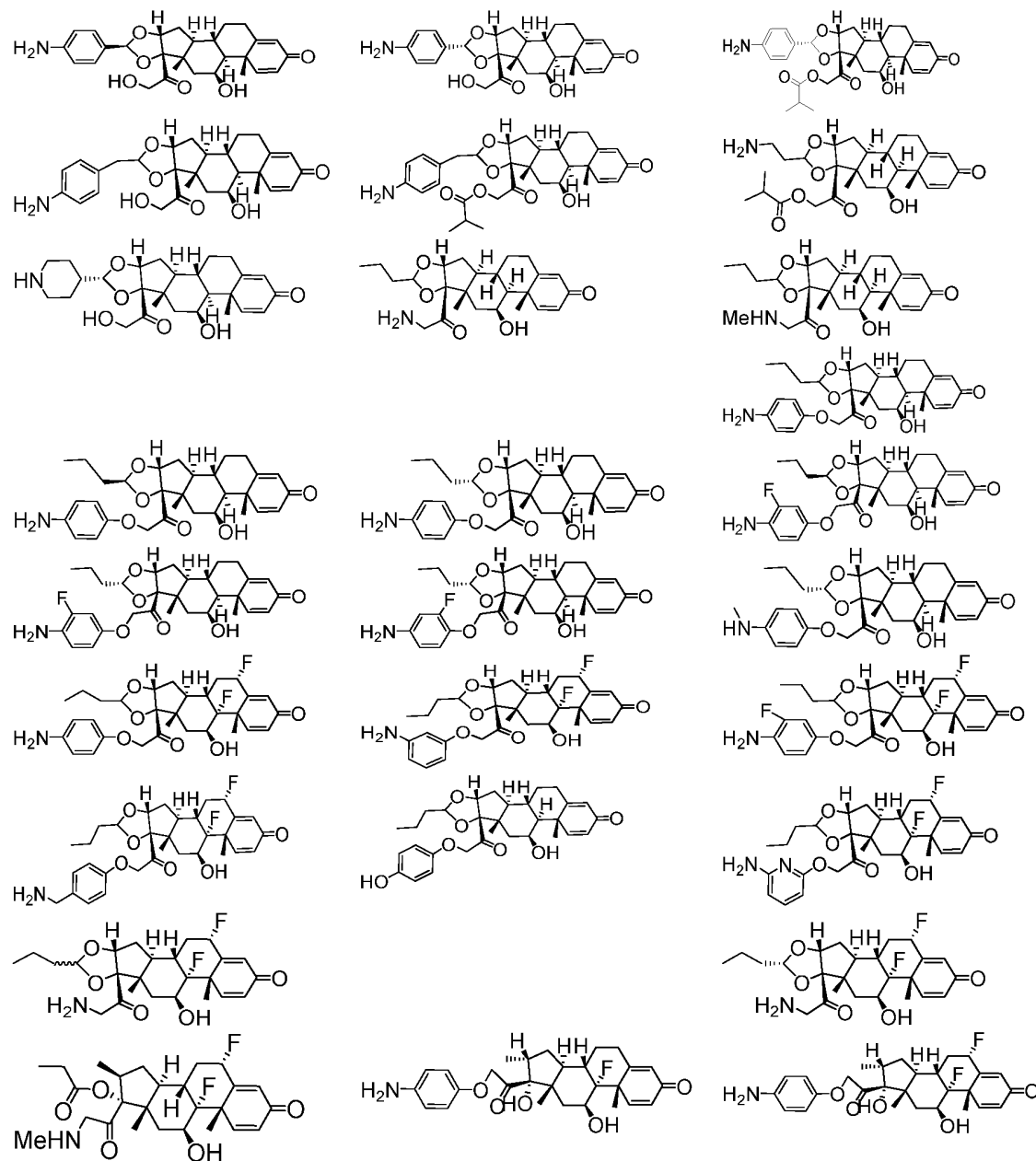


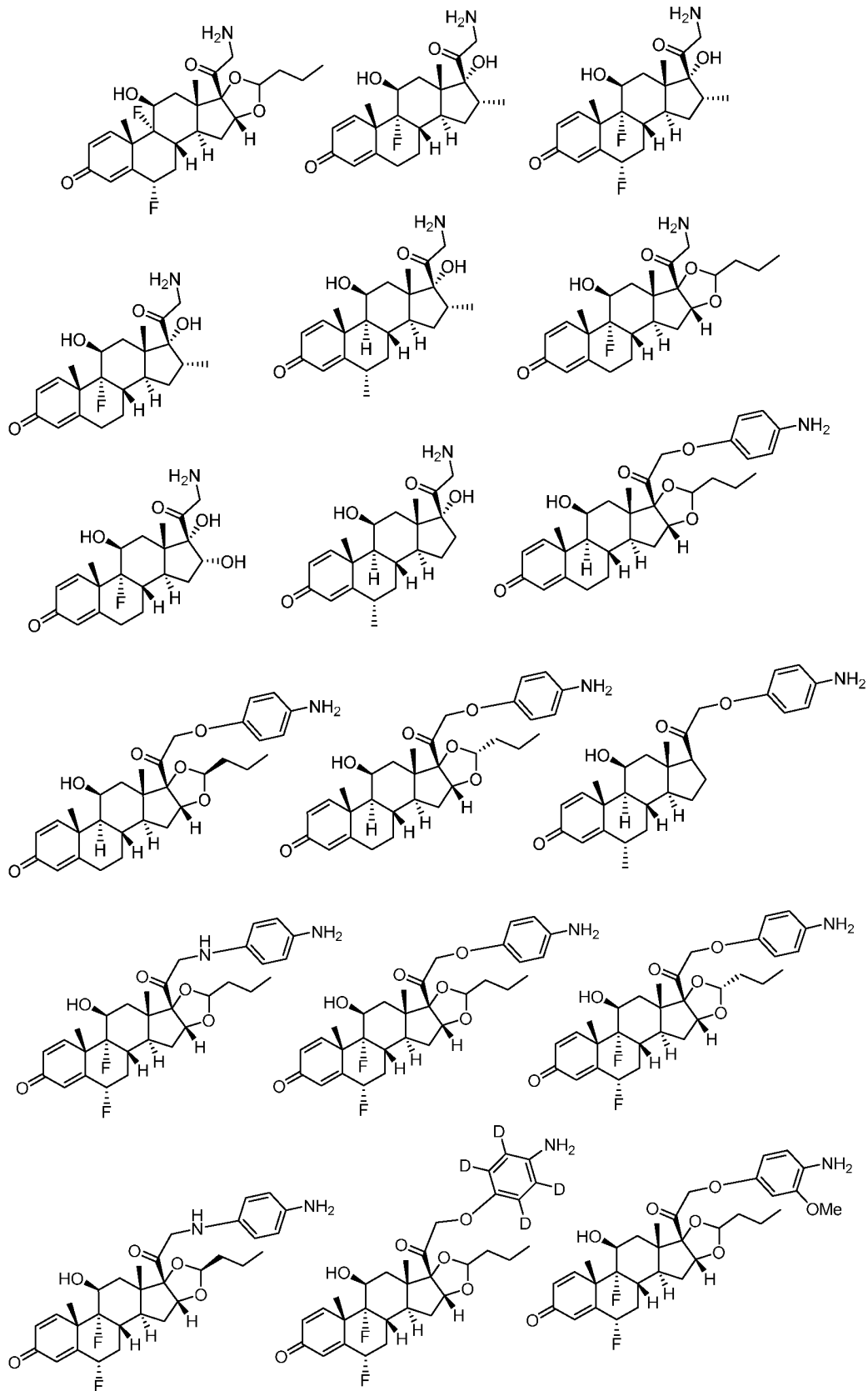
изобретения **PA** представляет собой , или его фармацевтические приемлемую соль, солват или стереизомер. В определенных вариантах



осуществления изобретения **РА** представляет собой \_\_\_\_\_, или его фармацевтически приемлемую соль, солват или стереоизомер. В таких вариантах осуществления изобретения, волнистая линия указывает на связь с **LL**.

**[0133]** В некоторых вариантах осуществления изобретения **РА** выбирают из группы, включающей:



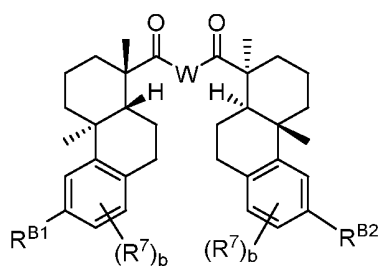


или его фармацевтически приемлемый стереоизомер, где **PA** соединяется в качестве остатка через группу **R<sup>3</sup>**, например, конъюгаты содержат описанную выше полезную нагрузку, соединенную с линкером через связь с остатком первичного или вторичного амина полезной нагрузки.

**[0134]** Определенной особенностью соединений по формуле (I), описанных в настоящем документе, являются конъюгаты белок-лекарственное средство, например, конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие антиген-связывающий белок, например, антитело, полезную нагрузку по формуле (A) и гидрофильный фрагмент.

**[0135]** В настоящий документ посредством ссылки включены стероидные полезные нагрузки, описанные в предварительной заявке на патент США № 62/614,905, зарегистрированной 8 января 2018 года, под названием «СТЕРОИДЫ И СОДЕРЖАЩИЕ ИХ КОНЪЮГАТЫ С АНТИТЕЛАМИ (STEROIDS AND ANTIBODY CONJUGATES THEREOF)», и в заявке на патент США №15/806,197, зарегистрированной 7 ноября 2017 года под названием «СТЕРОИДЫ И СОДЕРЖАЩИЕ ИХ БЕЛКОВЫЕ КОНЪЮГАТЫ (STEROIDS AND PROTEIN-CONJUGATES THEREOF)».

**[0136]** В определенных вариантах осуществления изобретения полезными нагрузками в соединениях по формуле (I) являются модуляторы LXR, имеющие структуру по формуле (B):



Формула (B)

или их фармацевтически приемлемая стереоизомерная форма, где

**W** представляет собой  $-\text{CH}_2-$ ,  $-\text{N}(\text{H})-$ , или  $-\text{O}-$ ;

**R<sup>B1</sup>** представляет собой  $-\text{H}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ , алкил, или  $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)(\text{OH})-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)_2$ ;

$R^{B2}$  представляет собой  $-H$ ,  $-OH$ ,  $-CH_2NH_2$ ,  $R^{B3}$ ,  $R^{B4}$ ,  $R^{B5}$ , или  $-O-R^{B5}$ , где  $R^{B1}$  и  $R^{B2}$  не являются одновременно  $-H$ ;

$R^{B3}$  представляет собой это  $-N(R^6)_2$ ;

$R^{B4}$  представляет собой  $-X-Y-Z$ ;

$X$  выбирают из группы, включающей  $-O-$  и  $-N(H)-$ ;

$Y$  выбирают из группы, включающей алкилен, замещенный алкилен (включая, не ограничиваясь перечисленным, замещение оксо-группой, *m.e.*,  $=O$ ), гетероалкилен, и замещенный гетероалкилен (включая, не ограничиваясь перечисленным, замещение оксо-группой (*m.e.*,  $=O$ ));

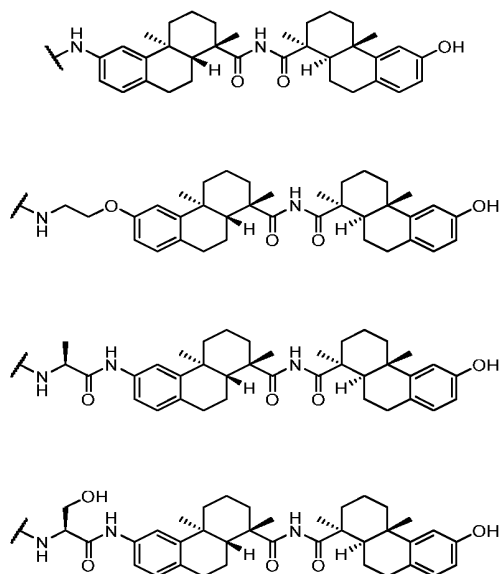
$Z$  выбирают из группы, включающей  $-OH$  и  $-NH_2$ ;

$R^{B5}$  представляет собой алкил, гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил, где каждый гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил включает один, два или три гетероатома, которые выбирают из азота и кислорода, и включает, по меньшей мере, один заместителю  $-OH$  и  $-CH_2OH$ , или, по меньшей мере, один первичный или вторичный азот, например, *O*-глюкоза;

каждый  $R^6$  представляет собой в каждом случае,  $-H$ , аминокислотный остаток, остаток *N*-алкил-аминокислоты, пептид, или алкил; и

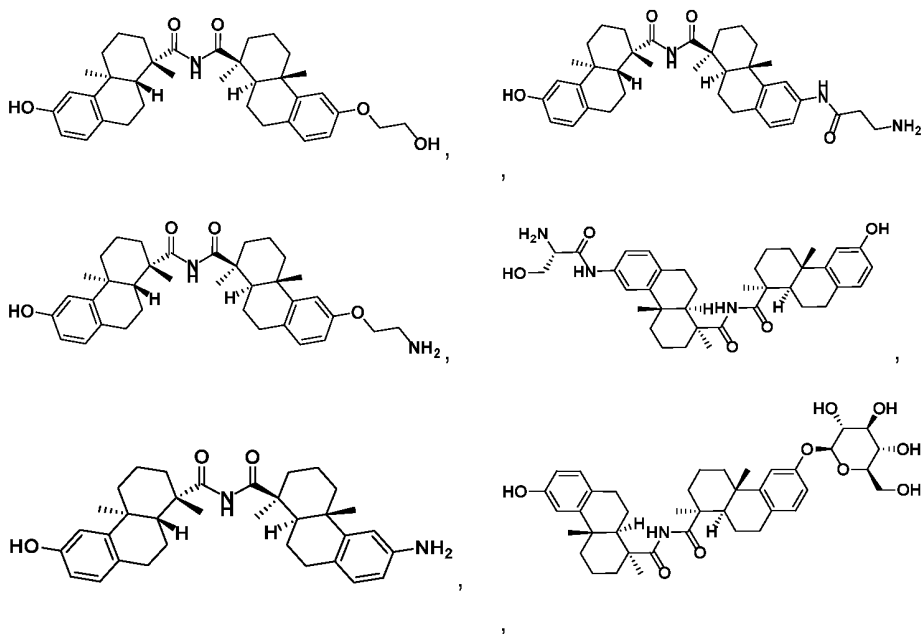
каждый  $R^7$  независимо является гало,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{1-6}$  алкокси,  $-CN$ , *O*-глюкозой, *O*-аминокислотным остатком, и *O*-PEG<sub>b</sub>, где каждый подстрочный индекс **b** является целым числом от 0-3.

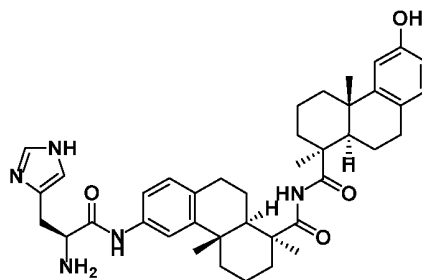
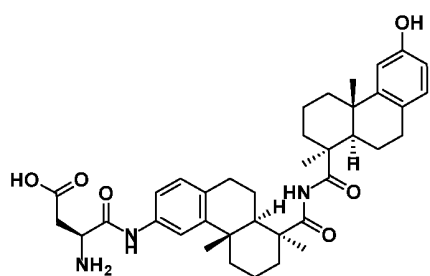
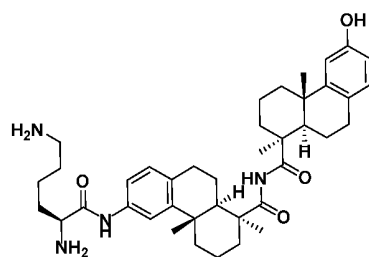
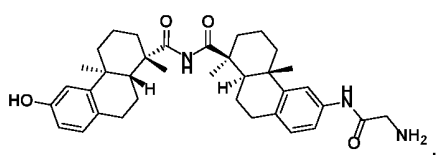
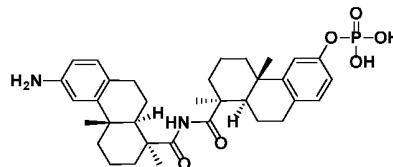
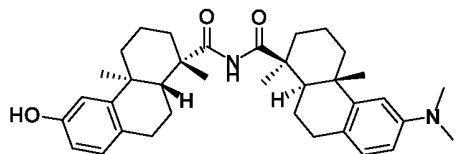
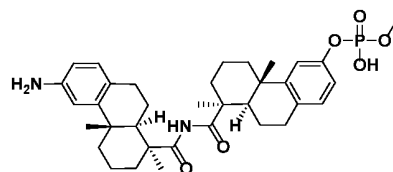
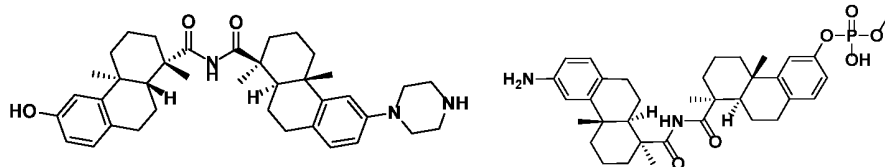
[0137] В частных случаях осуществления изобретения  $R^{B1}$  или  $R^{B2}$  замещен связью с **LL**. В определенных вариантах осуществления изобретения **PA** выбирают из:



[0138] В частных случаях осуществления изобретения волнистая линия указывает на связь с LL.

[0139] В определенных вариантах осуществления изобретения PA выбирают из группы, включающей:





или соответствующей фармацевтически приемлемой стереоизомерной формы, где **PA** соединяется в качестве остатка через группу **R<sup>B1</sup>** или **R<sup>B2</sup>**, например, конъюгаты содержат описанную выше полезную нагрузку, которая соединяется с линкером через связь с остатком первичного или вторичного амина полезной нагрузки.

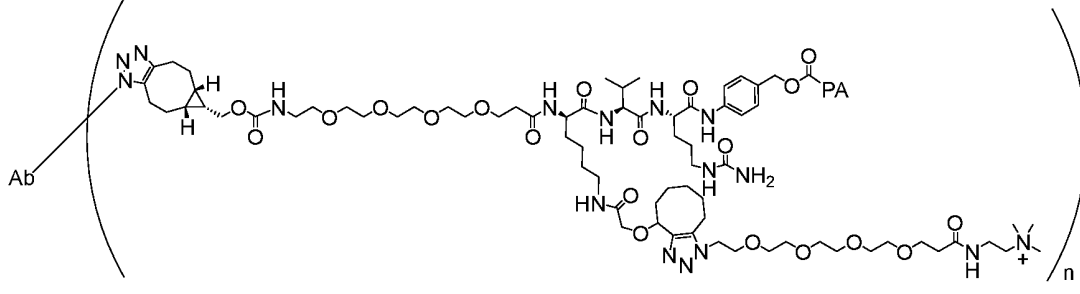
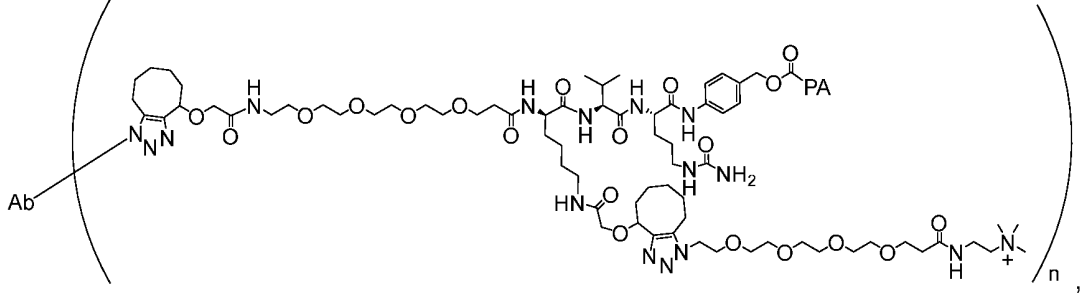
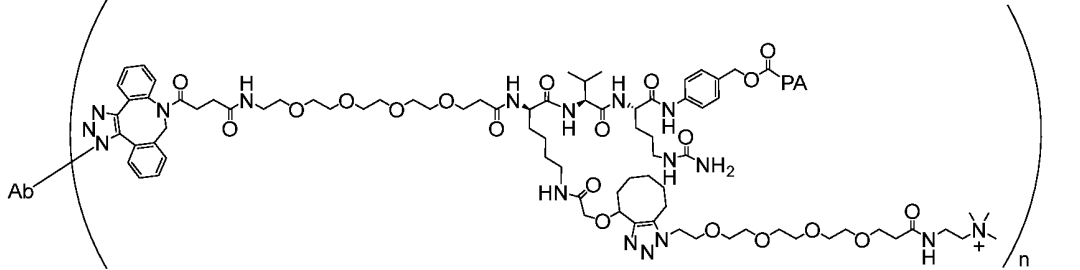
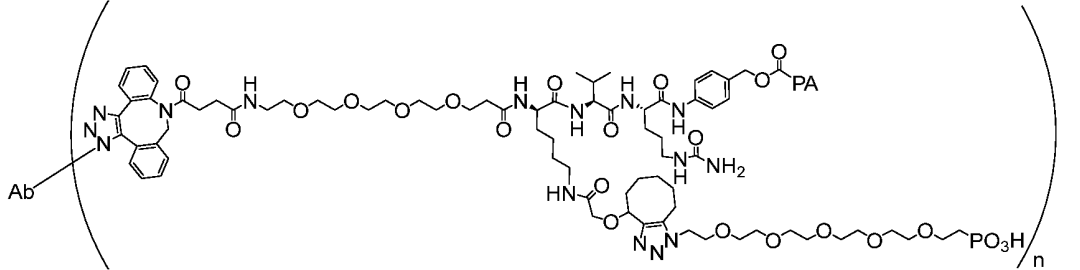
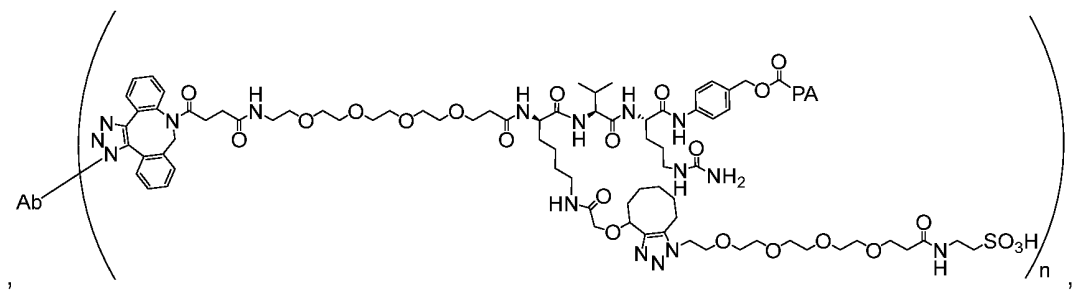
**[0140]** Определенной особенностью описанных в настоящем документе соединений по формуле (I) являются конъюгаты белок-лекарственное средство, например, конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие антиген-связывающий белок, например, антитело, полезную нагрузку по формуле (B) и гидрофильный фрагмент.

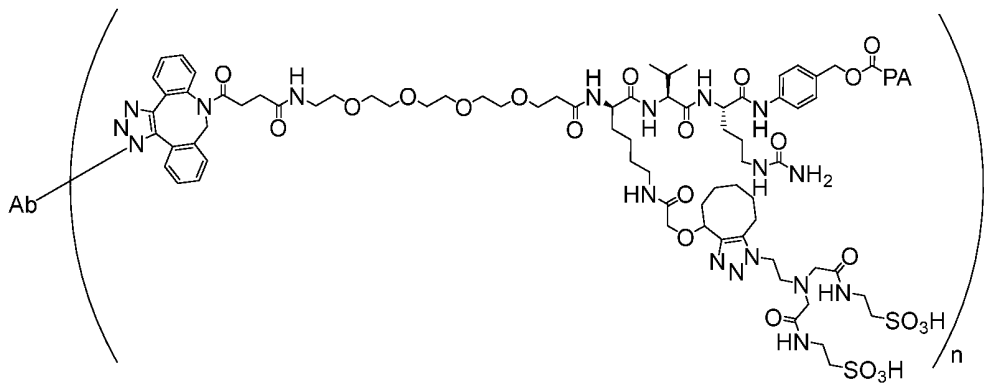
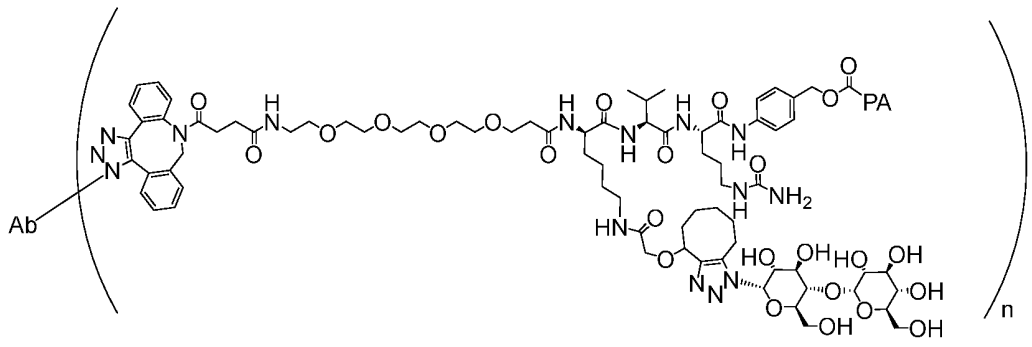
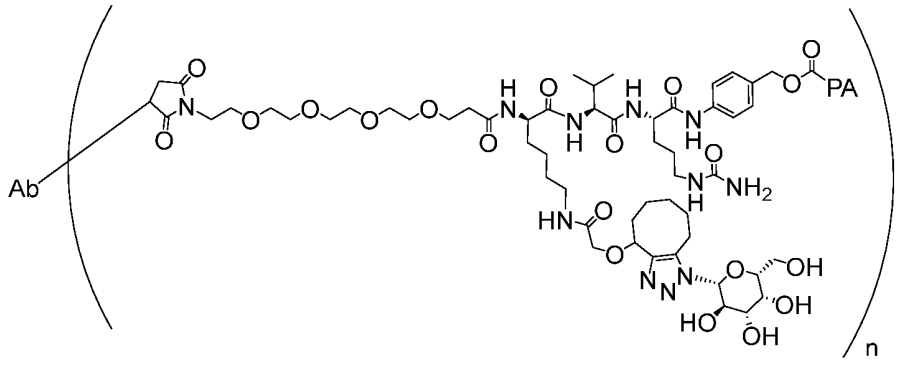
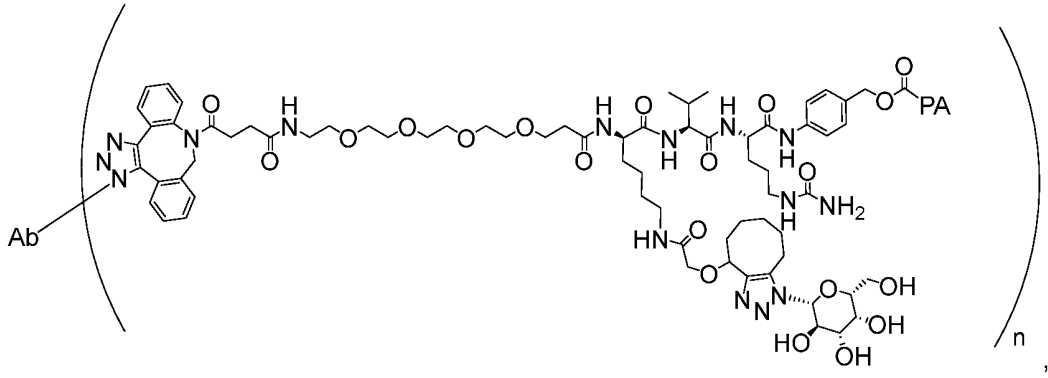


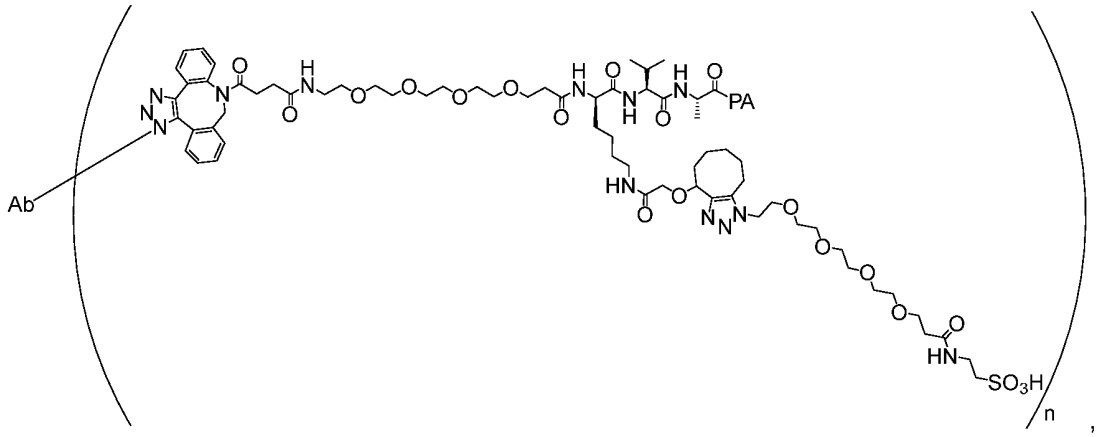
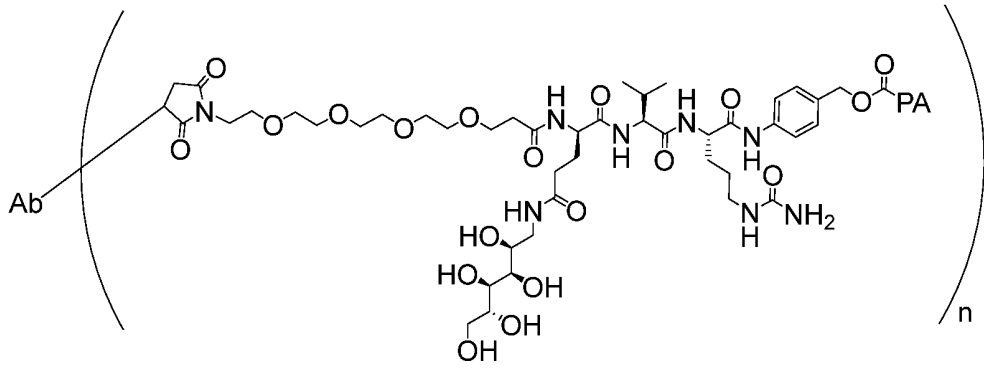
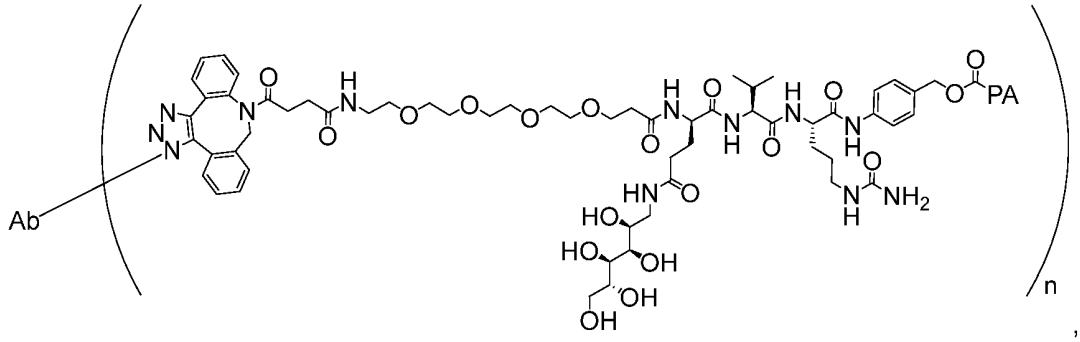
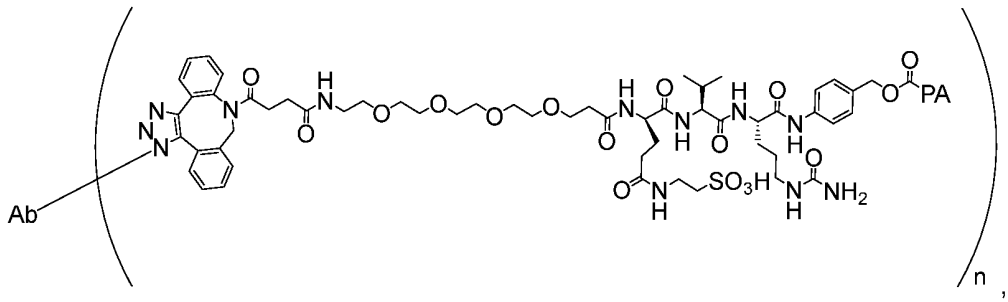
**[0141]** В настоящий документ посредством ссылки включены полезные нагрузки, представляющие собой модулятор LXR, описанные во временной заявке на патент США № 62/508,327, зарегистрированной 18 мая 2017 года, под название «БИС-ОКТАГИДРОФЕНАНТРЕН КАРБОКСАМИДЫ И СОДЕРЖАЩИЕ ИХ БЕЛКОВЫЕ КОНЪЮГАТЫ (BIS-OCTAHYDROPHENANTHRENE CARBOXYLAMIDES AND PROTEIN CONJUGATES THEREOF).

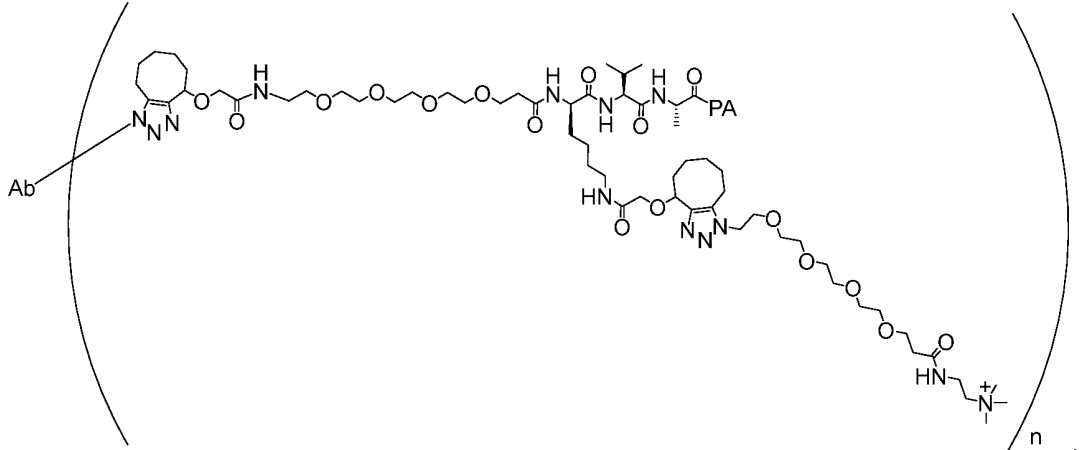
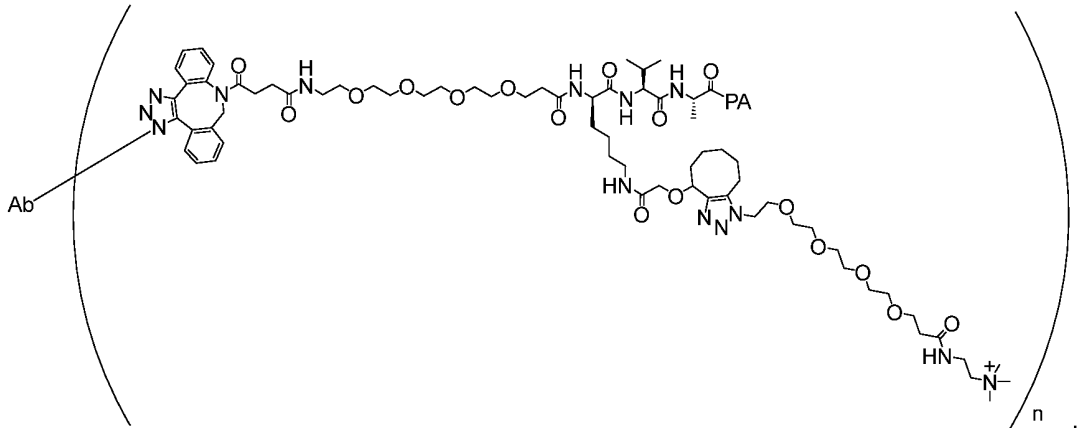
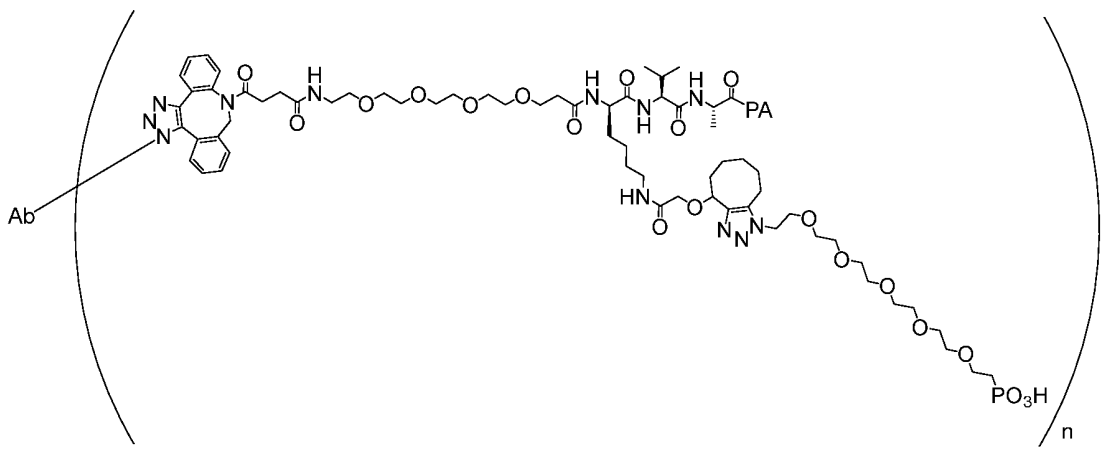
**[0142]** В объеме вариантов осуществления изобретений, представленных в настоящем документе, также предусмотрены полезные нагрузки, описанные в заявке на патент США № 14/776,668, зарегистрированной 14 сентября 2015 года под названием «БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ МОЛЕКУЛЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ИХ КОНЪЮГАТЫ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ» (BIOLOGICALLY ACTIVE MOLECULES, CONJUGATES THEREOF, AND THERAPEUTIC USES), опубликованной в качестве заявки на патент США № 2016/0030591, и в заявке на патент США № 14/913,965, зарегистрированной 23 февраля 2016 года под названием «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ДИАСТЕРЕОМЕРЫ МАКРОЛИДОВ, СПОСОБЫ ИХ СИНТЕЗА И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ (PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS COMPRISING MACROLIDE DIASTEREOMERS, METHODS OF THEIR SYNTHESIS AND THERAPEUTIC USES), опубликованной в качестве заявки на патент США под № 2016/0354482, информация об этих полезных нагрузках включена в настоящий документ посредством ссылки.

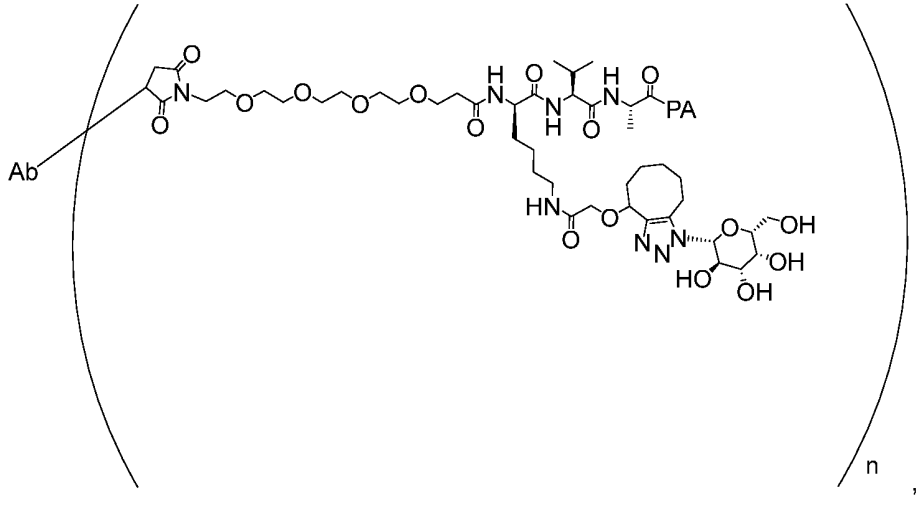
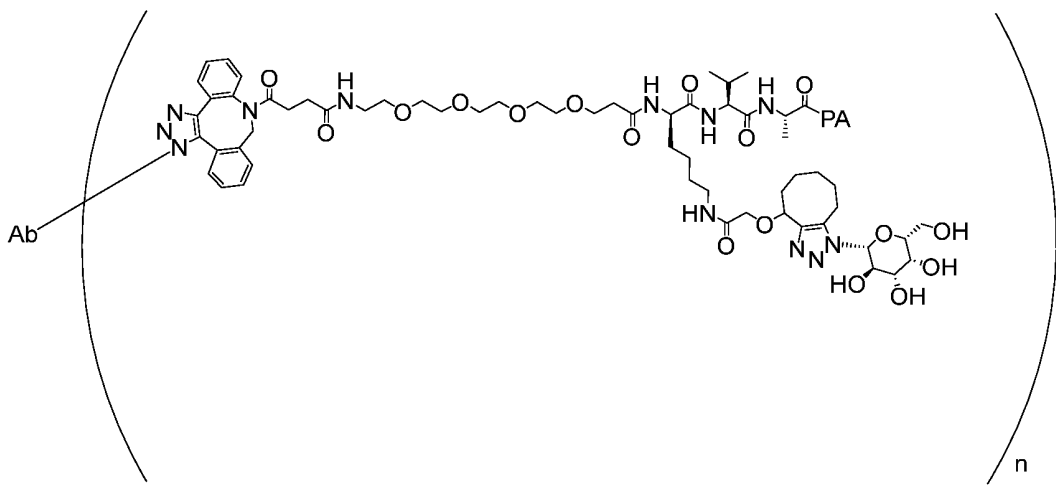
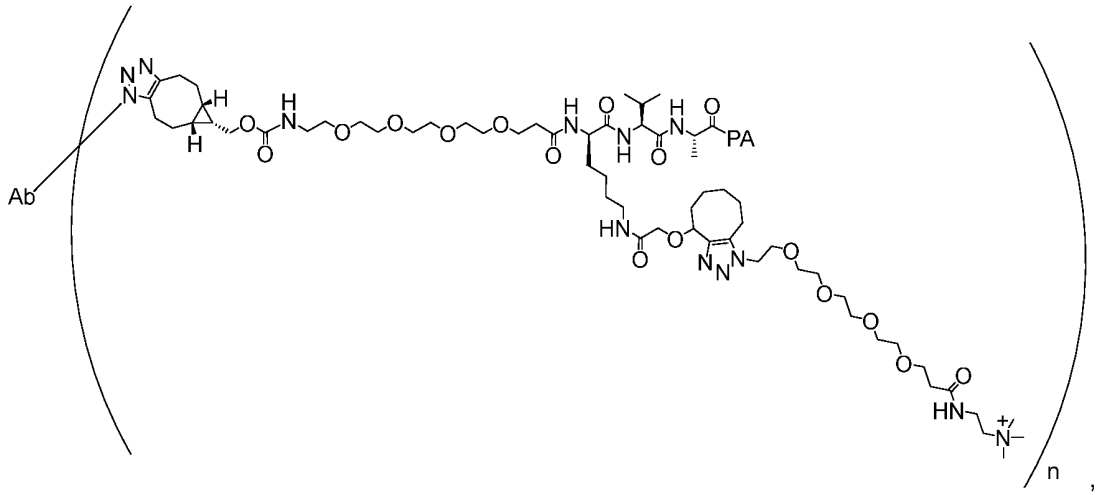
**[0143]** В некоторых случаях соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), является конъюгатом антитело-лекарственное средство (ADC), где **BA** представляет собой Ab, и Ab является антителом или его антиген-связывающим фрагментом. В некоторых случаях соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), является конъюгатом, который выбирают из группы, включающей:

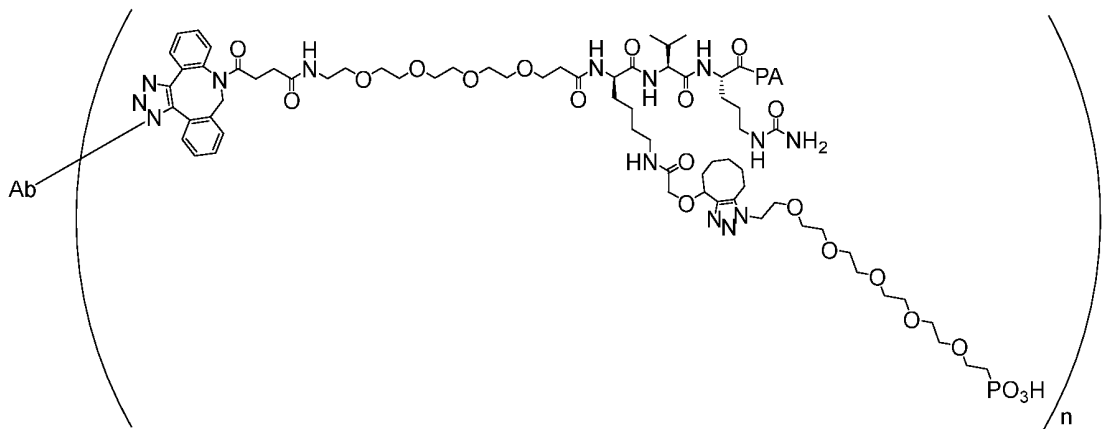
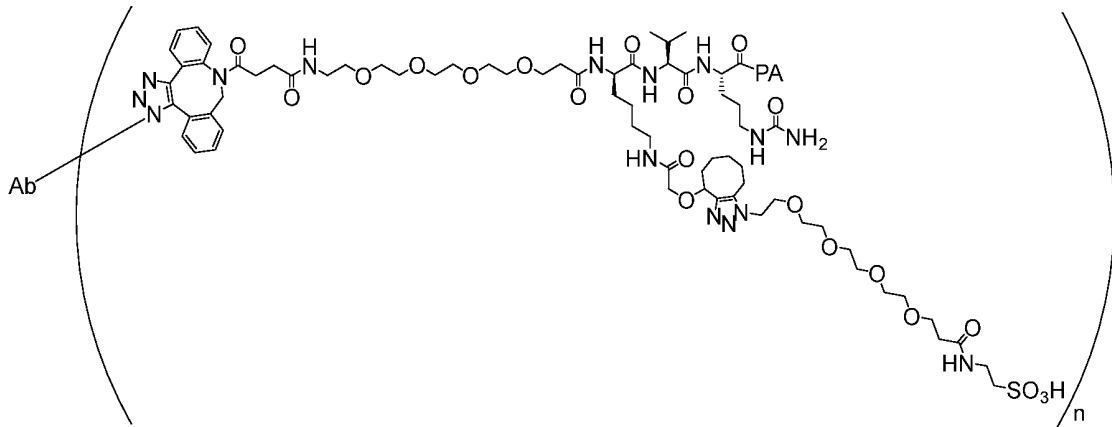
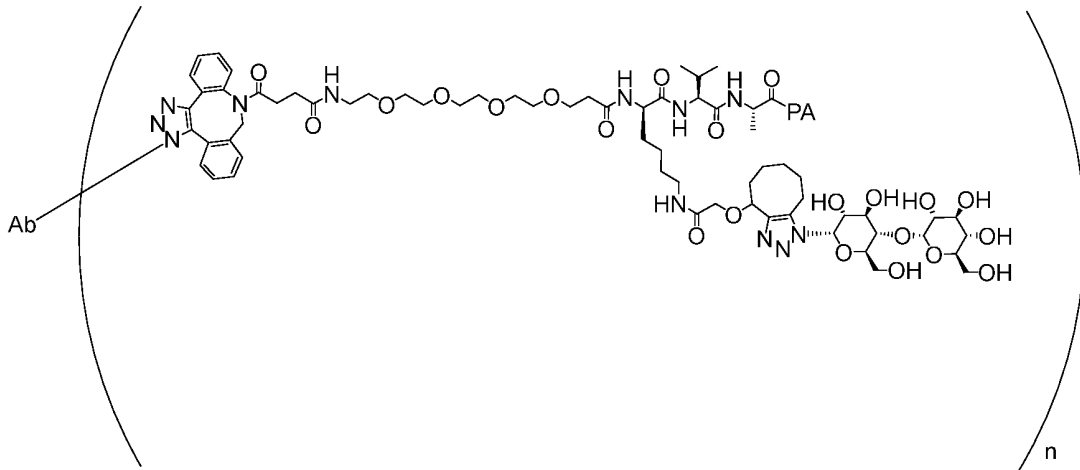






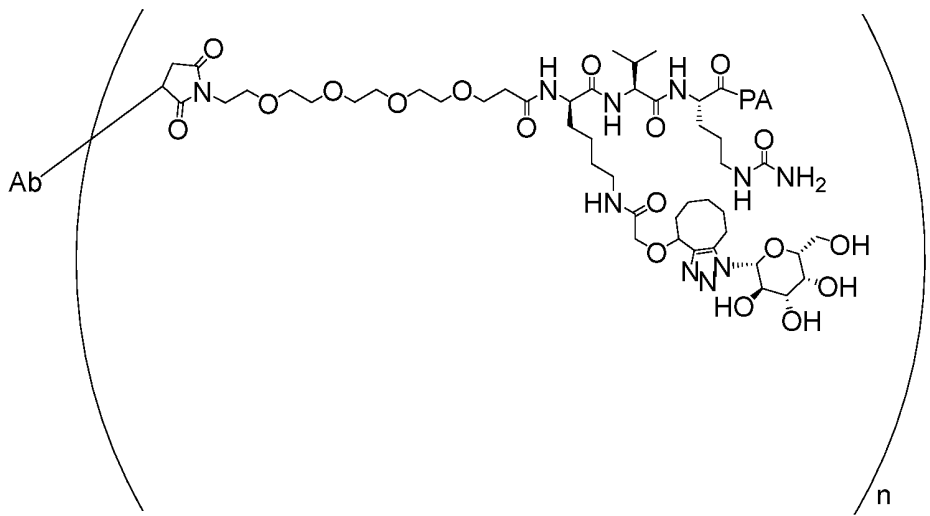
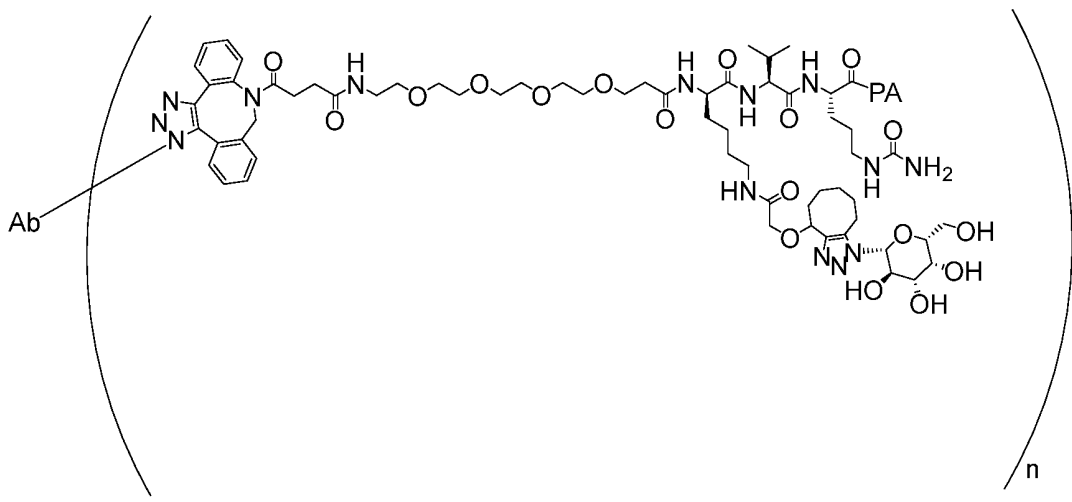




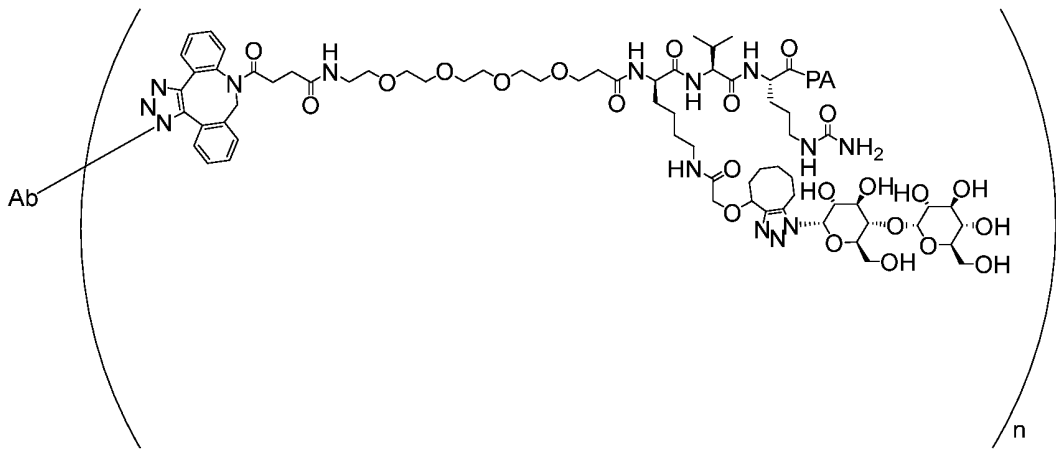








и



или его стереоизомерной формой, региоизомером или смесью региоизомеров,

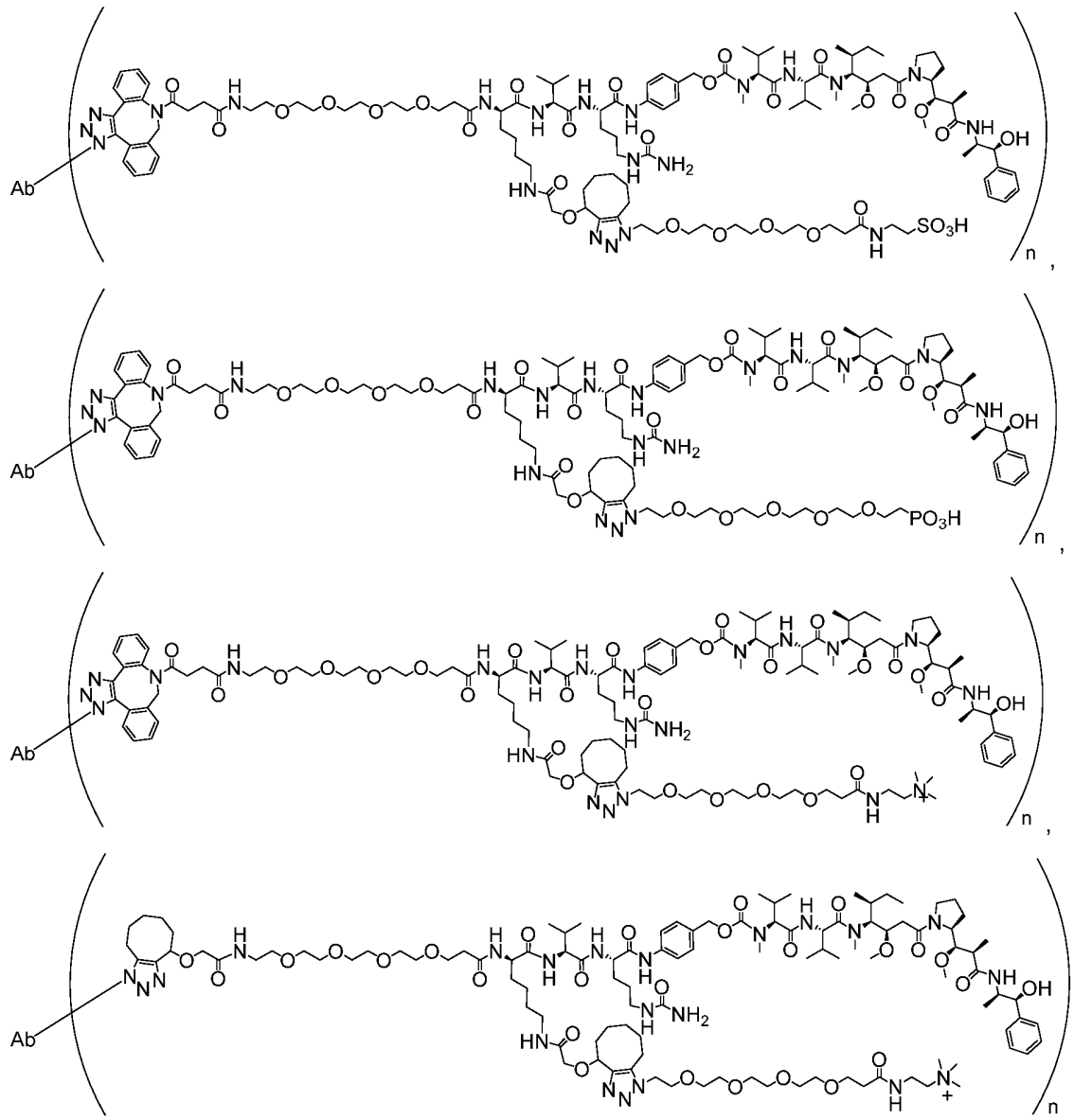
где

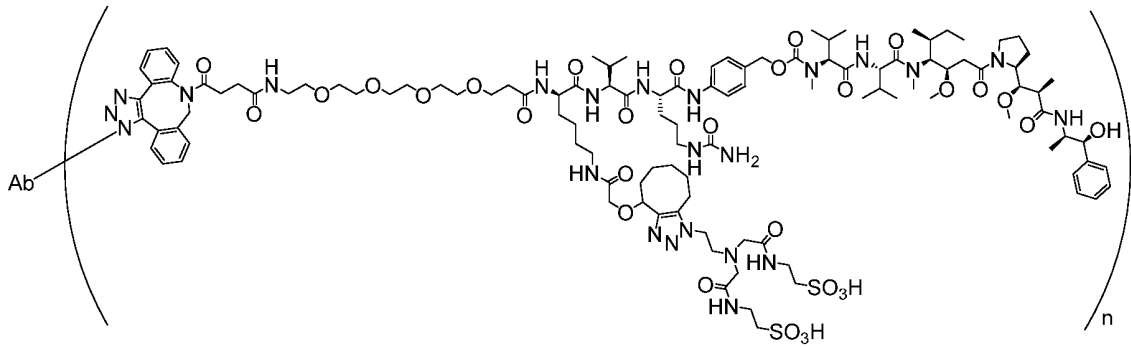
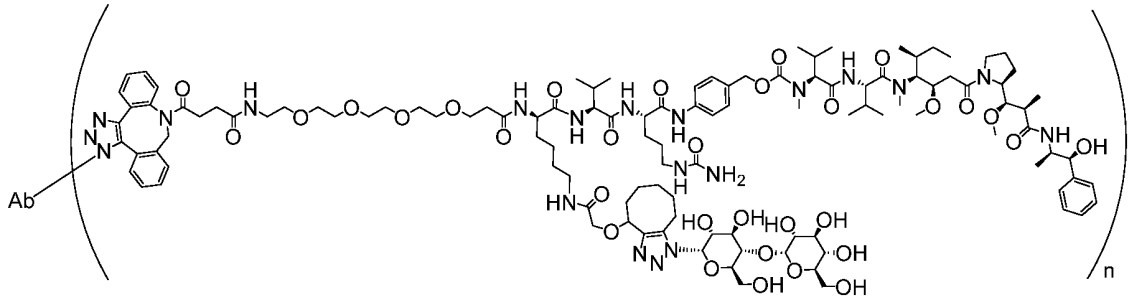
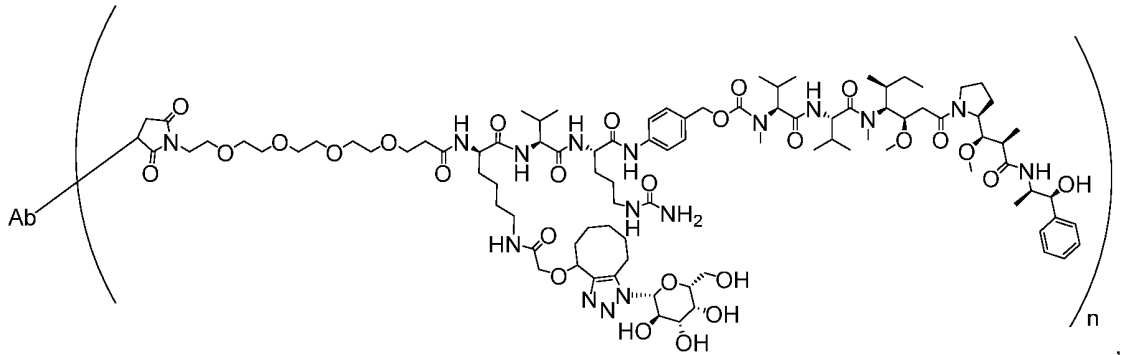
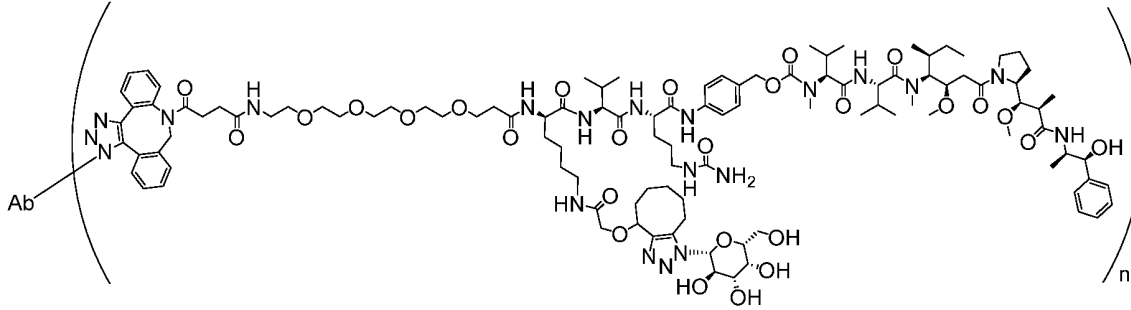
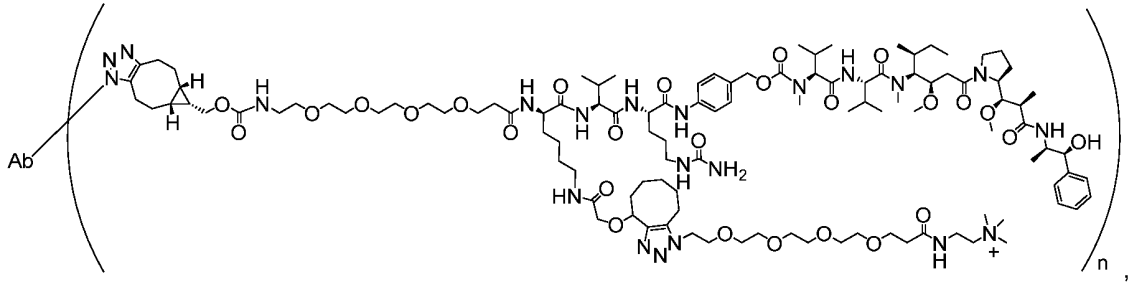
каждый **Ab** является антителом, или его антиген-связывающим фрагментом;

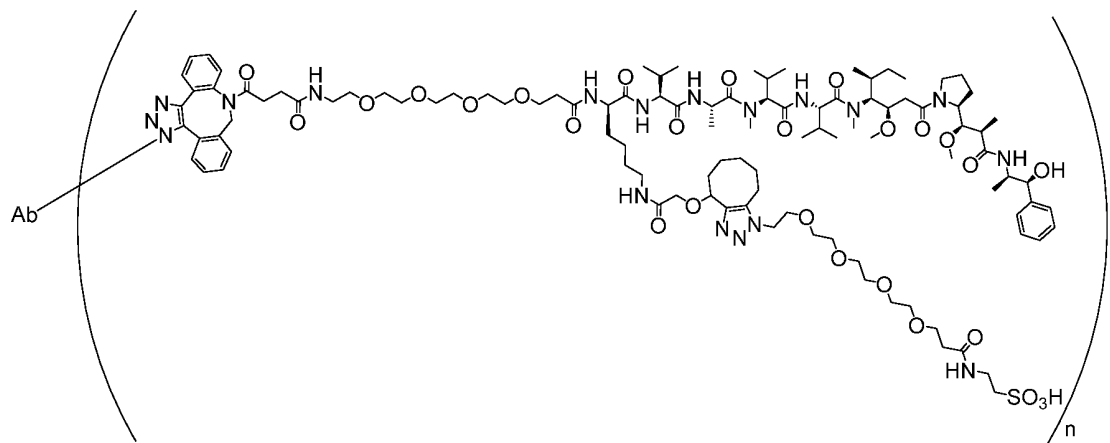
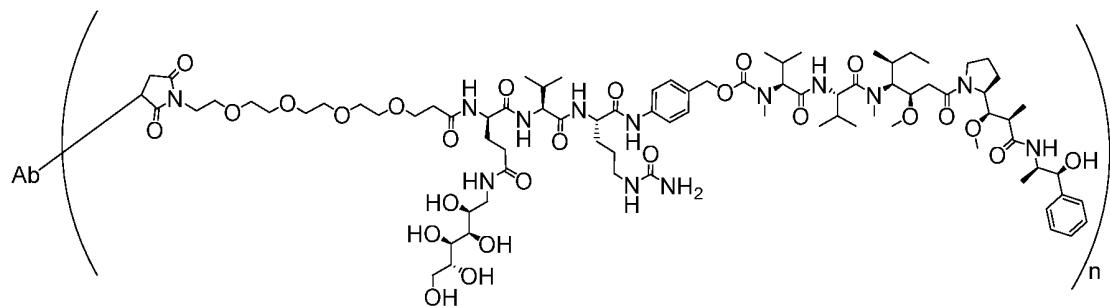
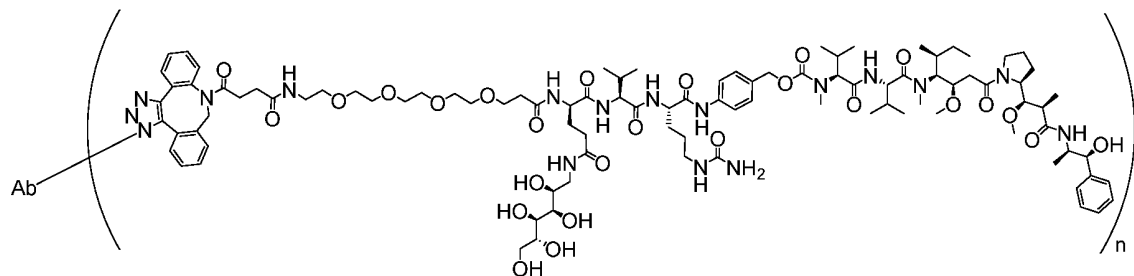
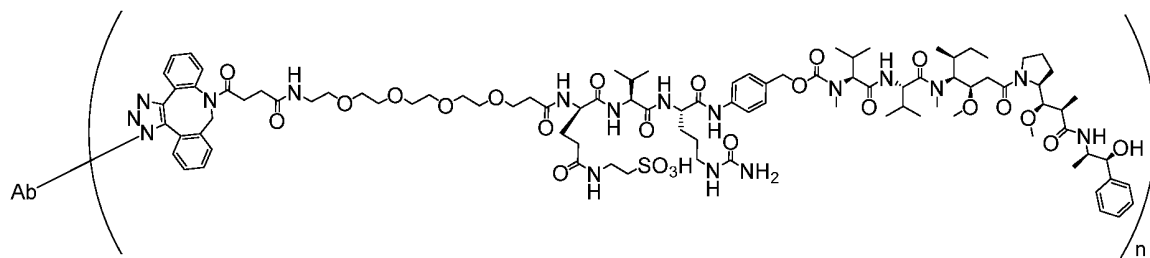
**PA** - остаток полезной нагрузки; и

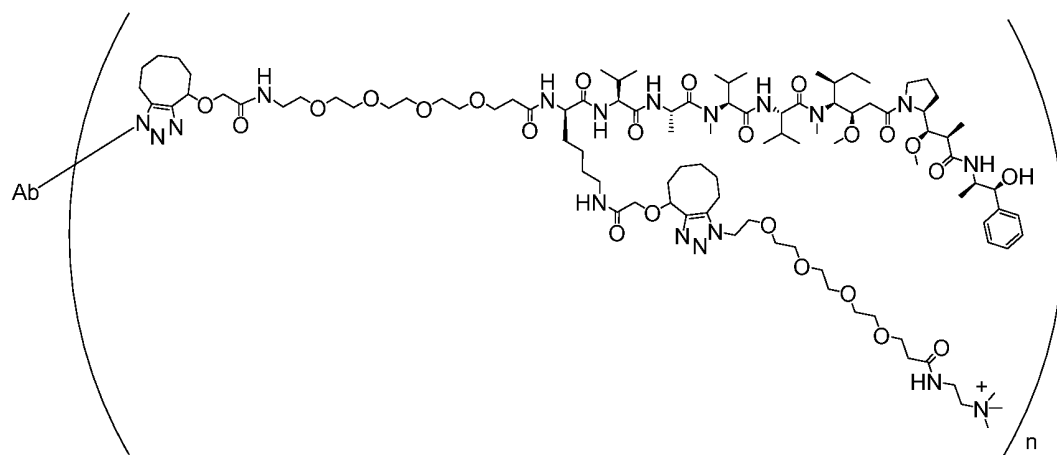
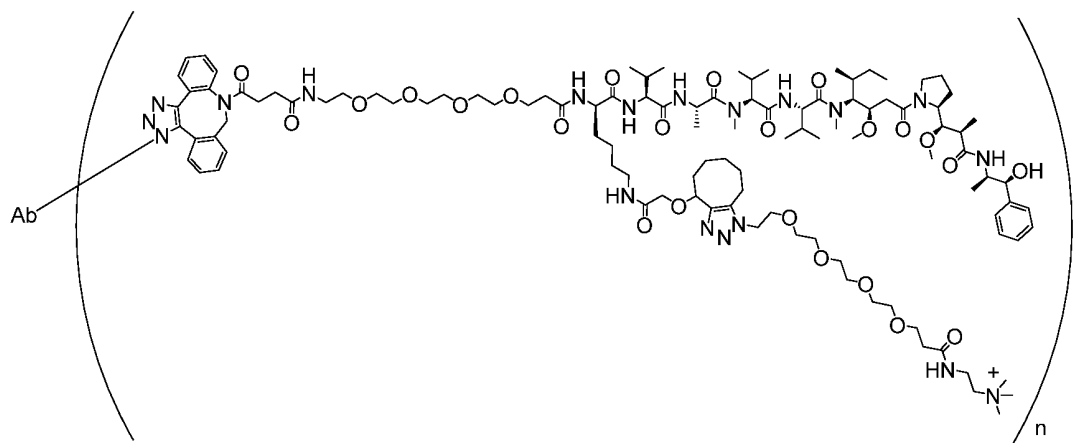
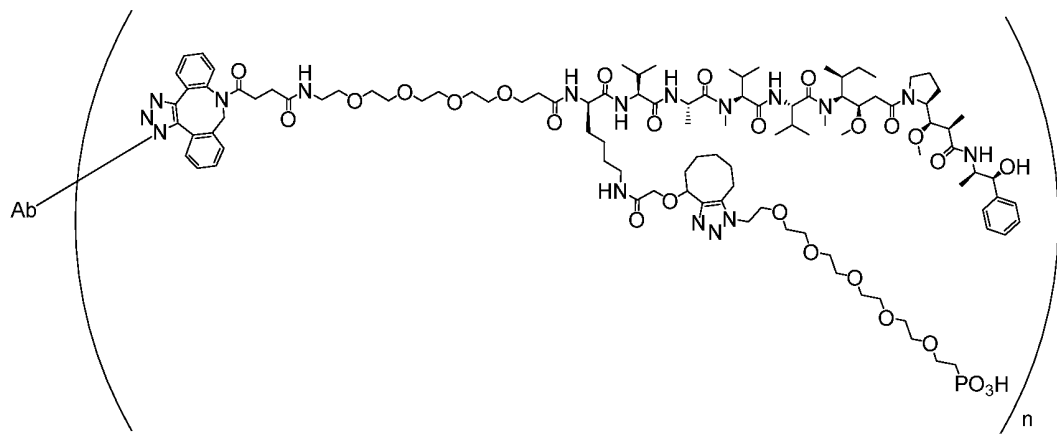
подстрочный индекс **n** является целым числом от 1 до 30.

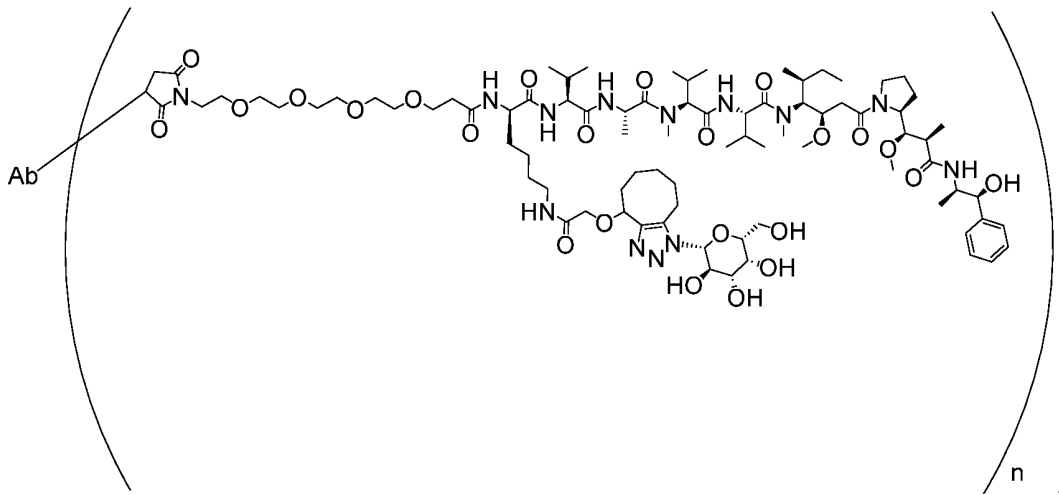
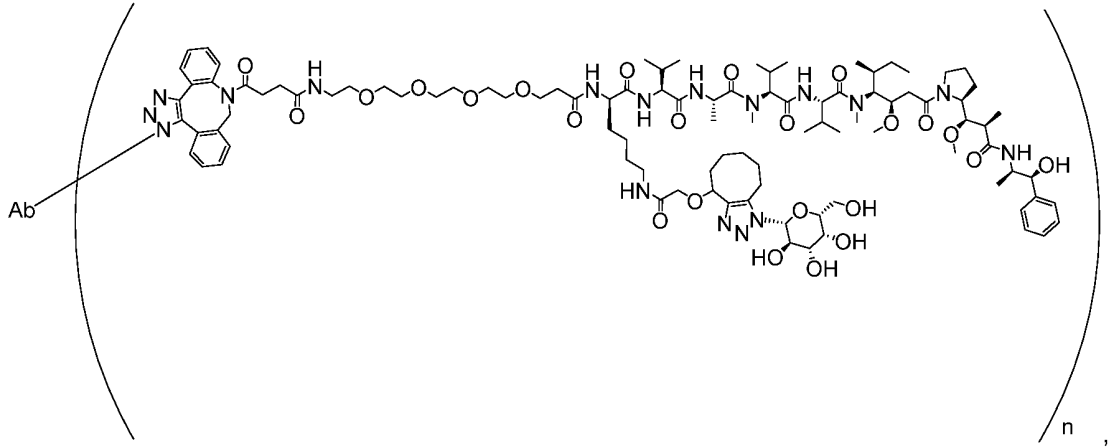
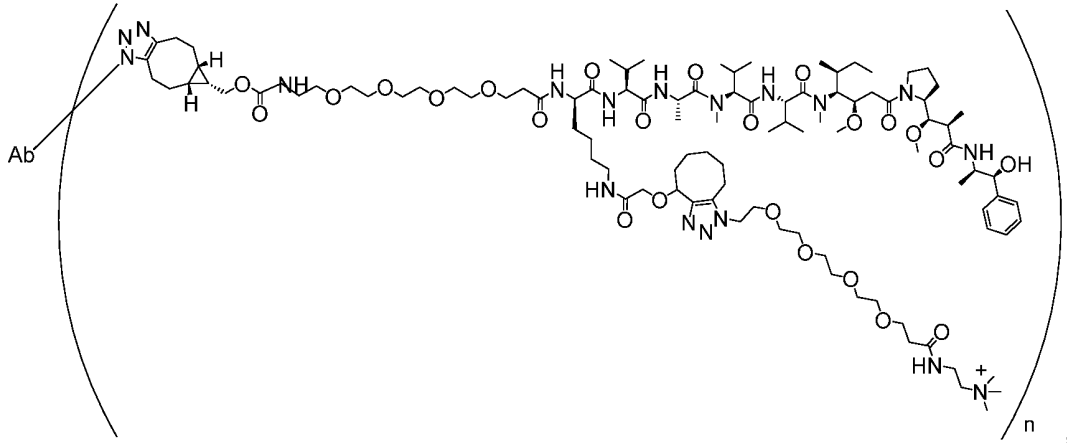
[0144] В некоторых случаях соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), является конъюгатом антитело-лекарственное средство (ADC), где **BA** представляет собой Ab, и Ab является антителом или его антиген-связывающим фрагментом, который выбирают из группы, включающей:

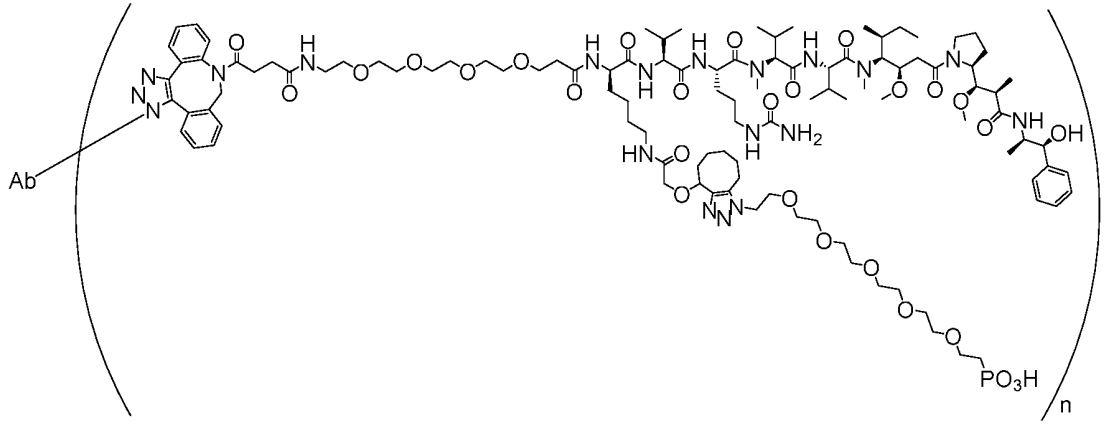
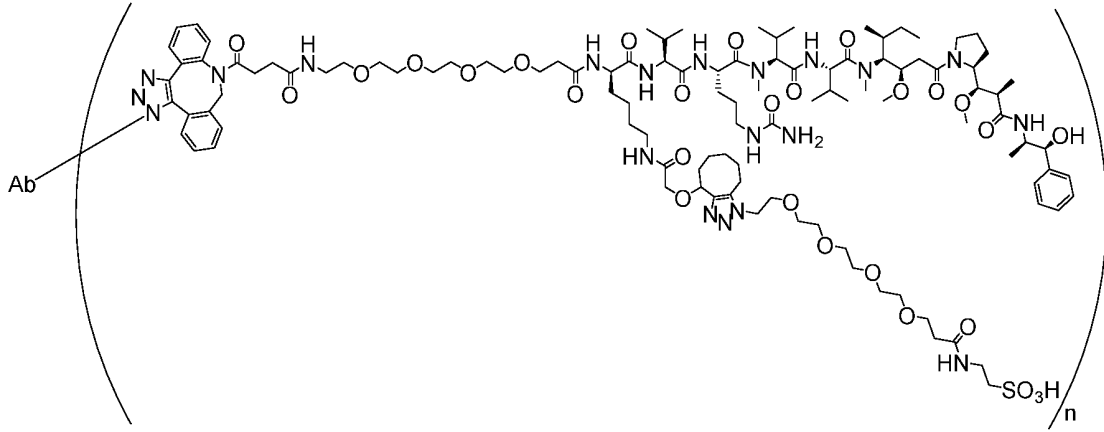
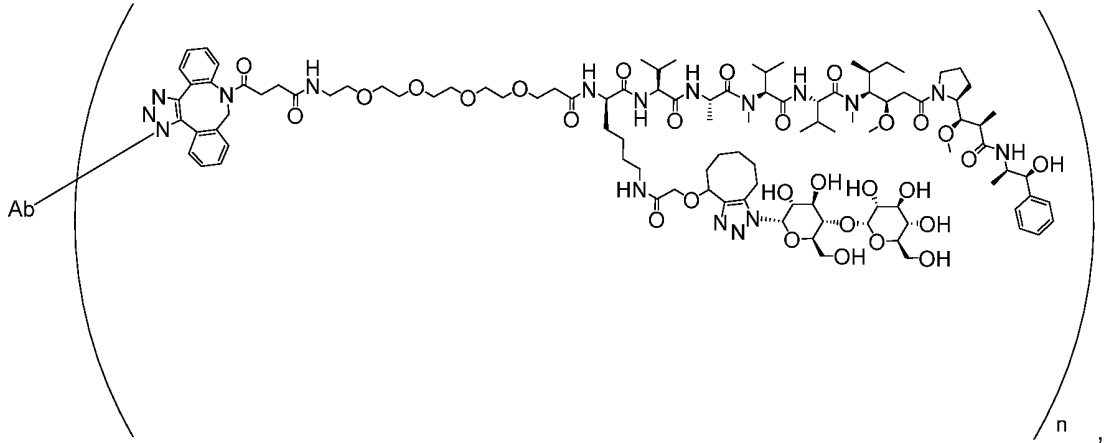


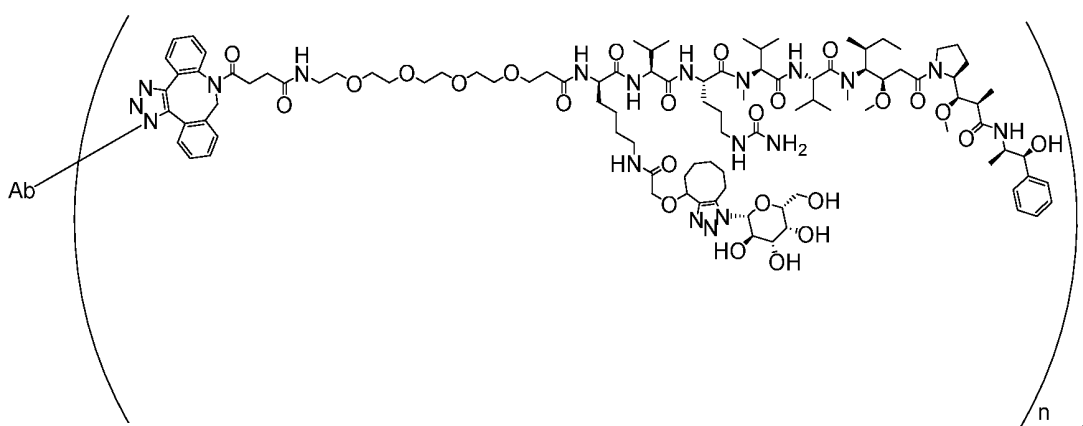
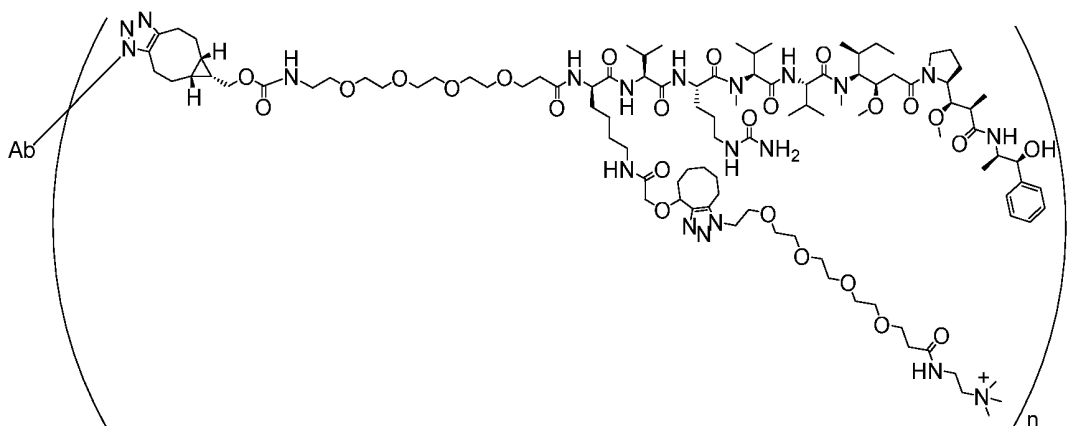
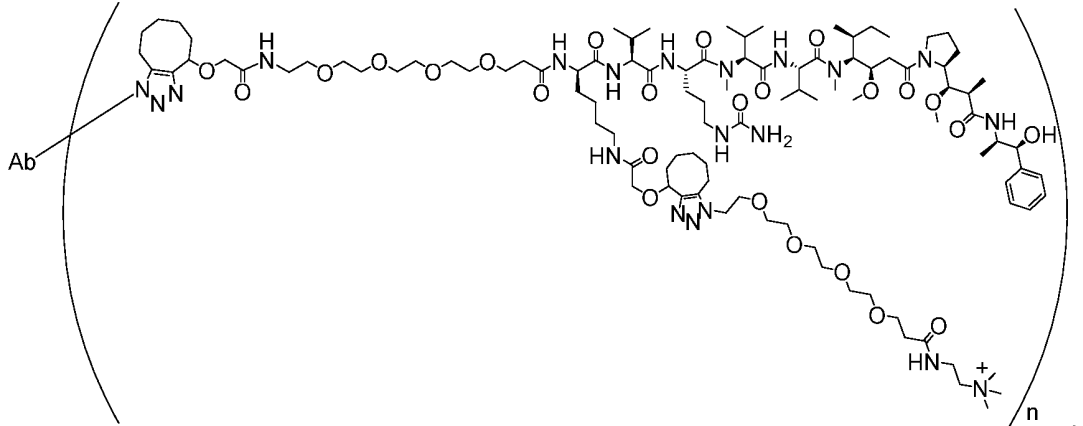
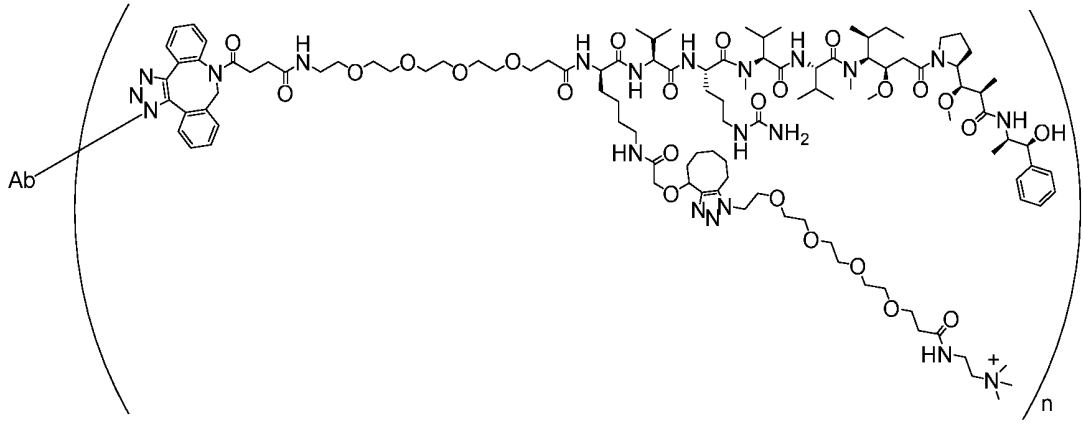




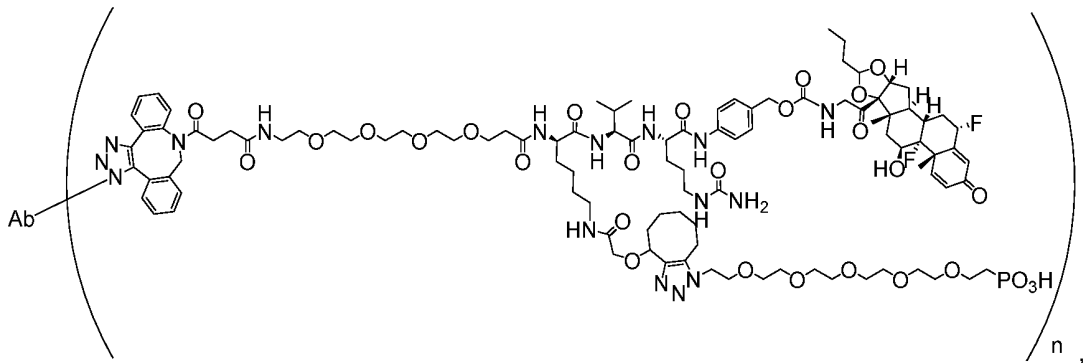
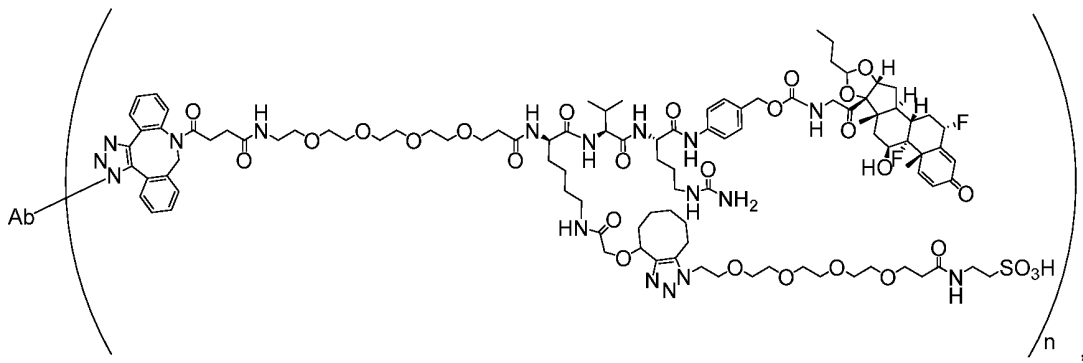
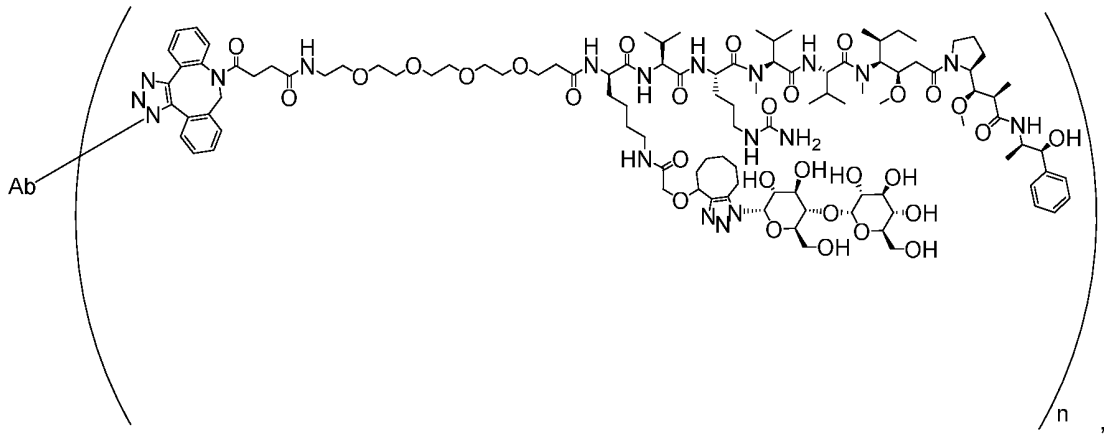
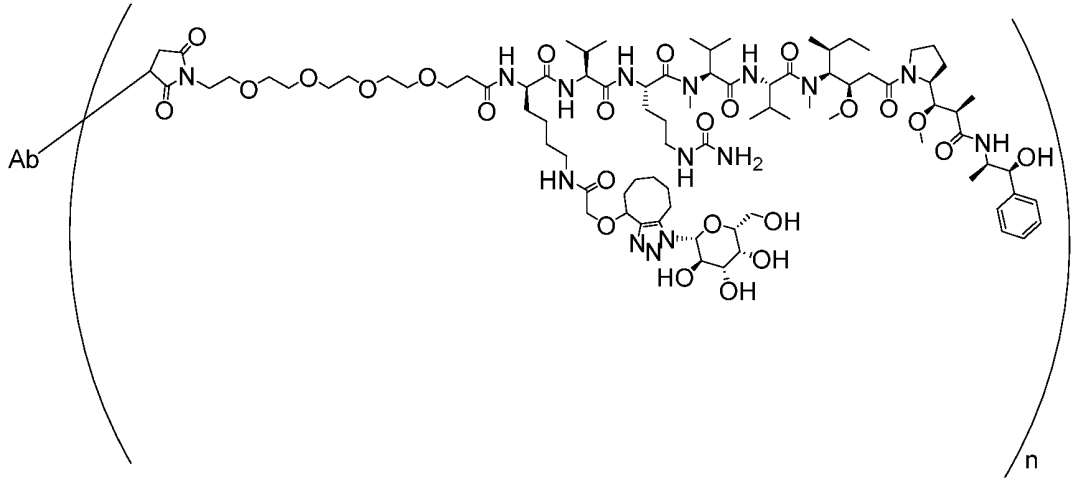


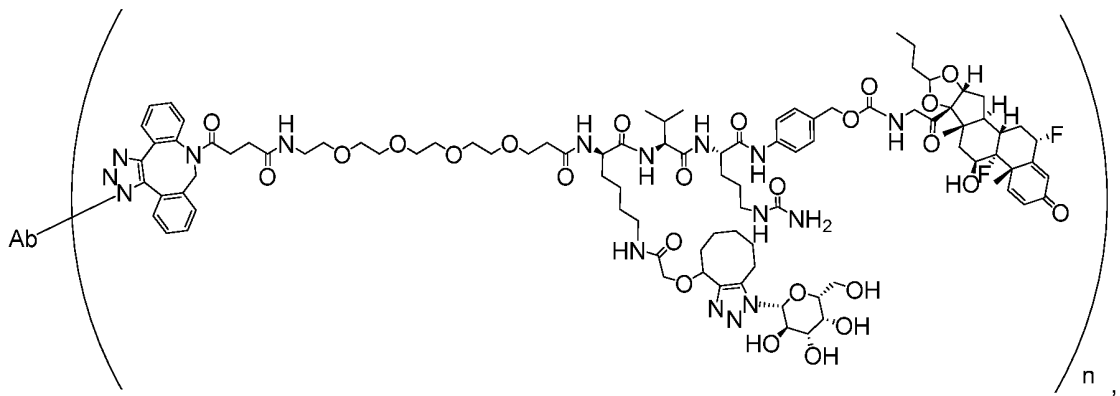
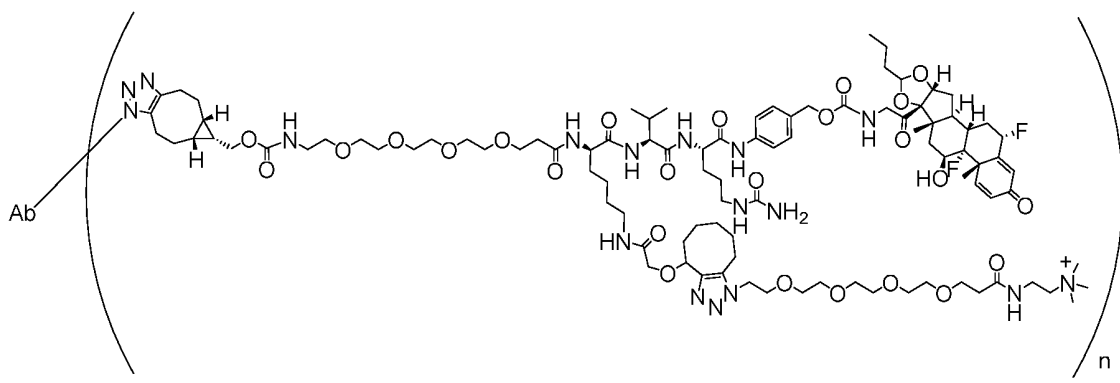
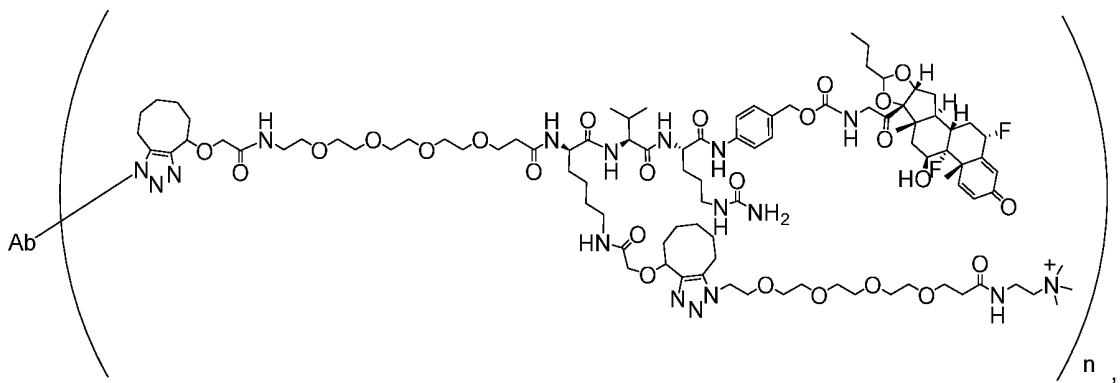
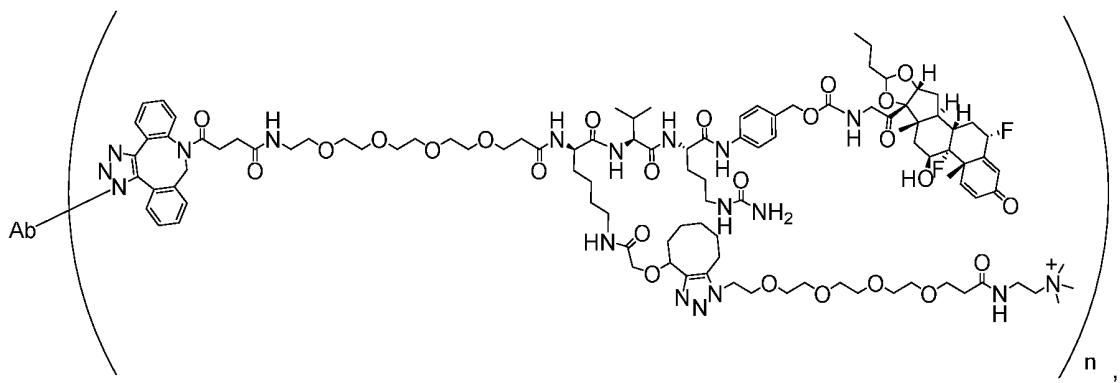


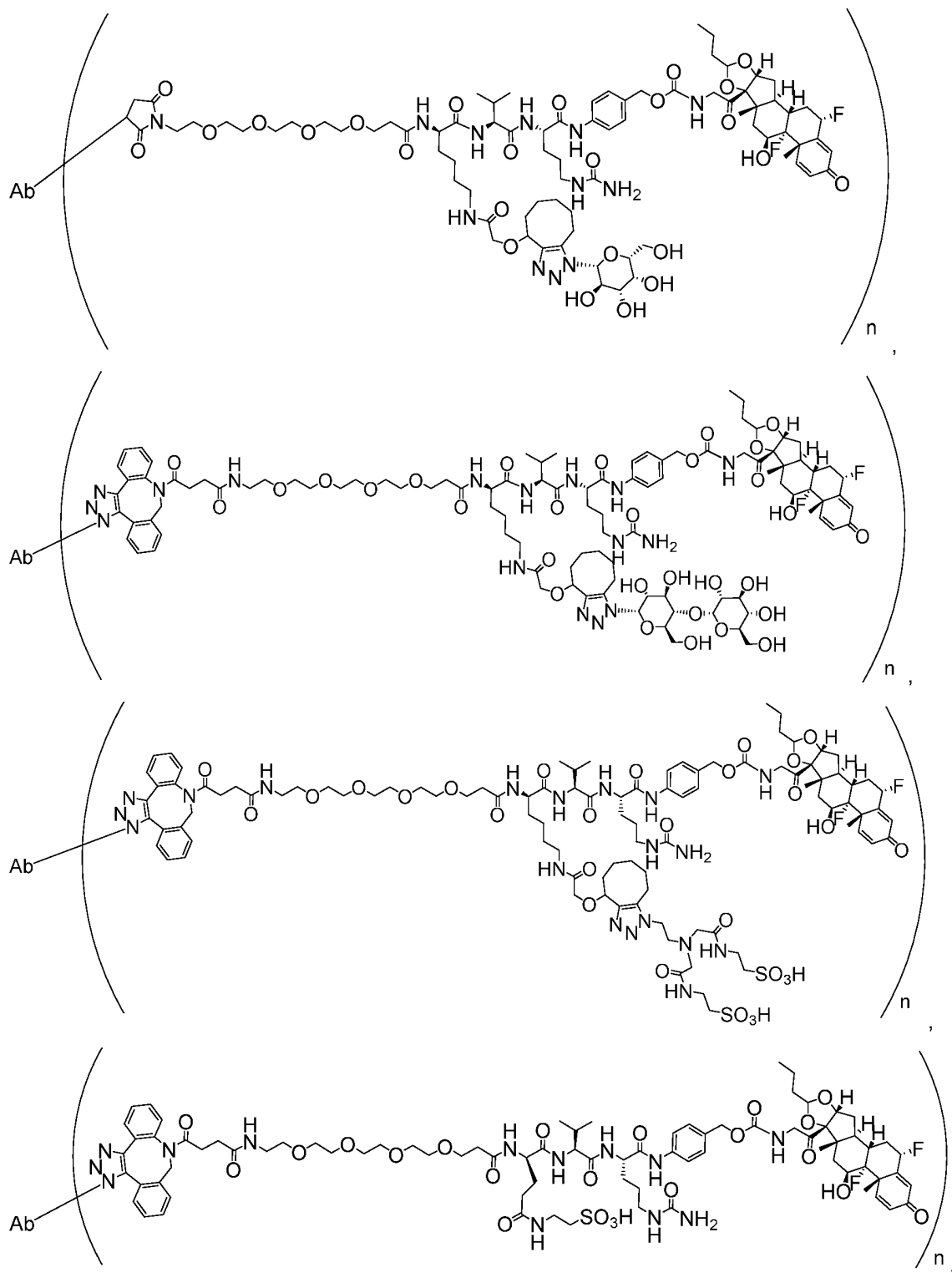


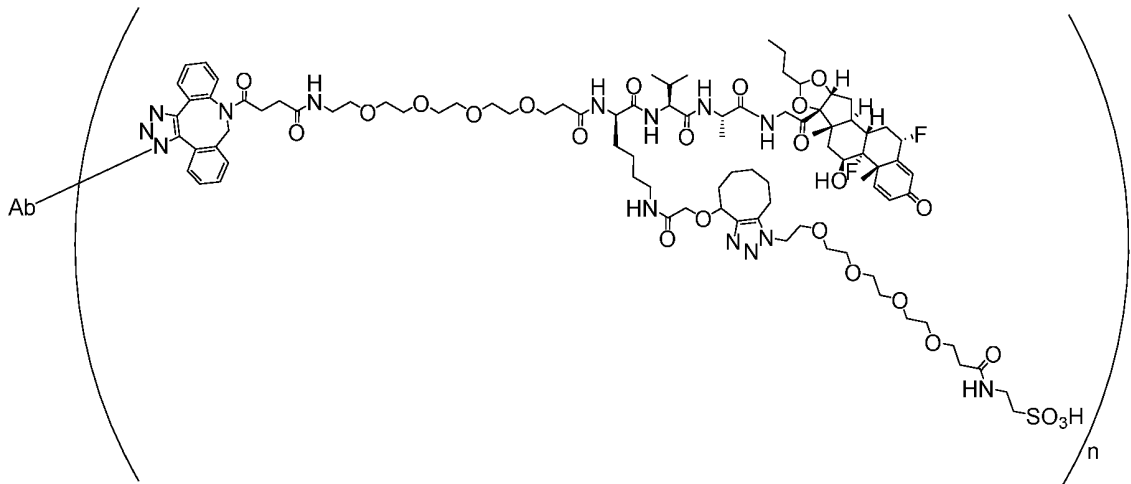
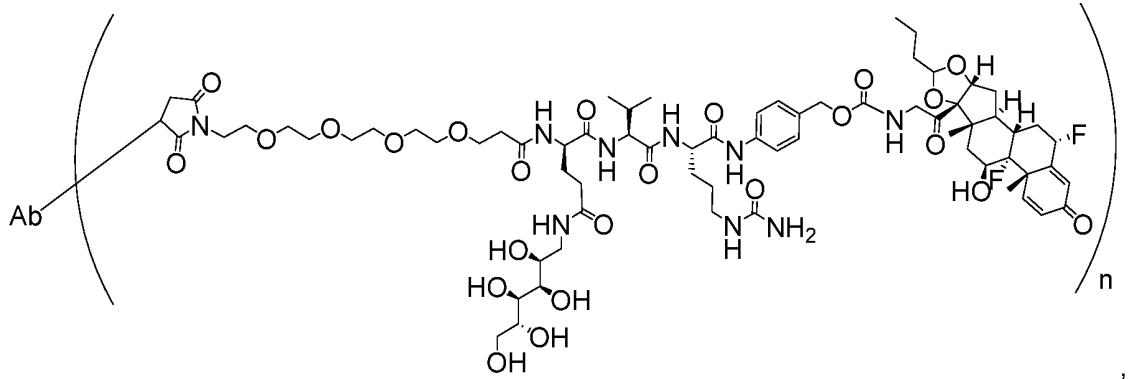
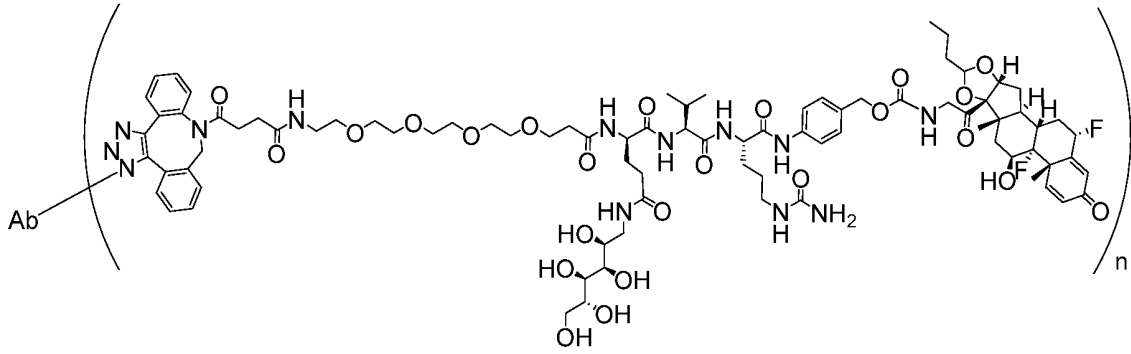


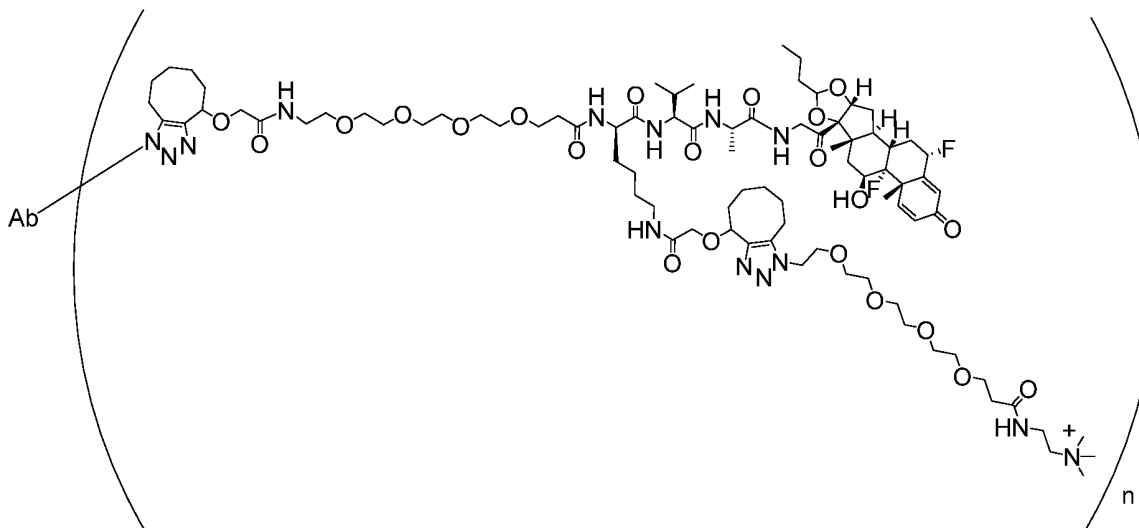
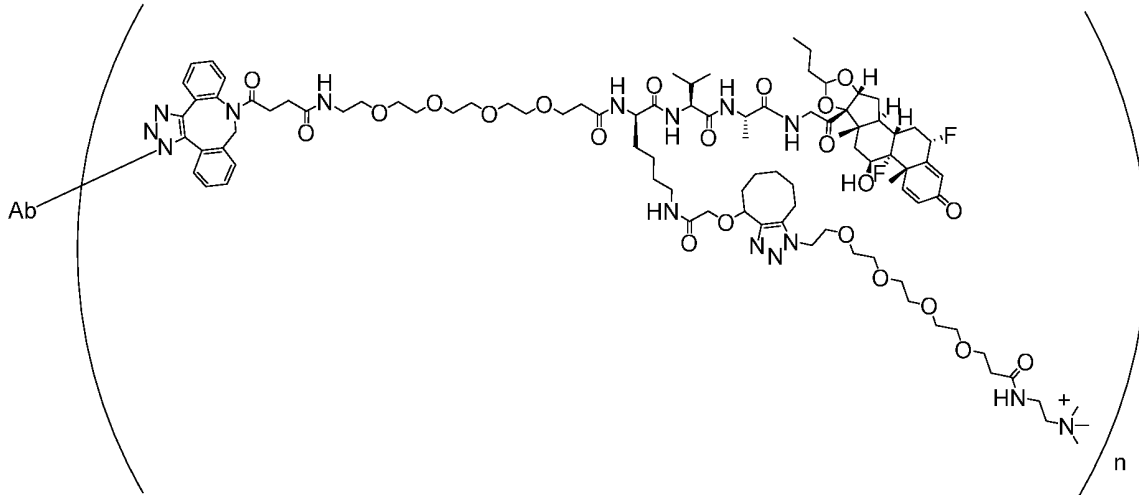
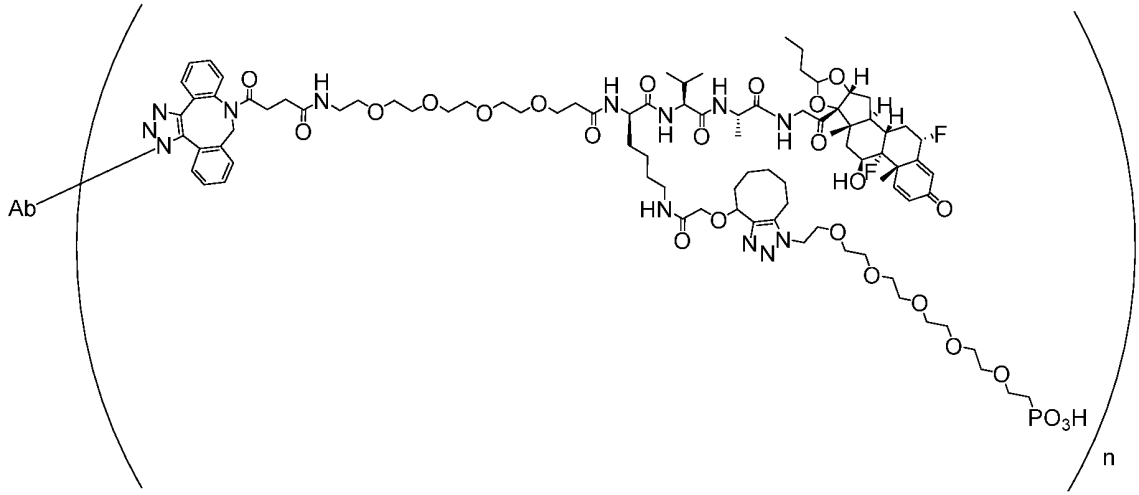


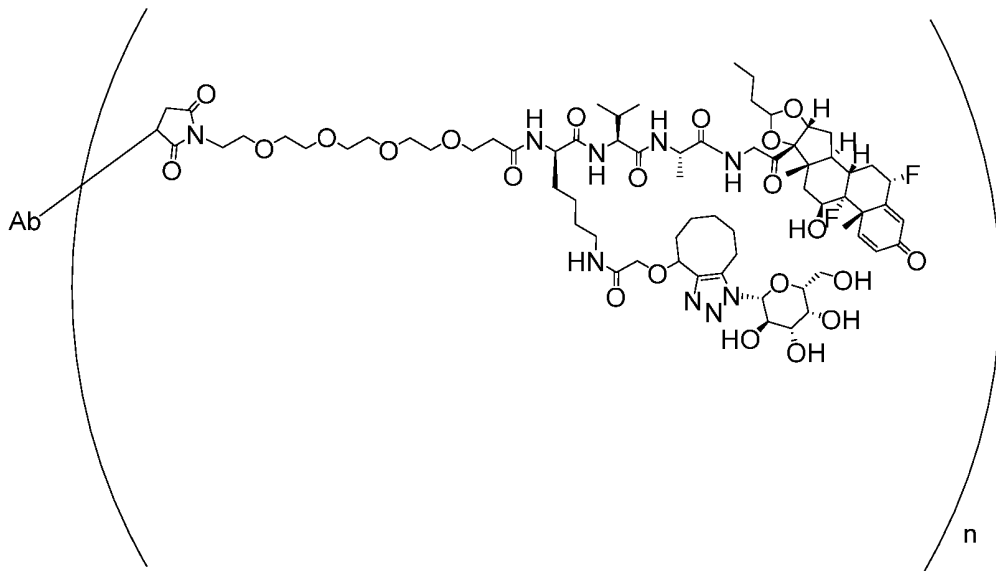
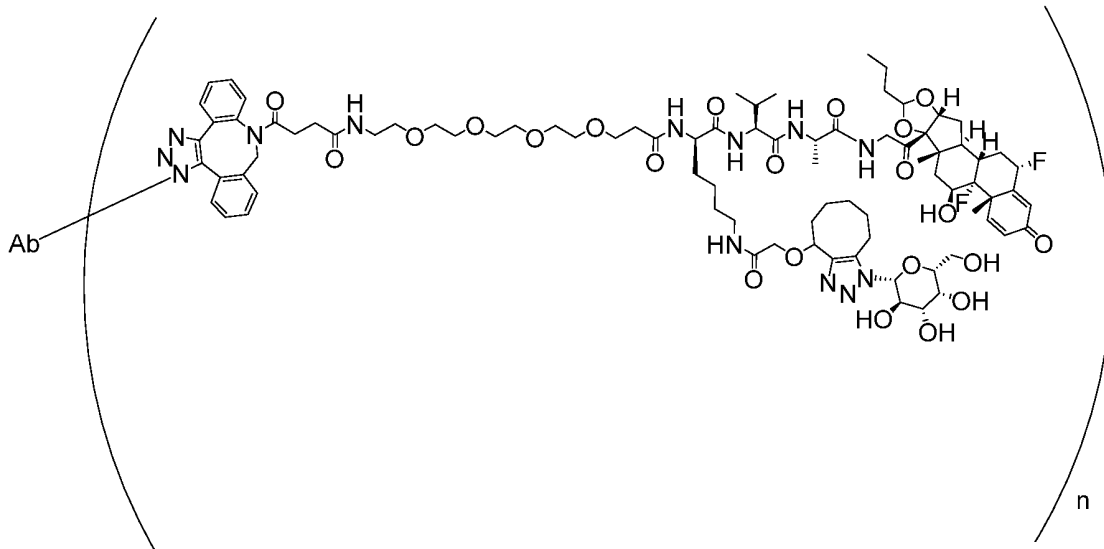
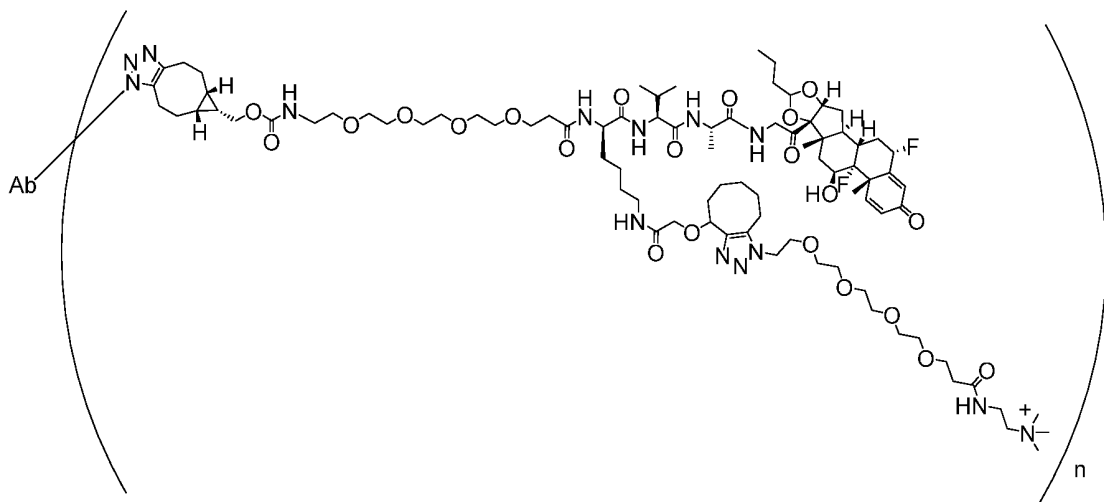


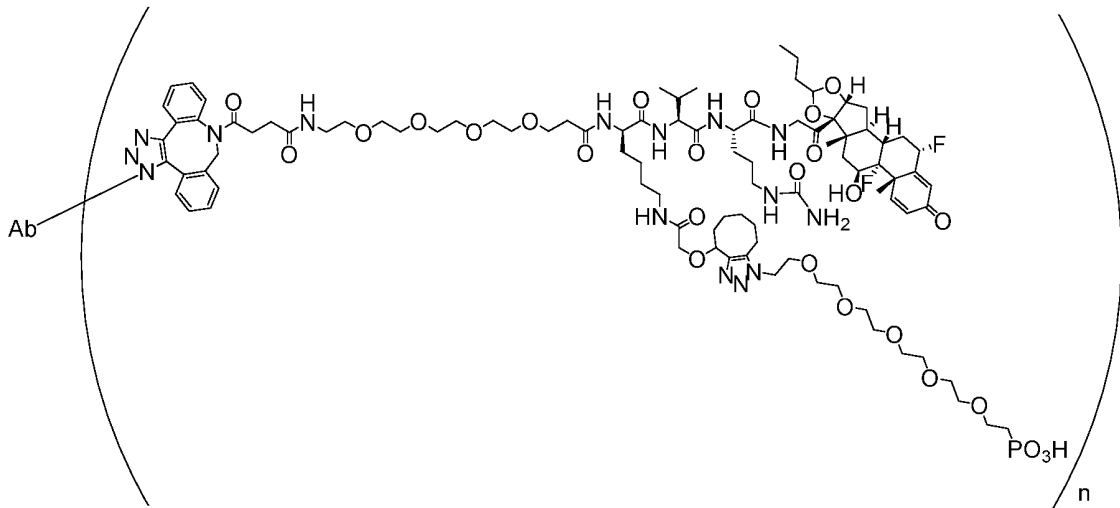
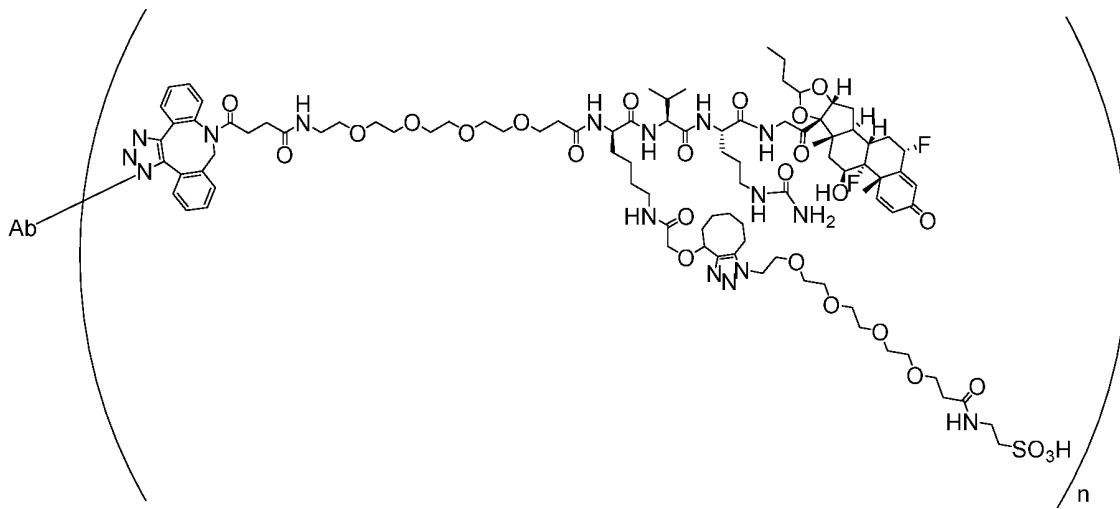
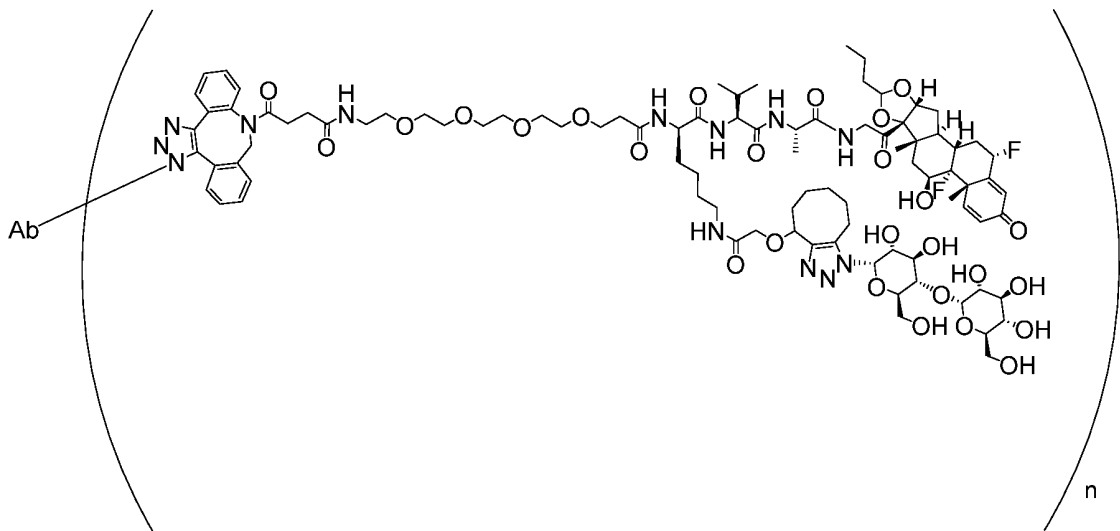


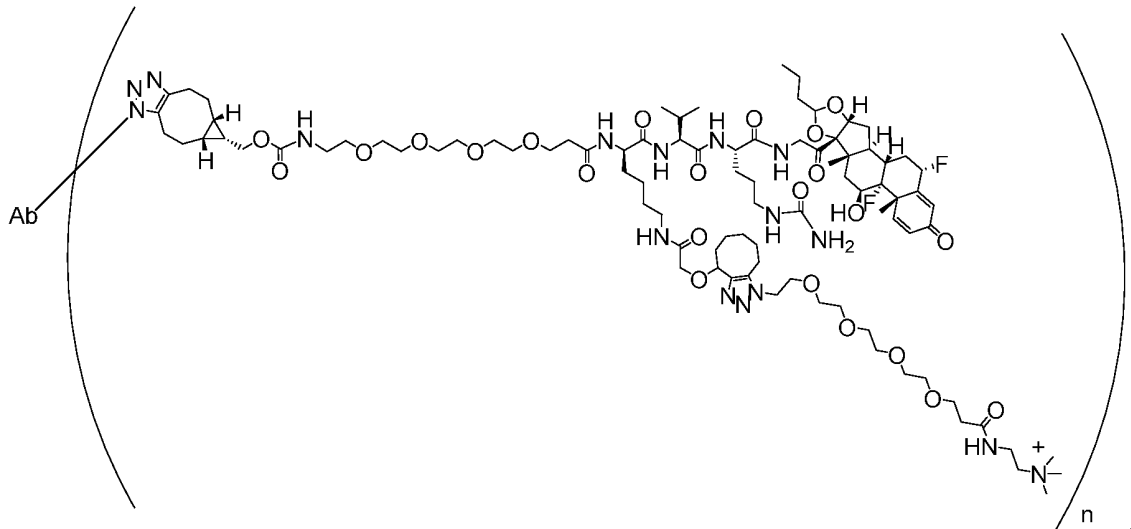
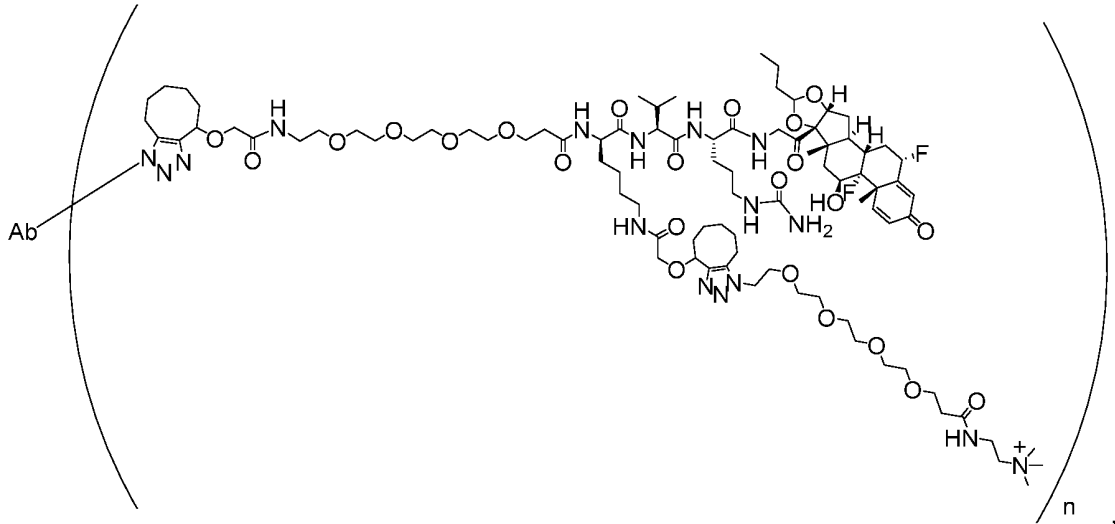
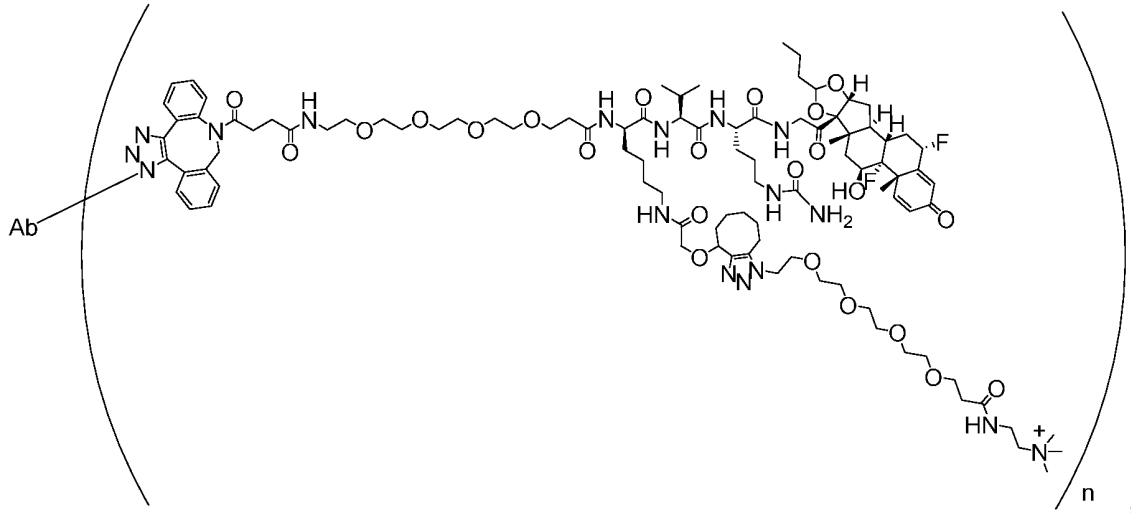




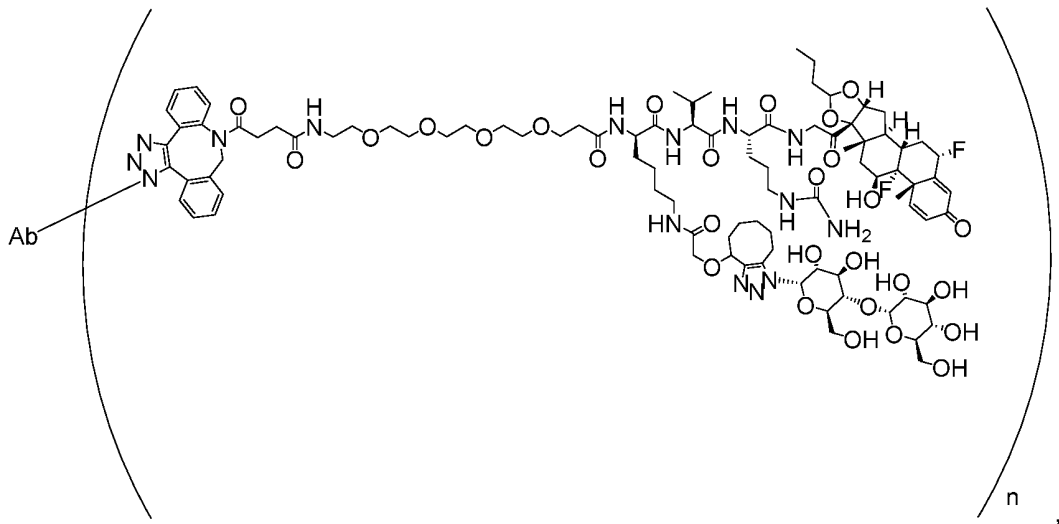
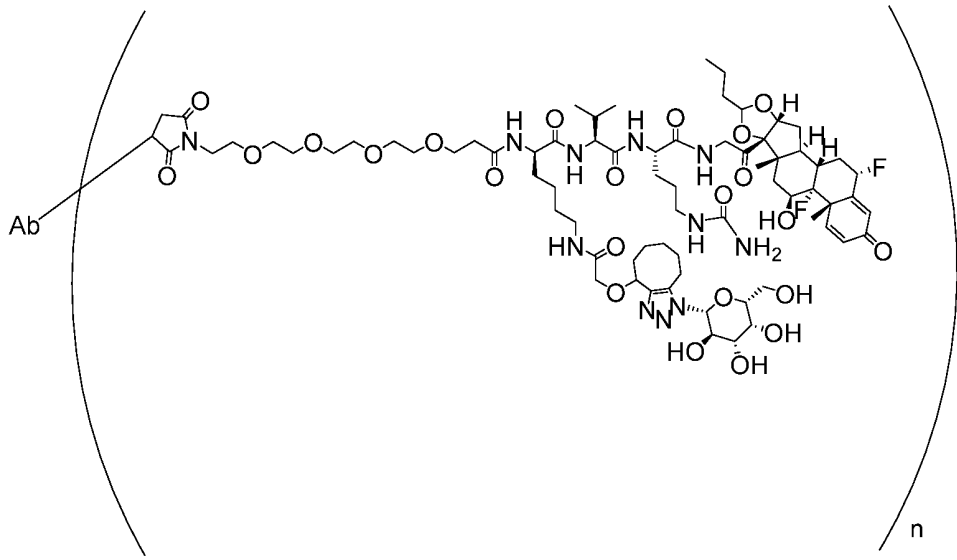
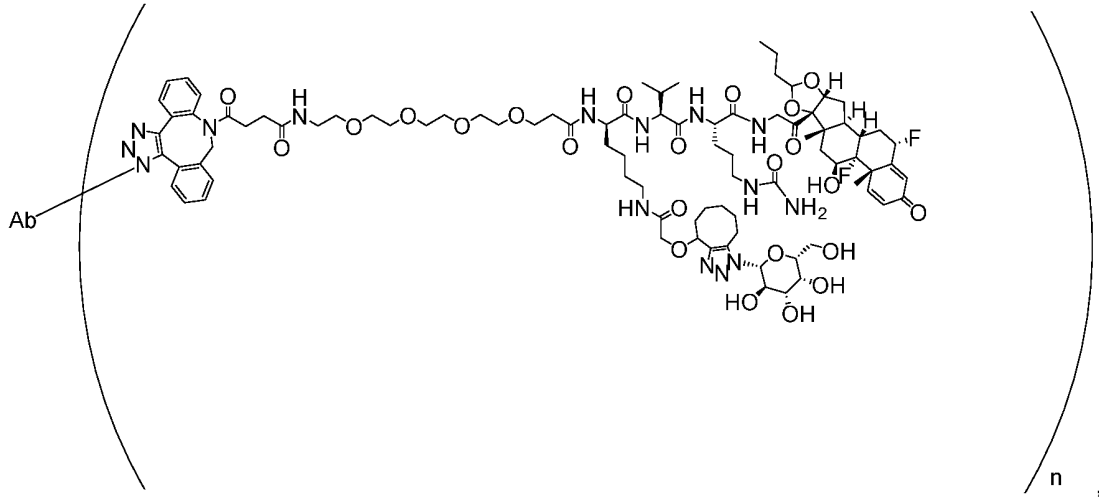


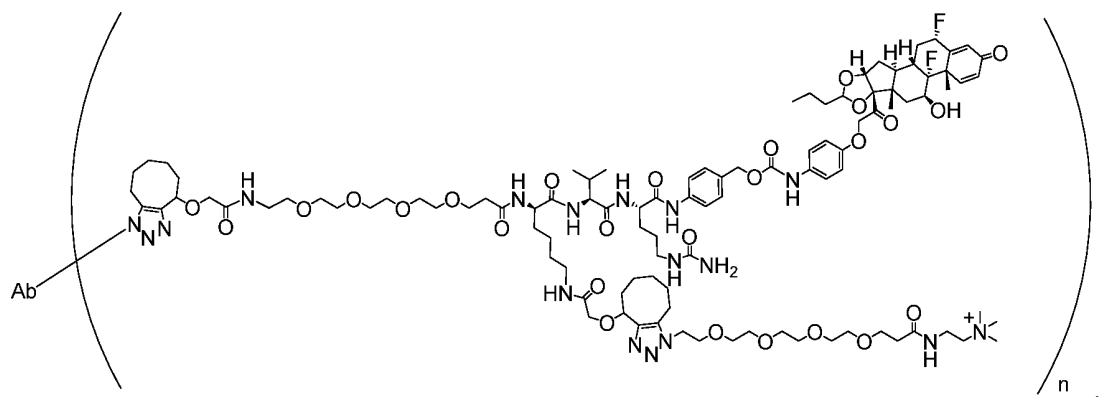
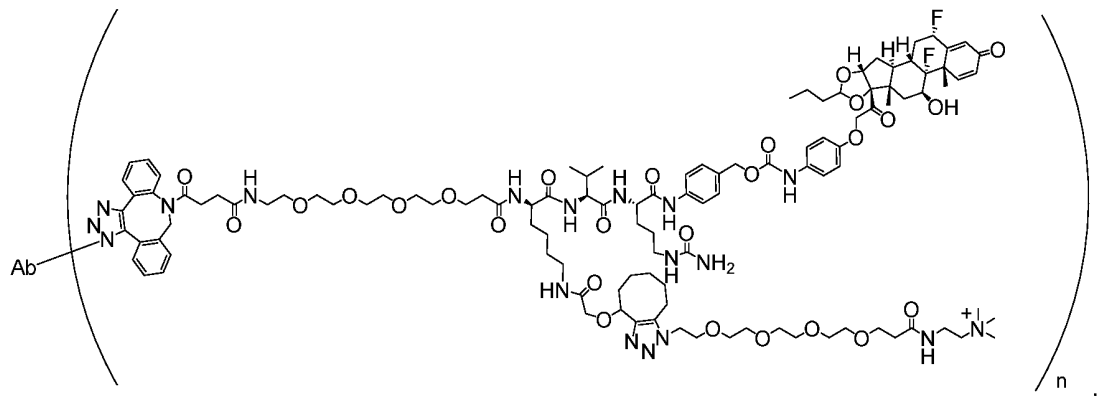
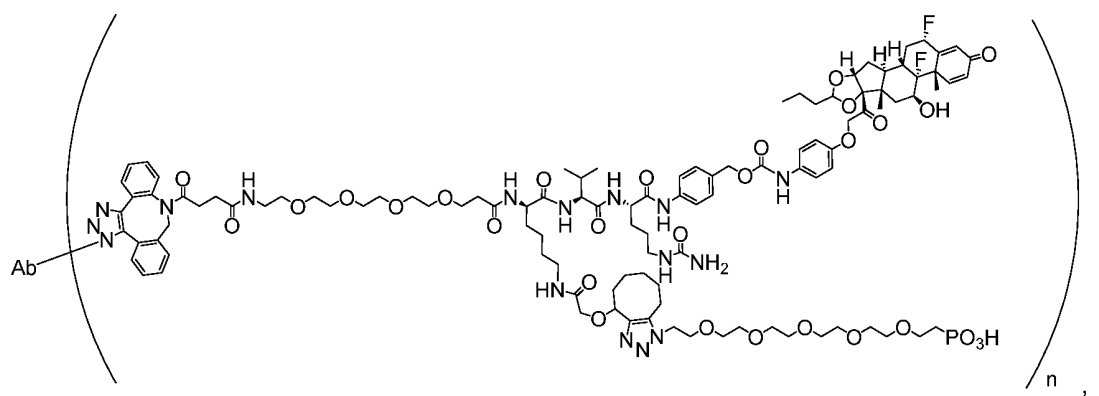
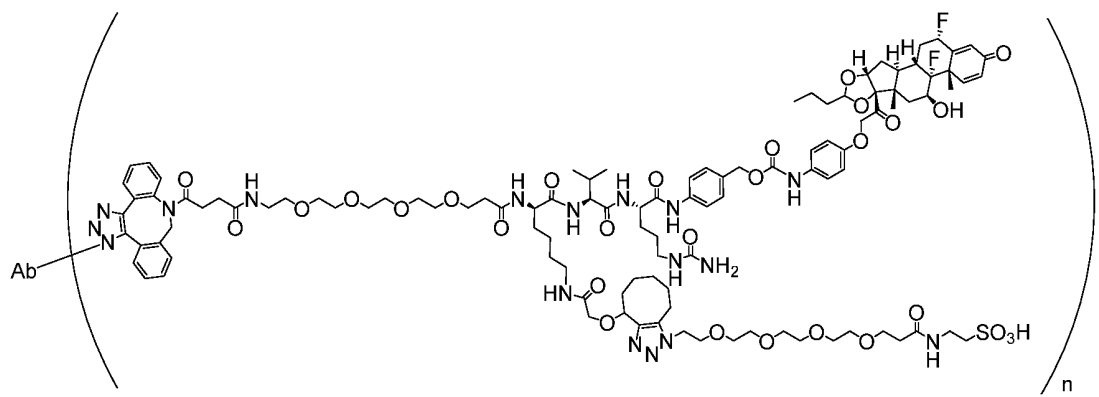


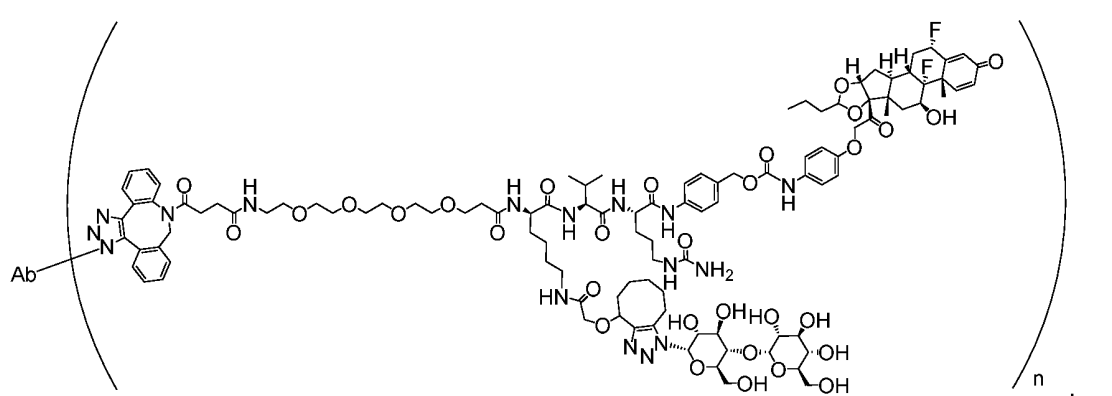
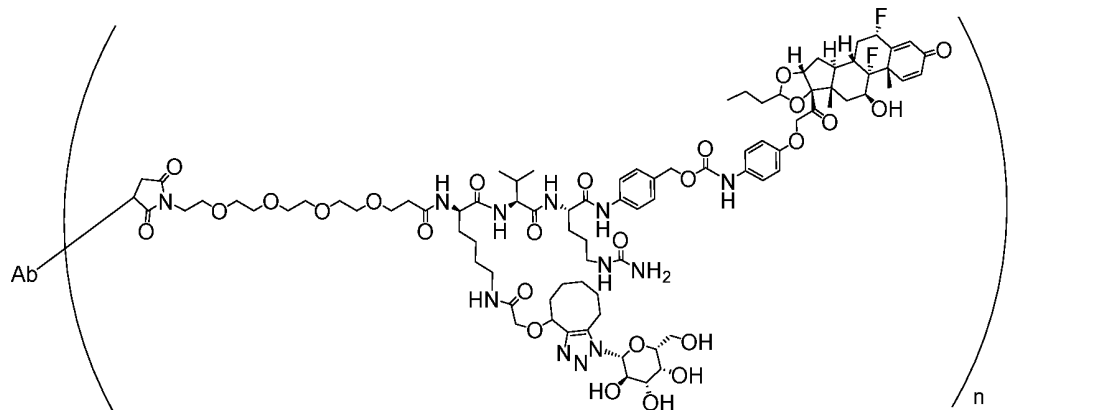
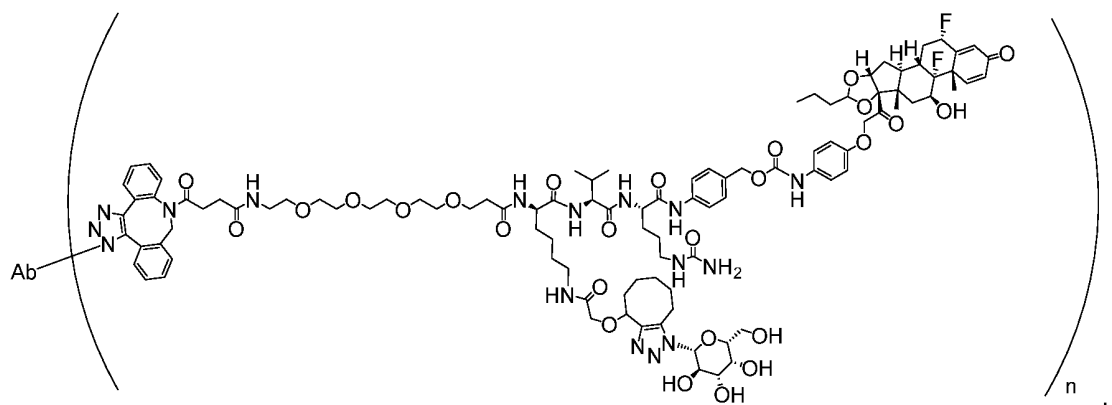
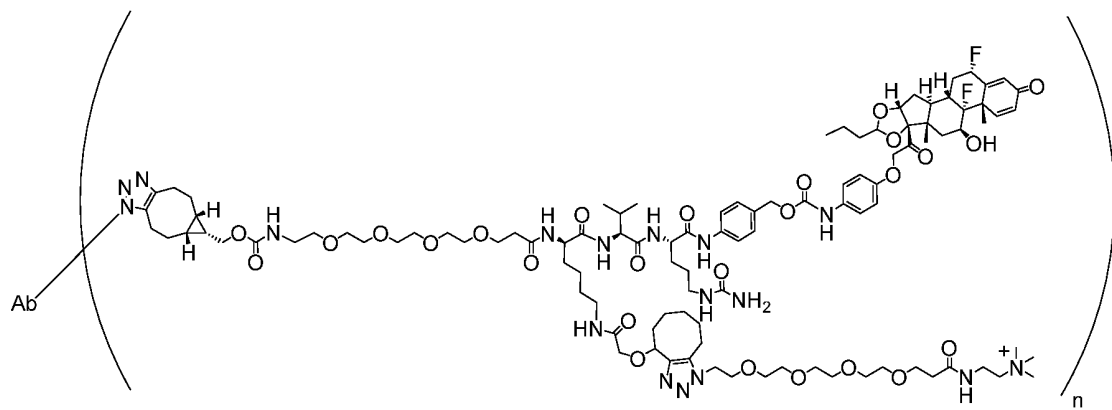


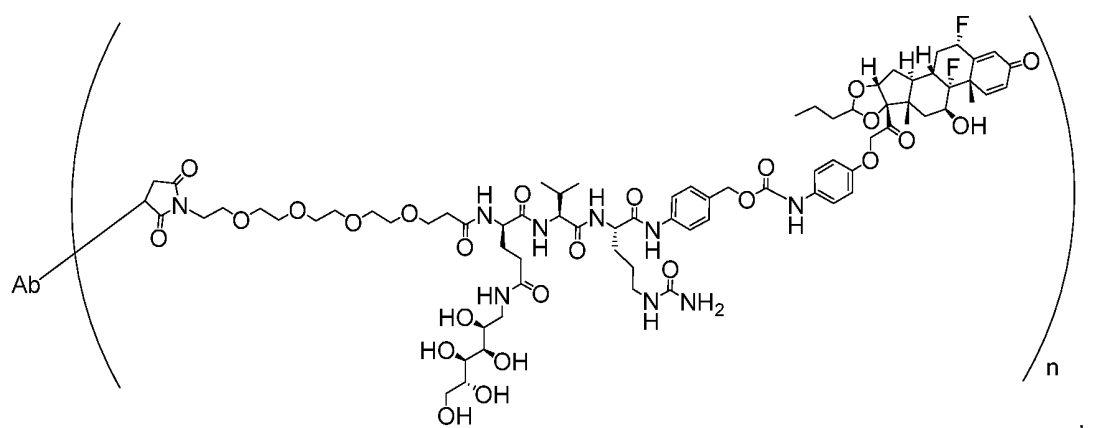
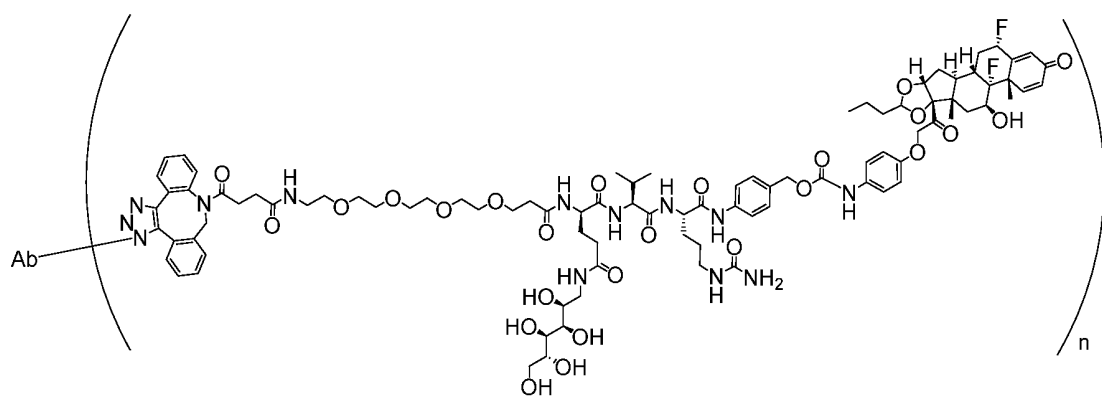
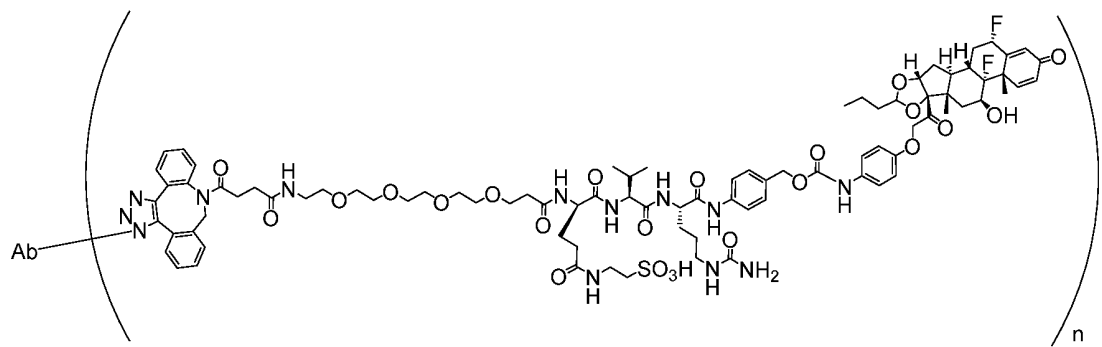
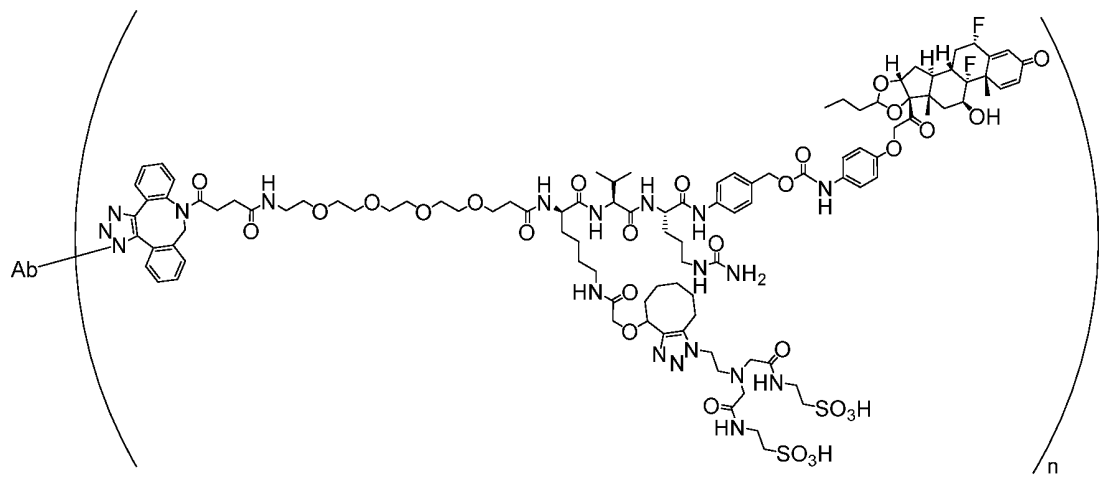


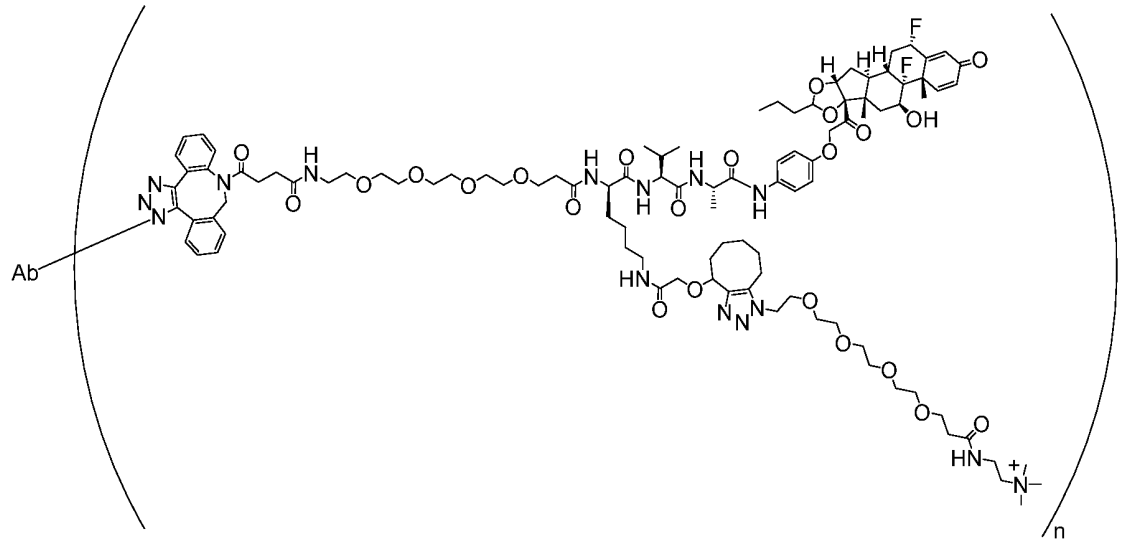
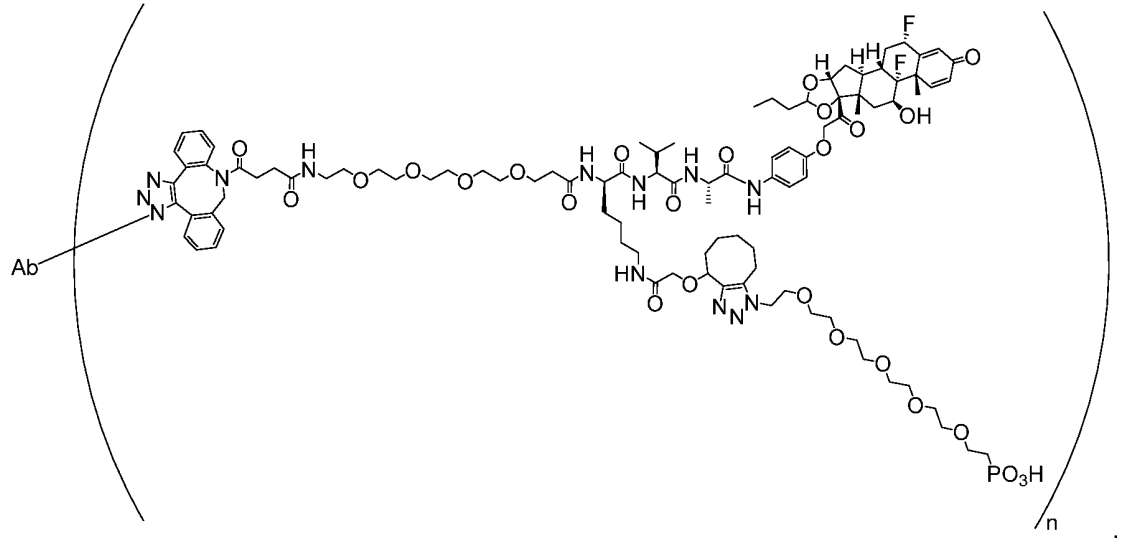
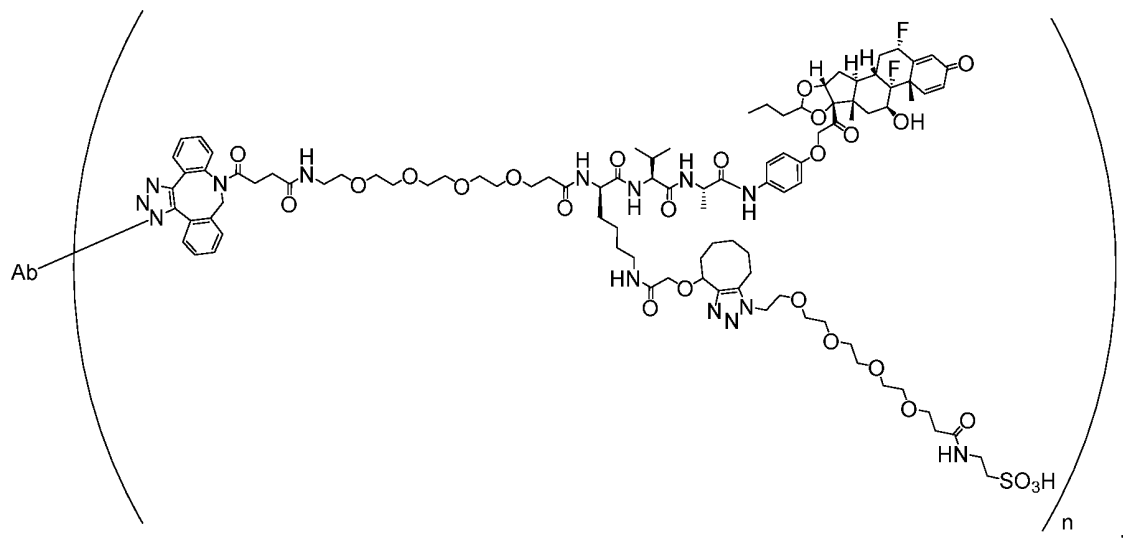


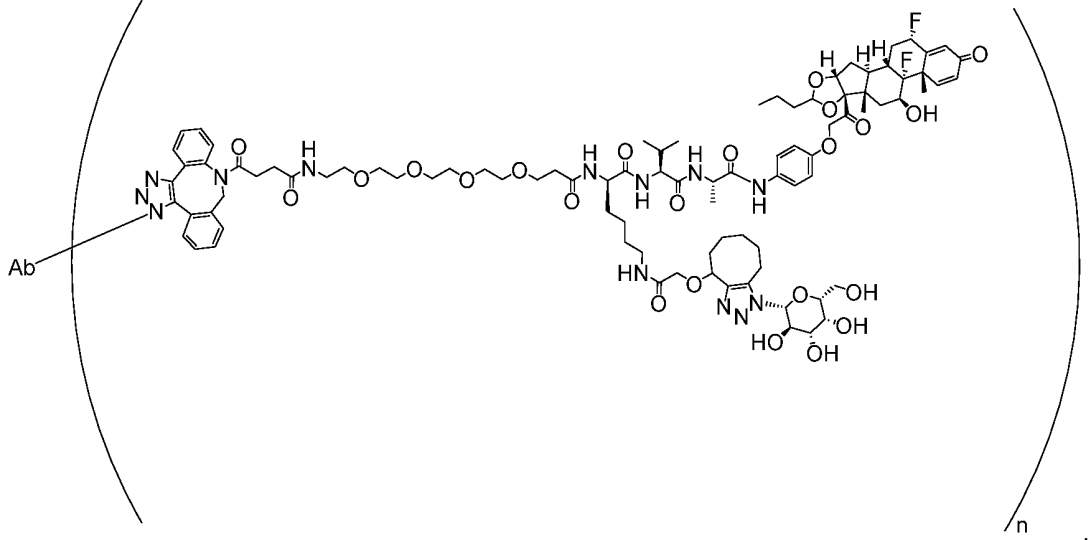
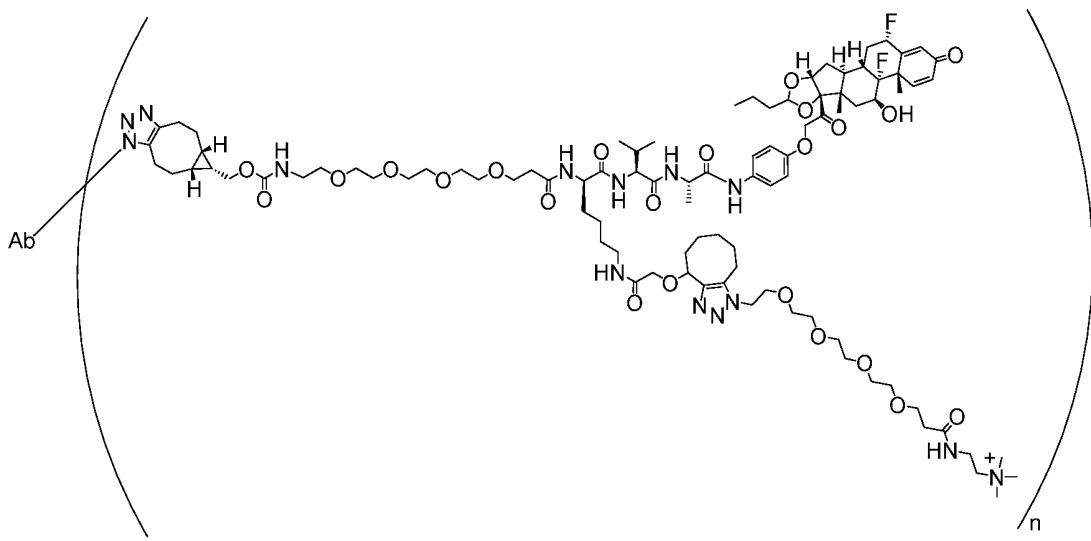
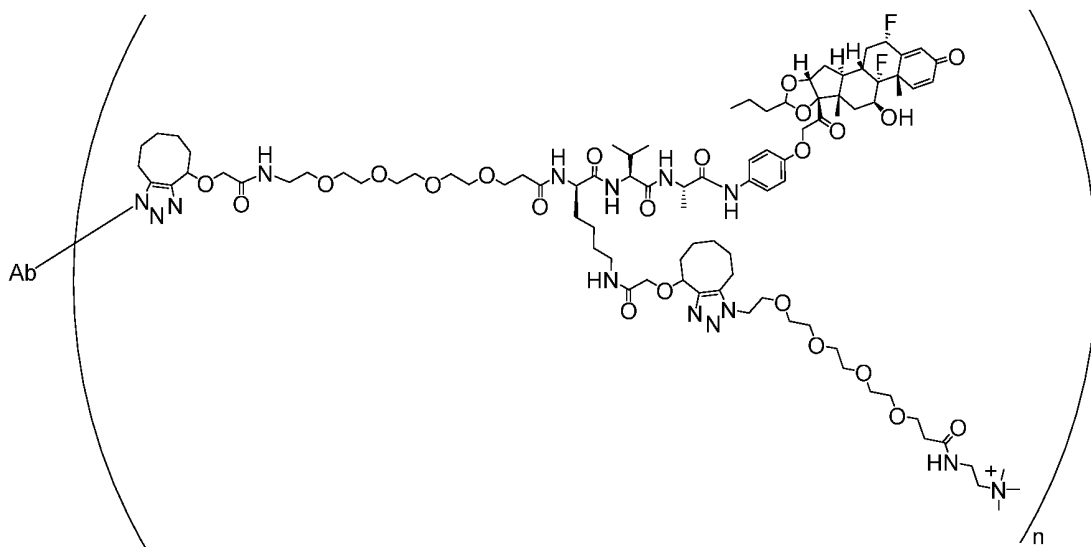


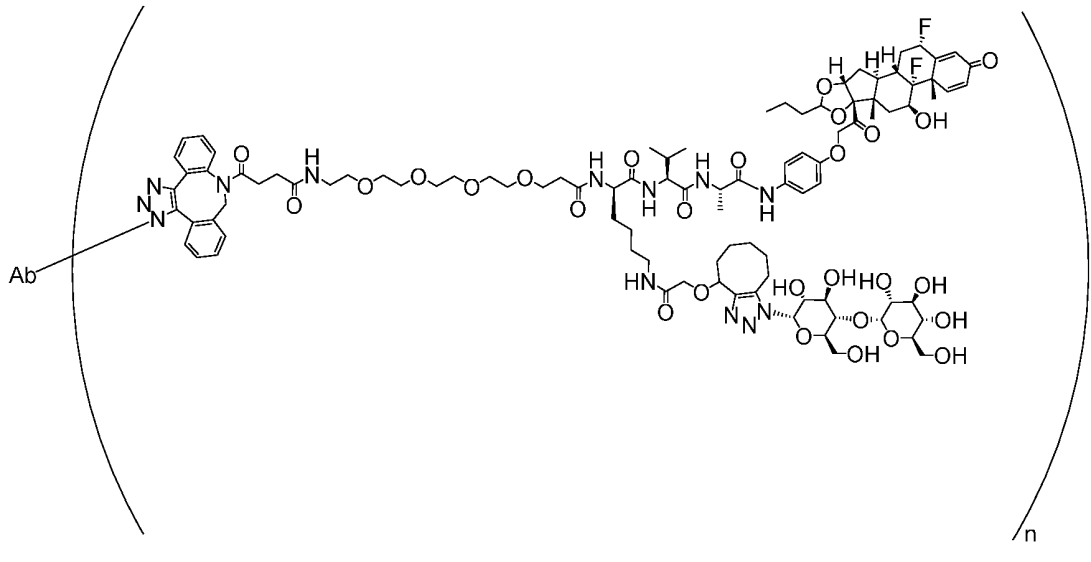
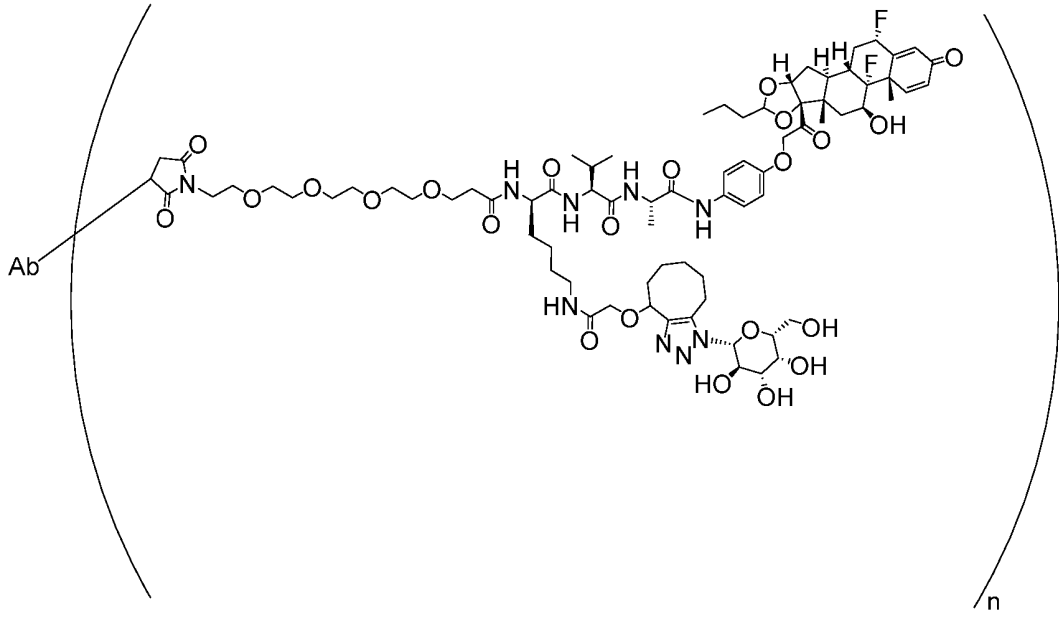


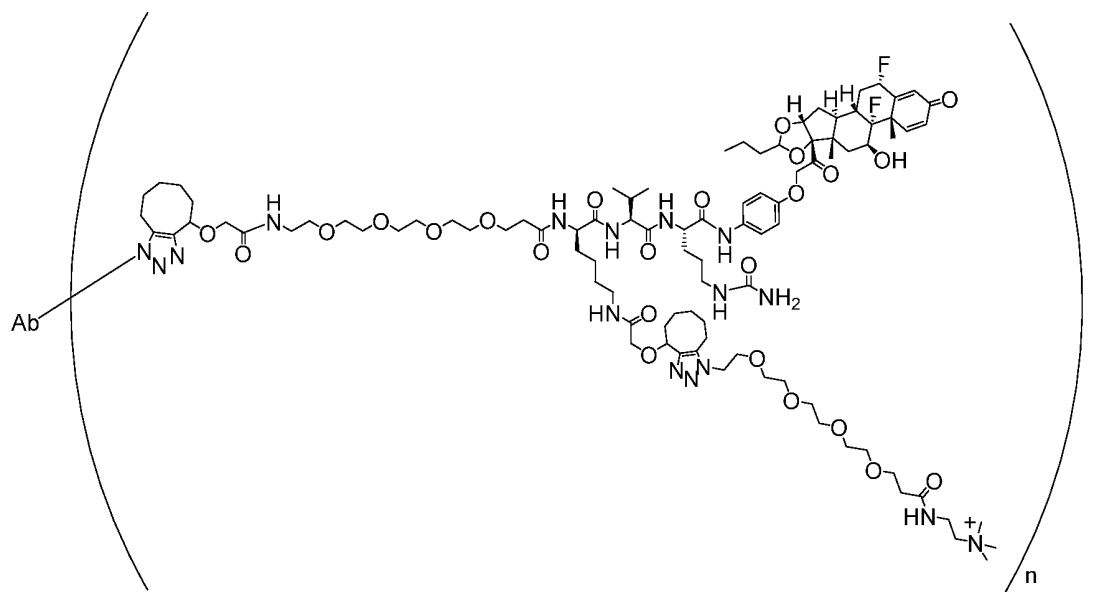
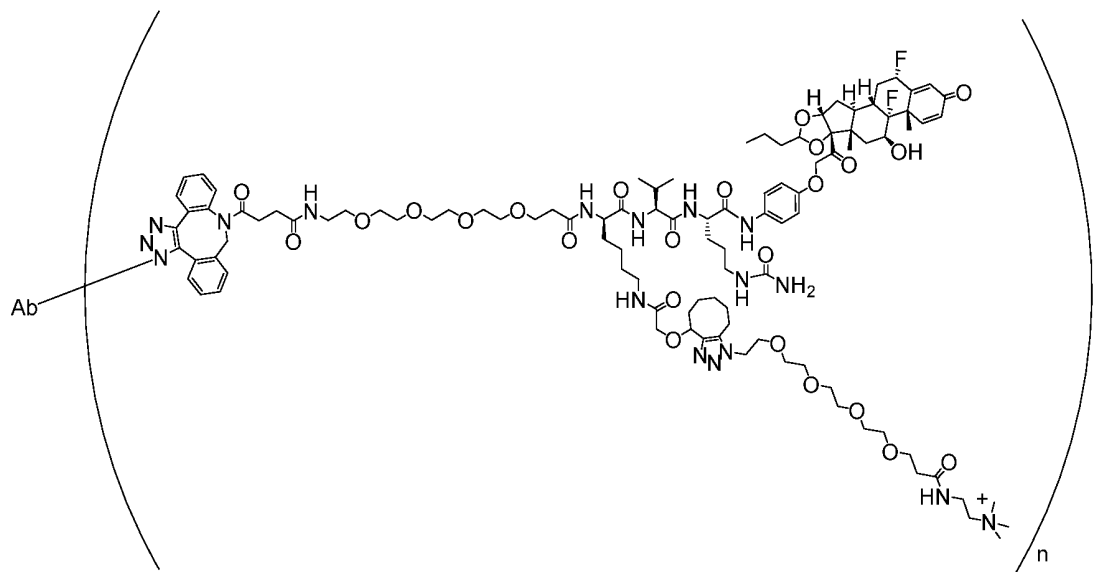
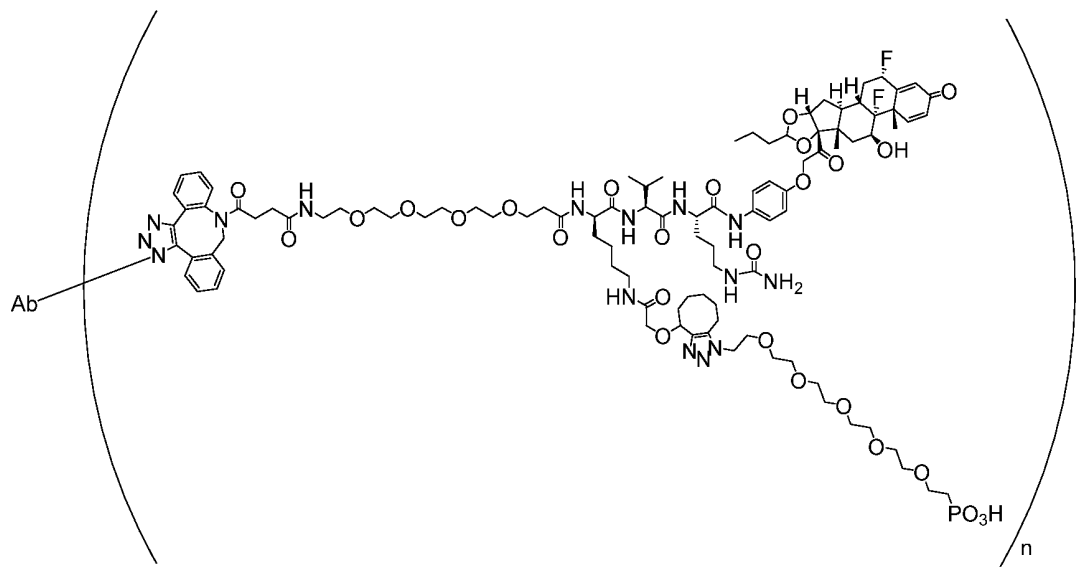




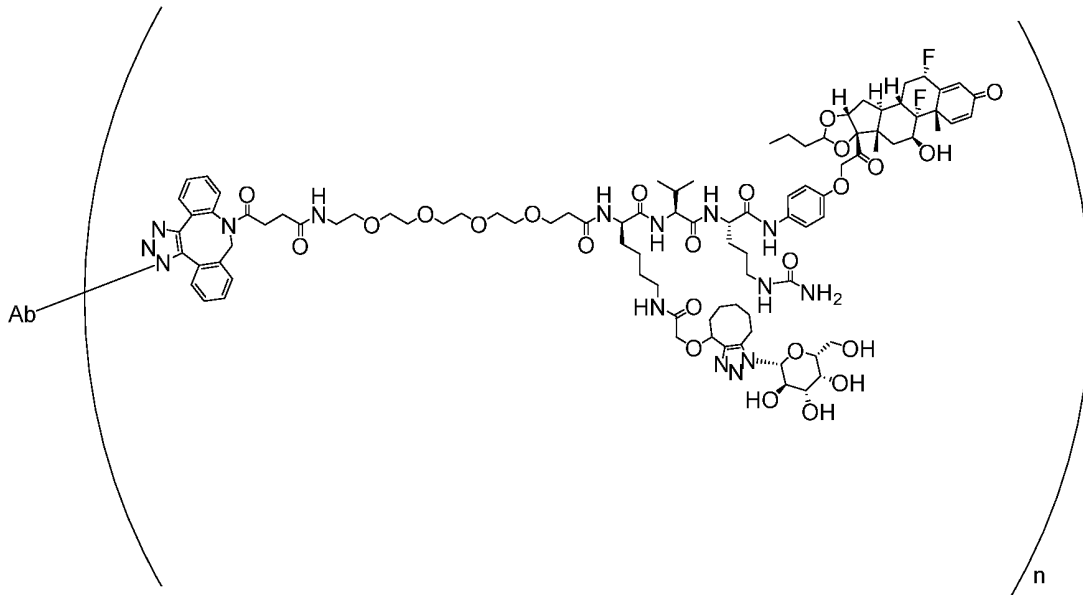
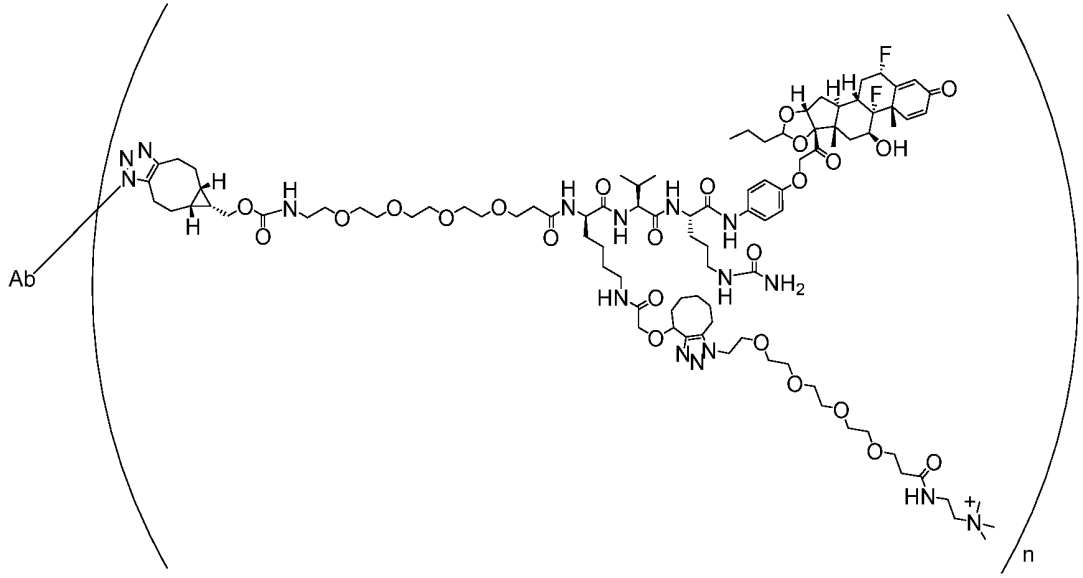


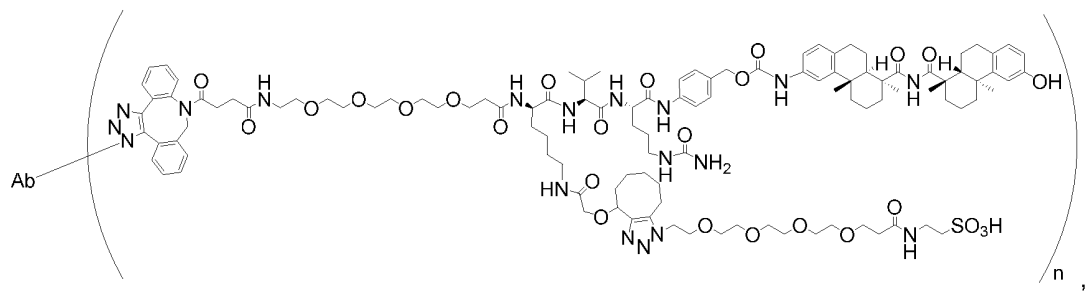
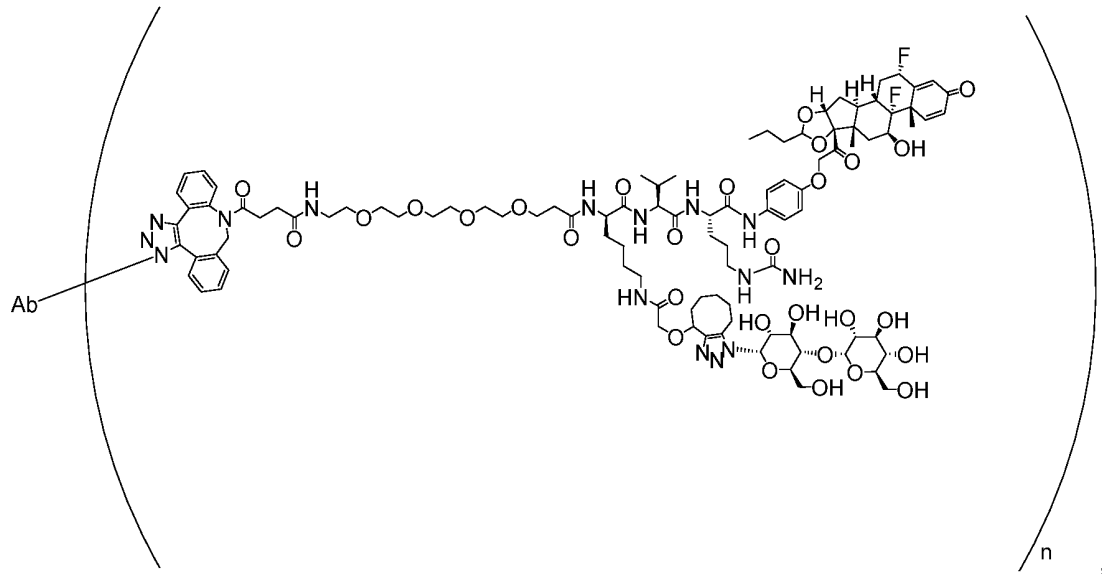
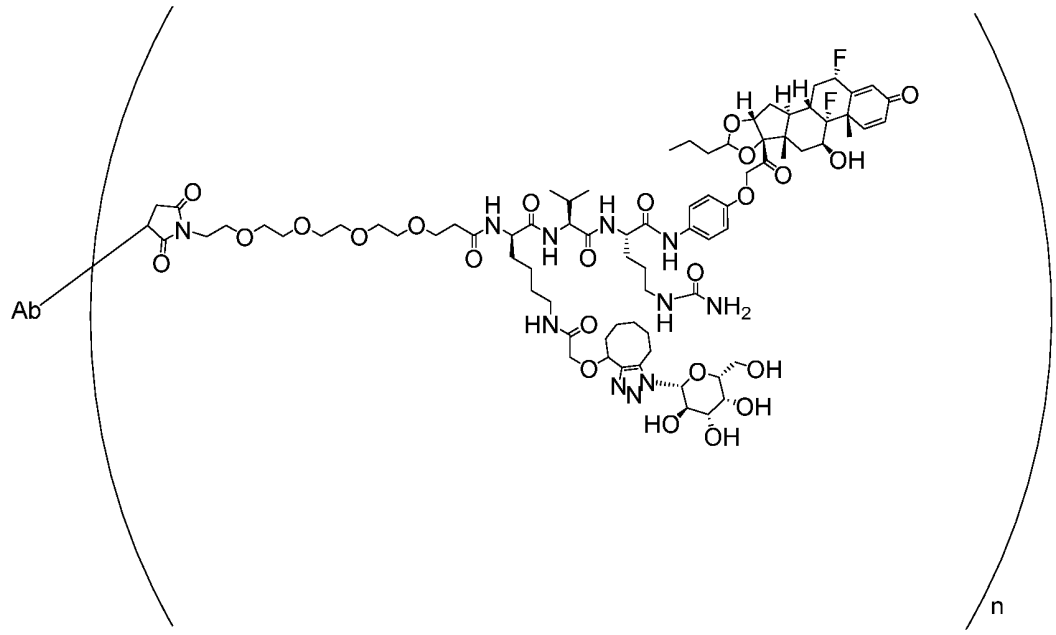


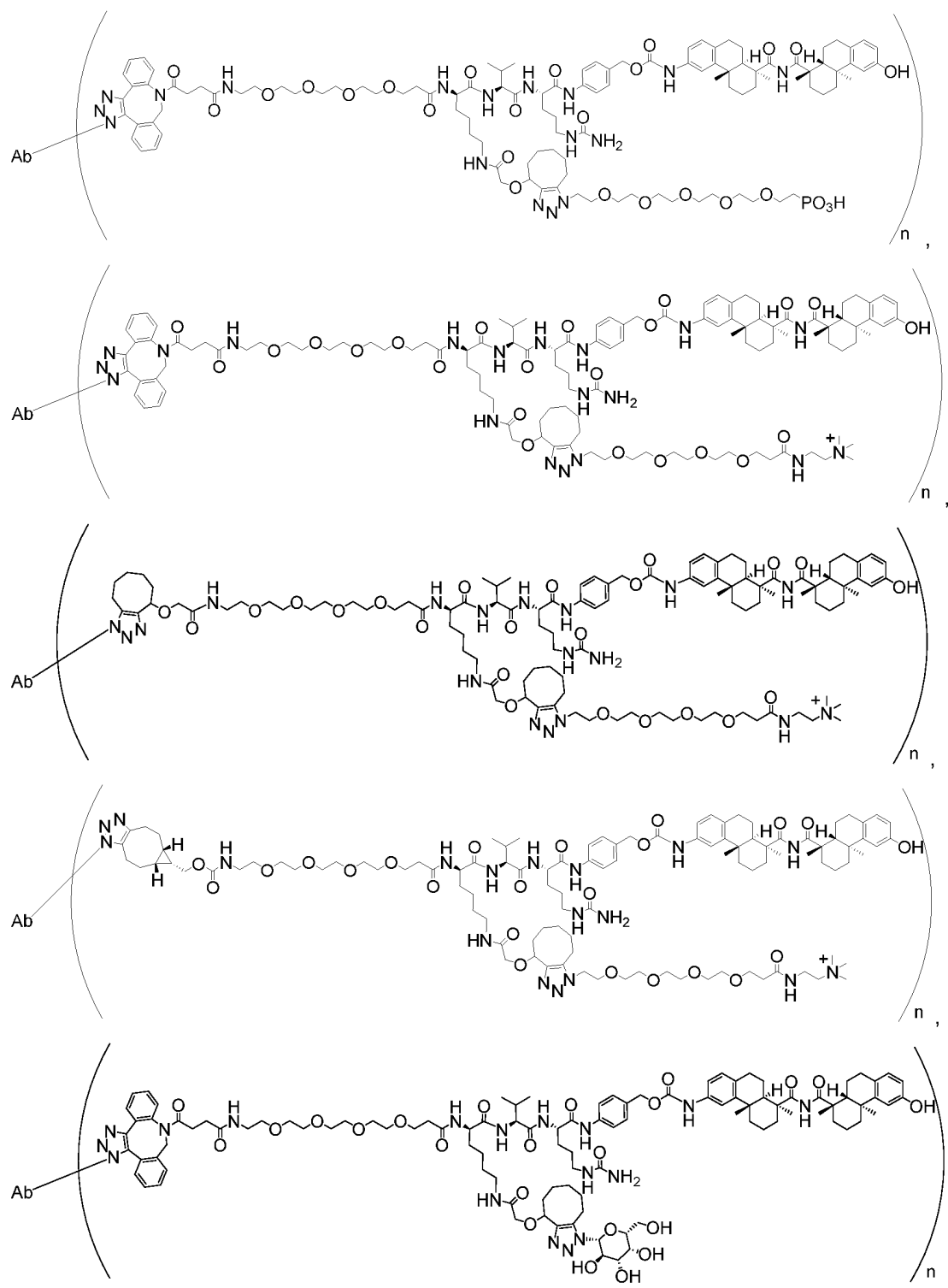


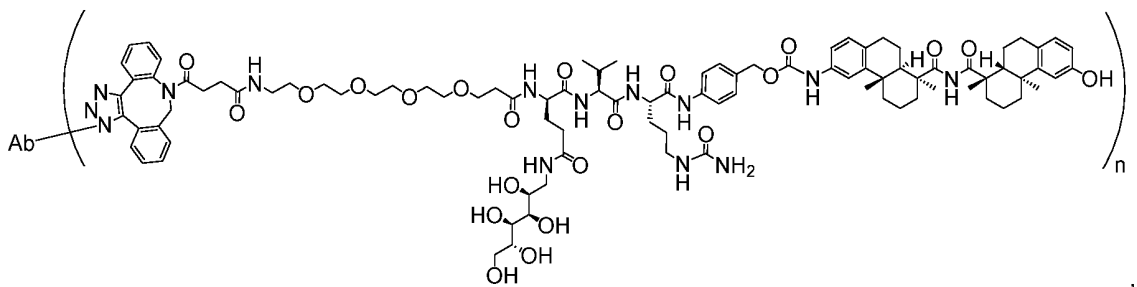
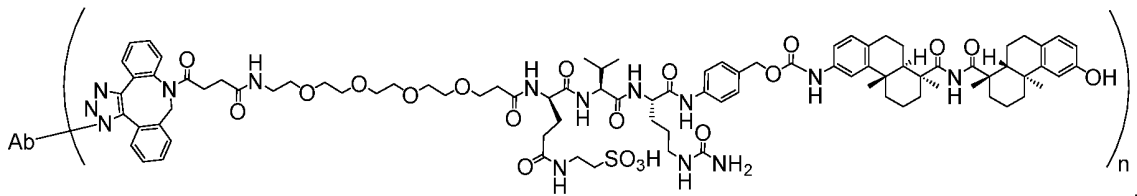
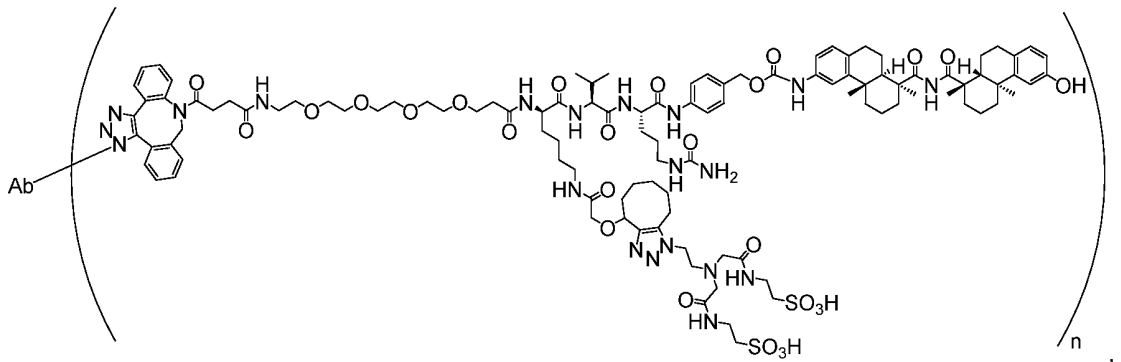
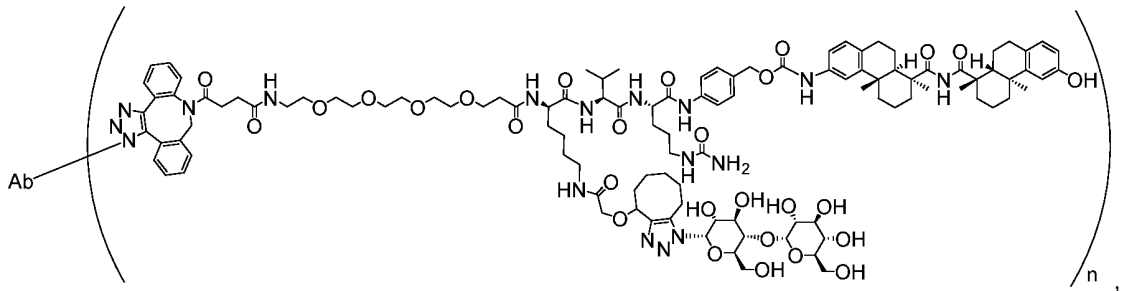
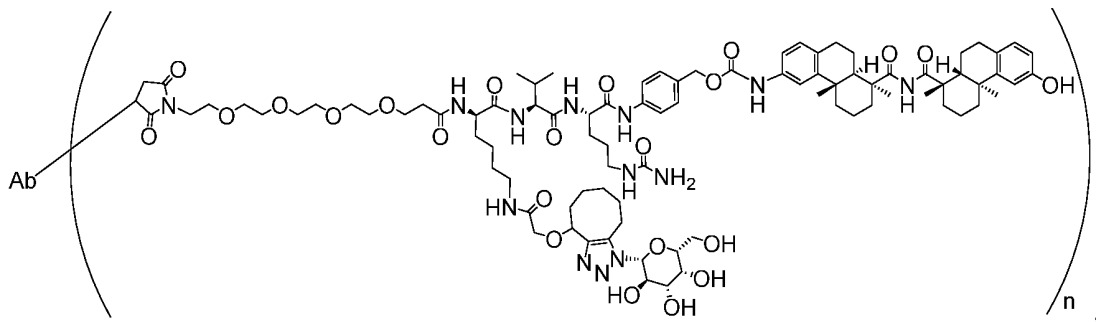


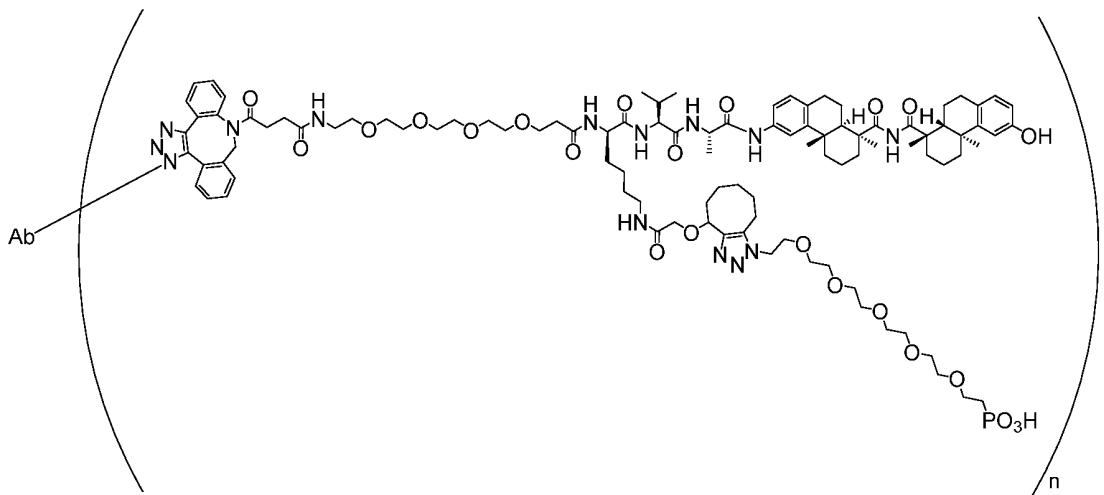
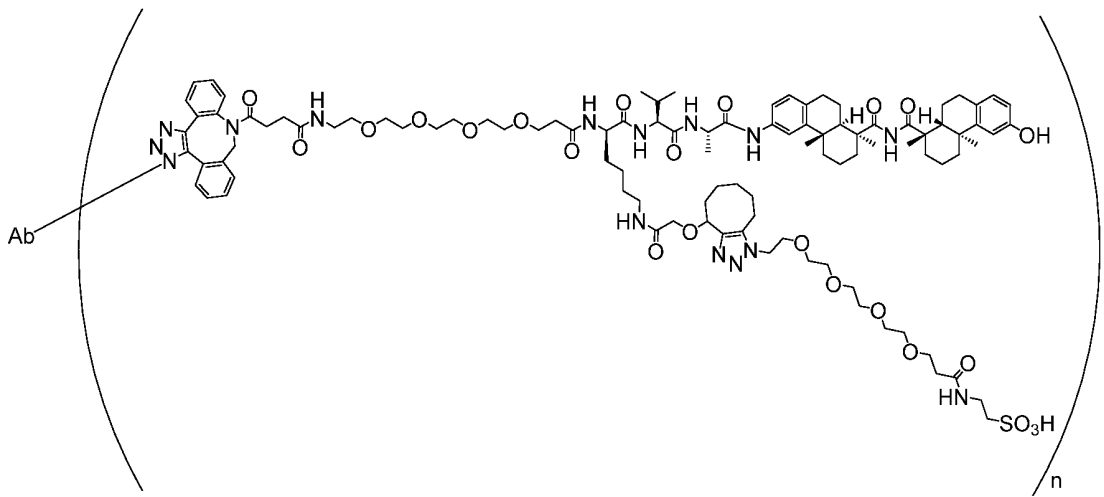
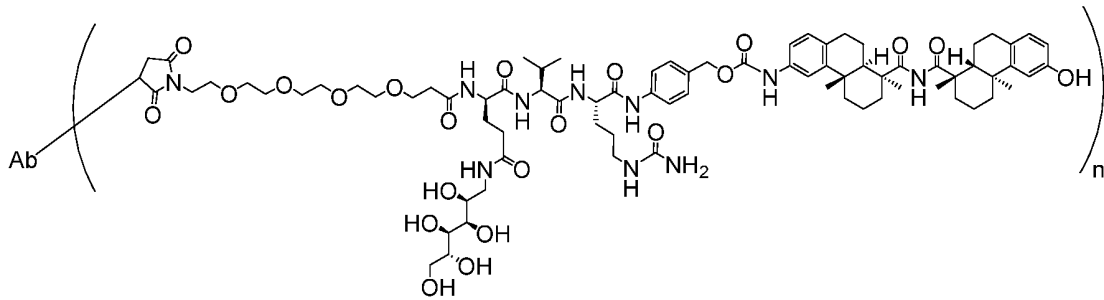


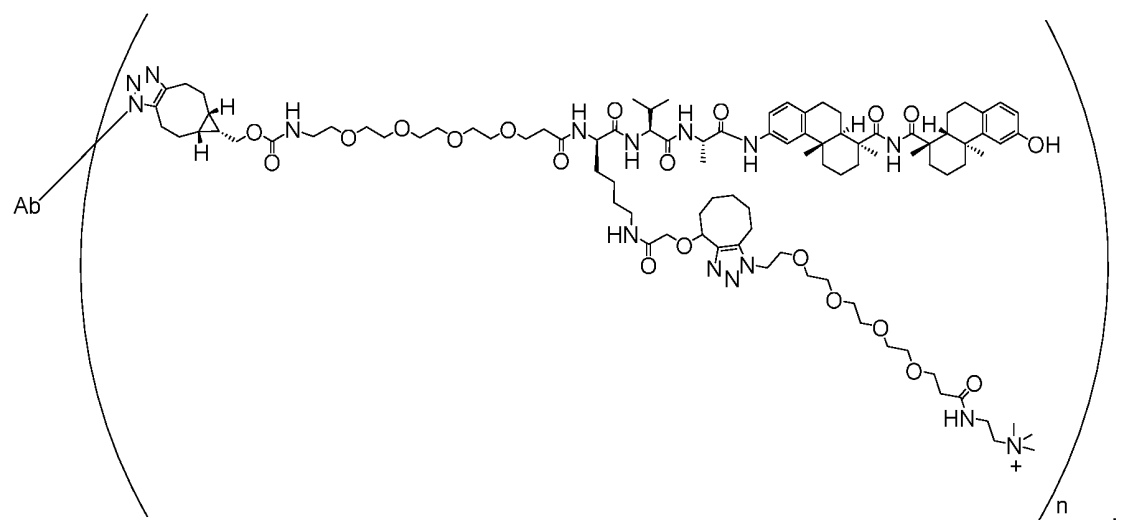
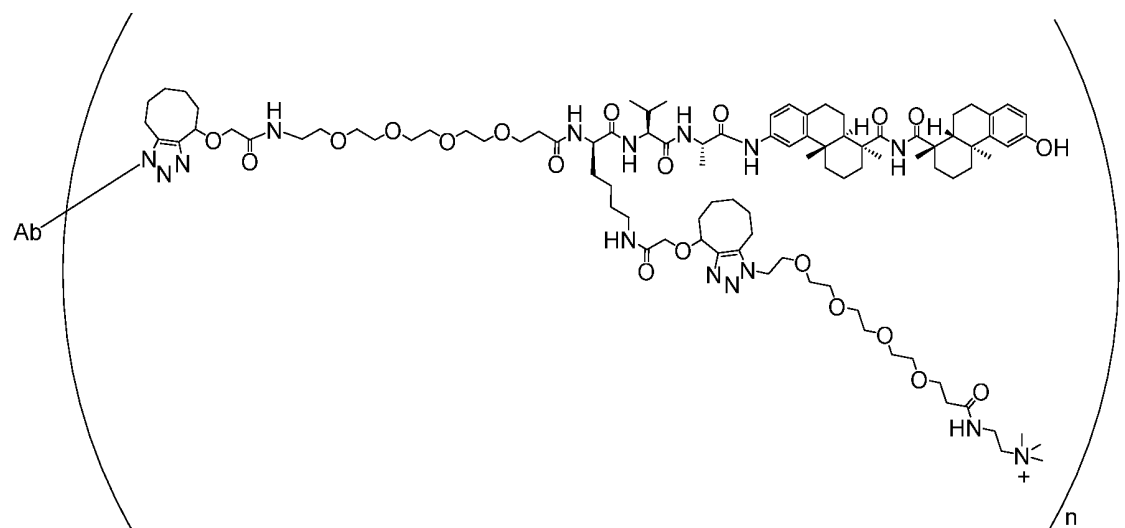
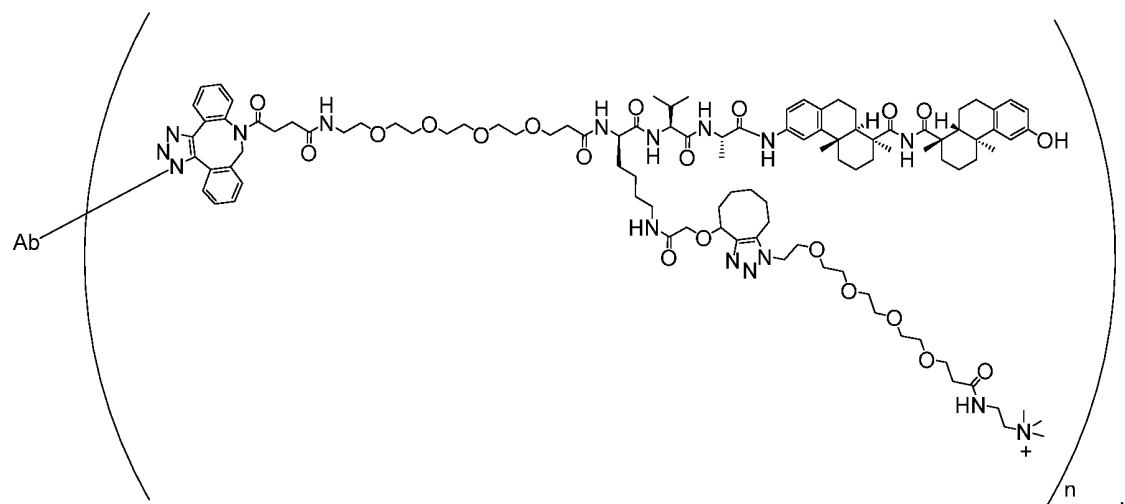




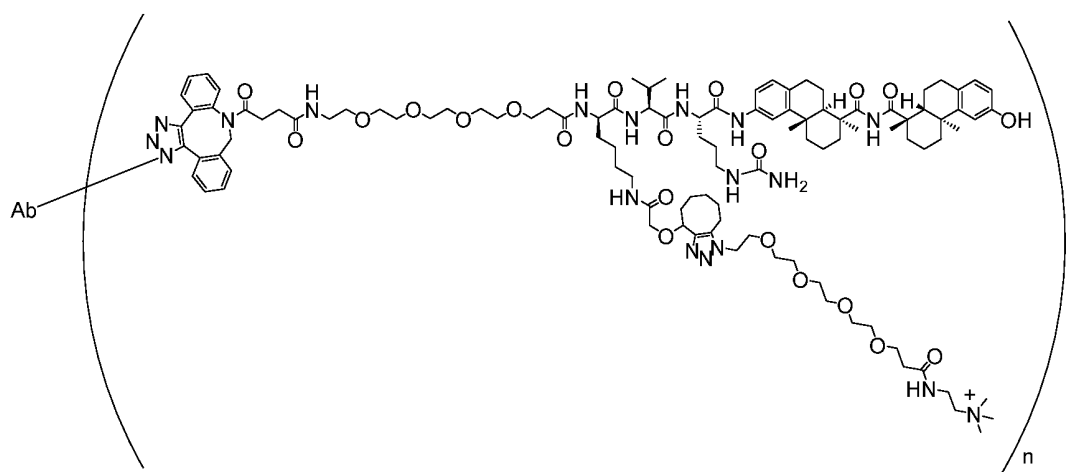
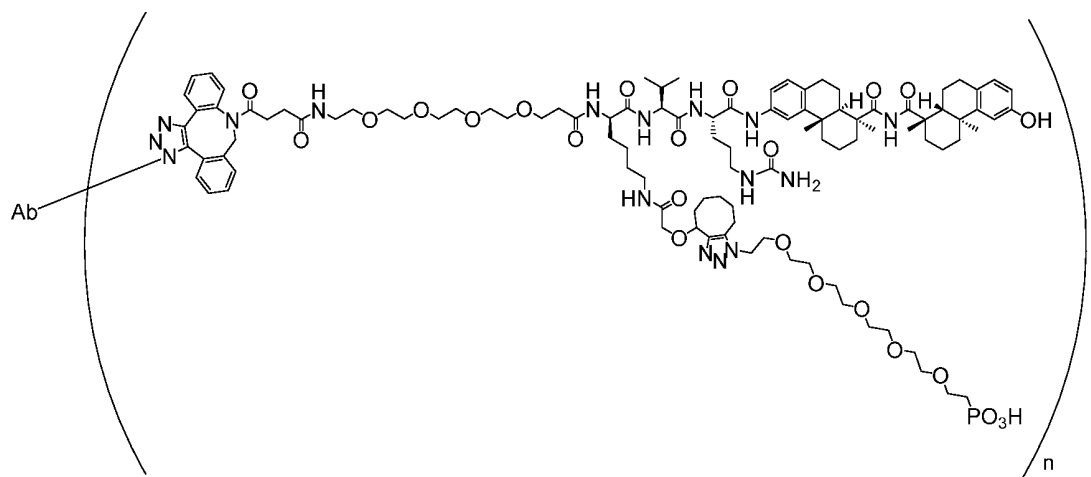
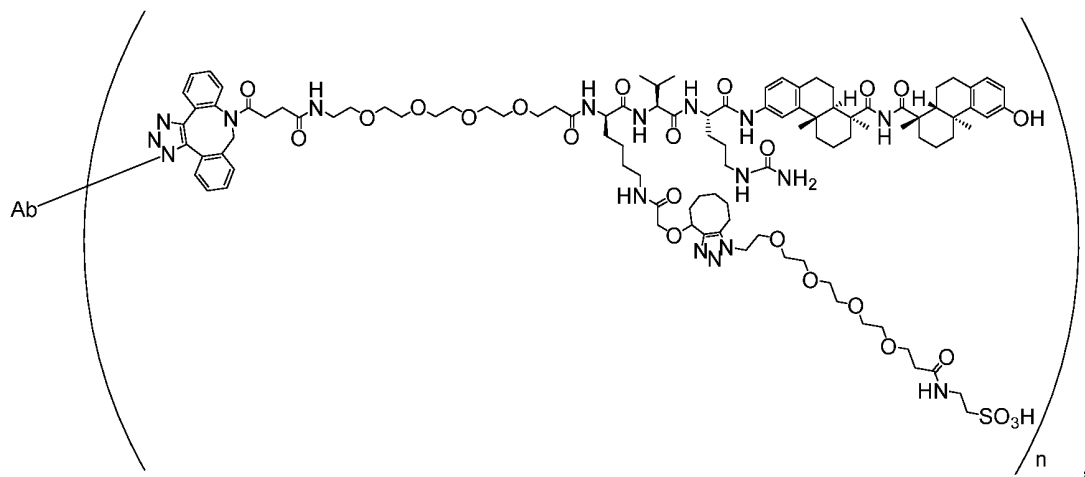




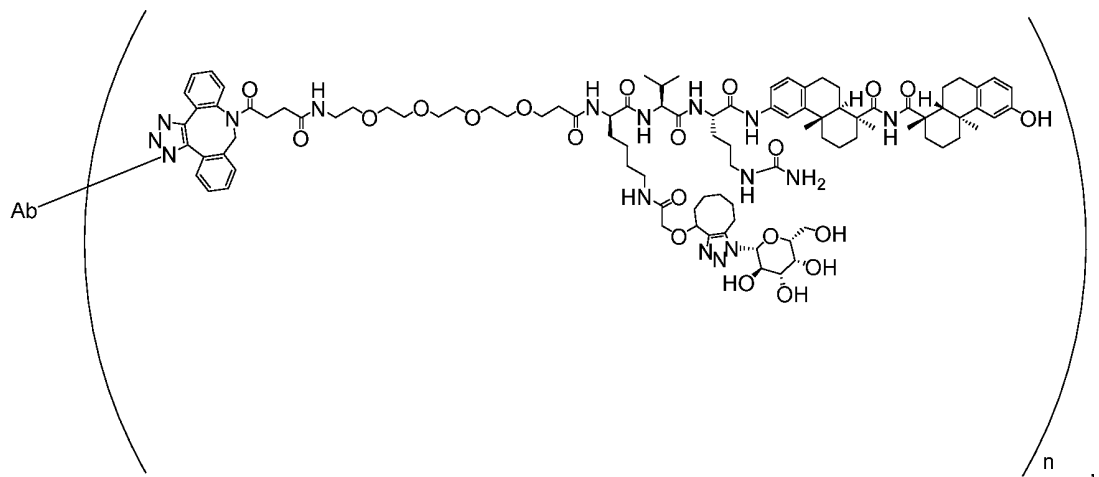
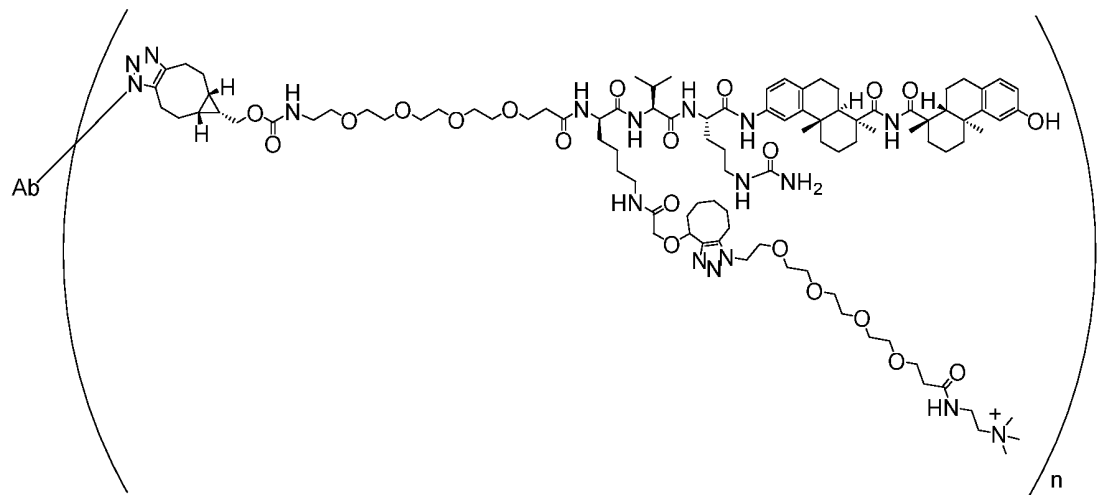
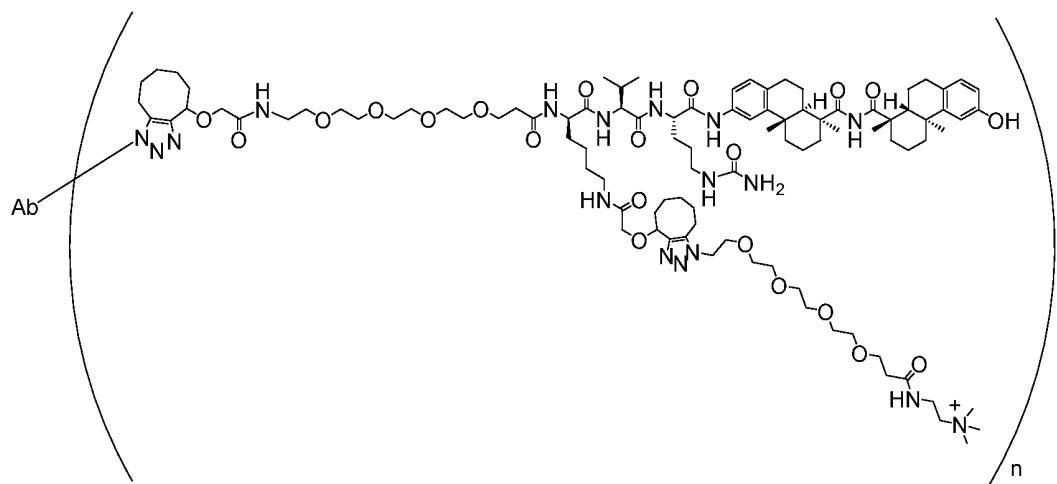




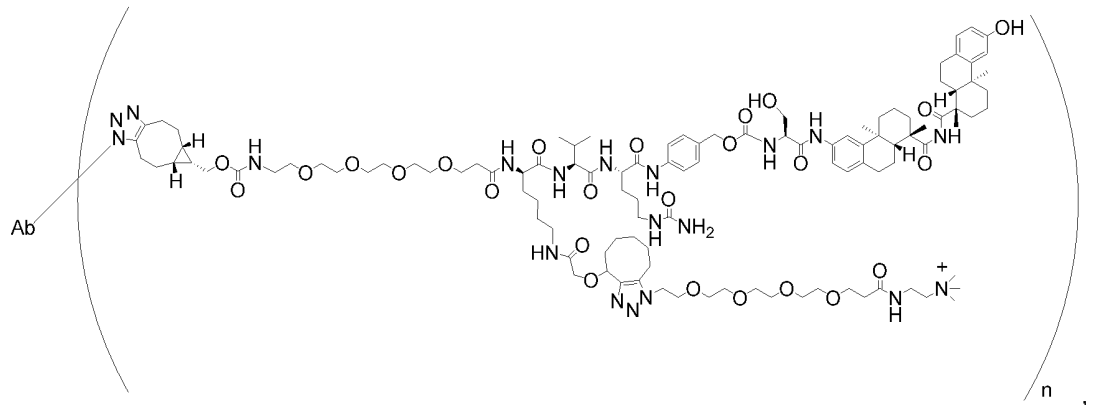
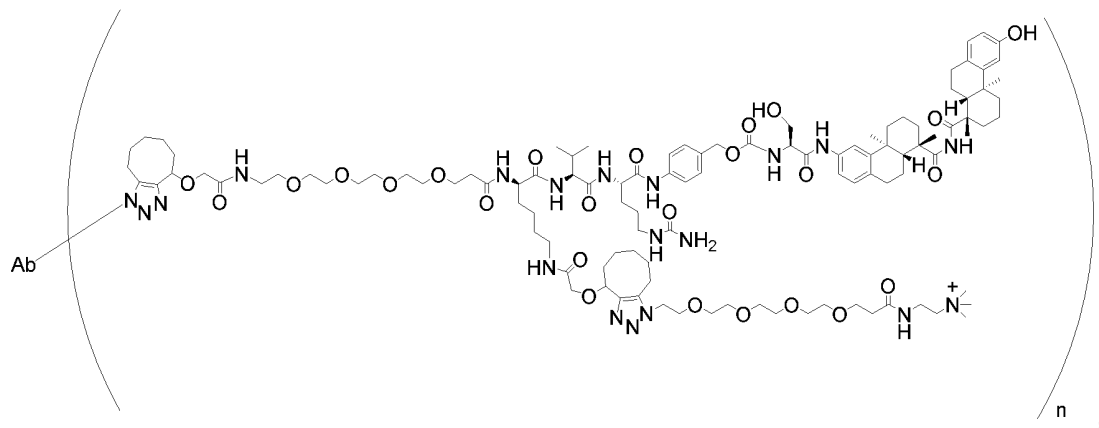
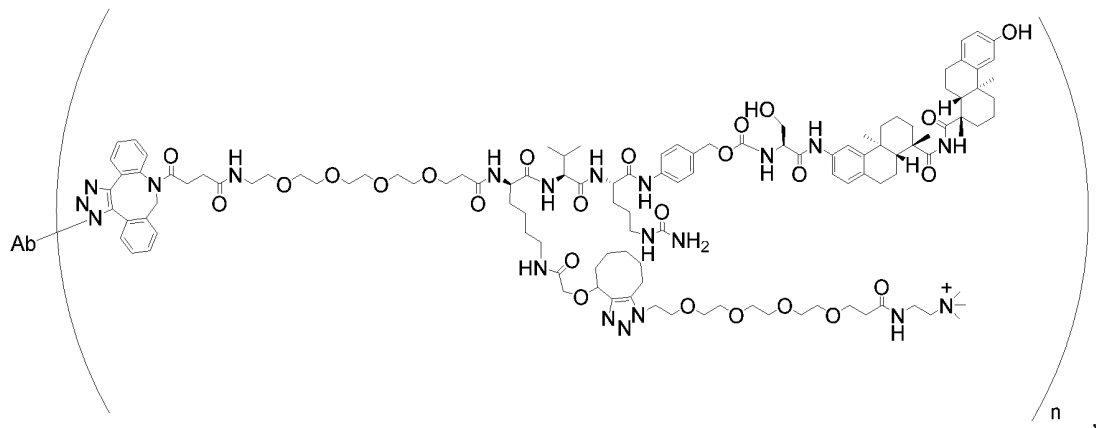
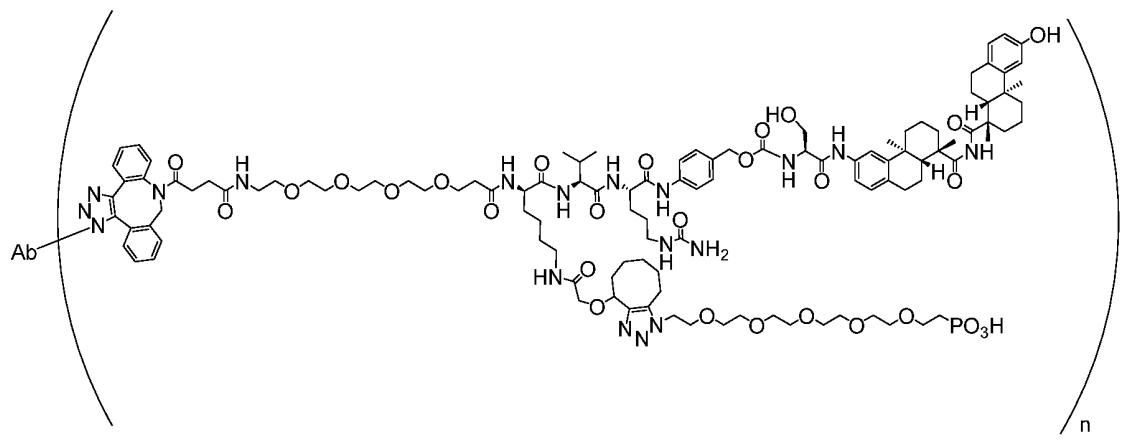


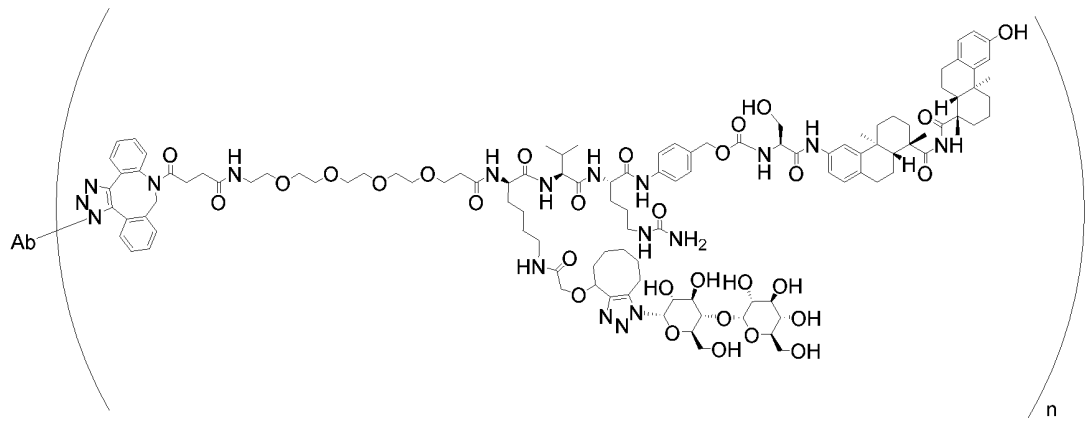
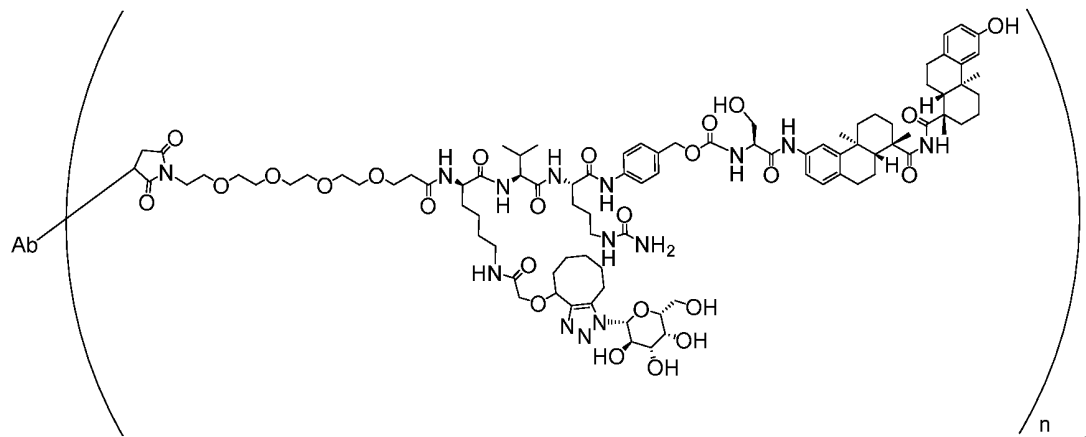
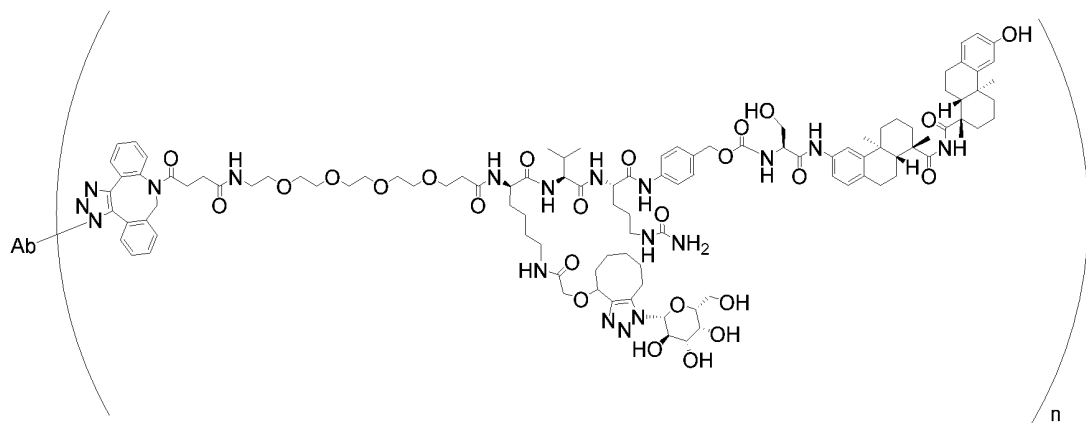


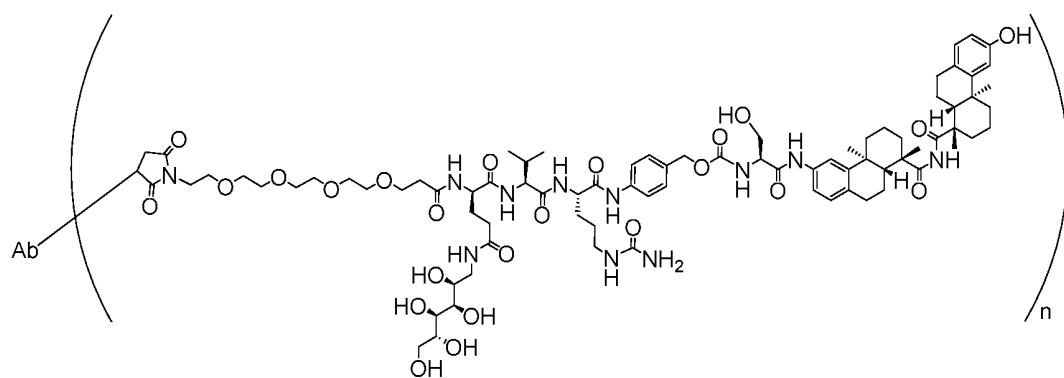
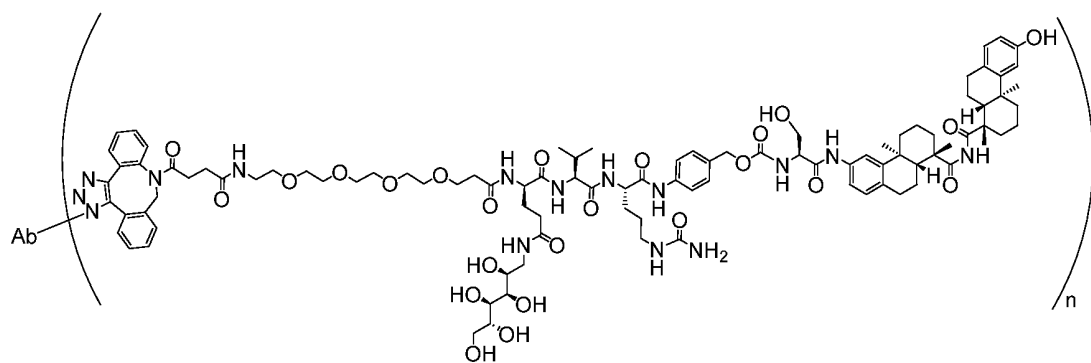
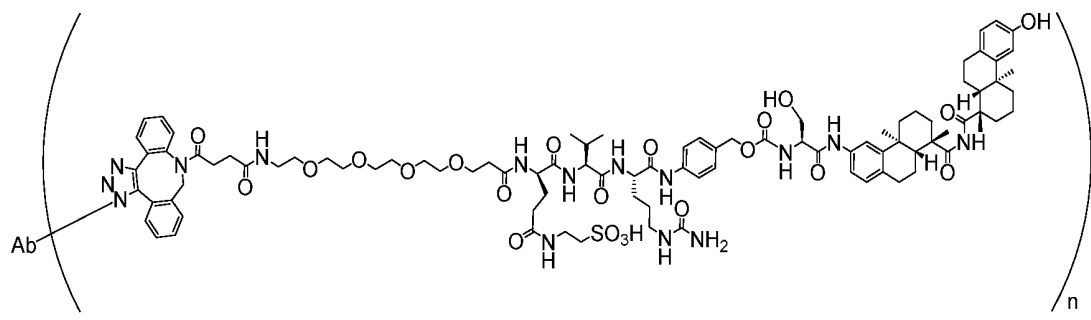
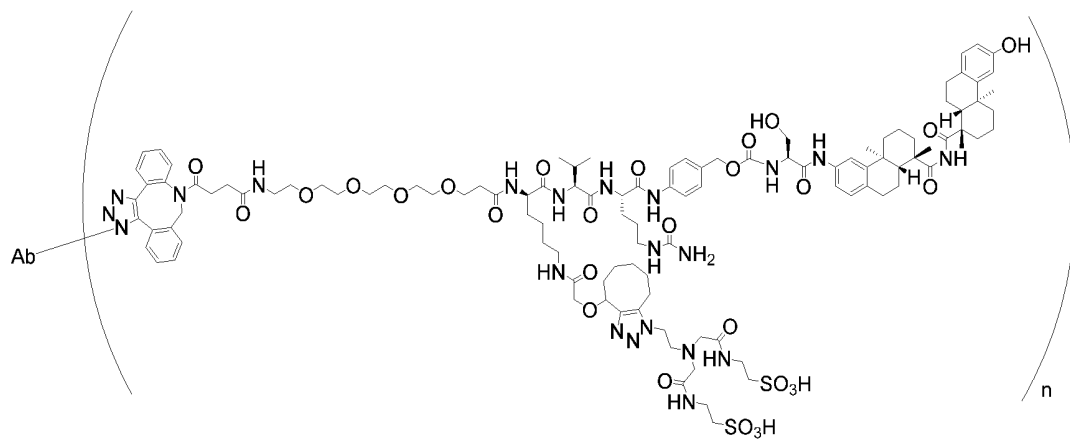




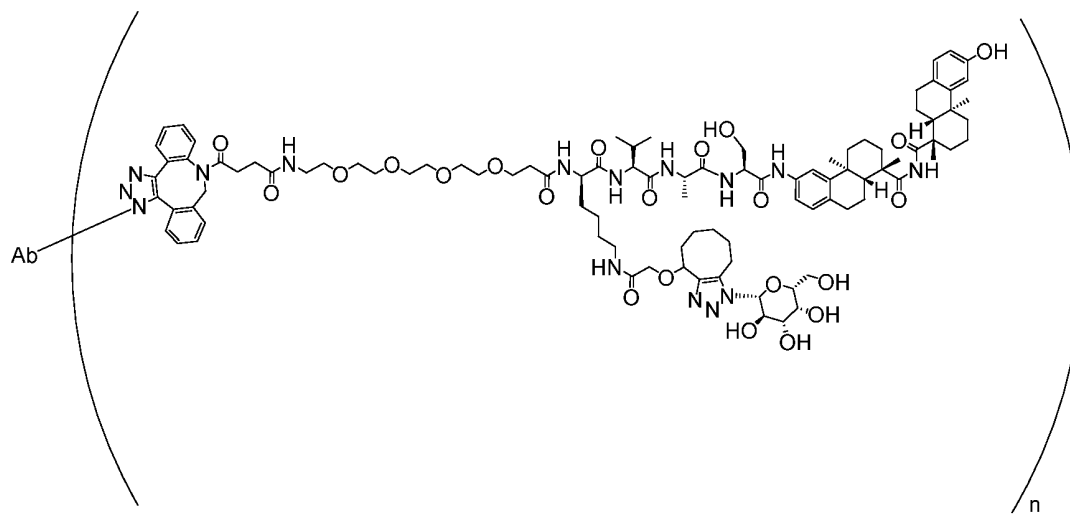
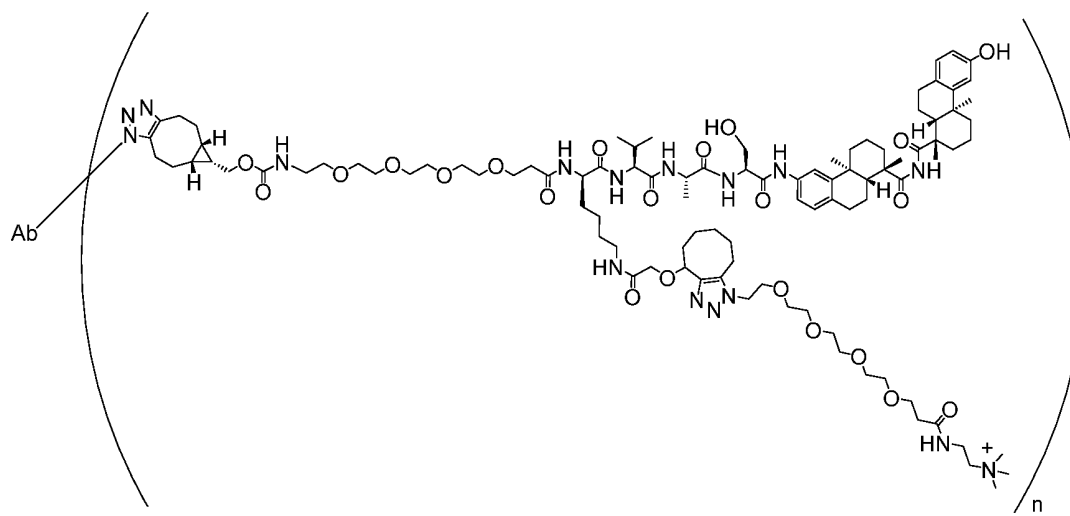
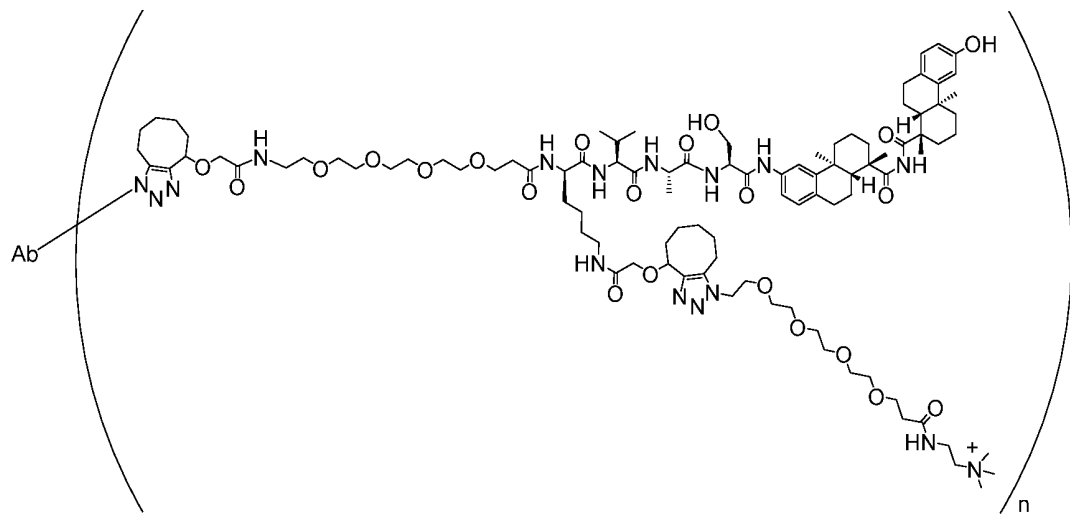


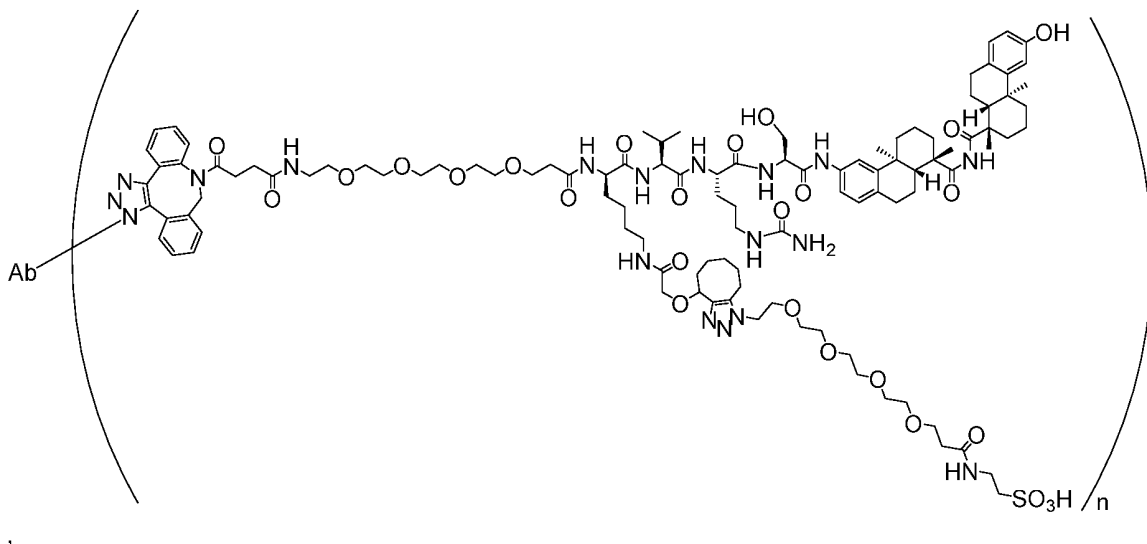
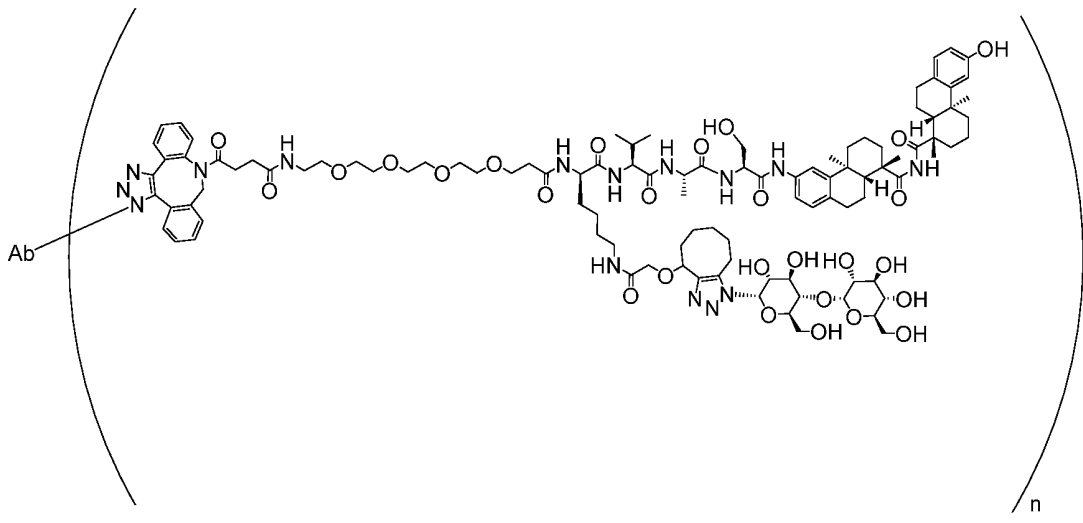
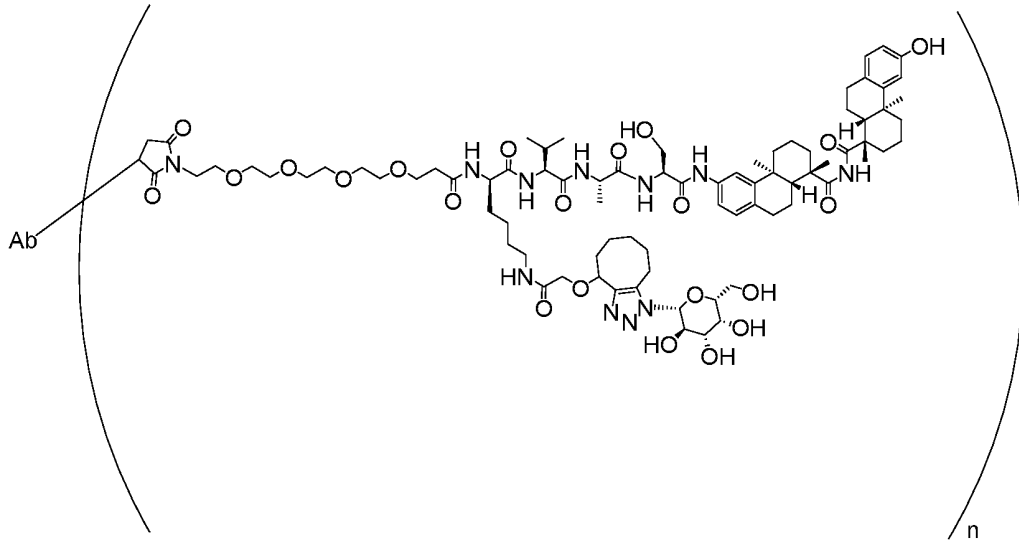




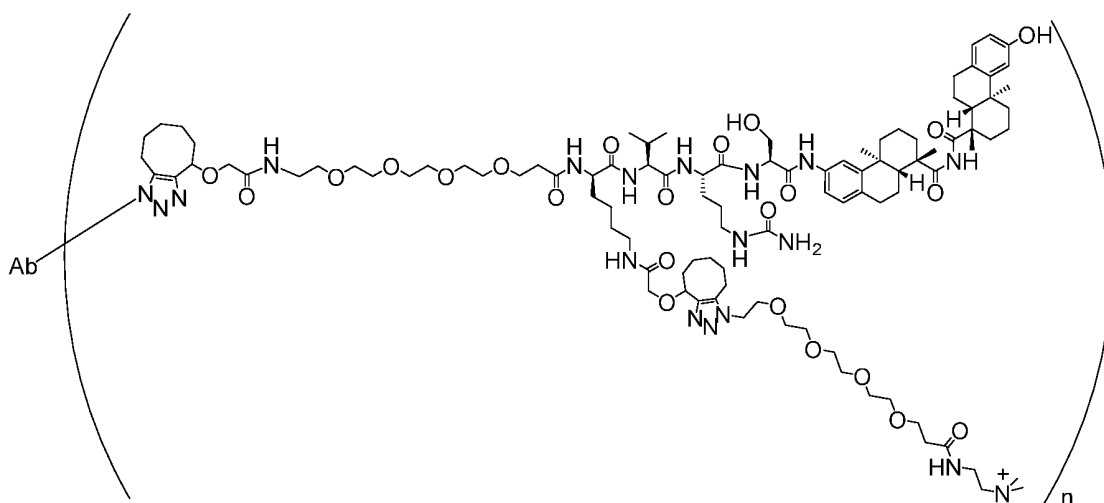
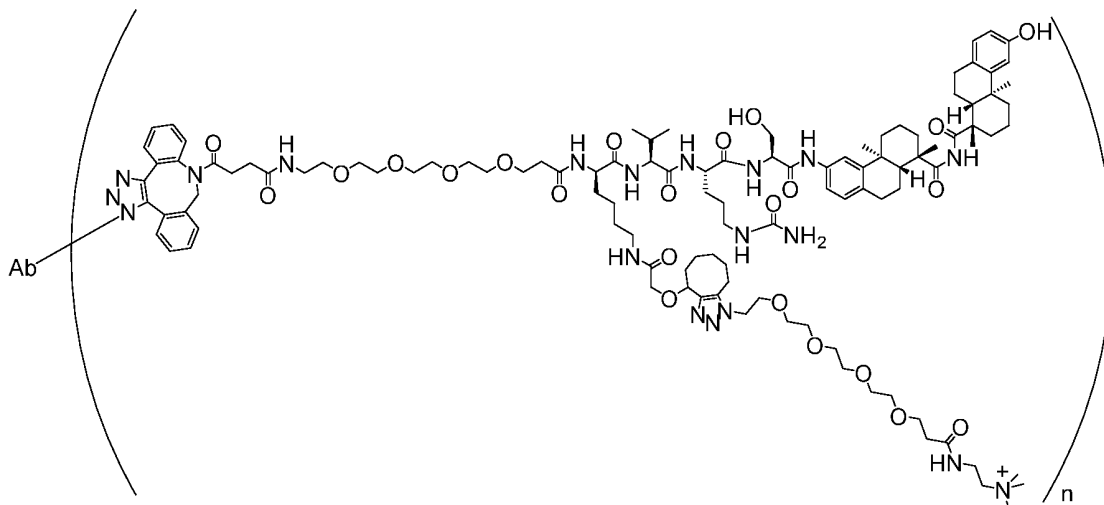
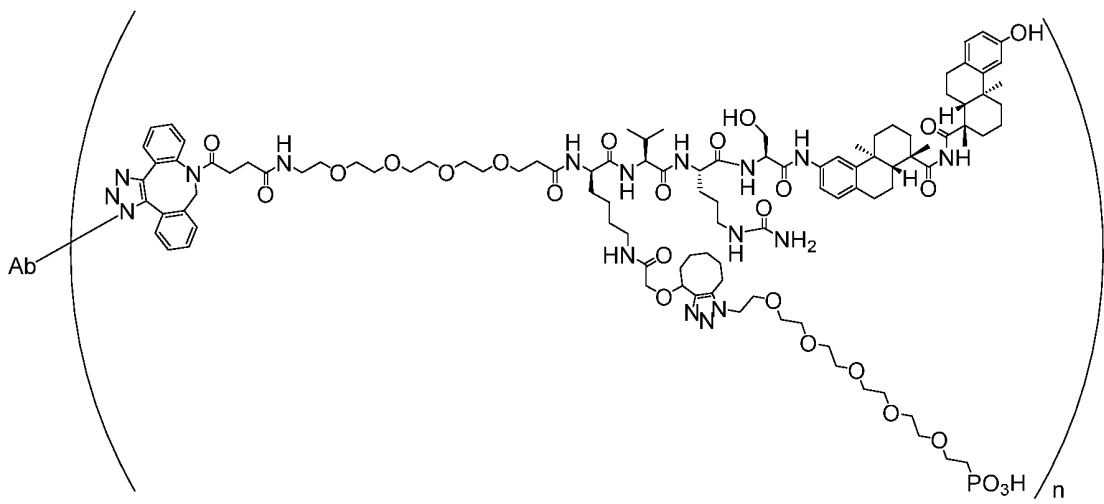


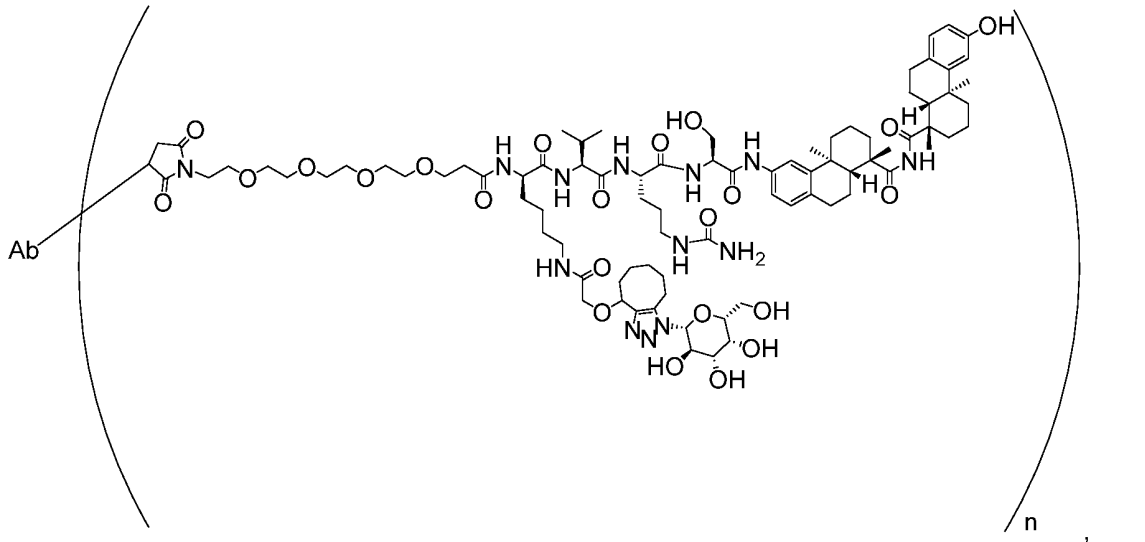
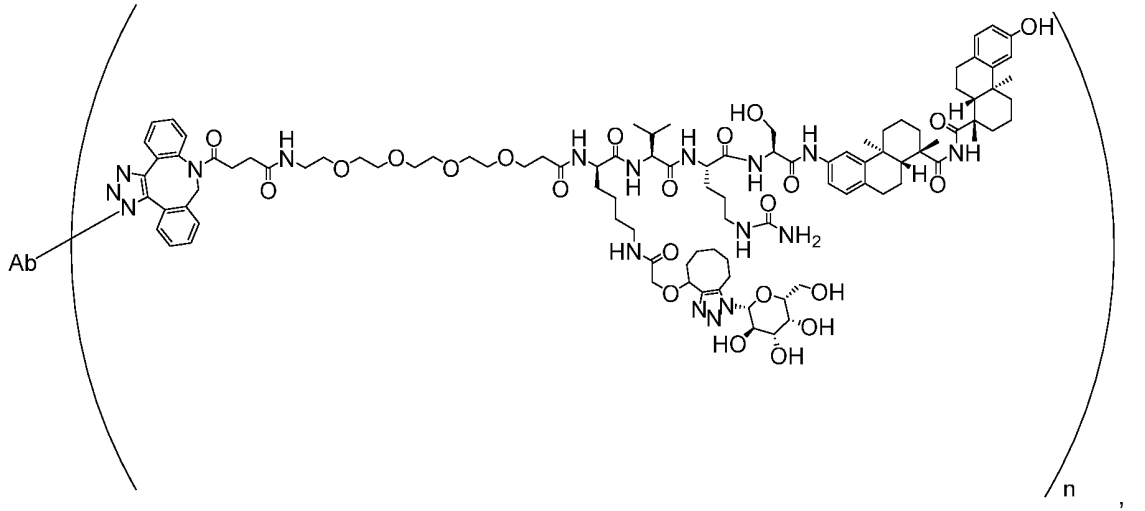
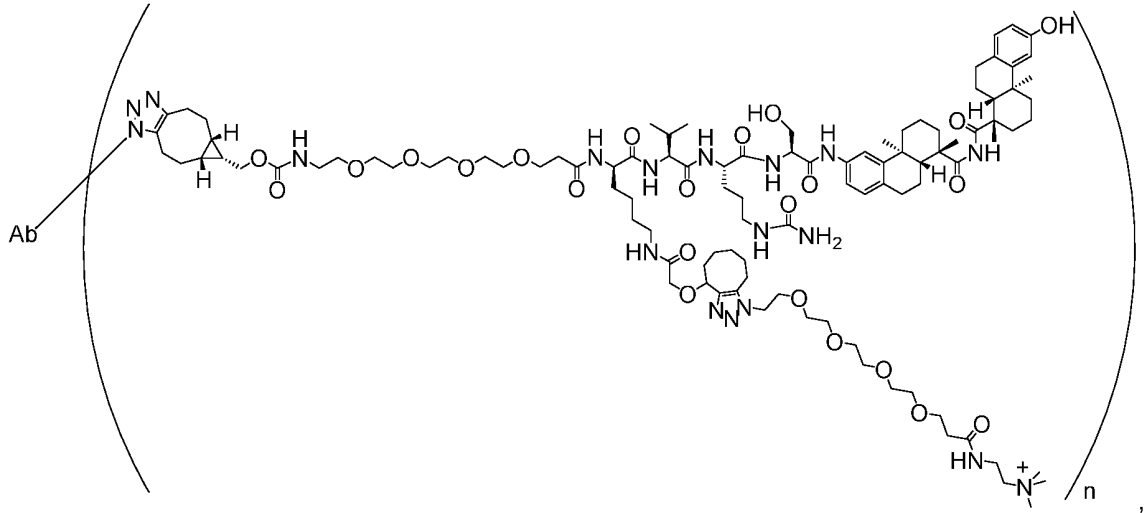




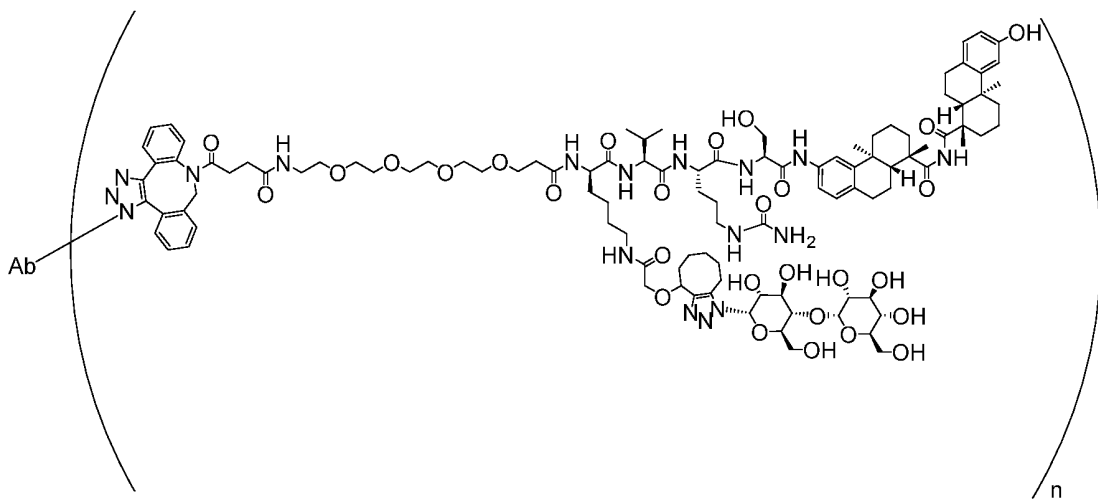






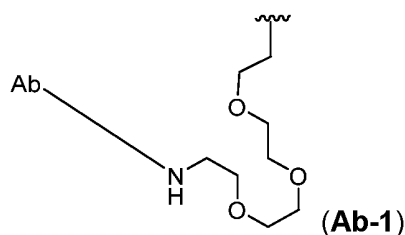


и



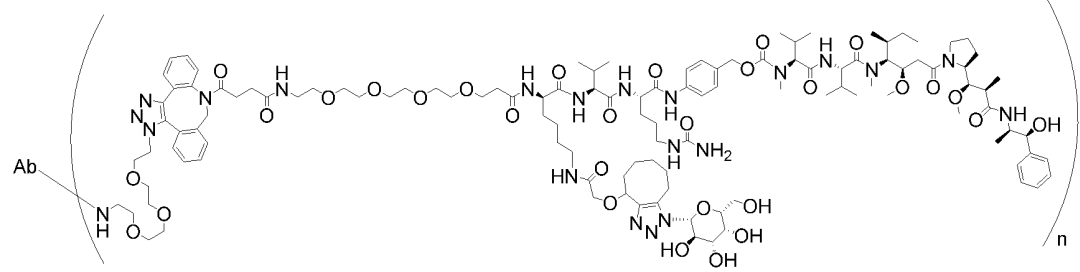
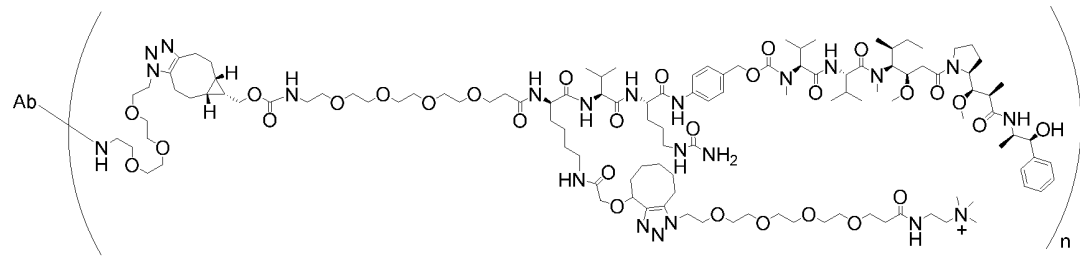
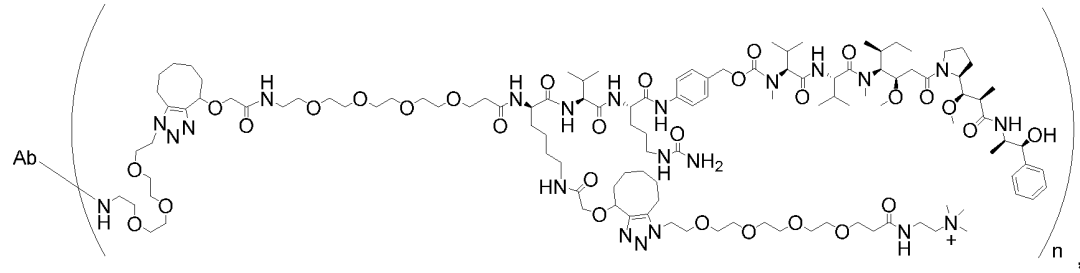
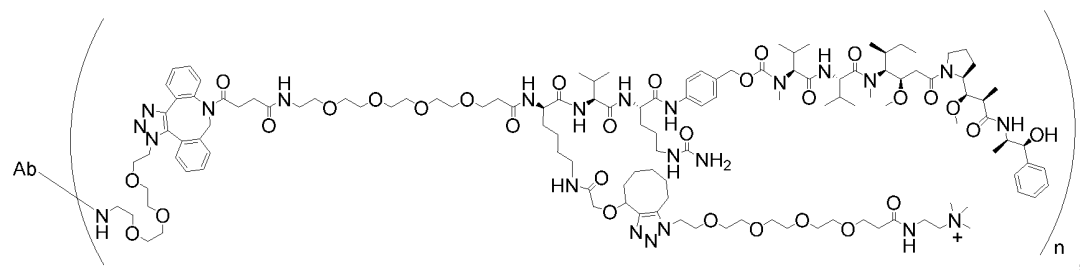
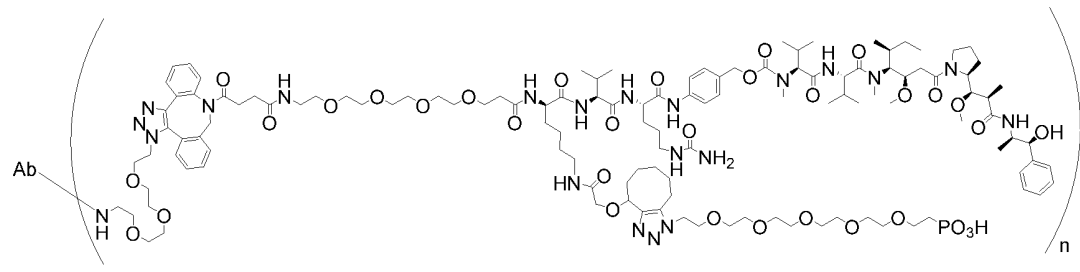
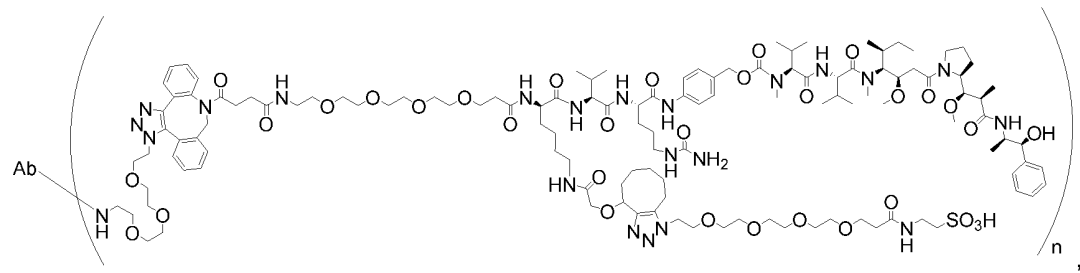
или его стереоизомерной формой, региоизомером или смесью региоизомеров, где каждый **Ab** является антителом, или его антиген-связывающим фрагментом, и подстрочный индекс **n** является целым числом от 1 до 30. В некоторых вариантах осуществления изобретения **n** является целым числом от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления изобретения **n** равен 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения **n** равен 4.

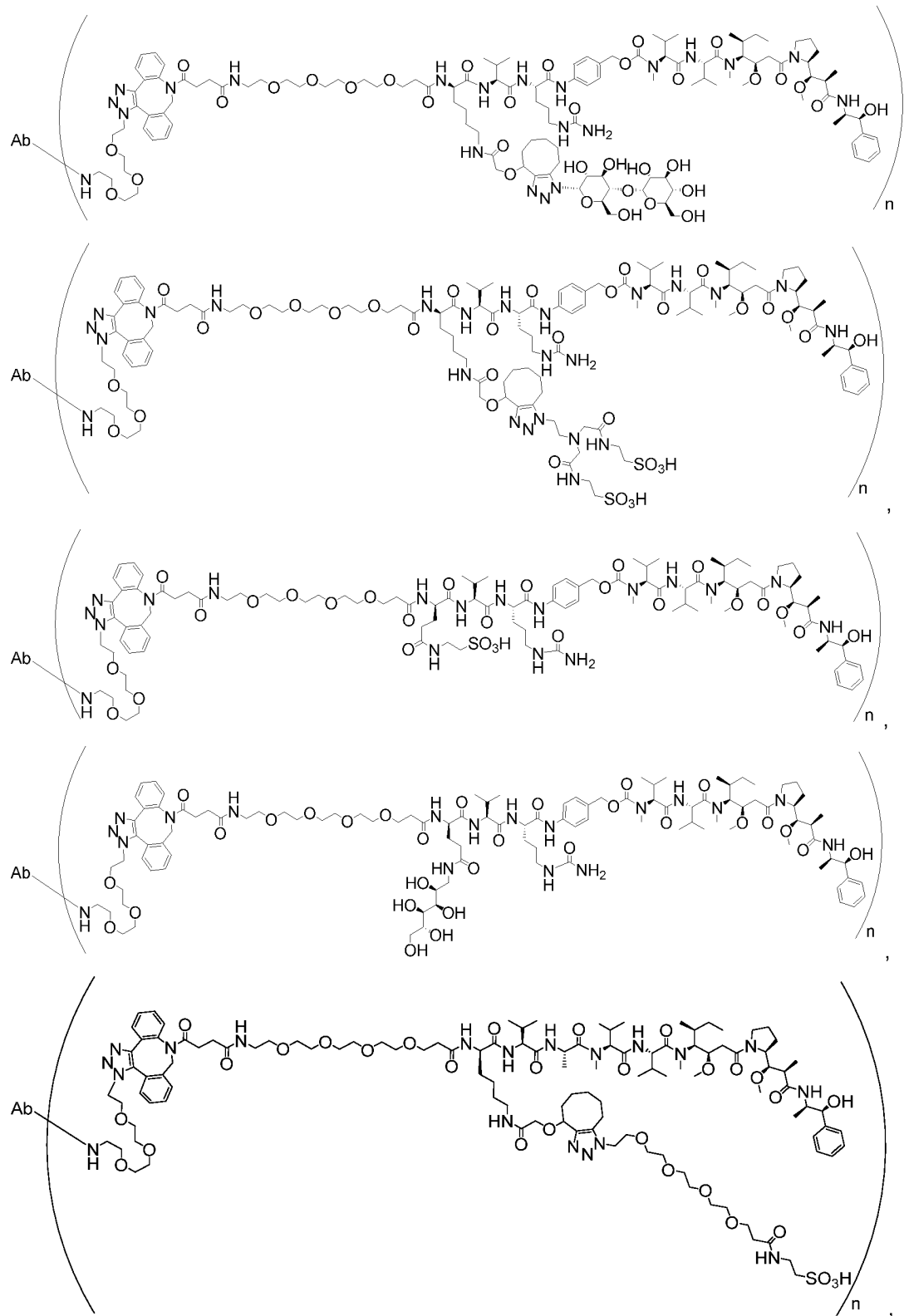
[0145] В некоторых случаях **BA** является модифицированным антителом по формуле (**Ab-1**)

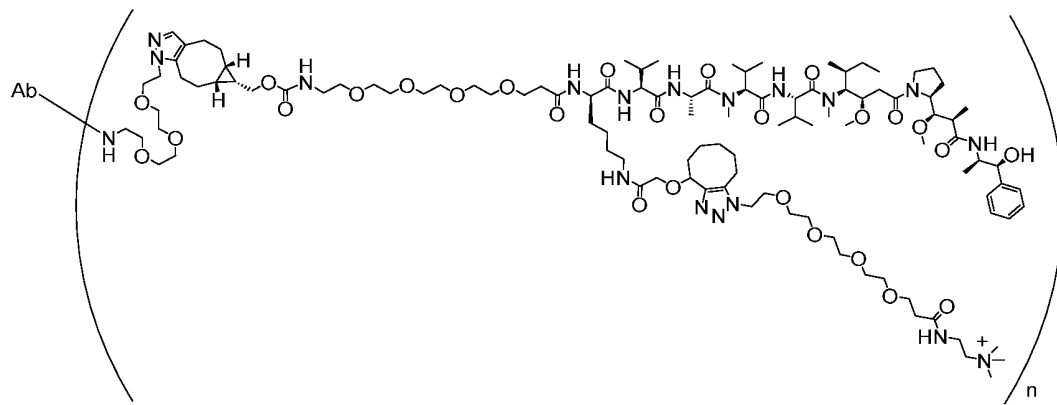
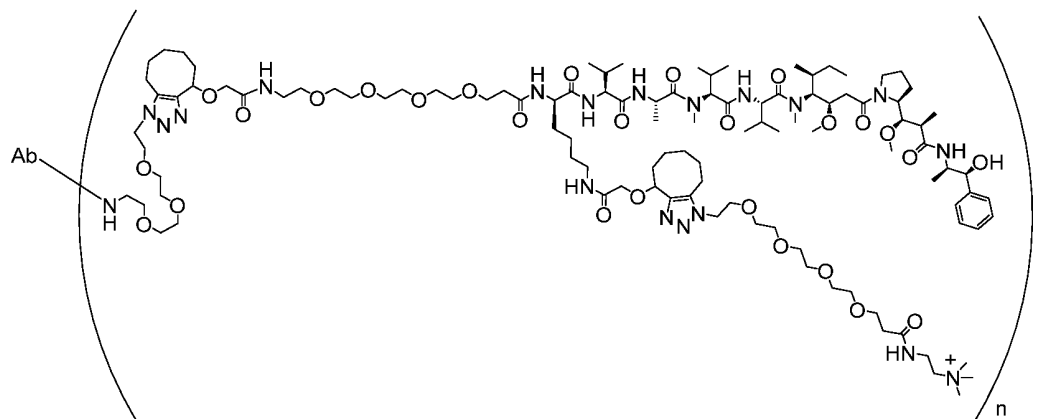
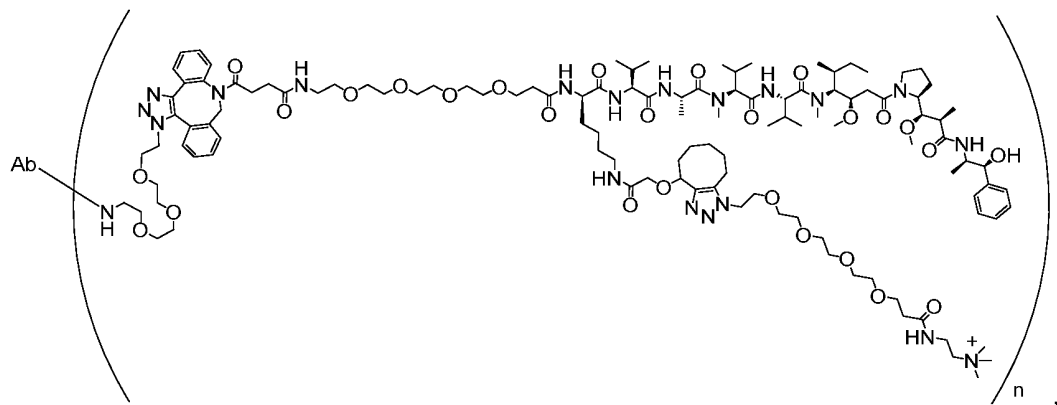
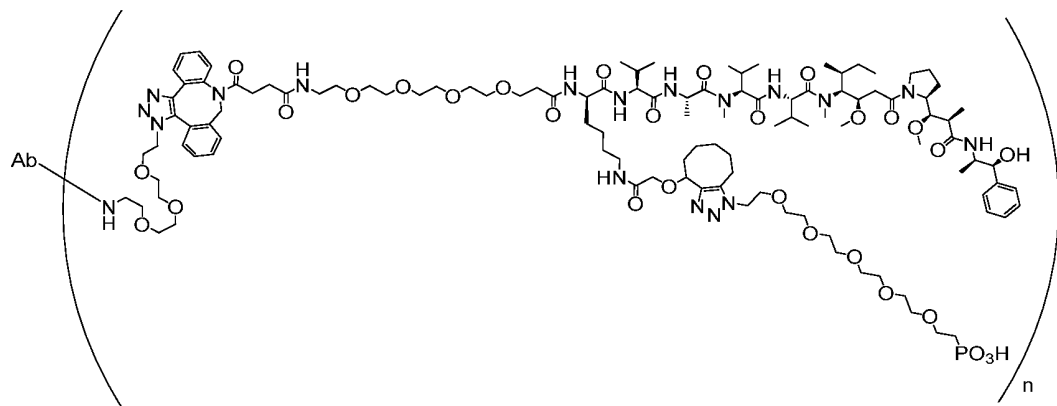


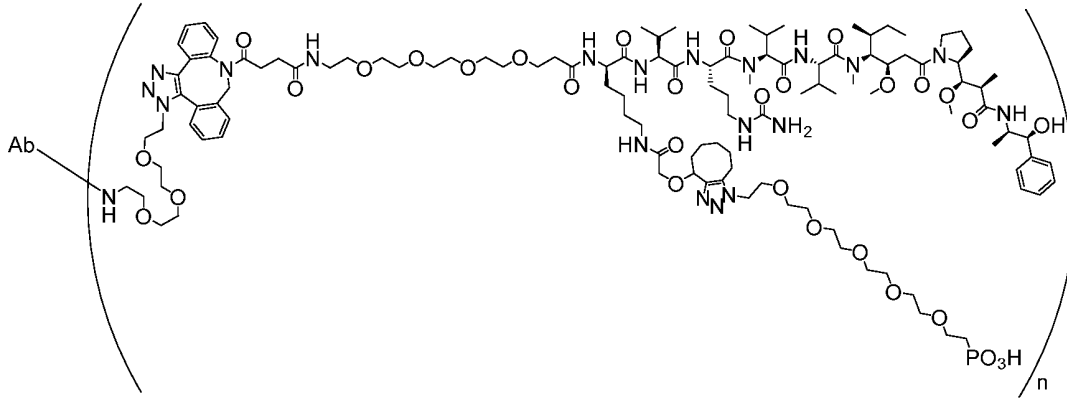
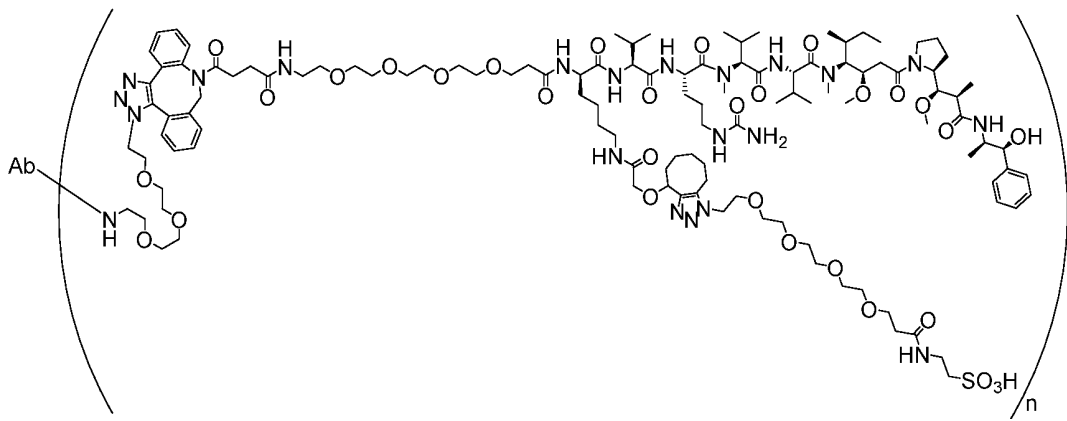
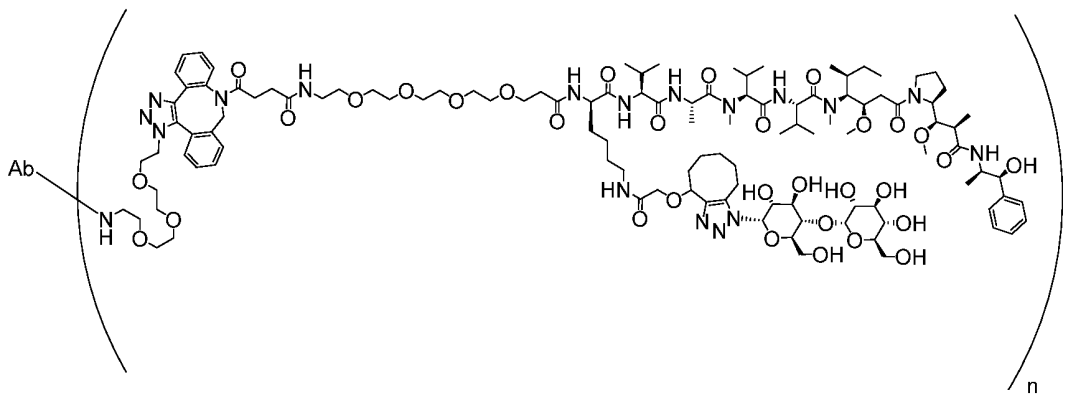
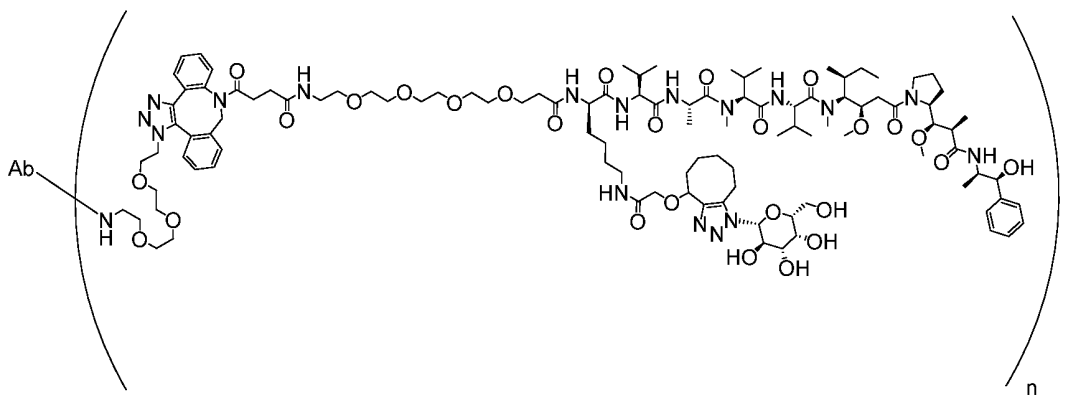
где  указывает на атом, через который **Ab-1** соединен с соседними группами в формуле.

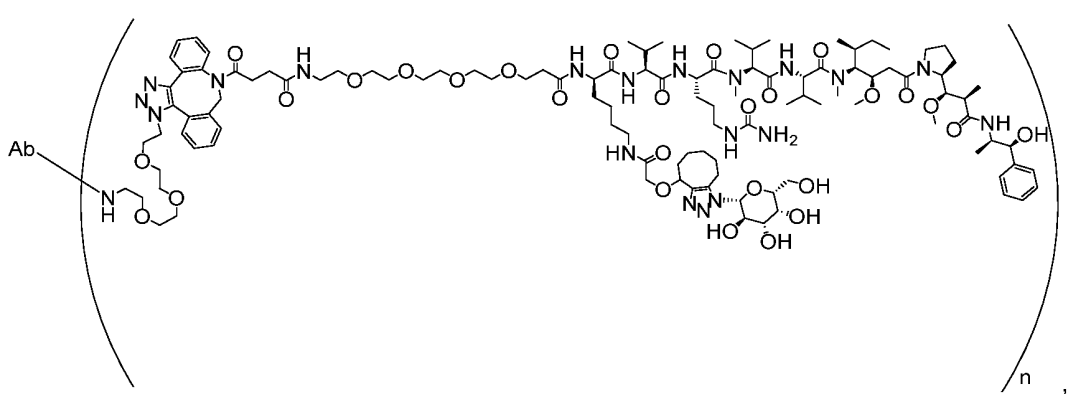
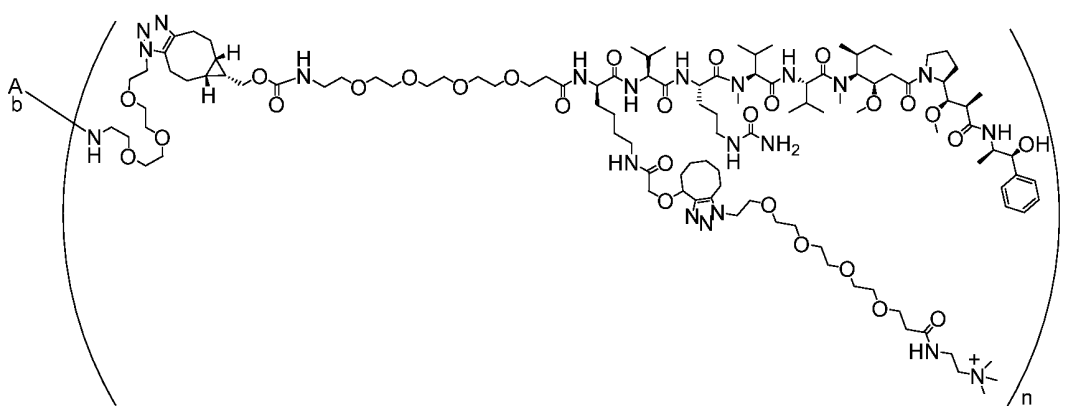
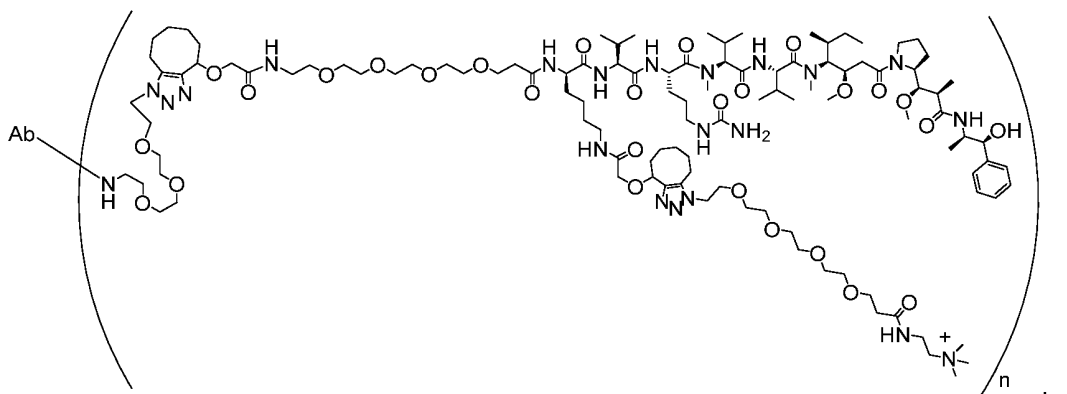
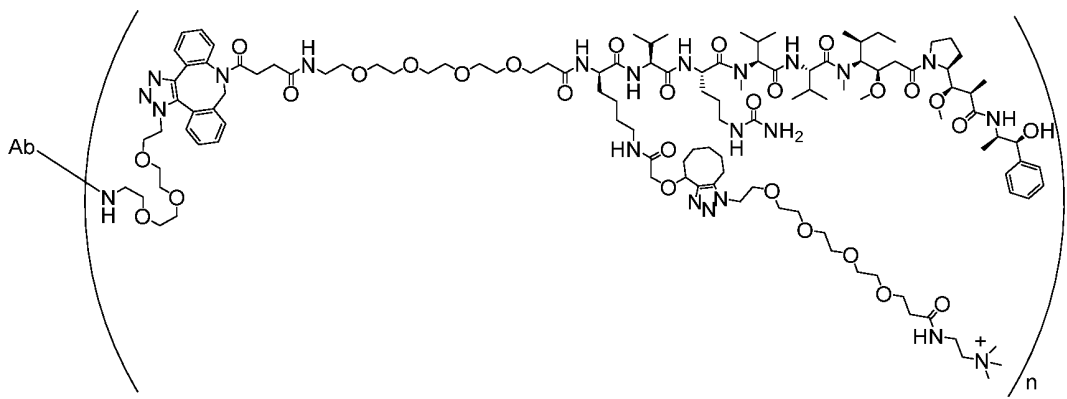
[0146] В некоторых случаях соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), является конъюгатом антитело-лекарственное средство (ADC), где BA представляет собой Ab-1 в соответствии с определением в настоящем документе, причем Ab является антигеном или его антиген-связывающим фрагментом, который выбирают из группы, включающей:



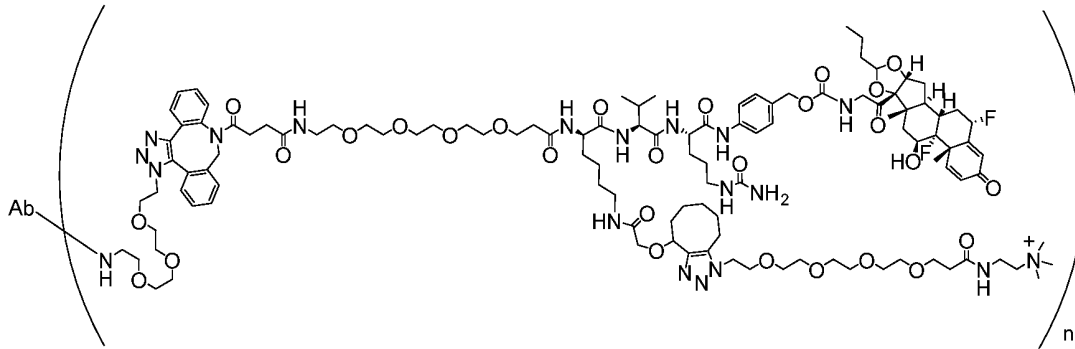
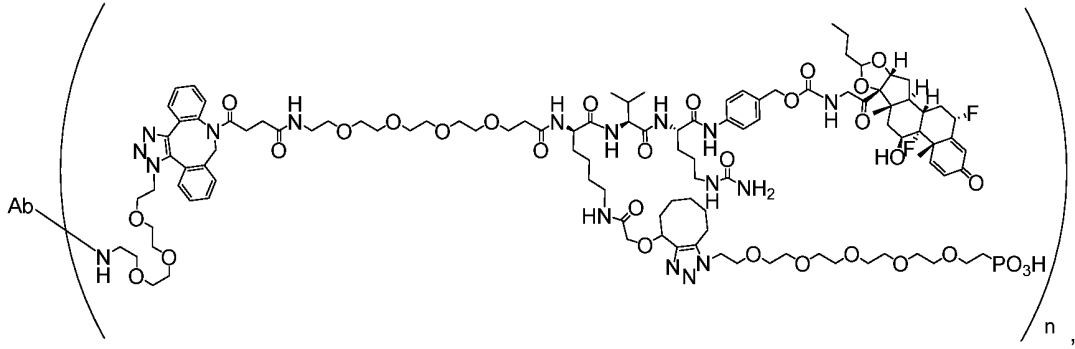
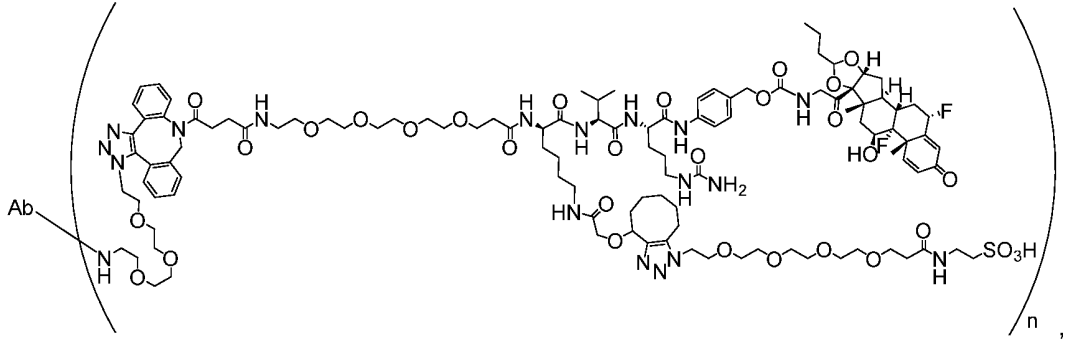
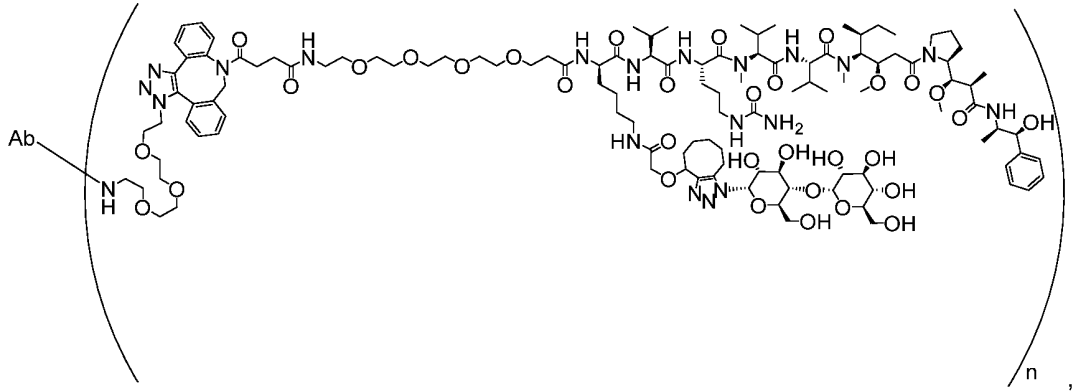


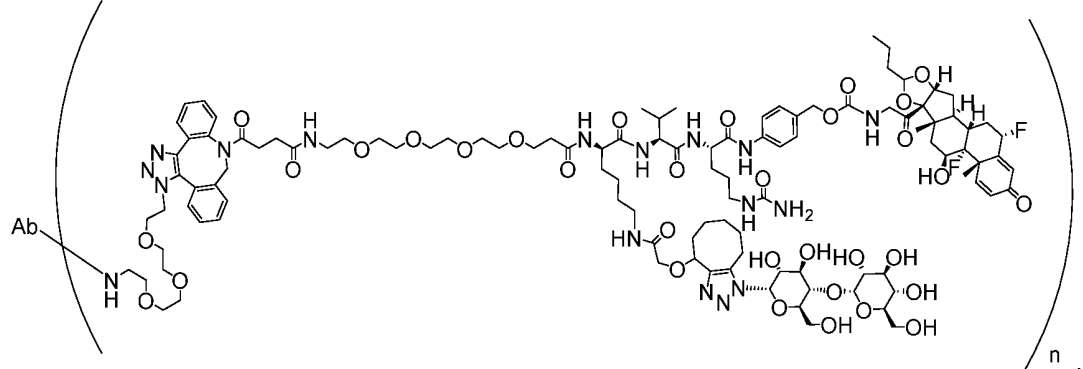
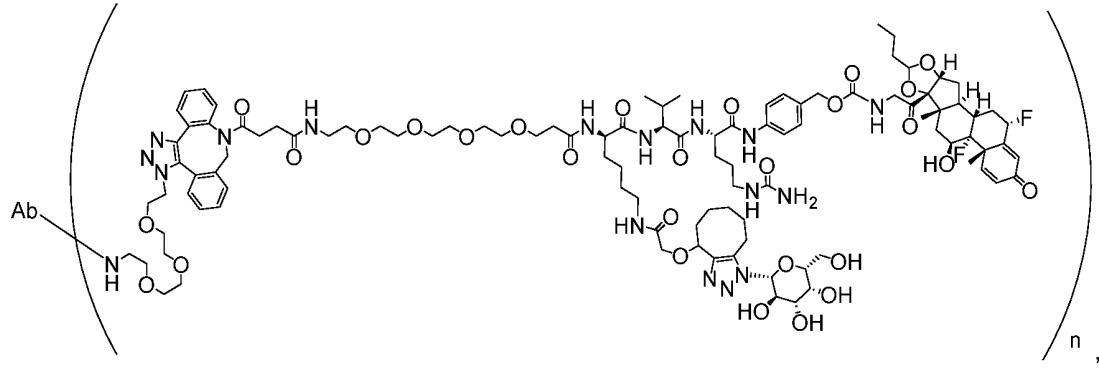
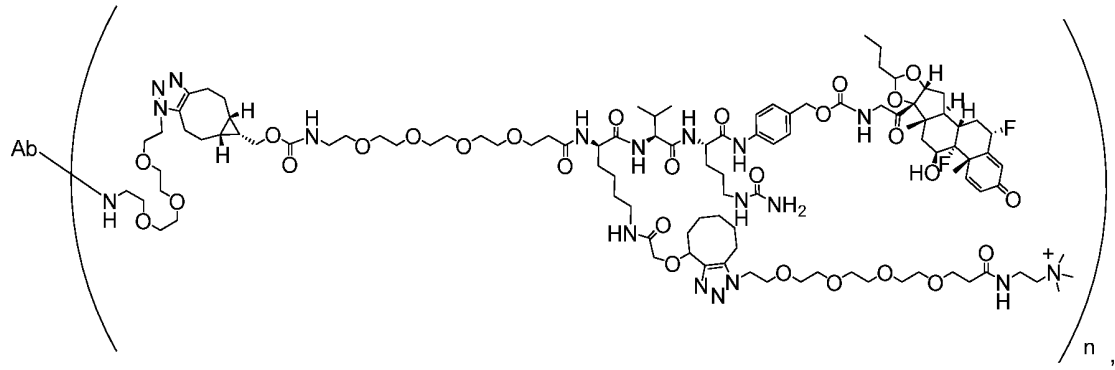
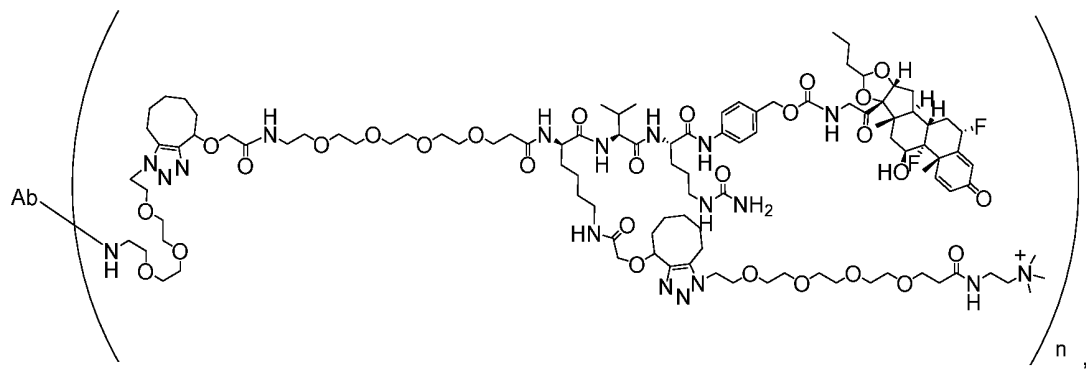


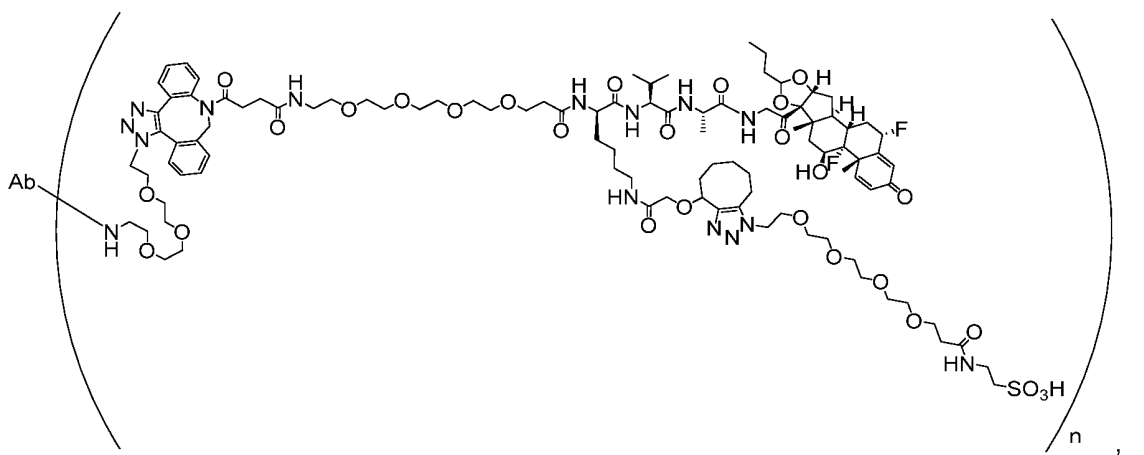
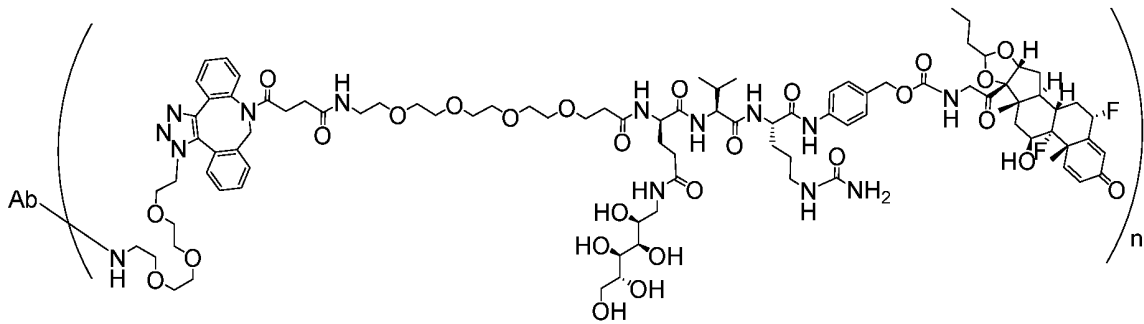
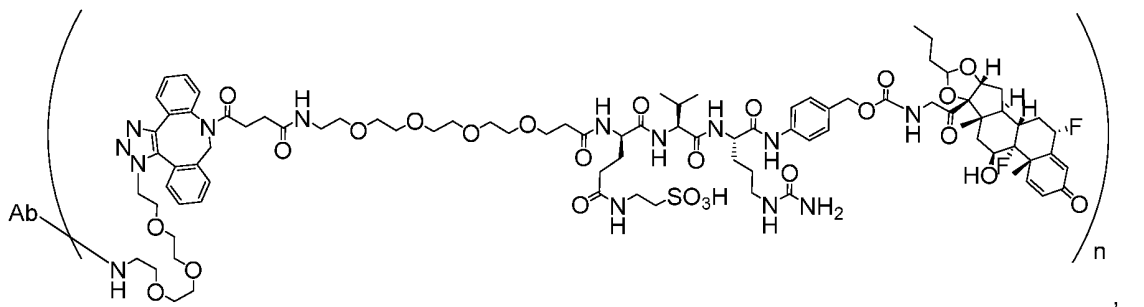
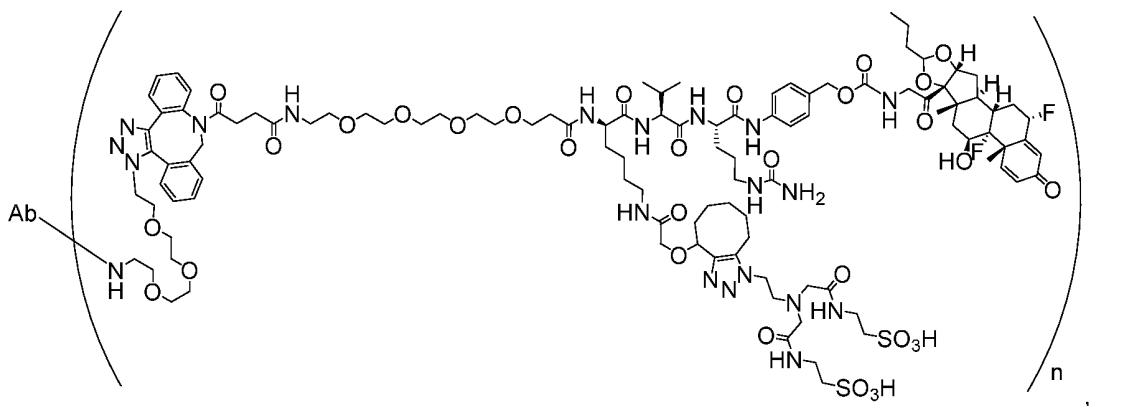


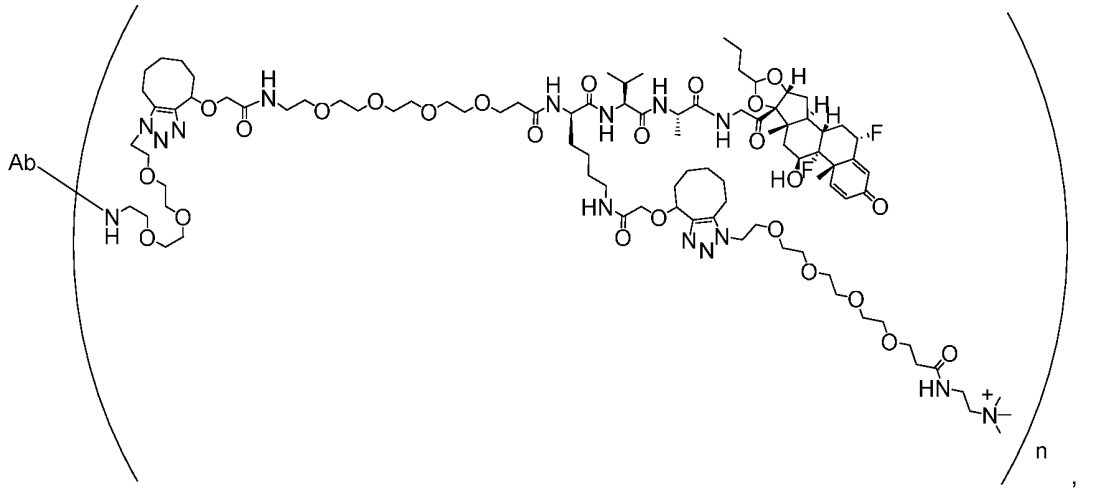
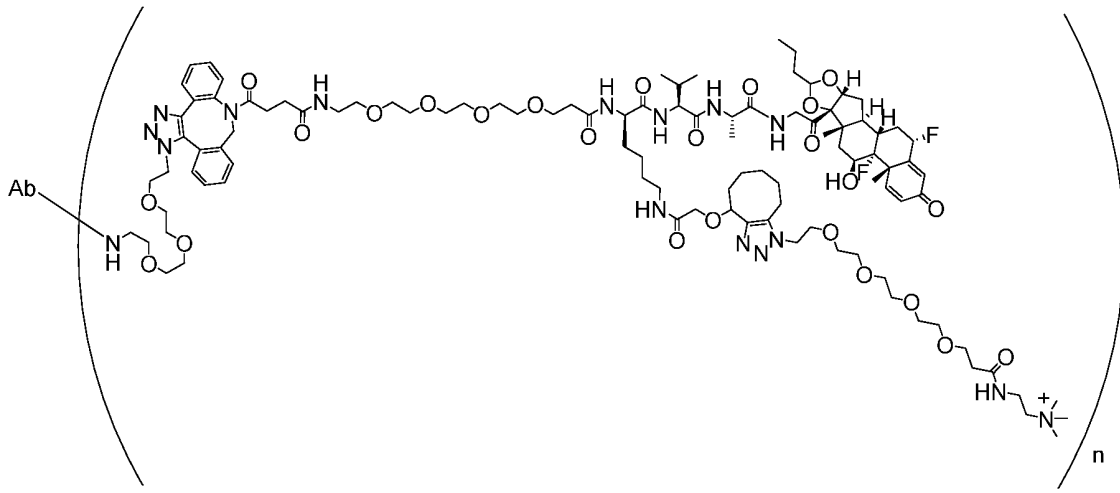
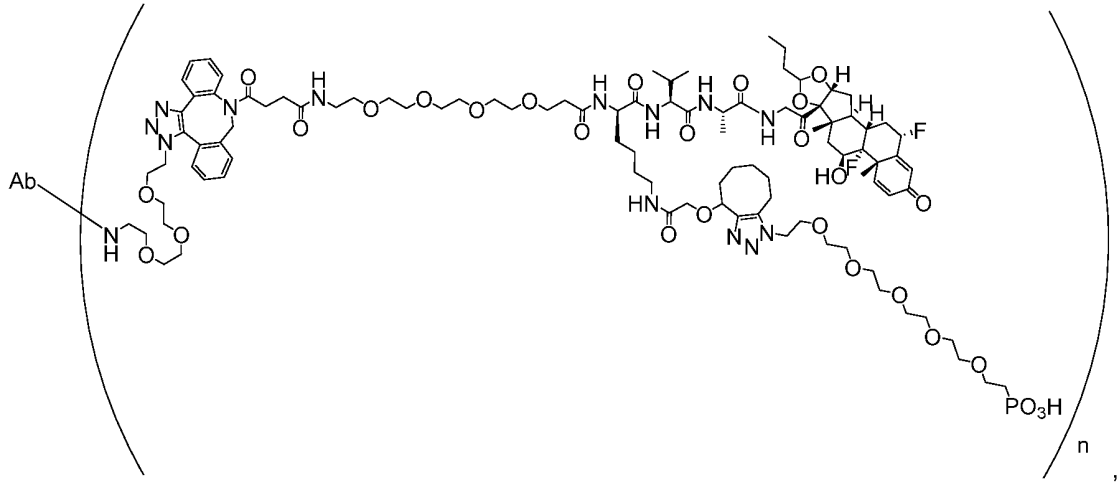


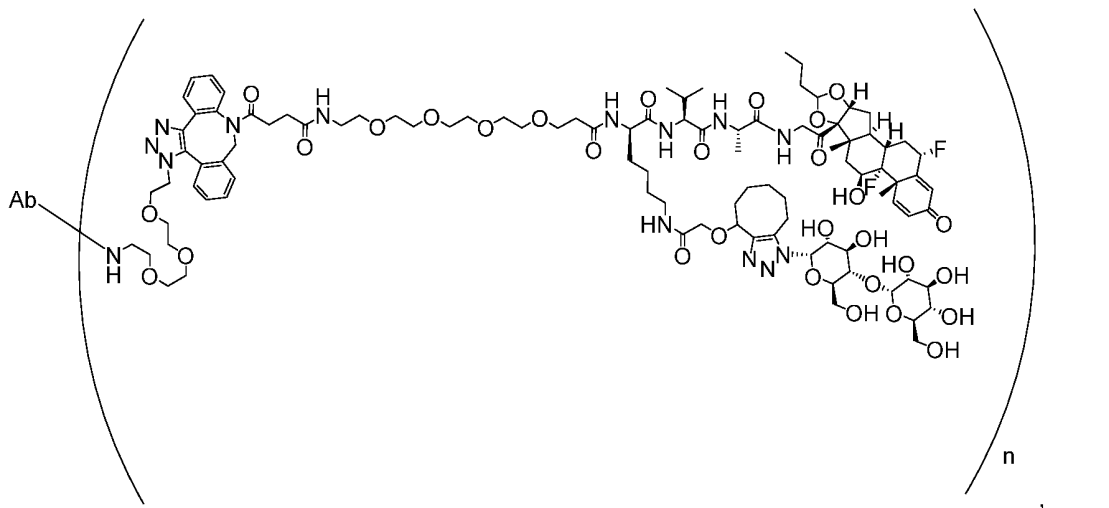
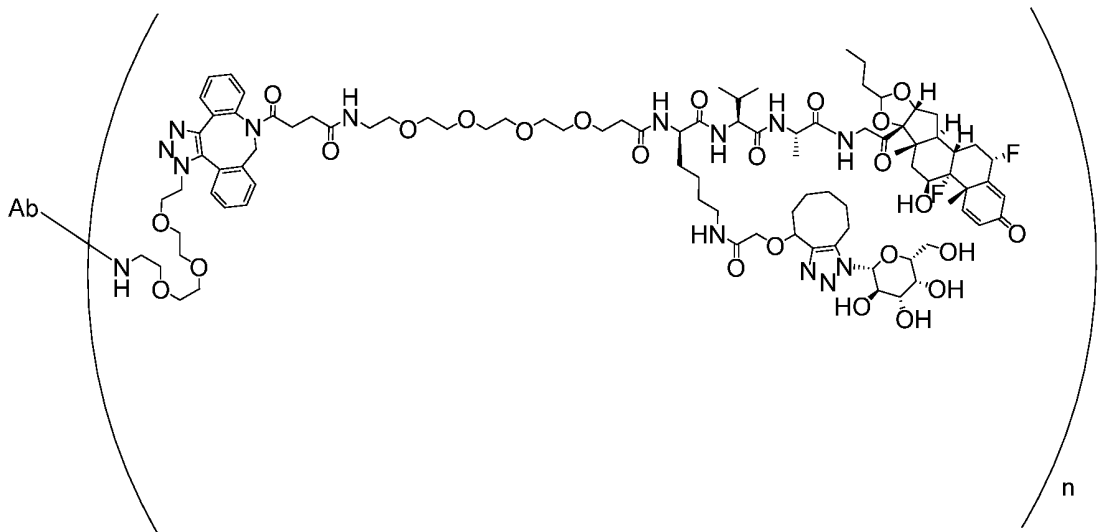
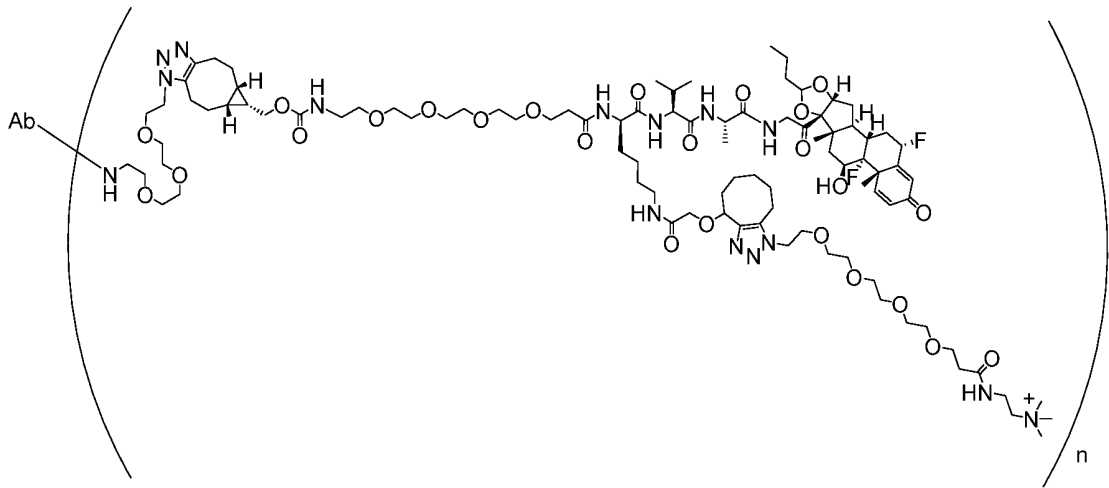


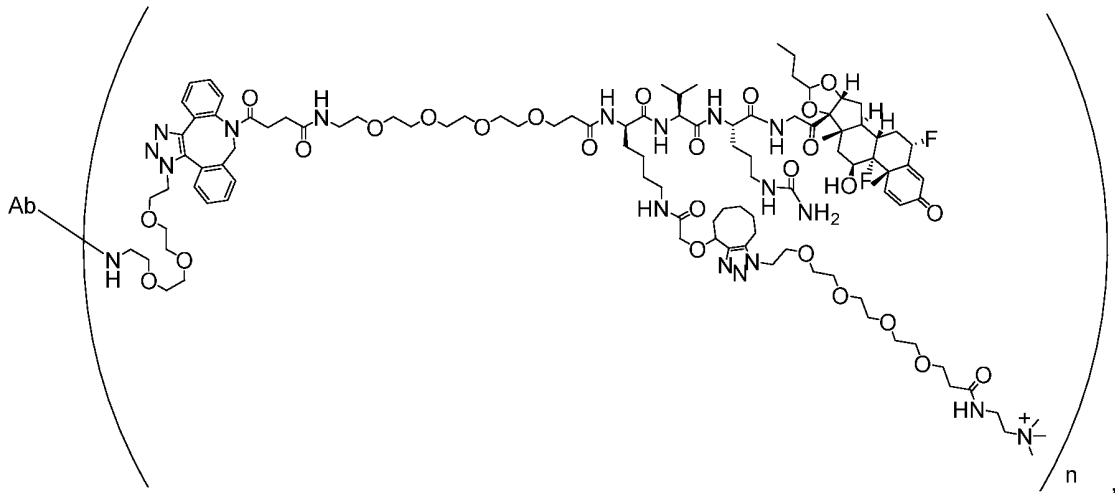
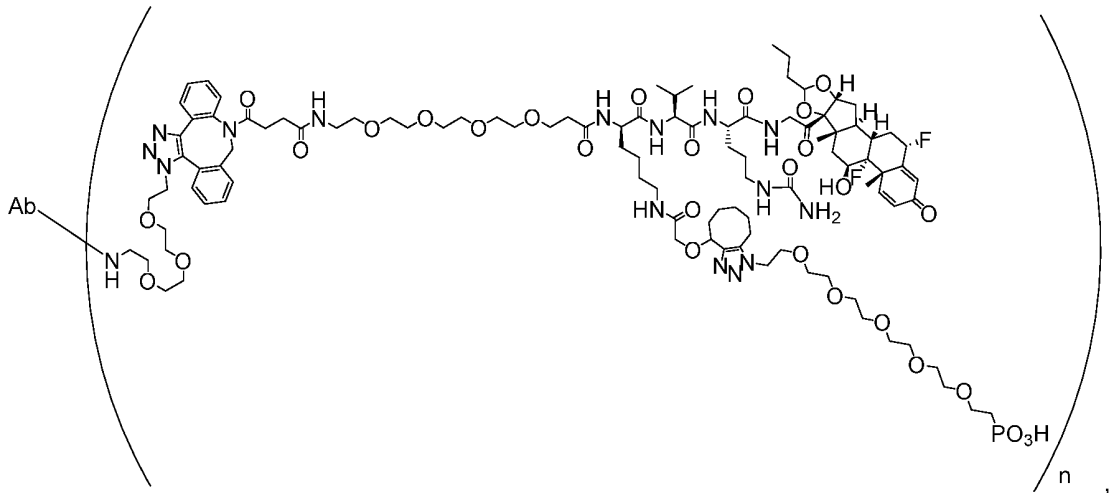
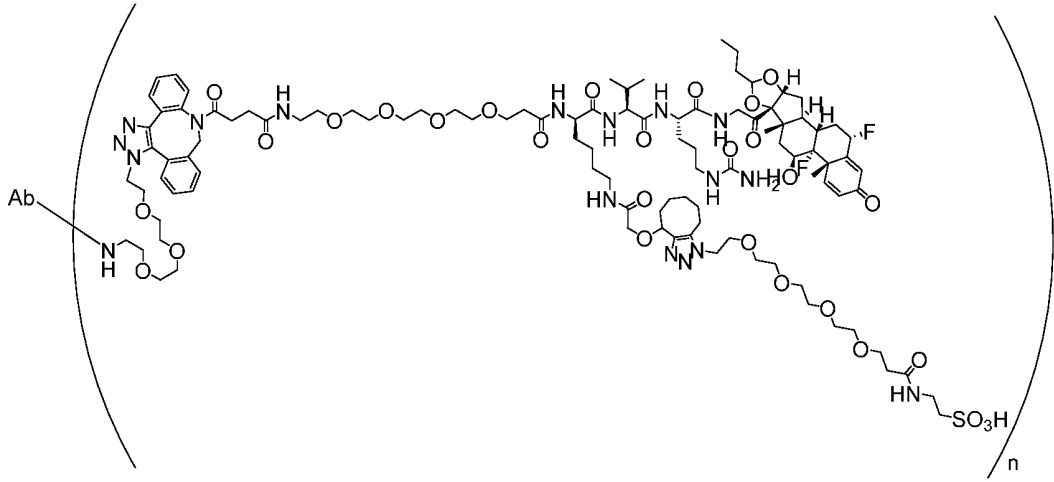


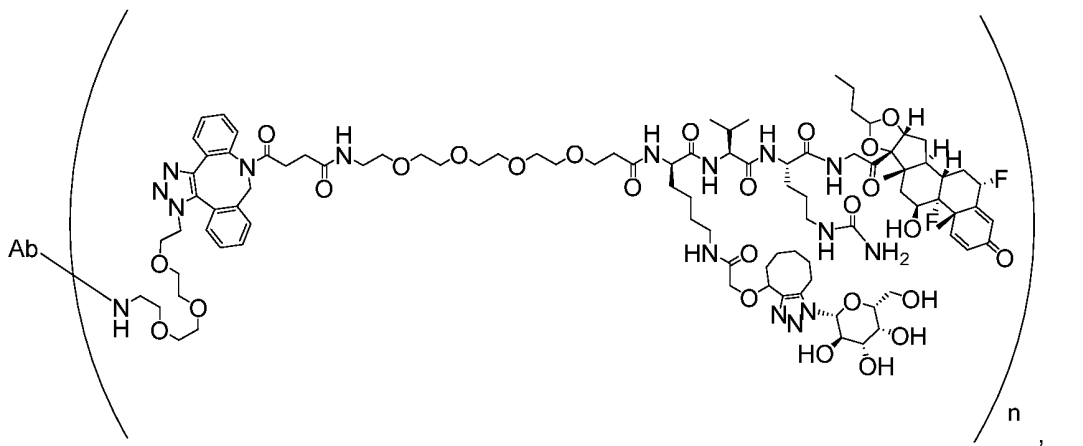
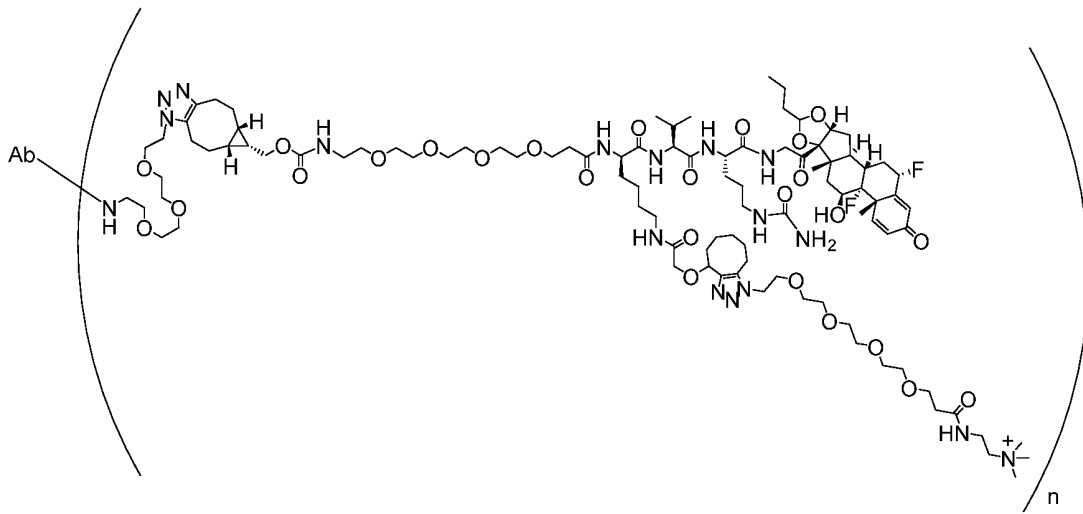
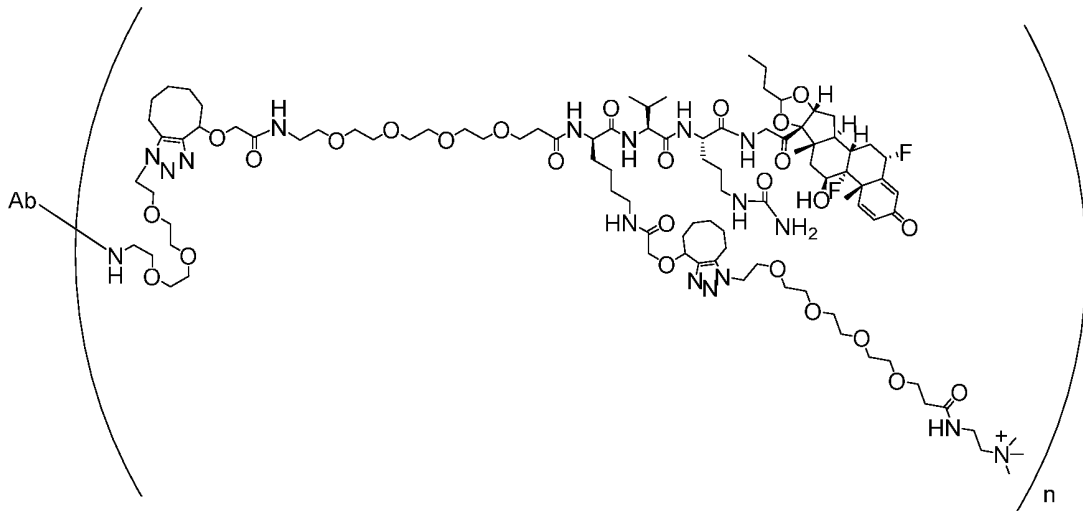


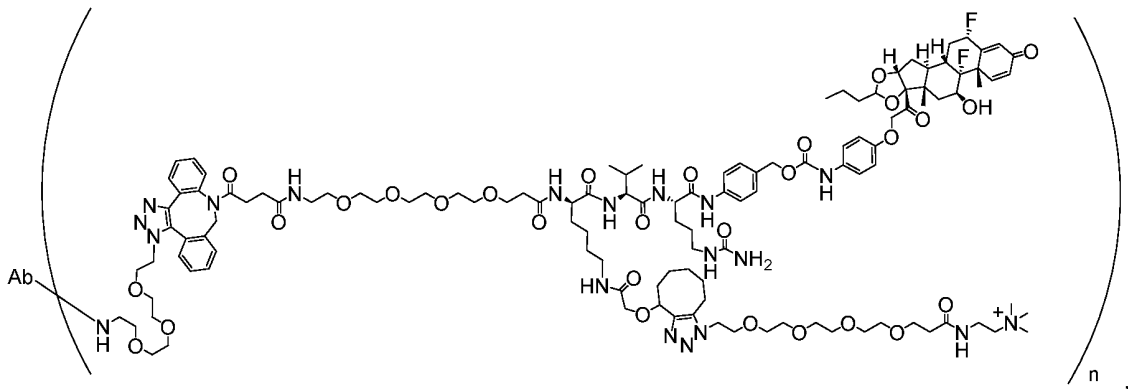
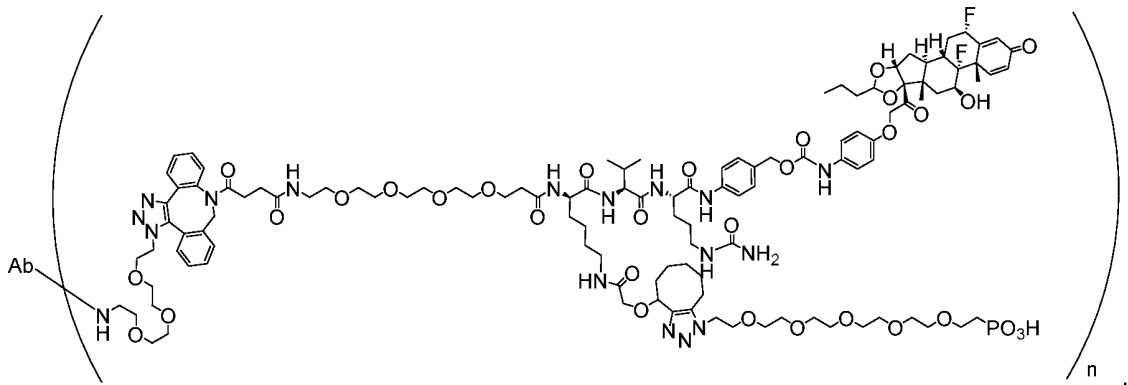
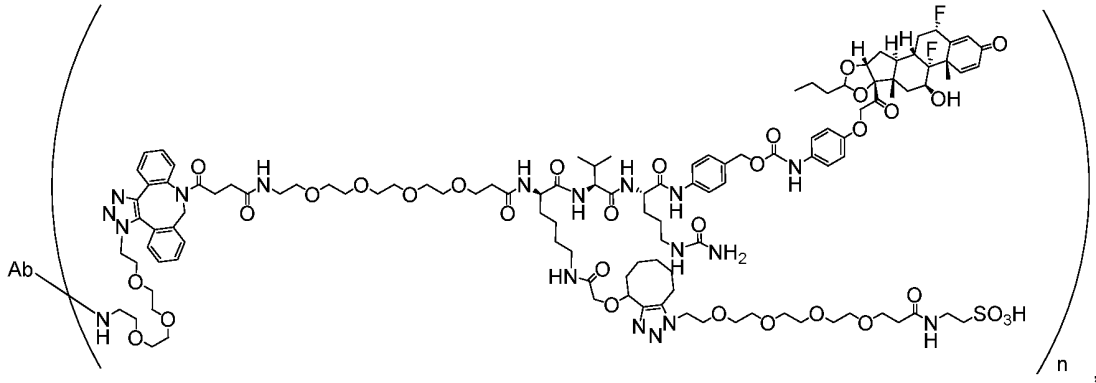
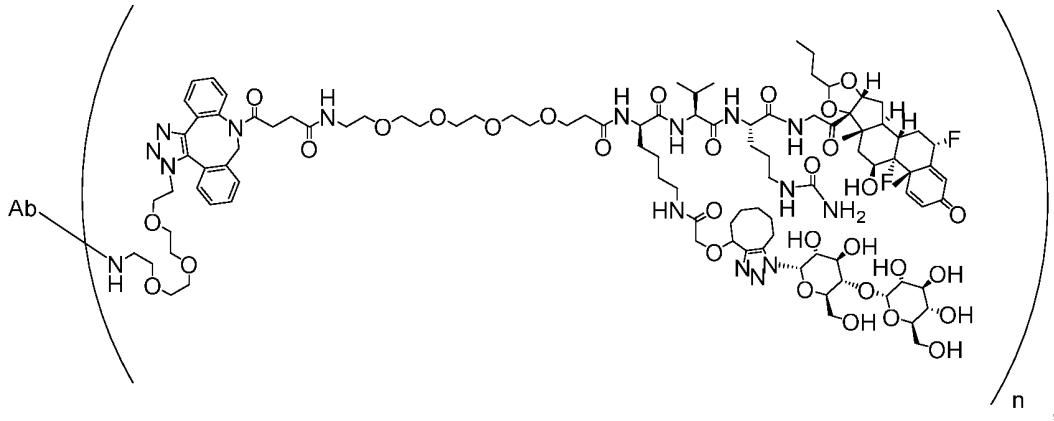




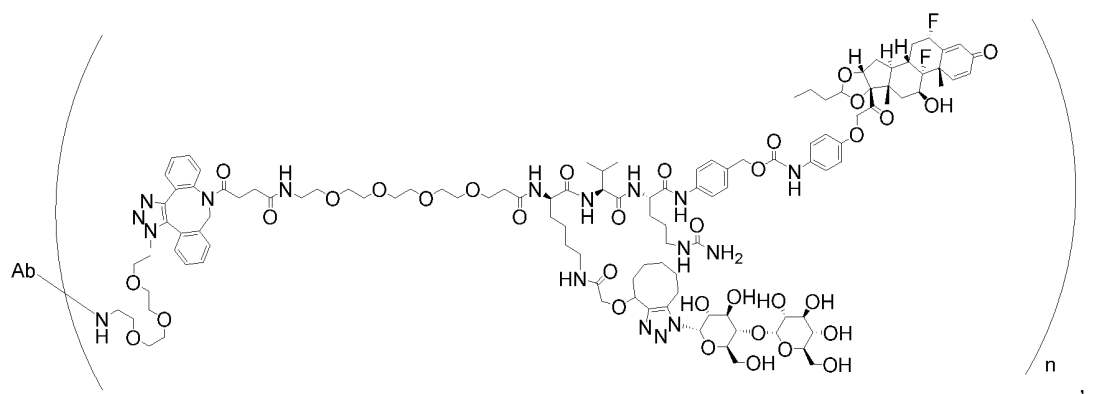
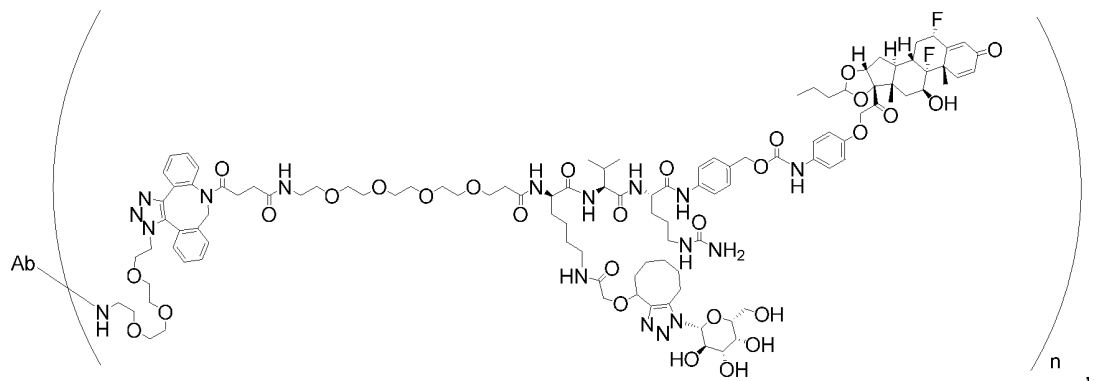
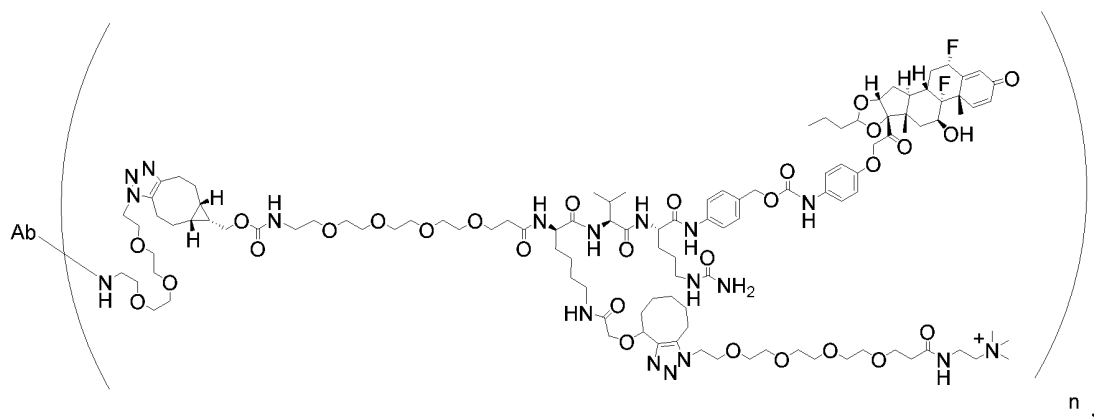
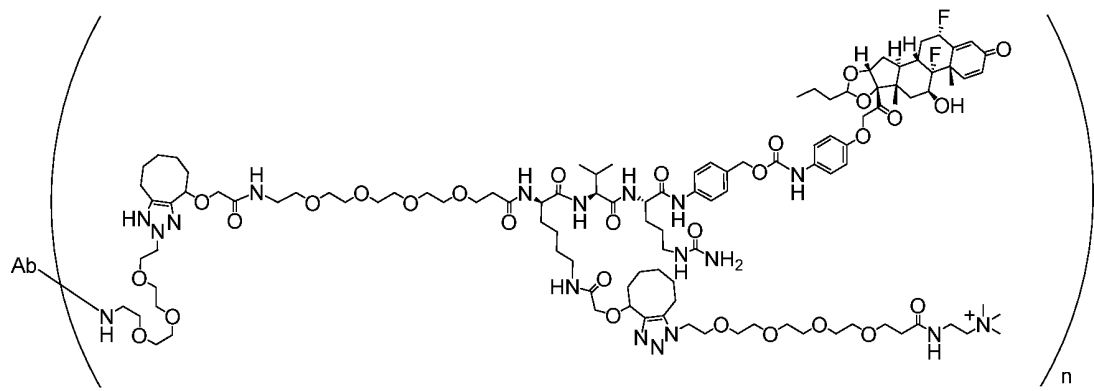


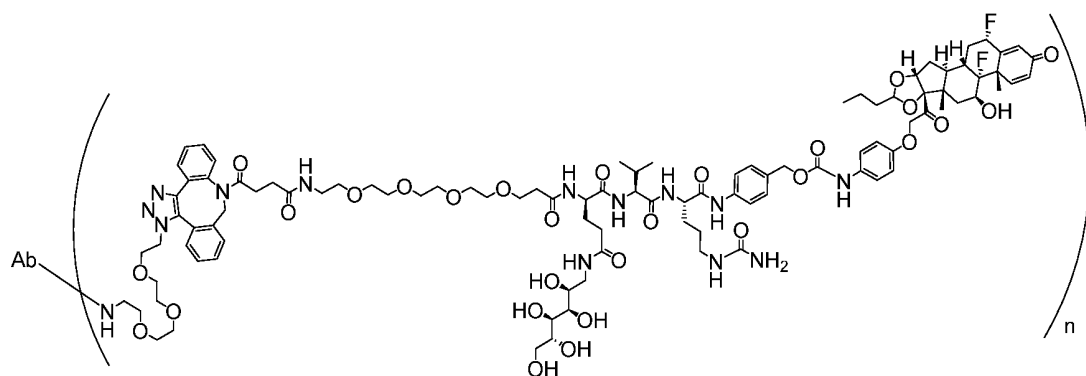
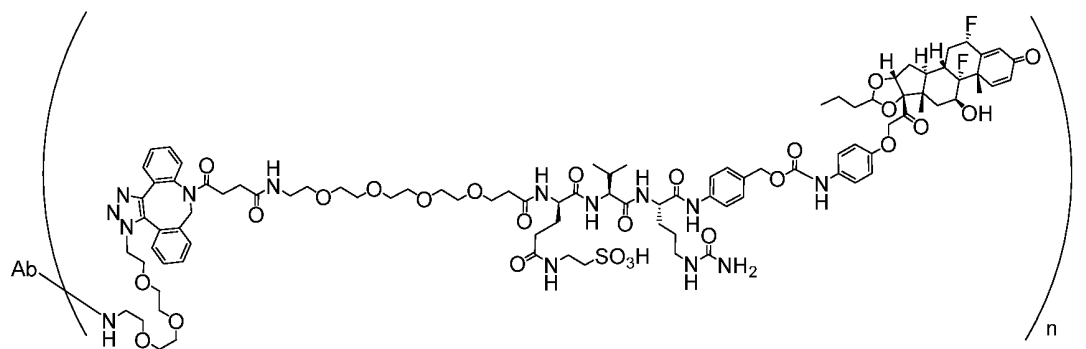
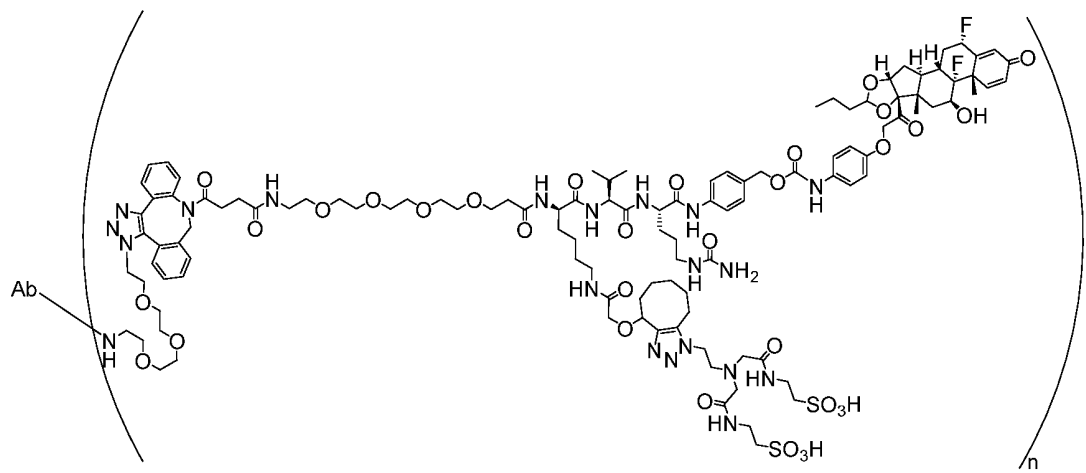


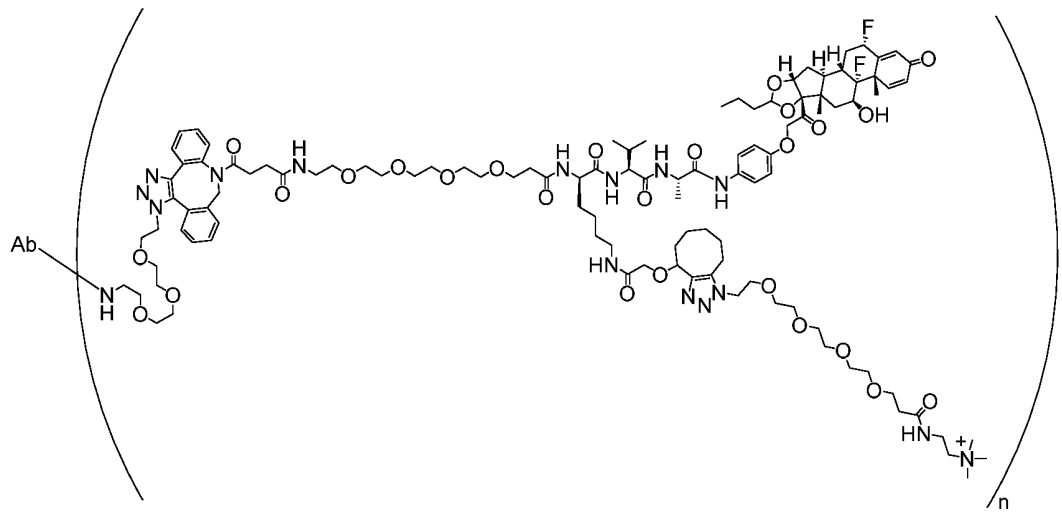
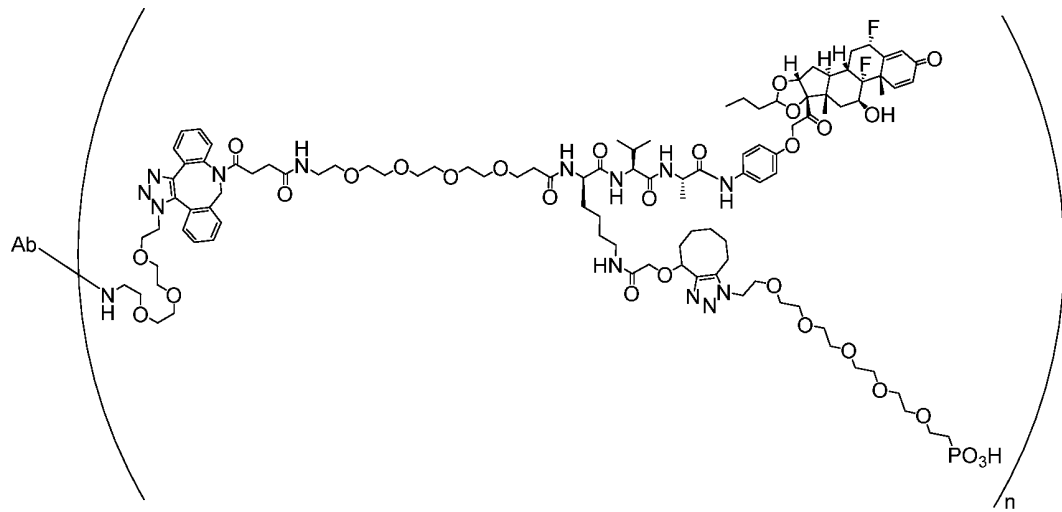
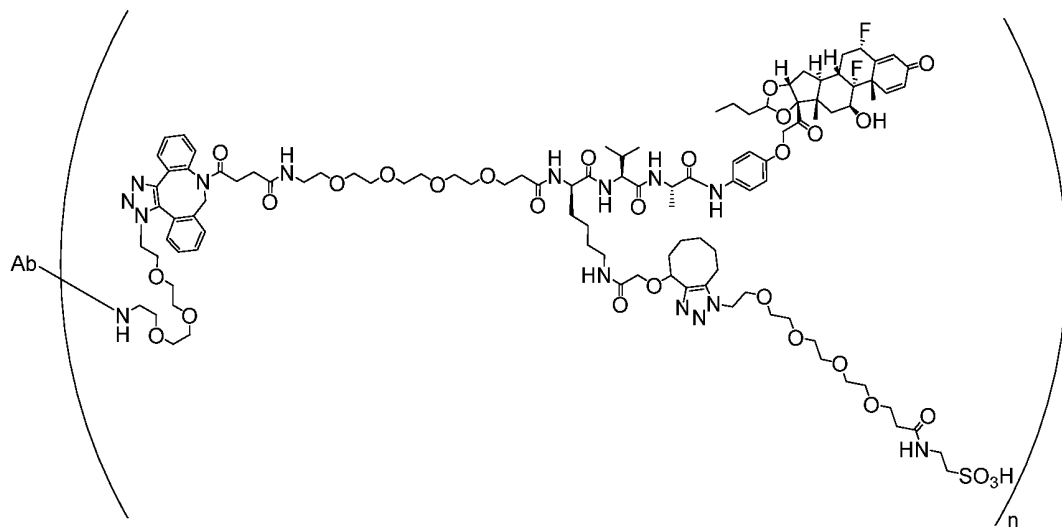


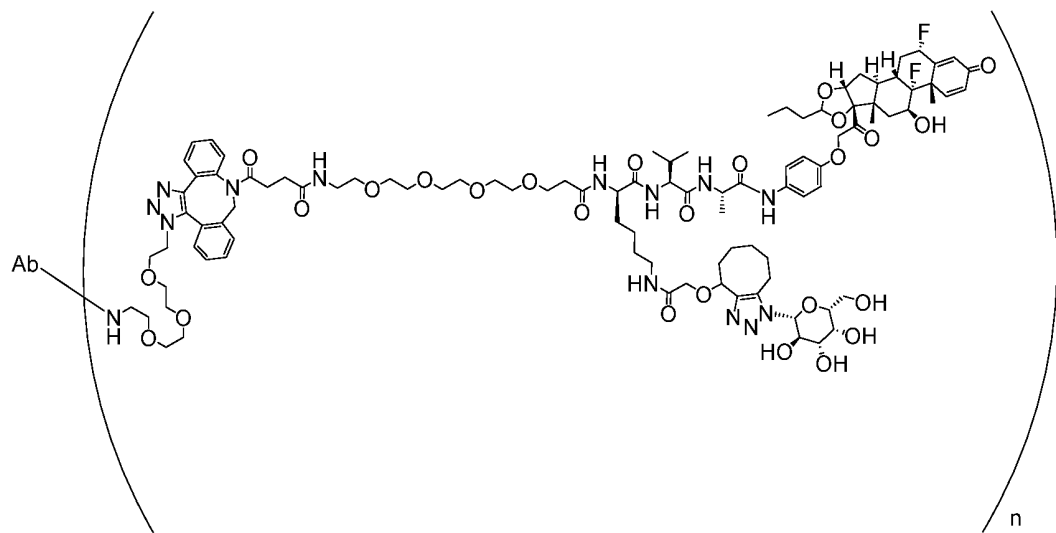
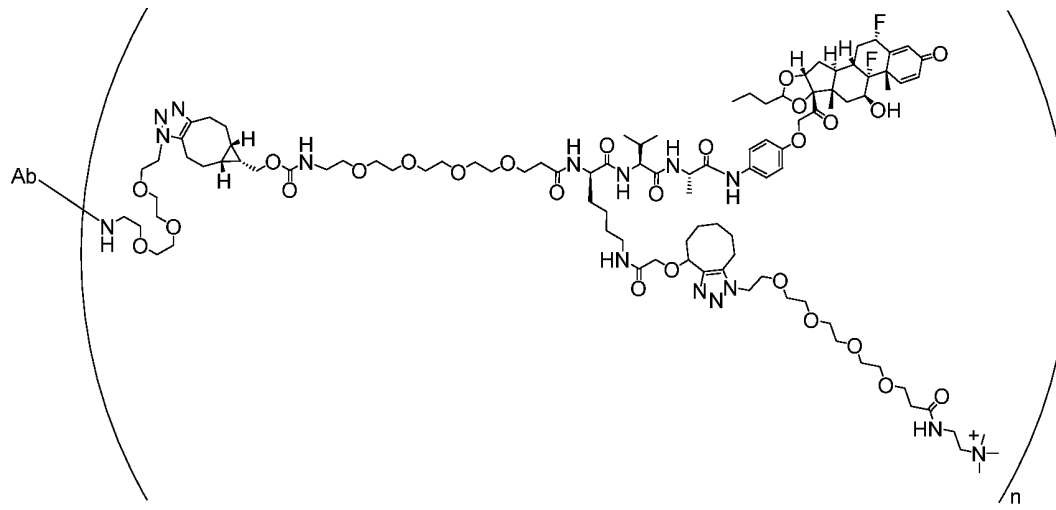
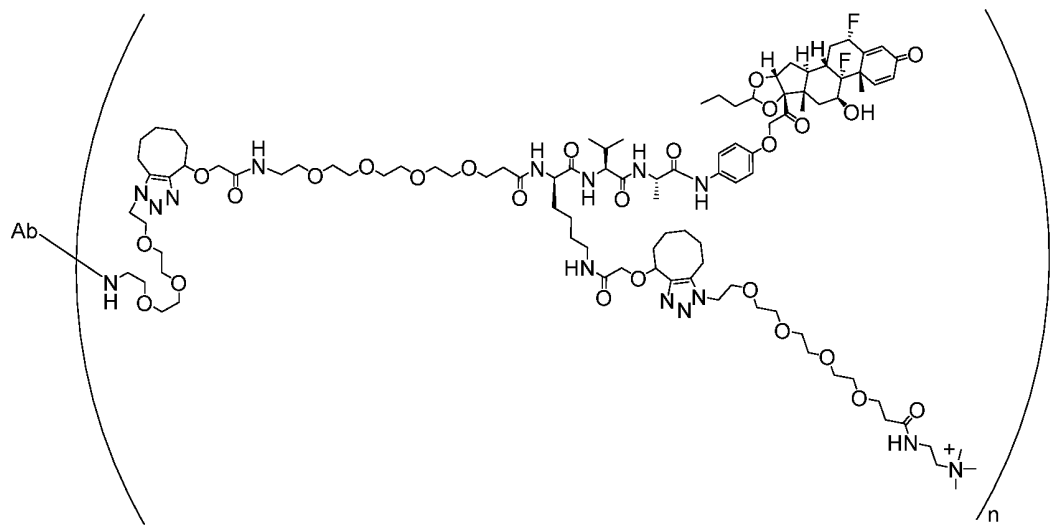


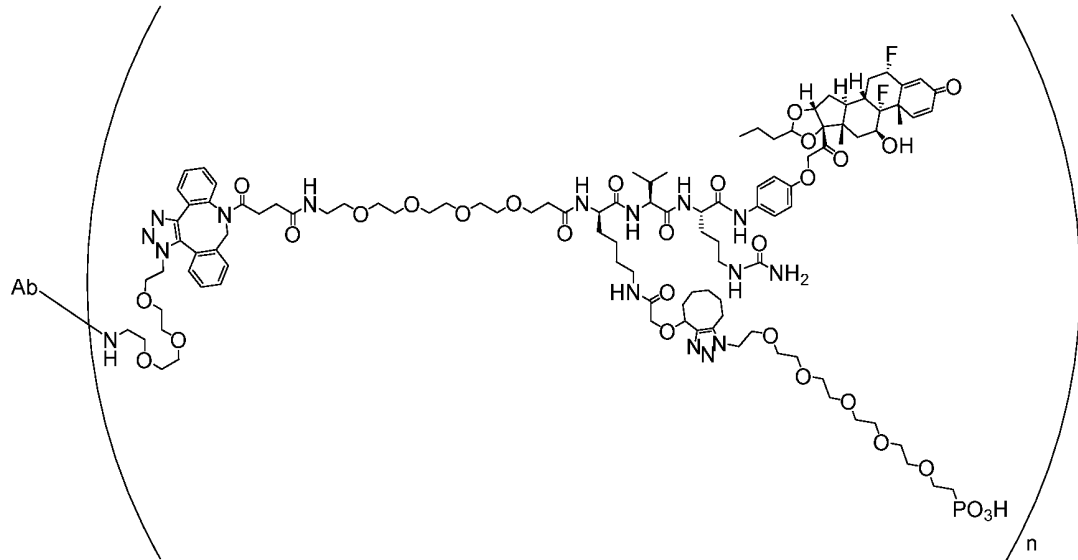
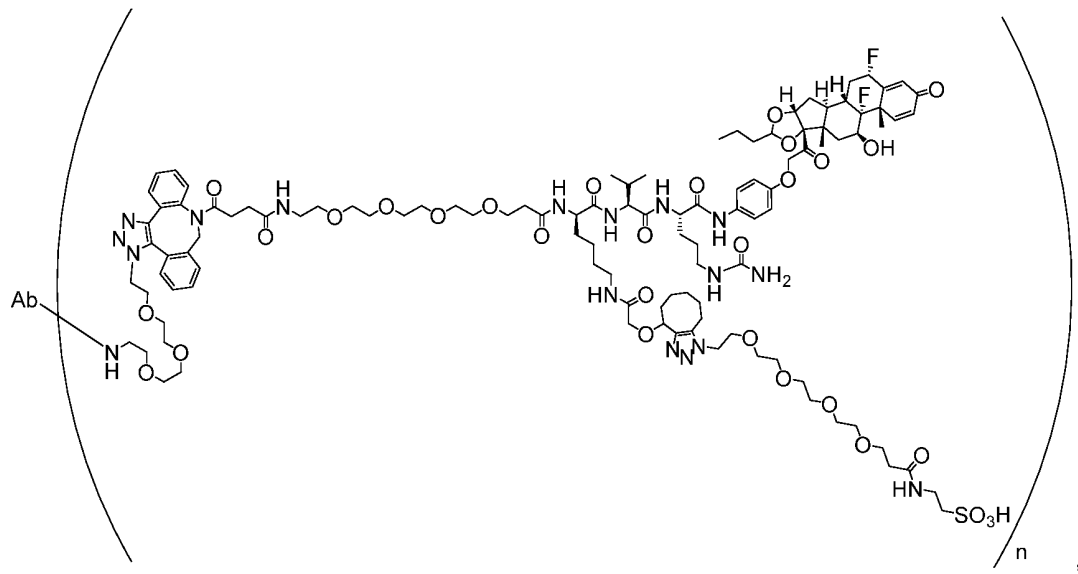
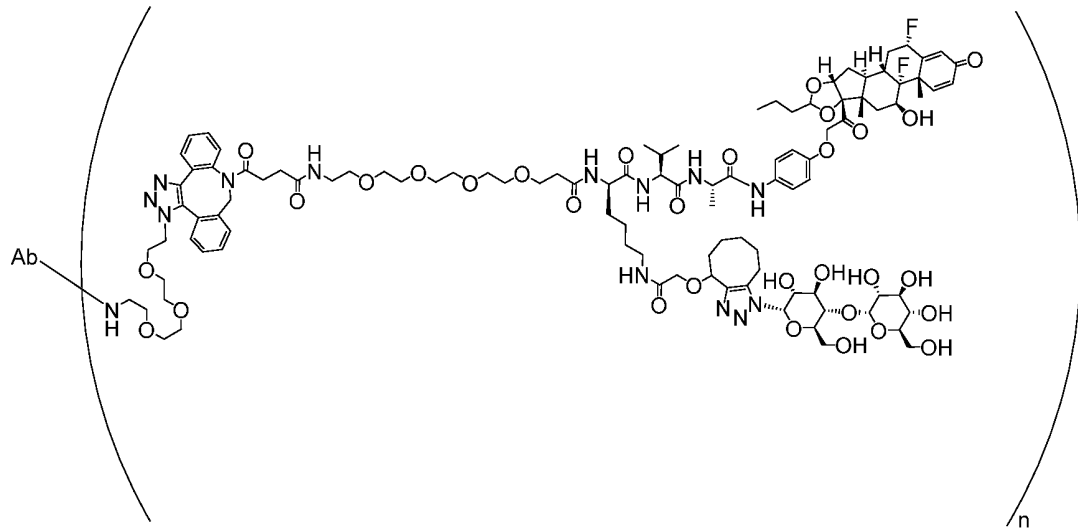


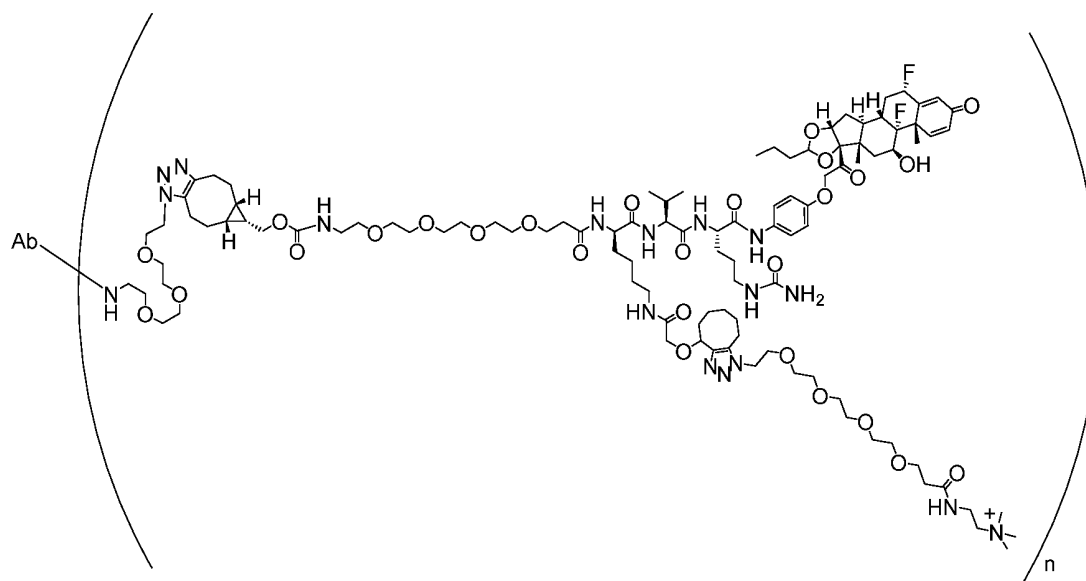
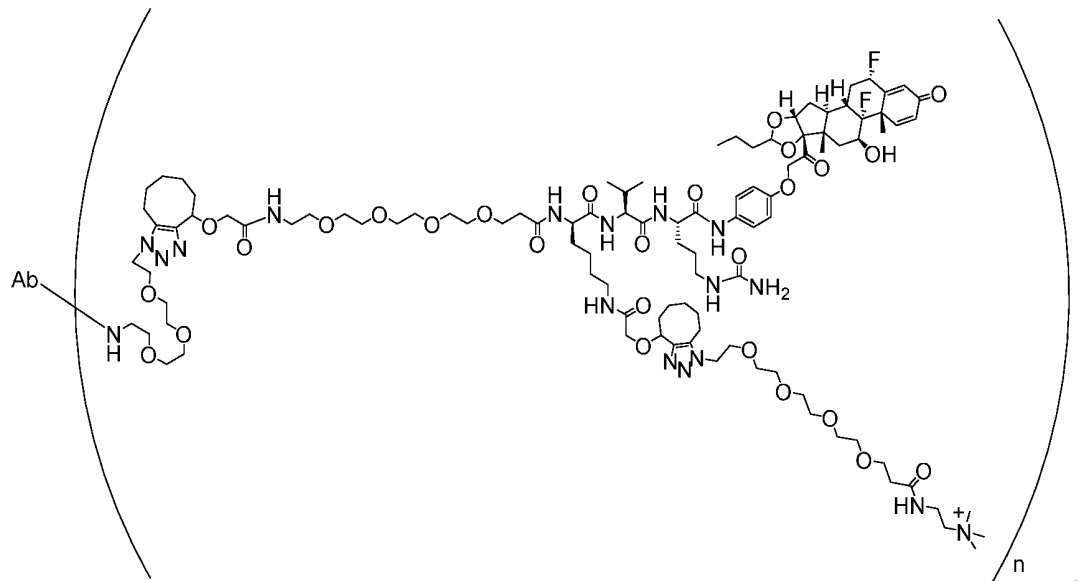
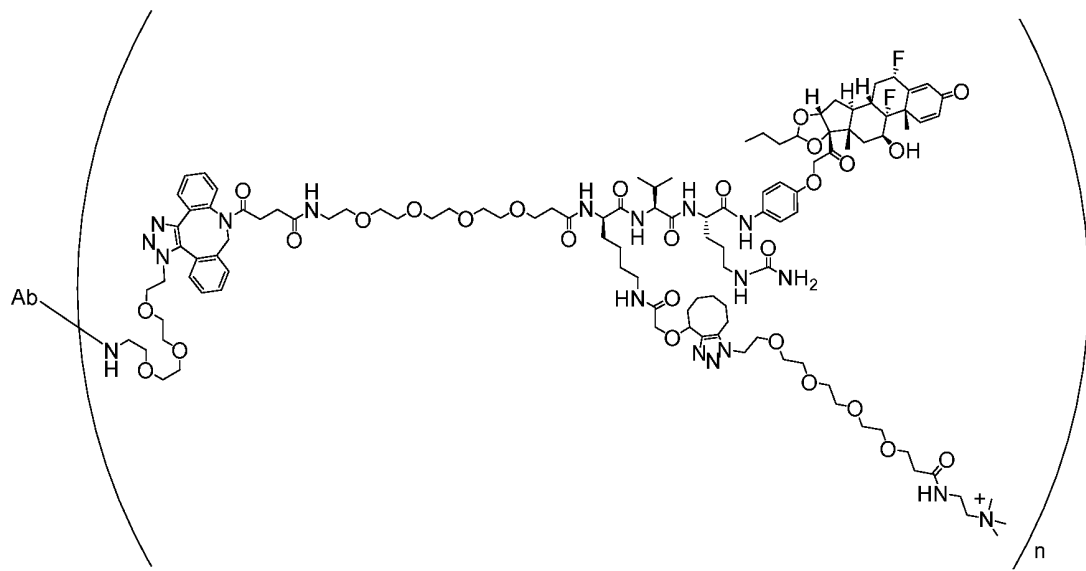


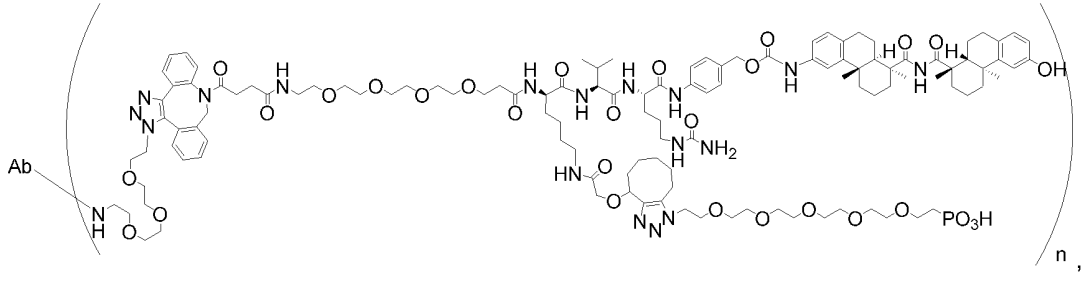
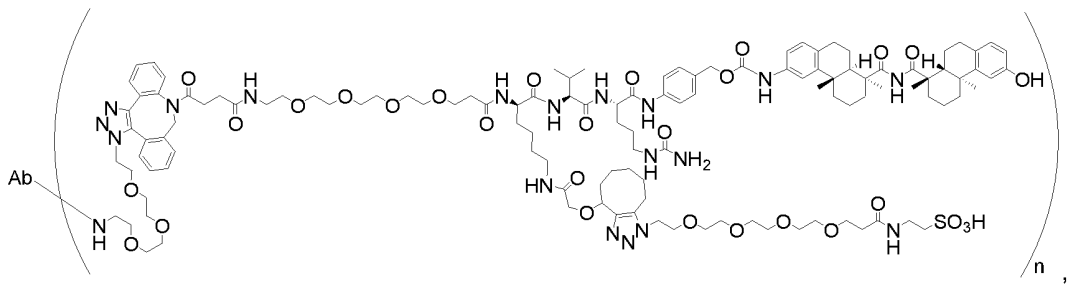
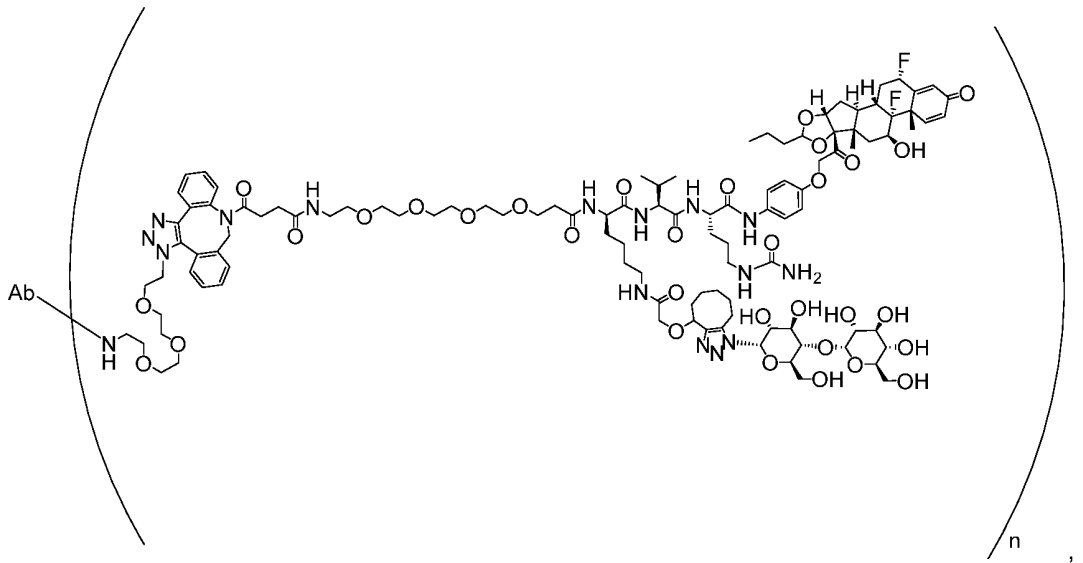
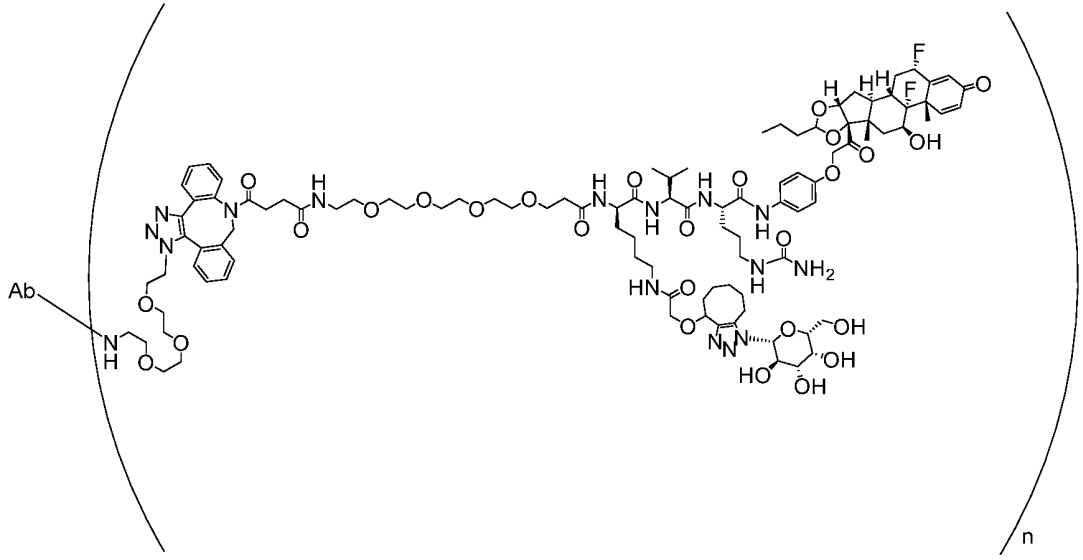


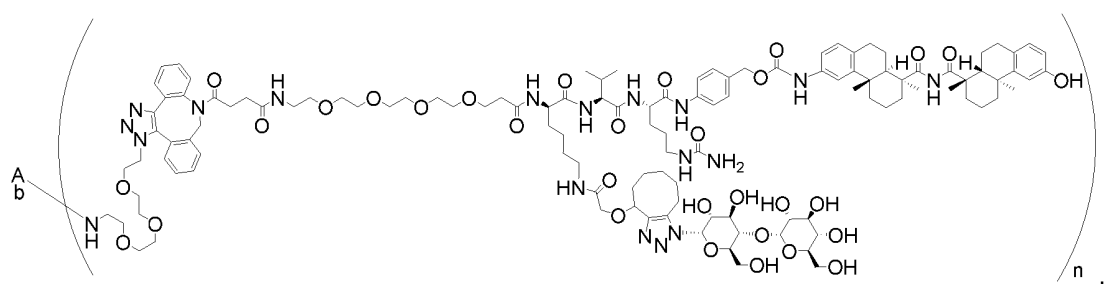
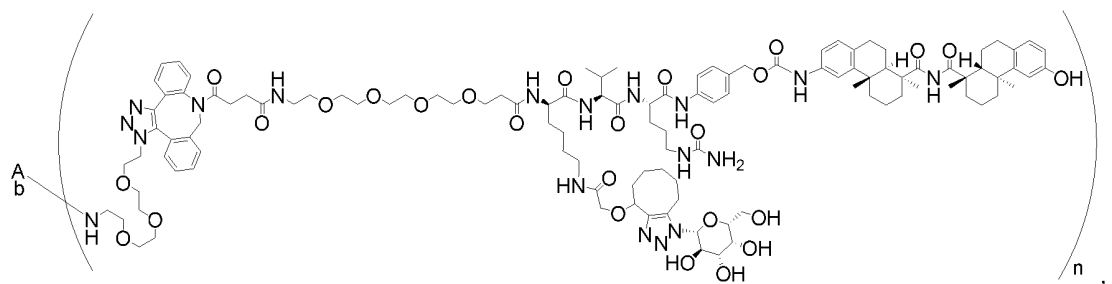
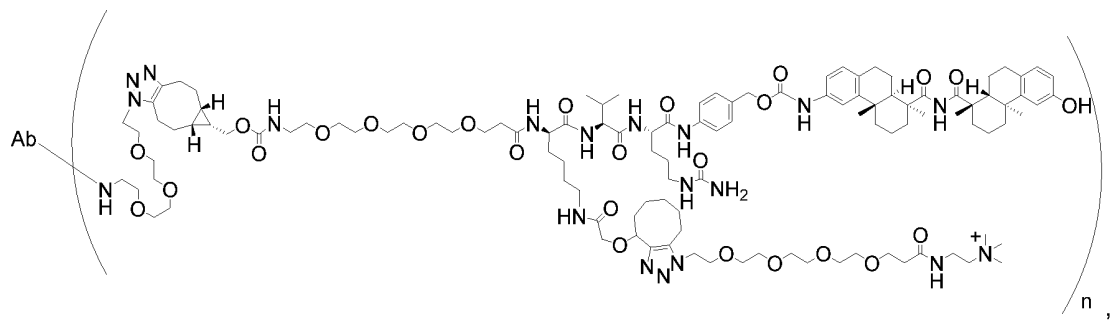
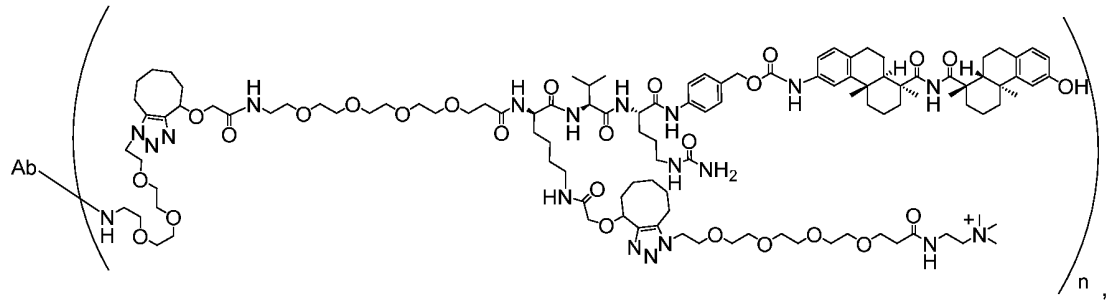
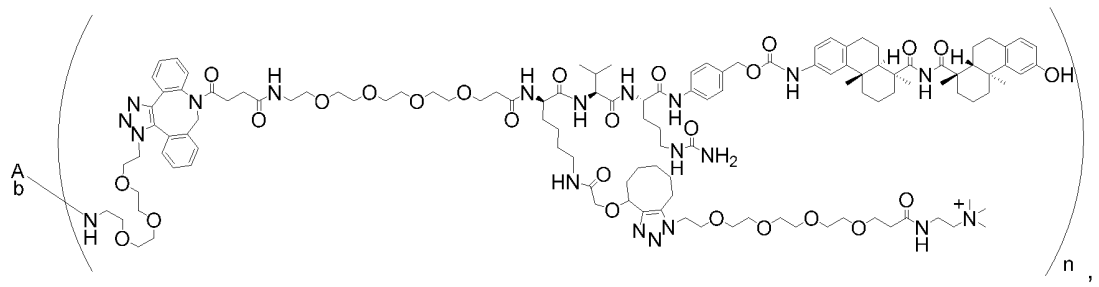




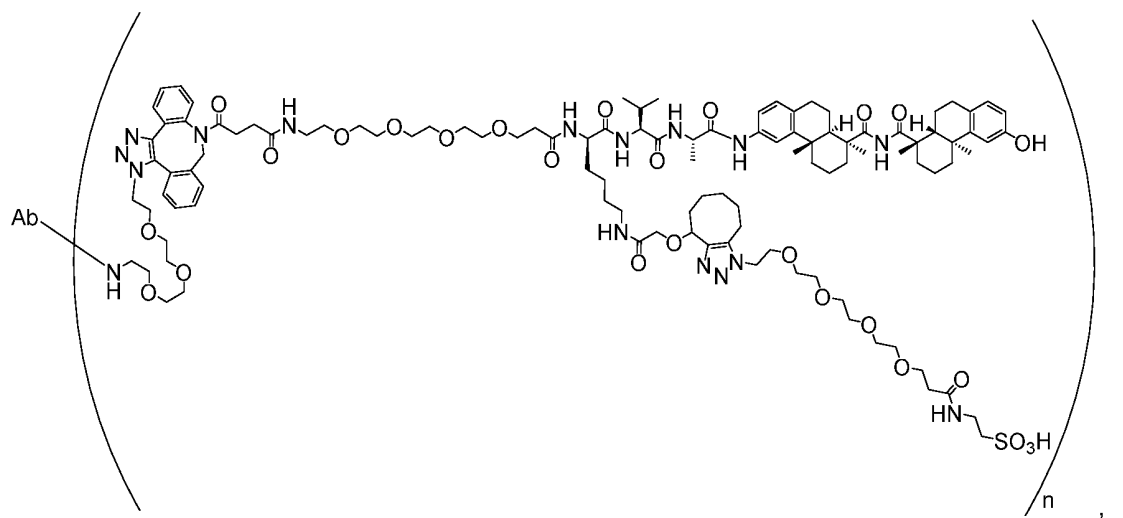
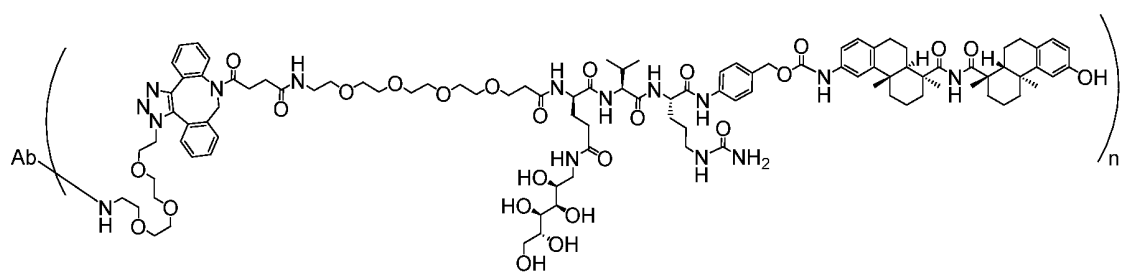
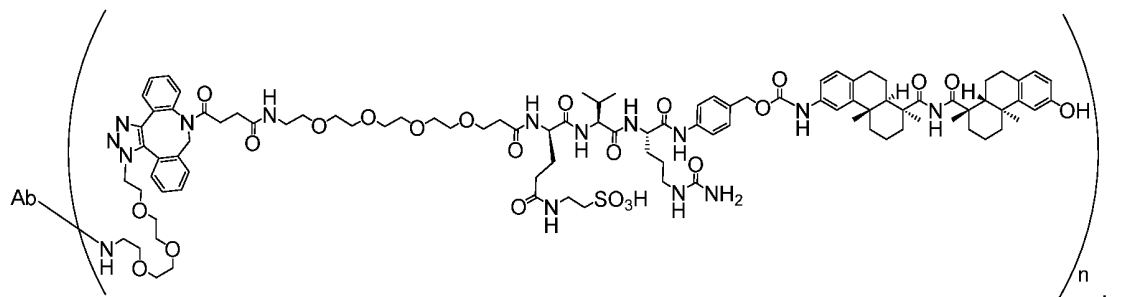
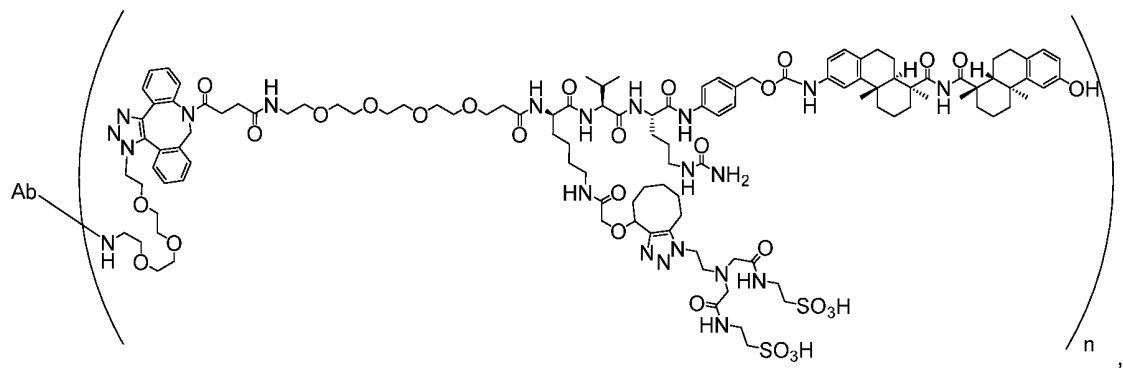


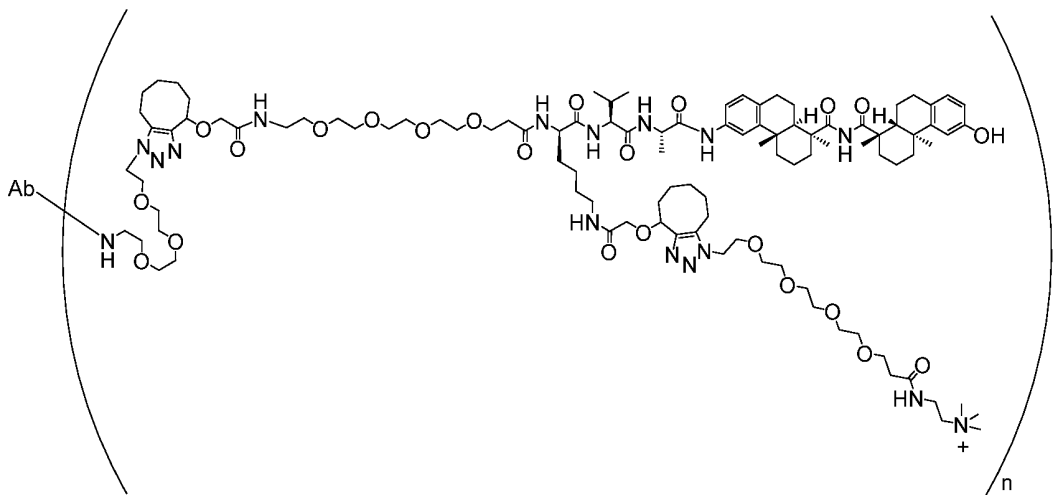
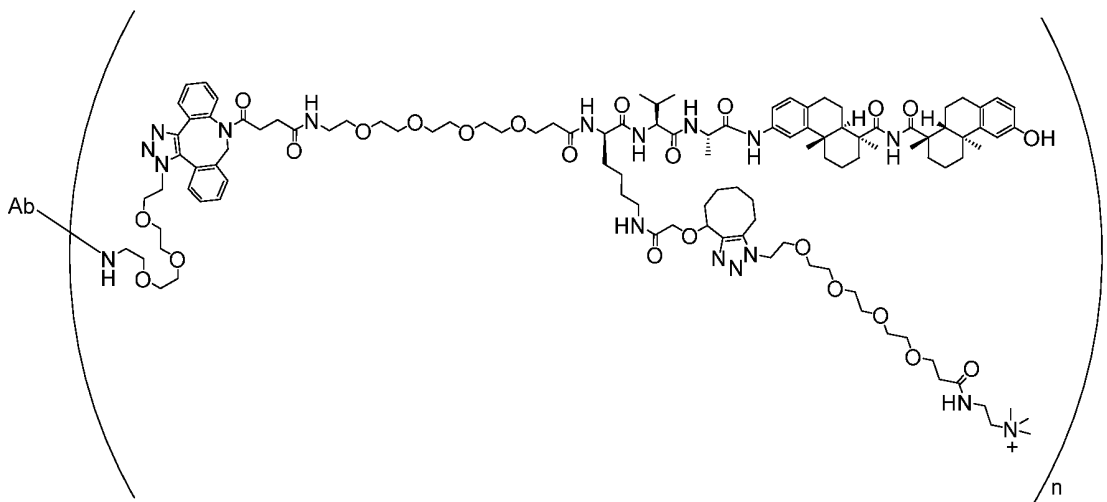
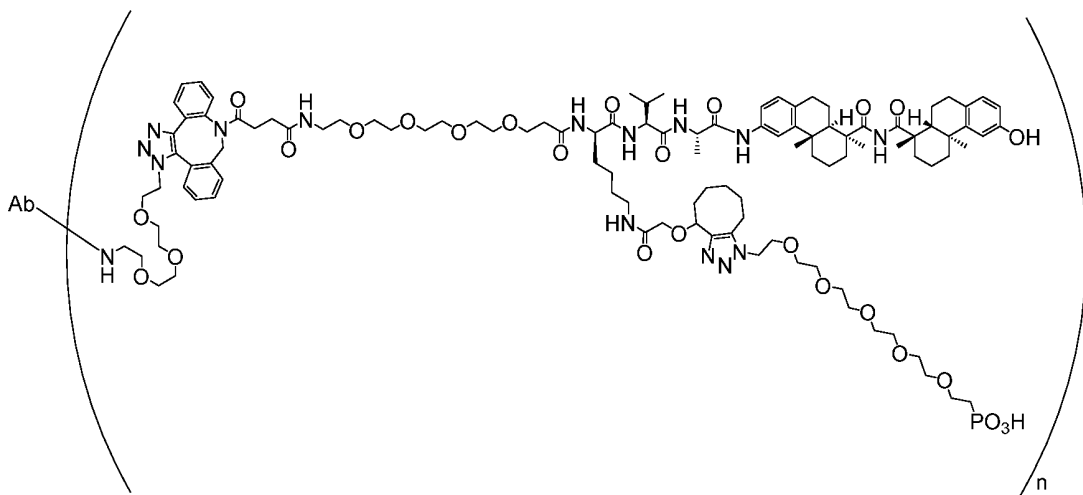


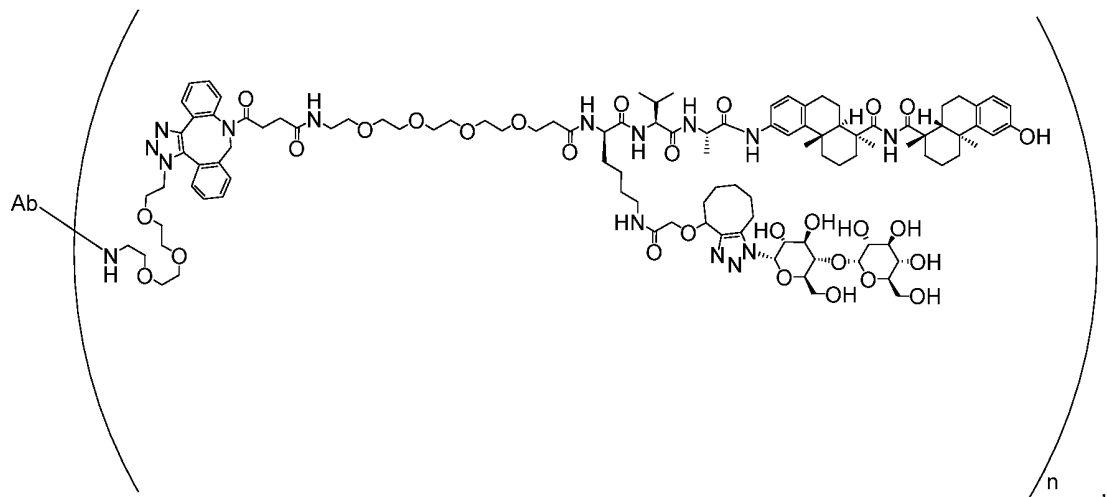
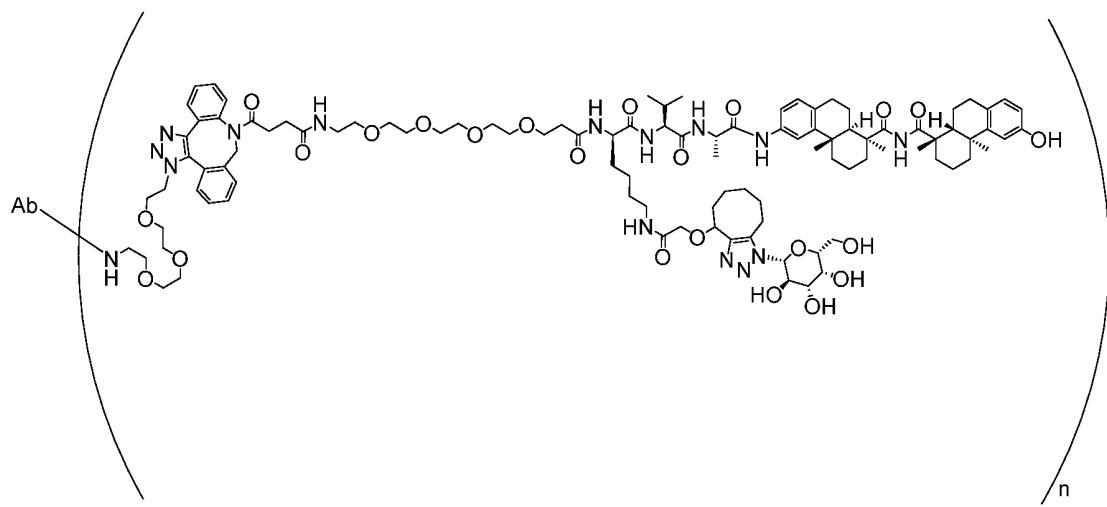
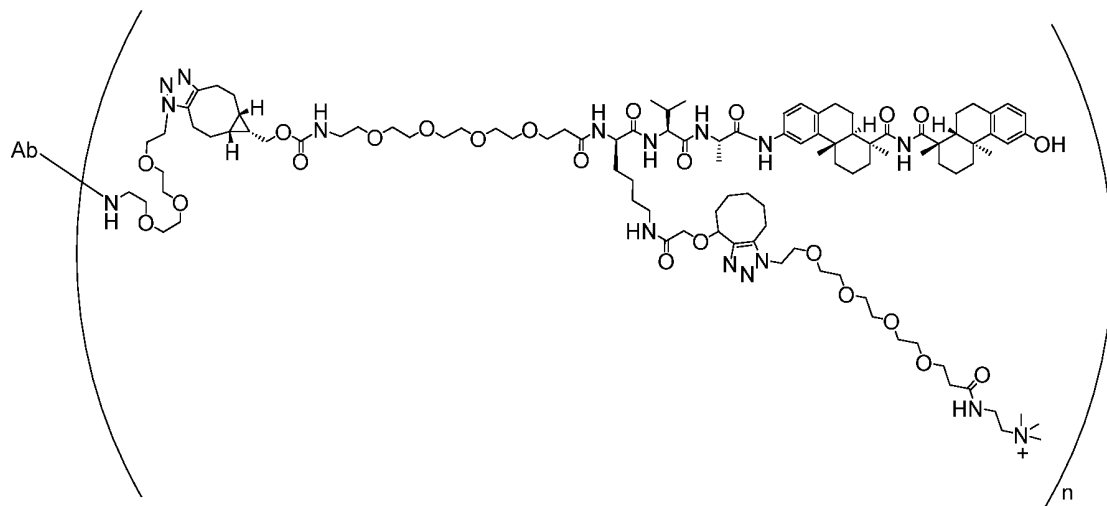


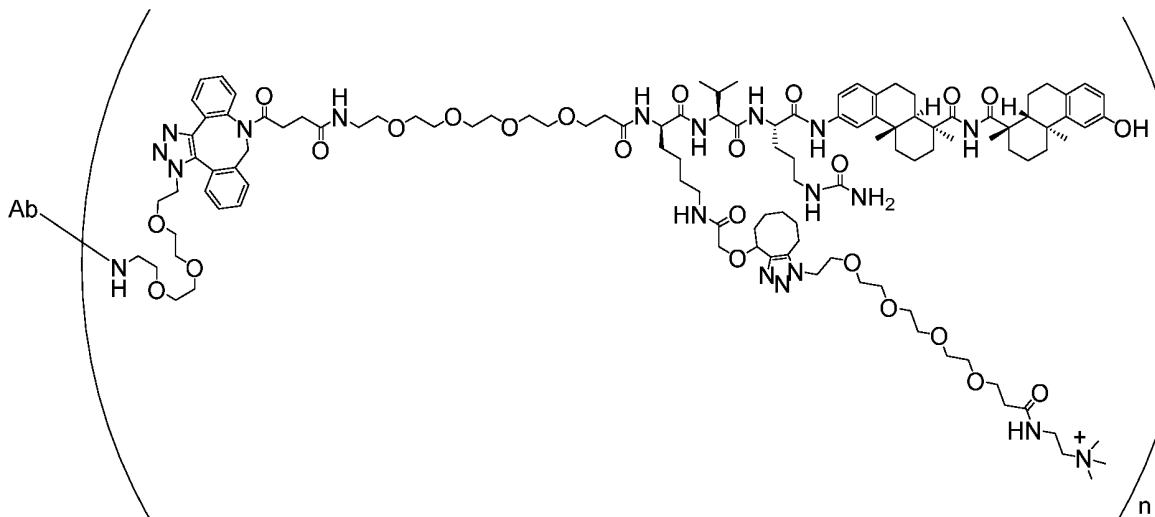
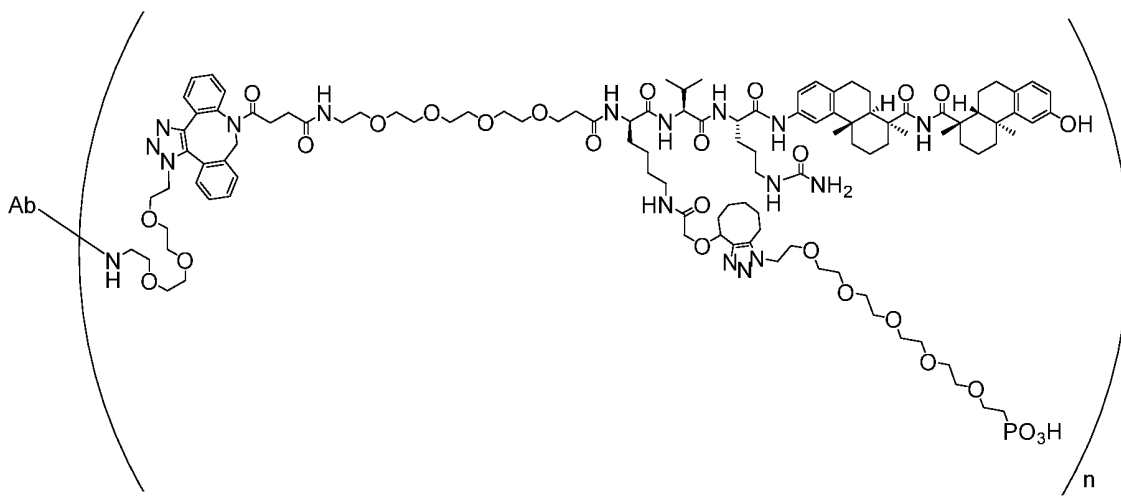
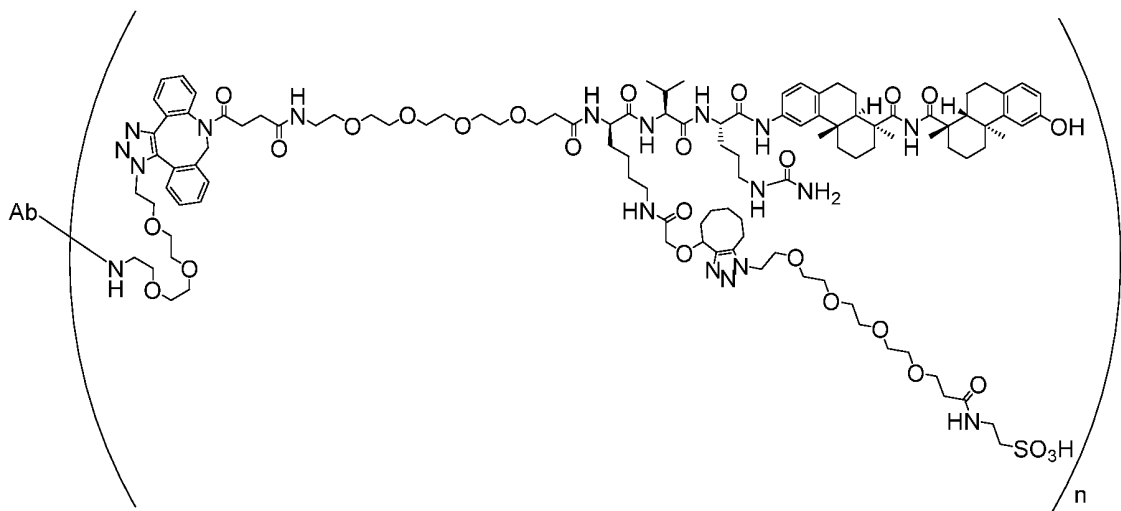


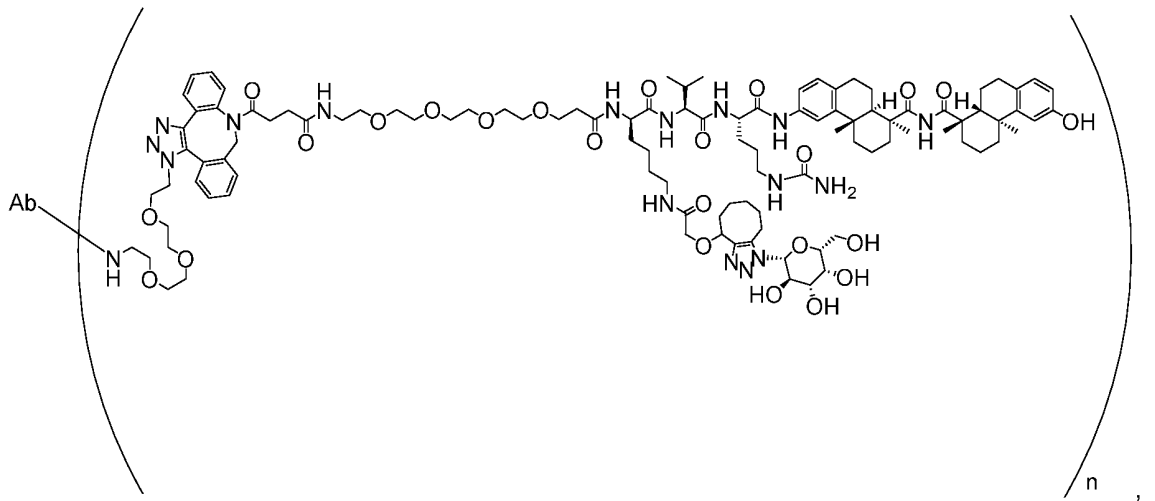
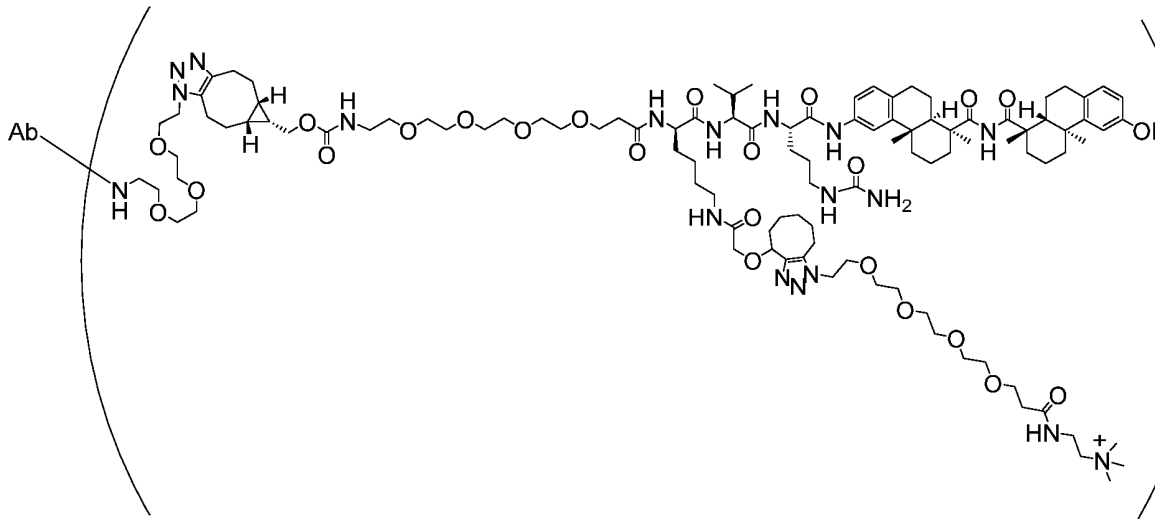
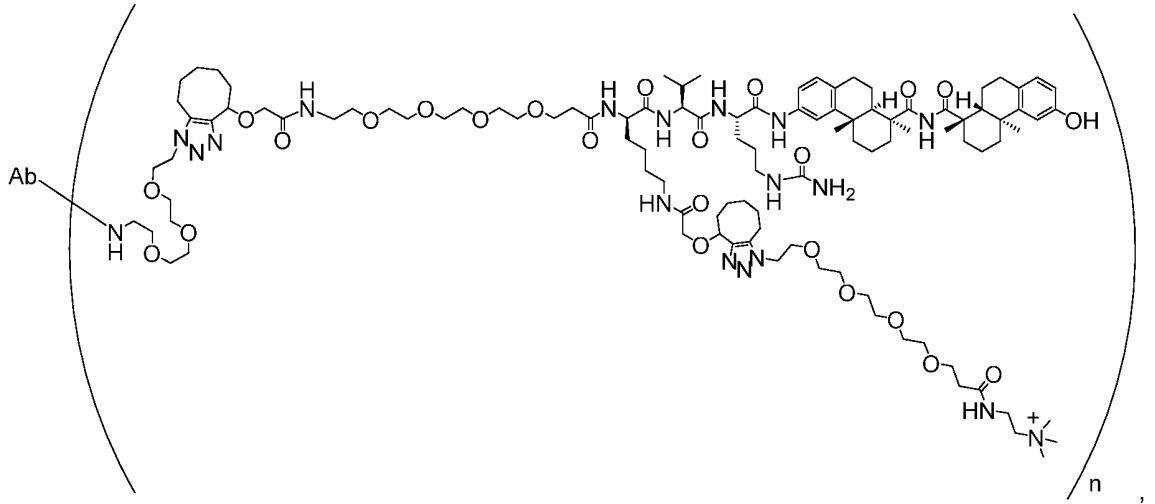


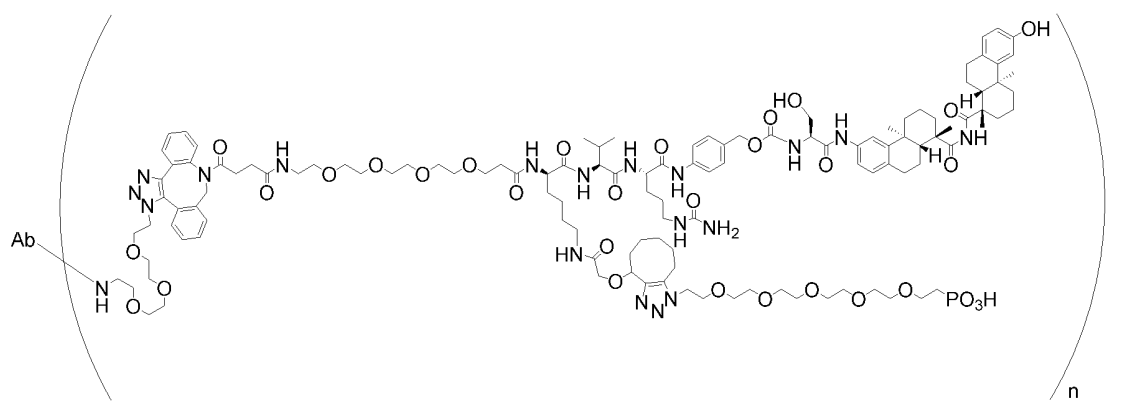
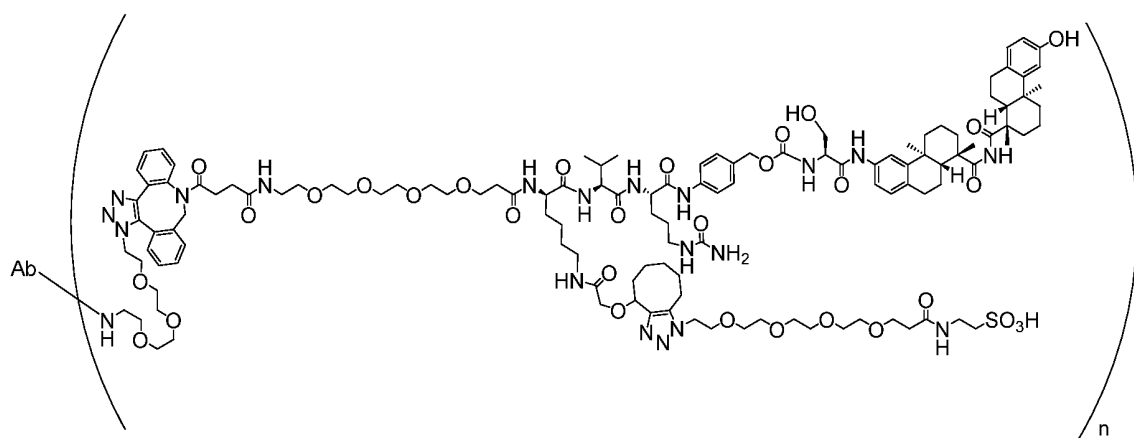
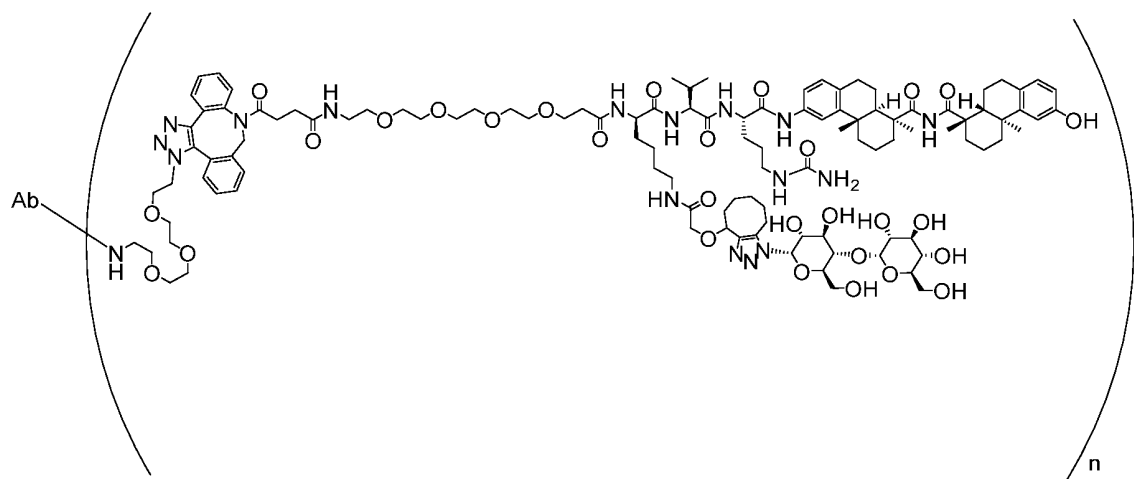


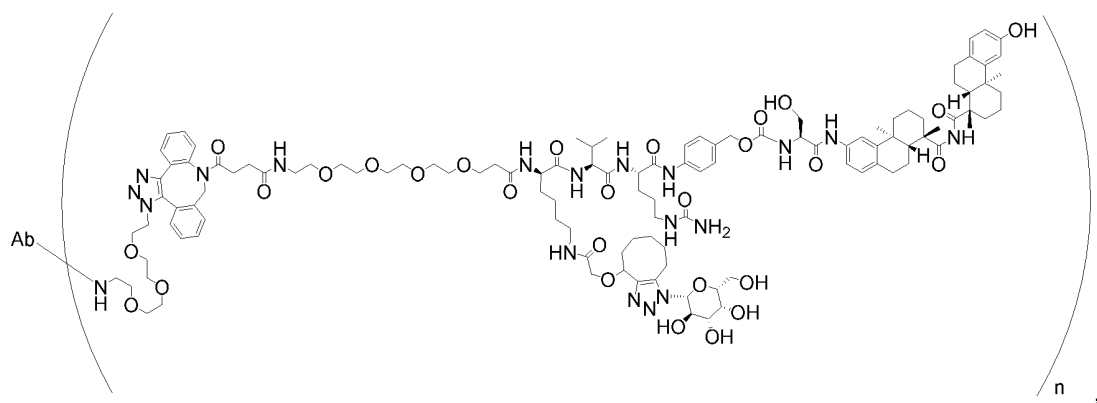
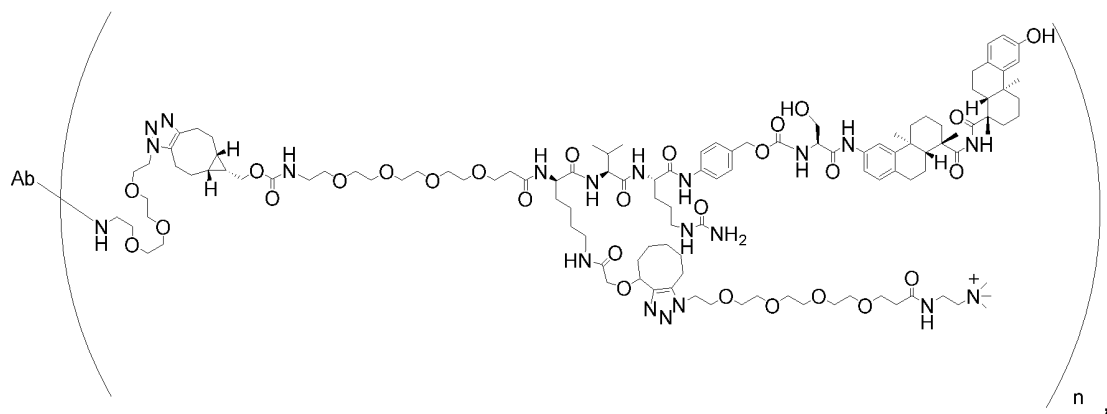
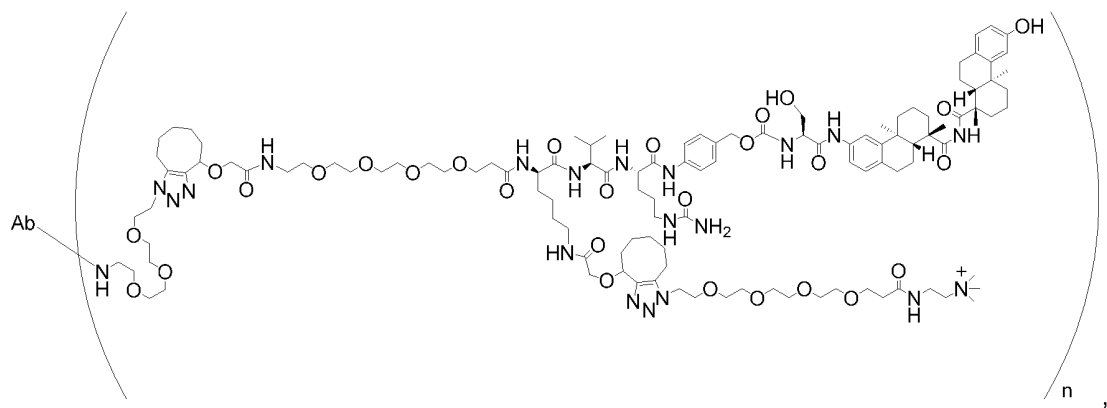
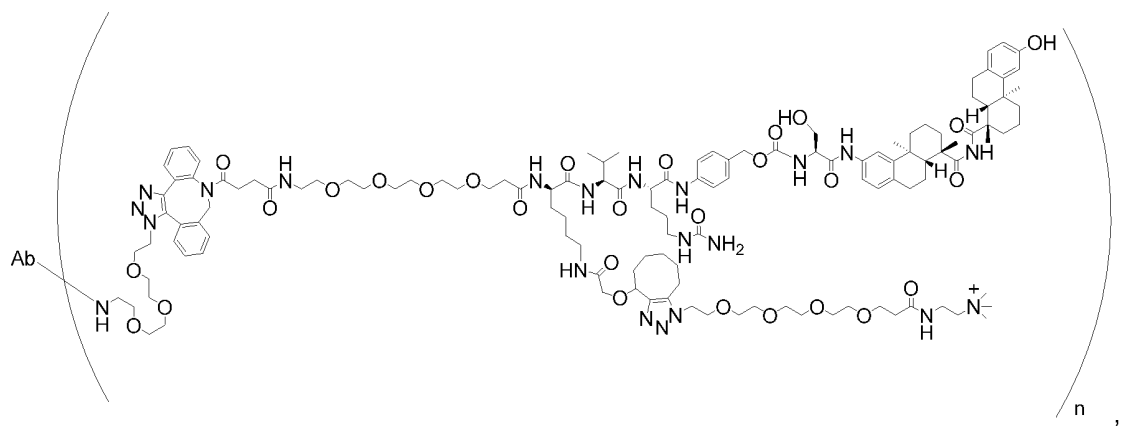


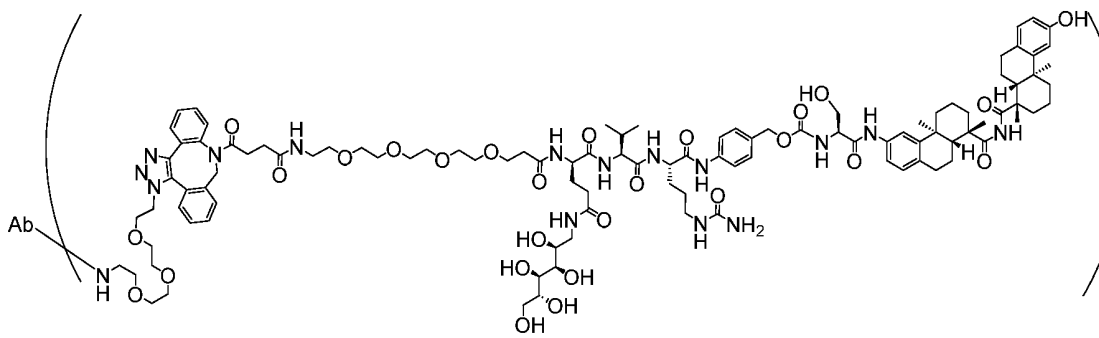
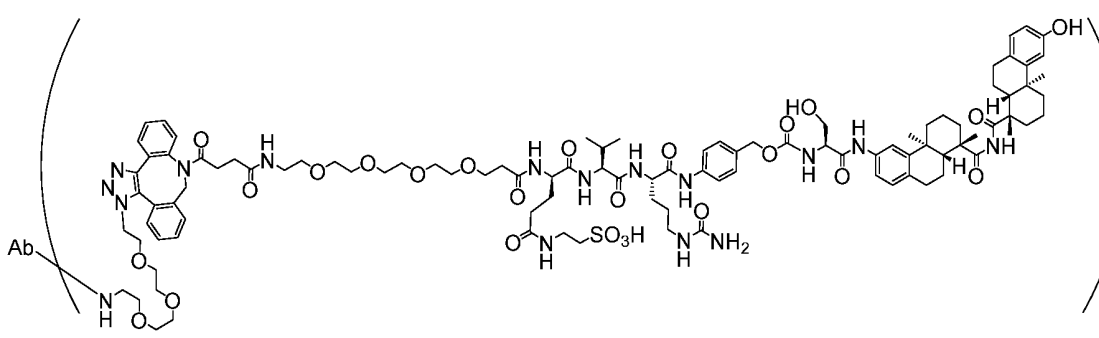
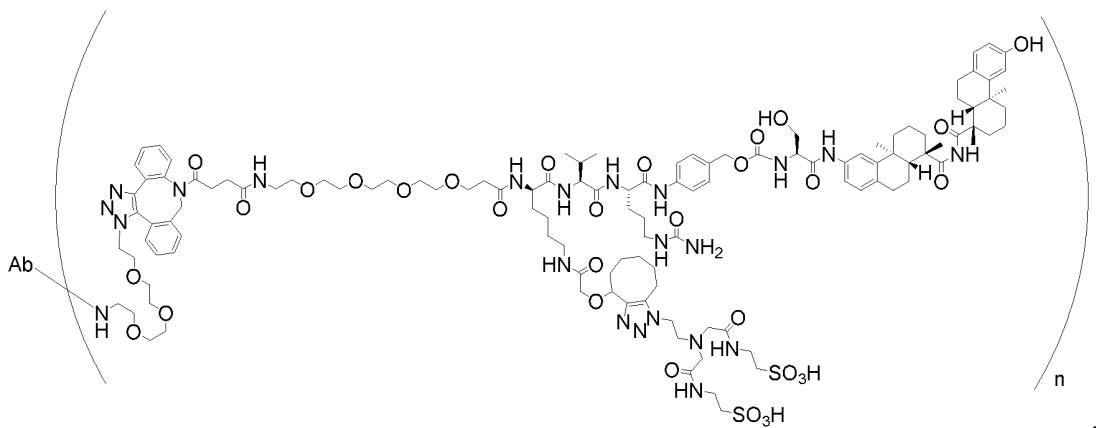
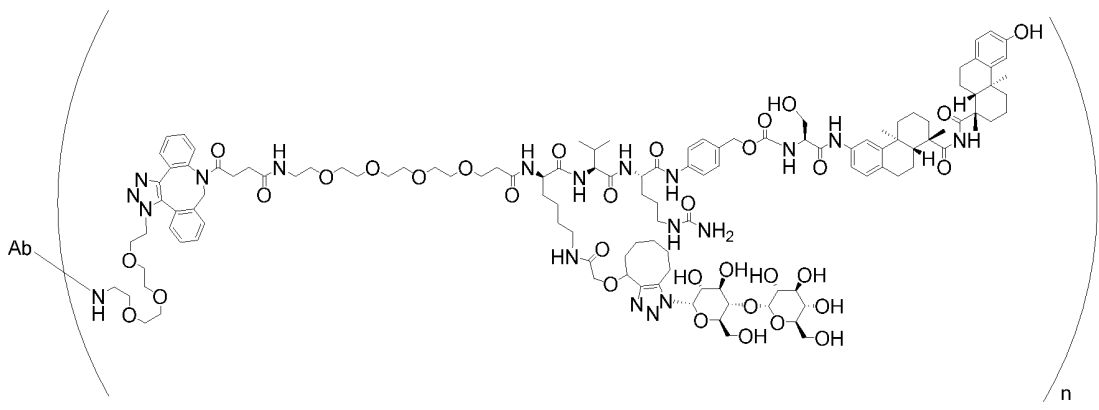




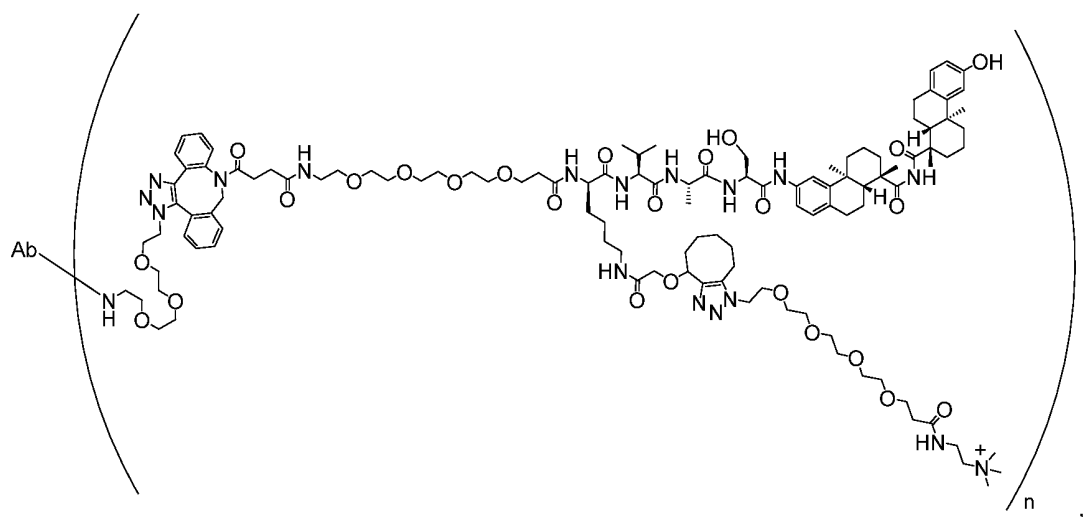
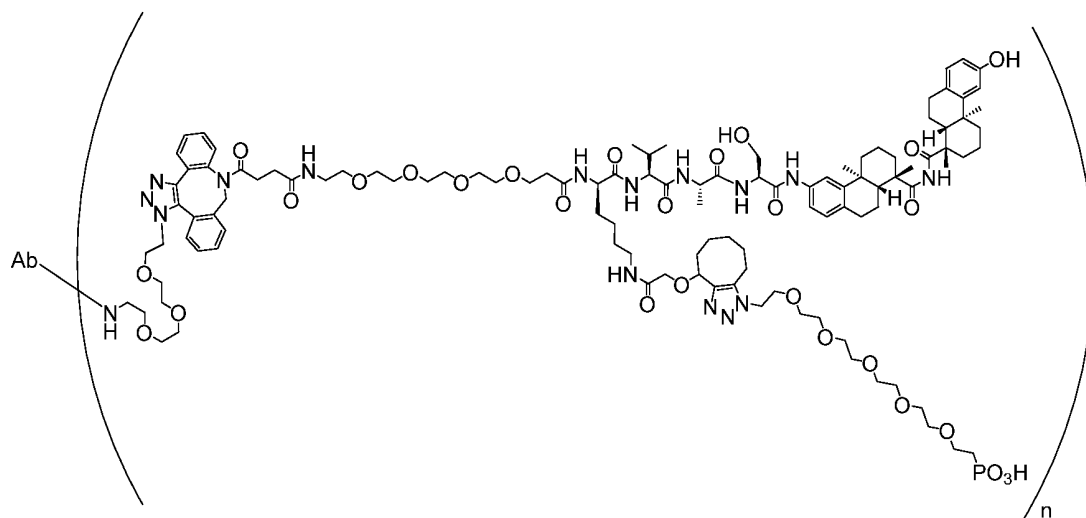
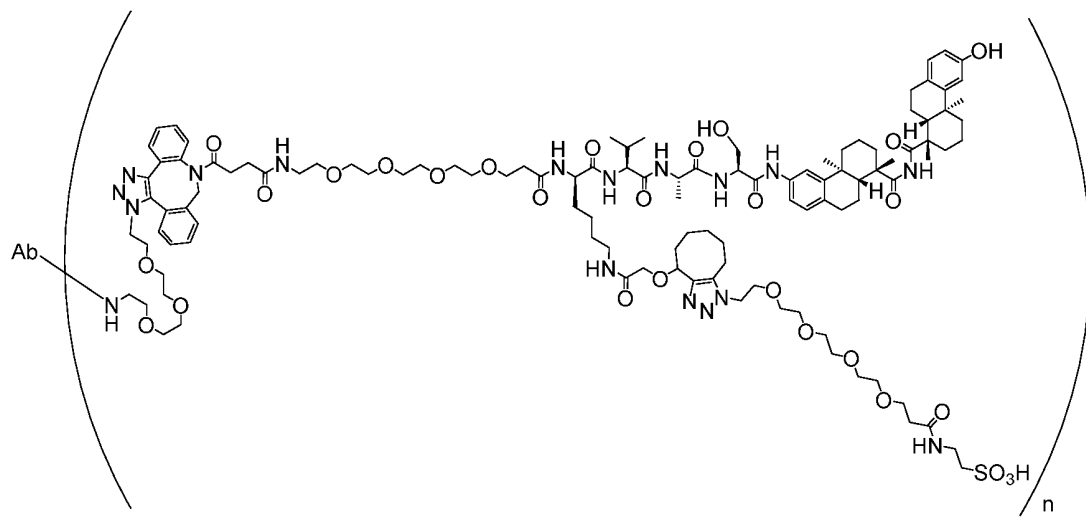


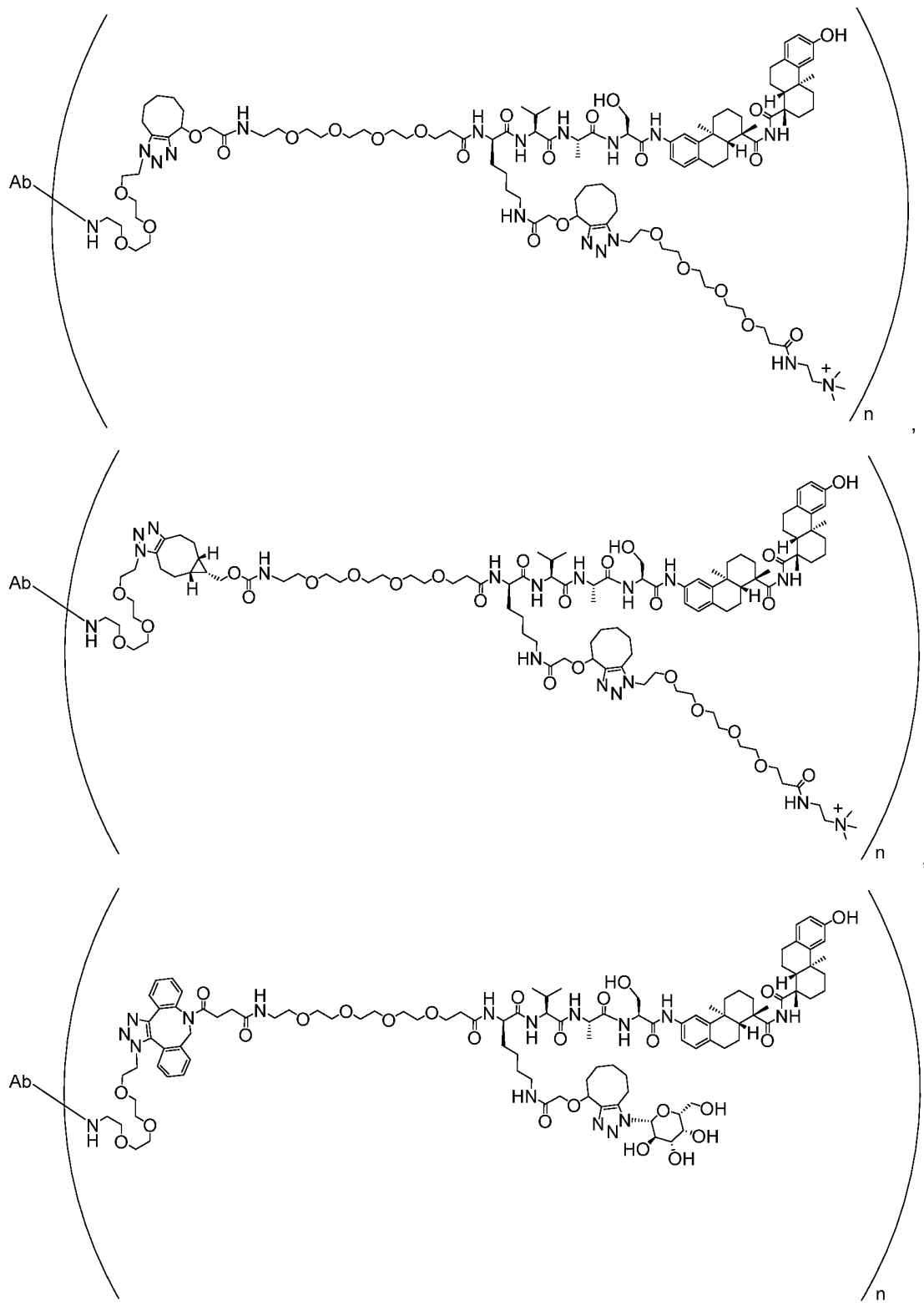


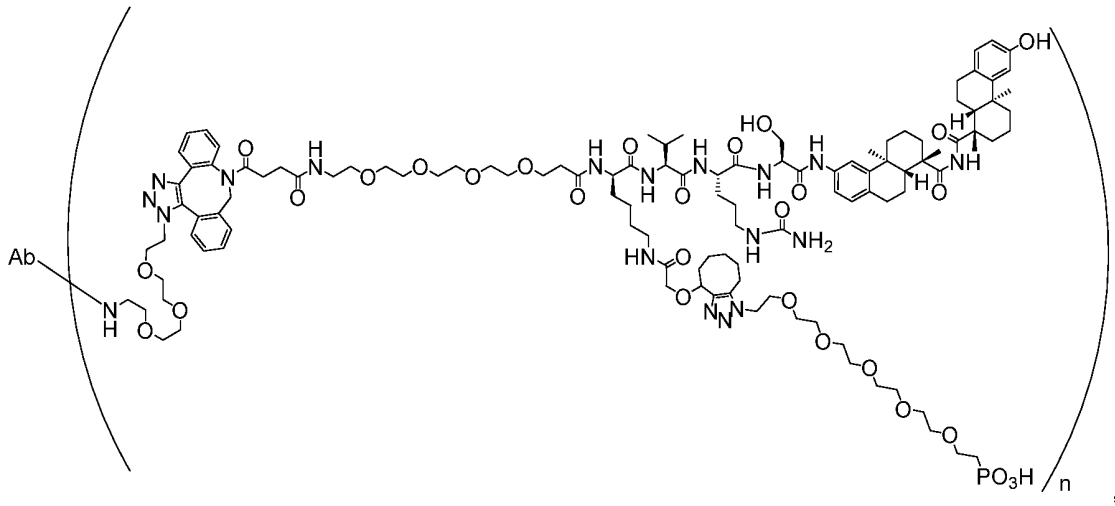
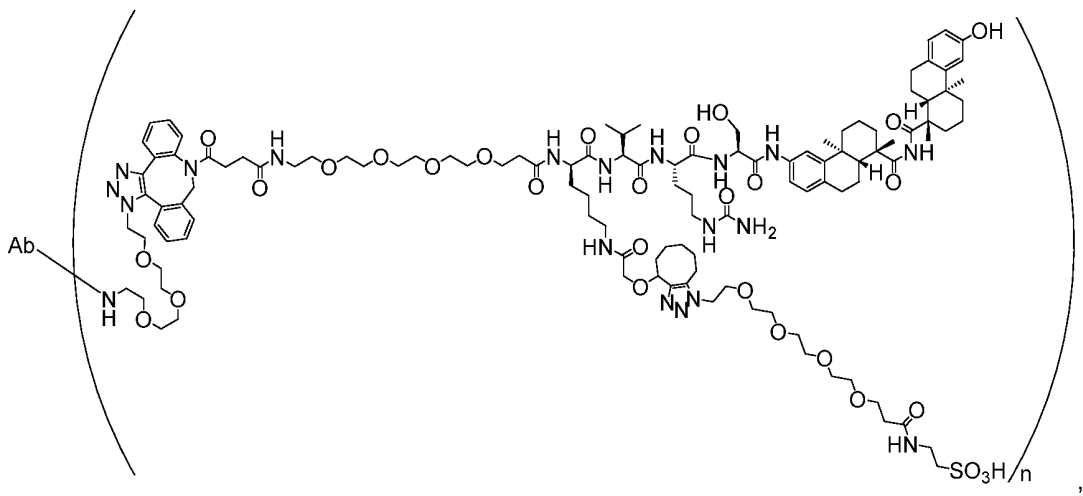
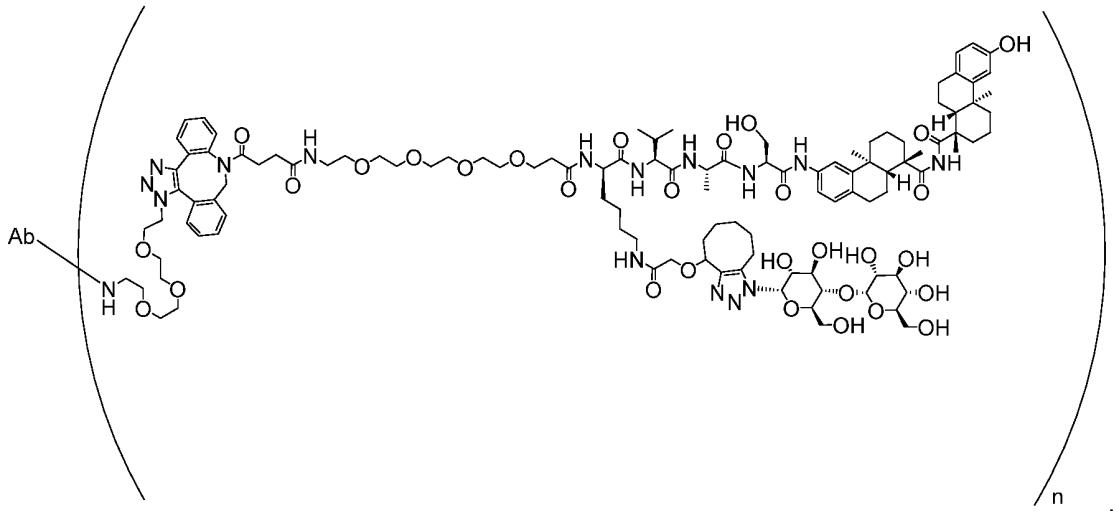


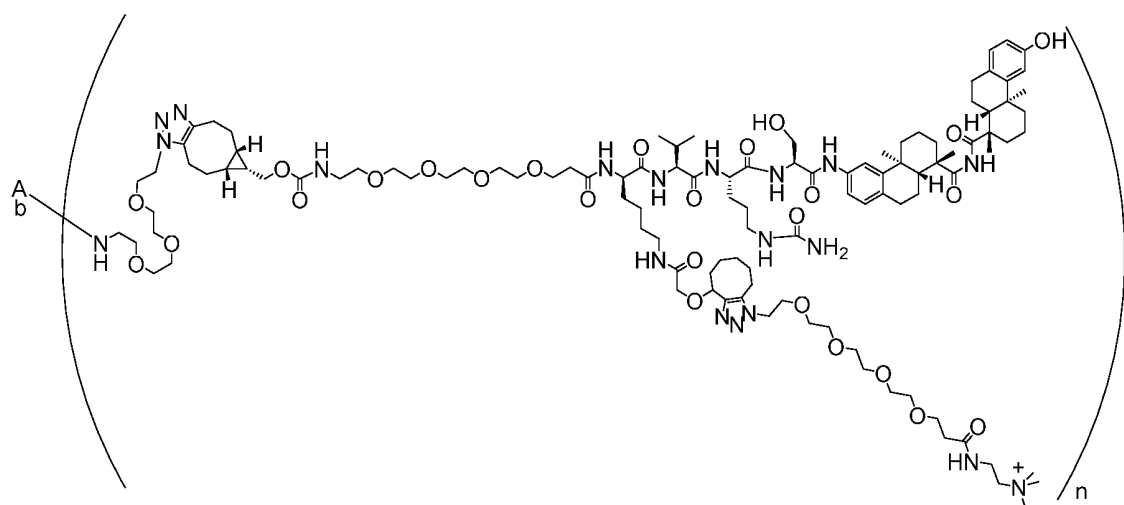
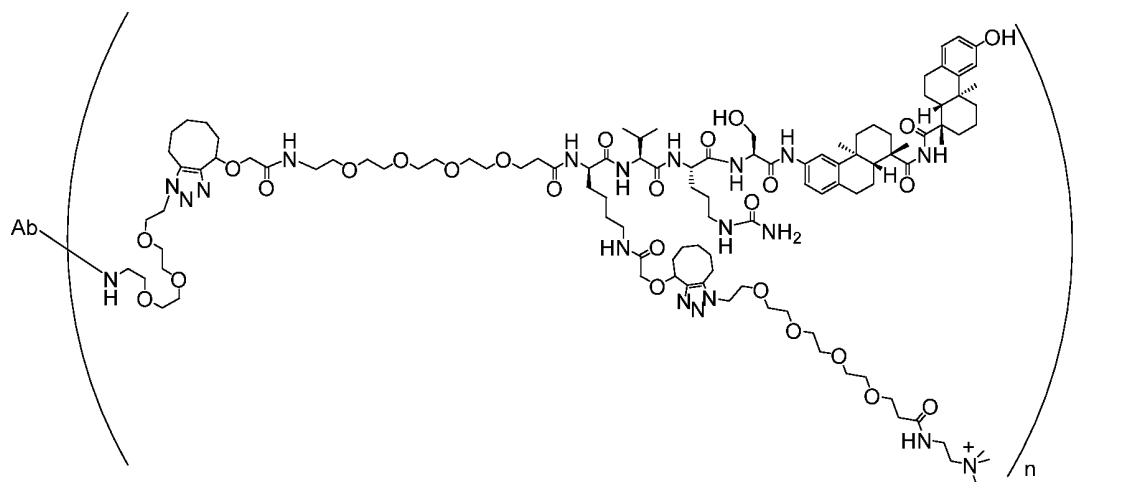
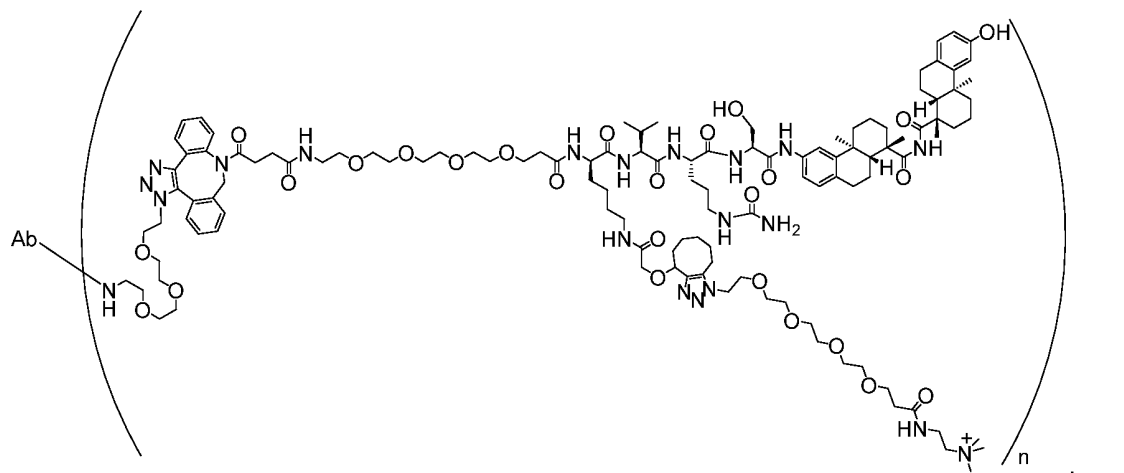


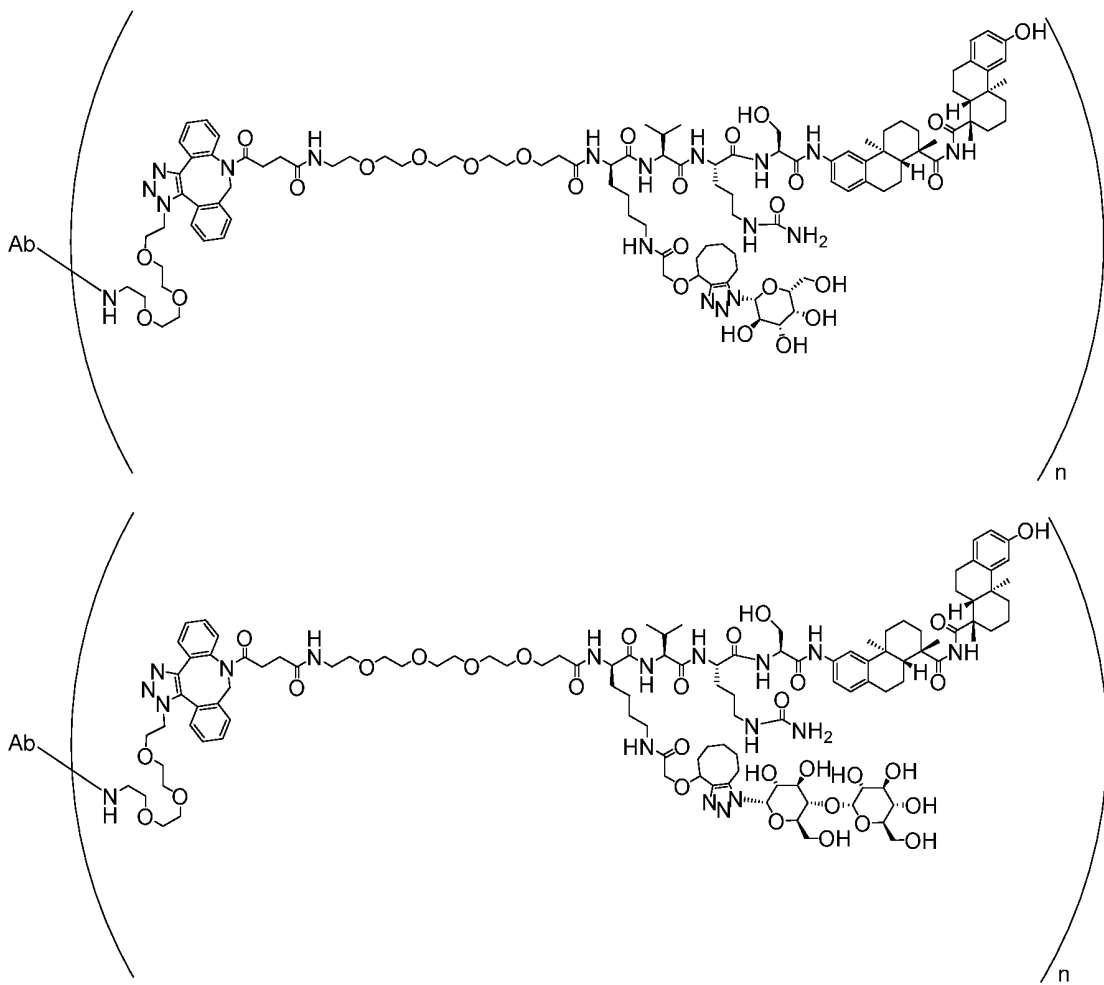












или его стереоизомерной формой, или его региоизмером, или смесью его региоизмеров, где каждый **Ab** является антителом, или его антиген-связывающим фрагментом, и подстрочный индекс **n** является целым числом от 1 до 30. В некоторых вариантах осуществления изобретения **n** является целым числом от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления изобретения **n** равен 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения **n** равен 4.

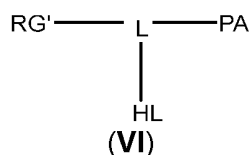
**[0147]** В изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), или ее фармацевтически приемлемая соль, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

**[0148]** В изобретении предложен также способ лечения заболевания или нарушения у нуждающегося в таком лечении пациента, заключающийся в введении пациенту соединения по любой из формулы (I), формулы (II), формулы (III), формулы (IV), формулы (IVa), формулы (IVb), формулы (IVc), формулы (Va),

формулы (Vb), формулы (Vc), или формулы (Vd), или композиции, содержащие соединение по формуле (I), Формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd).

[0149] Согласно другой особенности изобретения предложено соединение, содержащее реакционноспособный линкер соединенный, по меньшей мере, с одной полезной нагрузкой, и соединенный, по меньшей мере, с одним гидрофильным остатком через ковалентный линкер, где указанный ковалентный линкер связан прямо или опосредованно с реакционноспособным линкером, с полезной нагрузкой и с гидрофильным остатком.

[0150] В соответствии с другой особенностью изобретения предложено соединение по формуле (VI):



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,

где:

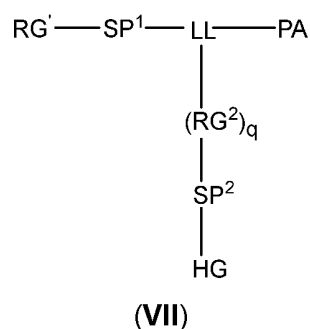
**RG'** представляет собой реакционноспособную группу;

**L** представляет собой трехвалентный линкер;

**HL** представляет собой гидрофильный остаток; и

**PA** представляет собой остаток полезной нагрузки.

[0151] В одном случае соединение по формуле (VI) имеет формулу (VII):



где:

**LL** представляет собой трехвалентный линкер;

**RG<sup>1</sup>** представляет собой реакционноспособную группу;

**RG<sup>2</sup>** представляет собой остаток реакционноспособной группы;

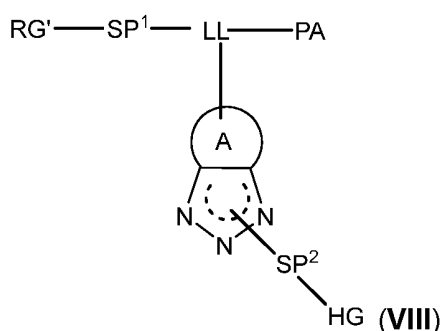
**SP<sup>1</sup>** и **SP<sup>2</sup>** независимо в каждом случае отсутствуют, или являются остатком спейсерной группы;

**HG** представляет собой гидрофильный остаток;

**PA** представляет собой остаток полезной нагрузки; и

подстрочный индекс **q** равен 0 или 1.

[0152] В одном случае соединение по формуле (VII) имеет формулу (VIII):

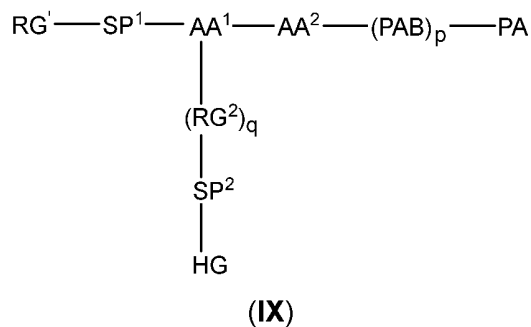


где

кольцо **A** конденсировано с триазолом и выбрано из группы, включающей циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкил, и гетероциклоалкенил;

где циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкил, и гетероциклоалкенил необязательно замещены алкилом, -ОН, или  $-NR^aR^b$ , где  $R^a$  и  $R^b$  по отдельности представляют собой алкил или -H.

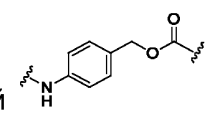

[0153] В другом случае соединение по формуле (VII) имеет формулу (IX):



где:

**AA<sup>1</sup>** - трехвалентный линкер содержащий аминокислотный остаток;

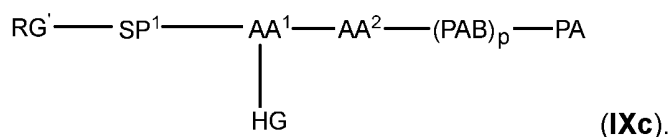
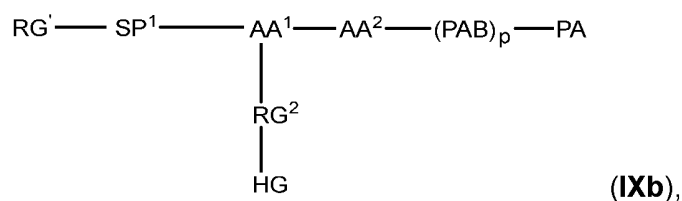
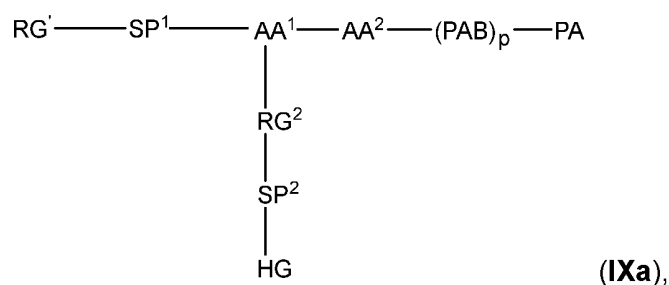
**AA<sup>2</sup>** является остатком дипептида, трипептида или тетрапептида; и

**PAB** представляет собой , где  указывает на атом, через который PAB соединен с соседними группами в формуле;

подстрочный индекс **p** равен 0 или 1; и

подстрочный индекс **q** равен 0 или 1.

[0154] В определенных случаях соединение по формуле (IX) имеет формулу (IX), соответствующую формуле (IXa), формуле (IXb) или формуле (IXc):



[0155] **AA<sup>1</sup>** представляет собой трехвалентный линкер, содержащий аминокислотный остаток, и прямо или опосредованно соединен с антителом, с полезной нагрузкой и с гидрофильной группой. В некоторых примерах любой линкер **AA<sup>1</sup>** или **AA<sup>2</sup>** содержит, независимо в каждом случае, аминокислоту, которую выбирают из группы, включающей аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, или ее производное, или их комбинацию. В


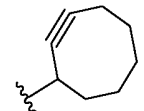


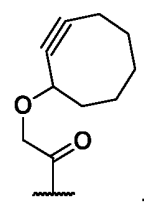
определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** является аминокислотой, которую выбирают из группы, включающей аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, или ее производное, или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** является аминокислотой с тремя функциональными группами для соединения с полезной нагрузкой, со связующим агентом (например, антителом или его антиген-связывающим фрагментом), и с линкером, содержащим гидрофильную группу, например, лизин, аспарагин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, глутамин, цистеин, треонин, серин, или тирозин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - глутамин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** представляет собой лизин или производное лизина. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - L-лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** - D-лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** является глутаминовой кислотой. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** -аспарагиновая кислота. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой глицин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** представляет собой глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** представляет собой лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** представляет собой лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** представляет собой глутамин-валин-аланин.

[0156] В определенных случаях соединение по формуле (**IXa**), формуле (**IXb**) или формуле (**IXc**) имеет формулу (**Xa**), (**Xb**), (**Xc**) или (**Xd**):



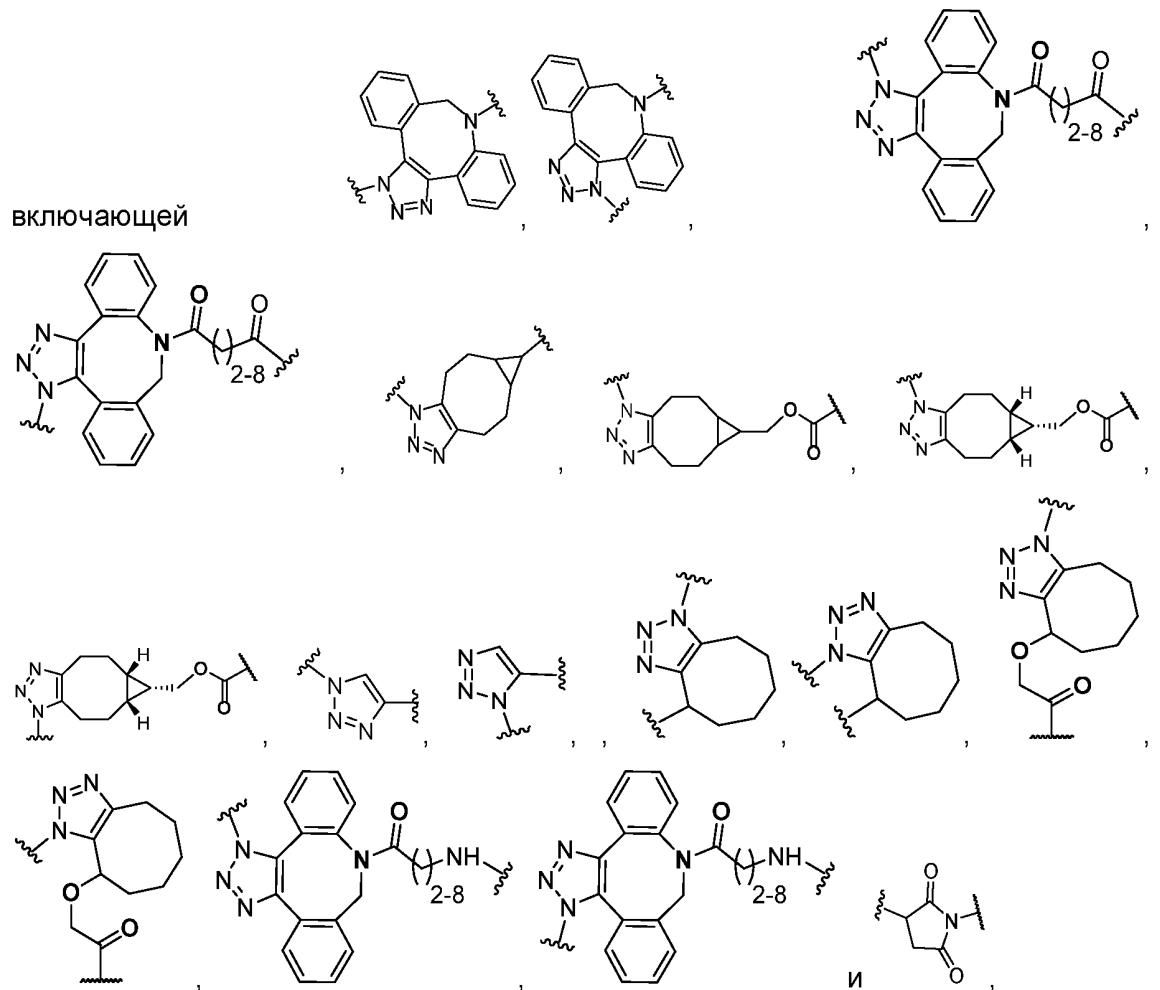


 . В некоторых случаях **RG'** представляет собой  . В некоторых

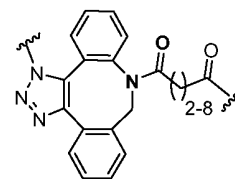
случаях **RG'** - это  . В некоторых случаях **RG'** представляет собой

 . В некоторых случаях **RG'** представляет собой  .

[0158] В некоторых случаях **RG<sup>2</sup>** в каждом случае независимо выбирают из группы,



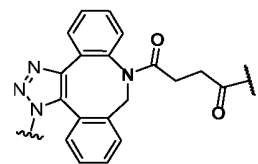
где  указывает на атом, через который  $RG^2$  соединен с соседними группами в формуле.



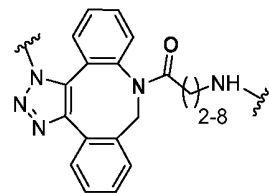
[0159] В определенных вариантах осуществления изобретения

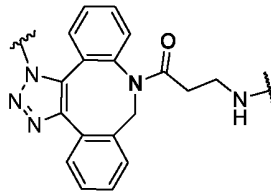
представляет собой  . В определенных вариантах

осуществления изобретения  представляет собой

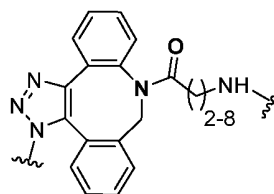


. В определенных вариантах осуществления изобретения

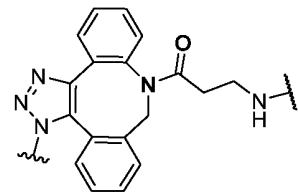


представляет собой  . В некоторых

вариантах осуществления изобретения

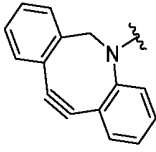
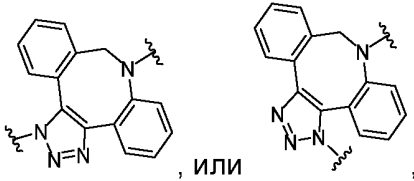
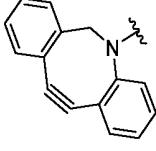
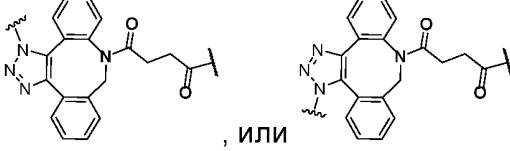
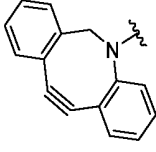
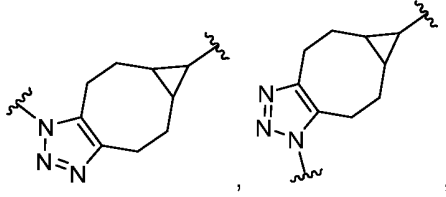
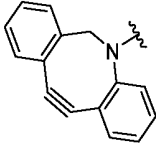
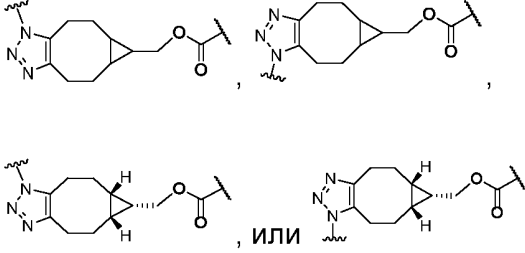
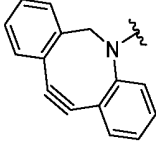
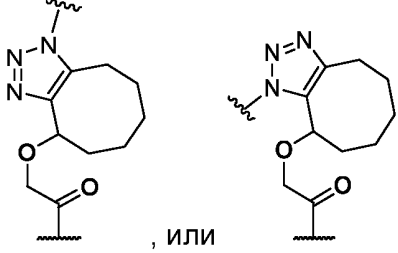
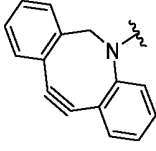
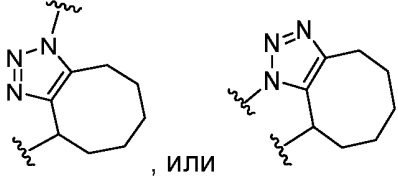
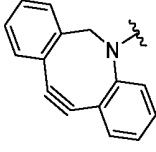
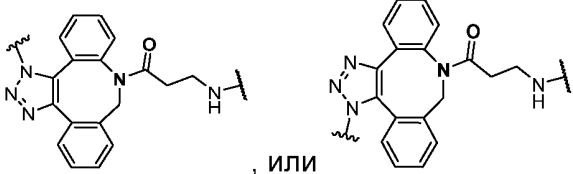


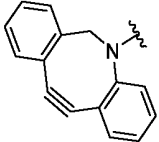
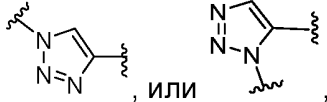
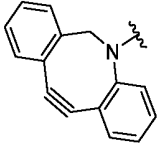
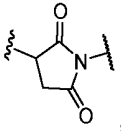
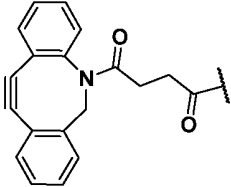
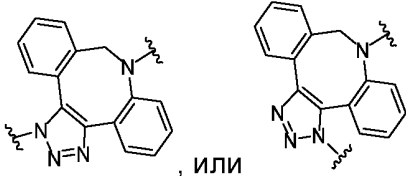
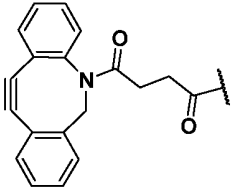
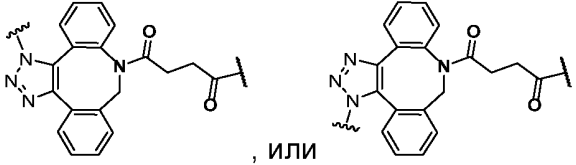
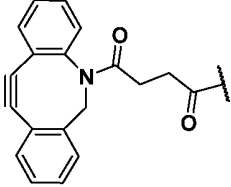
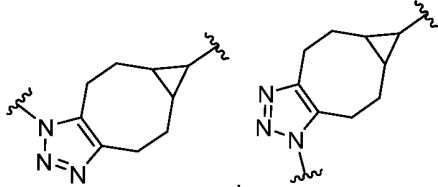
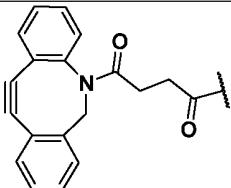
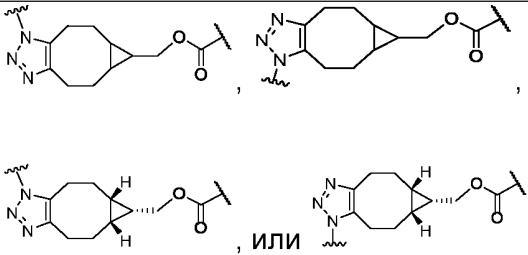
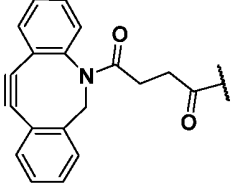
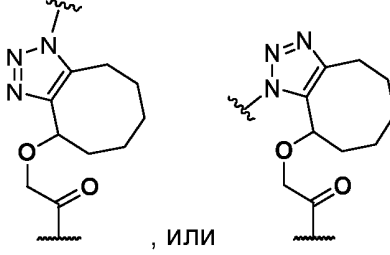
представляет собой

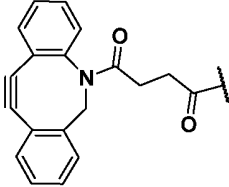
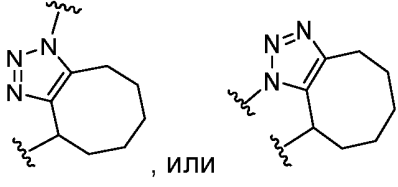
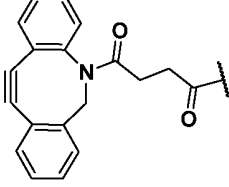
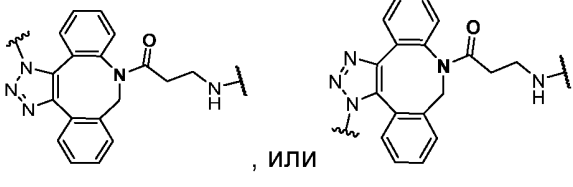
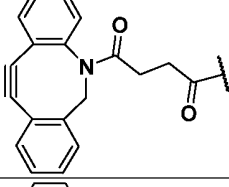
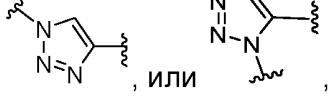
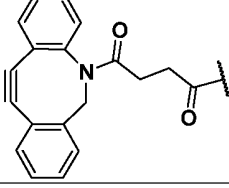
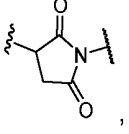
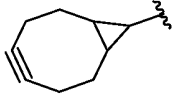
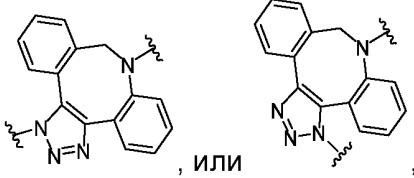
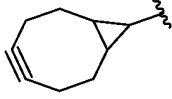
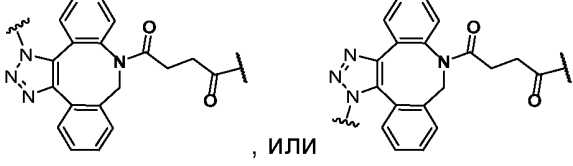
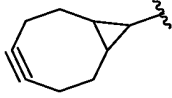
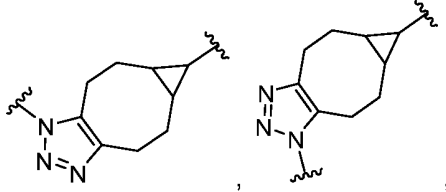
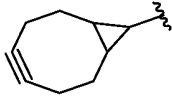
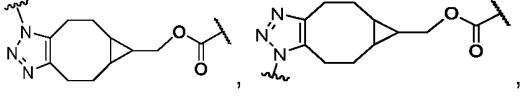


[0160] В определенных случаях  $RG^1$  и  $RG^2$  в каждом случае независимо принимают значения, показанные в Таблице R'.

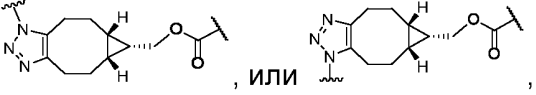
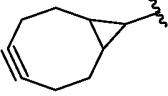
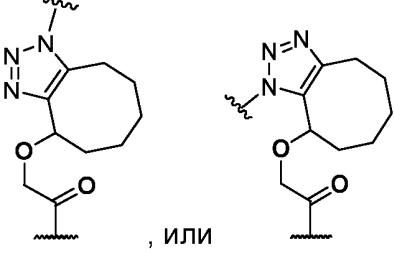
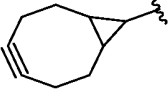
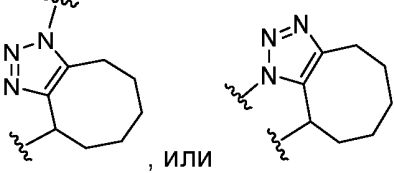
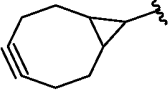
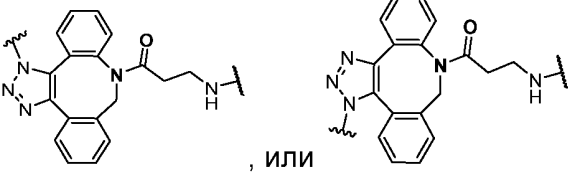
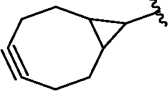
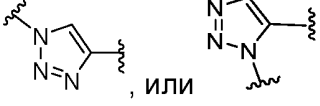
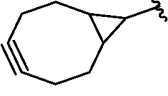
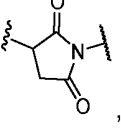
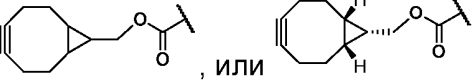
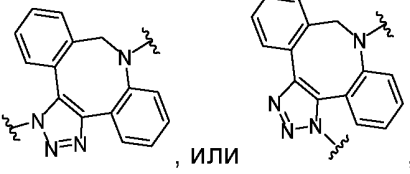
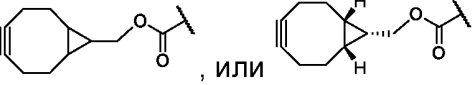
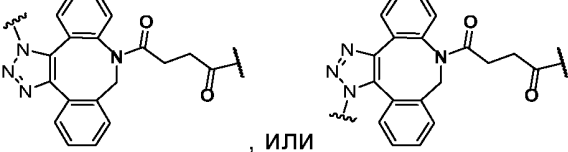
Таблица R'

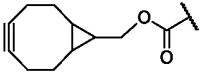
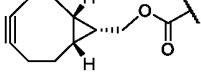
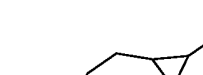
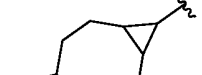
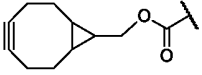
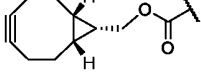
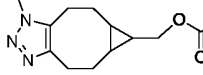
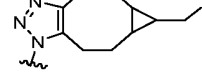
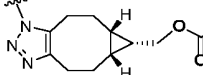
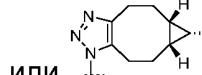
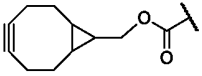
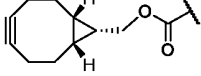
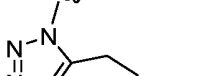
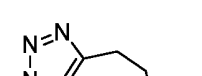
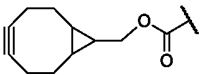
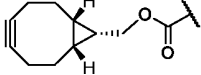
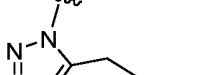
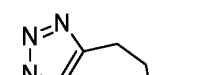
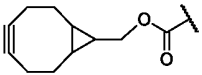
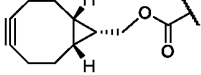
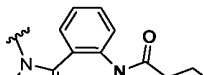
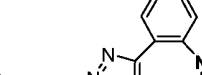
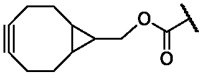
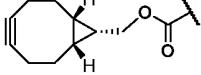
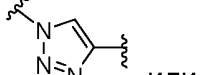
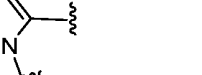
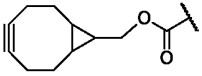
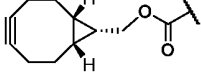
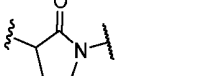
RG'	RG <sup>2</sup>
	 <p>, ИЛИ ,</p>
	 <p>, ИЛИ ,</p>
	 <p>, ,</p>
	 <p>, ИЛИ ,</p>
	 <p>, ИЛИ ,</p>
	 <p>, ИЛИ ,</p>
	 <p>, ИЛИ ,</p>


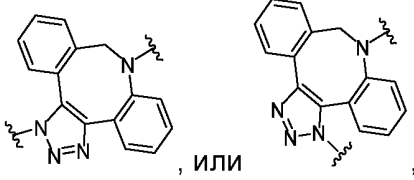

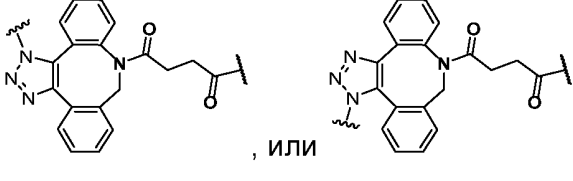

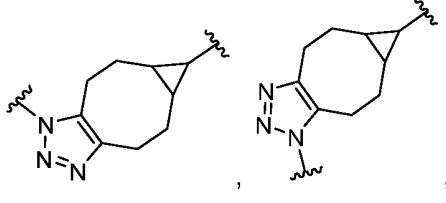

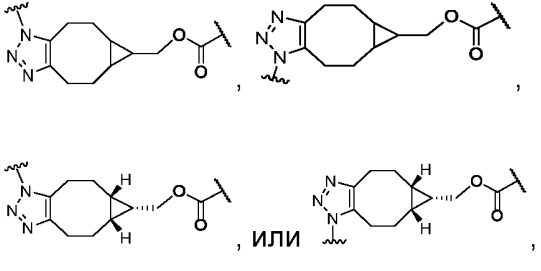

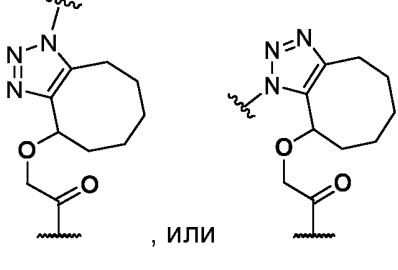

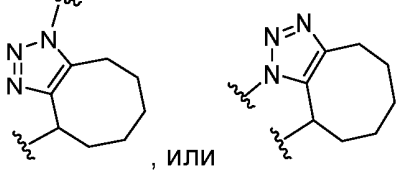

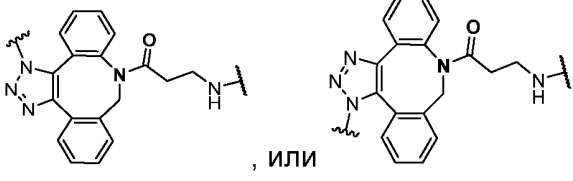
RG'	RG <sup>2</sup>
	
	
	
	
	
	
	


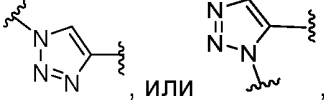

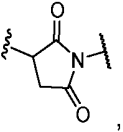
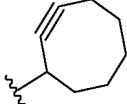
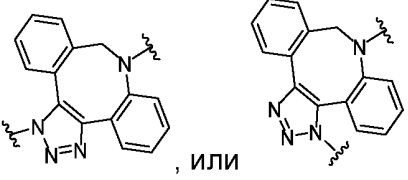
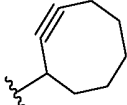
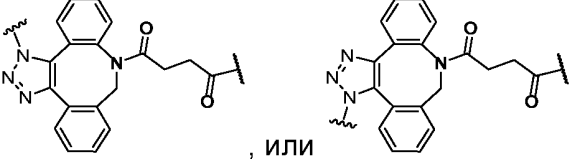
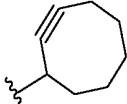
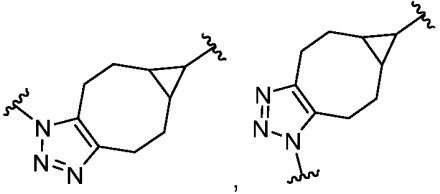
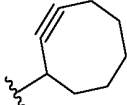
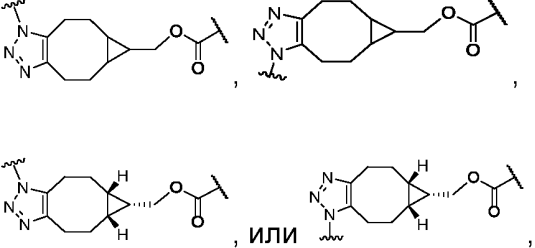
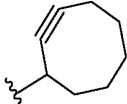
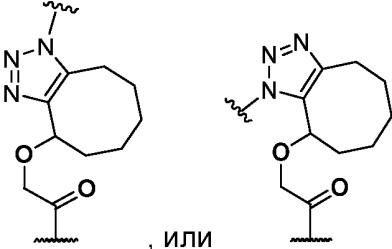
RG'	RG <sup>2</sup>
	
	
	
	
	
	
	
	

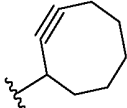
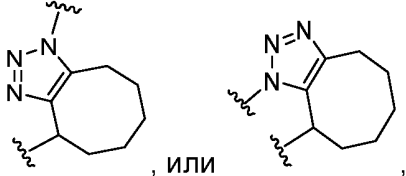
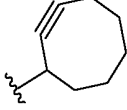
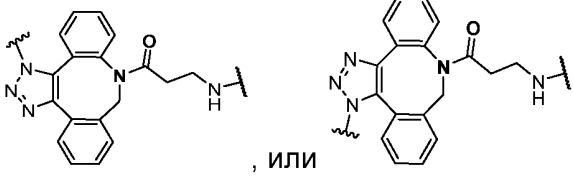
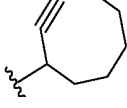
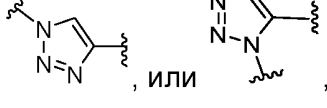
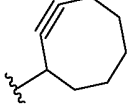
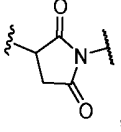
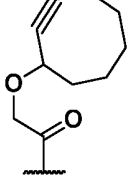
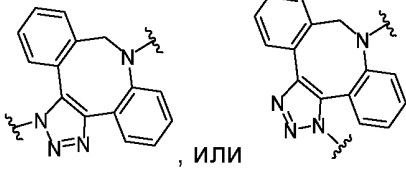
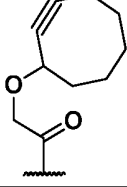
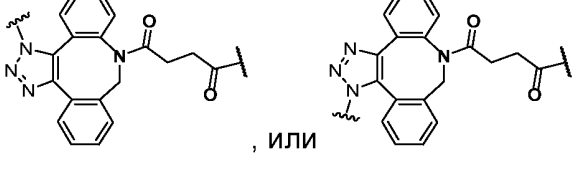
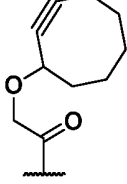
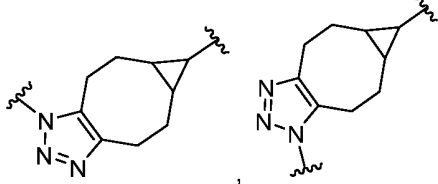
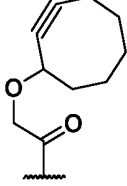
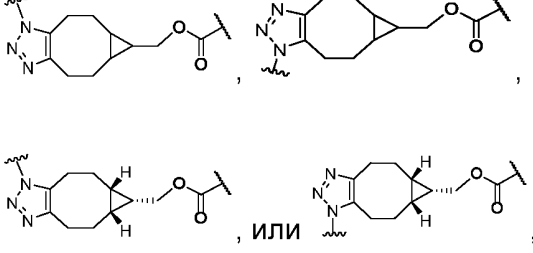


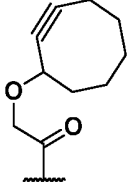
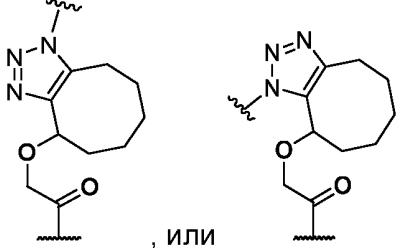
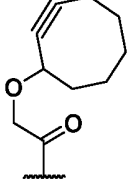
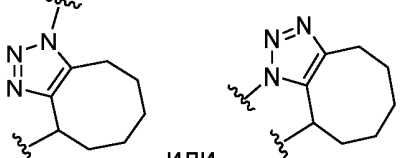
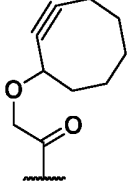
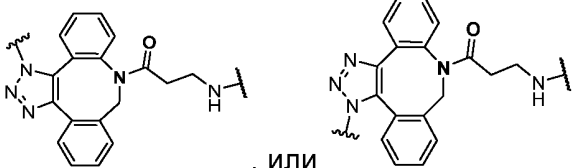
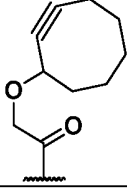
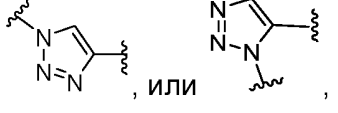
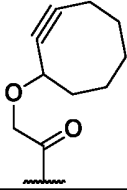
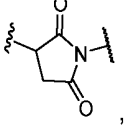
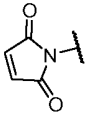
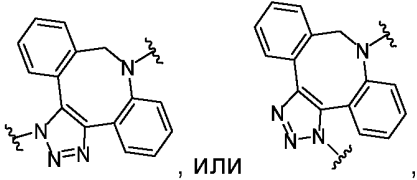
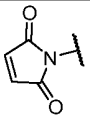
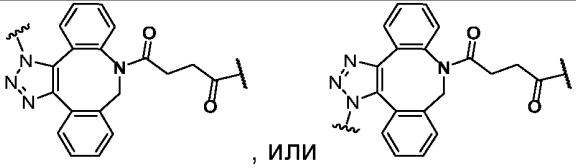
RG'	RG <sup>2</sup>
	 , ИЛИ ,
	 , ИЛИ
	 , ИЛИ ,
	 , ИЛИ
	 , ИЛИ ,
	 ,
 , ИЛИ	 , ИЛИ ,
 , ИЛИ	 , ИЛИ ,

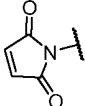
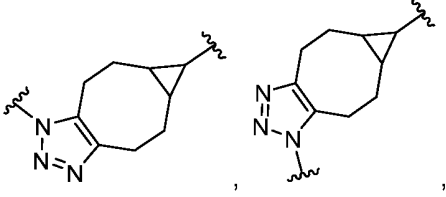
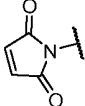
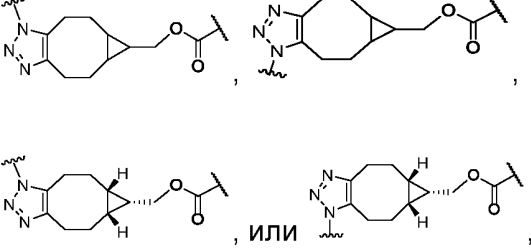
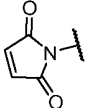
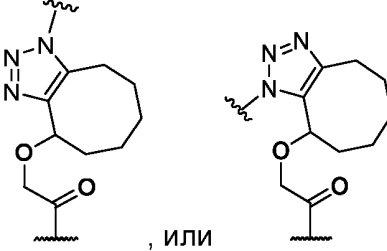
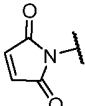
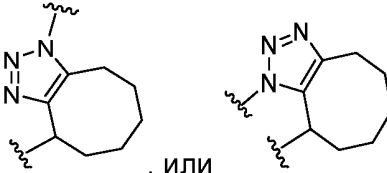
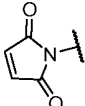
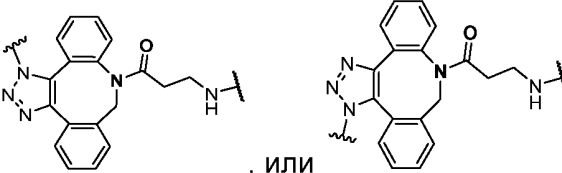
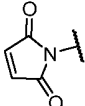
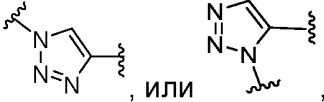
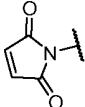
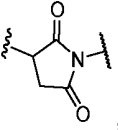
RG'	RG <sup>2</sup>
 , или 	 , 
 , или 	 ,  ,  , или 
 , или 	 , или 
 , или 	 , или 
 , или 	 , или 
 , или 	 , или 
 , или 	

RG'	RG <sup>2</sup>
	
	
	
	
	
	
	

RG'	RG <sup>2</sup>
	
	
	
	
	
	
	

RG'	RG <sup>2</sup>
	
	
	
	
	
	
	
	

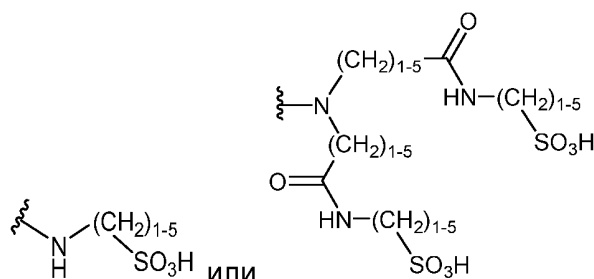
RG'	RG <sup>2</sup>
	 <p style="text-align: center;">, ИЛИ</p>
	 <p style="text-align: center;">, ИЛИ</p>
	 <p style="text-align: center;">, ИЛИ</p>
	 <p style="text-align: center;">, ИЛИ</p>
	 <p style="text-align: center;">,</p>
	 <p style="text-align: center;">, ИЛИ</p>
	 <p style="text-align: center;">, ИЛИ</p>

RG'	RG <sup>2</sup>
	
	
	
	
	
	
	

где  указывает на атом, через который **RG'** или **RG<sup>2</sup>** соединен с соседними группами в формуле.

[0161] В соединении по формуле (VI), описанном в настоящем документе, может присутствовать любое сочетание строки из Таблицы R' со спейсером SP<sup>2</sup>.

[0162] В определенных случаях для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc), или формуле (Xd), HG представляет собой



где

 указывает на атом, через который HG соединен с соседними группами в формуле.

[0163] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc) или формуле (Xd), HG представляет собой  $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{n''}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{n''}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ ,  $-(CH_2CH_2O)_{m''}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{n''}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ ,  $-(CH_2)_{n''}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ , или  $-(CH_2CH_2O)_{m''}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ , где подстрочный индекс  $n''$  равен 1, 2, 3, 4, или 5, и подстрочный индекс  $m''$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В одном варианте осуществления изобретения HG представляет собой  $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ . В другом варианте осуществления изобретения HG представляет собой  $-(CH_2)_{n''}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ , где подстрочный индекс  $n''$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения HG представляет собой  $-(CH_2)_{n''}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ , где  $n''$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения HG представляет собой  $-(CH_2CH_2O)_{m''}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$ , где подстрочный индекс  $m''$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения HG представляет собой  $-(CH_2)_{n''}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ , где подстрочный индекс  $n''$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения HG представляет собой  $-(CH_2)_{n''}-$



$C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ , где подстрочный индекс  $n$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой – $(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ , где подстрочный индекс  $m$  равен 1, 2, 3, 4, или 5.

**[0164]** В некоторых случаях для любого соединения по формуле **(VI)**, формуле **(VII)**, формуле **(VIII)**, формуле **(IX)**, формуле **(IXa)**, формуле **(IXb)**, формуле **(IXc)**, формуле **(Xa)**, формуле **(Xb)**, формуле **(Xc)**, или формуле **(Xd)**, **HG** представляет собой

$-(CH_2)_{1-5}PO_3H,$	$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}PO_3H,$
$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}PO_3H,$	$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}PO_3H,$
$-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}PO_3H)_2,$	
$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}PO_3H)_2,$	или

$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}PO_3H)_2$ , где  $n$  равен 1, 2, 3, 4, или 5, и  $m$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В одном варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_{1-5}PO_3H$ . В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}PO_3H$ , где  $n$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}PO_3H$ , где  $n$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}PO_3H$ , где  $m$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}PO_3H)_2$ , где  $n$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}PO_3H)_2$ , где  $n$  равен 1, 2, 3, 4, или 5. В другом варианте осуществления изобретения **HG** представляет собой  $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}PO_3H)_2$ , где  $m$  равен 1, 2, 3, 4, или 5.

**[0165]** В некоторых случаях для любого соединения по формуле **(VI)**, формуле **(VII)**, формуле **(VIII)**, формуле **(IX)**, формуле **(IXa)**, формуле **(IXb)**, формуле **(IXc)**, формуле **(Xa)**, формуле **(Xb)**, формуле **(Xc)** или формуле **(Xd)**, **HG** представляет собой

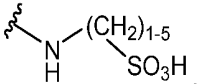
$-(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3,$	
$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3,$	$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3,$
$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3,$	$-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3)_2,$
$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3)_2,$	или

$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}N^+(R^M)_3)_2$ , где  $n$  равен 1, 2, 3, 4, или 5,  $m$  равен 1, 2, 3, 4, или 5, и  $R^M$ , в каждом случае независимо H, C<sub>1</sub>-алкил, C<sub>3</sub>-

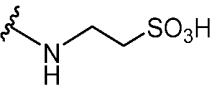


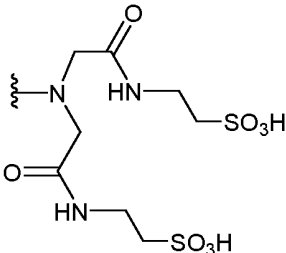
собой  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{N}^+\text{Me}_3)_2$ , где  $m$  равен 1, 2, 3, 4, или 5.

[0167] В определенных случаях для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc) или формуле (Xd) **HG** представляет собой

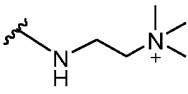

собой , или его соли. В определенных случаях для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb),

формуле (Xc) или формуле (Xd) **HG** представляет собой ,

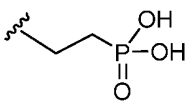

или его соли. В одном случае **HG** представляет собой , или его

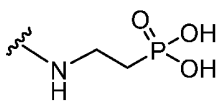

соли. В другом случае **HG** представляет собой , или его соли.

[0168] В некоторых примерах для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc) или формуле (Xd), **HG** является амином или солью амина, например четвертичным амином, например,

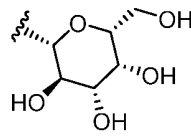
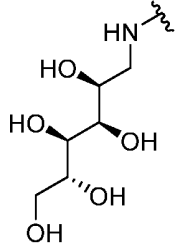
, где  указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.

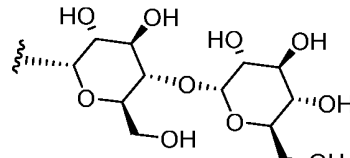

[0169] В других примерах для любого соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** - фосфоновая

кислота или ее соли, например,  где  указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле. В других примерах для любого соединения формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), **HG** - фосфоновая кислота или ее соль,

например,  где  указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.

[0170] В других примерах для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc) или формуле (Xd) **HG** является

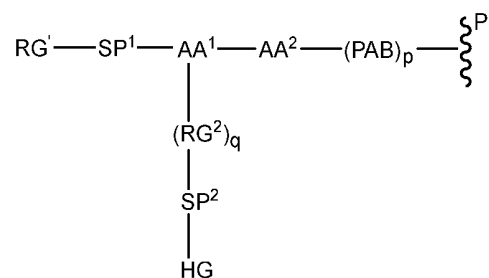
остатком сахара, например,  (галактозы),  (глюкамина),

или  (мальтозы), где  указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.

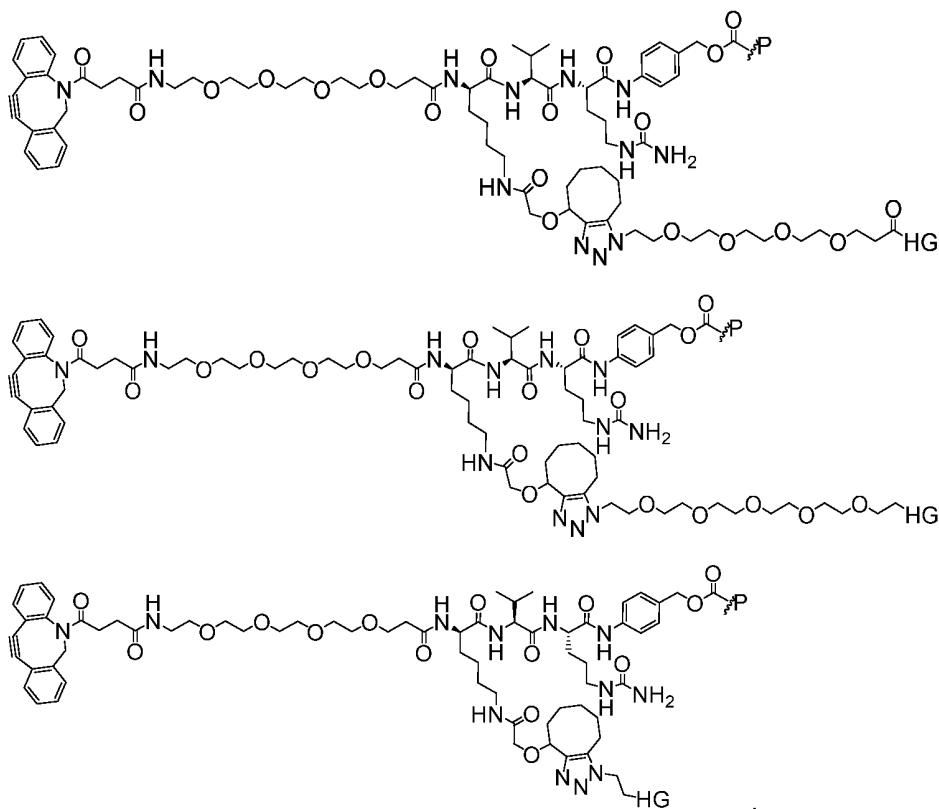
[0171] В определенных случаях для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc) или формуле (Xd), **SP<sup>1</sup>** и **SP<sup>2</sup>** независимо в каждом случае отсутствуют, или их выбирают из группы, включающей C<sub>1-6</sub> алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>e</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>e</sub>-C(O)-, -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>-C(O)-, -C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>v</sub>-, полиглицин (например, ((глицин)<sub>4</sub>-серин)<sub>f</sub> где подстрочный индекс **f** является целым числом от 1 до 6), и их комбинации, где подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4, подстрочный индекс **u** является целым числом от 1 до 8, и подстрочный индекс **v** является целым числом от 1 до 8. В определенных случаях для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX),

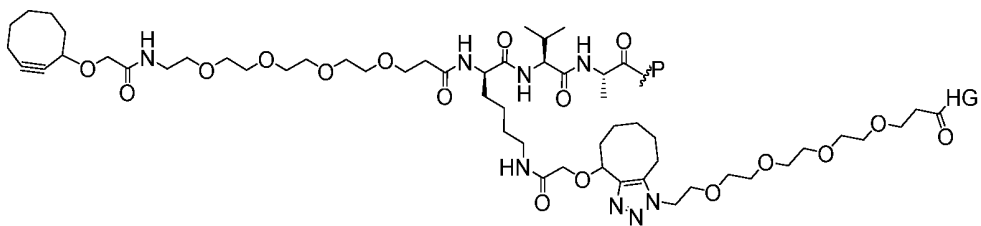
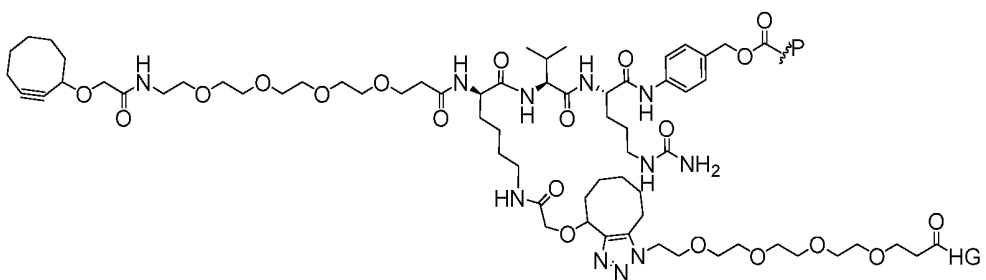
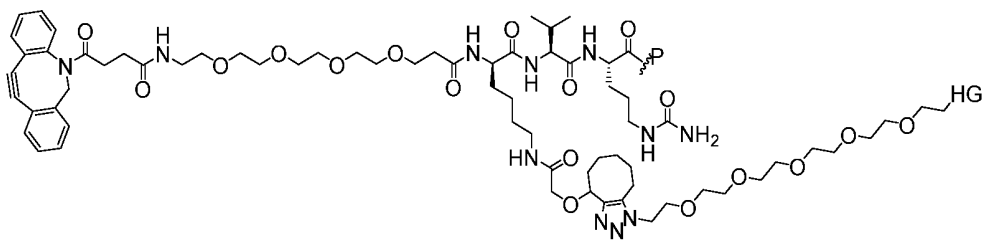
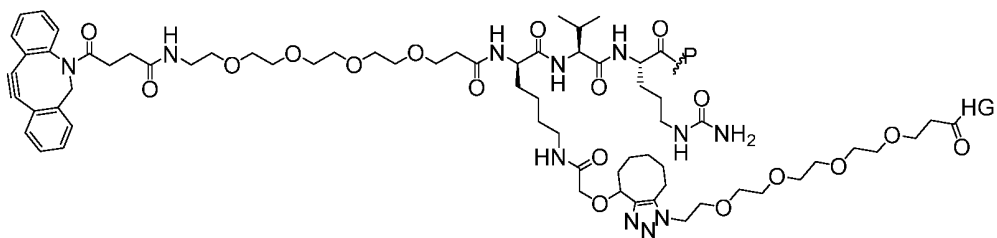
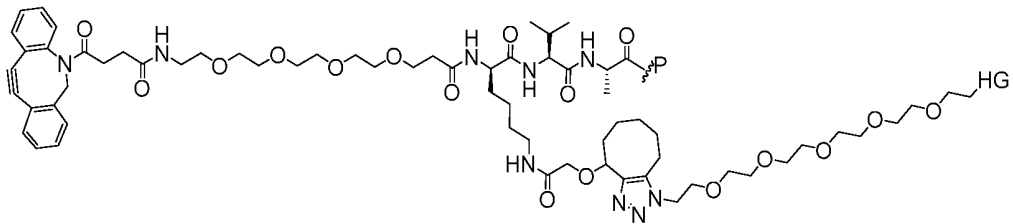
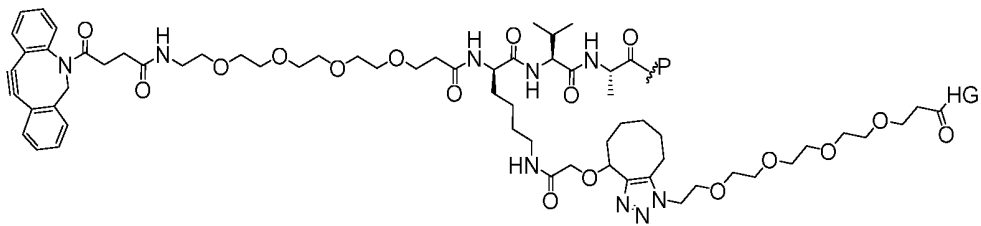
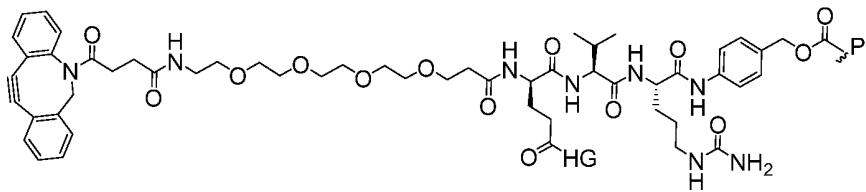
формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc) или формуле (Xd), SP<sup>1</sup> и SP<sup>2</sup> в каждом случае независимо принимают значения, показанные в Таблице S. В определенных вариантах осуществления изобретения ((глицин)<sub>4</sub>-серин)<sub>f</sub> представляет собой (глицин)<sub>4</sub>-серин.

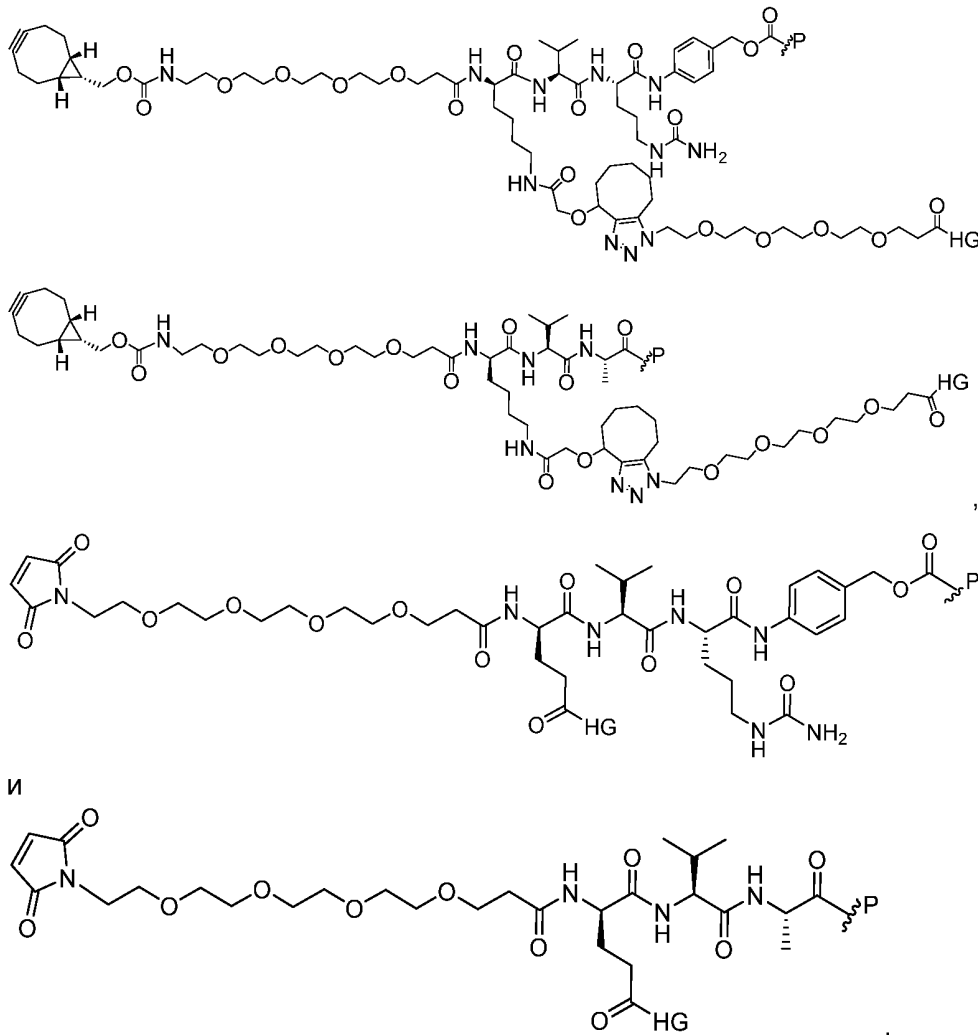
[0172] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc) или формуле (Xd),



выбирают из группы, включающей:



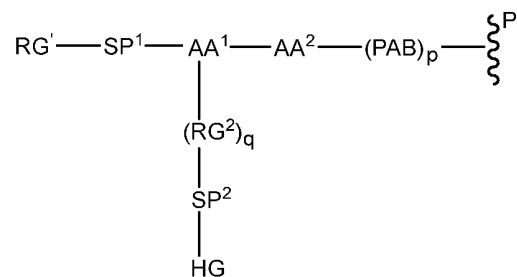




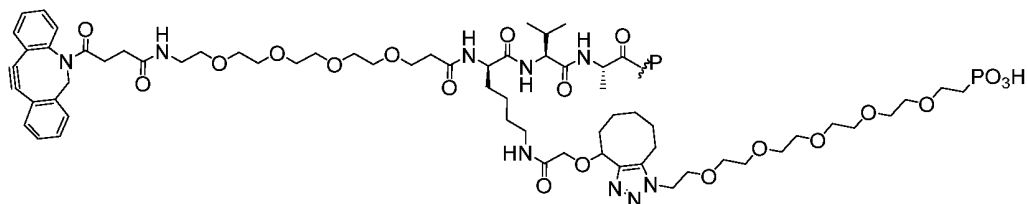
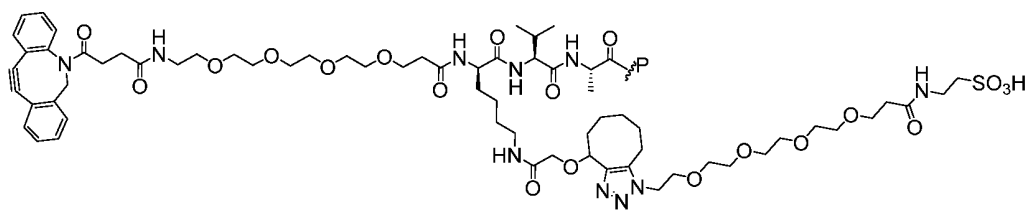
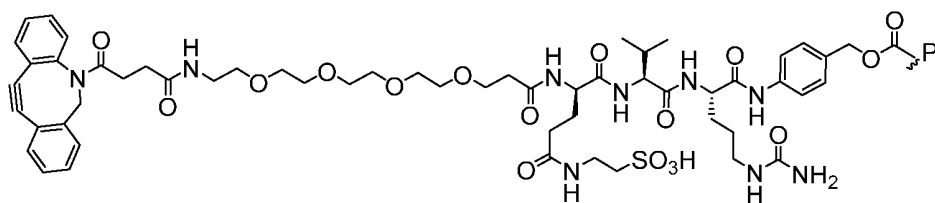
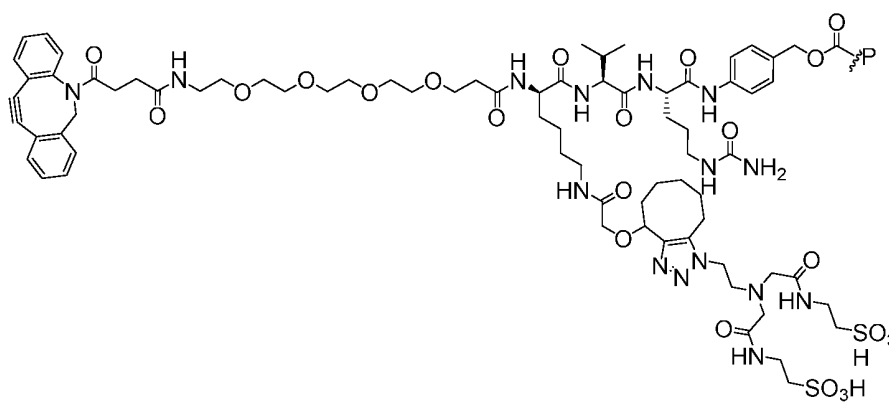
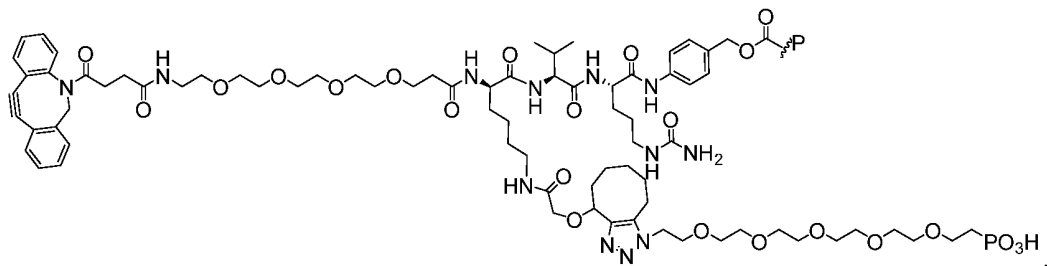
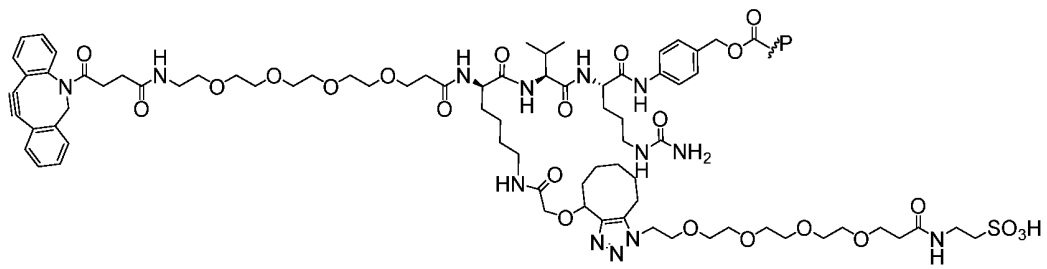
или его стереоизмерной формы, региоизомера или смеси региоизомеров, где

каждый  $\text{---}\overset{\text{P}}{\curvearrowright}$  представляет собой связь с остатком полезной нагрузки.

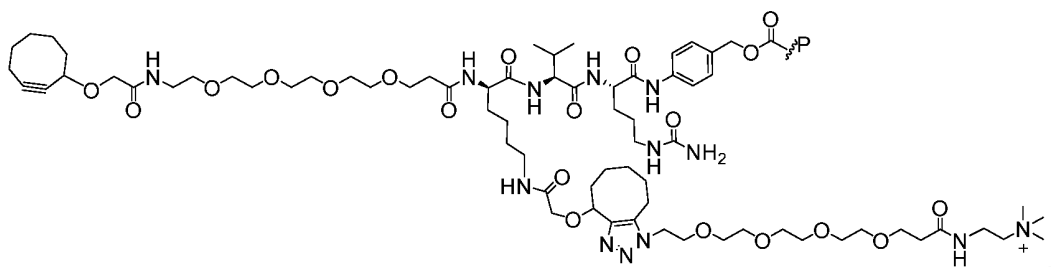
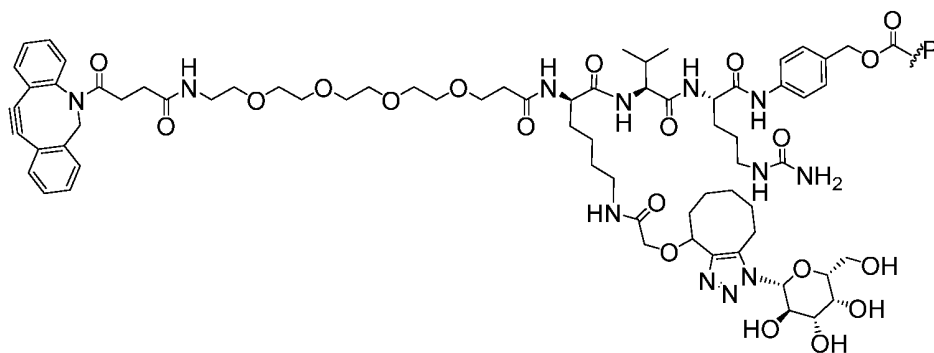
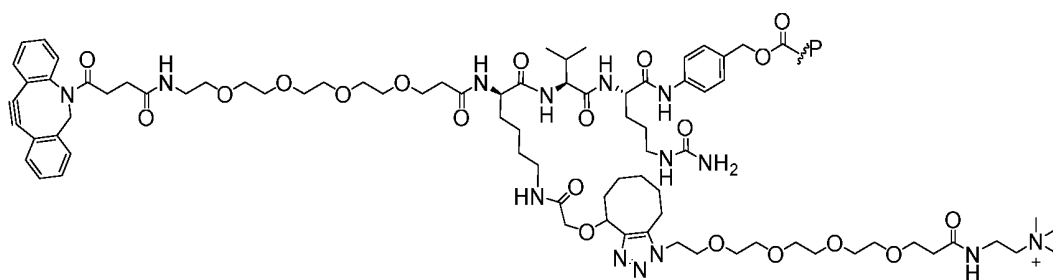
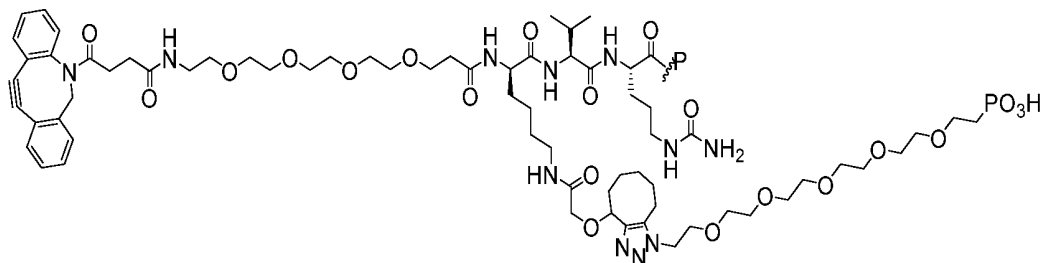
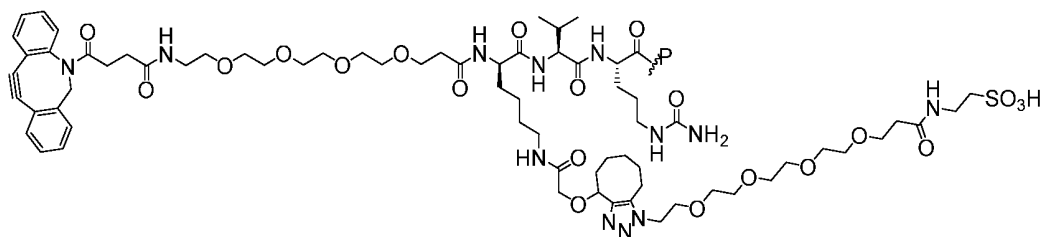
[0173] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc) или формуле (Xd),

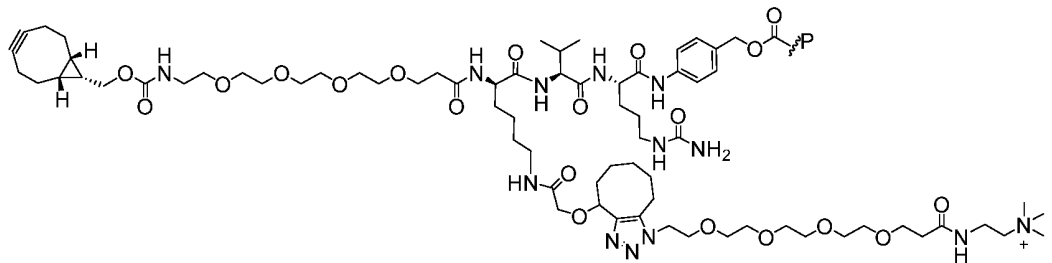
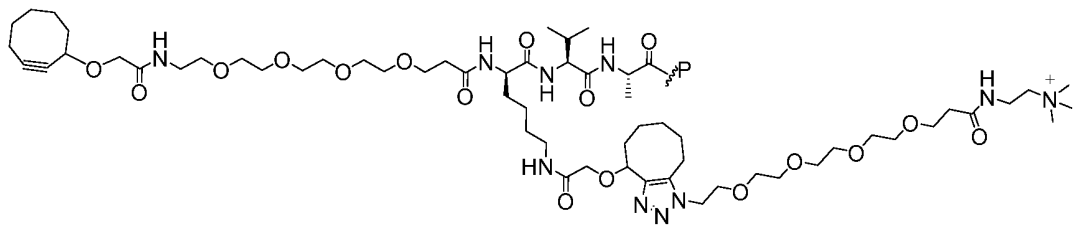
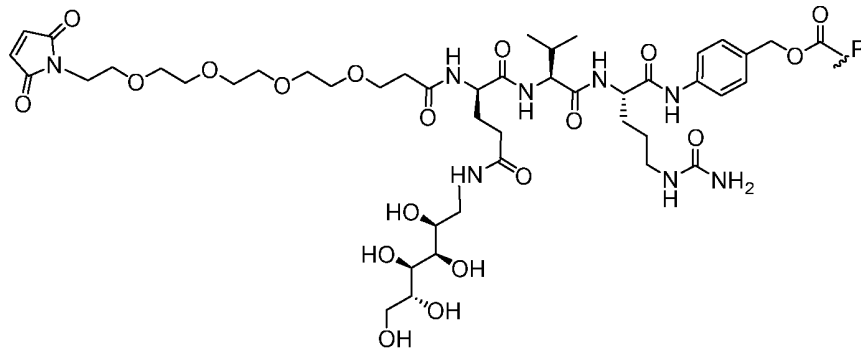
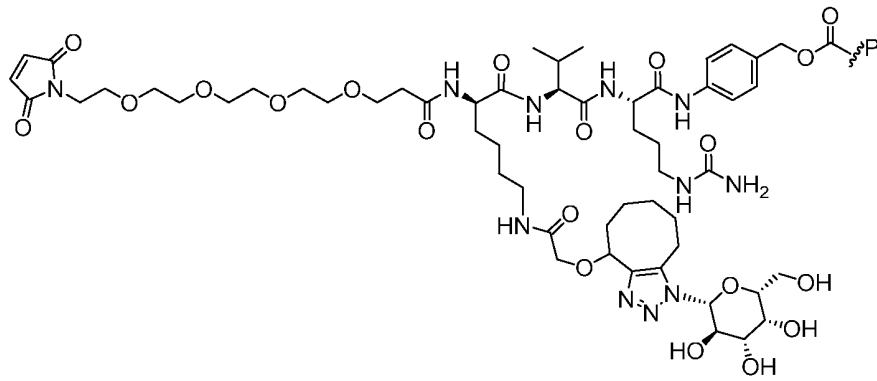


выбирают из группы, включающей:

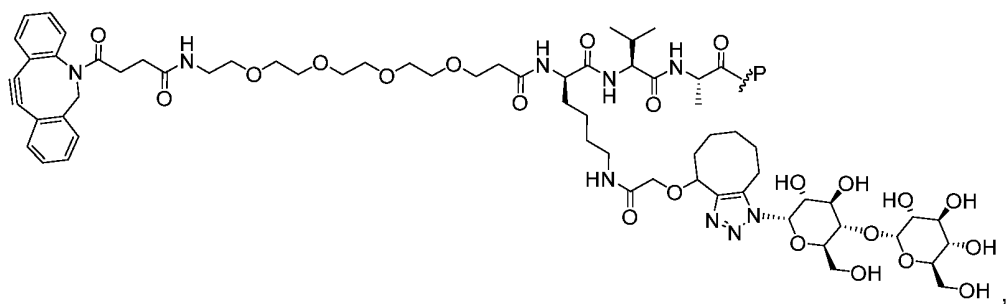








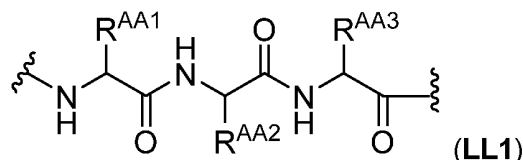
И



или его стереоизомерной формы, региоизомера или смеси региоизомеров, где

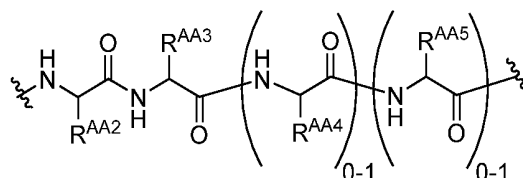
каждый  представляет собой связь с остатком полезной нагрузки.

[0174] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc) или формуле (Xd), LL имеет формулу (LL1):




[0175] где  $R^{AA1}$ ,  $R^{AA2}$ , и  $R^{AA3}$  каждый независимо являются боковыми цепями аминокислоты, по меньшей мере, одна из которых связана прямо или опосредованно с  $-(RG^2)_q-SP^2-HG$ . В некоторых случаях  $R^{AA1}$  представляет собой боковую цепь лизина, глутамина, глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты, соединенной прямо или опосредованно с HG, и  $R^{AA2}$  и  $R^{AA3}$  являются боковыми цепями валина и аланина или валина и цитруллина, соответственно.

[0176] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc), или формуле (Xd),  $AA^2$  представляет собой

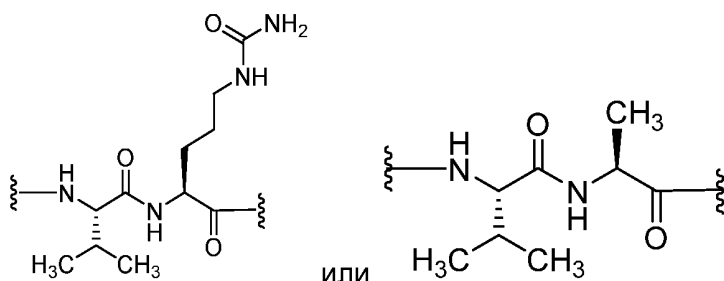



где  $R^{AA2}$ ,  $R^{AA3}$ ,  $R^{AA4}$ , и  $R^{AA5}$  каждый независимо являются боковыми цепями аминокислоты, по меньшей мере, одна из которых связана прямо или

опосредованно с  $-(RG^2)_q-SP^2-HG$ , где  указывает на атом, через который  $AA^2$  соединен с соседними группами в формуле. В некоторых примерах  $R^{AA2}$ ,  $R^{AA3}$ ,  $R^{AA4}$ , и  $R^{AA5}$  независимо в каждом случае являются боковыми цепями аминокислоты, которые выбирают из боковых цепей аланина, валина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана, фенилаланина, пролина, серина, треонина, цистеина, тирозина, аспарагина, глутамина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой

кислоты, лизина, аргинина, гистидина, или цитруллина, или соответствующего производного, или их комбинации.

[0177] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc), или формуле (Xd), AA<sup>2</sup> представляет собой

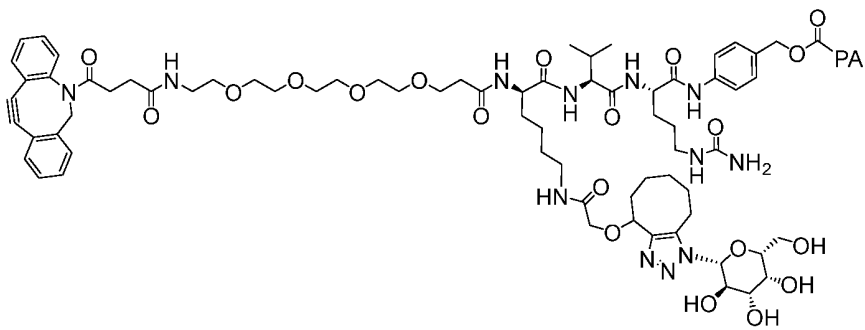
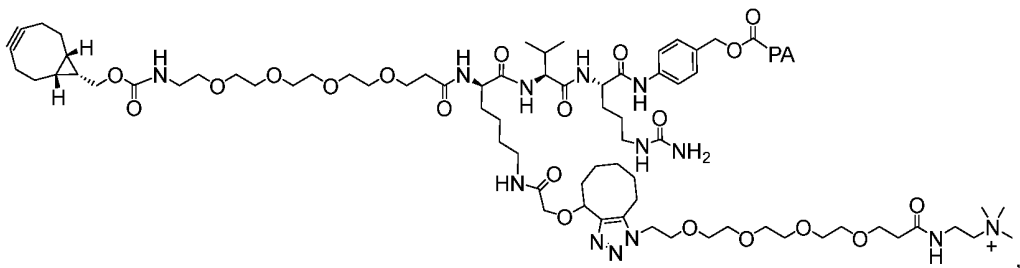
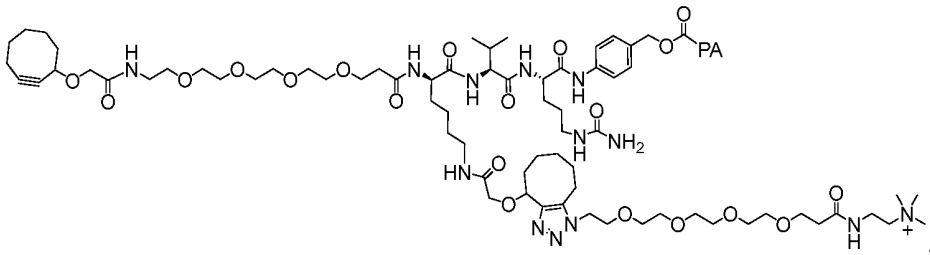
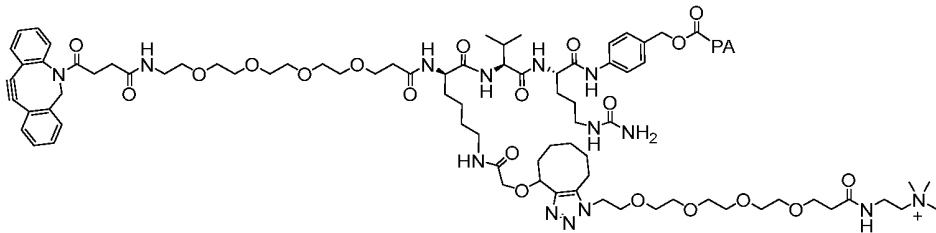
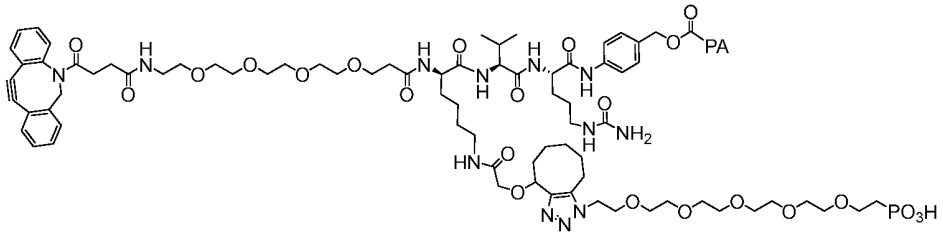
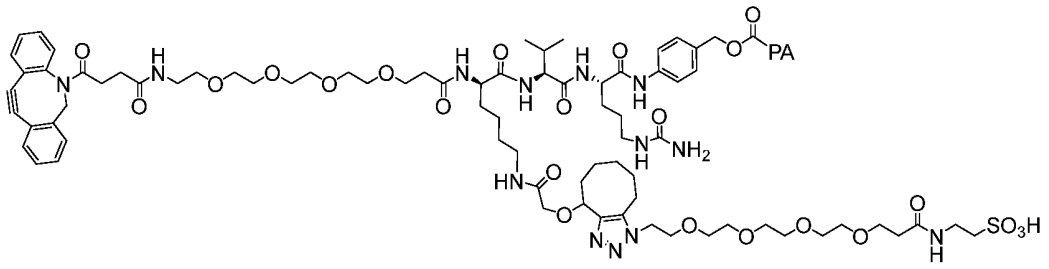


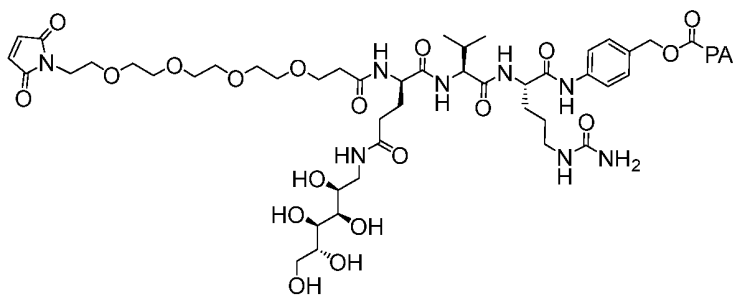
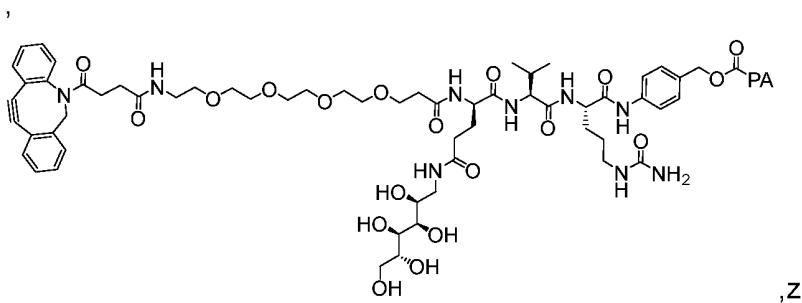
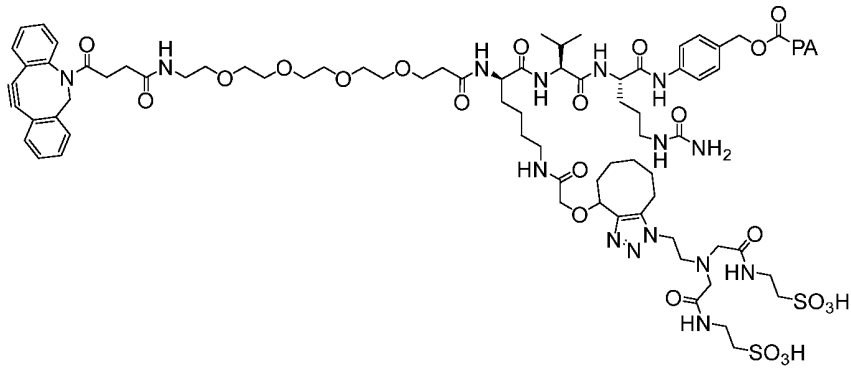
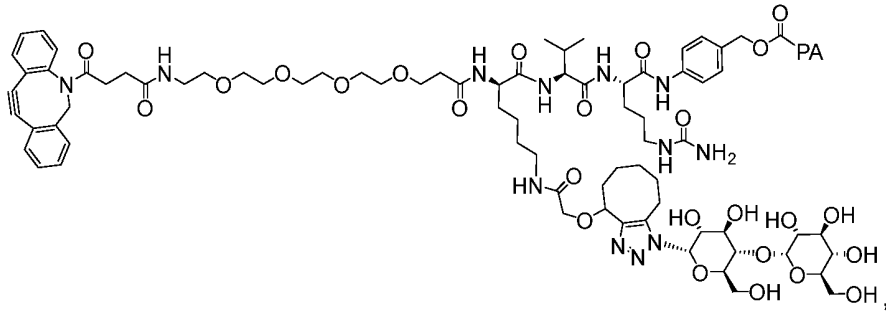
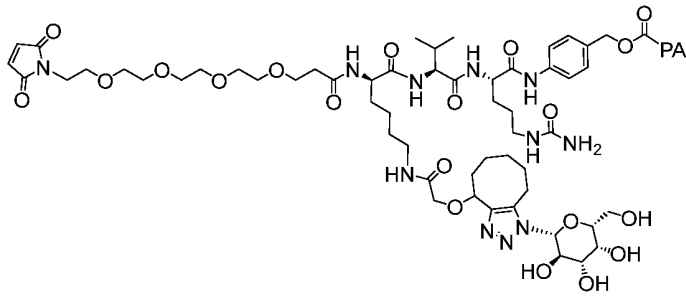
где  указывает на атом, через который AA<sup>2</sup> соединен с соседними группами в формуле.

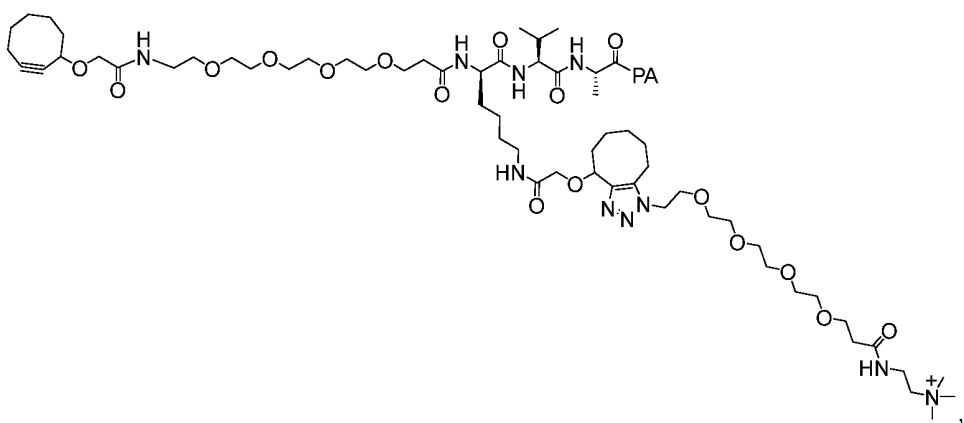
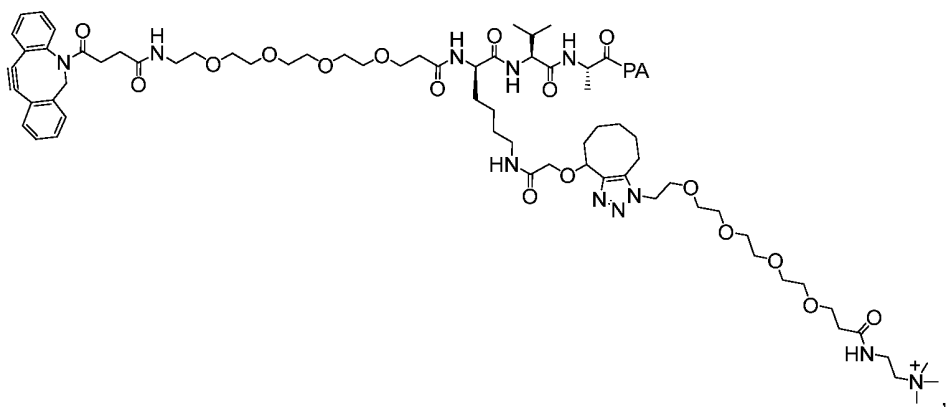
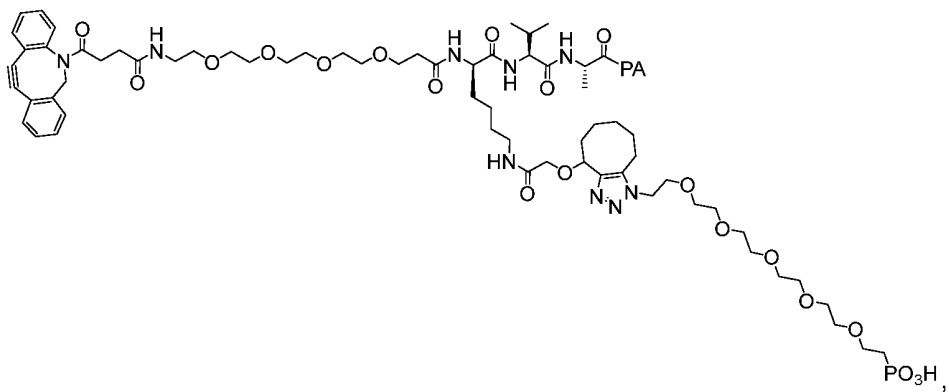
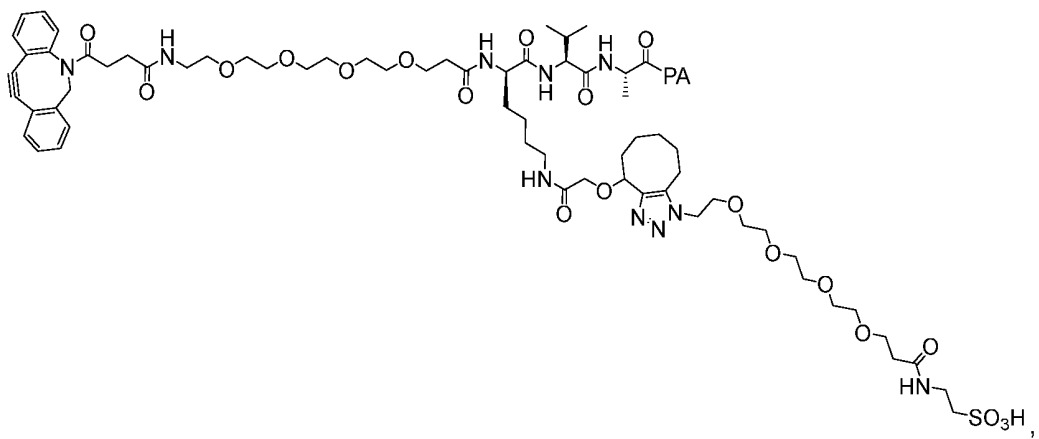
[0178] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (Xa), Formula (Xb), Formula (Xc), или формуле (Xd) подстрочный индекс e равен 4. В некоторых случаях для любого соединения по по формуле (Xa), Formula (Xb), Formula (Xc), или формуле (Xd), подстрочный индекс e равен 5.

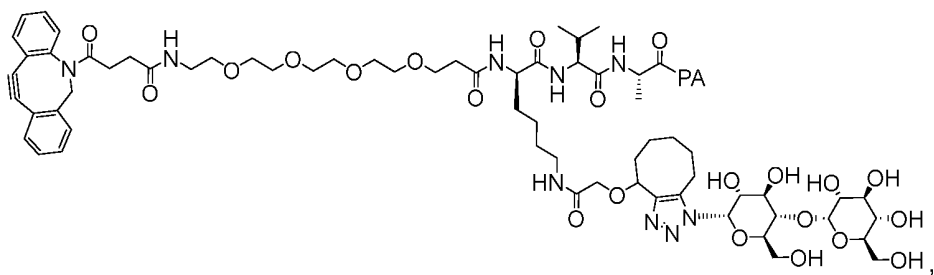
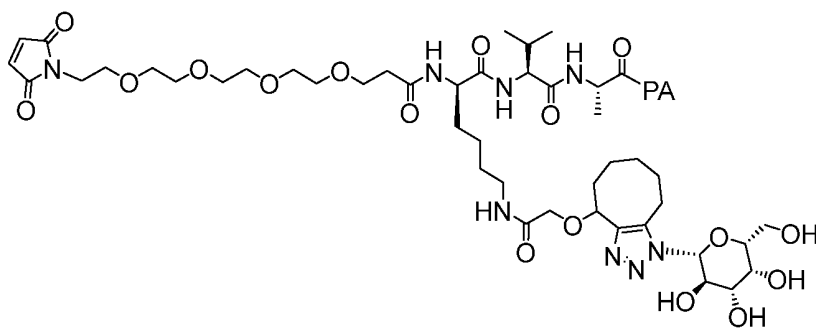
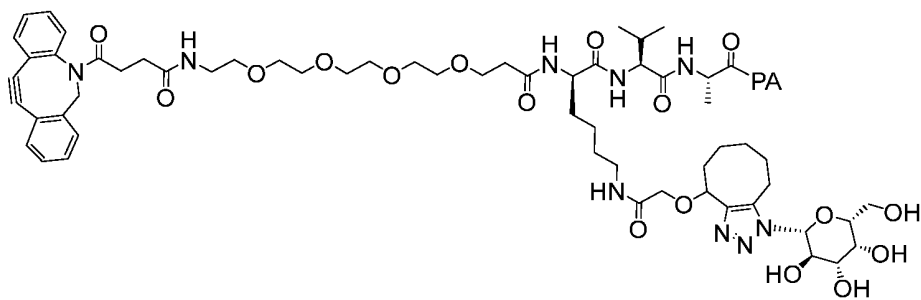
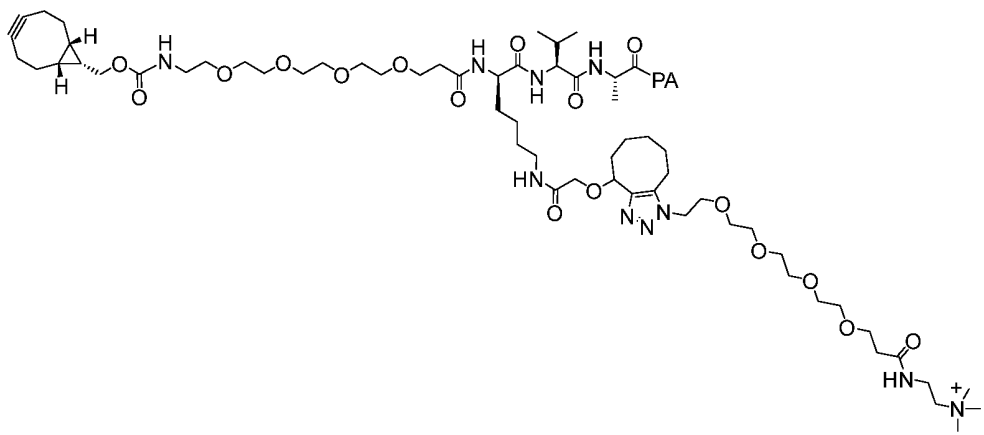
[0179] В некоторых случаях для любого соединения по формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc), или формуле (Xd) PA является остатком группы, которую выбирают из группы, включающей доластатин, ауристатин, майтанзиноид, растительный алкалоид, таксан, алкалоид барвинка, стероид, и модулятор печеночного рецептора X (LXR). В некоторых случаях PA - доластатин. В некоторых случаях PA - доластатин. В некоторых случаях PA - ауристатин. В некоторых случаях PA - майтанзиноид. В некоторых случаях PA – расительный алкалоид. В некоторых случаях PA - таксан. В некоторых случаях PA - алкалоид барвинка. В некоторых случаях PA - стероид. В некоторых случаях PA - модулятор LXR. В некоторых случаях модулятором LXR является агонист LXR. В некоторых случаях модулятором LXR является антагонист LXR.

[0180] В определенных случаях любое соединение по формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc), или формуле (Xd), выбирают из группы, включающей:

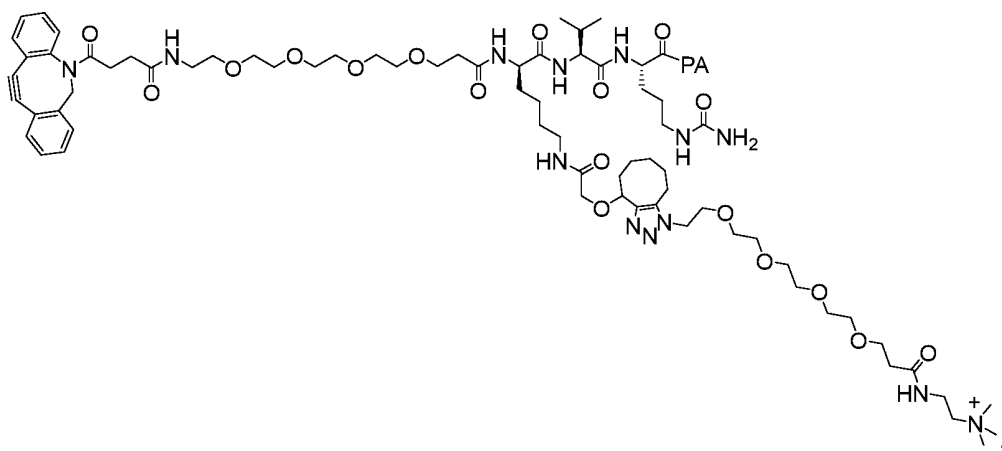
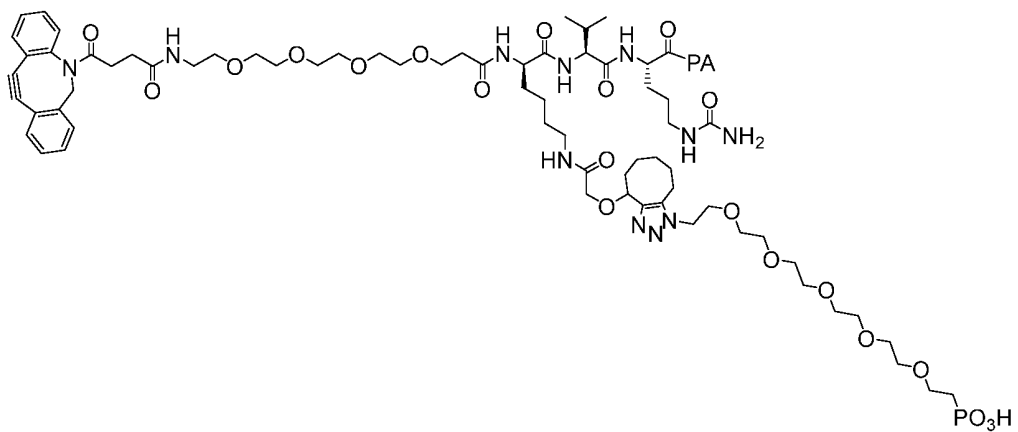
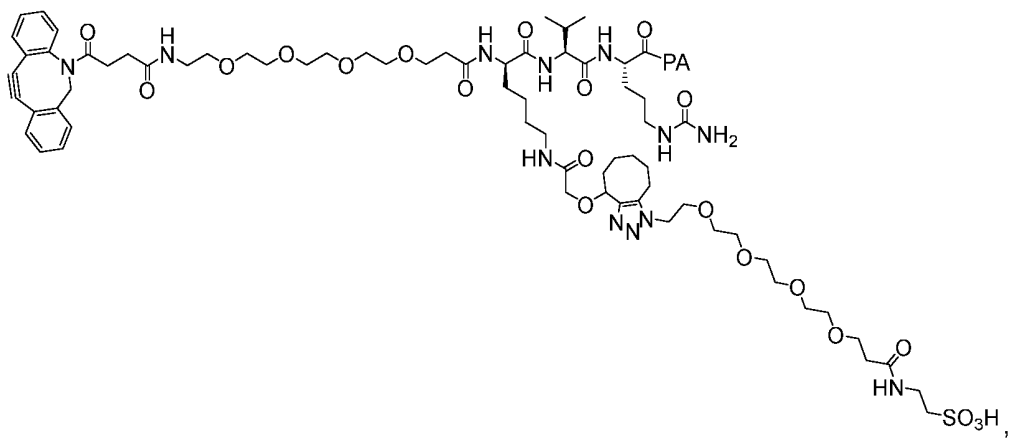


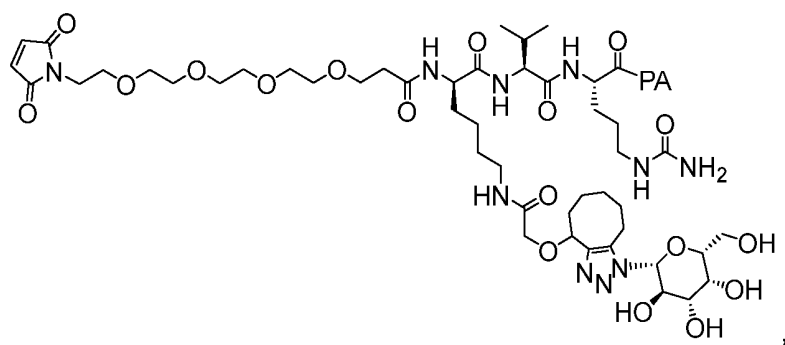
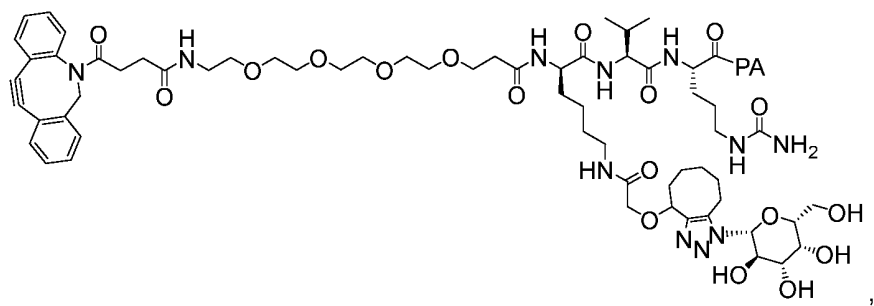
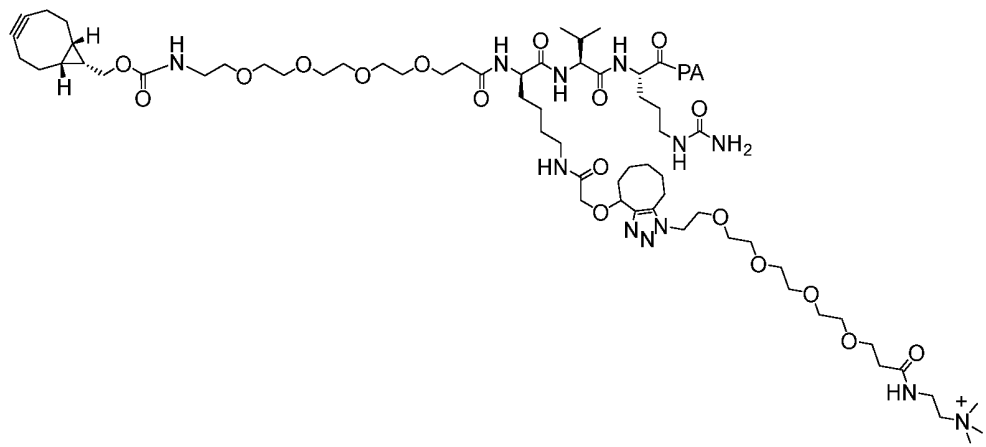
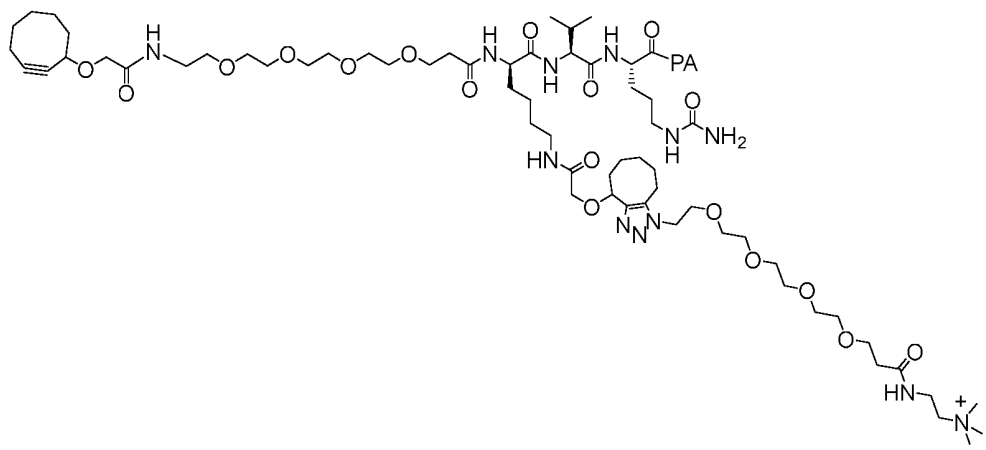




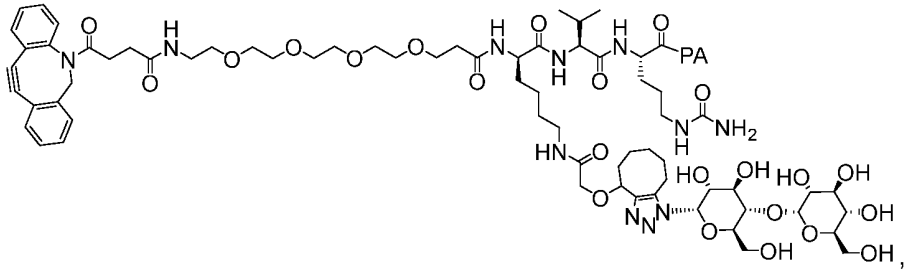






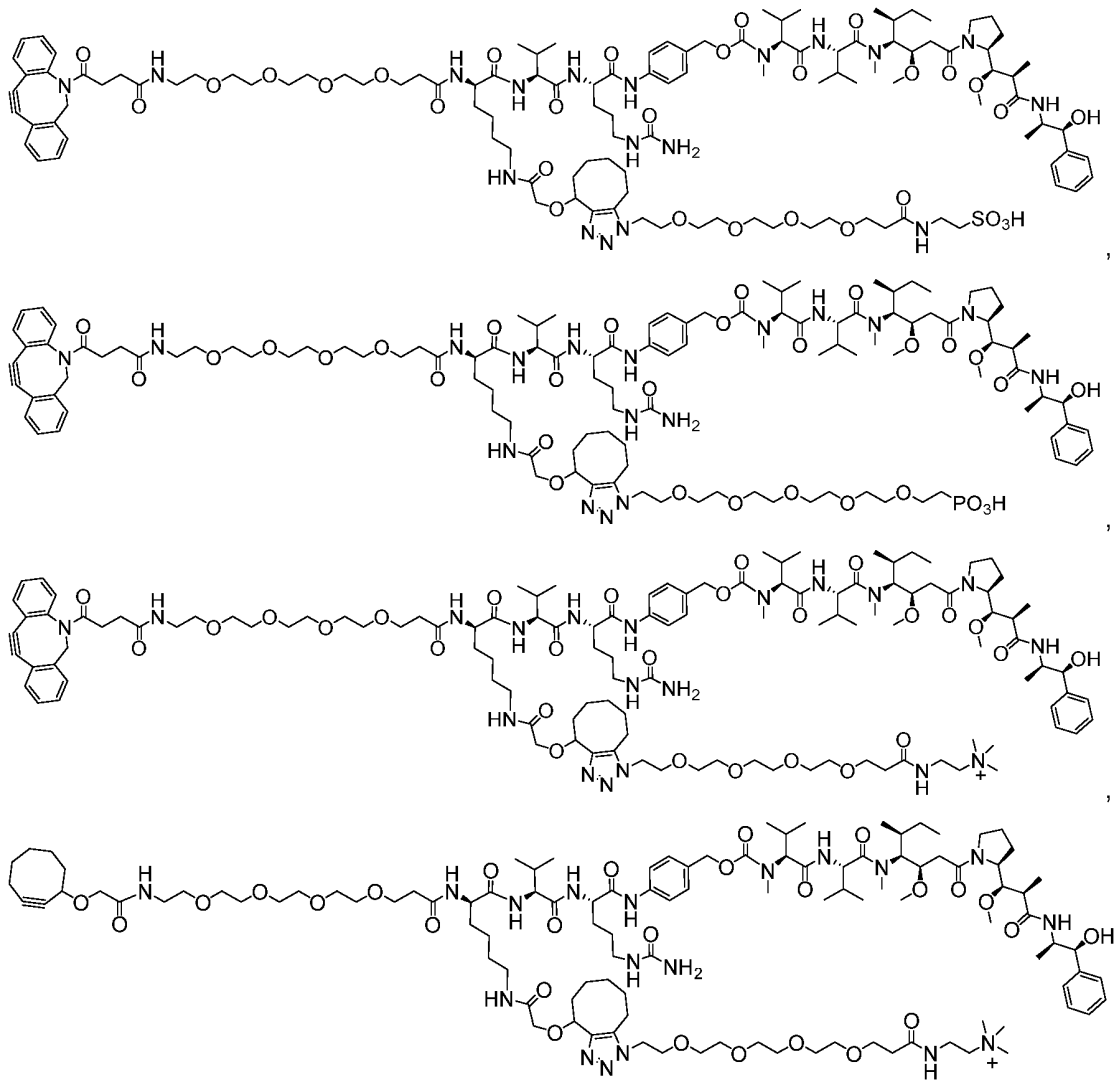


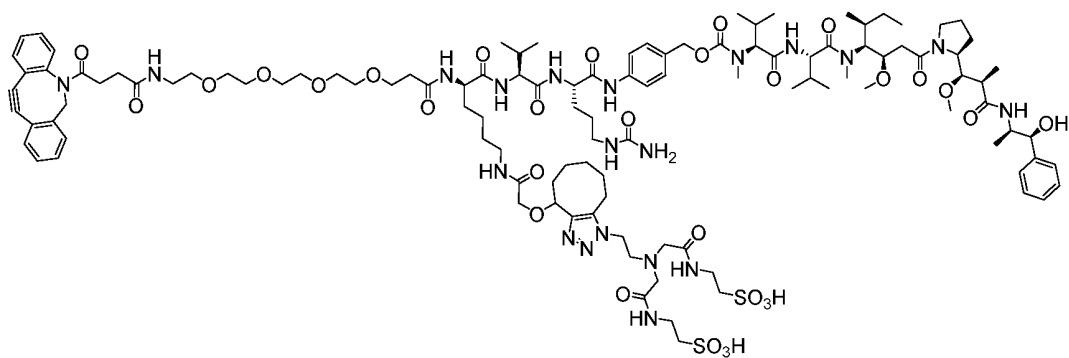
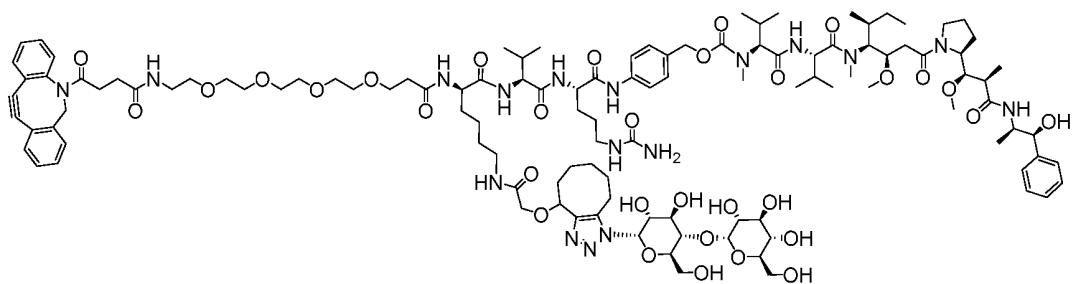
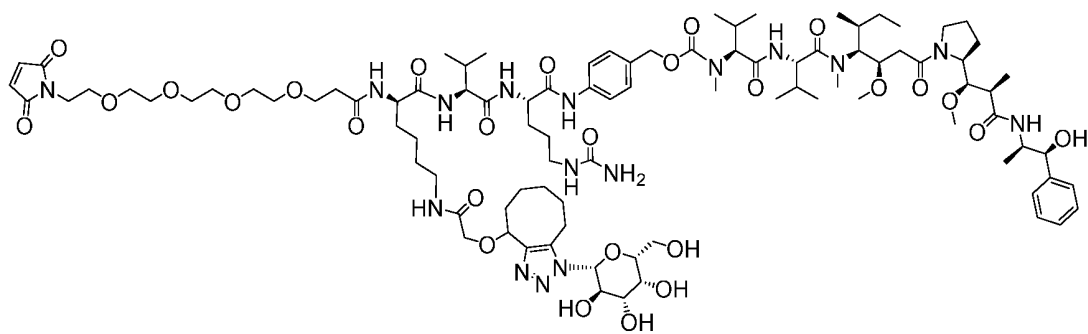
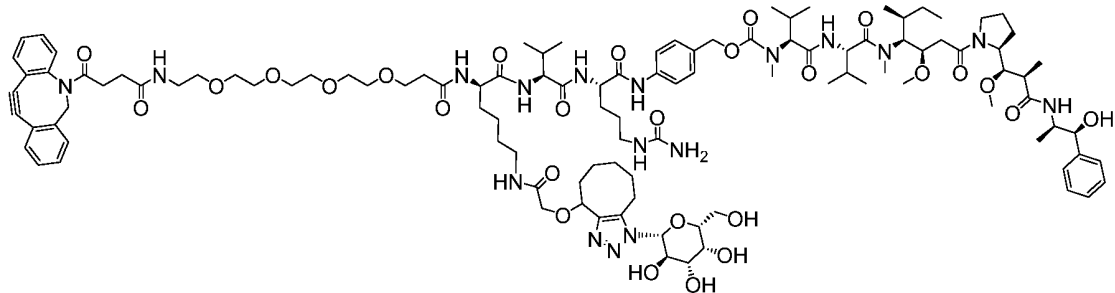
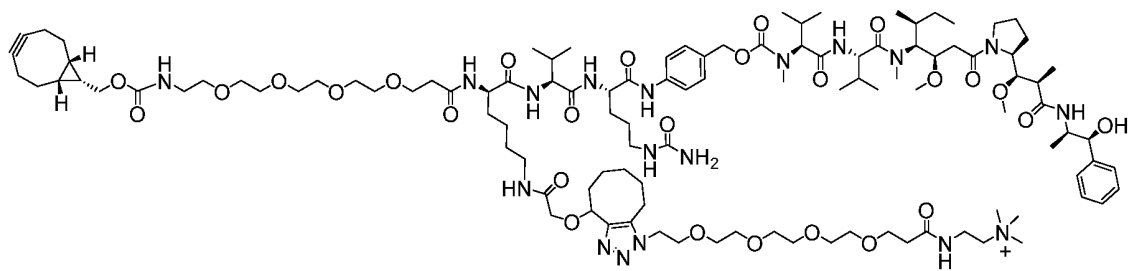
И

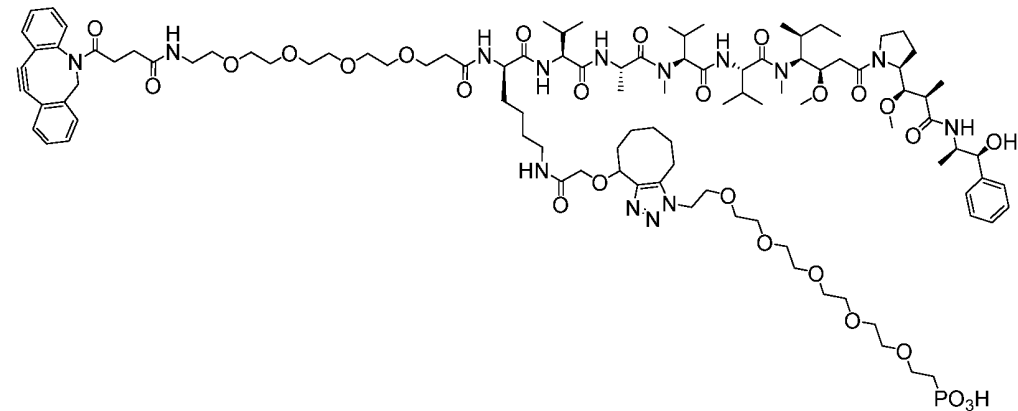
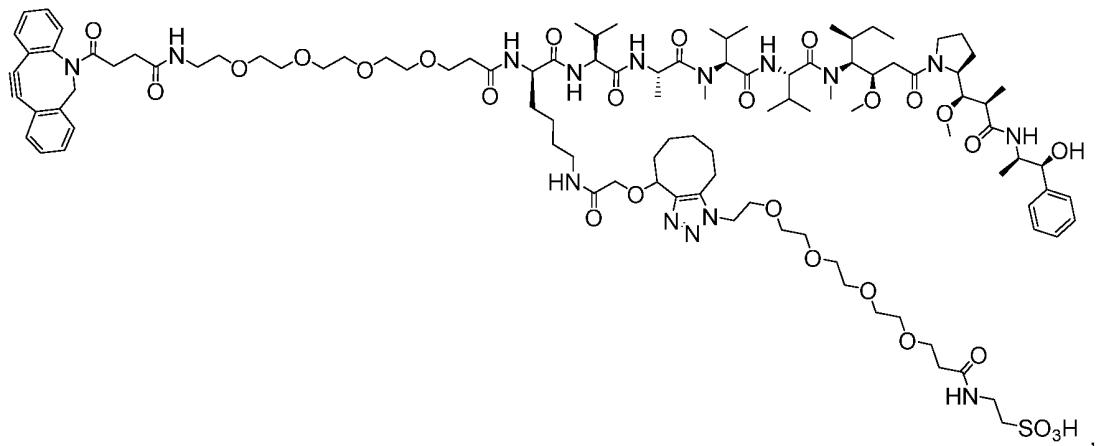
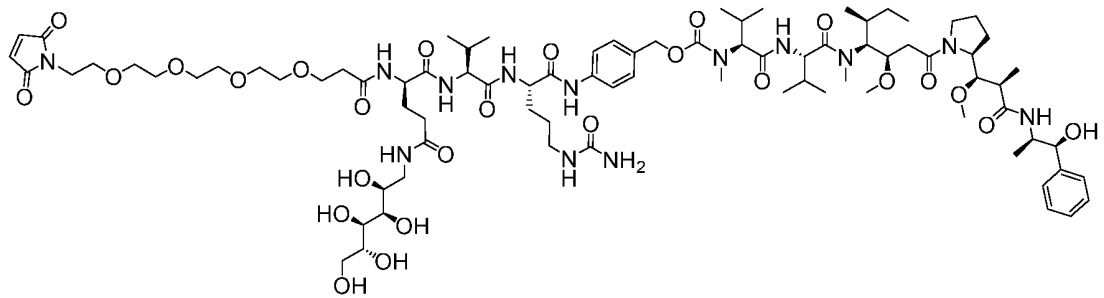
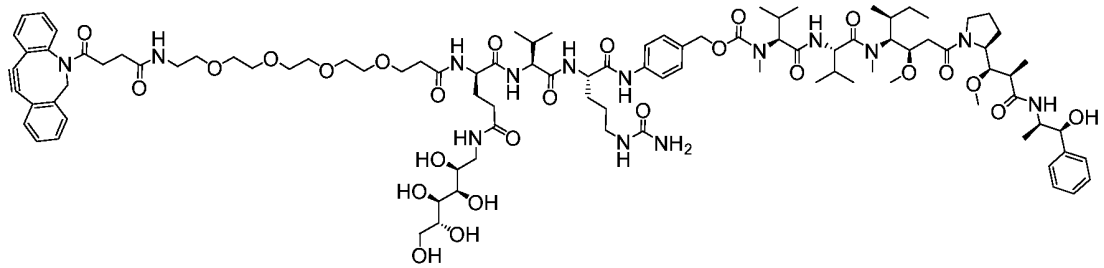
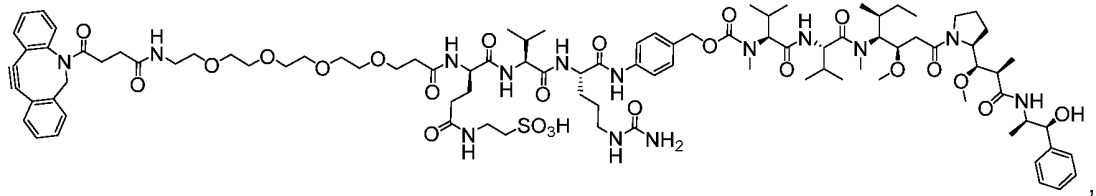


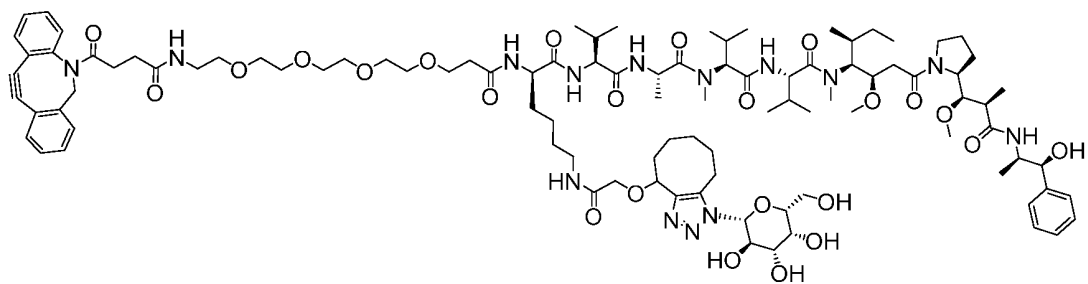
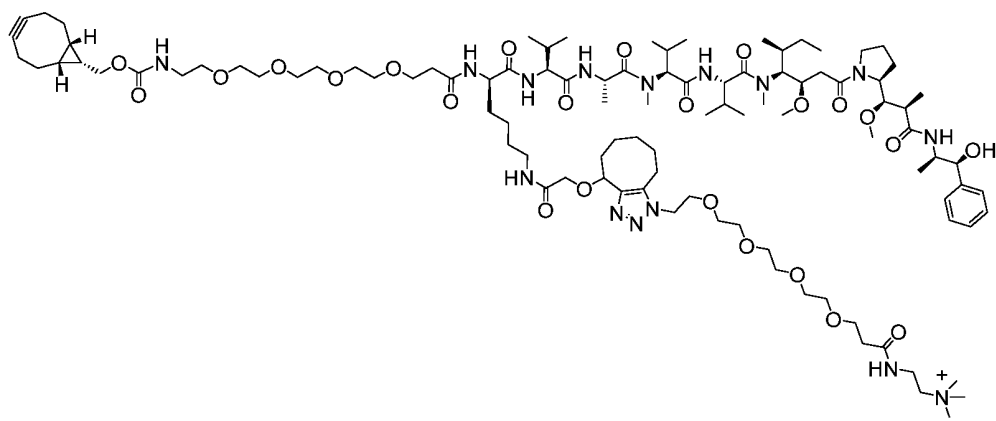
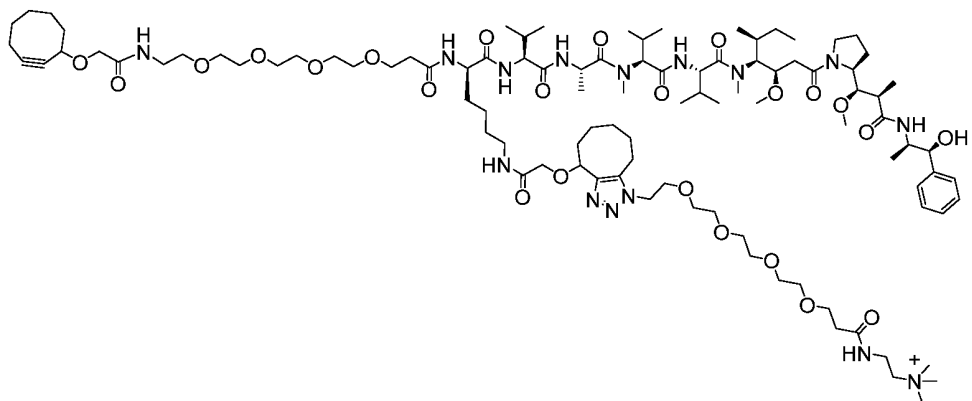
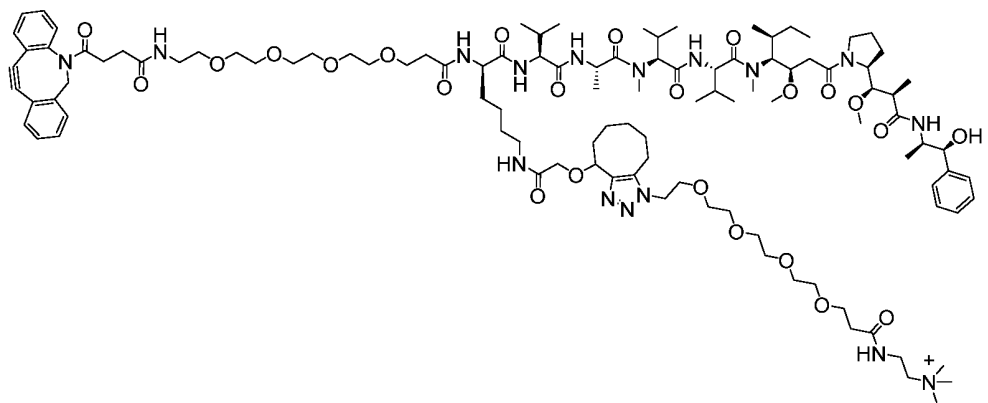
или его стереоизомерной формы, региоизомера или смеси региоизомеров, где **PA** представляет собой остаток полезной нагрузки.

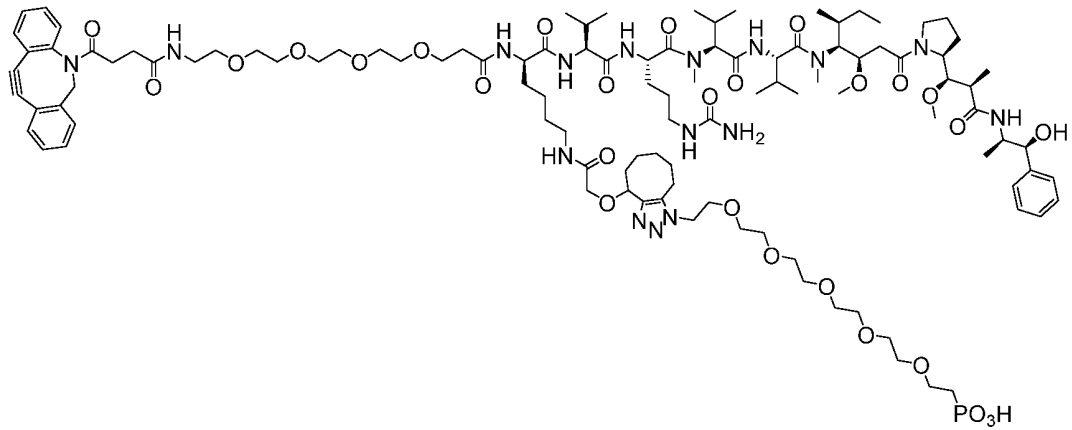
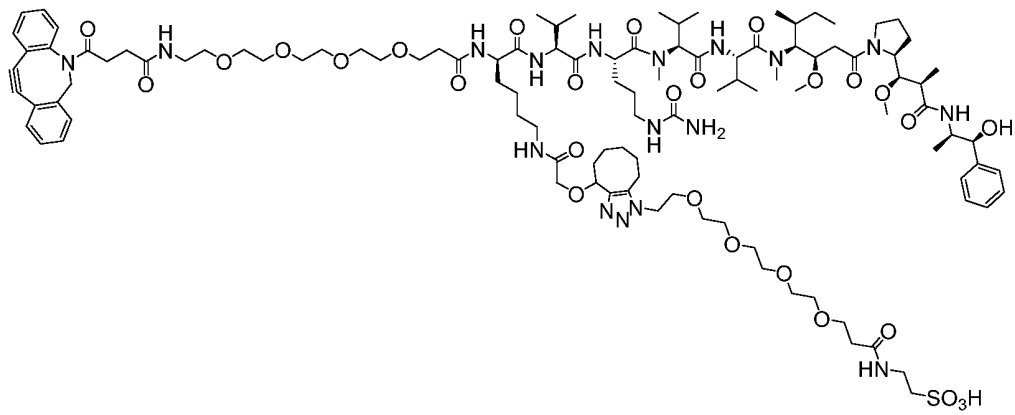
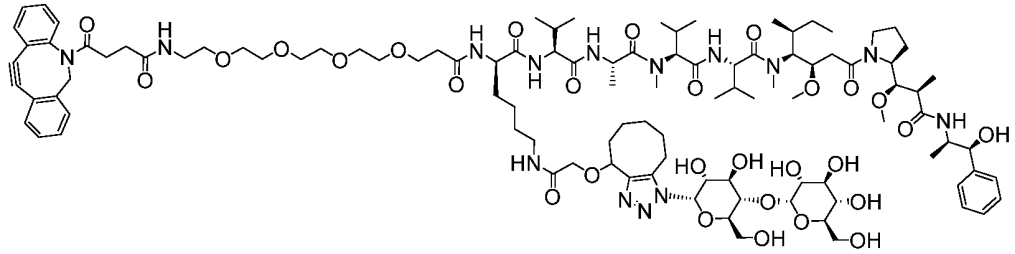
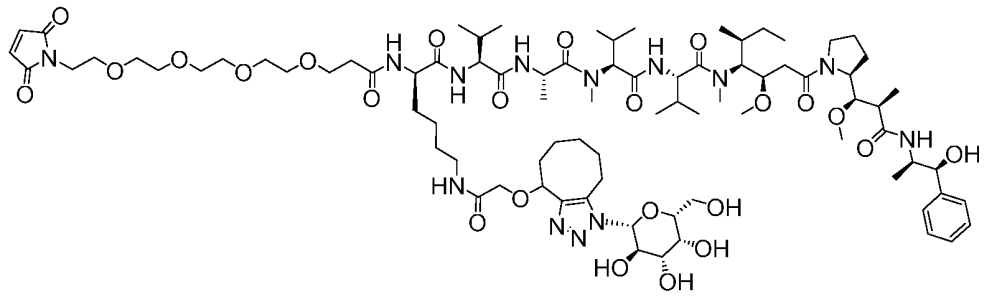
[0181] В некоторых случаях любое соединение по формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc), или формуле (Xd), выбирают из группы, включающей:

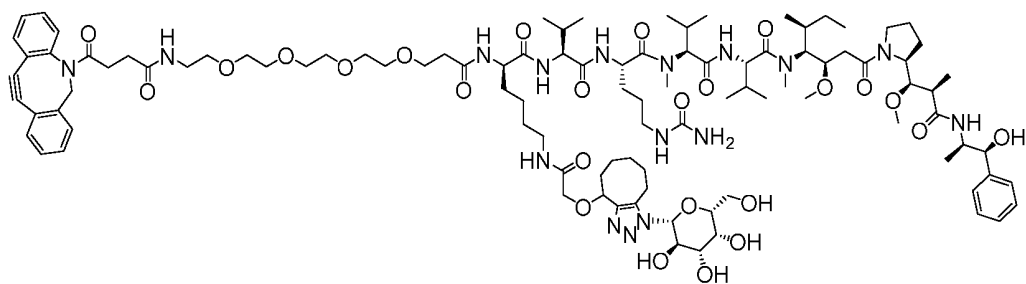
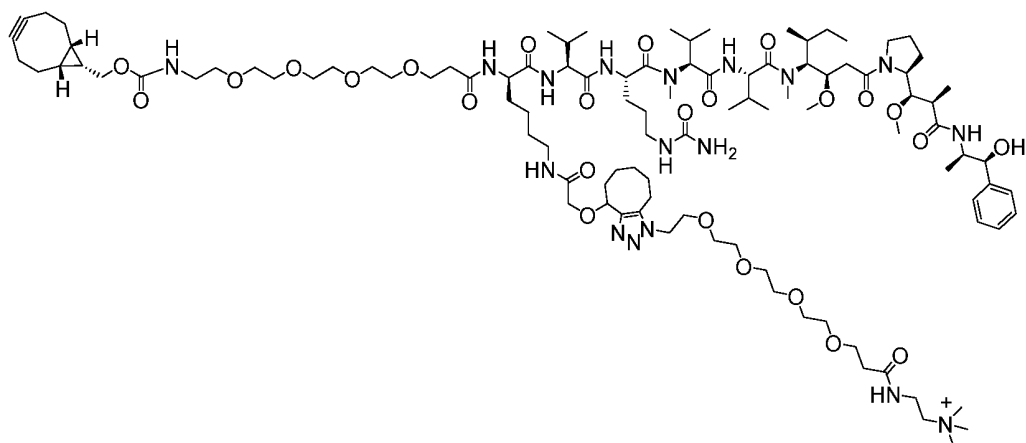
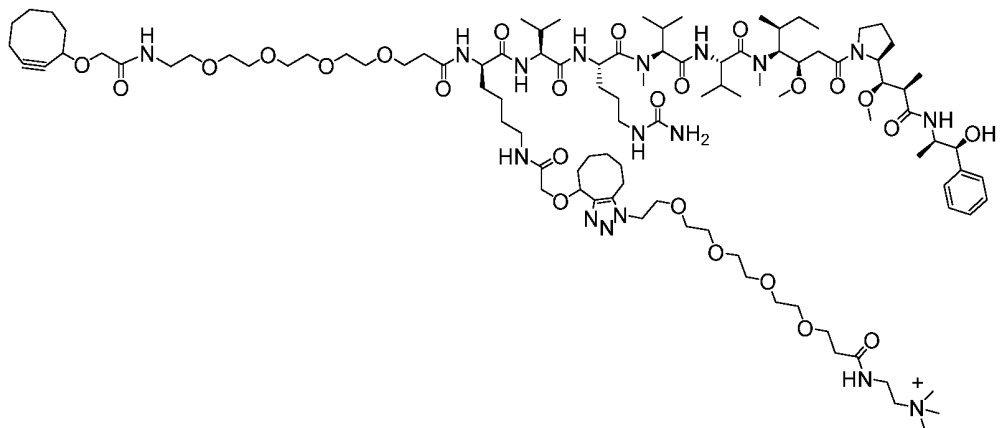
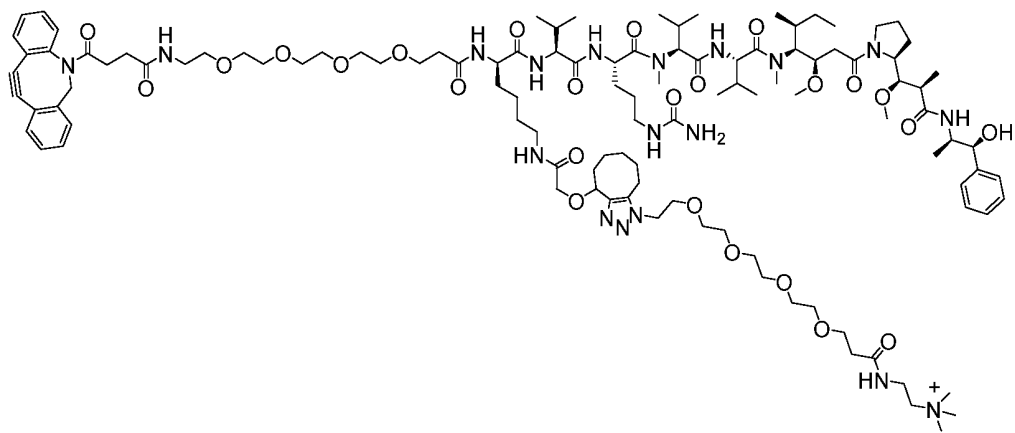




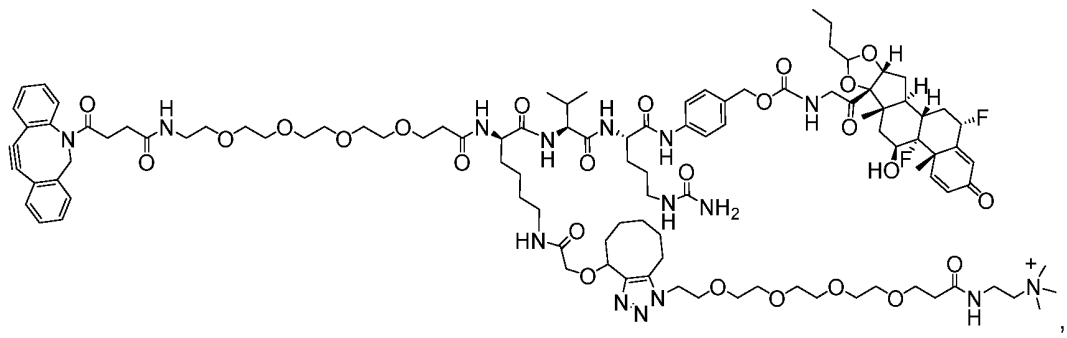
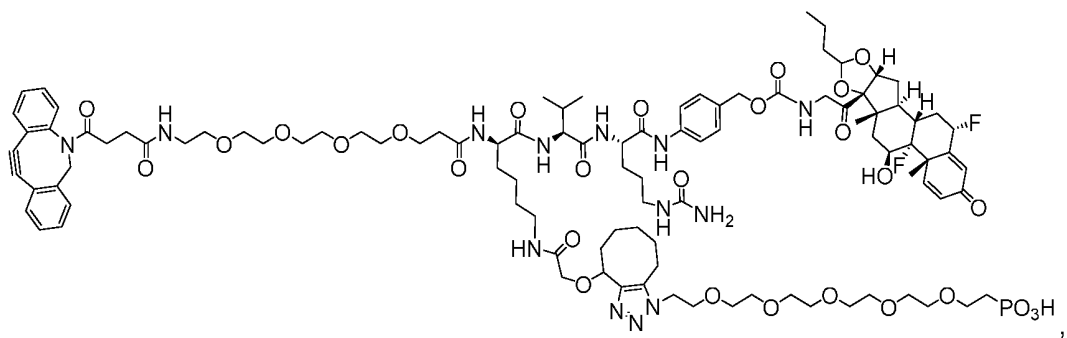
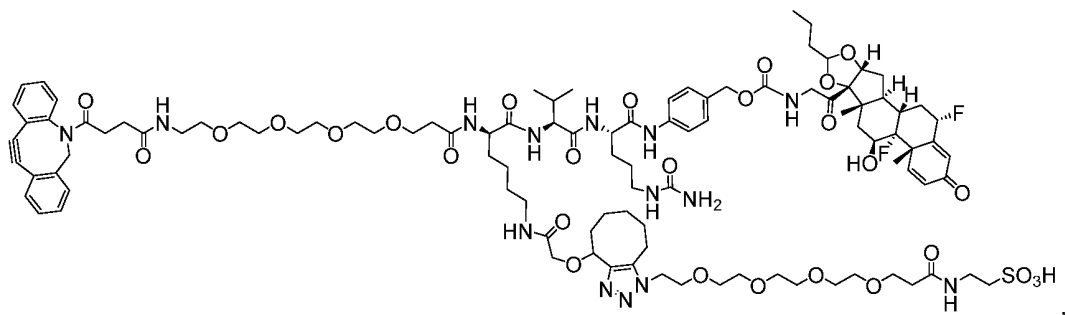
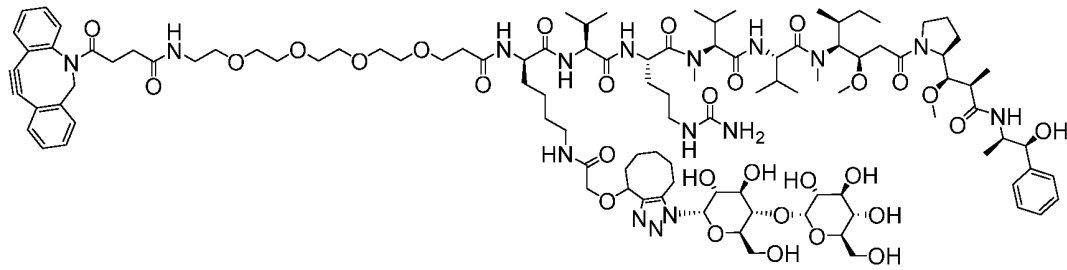
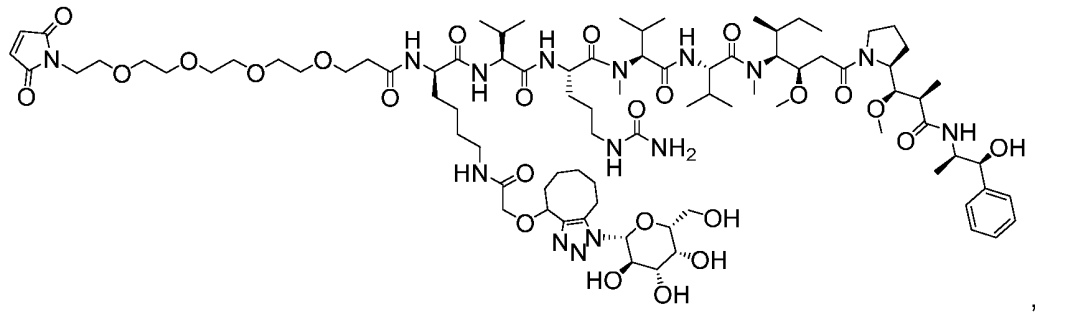


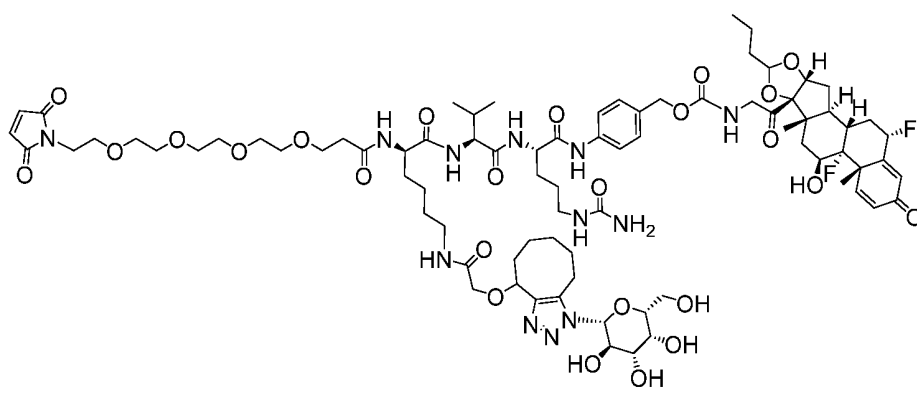
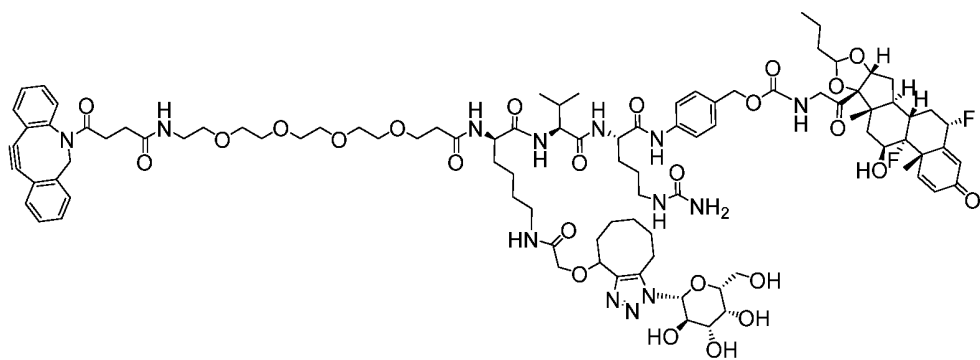
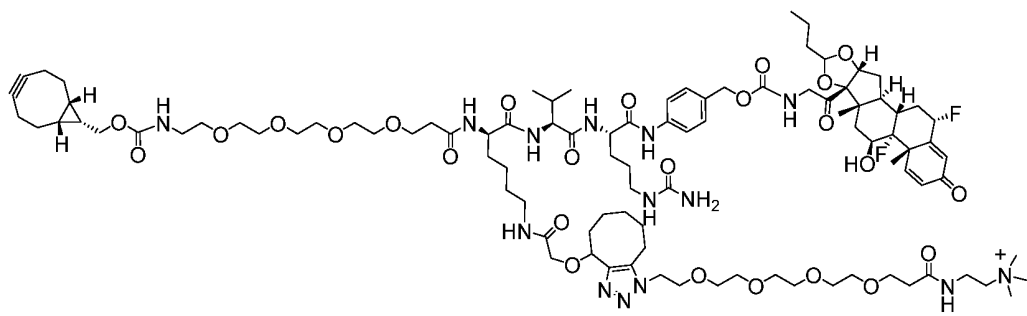
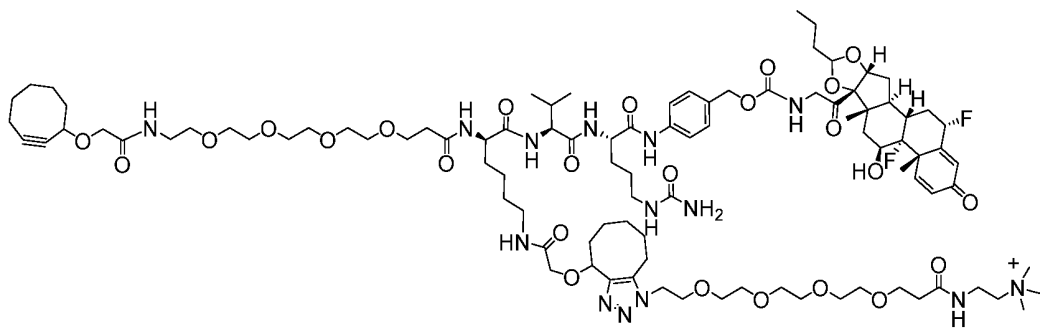


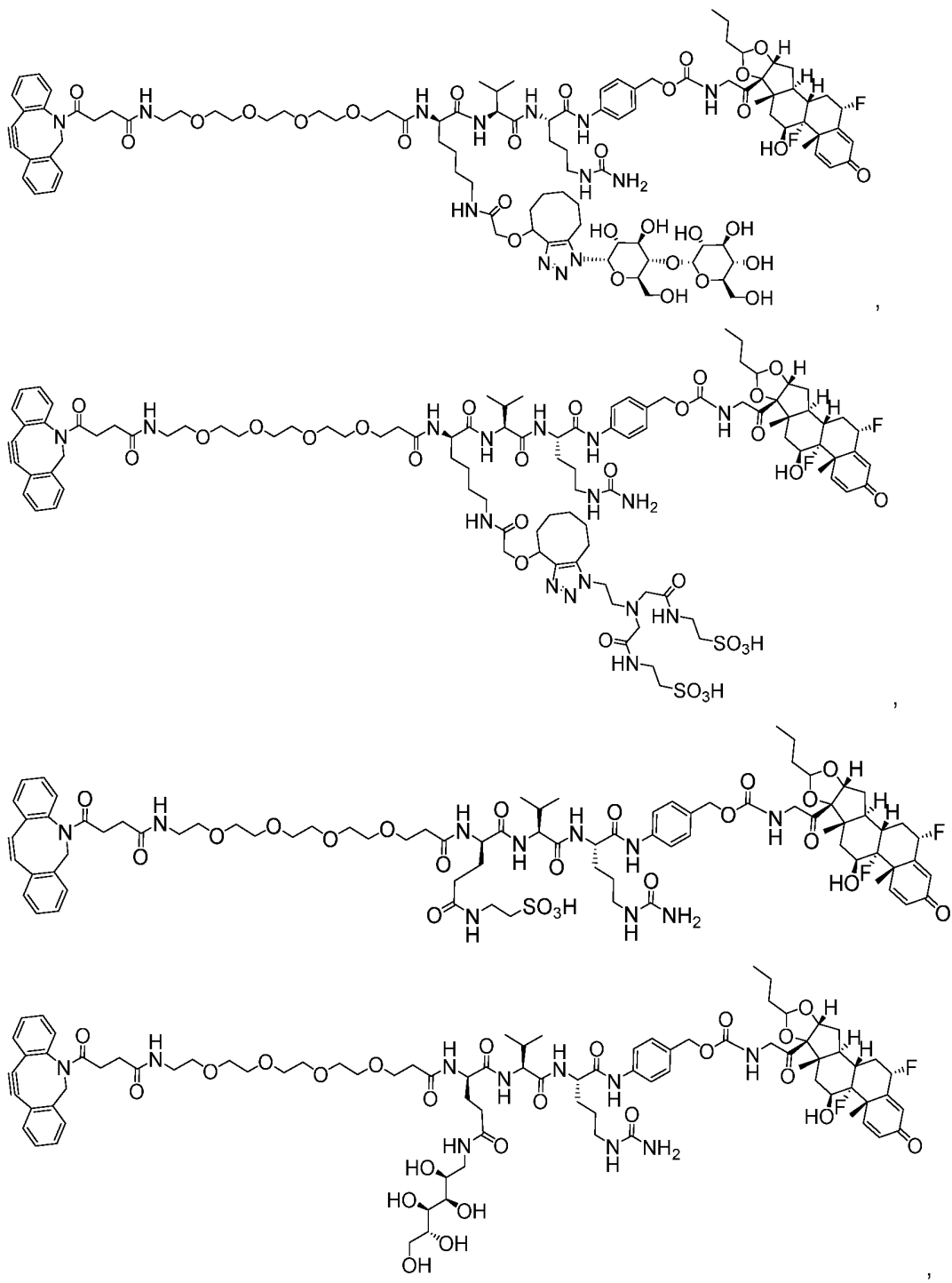


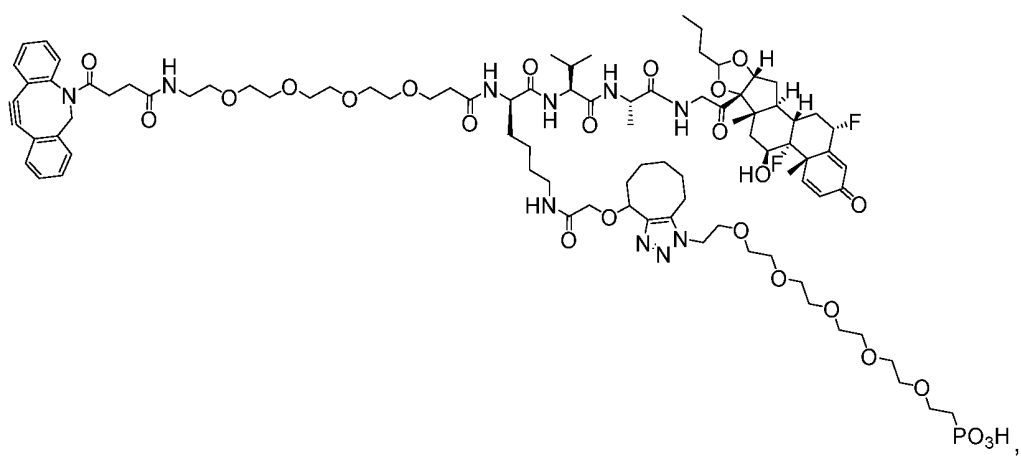
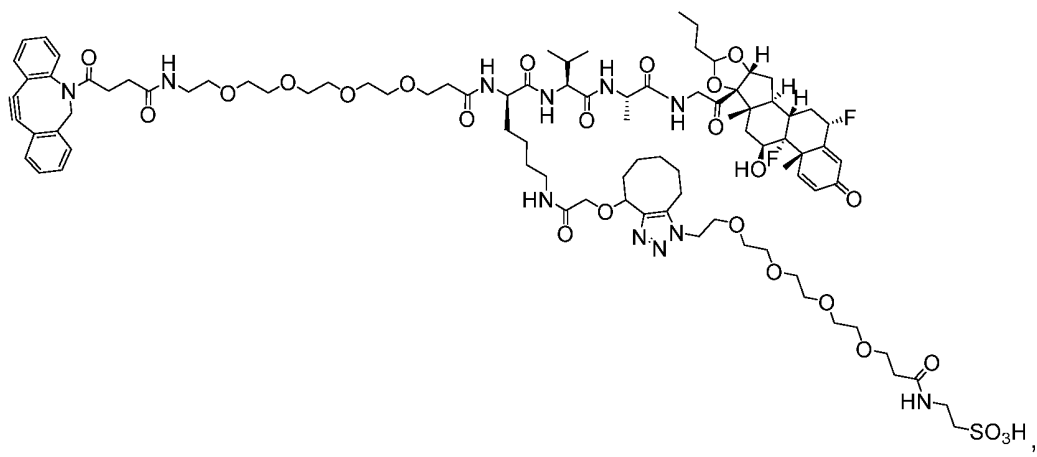
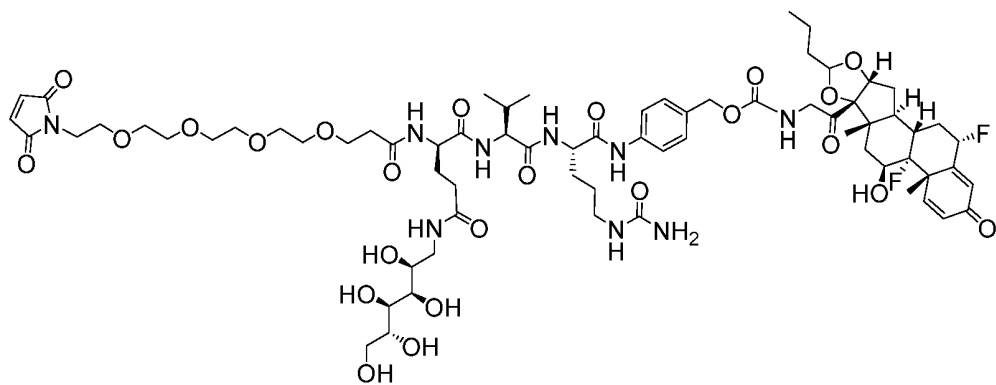


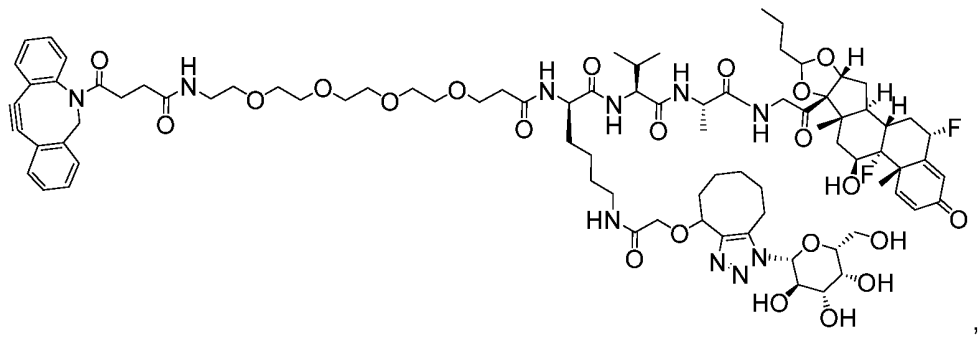
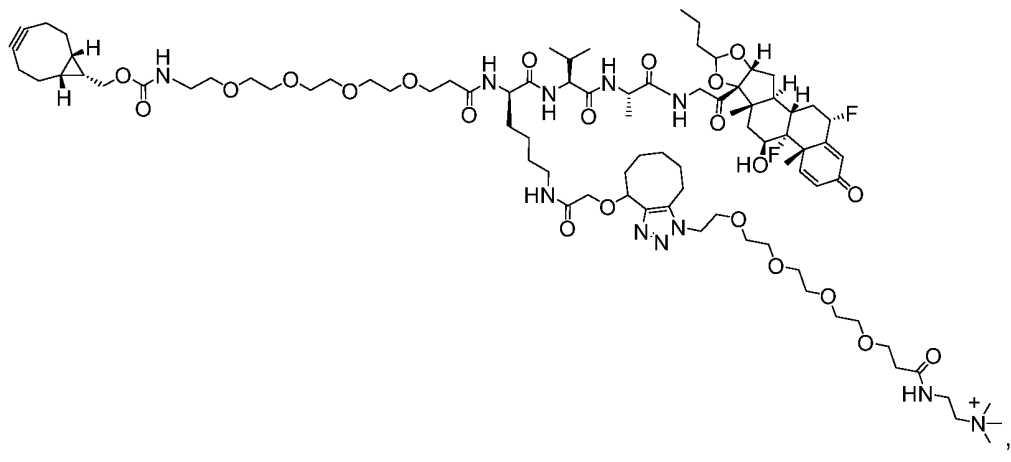
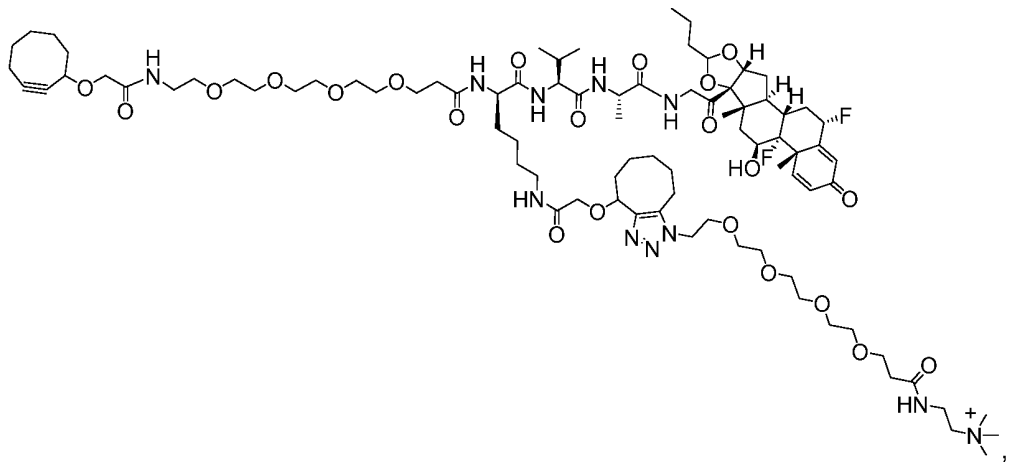
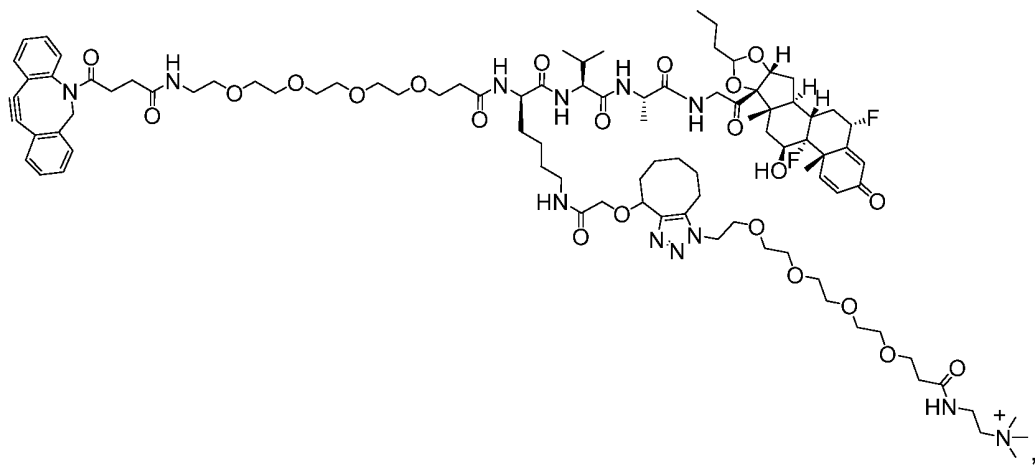


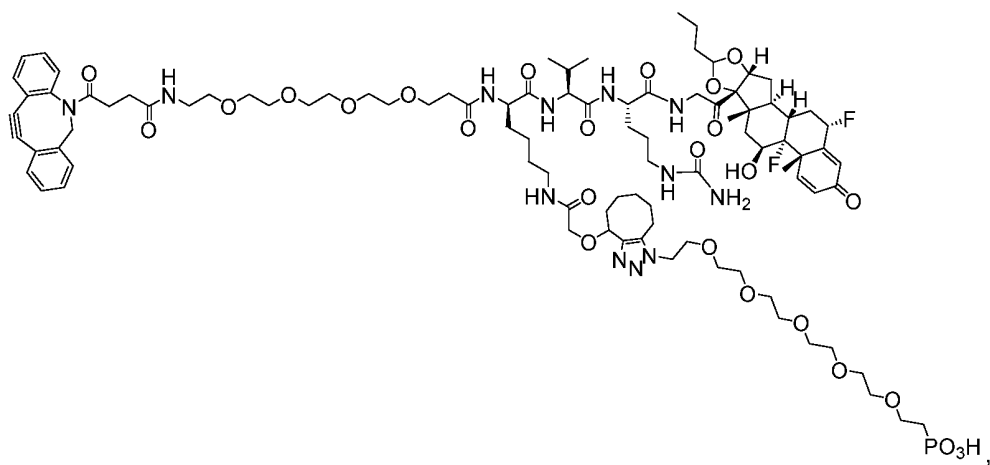
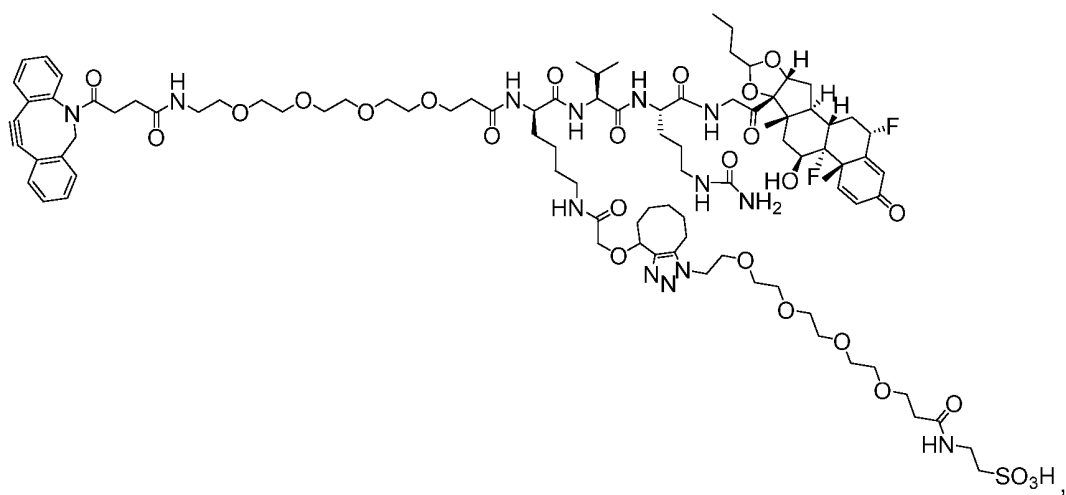
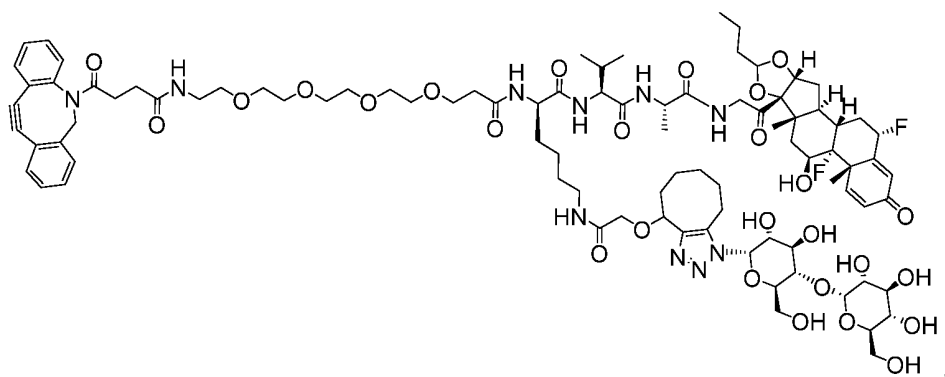
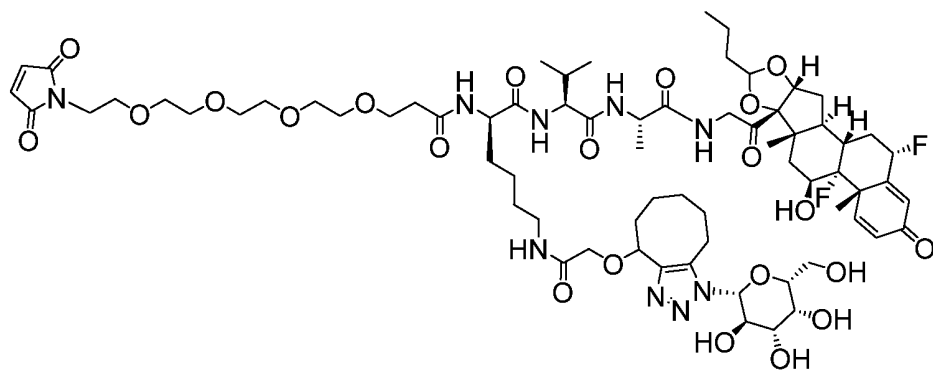


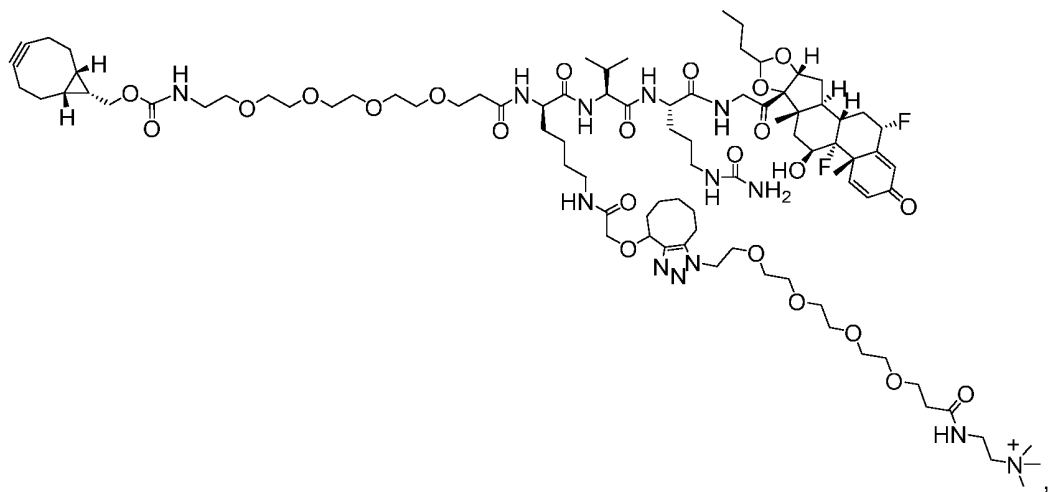
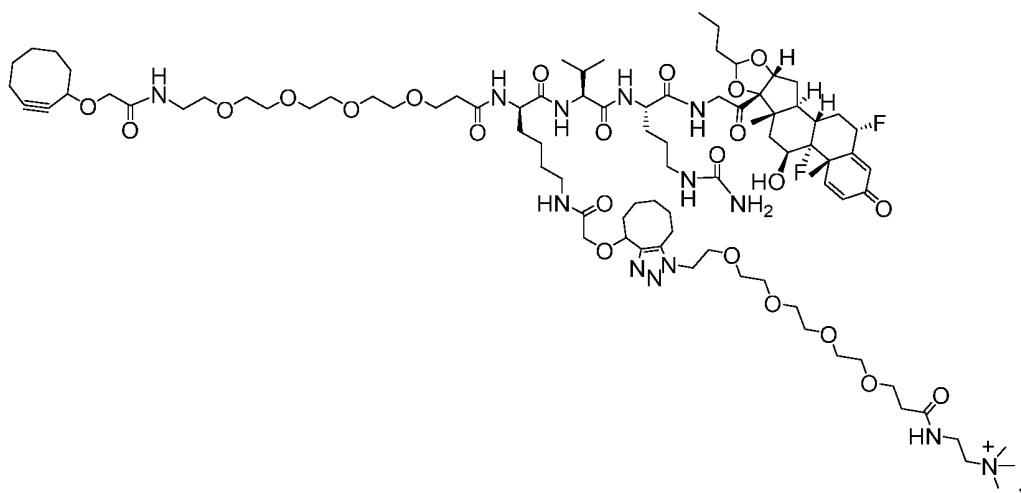
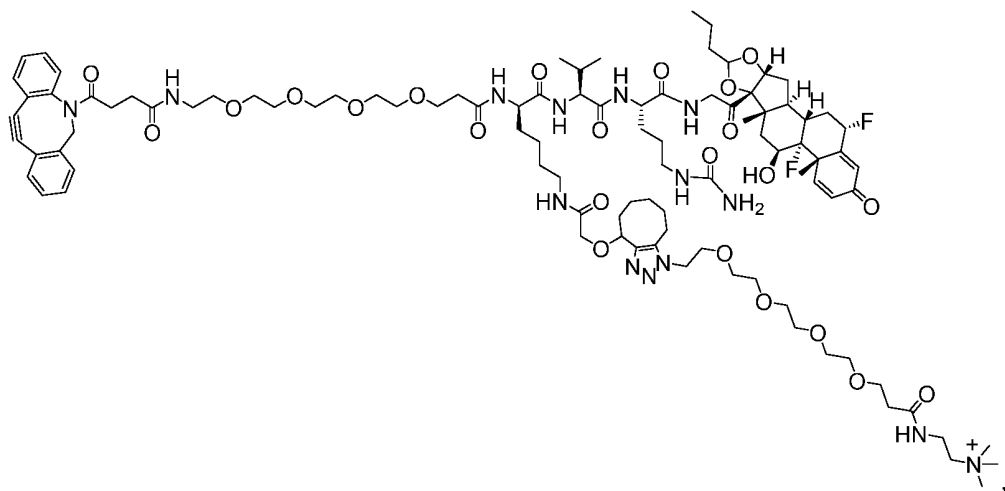


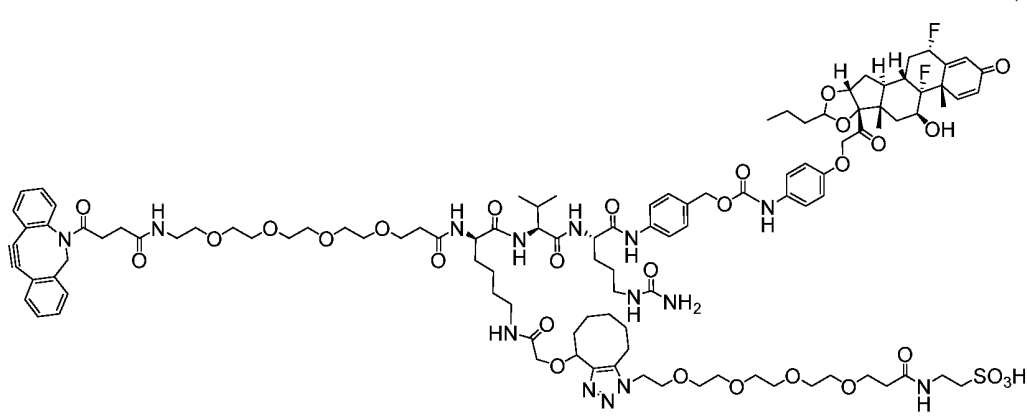
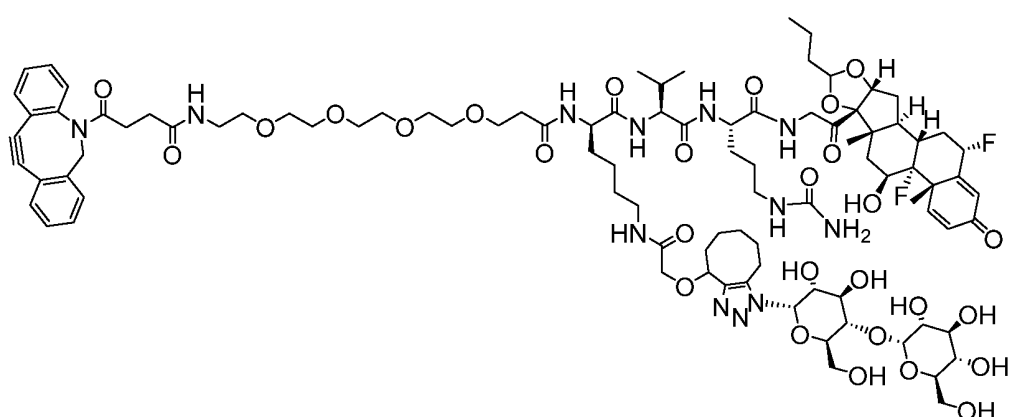
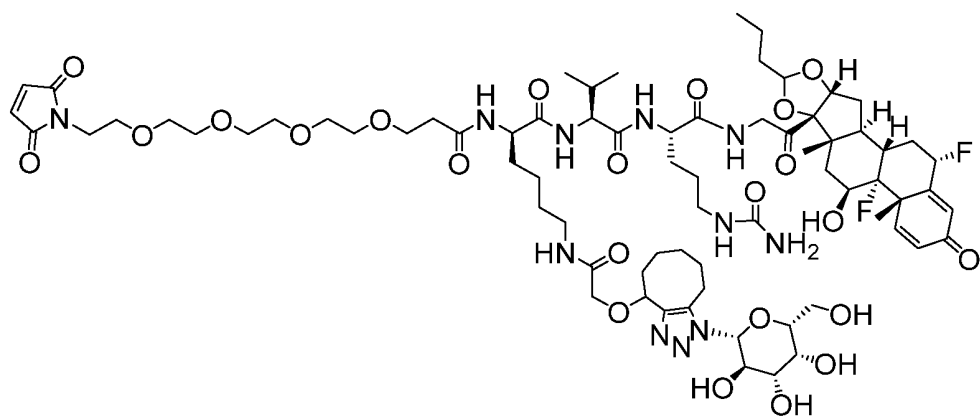
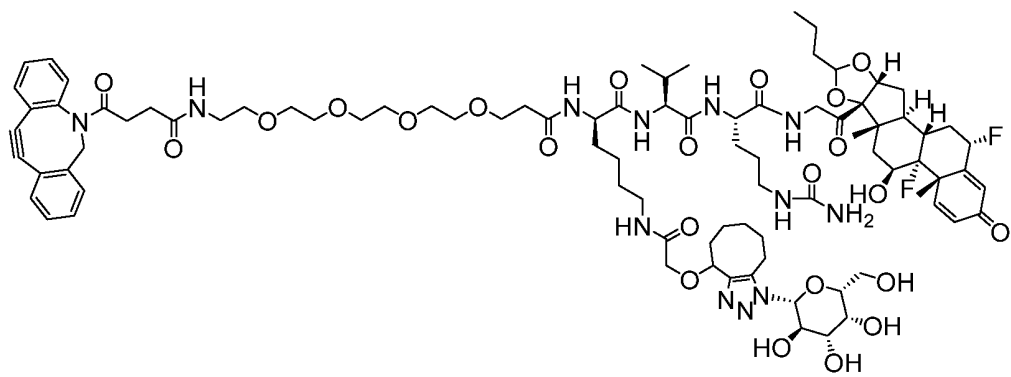




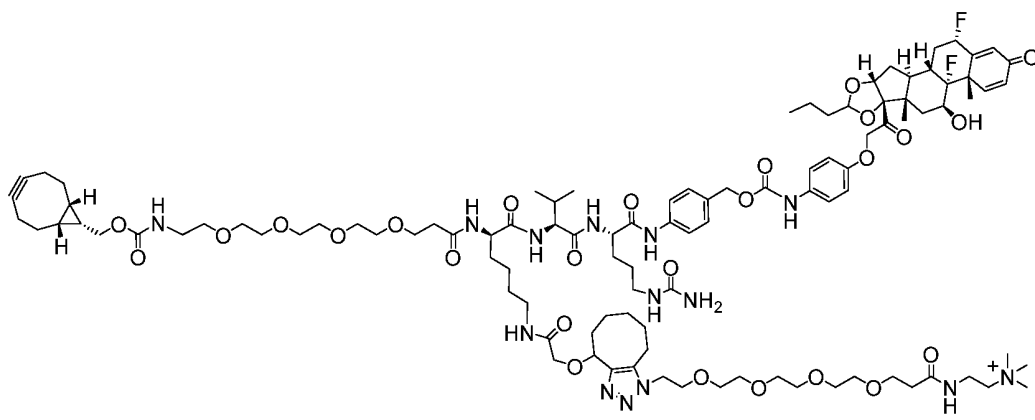
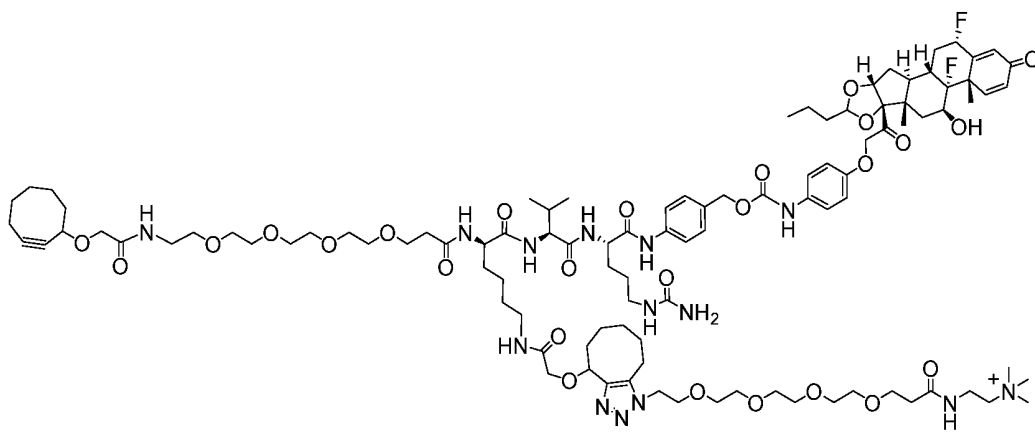
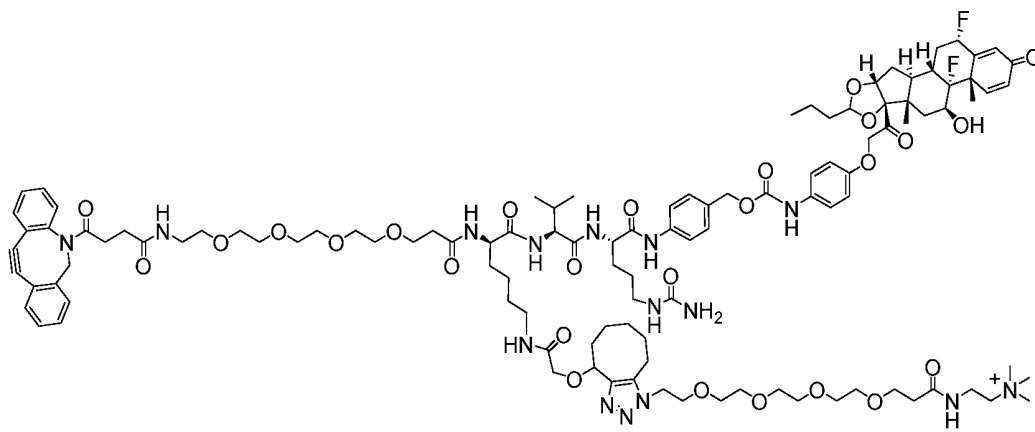
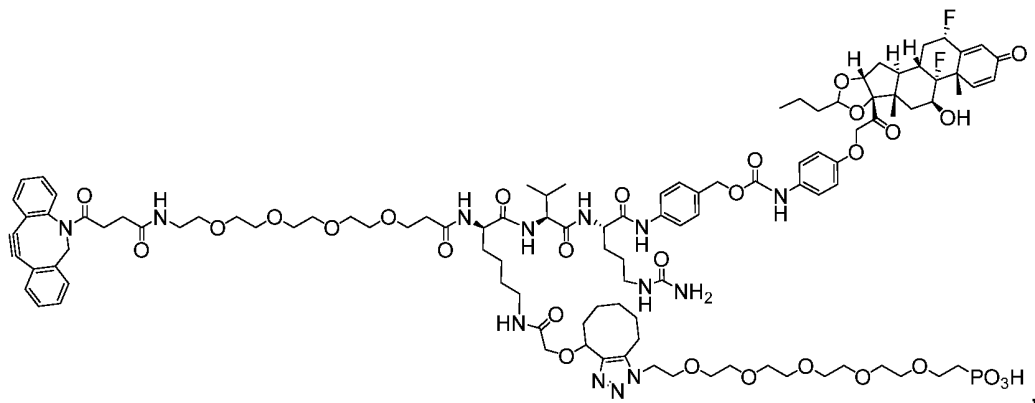


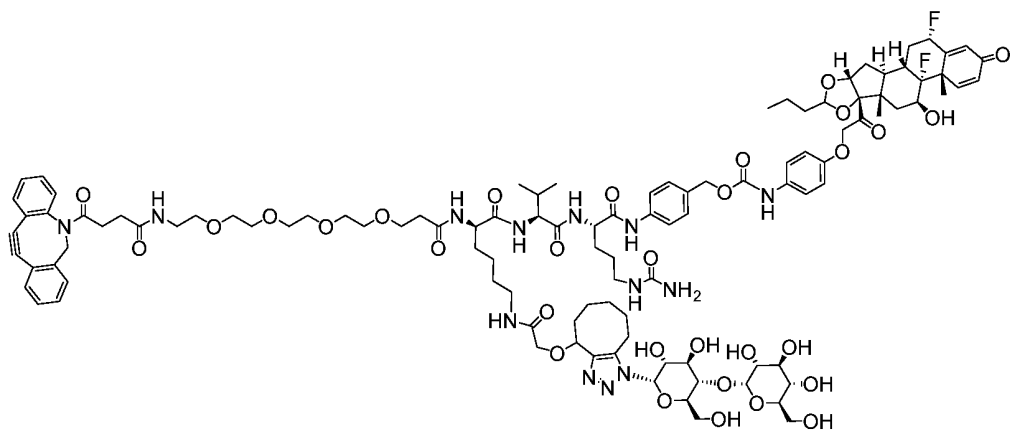
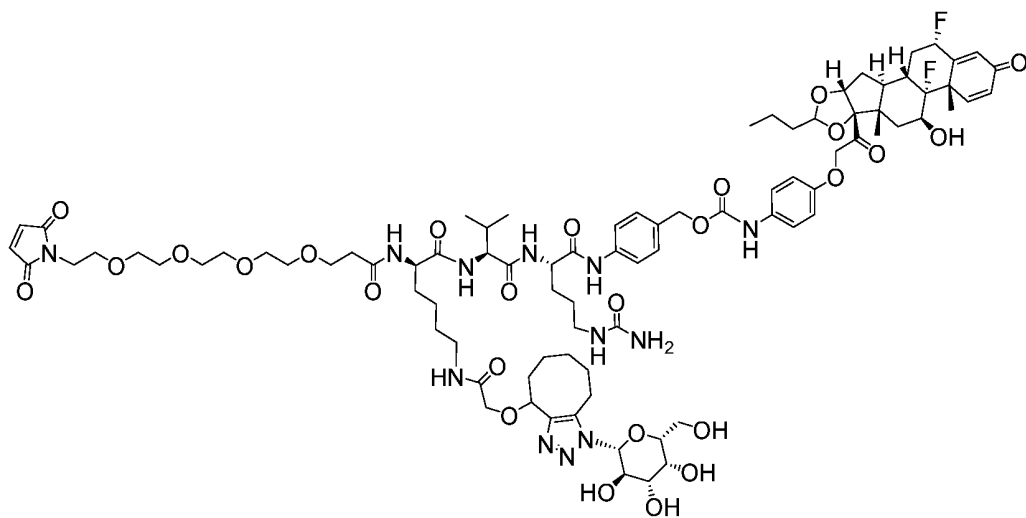
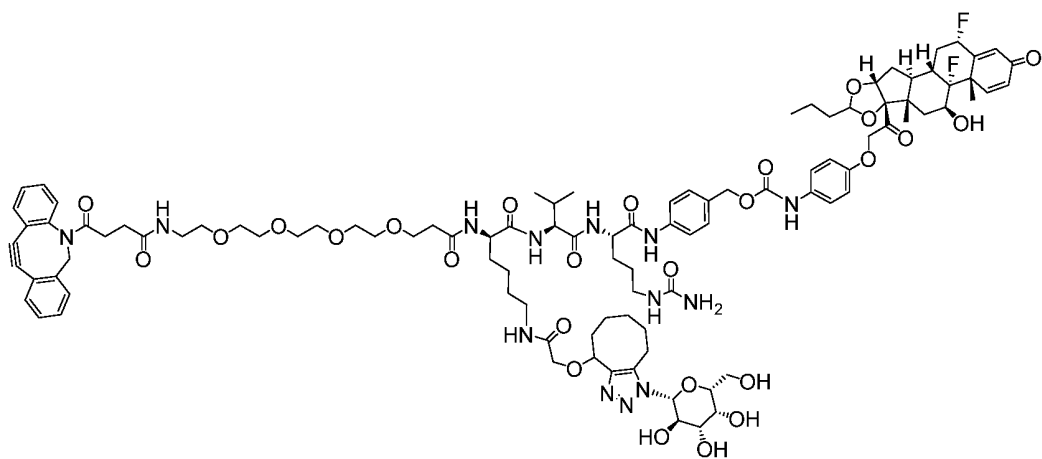


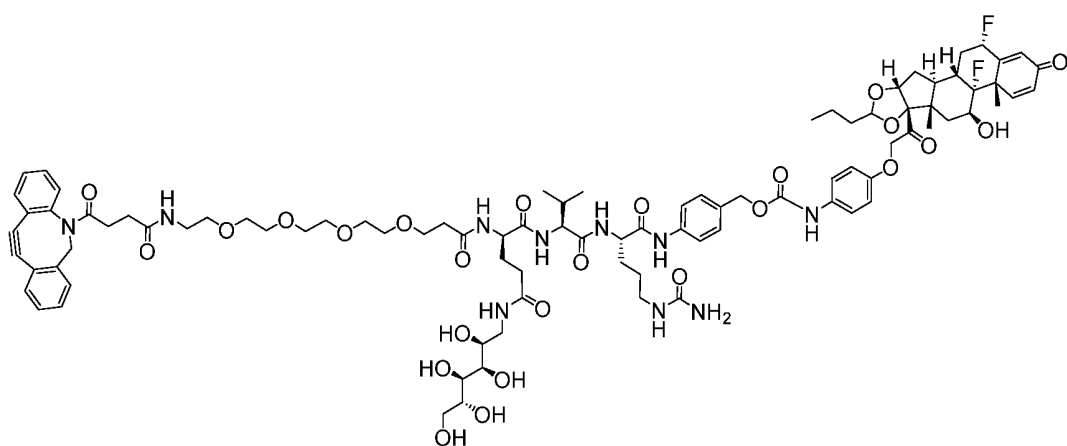
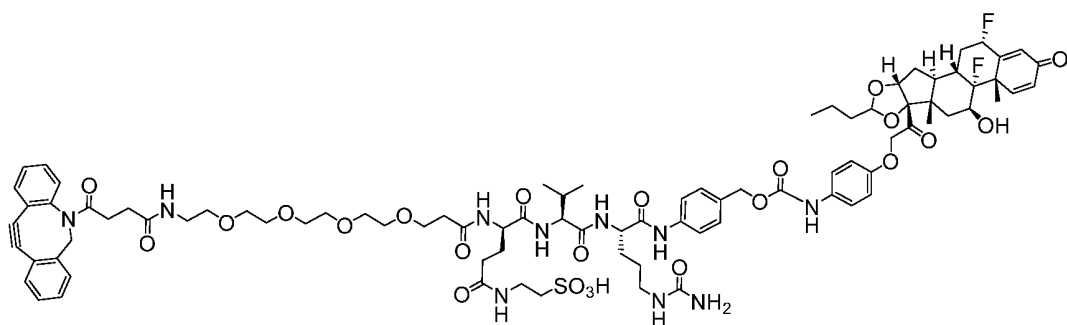
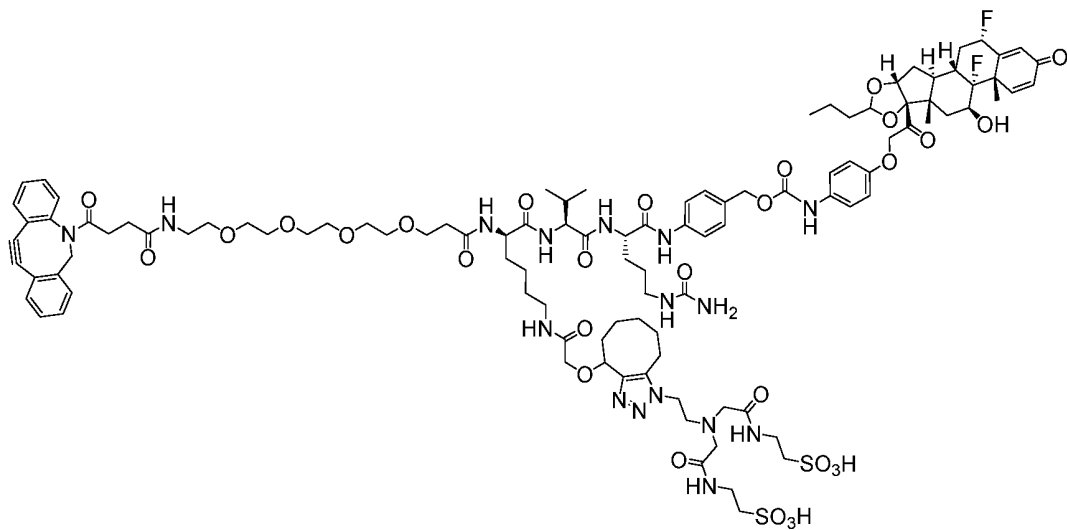


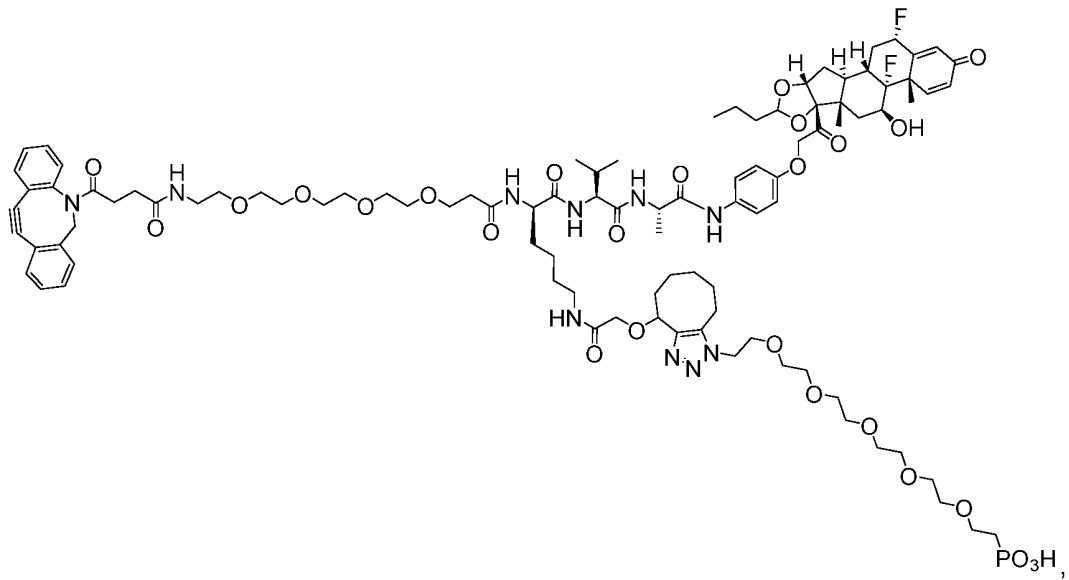
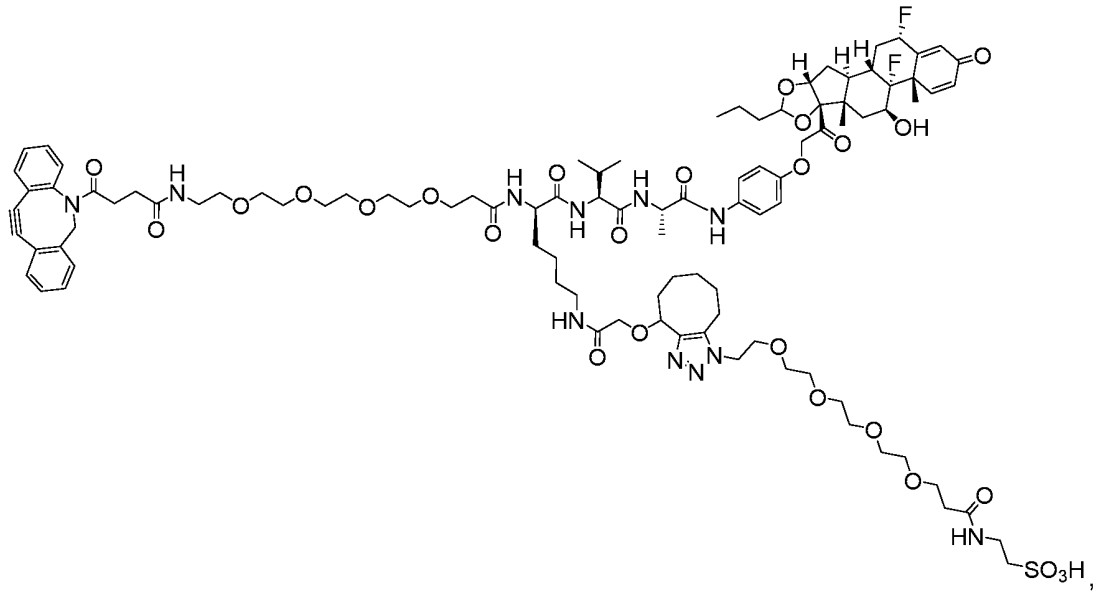
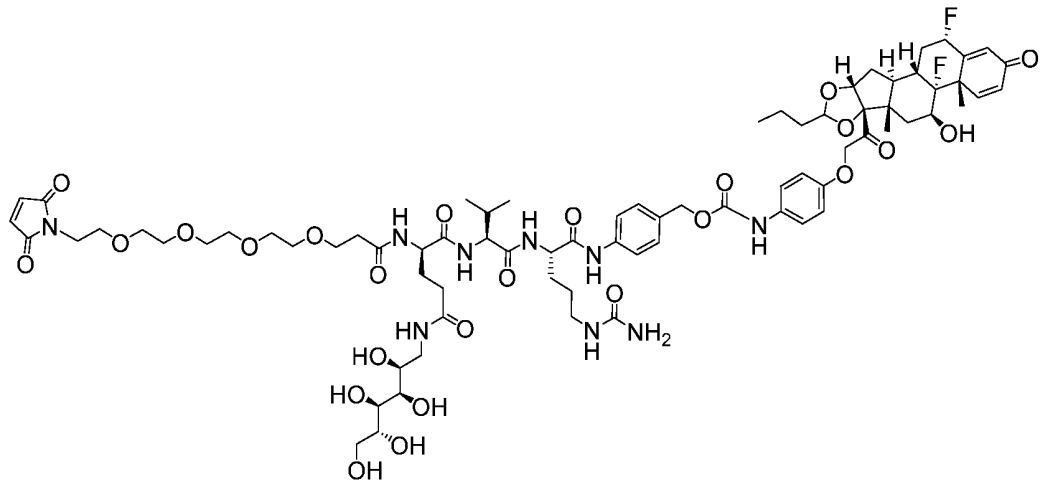


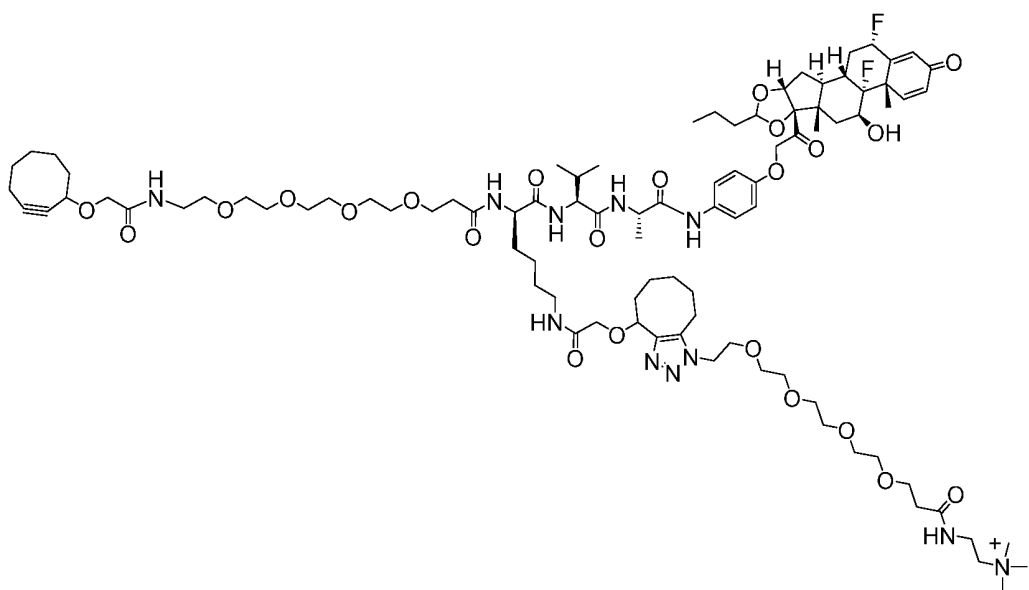
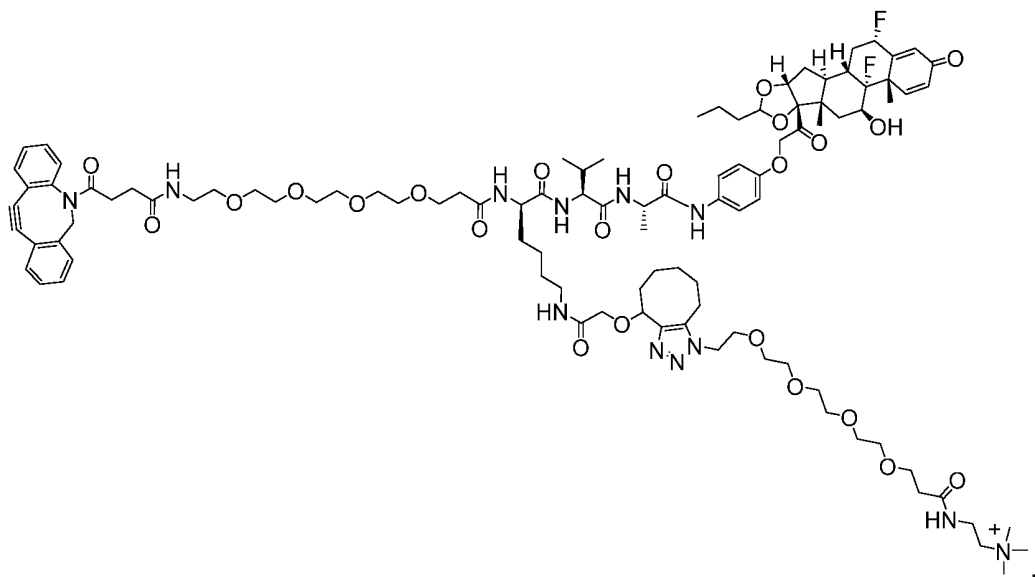


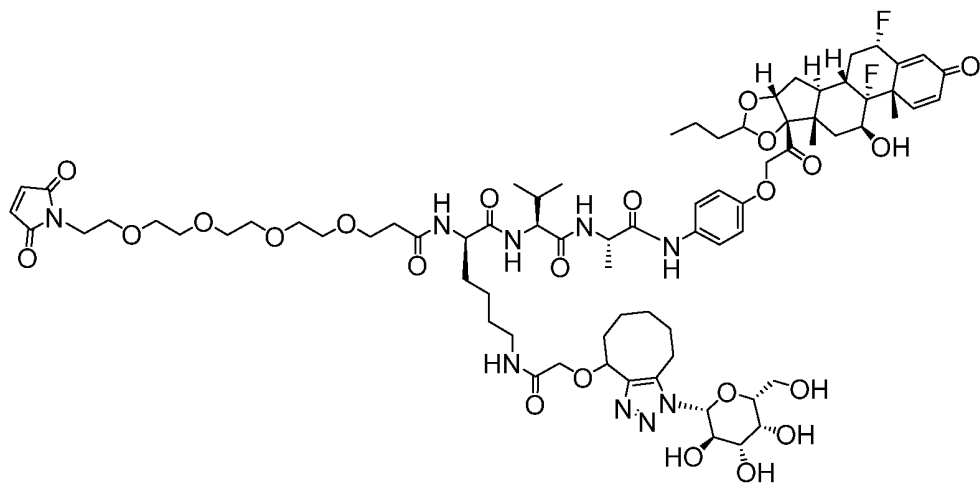
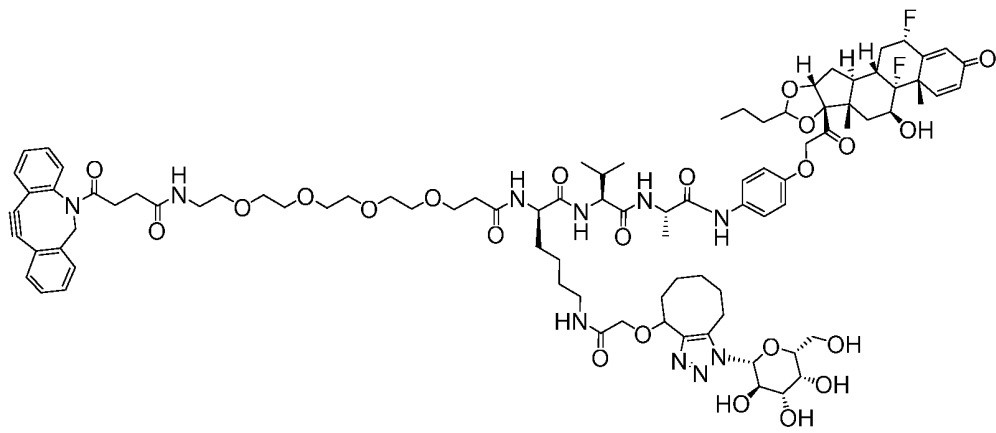
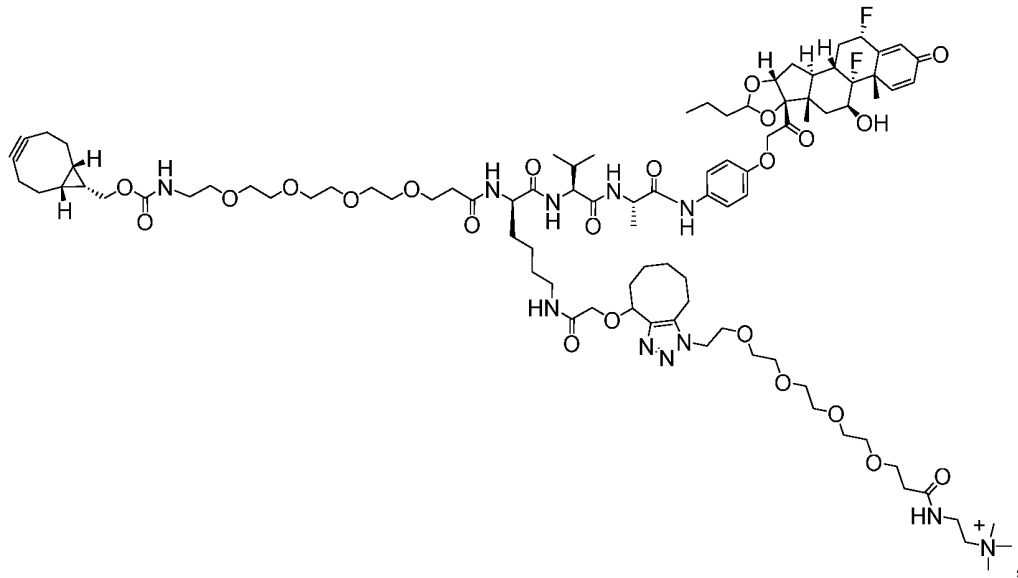


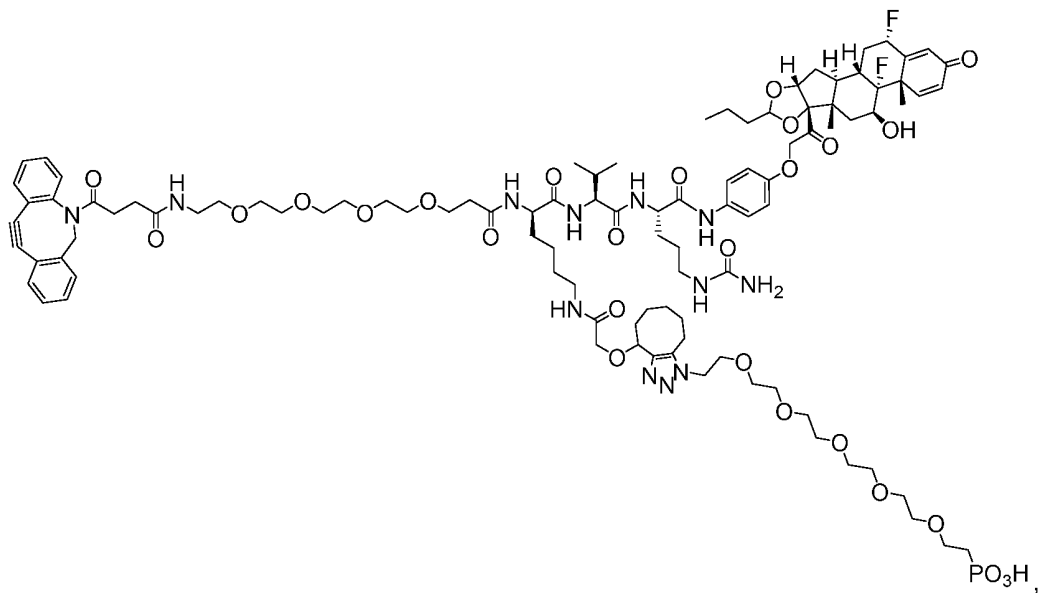
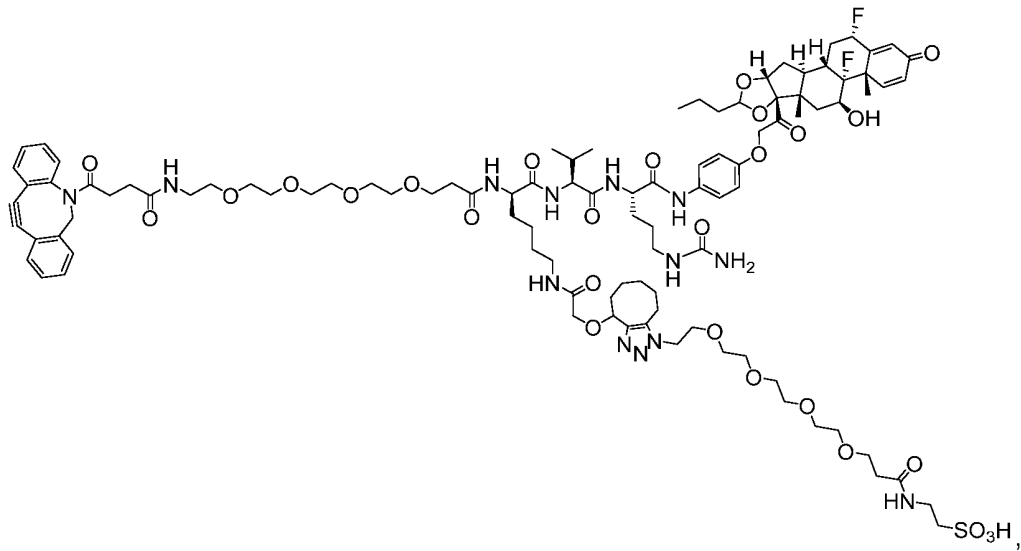
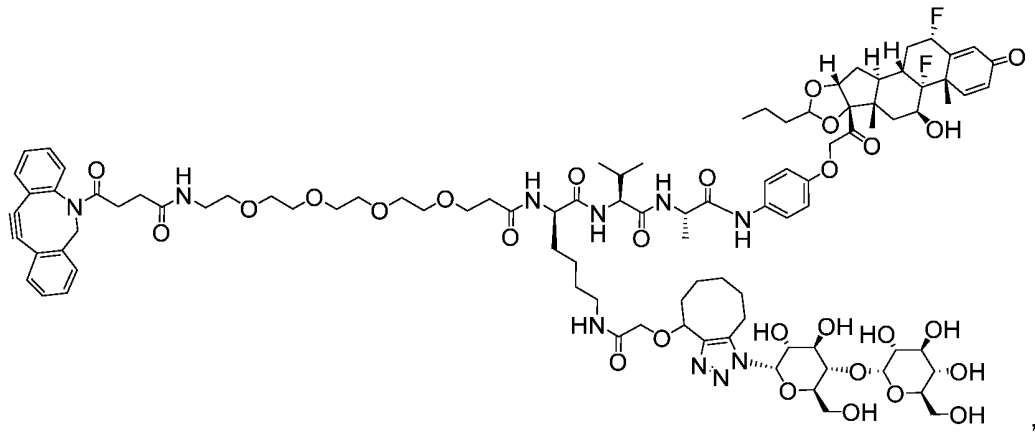


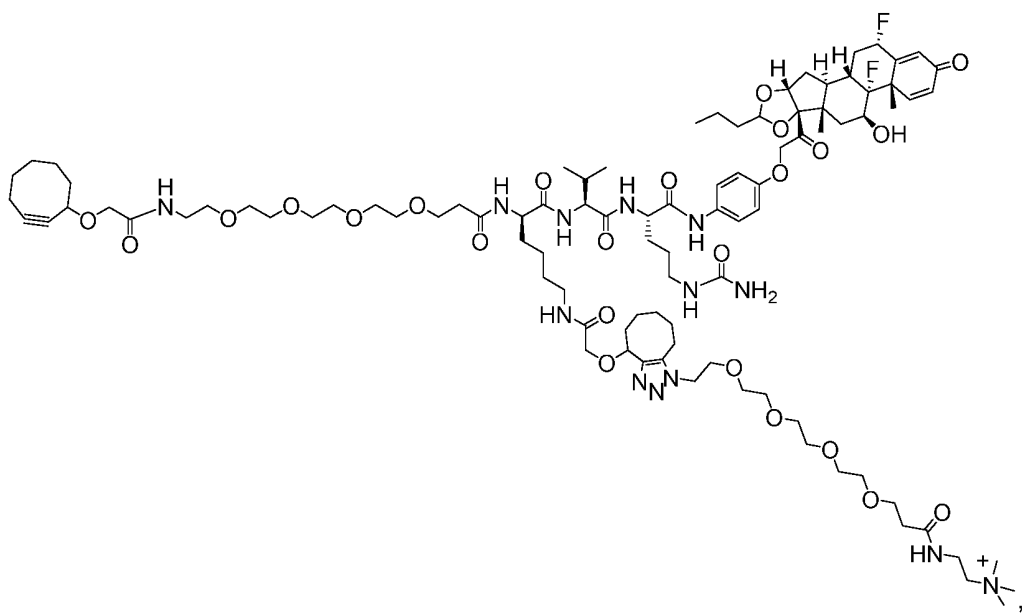
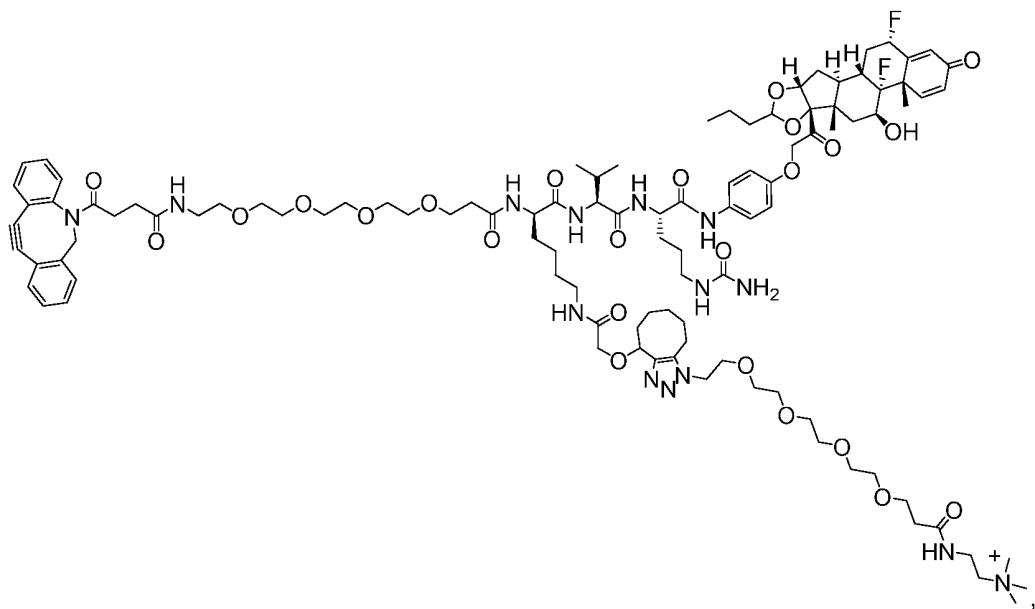




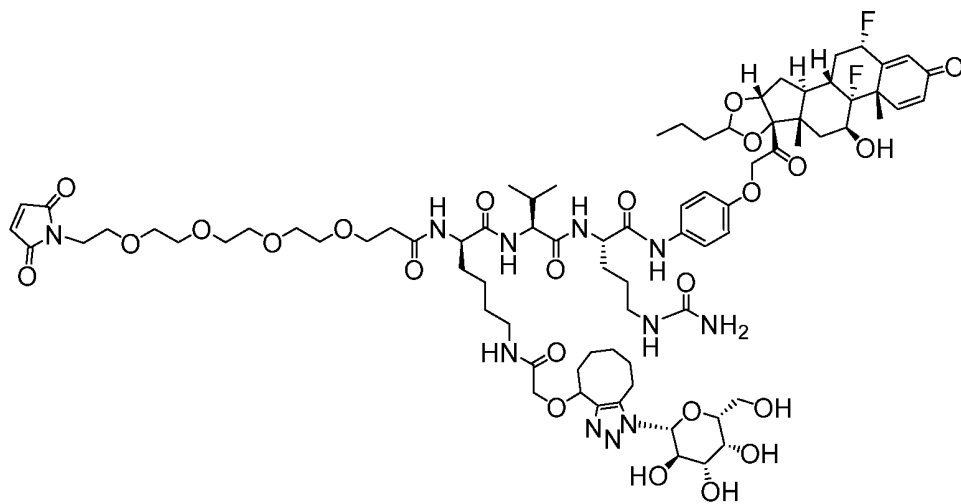
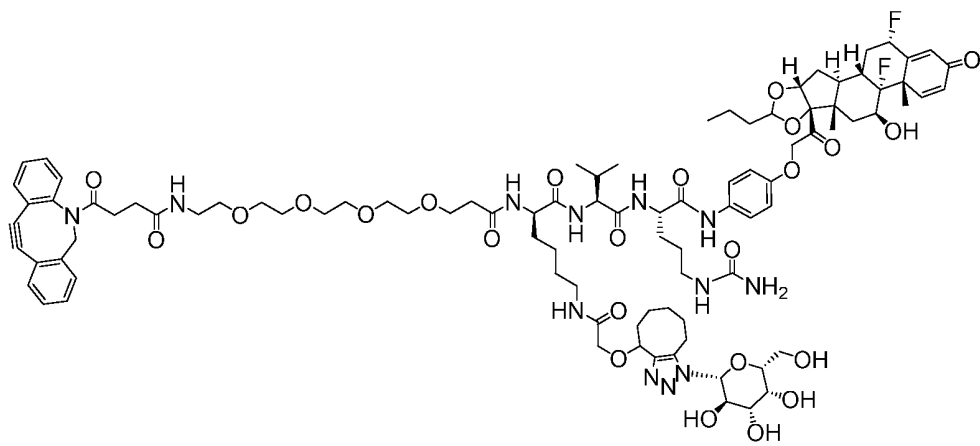
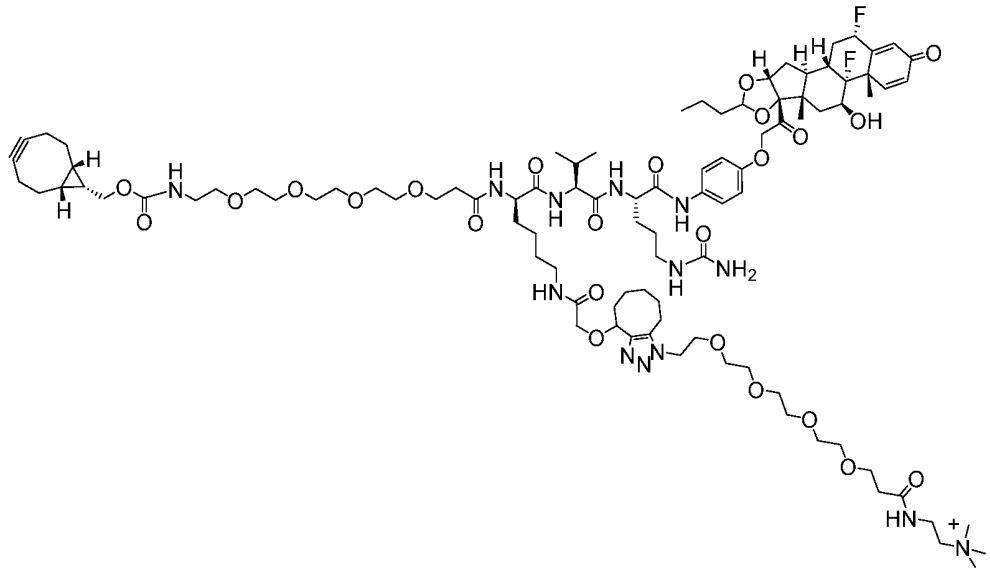


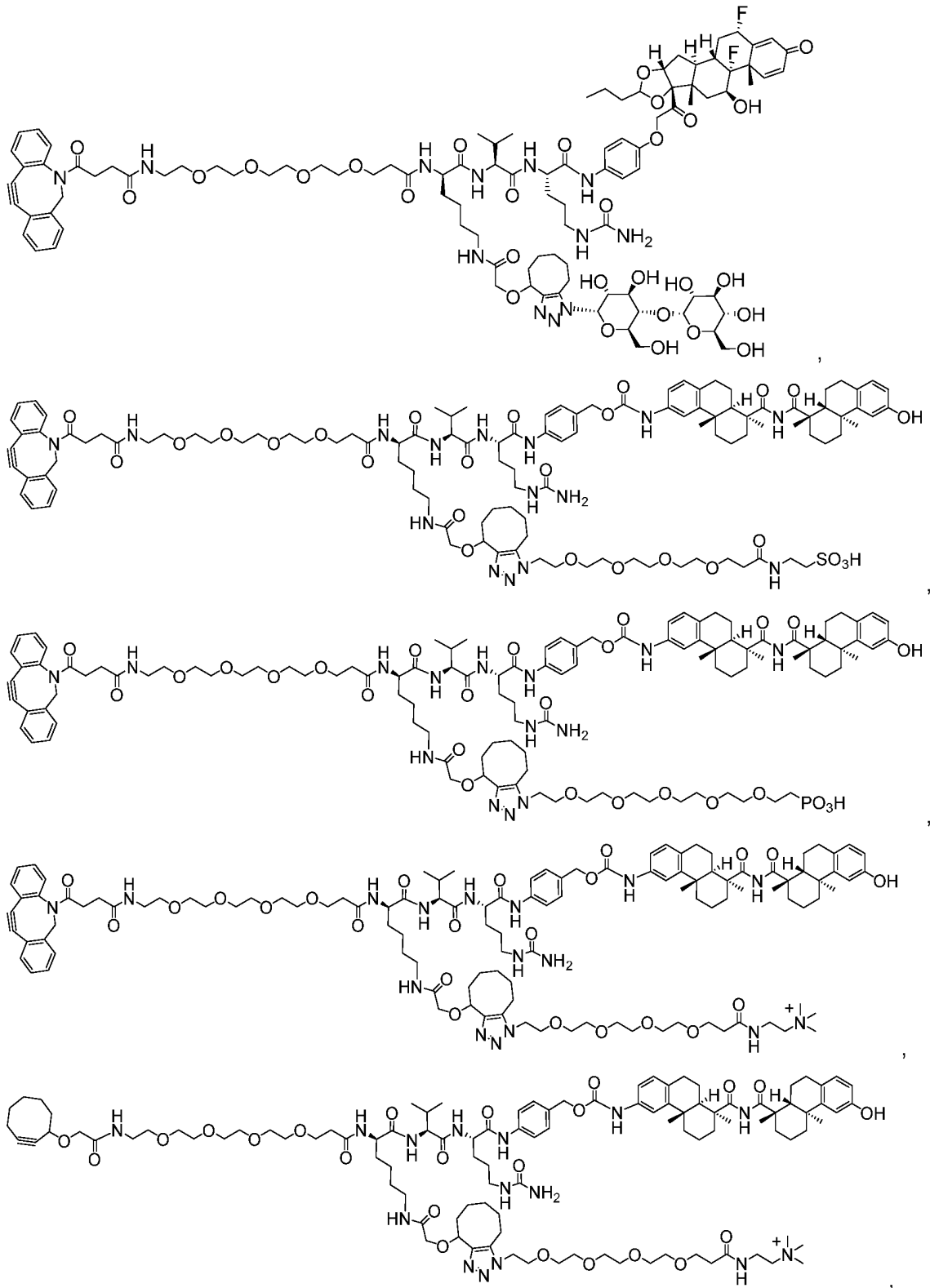


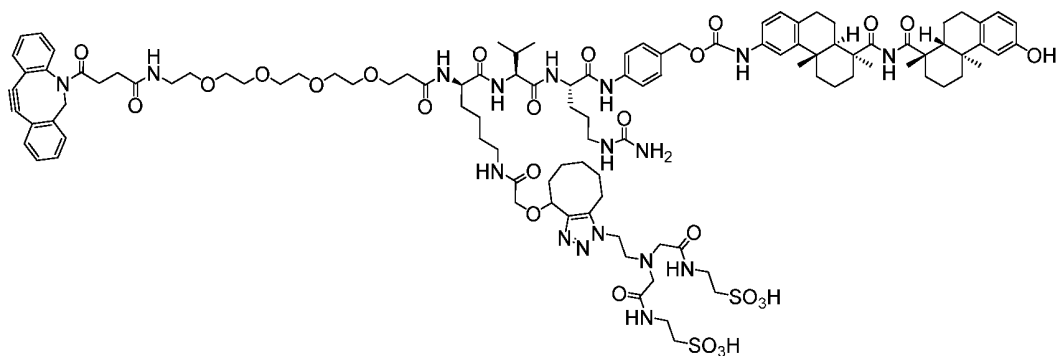
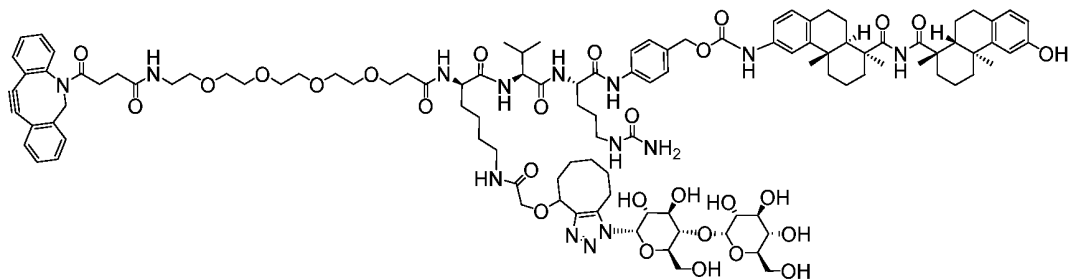
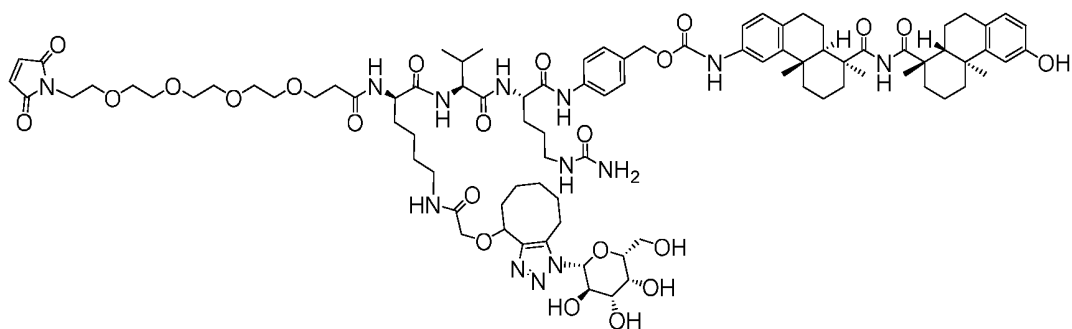
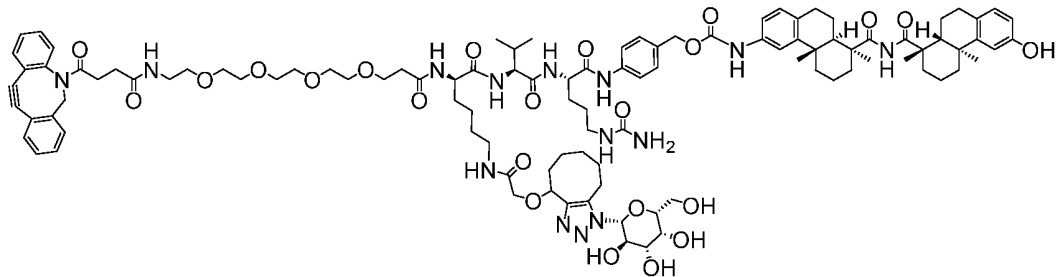
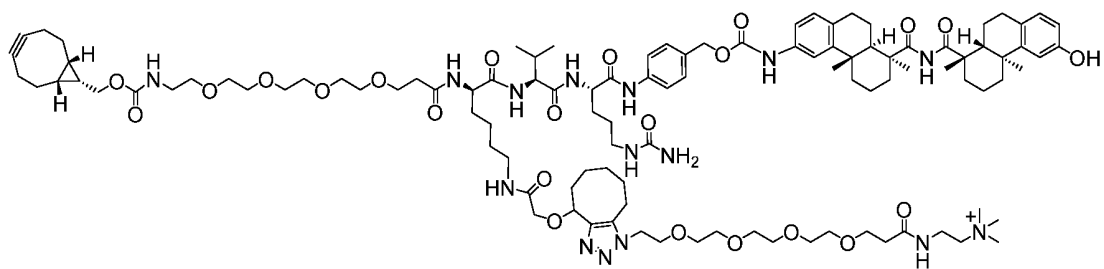


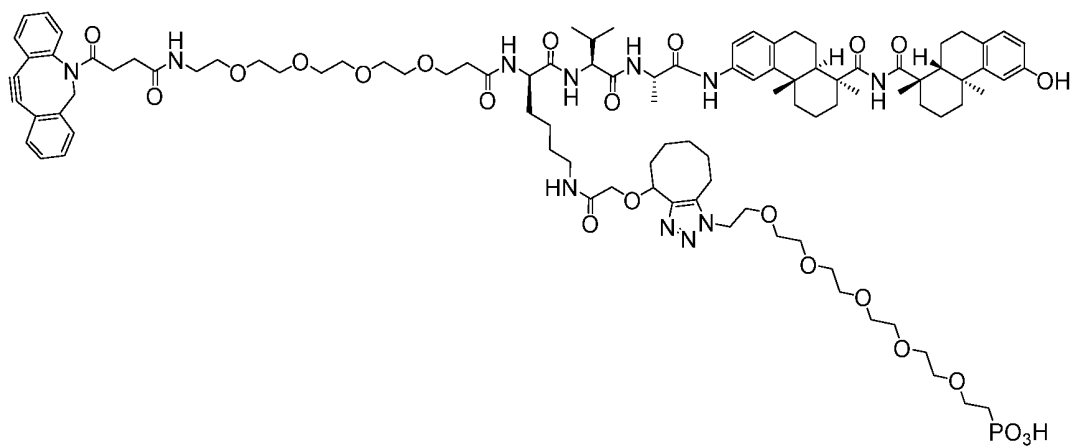
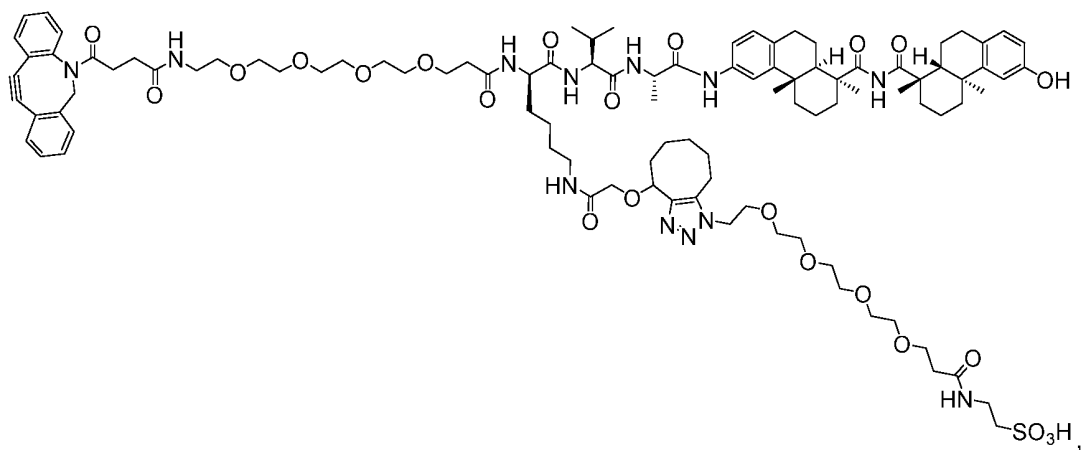
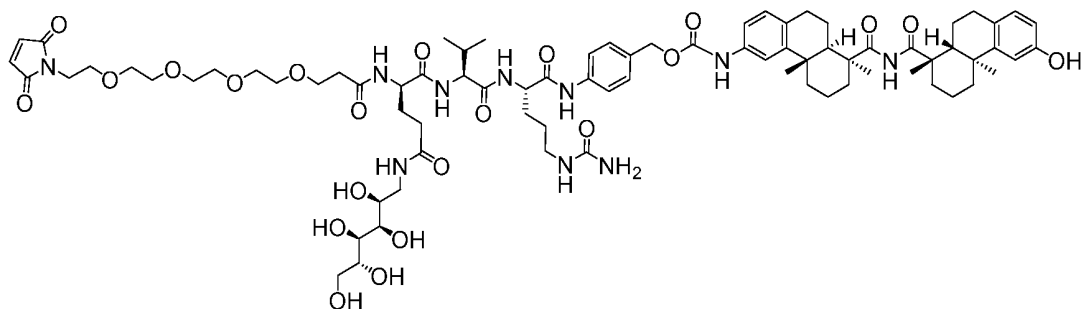
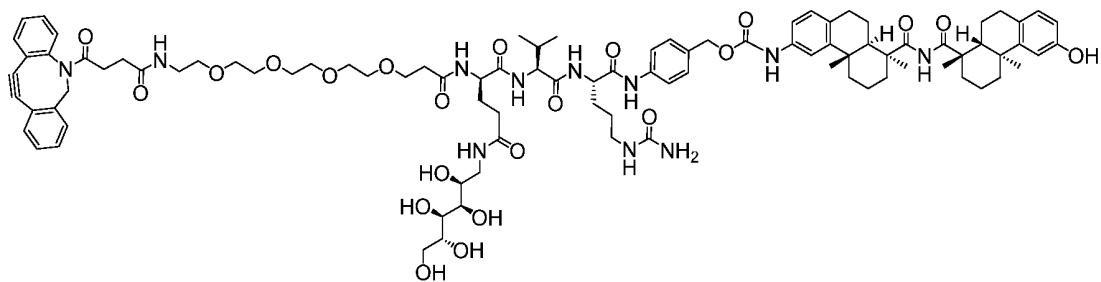
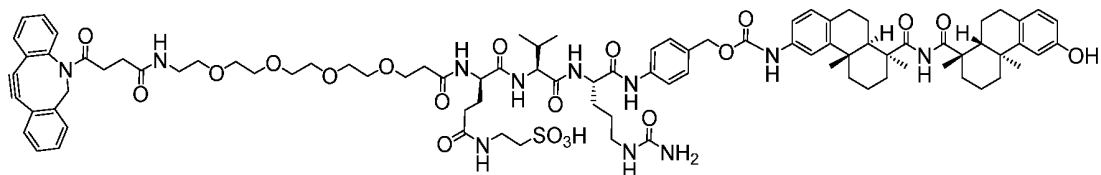


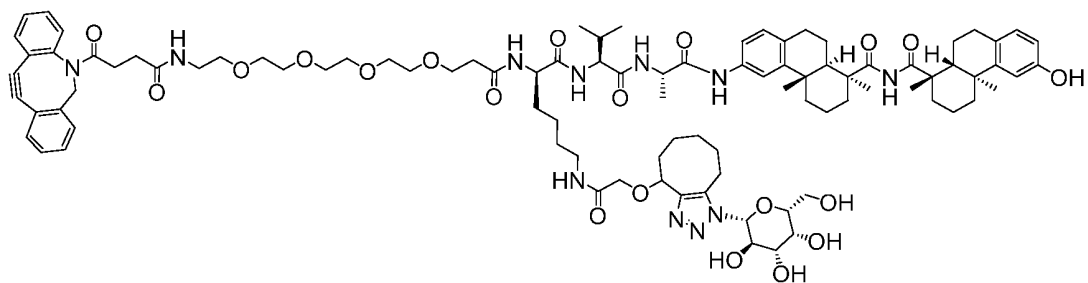
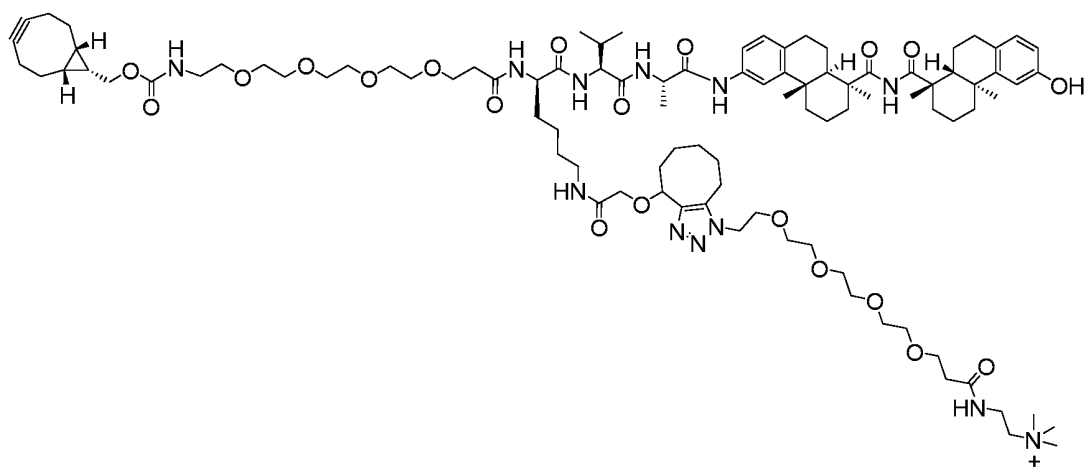
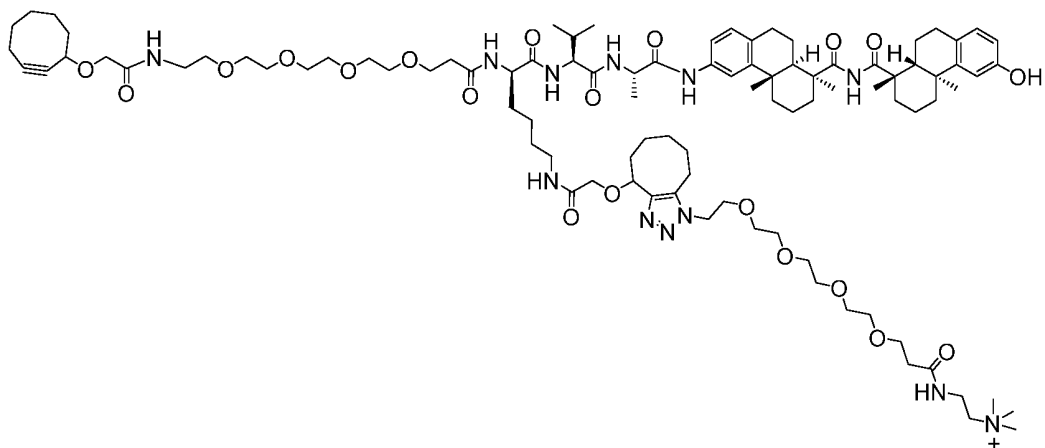
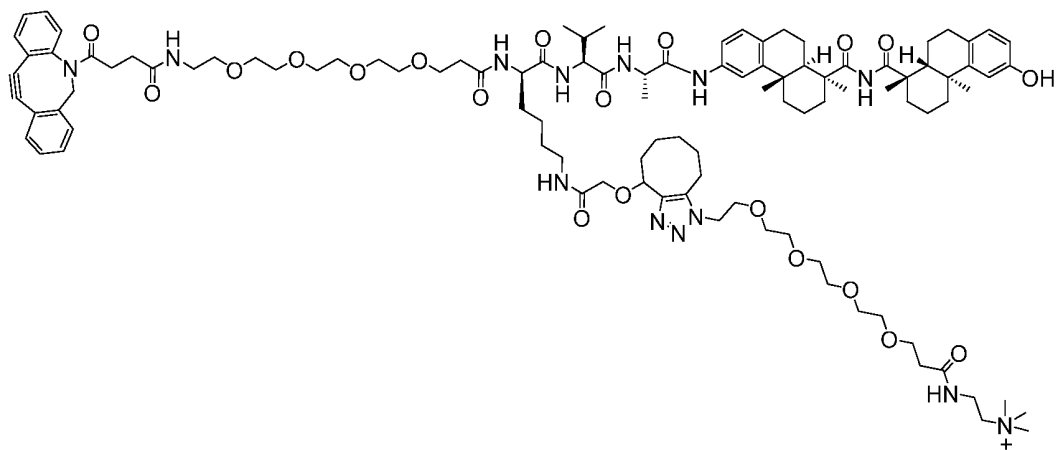


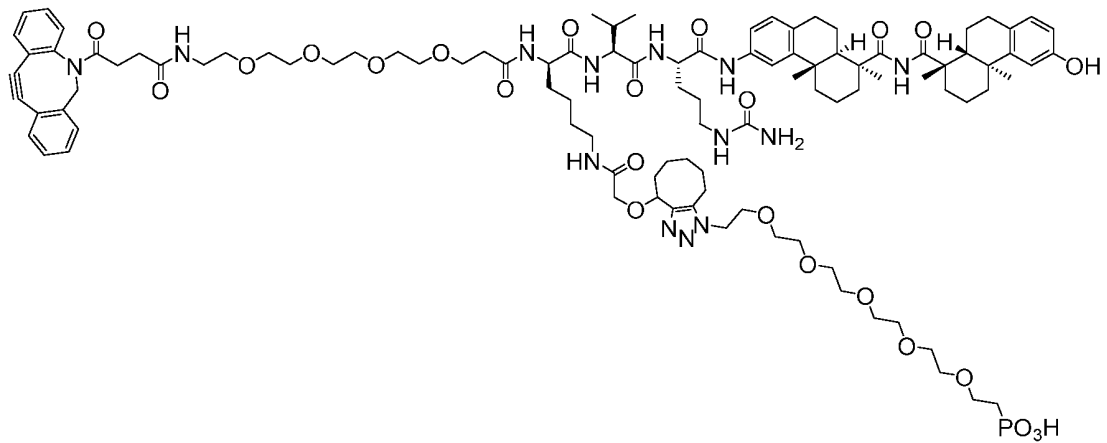
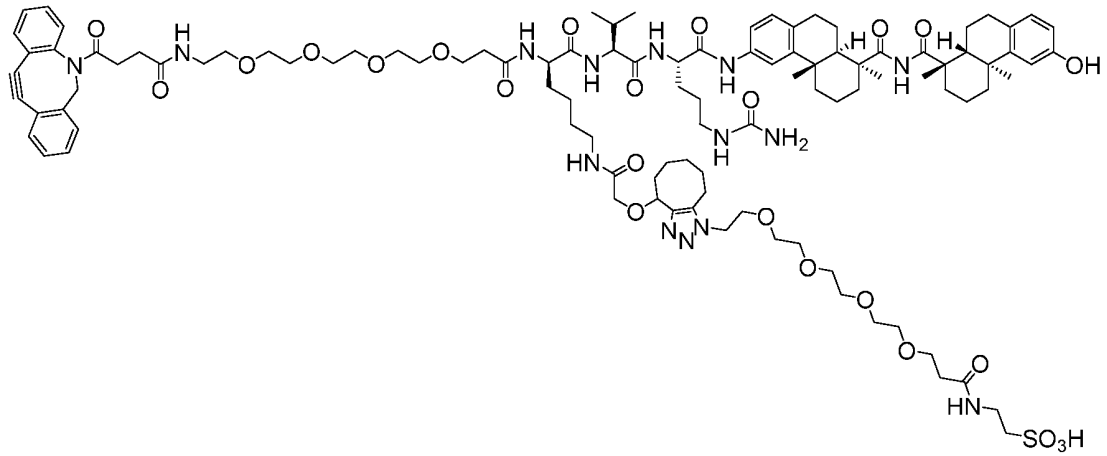
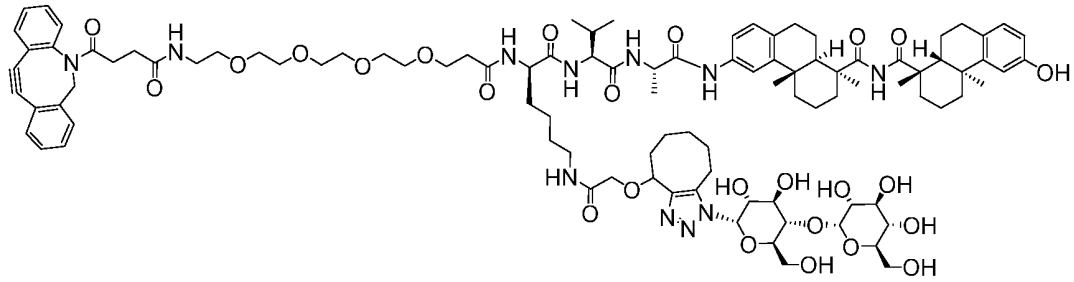
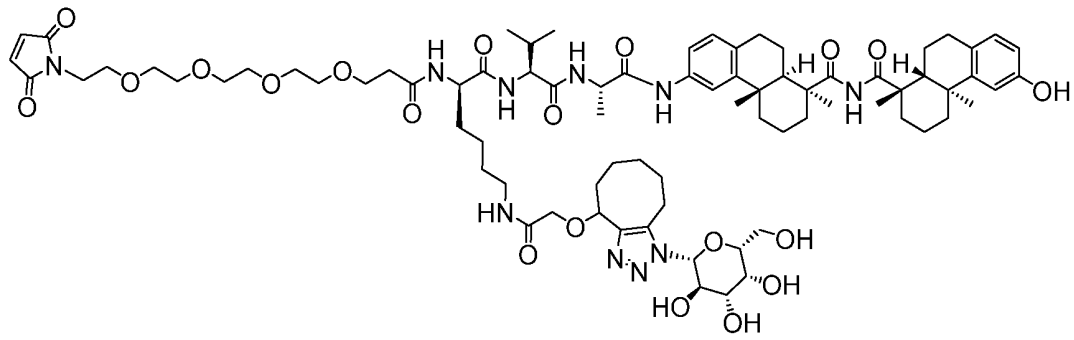


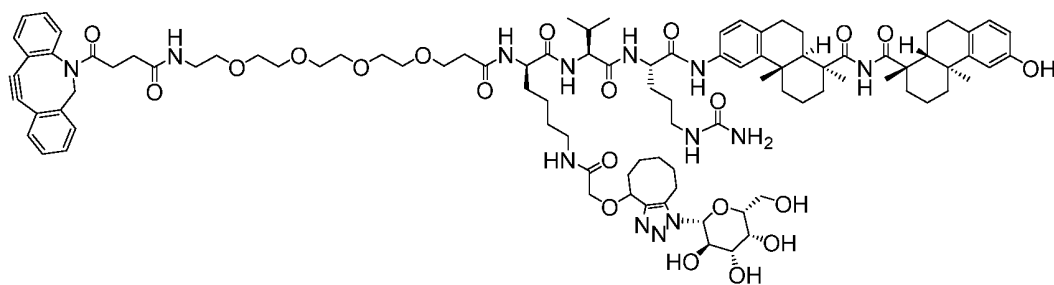
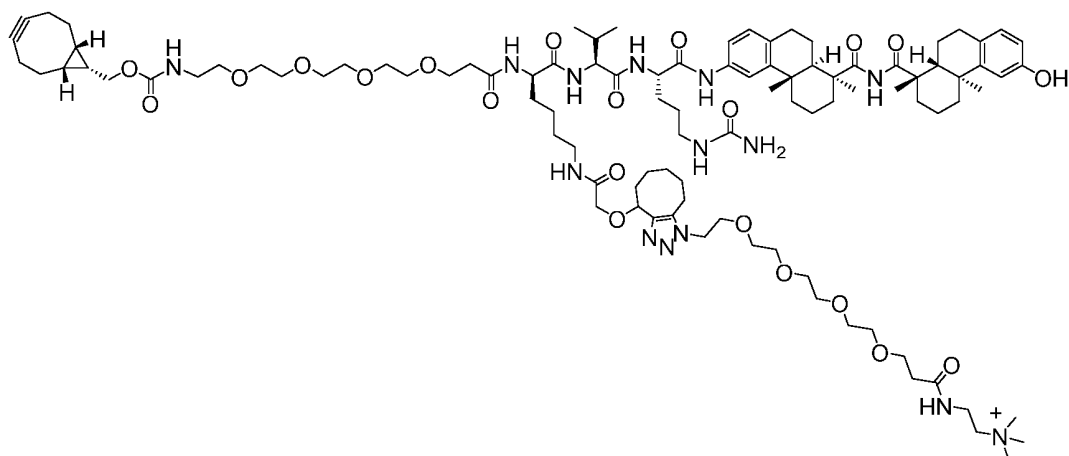
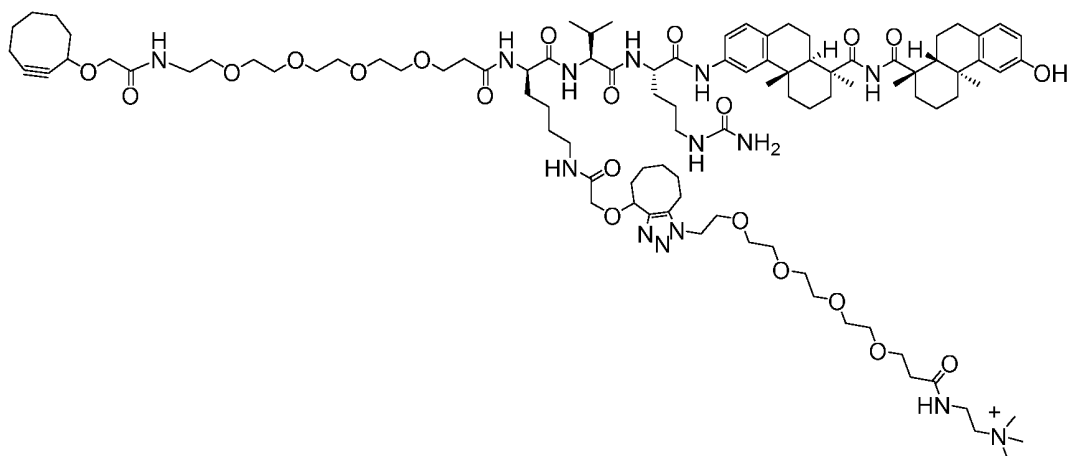
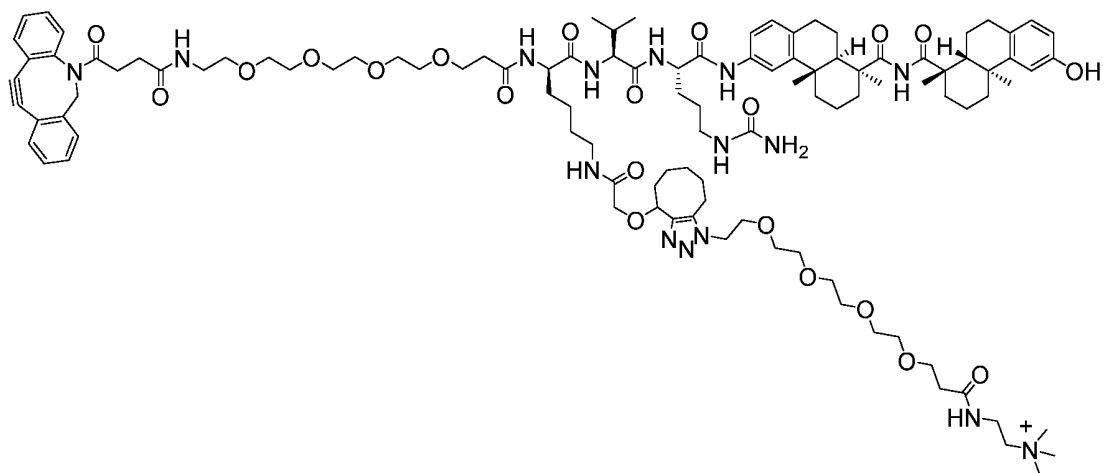


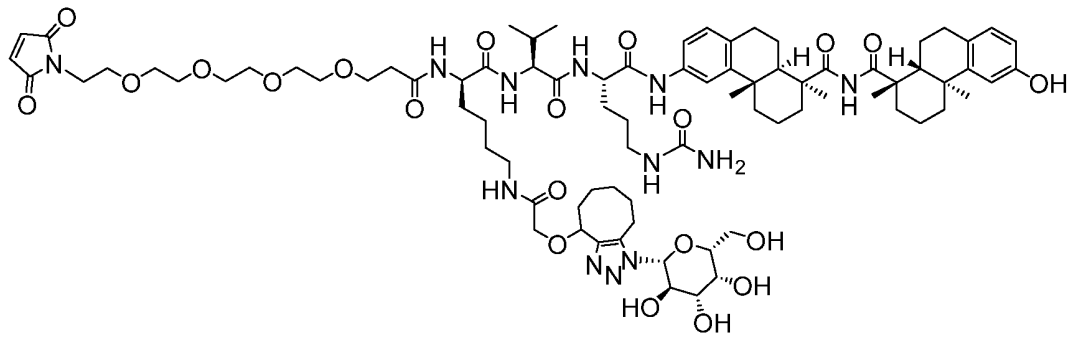




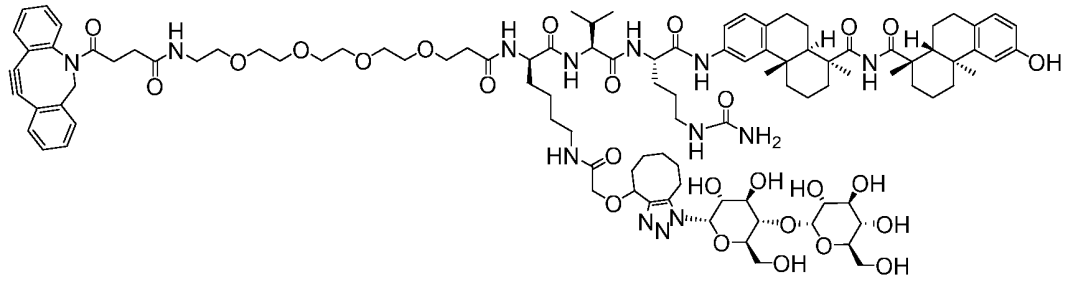




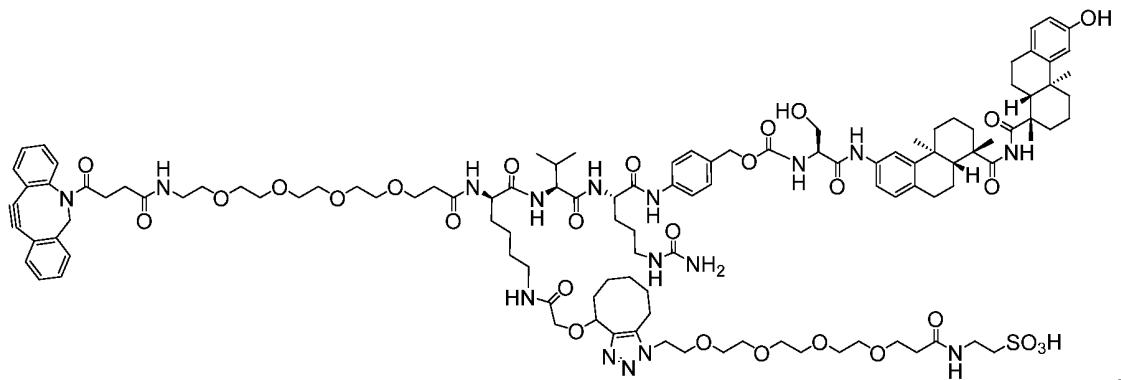




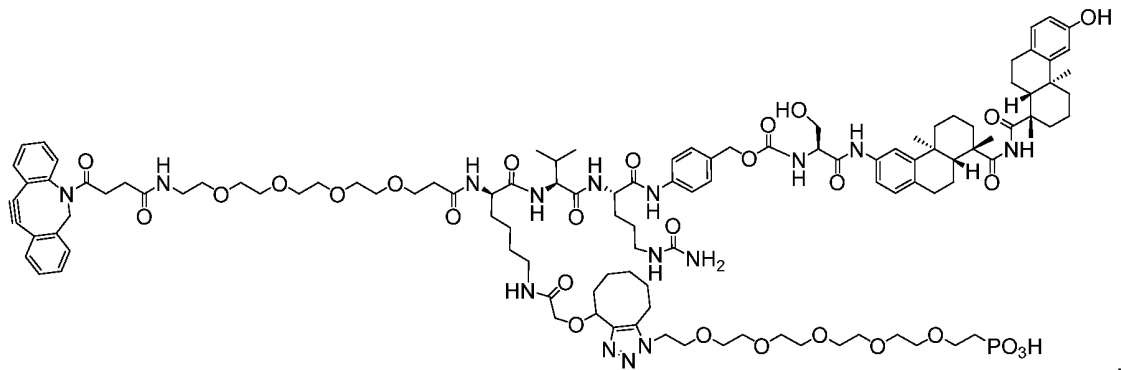
,



n,

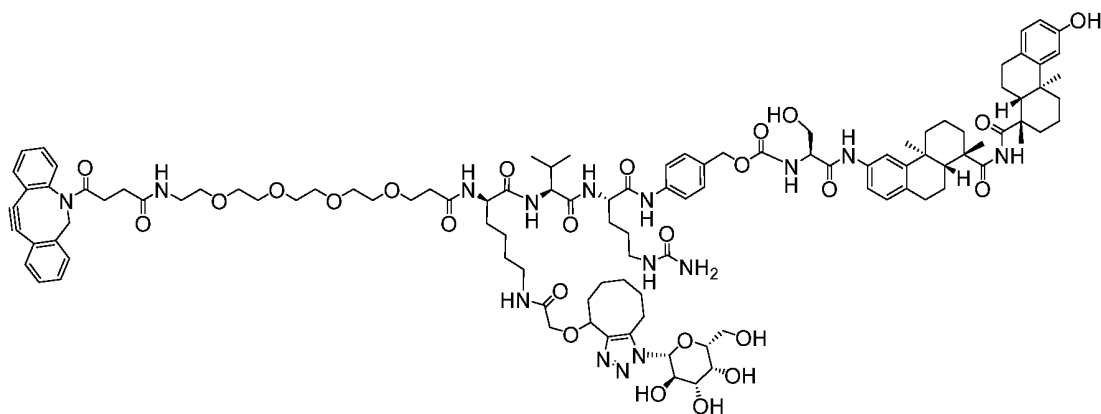
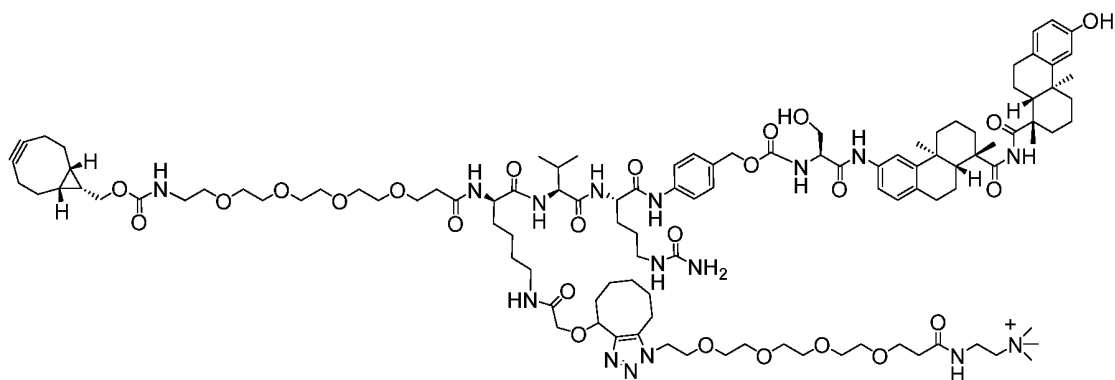
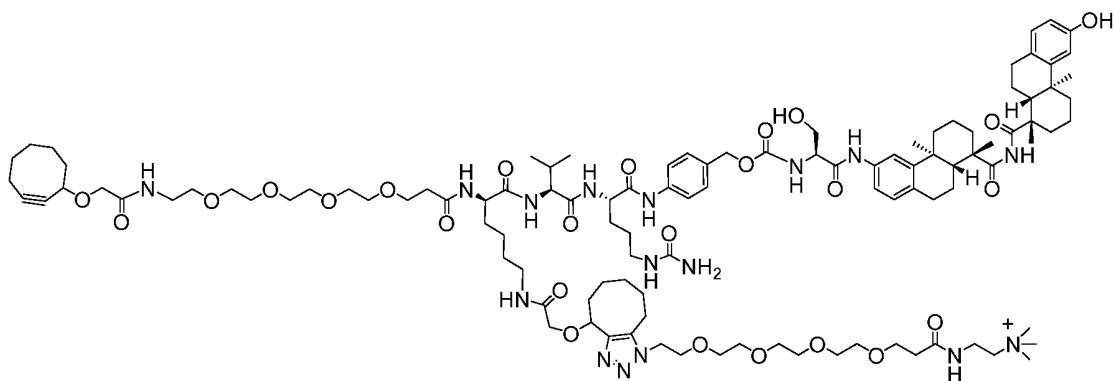
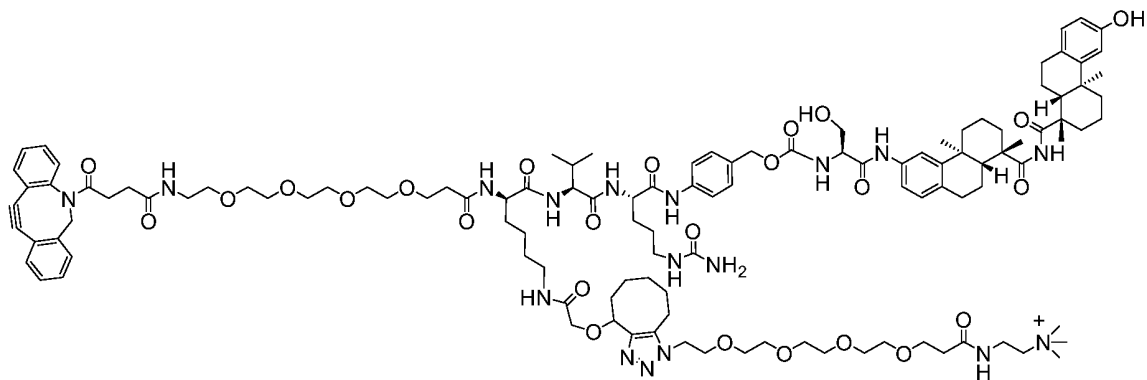


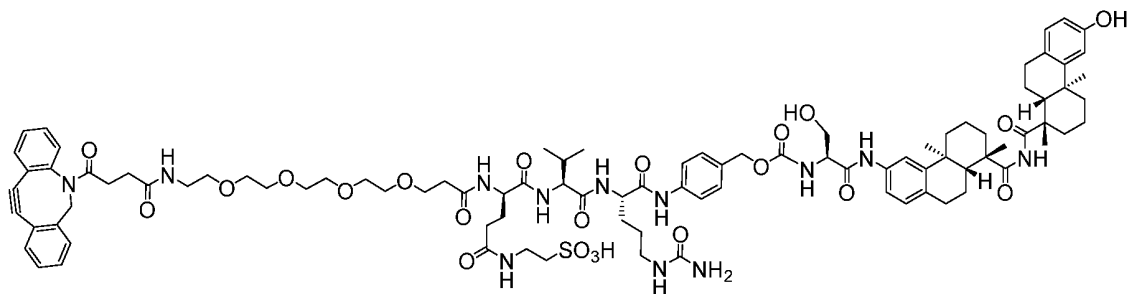
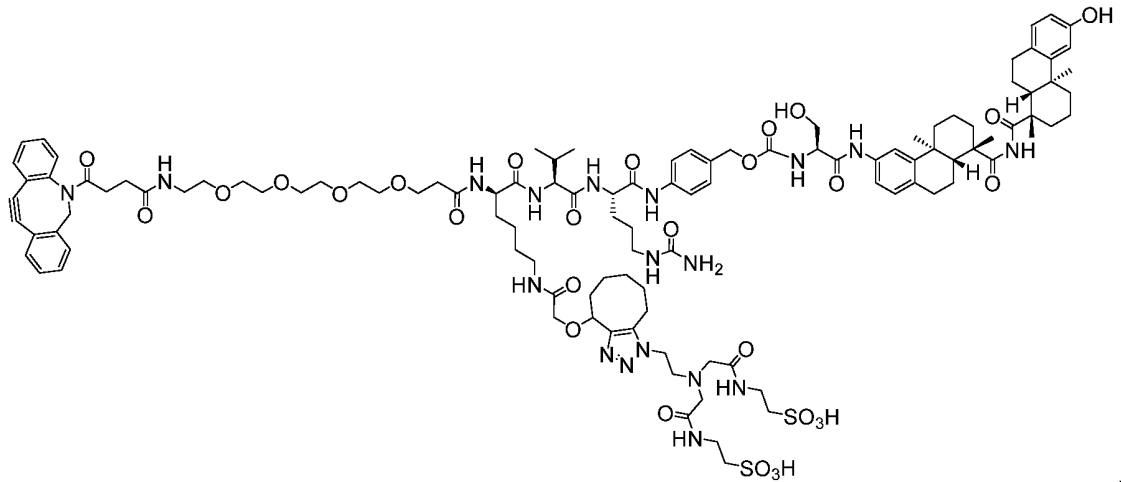
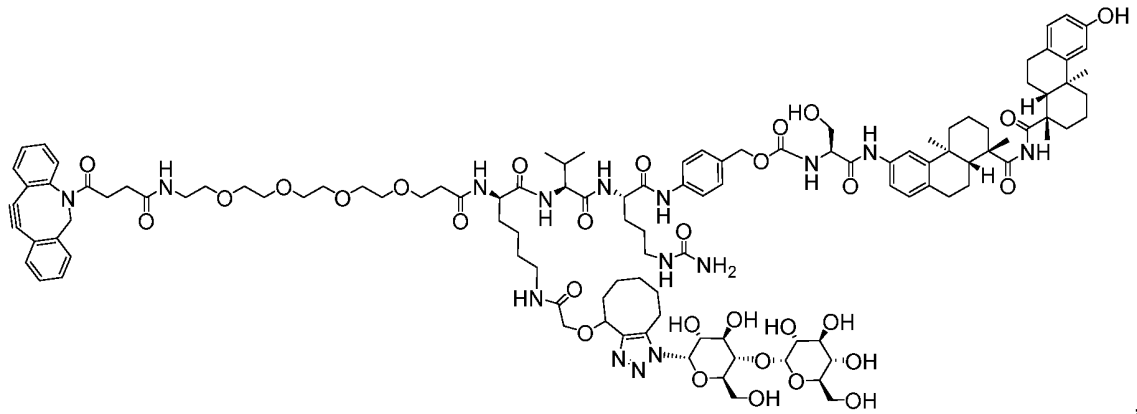
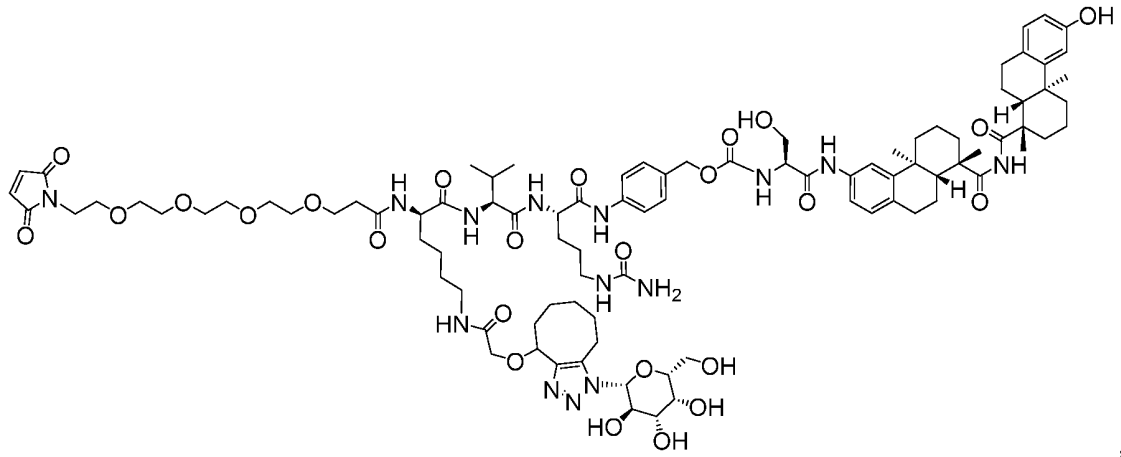
,

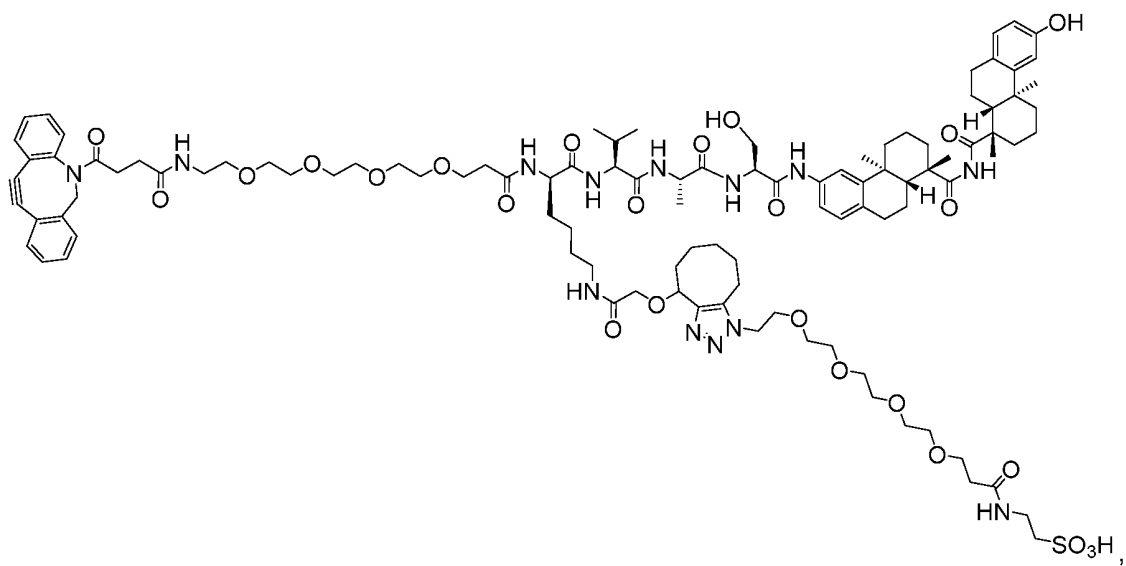
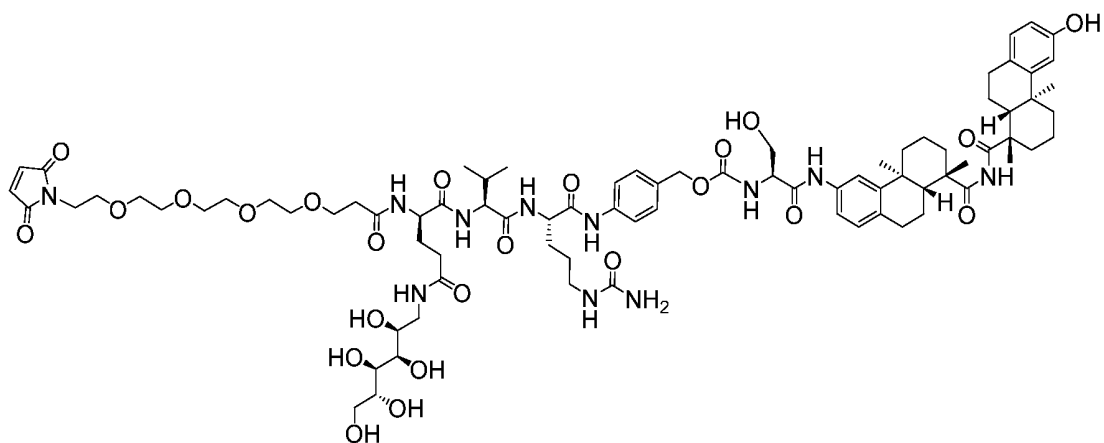
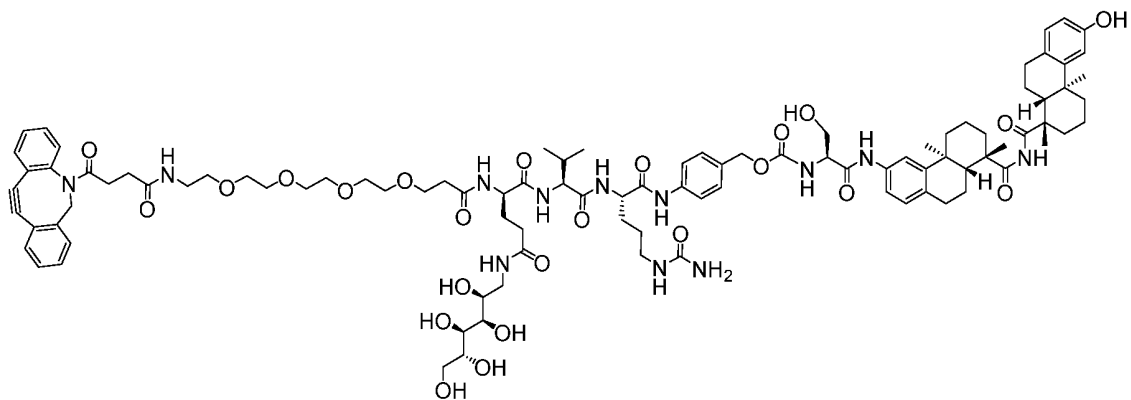


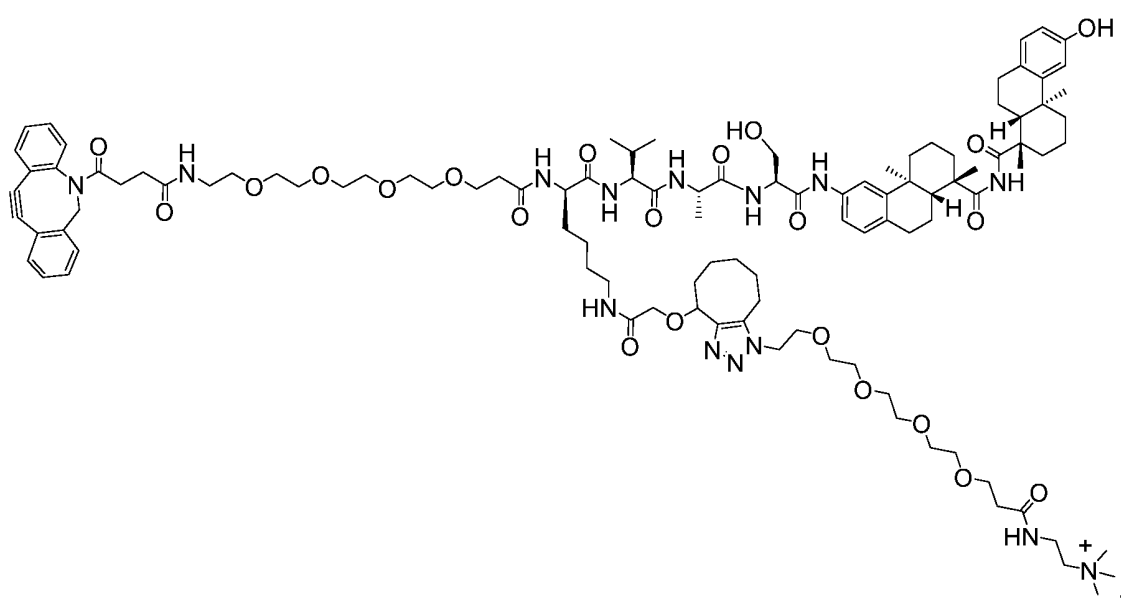
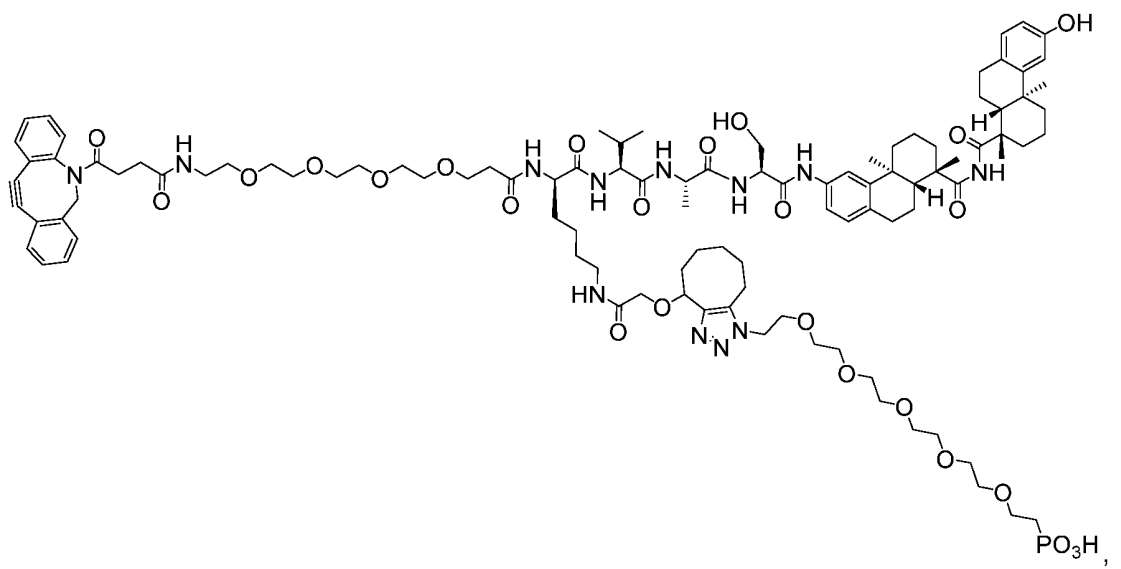
,

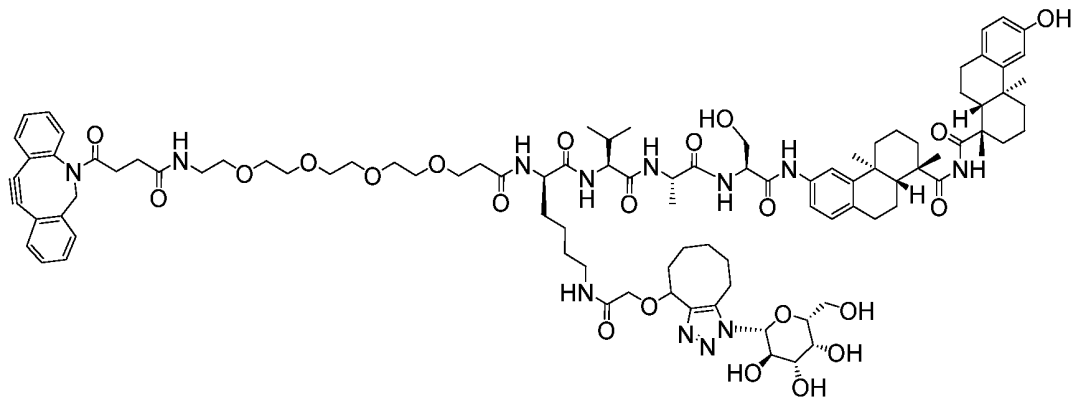
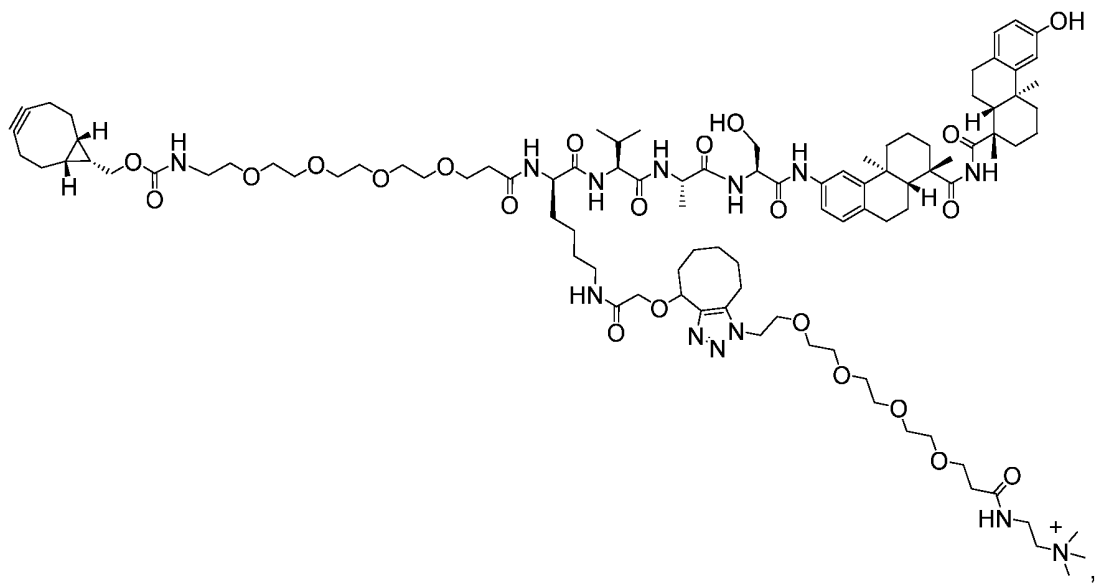
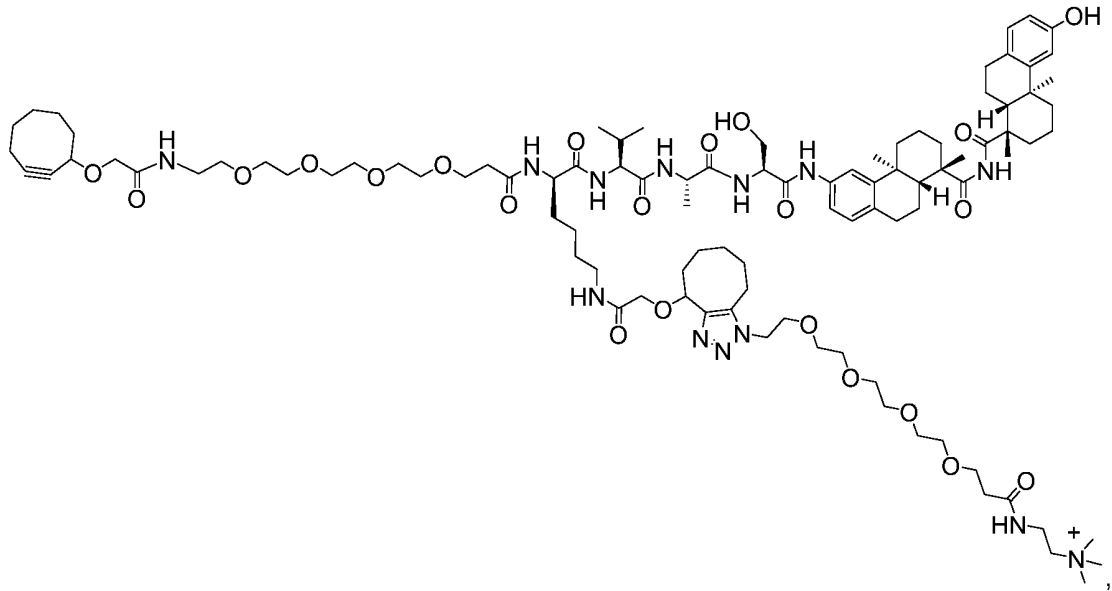


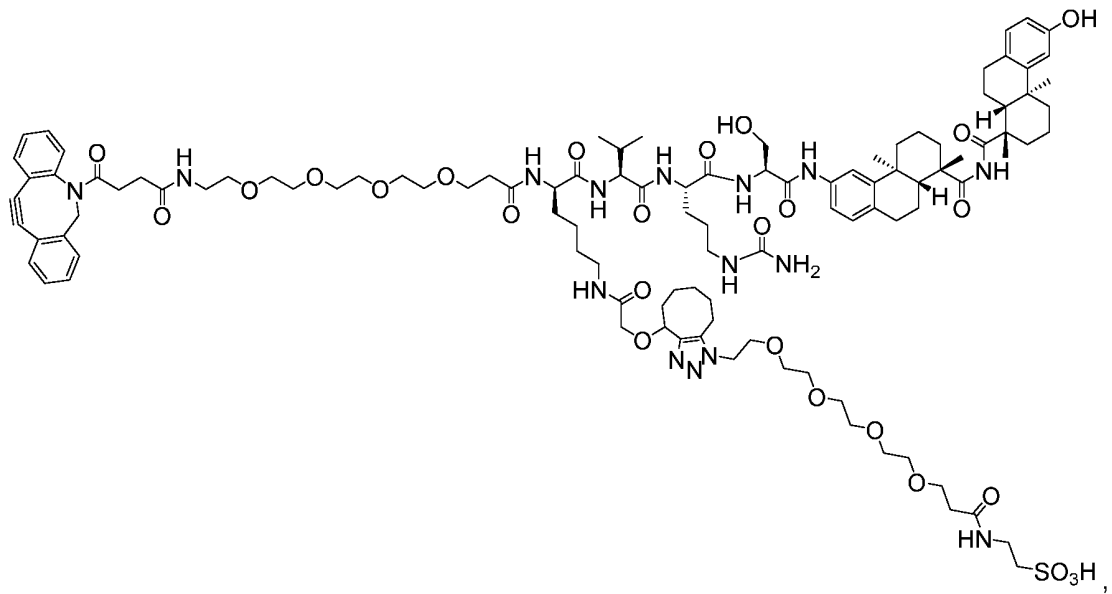
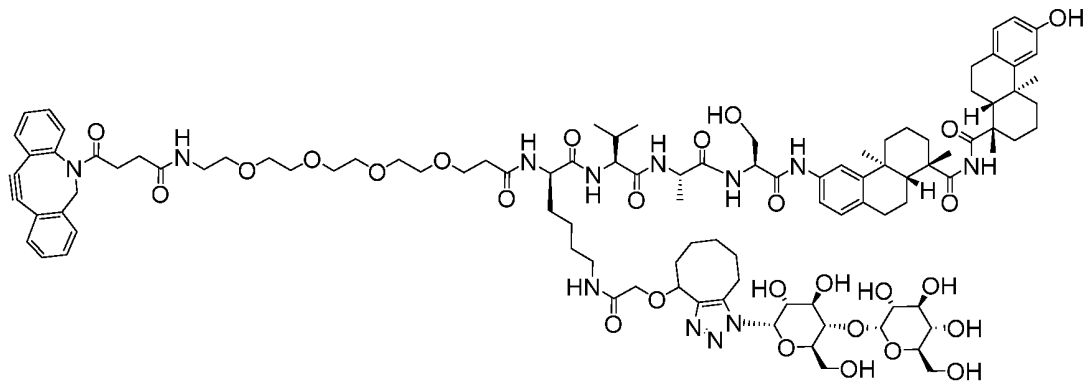
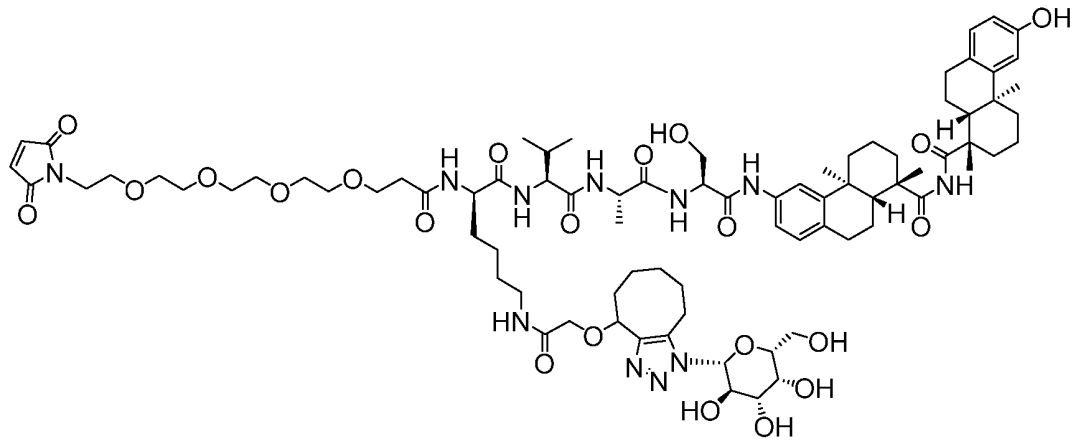


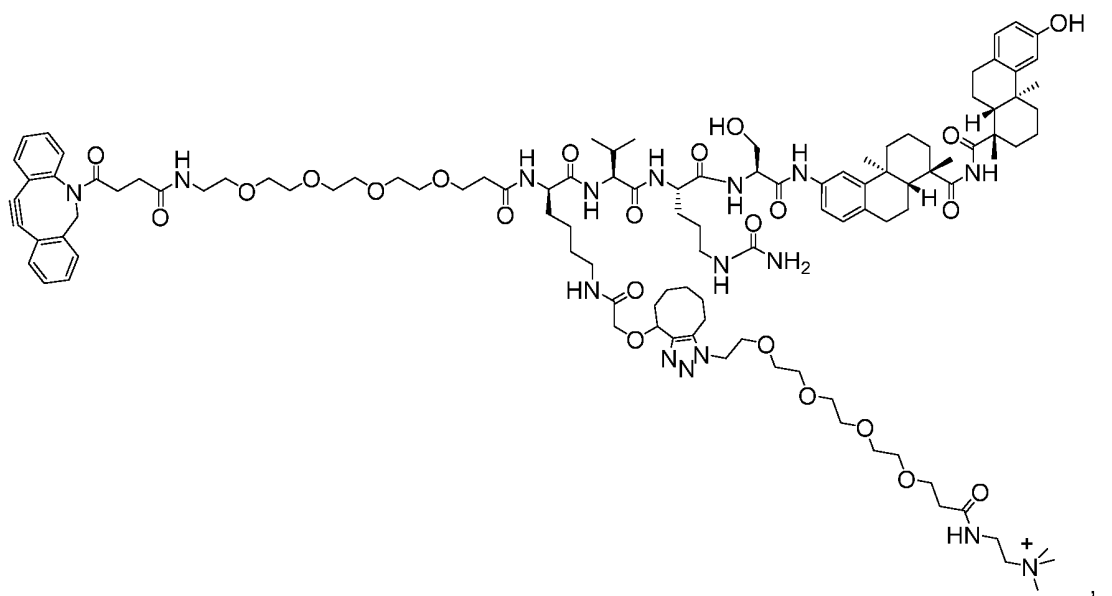
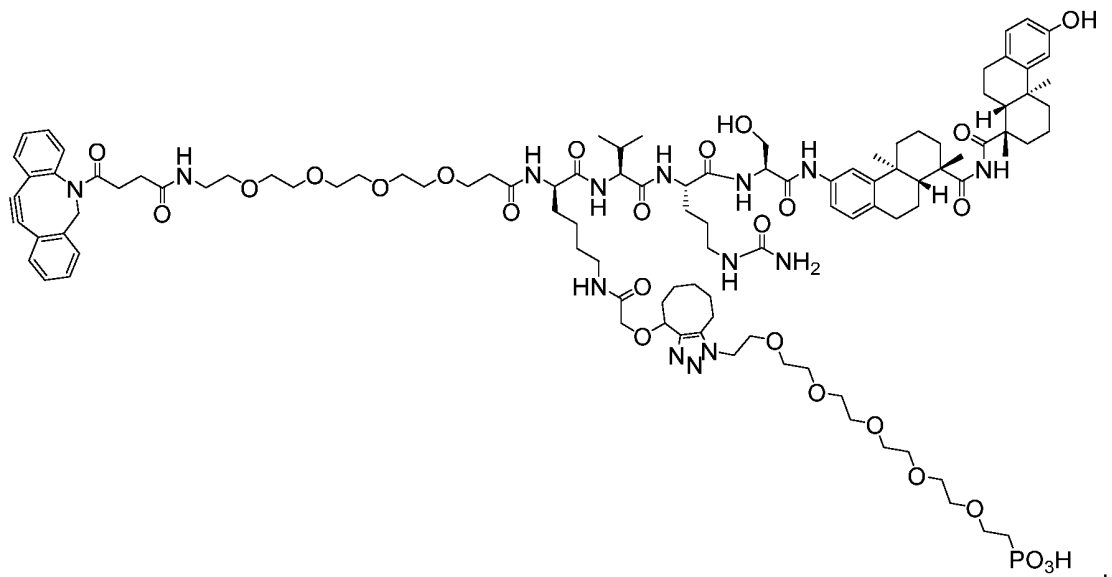


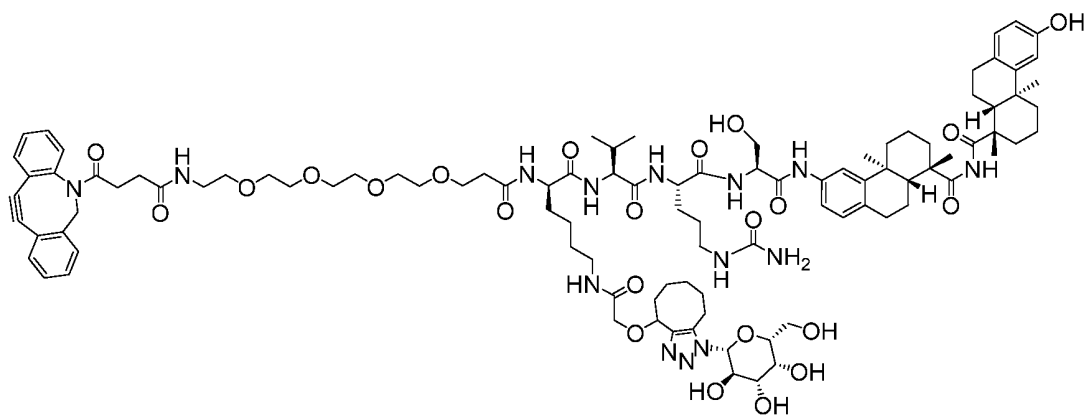
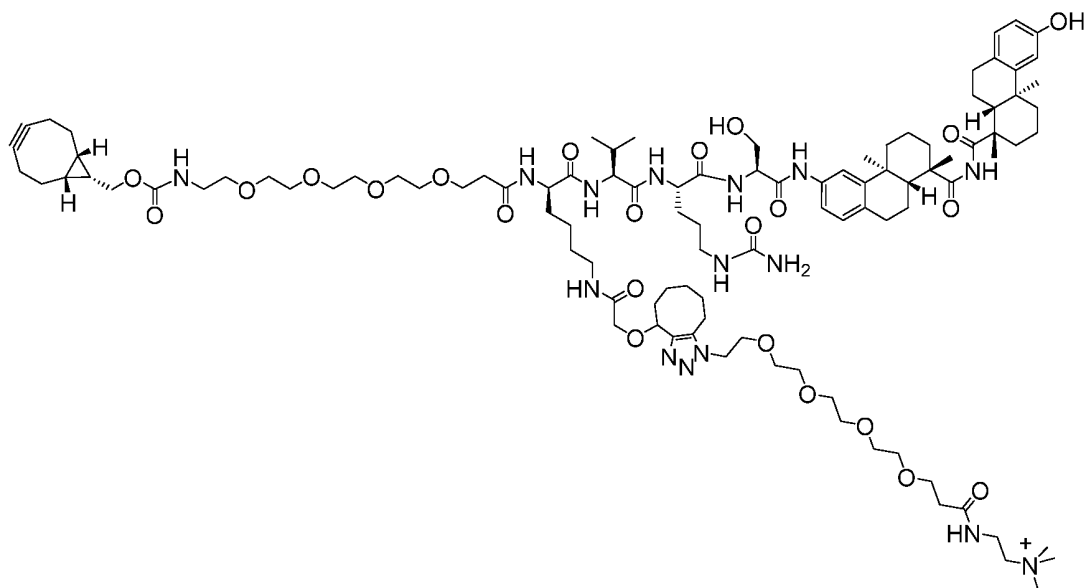
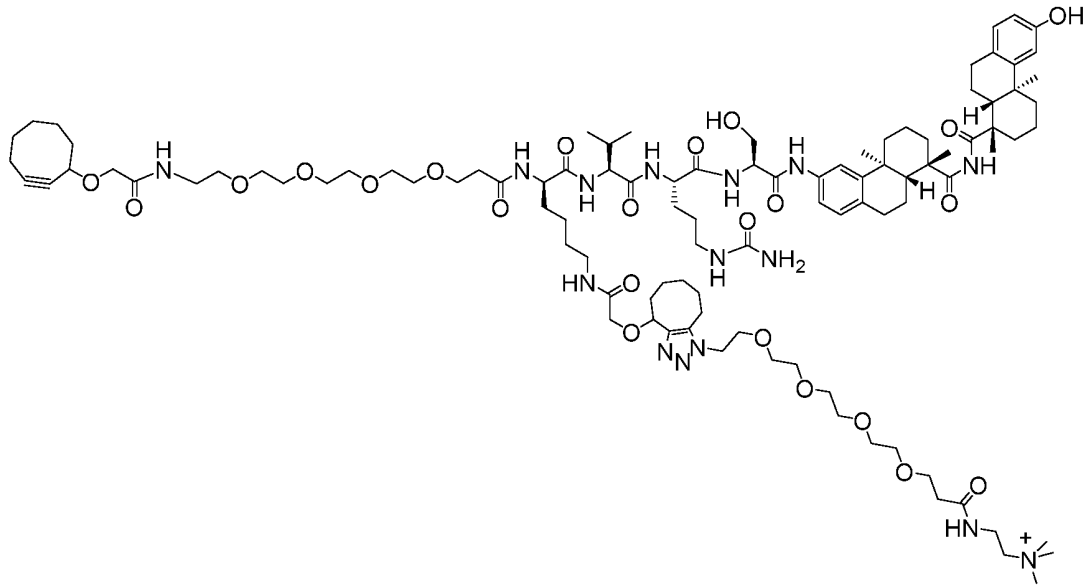




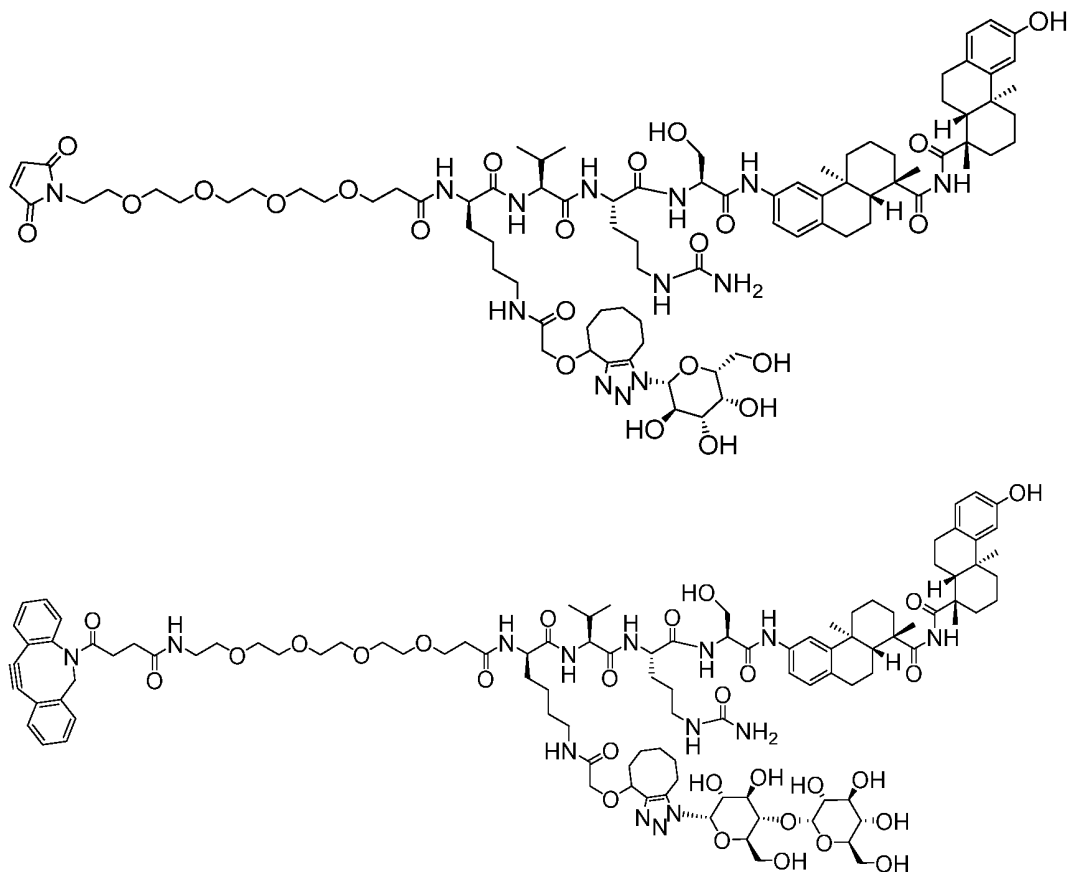












или его стереоизомерной формы, региоизомера или смеси региоизомеров.

**[0182]** Предложен также способ получения соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), включающий стадию приведения в контакт связующего агента (BA) с соединением по формуле (VI), формуле (VII), формуле (VIII), формуле (IX), формуле (IXa), формуле (IXb), формуле (IXc), формуле (Xa), формуле (Xb), формуле (Xc), или формуле (Xd), в условиях, подходящих для образования связи между связующим агентом и соединением. В одном случае связующим агентом является модифицированный связующий агент, содержащий азидогруппу ( $\overset{\xi}{\text{C}}-\text{N}_3$ ), где  $\overset{\xi}{\text{C}}$  указывает на атом, через который азидогруппа соединена с соседними группами в формуле.

**[0183]** В настоящем документе предложено соединение линкер-полезная нагрузка, содержащее соединение по любой из формулы (VI), формулы (VII), формулы (VIII), формулы (IX), формулы (IXa), формулы (IXb), формулы (IXc), формулы (Xa), формулы (Xb), формулы (Xc) или формулы (Xd), связанное с линкером.

[0184] Предложено соединение, содержащее линкер-полезную нагрузку по любой из формулы (VI), формулы (VII), формулы (VIII), формулы (IX), формулы (IXa), формулы (IXb), формулы (IXc), формулы (Xa), формулы (Xb), формулы (Xc), или формулы (Xd), связанное с кислородом или первичным или вторичным азотом полезной нагрузки.

[0185] В настоящем документе дополнительно предложен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий описанные выше соединение или линкер-полезную нагрузку, связанное с антителом или его антиген-связывающим фрагментом.

[0186] Одной из предложенных особенностей изобретения является способ лечения пролиферативного заболевания, заболевания обмена веществ, воспаления или нейродегенеративного заболевания у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), или фармацевтической композиции, содержащей соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc) или формуле (Vd).

[0187] Одной из предложенных особенностей изобретения является способ для лечения заболевания, нарушения или состояния у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), или фармацевтической композиции, содержащей соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd).

[0188] Одной из предложенных особенностей изобретения является способ для лечения пролиферативного заболевания у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), или фармацевтической композиции, содержащей соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd).

**[0189]** Одной из предложенных особенностей изобретения является способ для лечения заболевания обмена веществ у субъекта заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), или фармацевтической композиции, содержащей соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd).

**[0190]** Одной из предложенных особенностей изобретения является способ для лечения воспаления у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), или фармацевтической композиции, содержащей соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc) или формуле (Vd).

**[0191]** Одной из предложенных особенностей изобретения является способ для лечения нейродегенеративного заболевания у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), или фармацевтической композиции, содержащей соединение по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd).

**[0192]** В некоторых примерах в настоящем документе описана фармацевтическая композиция, содержащая соединение, описанное в настоящем документе, включая все вышеописанные соединения, или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

**[0193]** Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что аминокислотный остаток может быть ахиральным или хиральным, например L-аминокислотой или D-аминокислотой. Как правило, аминокислоты содержат боковую цепь. Боковой цепью может быть боковая цепь любых аминокислот, известных специалистам в данной области техники. В определенных вариантах осуществления изобретения боковой цепью является боковая цепь гистидина,

аланина, изолейцина, аргинина, лейцина, аспарагина, лизина, аспарагиновой кислоты, метионина, цистеина, фенилаланина, глутаминовой кислоты, треонина, глутамина, триптофана, валина, орнитина, селеноцистеина, серина, глицина, гомоглицина (*например*,  $\beta$ -гомоглицина), или тирозина. Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что пептид может быть ахиральным или хиральным, например, включая рацемические DL-аминокислоты или нерацемические D- или L-аминокислоты и их диастеромерные смеси. Боковые цепи пептиды рассматриваются в контексте вышеописанных аминокислот. Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что остаток N-алкил аминокислоты включает алкильный заместитель, соответствующий определению в настоящем документе, в концевой аминогруппе аминокислоты или концевой аминогруппе пептида.

**[0194]** В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  является целым числом от 1 до 30. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 1. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 2. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 3. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 4. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 5. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 6. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 7. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 8. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 9. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 10. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 11. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 12. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 13. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 14. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 15. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 16. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс  $n$  равен 17. В некоторых примерах, включая любой из

вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 18. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 19. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 20. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 21. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 22. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 23. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 24. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 25. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 26. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 27. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 28. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 29. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, подстрочный индекс n равен 30.

#### **Связующие агенты (ВА)**

**[0195]** Подходящие связующие агенты для любого из конъюгатов, предложенных в настоящем изобретении, включают, не ограничиваясь перечисленным, антитела, лимфокины, гормоны, факторы роста, рецепторы вирусов, интерлейкины или другие молекулы или вещества, связывающиеся с клеткой или пептидами. Подходящие связывающие агенты включают также полипептиды.

**[0196]** В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, связующий агент (**ВА**) выбирают из любого полипептида. Примеры полипептидов включают, не ограничиваясь перечисленным, природные полипептиды и неприродные полипептиды. Примеры полипептидов включают, не ограничиваясь перечисленным, полипептиды, образованные модифицированными организмами.

**[0197]** В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, **ВА** выбирают из рецепторов, цитокинов, белков, ферментов, связующих агентов, молочных пептидов, рибосомальных пептидов, нерибосомальных пептидов, пептонов и фрагментов пептидов. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, **ВА** выбирают из противомикробных пептидов, тахикининовых пептидов, вазоактивных кишечных пептидов, пептидов, родственных панкреатическому полипептиду, опиоидных пептидов и кальцитониновых

пептидов. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, **ВА** выбирают из натрийуретического пептида типа В (BNP), лактотрипептидов, нейропептидов, липопептидов, протеоз или гормонов.

[0198] В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, **ВА** выбирают из коротких аминокислотных цепей, содержащих две или более соединенных между собой аминокислот. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, **ВА** выбирают из дипептидов (Вал-Цит), трипептидов и тетрапептидов (*например*, Вал-Гли-Сер-Ала), содержащих две, три или четыре соединенных между собой аминокислоты, соответственно. В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, **ВА** выбирают из дипептидо, трипептидов, тетрапептидов, пентапептидов, гексапептидов, гептапептидов, октапептидов, нонапептидов, декапептидов, ундекапептидов и икозапептидов.

[0199] В некоторых примерах, включая любой из вышеприведенных, **ВА** выбирают из любых белков. В некоторых примерах белки состоят только из природных аминокислот. В некоторых примерах белки дополнительно включают неприродные аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения связующий агент является антителом или антиген-связывающим фрагментом антитела. Антитело может быть в любой форме, известной специалисту в области техники. В настоящем документе термин «антитело» означает любую антиген-связывающую молекулу или молекулярный комплекс, содержащий, по меньшей мере, одну определяющую комплементарность область (CDR), которая специфично связывается или взаимодействует с определенным антигеном. Термин «антитело» включает молекулы иммуноглобулинов, содержащие четыре полипептидные цепи, две тяжелые цепи (H) и две легкие цепи (L), соединенные между собой дисульфидными связями, и также их мультимеры (*например*, IgM). В каждой тяжелой цепи имеется переменный участок тяжелой цепи (обозначенный в настоящем документе в сокращенном виде, как HCVR или V<sub>H</sub>) и константный участок тяжелой цепи. Константный участок тяжелой цепи состоит из трех доменов, C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub> и C<sub>H3</sub>. В каждой легкой цепи имеется переменный участок легкой цепи (обозначенный в настоящем документе в сокращенном виде, как LCVR или V<sub>L</sub>) и константный участок легкой цепи. Константный участок легкой цепи состоит из одного домена (C<sub>L1</sub>). Участки V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> могут быть далее разделены на участки гипервариабельности, называемые определяющие комплементарность области (CDR), перемежающиеся более консервативными участками,

называемыми каркасными областями (FR). Каждый участок  $V_H$  и  $V_L$  состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминного конца до карбоксильного конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В других вариантах осуществления изобретения области FR области антител, подходящих для описанных в настоящем документе соединений (из их антиген-связывающих фрагментов), могут быть идентичными последовательностям зародышевых линий человека, либо могут быть природно или искусственно модифицированными. Консенсусную аминокислотную последовательность можно определить на основании параллельного анализа двух или более CDR. Термин «антитело», в настоящем документе включает также антиген-связывающие фрагменты полноразмерных молекул антител. Термины «антиген-связывающая часть» антитела, «антиген-связывающий фрагмент» антитела и т.п. в настоящем документе включают любую природный, получаемый ферментативными методами, синтезированный или генно-инженерный полипептид или гликопротеин, который специфично связывается с антигеном с образованием комплекса. Антиген-связывающие фрагменты антитела могут быть получены, *например*, из полноразмерных молекул антитела при использовании стандартных приемов, например, протеолитического расщепления или рекомбинантных методов генетической инженерии, включая манипуляции с и экспрессию ДНК, кодирующей переменный и необязательно константный домены антитела. Такая ДНК известна и/или легко может быть приобретена, *например*, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, *например*, библиотеки антител фагов) или может быть синтезирована. ДНК может быть подвержена секвенированию и манипуляциям с использованием химических или молекулярно-биологических методов. Например, для создания подходящей конфигурации из одного или нескольких переменных и/или константных доменов, или для введения кодонов, создания цистеиновых остатков, модификации, добавления или удаления аминокислот и т.д. Неограничивающие примеры антиген-связывающих фрагментов включают: (i) фрагменты Fab; (ii) фрагменты  $F(ab')_2$ ; (iii) фрагменты Fd; (iv) фрагменты Fv; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) фрагменты dAb; и (vii) минимальные распознающие единицы, состоящие из аминокислотных остатков, имитирующих участок гипервариабельности антитела (*например*, изолированную определяющую комплементарность область (CDR), такую как пептид CDR3), или пептид с ограниченной конформационной свободой FR3-CDR3-FR4. Выражение «антиген-связывающий фрагмент»,

используемое в настоящем документе, включает также другие молекулы, созданные инженерными методами, такие как домен-специфичные антитела, антитела, состоящие из одного домена, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, антитела с привитой областью CDR, диатела, триотела, тетратела, минитела, нанотела (*например* одновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и т.д.), низкомолекулярные модульные иммунофармацевтические средства (SMIP), и акулы вариабельные домены IgNAR. Антиген-связывающие фрагмент антитела в типичном случае содержит, по меньшей мере, один вариабельный домен. Вариабельный домен может иметь любой размер или аминокислотный состав и будет включать, как правило, по меньшей мере, один CDR, смежный с одной или несколькими каркасными последовательностями или в составе такой последовательности. В антиген-связывающих фрагментах с доменом  $V_H$ , ассоциированным с доменом  $V_L$ , где домены  $V_H$  и  $V_L$  могут иметь любое удобное расположение относительно друг друга. Например, вариабельная область может быть димерной и может содержать димеры  $V_H-V_H$ ,  $V_H-V_L$  или  $V_L-V_L$ . Альтернативно, антиген-связывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен  $V_H$  или  $V_L$ . В определенных вариантах осуществления изобретения антиген-связывающий фрагмент антитела может содержать, по меньшей мере, один вариабельный домен, ковалентно связанный, по меньшей мере, с одним константным доменом. Неограничивающие, типичные конфигурации вариабельных и константных доменов, которые могут быть обнаружены в антиген-связывающем фрагменте антитела по настоящему изобретению, включают: (i)  $V_H-C_H1$ ; (ii)  $V_H-C_H2$ ; (iii)  $V_H-C_H3$ ; (iv)  $V_H-C_H1-C_H2$ ; (v)  $V_H-C_H1-C_H2-C_H3$ ; (vi)  $V_H-C_H2-C_H3$ ; (vii)  $V_H-C_L$ ; (viii)  $V_L-C_H1$ ; (ix)  $V_L-C_H2$ ; (x)  $V_L-C_H3$ ; (xi)  $V_L-C_H1-C_H2$ ; (xii)  $V_L-C_H1-C_H2-C_H3$ ; (xiii)  $V_L-C_H2-C_H3$ ; и (xiv)  $V_L-C_L$ . В любой конфигурации вариабельных и константных доментов, включая любую из приведенных выше типичных конфигураций, вариабельные и константные домены могут быть либо прямо соединены друг с другом, либо соединены посредством полной или частичной шарнирной области или линкерной области. Шарнирная область может состоять, по меньшей мере, из 2 (*например*, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, что приведет к гибкому или полугибкому соединению между смежными вариабельными и/или константными доменами в одной полипептидной молекуле. Как и в случае полноразмерных молекул антитела, антиген-связывающие фрагменты могут быть моноспецифичными или мультиспецифичными (*например*, биспецифичными).



Мультиспецифичный антиген-связывающий фрагмент антитела в типичном случае состоит, по меньшей мере, из двух разных переменных доменов, где каждый переменный домен способен к специфичному связыванию с отдельным антигеном или с разными эпитопами одного и того же антигена. Любой формат мультиспецифичного антитела, включая иллюстративные форматы диспецифичных антител, предложенных в настоящем документе, может быть адаптирован для использования в контексте антиген-связывающего фрагмента по настоящему изобретению при использовании стандартных приемов в данной области техники. В определенных вариантах осуществления изобретения антитела согласно изобретению являются человеческими антителами. Термин «человеческое антитело» в настоящем документе подразумевает антитела с переменными и константными областями, полученными из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Человеческие антитела согласно изобретению могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностью иммуноглобулинов зародышевой линии человека (*например*, мутации, появившиеся в результате случайного или сайт-специфичного мутагенеза *in vitro* или в результате соматической мутации *in vivo*), например в областях CDR, в частности, в CDR3. Однако термин «человеческое антитело» в настоящем документе не подразумевает включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида млекопитающих, например, мыши, привиты на каркасные последовательности человека. Термин «человеческое антитело» не включает природные молекулы, которые в норме существуют без модификации или вмешательства/манипуляции человека в природном немодифицированном живом организме. В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению могут быть рекомбинантными человеческими антителами. В настоящем документе термин «рекомбинантное человеческое антитело» подразумевает все человеческие антитела, которые были получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными методами, такие как антитела, экспрессированные с использованием рекомбинантного вектора экспрессии, трансфецированного в клетку-хозяина (более подробно описано ниже), антитела, полученные из библиотеки рекомбинантных, комбинаторных человеческих антител (подробно описано ниже), антитела, выделенные из трансгенного животного (*например*, мыши) в отношении человеческих генов иммуноглобулина включая *например*, Taylor *et al.* (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, полученные,

экспрессированные, созданные или выделенные другими средствами, включая сплайсинг последовательностей человеческих генов иммуноглобулинов с образованием других последовательностей ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулинов зародышевых клеток человека. Однако в определенных вариантах осуществления изобретения такие рекомбинантные человеческие антитела подвержены мутагенезу *in vitro* (или, в случае использования животного, трансгенного в отношении последовательностей человеческого Ig, соматическому мутагенезу *in vivo*), и, таким образом, аминокислотные последовательности участков V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> в рекомбинантных антителах являются последовательностями, которые, несмотря на получение из последовательностей V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> зародышевых клеток человека и родство с ними, могут не встречаться в естественных условиях в репертуаре человеческих антител из зародышевых линий *in vivo*. Человеческие антитела могут существовать в двух формах, которые ассоциированы с неоднородностью шарнирной области. В одной форме молекула иммуноглобулина содержит стабильную четырех-цепочечную конструкцию размером приблизительно 150-160 кДа, в которой димеры удерживаются вместе межцепочечной дисульфидной связью в тяжелой цепи. Во второй форме димеры не соединены межцепочечными дисульфидными связями, и образуется молекула размером приблизительно 75-80 кДа, состоящая из ковалентно связанных тяжелой и легкой цепи (полу-антитело). Эти формы было исключительно сложно разделить, даже после аффинной очистки. Частота появления второй формы в разнообразных интактных изоформах IgG, определяется, в частности, структурными различиями, ассоциированными с изоформами антител в шарнирной области. Замена одной аминокислоты в шарнирной области человеческого IgG4 может значительно снизить частоту появления второй формы (Angal *et al.* (1993) *Molecular Immunology* 30:105) до уровня, обычно наблюдаемого при использовании шарнирной области человеческого IgG1. Настоящее изобретение включает антитела с мутациями в шарнирной области, в области C<sub>H</sub>2 или C<sub>H</sub>3, что может быть желательным, например, в производстве, для того чтобы повысить выход желаемой формы антитела. Антитела согласно изобретению могут быть изолированными антителами. В настоящем документе «изолированное антитело» означает антитело, которое было идентифицировано и выделено и/или извлечено из, по меньшей мере, одного компонента его естественного окружения. Например, в

целях настоящего изобретения «изолированным антителом» является антитело, которое было выделено или удалено из, по меньшей мере, одного компонента организма, или из ткани или клетки, в которых антитело встречается в природе или из которых его получают. Термин «изолированное антитело» включает также антитело *in situ* в рекомбинантной клетке. Изолированные антитела – это антитела, подвергнутые, по меньшей мере, одной стадии очистки или выделения. В соответствии с определенными вариантами осуществления изобретения изолированное антитело может, по существу, свободным от другого клеточного материала и/или химических веществ. Антитела, используемые в настоящем изобретении, могут содержать одну или несколько аминокислотных замен, вставок и/или делеций в каркасной области и/или области CDR переменных доменов легких и тяжелых цепей по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевых линий, из которых антитела были получены. Можно легко установить наличие таких мутаций, сравнивая аминокислотные последовательности, предложенные в настоящем документе, с последовательностями зародышевых линий, которые доступны, например, в открытых базах данных последовательностей антител. Настоящее изобретение включает антитела и антиген-связывающие фрагменты антител, которые получают из любой аминокислотной последовательности, предложенной в настоящем документе, где одна или более аминокислот с одной или более каркасными областями и/или CDR мутируют с появлением соответствующего остатка (остатков) последовательности зародышевой линии, из которой антитело было получено, или в соответствующего остатка (остатков) последовательности другой человеческой зародышевой линии, или консервативной аминокислотной замены другой последовательности соответствующего остатка (остатков) зародышевой линии (такие изменения последовательности в настоящем документе собирательно названы «мутациями зародышевой линии»). Специалист средней квалификации в данной области техники, начиная с предложенных в настоящем документе последовательностей переменных областей тяжелых и легких цепей, сможет легко получить многочисленные антитела и антиген-связывающие фрагменты, которые содержат одну или более отдельных мутаций зародышевой линии и их комбинации. В определенных вариантах осуществления изобретения все остатки каркасной области и/или области CDR в доменах V<sub>H</sub> и/или V<sub>L</sub> мутируют обратно в остатки, присутствующие в первоначальных последовательностях зародышевых линий, из которых было получено антитело. В

других вариантах осуществления изобретения лишь определенные остатки мутируют обратно в первоначальную последовательность зародышевой линии, *например*, только мутировавшие остатки, расположенные в первых 8 аминокислотах области FR1 или в последних 8 остатках области FR4, или только мутировавшие остатки, расположенные в областях CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления изобретения один или более остатков, расположенных в каркасной области и/или области CDR, мутируют в соответствующий остаток(остатки) другой последовательности зародышевой линии (*т.е.*, последовательность зародышевой линии, отличающаяся от последовательности зародышевой линии, из которой антитело было первоначально получено). Более того, антитела по настоящему изобретению могут содержать любую комбинацию из 2 или более мутаций зародышевой линии в каркасной области и/или области CDR, *например*, где определенные отдельные остатки мутируют в соответствующий остаток отдельно взятой последовательности зародышевой линии, в то время как определенные другие остатки, отличающиеся от первоначальной последовательности зародышевой линии, сохраняются или мутируют в соответствующие остаток другой последовательности зародышевой линии. После получения антитела и антиген-связывающие фрагменты антител, содержащие одну или более мутаций зародышевой линии, могут быть легко протестированы на наличие одного или нескольких желаемых свойств, таких как улучшенная специфичность связывания, повышенная аффинность связывания, улучшенные или усиленные антагонистические или агонистические биологические свойства (в зависимости от ситуации), сниженной иммуногенности т.д. Антитела и антиген-связывающие фрагменты, полученные по такому общему алгоритму, включены в настоящее изобретение. Антитела, которые могут быть использованы в составе предложенных в настоящем документе соединений, включают также антитела, содержащие варианты любой из аминокислотных последовательностей областей HCVR, LCVR, и/или CDR, предложенных в настоящем документе, с одной или несколькими консервативными заменами. Термин «эпитоп» относится к антигенной детерминанте, которая взаимодействует со специфичным антиген-связывающим участком в варибельной области молекулы антитела, называемой паратопом. У одного антигена может быть более одного эпитопа. Таким образом, разные антитела могут связываться с разными областями антигена и могут вызывать разные биологические эффекты. Эпитопы могут быть

конформационными или линейными. Конформационный эпитоп образуется в посредством пространственного совмещения аминокислот, расположенных в разных сегментах линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп образуется соседними аминокислотными остатками полипептидной цепи. В определенных обстоятельствах эпитоп может включать фрагменты полисахаридов, фосфорильные группы или сульфонильные группы молекулы антигена.

**[0200]** В определенных вариантах осуществления изобретения антитело содержит легкую цепь. В определенных вариантах осуществления изобретения легкой цепью является легкая каппа-цепь. В определенных вариантах осуществления изобретения легкой цепью является легкая лямбда-цепь. В определенных вариантах осуществления изобретения антитело содержит тяжелую цепь. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgA. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgD. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgE. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgG. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgM. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgG1. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgG2. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgG3. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgG4. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgA1. Согласно одной из особенностей изобретения, тяжелая цепь представляет собой IgA2.

**[0201]** В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является фрагмент антитела. Согласно одной из особенностей изобретения, фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fv. Согласно одной из особенностей изобретения, фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fab. Согласно одной из особенностей изобретения, фрагмент антитела представляет собой фрагмент F(ab')<sub>2</sub>. Согласно одной из особенностей изобретения, фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fab'. Согласно одной из особенностей изобретения, фрагмент антитела представляет собой фрагмент scFv (sFv). Согласно одной из особенностей изобретения, фрагмент антитела представляет собой фрагмент scFv-Fc.

**[0202]** В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является поликлональное антитело.

**[0203]** В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является человеческое антитело.

**[0204]** Антитело может обладать специфичностью связывания, представляющей собой подходящей для специалиста в данной области техники. В определенных вариантах осуществления изобретения антиген представляет собой трансмембранную молекулу (*например*, рецептор) или фактор роста. Иллюстративные антигены включают, не ограничиваясь перечисленным, такие молекулы, как ренин; фактор роста, включая человеческий гормон роста и гормон роста крупного рогатого скота; рилизинг-фактор гормона роста; паратиреоидный гормон; липопротеины; альфа-1-антитрипсин; А-цепь инсулина; В-цепь инсулина; проинсулин; фолликулостимулирующий гормон; кальцитонин; лютеинизирующий гормон; глюкагон; факторы свертывания крови, такие как фактор vms, фактор IX, тканевый фактор (ТФ) и фактор фон Виллебранда; противосвертывающие факторы, такие как протеин С; предсердный натрийуретический фактор; легочный сурфактант; активатор плазминогена, такой как урокиназа или человеческий активатор плазминогена мочевого или тканевого типа (t-PA); бомезин; тромбин; гемопозитический фактор роста; фактор некроза опухоли-альфа и -бета; энкефалиназа; ; RANTES (регулятор активации и экспрессии и секреции нормальных Т-лимфоцитов); человеческий воспалительный белок макрофагов (MIP-I-альфа); сывороточный альбумин, такой как человеческий сывороточный альбумин; мюллерова ингибирующая субстанция; А-цепь релаксина; В-цепь релаксина; прорелаксин; мышинный гонадотропин-ассоциированный пептид; микробный белок, такой как бета-лактамаза; ДНК-аза; 19E; цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный антиген (CTLA), такой как CTLA-4; ингибин; активин; эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF); рецепторы гормонов или факторов роста; белок А или D; ревматоидные факторы; нейротропный фактор, такой как костный нейротропный фактор (BDNF), нейротропин-3, -4, -5, или -6 (NT-3, NT4, NT-5, или NT-6), или фактор роста нервной ткани, такой как NGF-β; тромбоцитарный фактор роста (PDGF); фактор роста фибробластов, такой как

aFGF и bFGF; рецептор фактора роста фибробластов 2 (FGFR2), эпидермальный фактор роста (EGF); трансформирующий фактор роста (TGF), такой как TGF-альфа и TGF-бета, включая TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, TGF- $\beta$ 4, или TGF- $\beta$ 5; инсулин-подобный фактор роста-I и -II (IGF-I и IGF-II); дес(1-3)-IGF-I (мозговой IGF-I), белки, связывающие инсулин-подобный фактор роста, EpcAM, GD3, FLT3, PSMA, PSCA, MUC1, MUC16, STEAP, CEA, TENB2, рецепторы EphA, рецепторы EphB, рецептор фолата, FOLR1, мезотелин, крипто, альфавбета6, интегрин, VEGF, VEGFR, EGFR, рецептор трансферрина, IRTA1, IRTA2, IRTA3, IRTA4, IRTA5; белки кластеров дифференцировки (CD), такие как CD2, CD3, CD4, CD5, CD6, CD8, CD11, CD14, CD19, CD20, CD21, CD22, CD25, CD26, CD28, CD30, CD33, CD36, CD37, CD38, CD40, CD44, CD52, CD55, CD56, CD59, CD70, CD79, CD80, CD81, CD103, CD105, CD134, CD137, CD138, CD152, или антитело, которое связывается с одним или несколькими опухоль-ассоциированными антигенами рецепторов клеточной поверхности, которые предложены в публикации заявки на патент США № 2008/0171040 или публикации заявки на патент США № 2008/0305044 и во всей полноте включены в настоящий документ посредством ссылки; эритропоэтин; остеоиндуктивные факторы; иммунотоксины; костный морфогенетический белок (BMP); интерферон, такой как интерферон-альфа, -бета, и -гамма; колониестимулирующие факторы (КСФ; CSF), *например*, M-CSF, GM-CSF, и G-CSF; интерлейкины (ИЛ; IL), *например*, от ИЛ-1 до ИЛ-10; супероксиддисмутаза; рецепторы Т-лимфоцитов; поверхностные мембранные белки; стимулятор гемолиза; вирусный антиген, такой как например, участок оболочки ВИЧ; транспортные белки; «хоминг»-рецепторы; адрессины; регуляторные белки; интегрин, такие как CD11a, CD11b, CD11c, CD18, ICAM, VLA-4 и VCAM; опухоль-ассоциированный антиген, такой как белки AFP, ALK, B7H4, BAGE,  $\beta$ -катенин, bcr-abl, BRCA1, BORIS, CA9 (угольная ангидраза IX), каспаза-8, CD20, CD40, CD123, CDK4, CEA, CLEC12A, c-kit, cMET, CTLA4, циклин-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, эндоглин, Epcam, EphA2, ErbB2/Her2, ErbB3/Her3, ErbB4/Her4, ETV6-AML, Fra-1, FOLR1, белки GAGE (*например*, GAGE-1, -2), GD2, GD3, GloboH, глипикан-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/EBNA1, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTPET, IGF1R, LGR5, LMP2, белки MAGE (*например*, MAGE-1, -2, -3, -4, -6, и -12), MART-1, мезотелин, МЛ-IAP, Muc1, Muc16 (CA-125), MUM1, NA17, NGEP, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PDGFR- $\alpha$ , PDGFR- $\beta$ , PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D, PLAC1, PRLR, PRAME, PSCA, PSGR, PSMA (FOLH1), белки RAGE, Ras, RGS5, Rho, SART-1, SART-3, Steap-1,

Steap-2, STn, сурвивин, TAG-72, TGF- $\beta$ , TMPRSS2, Tn, TNFRSF17, TRP-1, TRP-2, тирозиназа и уроплакин-3, и фрагменты любых вышеперечисленных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигеном является опухолевый антиген, включая антиген, специфичный к типу опухоли, или антигены, которые присутствуют, сверхэкспрессируются или модифицируются в опухолях определенного типа. Примеры включают, не ограничиваясь перечисленным: альфа-актинин-4 при раке легкого, ARTC1 при меланоме, белок слияния BCR-ABL при хроническом миелоидном лейкозе, B-RAF, CLPP или Cdc27 при меланоме, CASP-8 при плоскоклеточной карциноме, и hsp70-2 при почечноклеточной карциноме, а также следующие перекрестно-реагирующие опухоль-специфичные белки, как например: BAGE-1, GAGE, GnTV, KK-LC-1, MAGE-A2, NA88-A, TRP2-INT2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигеном являются рецепторы PRLR или HER2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело представляет собой антитело к PRLR или антитело к HER2.

**[0205]** Линкер связующих агентов может быть соединен со связующим агентом, *например*, антителом или антиген-связывающей молекулой, через присоединение к определенной аминокислоте в молекуле антитела или антиген-связывающей молекулы. Иллюстративные участки соединения, которые могут быть использованы в контексте данной особенности изобретения, включают, *например*, лизин (см., например, патент США 5,208,020; патент США 2010/0129314; Hollander *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 2008, 19:358-361; мировой патент WO 2005/089808; патент США 5,714,586; патент США 2013/0101546; и патент США 2012/0585592), цистеин (см., например, патент США 2007/0258987; мировой патент WO 2013/055993; мировой патент WO 2013/055990; WO 2013/053873; мировой патент WO 2013/053872; мировой патент WO 2011/130598; патент США 2013/0101546; и патент США 7,750,116), селеноцистеин (see, например, мировой патент WO 2008/122039; и Hofer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2008, 105:12451-12456), формилглицин (см., например, Carrico *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3:321-322; Agarwal *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2013, 110:46-51, и Rabuka *et al.*, *Nat. Protocols*, 2012, 10:1052-1067), неприродные аминокислоты (см., *например*, мировой патент WO 2013/068874, и мировой патент WO 2012/166559), и кислые аминокислоты (см., *например*, WO 2012/05982). Линкеры могут быть также конъюгированы с антиген-связывающим белком через присоединение к углеводам



(см., например, патент США 2008/0305497, мировой патент WO 2014/065661, и Ryan et al., *Food & Agriculture Immunol.*, 2001, 13:127-130).

**[0206]** В некоторых примерах связующий агент является антителом или антиген-связывающей молекулой, и антитело соединяется с линкером через остаток лизина. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело или антиген-связывающая молекула соединяются с линкером через остаток цистеина.

**[0207]** Линкеры могут быть также конъюгированы с одним или несколькими остатками глутамина посредством осуществляемой транслугтаминазой хемоферметативной конъюгации (см., например, Dennler et al., *Bioconjugate Chem.* 2014, 25, 569-578). Например, в присутствии транслугтаминазы возможно связывание одного или нескольких остатков глутамина в молекуле антитела с первичным амином. Первичные амины включают полезную нагрузку или соединения линкер-полезная нагрузка, которые прямо обеспечивают конъюгаты антитело-лекарственное средство посредством опосредованного транслугтаминазой связывания. Первичные амины включают также линкеры и спейсеры, функционализированные реакционноспособными группами, которые впоследствии могут взаимодействовать с другими соединениями в процессе синтеза конъюгатов антитело-лекарственное средство. Антитела, содержащие остатки глутамина, могут быть выделены из природных источников или созданы инженерными методами, с тем чтобы они содержали один или более остатков глутамина. Способы введения остатков глутамина в антитело-полипептидную цепь (модифицированных глутамином антител или антиген-связывающих молекул) хорошо известны специалистам-практикам в данной области. В определенных вариантах осуществления изобретения антитело является негликозилированным.

**[0208]** В определенных вариантах осуществления изобретения антитело или глутаминил-модифицированное антитело, или антиген-связывающая молекула содержит, по меньшей мере, один остаток глутамина, по меньшей мере, в последовательности одной полипептидной цепи. Для прямой конъюгации с определенными остатками антитела или антиген-связывающего белка могут применяться приемы сайт-специфичной конъюгации (см. например, Schumacher et al. *J Clin Immunol* (2016) 36(Suppl 1): 100). Приемы сайт-специфичной конъюгации, включают, не ограничиваясь перечисленным, конъюгацию с глутамином

посредством трансглутаминазы (см., например, Schibli, *Angew Chemie Inter Ed.* 2010, 49, 9995). В определенных вариантах осуществления изобретения антитело, или глутаминил-модифицированное антитело, или антиген-связывающая молекула содержит два полипептида тяжелой цепи, в каждом из которых имеется один остаток Gln295. В других вариантах осуществления изобретения антитело, или глутаминил-модифицированное антитело, или антиген-связывающая молекула содержит один или несколько остатков глутамина в другом положении, отличающемся от положения 295 в тяжелой цепи, например, в положении, например Gln55 (Q55). В настоящее изобретены также антитела, несущие мутацию(мутации) N297Q, описанные в настоящем документе. Вкратце, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитело, включающее остаток глутамина, обрабатывают первичным амином, описанным ниже более подробно, в присутствии фермента трансглутаминазы. Иллюстративный мутант N297 является мутантом, содержащим Asn297Gln (N297Q). Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения такое антитело может быть получено посредством сайт-специфичного мутагенеза, чтобы удалить или отключить последовательность или вставить остаток глутамина в определенный участок независимо от присутствия интерферирующей структуры. Такое антитело может быть также выделено из природных или искусственных источников. Амидные группы во вставленных остатках глутамина могут быть связаны с азидными группами, которые подходят для проведения описанных выше реакций клик-химии, описанных в настоящем документе. Преимуществом является возможность контролировать также количество вставленных остатков глутамина и, следовательно, количество азидогрупп в антителе или глутаминил-модифицированном антителе или антиген-связывающей молекуле, тем самым, обеспечение более совершенного контроля над отношением антитело-лекарственное средство (ОАЛС; ADR), см. например, Пример 29 и Таблицу 5.

**[0209]** В отдельном случае для описанного в настоящем документе соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), отношение антитело-лекарственное средство (DAR) в любом образце конъюгата антитело-лекарственное средство, описанного в настоящем документе, приблизительно равно 2 (т.е.,  $n$  равен 2). В таких случаях антитело или антиген-связывающая молекула содержат 2 полипептида тяжелой цепи, в каждом из которых имеется один остаток Gln295, и каждый остаток Gln295 соединен с

азидогруппой, которая подходит для описанных в настоящем документе реакций клик-химии, делающих возможным отношение антитело-лекарственное средство, приблизительно равное 2.

**[0210]** В другом отдельном случае для описанного в настоящем документе соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc) или формуле (Vd) отношение антитело-лекарственное средство в любом образце конъюгата антитело-лекарственное средство, описанном в настоящем документе, приблизительно равно 4 (т.е.,  $n$  равен 4). В таких случаях антитело или антиген-связывающая молекула содержат 2 полипептида тяжелой цепи, в каждом из которых имеется один остаток Gln295, и каждый остаток Gln295 соединен с азидогруппой, которая подходит для описанных в настоящем документе реакций клик-химии. Кроме того, антитело или антиген-связывающая молекула дополнительно модифицировано перед конъюгацией посредством сайт-специфичного мутагенеза для удаления или отключения последовательности или для вставки остатка глутаминина несмотря на наличие любой интерферирующей структуры. Например, мутант по положению N297, остаток Asn297Gln (N297Q), в каждой тяжелой цепи соединен с азидогруппой. Таким образом, глутаминил-модифицированное антитело или антиген-связывающая молекула содержит 4 азидогруппы, которые подходят для описанных в настоящем документе реакций клик-химии, делающих возможным отношение лекарственное средство-антитело (ОЛСА), приблизительно равное 4. См. Фиг. 19.

**[0211]** В другом отдельном случае для описанного в настоящем документе соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc) или формуле (Vd) отношение антитело-лекарственное средство в любом образце конъюгата антитело-лекарственное средство, описанном в настоящем документе, приблизительно равно 5 или 6 (т.е.,  $n$  равен 5 или 6). В таких случаях антитело или антиген-связывающая молекула содержат 2 полипептида тяжелой цепи, в каждом из которых имеется один остаток Gln295, и каждый остаток Gln295 соединен с азидогруппой, которая подходит для описанных в настоящем документе реакций клик-химии. Кроме того, антитело или антиген-связывающая молекула дополнительно модифицировано перед конъюгацией посредством сайт-специфичного мутагенеза для удаления или отключения последовательности или

для вставки остатка глутамина несмотря на наличие любой интерферирующей структуры. Например, мутант по положению N297, остаток Asn297Глн (N297Q), в каждой тяжелой цепи соединен с азидогруппой. В определенных случаях подлежащие конъюгации антитела содержат один или несколько дополнительных природных остатков глутамина в переменных областях, которые могут быть доступными для трансглутаминазы и, следовательно могут вступать в реакцию конъюгации, например Gln55 (Q55). В таких случаях у антител после конъюгации с участием трансглутаминазы ОЛСА будет выше 4. Таким образом, глутаминил-модифицированное антитело или антиген-связывающая молекула может содержать 5 или 6 азидогрупп, которые подходят для описанных в настоящем документе реакций клик-химии, делающих возможным ОЛСА, приблизительно равное 5 или приблизительно равное 6.

**[0212]** В некоторых вариантах осуществления изобретения **ВА** конъюгатов, описанных в настоящем документе, является антителом или его антиген-связывающим фрагментом. В некоторых примерах связующий агент, который взаимодействует с соединением по формуле **(VI)**, формуле **(VII)**, формуле **(VIII)**, формуле **(IX)**, формуле **(IXa)**, формуле **(IXb)**, формуле **(IXc)**, формуле **(Xa)**, формуле **(Xb)**, формуле **(Xc)**, или формуле **(Xd)**, описанным в настоящем документе, является антителом или его антиген-связывающим фрагментом. В таких случаях связующий агент, который является антителом или его антиген-связывающим фрагментом, необязательно модифицирован азидогруппами, или связующий агент является модифицированным антителом или его антиген-связывающим фрагментом по описанной в настоящем документе формуле **Ab-1**, или их комбинацией. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанные в настоящем документе конъюгаты получены из функционализированных азидогруппой антител или их антиген-связывающих фрагментов.. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанные в настоящем документе конъюгаты являются производными ПЭГ-функционализированных антител или их антиген-связывающих фрагментов. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанные в настоящем документе конъюгаты являются производными антител, функционализированных азидогруппами и ПЭГ, или их антиген-связывающих фрагментов, где ПЭГ соединяется первым концом с антителом или его антиген-связывающим фрагментом, и ПЭГ соединяется со вторым концом с азидогруппой, которая подходит для описанных в настоящем документе реакций клик-химии. В

определенных вариантах осуществления изобретения ВА описанных в настоящем документе конъюгатов представляет собой:



**[0213]** В некоторых примерах, приведенных в настоящем документе, остаток d-Лиз может быть замещен реагентом, показанным на Фиг. 20.

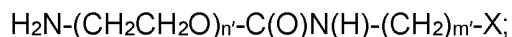
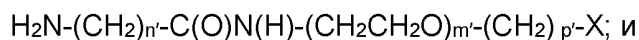
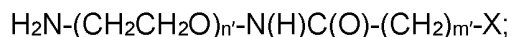
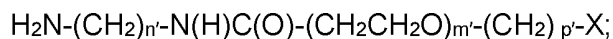
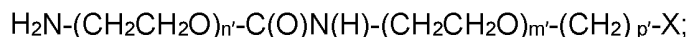
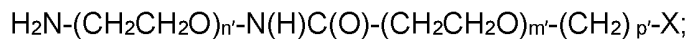
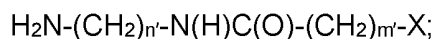
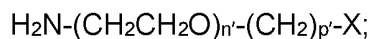
### Первичные амины

**[0214]** Первичный амин, который может быть использован для опосредованного трансклутаминазой связывания с антителом (или антиген-связывающим соединением), содержащим глутамин, может быть любой первичный амин, представляющий полезным специалисту-практику средней квалификации. Как правило, первичный амин имеет формулу  $\text{H}_2\text{N-R}$ , где R может быть любой группой, совместимой с антителом и условиями проведения реакции. В определенных вариантах осуществления изобретения R представляет собой алкил, замещенный алкил, гетероалкил или замещенный гетероалкил.

**[0215]** В некоторых вариантах осуществления изобретения первичный амин содержит реакционноспособную группу или защищенную реакционноспособную группу. Полезные реакционноспособные группы включают азиды, алкины, циклоалкины, тиолы, спирты, кетоны, кислоты, сложные эфиры, гидразиды, аналины и амины. В определенных вариантах осуществления изобретения реакционноспособную группу выбирают из группы, состоящей из азида, алкина, сульфгидрила, циклоалкина, альдегида и карбоксила.

**[0216]** В определенных вариантах осуществления изобретения первичный амин имеет формулу  $\text{H}_2\text{N-LL-X}$ , где LL представляет собой двухвалентный спейсер, и X представляет собой реакционноспособная группа или защищенная реакционноспособная группа. В частных вариантах осуществления изобретения LL представляет собой двухвалентную полиэтиленгликолевую (PEG) группу. В определенных вариантах осуществления изобретения X выбирают из группы, состоящей из  $-\text{SH}$ ,  $-\text{N}_3$ , алкина, альдегида и тетразола. В частных вариантах осуществления изобретения X представляет собой  $-\text{N}_3$ .

**[0217]** В определенных вариантах осуществления изобретения первичный амин имеет одну из следующих формул:

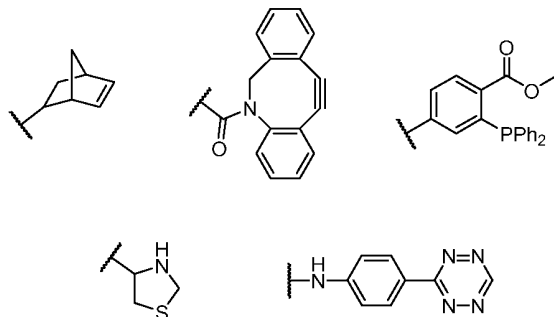


где подстрочный символ  $n'$  представляет собой целое число, которое выбирают в интервале от 1 до 12;

подстрочный символ  $m'$  представляет собой целое число, которое выбирают в интервале от 0 до 12;

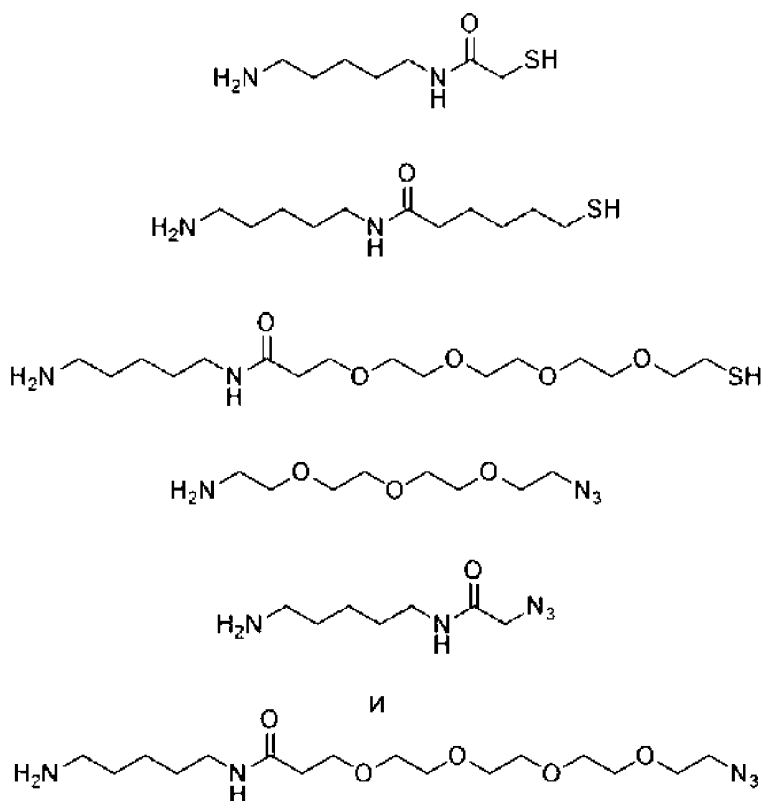
подстрочный символ  $p'$  представляет собой целое число, которое выбирают в интервале от 0 до 2;

и X выбирают из группы, состоящей из  $-\text{SH}$ ,  $-\text{N}_3$ ,  $-\text{C}\equiv\text{CH}$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{H}$ , тетразола и любого из следующих соединений:

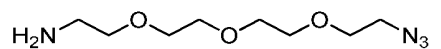


**[0218]** В приведенных выше соединениях любые алкильные или алкиленовые (*m.e.*  $-\text{CH}_2-$ ) группы могут быть необязательно замещены, например,  $\text{C}_1$ -алкилом, метформилом или  $-\text{SO}_3\text{H}$ . В определенных вариантах осуществления изобретения алкильные группы незамещены.

**[0219]** В определенных вариантах осуществления изобретения первичный амин выбирают из группы, состоящей из:



[0001] В частных вариантах осуществления изобретения первичный амин имеет формулу



Иллюстративные примеры вышеперечисленных реакций представлены ниже в разделе Примеры.

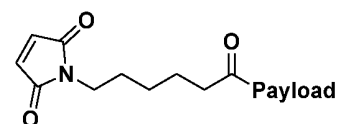
### Линкеры

[0220] Линкерная часть **LL** описанных в настоящем документе конъюгатов представляет собой фрагмент, например, двухвалентную группу, которая ковалентно связывает связующий агент с соединением-полезной нагрузкой, описанным в настоящем документе. В других случаях линкер **LL** представляет собой трехвалентную или мультивалентную группу, которая ковалентно связывает связующий агент с соединением-полезной нагрузкой, описанным в настоящем документе. Подходящие линкеры можно найти, например, в публикации *Конъюгаты антитело-лекарственное средство и иммунотоксины (Antibody-Drug Conjugates u Immunotoxins)*; Phillips, Г. L., Ed.; Springer Verlag: New York, 2013; *Конъюгаты антитело-лекарственное средство (Antibody-Drug Conjugates)*; Дусгу, L., Ed.; Humana Press, 2013; *Конъюгаты антитело-лекарственное*

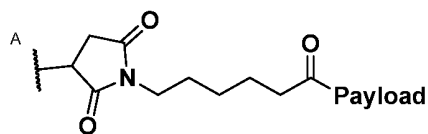
средство (*Antibody-Drug Conjugates*); Wang, J., Shen, W.-C., и Zaro, J. L., Eds.; Springer International Publishing, 2015, содержание каждой из этих публикаций включено в настоящий документ во всей полноте посредством ссылки. Соединения-полезные нагрузки включают соединения, показанные на Фиг. 1 и их остатки после связывания или включения с линкером LL. Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что определенные функциональные группы в составе полезной нагрузки подходят для связывания или соединения с линкерами и/или связующими агентами. Эти группы включают аминные, гидроксильные, фосфатные группы и сахара.

[0221] В определенных вариантах осуществления изобретения линкеры стабильны линкеры являются расщепляемыми, например, с высвобождением, по меньшей мере, одной полезной нагрузки в присутствии фермента или в определенном диапазоне pH или при определенном значении pH. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит расщепляемый ферментом фрагмент. Иллюстративные расщепляемые ферментом составляющие включают, не ограничиваясь перечисленным, пептидные связи, сложноэфирные связи, гидразоны и дисульфидные связи. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит расщепляемый катепсином линкер.

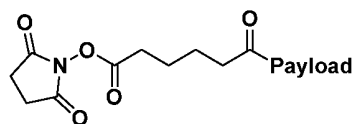
[0222] В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит нерасщепляемый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения



нерасщепляемый линкер получают из соединения (Payload- полезная нагрузка) или его остатка. В некоторых вариантах осуществления изобретения нерасщепляемый линкер-полезная нагрузка

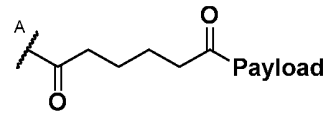


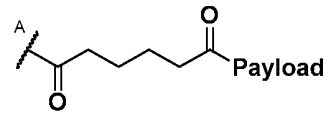






представляет собой , или его региоизомер. В некоторых вариантах осуществления изобретения нерасщепляемый линкер



получают из соединения или его остатка. В некоторых вариантах осуществления изобретения нерасщепляемый линкер-полезная





нагрузка представляет собой соединение , или его региоизомер. В одном варианте осуществления изобретения линкером является малеимид  циклогексан  карбоксилат  или  4-(N-малеимидометил)циклогесанкарбоновая кислота (МЦК; МСС). В этих структурах,  указывает на связь со связующим агентом. В этих структурах в некоторых примерах  указывает остаток клик-реагента, который образуется в результате реакции, например, между связующим агентом и линкером-полезной нагрузкой.

**[0223]** В некоторых вариантах осуществления изобретения подходящие линкеры включают, не ограничиваясь перечисленным, линкеры, химически связанные с двумя остатками цистеина одного связующего агента, например, антитела. Такие линкеры, могут имитировать дисульфидные связи антитела, которые разрушаются в результате процесса конъюгации.

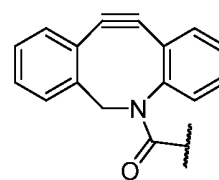
**[0224]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит одну или более аминокислот. Подходящие аминокислоты включают природные, неприродные, стандартные, нестандартные, протиногенные, непротеиногенные, и L-, или D- $\alpha$ -аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин, производное такой аминокислоты или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления изобретения одна или более боковых кислот аминокислот связаны с описанной ниже группой боковой цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит валин и цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит лизин, валин и цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит лизин, валин и аланин. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит валин и аланин.

**[0225]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит саморасщепляющуюся группу. Саморасщепляющейся группой может быть любая из таких групп, известных специалисту. В частных вариантах осуществления изобретения саморасщепляющейся группой является пара-аминобензил (**PAB**),

или его производное. Полезные производные включают пара-аминобензилоксикарбонил (**PABC**). Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что саморасщепляющаяся группа способна к осуществлению химической реакции, которая приводит к высвобождению остальных атомов линкера от полезной нагрузки.

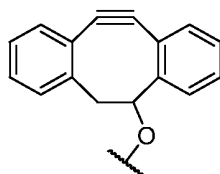
[0226] В определенных вариантах осуществления изобретения реакционноспособные группы включают алкины, не ограничиваясь ими. В определенных вариантах осуществления изобретения алкины представляют собой алкины, способные вступать в реакции 1,3-циклоприсоединения с алкинами в отсутствие медных катализаторов, как, например, напряженные алкины. Напряженные алкилы подходят для промотированных напряжением реакций алкин-азид циклоприсоединения (SPAAC), циклоалкины, *например*, циклооктины и бензаннулированные алкины. Подходящие алкины включают, не ограничиваясь

перечисленным, дибензоазациклооктин, или

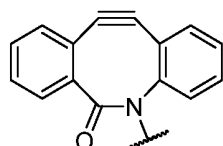


(DIBAC),

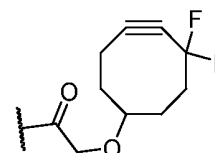
дибензоциклооктин или



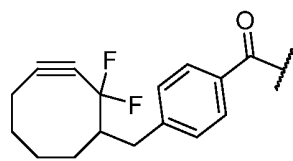
(DIBO), биарилазациклооктинон, или



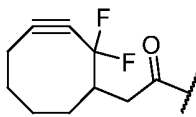
(BARAC), дифторированный циклооктин, или



или

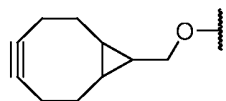


, или

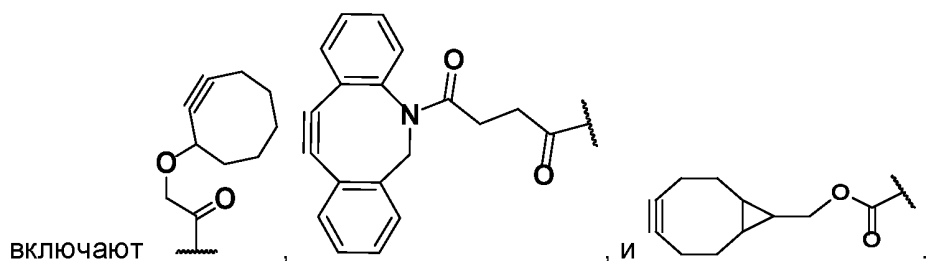


(DIFO), замещенные, например,

фторированные алкины, аза-циклоалкины, бицикло[6.1.0]нонин, или

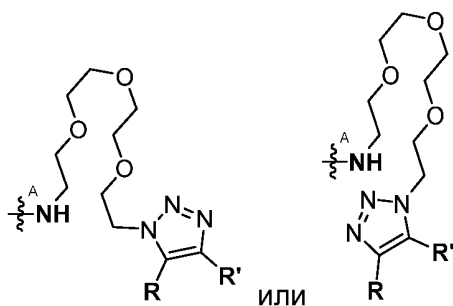


(BCN), и их производные. В частности, полезные алкины



[0227] В определенных вариантах осуществления изобретения связующий агент соединяется непосредственно с реакционноспособной группой **RG**. В определенных вариантах осуществления изобретения связующий агент соединяется с реакционноспособной группой **RG** через спейсер. В частных вариантах осуществления изобретения связующий агент соединяется непосредственно с реакционноспособной группой через спейсер ПЭГ. В определенных вариантах осуществления изобретения связующий агент получают посредством функционализации одной или более азидогрупп. Каждая азидогруппа способна взаимодействовать с алкином в **RG** с образованием **RG<sup>1</sup>** или **RG'**. В частных вариантах осуществления изобретения связующий агент подвергается дериватизации с  $-\text{PEG}-\text{N}_3$ , связанным с остатком глутамина. В настоящем документе представлены типичные  $-\text{N}_3$  дериватизированные связующие агенты, способы их получения и способы их использования посредством взаимодействия с **RG**. В определенных вариантах осуществления изобретения **RG** является алкином, подходящим для участия в реакции 1,3-циклоприсоединения, и **RG<sup>1</sup>** или **RG'** представляют собой 1,2,3-триазольную группу, образовавшуюся в результате реакции между **RG** и азидофункционализированным связующим агентом. В качестве еще одного примера, в определенных вариантах осуществления изобретения **RG** соединяется со

связующим агентом, как показано здесь

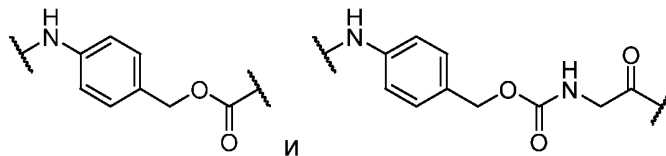


смесью региоизомеров. **R** и **R'** описаны в настоящем документе.

[0228] Аналогично, каждый описанный здесь **HG**, может быть азидо-функционализированной гидрофильной группой, которая взаимодействует с алкином в **RG** с образованием **RG<sup>2</sup>**.

[0229] В определенных вариантах осуществления изобретения **RG<sup>1</sup>** или **RG'** получают посредством реакции между реакционноспособной группой и остатком цистеина или лизина в молекуле антитела или его антигенсвязывающем фрагменте. В определенных вариантах осуществления изобретения **RG<sup>1</sup>** или **RG'** получают в результате реакции клик-химии. В некоторых вариантах такой реакции клик-химии **RG<sup>1</sup>** или **RG'** получают посредством реакции 1,3-циклоприсоединения между алкином и азидом. Неограничивающие примеры таких **RG<sup>1</sup>**, или **RG'** включают полученные из напряженных алкинов, например, подходящих для промотированных напряжением реакций алкин-азид циклоприсоединения (SPAAC), циклоалкинов, *например*, циклооктинов, бензаннулированных алкинов, способных вступать в реакции 1,3-циклоприсоединения с азидами в отсутствие медных катализаторов. Подходящие группы **RG<sup>1</sup>**, или **RG'** включают также, не ограничиваясь перечисленным, реакционноспособные группы, полученные из DIBAC, DIBO, BARAC, замещенных, например, фторированными алкинами, аза-циклоалкинами, BCN, и их производными. Конъюгаты, содержащие такие группы **RG<sup>1</sup>**, или **RG'**, могут быть получены из антител, которые были функционализированы азидогруппами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные азидо-полиэтиленгликолевыми группами. В определенных вариантах осуществления изобретения такое функционализированное антитело получают посредством реакции между антителом, содержащим, по меньшей мере, один остаток глутамина, с соединением по формуле  $H_2N-LL'-N_3$ , где **LL'** -двухвалентная полиэтиленгликолевая группа, в присутствии фермента транsgлутаминазы, например, микробной транsgлутаминазы. Подходящие остатки глутамина в молекуле антитела включают Q295 или Q55, или полученные в результате вставки или мутации, *например*, мутации N297Q.

[0230] Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что PAB и PABC являются остатками пара-аминобензилоксикарбонила и пара-аминобензилкарбамата, имеющими следующие структуры, соответственно:



Показано, что остатки **PAB** и **PABC** способствуют расщеплению определенных линкеров *in vitro* и *in vivo*.

**[0231]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-PEG<sub>6</sub>)-VC-PAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0232]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-PEG<sub>e</sub>-таурин)-VC-PAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0233]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-PEG<sub>e</sub>-таурин)-VC-PAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0234]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-двойной таурин)-VC-PAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0235]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dGlu(таурин)-VC-PAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах



**[0241]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-PEG<sub>e</sub>-таурин)-VC. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0242]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-PEG<sub>e</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-vcPAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0243]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-PEG<sub>e</sub>-фосфат)-vcPAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 5.

**[0244]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-галактоза)-vcPAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0245]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой MAL-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-галактоза)-vcPAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0246]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dGlu(глюкамид)-vcPAB. Подстрочный индекс **e** является целым

числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0247]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой MAL-PEG<sub>e</sub>-dGlu(глюкамид)-vcPAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0248]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-PEG<sub>e</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-vcPAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0249]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой COT-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-PEG<sub>e</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-vcPAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0250]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой BCN-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-PEG<sub>e</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-vcPAB. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 5. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 5.

**[0251]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>e</sub>-dLys(COT-PEG<sub>e</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-VA. Подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 0. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 1. В некоторых примерах



подстрочный индекс **e** равен 2. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 3. В некоторых примерах подстрочный индекс **e** равен 4.

**[0252]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>6</sub>)-VC-PAB.

**[0253]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-таурин)-VC-PAB.

**[0254]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-таурин)-VC-PAB.

**[0255]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-двойной таурин)-VC-PAB.

**[0256]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dGlu(таурин)-VC-PAB.

**[0257]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-таурин)-VC-PAB.

**[0258]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-таурин)-VA.

**[0259]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-таурин)-VC.

**[0260]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dGlu(таурин)-VC.

**[0261]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-таурин)-VA.

**[0262]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-таурин)-VC.

**[0263]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-vcPAB

**[0264]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>5</sub>-фосфат)-vcPAB

**[0265]** В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-галактоза)-vcPAB

[0266] В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой MAL-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-галактоза)-vcPAB

[0267] В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dGlu(глюкамид)-vcPAB

[0268] В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой MAL-PEG<sub>4</sub>-dGlu(глюкамид)-vcPAB

[0269] В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-vcPAB

[0270] В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой COT-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-vcPAB

[0271] В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой BCN-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-vcPAB

[0272] В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой DIBAC-PEG<sub>4</sub>-dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-VA

#### **Реакционноспособные соединения линкер-нагрузка**

[0273] Предложенные в настоящем документе конъюгаты могут быть получены из реакционных соединений линкер-полезная нагрузка, содержащих описанные выше реакционноспособные группы **RG**<sup>1</sup>, или **RG**<sup>'</sup>, или **RG**<sup>2</sup>. Реакционноспособные соединения линкер-полезная нагрузка могут быть соединены с гидрофильными группами, как описано в настоящем документе, и/или связующими агентами при использовании описанных ниже способов.

[0274] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанного в настоящем документе, реакционноспособное соединение линкер-полезная нагрузка содержит реакционноспособную группу, соединенную, по меньшей мере, с одной полезной нагрузкой и соединенную, по меньшей мере, с одной гидрофильной группой через ковалентный линкер, где указанный ковалентный линкер связан прямо или опосредованно с реакционноспособной группой, с полезной нагрузкой и с гидрофильной группой.

[0275] Как проиллюстрировано в настоящем документе, в некоторых примерах реакционноспособная группа прямо соединена с ковалентным линкером, таким как аминокислота лизин. Это означает, что между реакционноспособной группой и ковалентным линкером находится одна связь. В некоторых из этих примеров

ковалентный линкер также соединен прямо с полезной нагрузкой. Это означает, что между ковалентным линкером и полезной нагрузкой, такой как MMAE, стероид, модулятор LXR, не ограничиваясь перечисленным, или любая нагрузка, описанная в настоящем документе, находится одна связь. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер соединен прямо также с гидрофильным фрагментом. Это означает, что между ковалентным линкером и гидрофильным остатком, таким как гидрофильный остаток, описанный в настоящем документе, находится одна связь. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер представляет собой аминокислоту лизин или ее производное.

**[0276]** В других примерах реакционноспособная группа опосредованно опосредованно с ковалентным линкером. Это означает, что между реакционноспособной группой и ковалентным линкером находится более одной связи. Это означает также, что реакционноспособная группа соединяется с ковалентным линкером через другую группу. Например, реакционноспособная группа может быть соединена с полиэтиленгликолевой группой, которая соединена с ковалентным линкером. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер соединен также опосредованно с полезной нагрузкой. Это означает, что между ковалентным линкером и полезной нагрузкой, такой как MMAE, стероид, не ограничиваясь перечисленным, или любая нагрузка, описанная в настоящем документе, может находиться более одной связи. Это означает также, что ковалентный линкер соединен с полезной нагрузкой через другую группу. Например, ковалентный линкер может быть соединен с дипептидом, таким как Вал-Ала или Вал-Цит, не ограничиваясь перечисленным, который может быть соединен с PAB, который может быть соединен с полезной нагрузкой. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер соединен также опосредованно с гидрофильным фрагментом. Это означает, между ковалентным линкером и гидрофильным остатком, таким как гидрофильный остаток, описанный в настоящем документе, может находиться более одной связи. Это означает также, что ковалентный линкер связан с гидрофильным остатком через другую группу. Например, ковалентный линкер может быть соединен с полиэтиленгликолевой группой, которая может быть соединена с реакционноспособной группой, которая может быть соединена с гидрофильным остатком. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер представляет собой аминокислоту лизин или ее производное.

[0277] В формулах, представленных в настоящем документе, каждый **AA<sup>1</sup>** является аминокислотой. В некоторых примерах в формулах, представленных в настоящем документе, каждый **AA<sup>2</sup>** является аминокислотой. В некоторых примерах в формулах, представленных в настоящем документе, каждый **AA<sup>2</sup>** является дипептидом. В некоторых примерах в формулах, представленных в настоящем документе, каждый **AA<sup>2</sup>** является трипептидом. Подходящие аминокислоты для каждого **AA<sup>1</sup>** или **AA<sup>2</sup>** включают природные, неприродные, стандартные, нестандартные, протиногенные, непротеиногенные, и L-, или D-аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит аминокислоту аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, или ее производное, или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления изобретения одна или более боковых кислот аминокислот связаны с описанной ниже группой боковой цепи. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** является аминокислотой, которую выбирают из группы, включающей аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, или ее производное, или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** является аминокислотой с тремя функциональными группами для соединения с полезной нагрузкой, со связующим агентом (например, антителом или его антиген-связывающим фрагментом), и с линкером, содержащим гидрофильную группу, например, лизин, аспарагин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, глутамин, цистеин, треонин, серин, или тирозин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** представляет собой лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** представляет собой глутамин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** представляет собой лизин или производное лизина. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** представляет собой L-лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** представляет собой D-лизин. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>** представляет собой глутаминовую кислоту. В определенных вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления

изобретения **AA<sup>2</sup>** с цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой глицин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** представляет собой глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** представляет собой лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** представляет собой лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** представляет собой глутамин-валин-аланин.

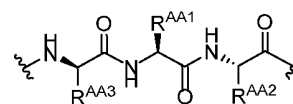
[0278] В некоторых вариантах осуществления изобретения **AA<sup>2</sup>** представляет собой дипептид, который выбирают из следующих дипептидов: валин–цитруллин, цитруллин–валин, лизин–фенилаланин, фенилаланин–лизин, валин–аспарагин, аспарагин–валин, треонин–аспарагин, аспарагин–треонин, серин–аспарагин, аспарагин–серин, фенилаланин–аспарагин, аспарагин–фенилаланин, лейцин–аспарагин, аспарагин–лейцин, изолейцин–аспарагин, аспарагин–изолейцин, глицин–аспарагин, аспарагин–глицин, глутаминовая кислота–аспарагин, аспарагин–глутаминовая кислота, цитруллин–аспарагин, аспарагин–цитруллин, аланин–аспарагин, или аспарагин–аланин.

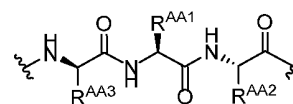
[0279] В некоторых примерах **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** представляет собой лизин-валин–аланин или аланин–валин-лизин.

[0280] В некоторых примерах **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** представляет собой лизин-валин–цитруллин или цитруллин–валин-лизин.

[0281] В некоторых примерах **AA<sup>2</sup>** представляет собой валин–цитруллин или цитруллин–валин.

[0282] В некоторых примерах **AA<sup>2</sup>** представляет собой валин–аланин или аланин–валин.



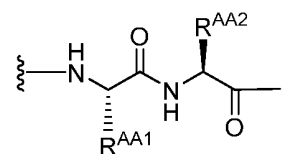
[0283] В некоторых примерах **AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup>** имеет формулу . В некоторых из этих примеров **R<sup>AA1</sup>** является боковой цепью аминокислоты, **R<sup>AA2</sup>** является боковой цепью аминокислоты, и **R<sup>AA3</sup>** является боковой цепью

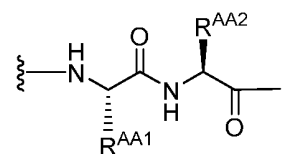
аминокислоты, которая соединена прямо или опосредованно с гидрофильным фрагментом.

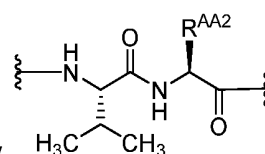
[0284] В некоторых примерах  $R^{AA1}$  является боковой цепью валина.

[0285] В некоторых примерах  $R^{AA2}$  является боковой цепью аланина.

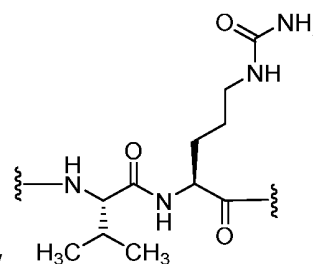
[0286] В некоторых примерах  $R^{AA2}$  является боковой цепью цитруллина.



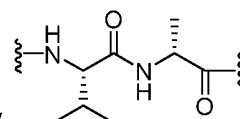
[0287] В некоторых примерах  $AA^1-AA^2$  имеет формулу . В некоторых из этих примеров  $R^{AA1}$  является боковой цепью аминокислоты, и  $R^{AA2}$  боковой цепью аминокислоты.



[0288] В некоторых примерах  $AA^2$  имеет формулу .



[0289] В некоторых примерах  $AA^2$  имеет формулу .



[0290] В некоторых примерах  $AA^2$  имеет формулу .

[0291] В некоторых примерах в настоящем документе описано соединение линкер-нагрузка, содержащее соединение, описанное в настоящем документе.

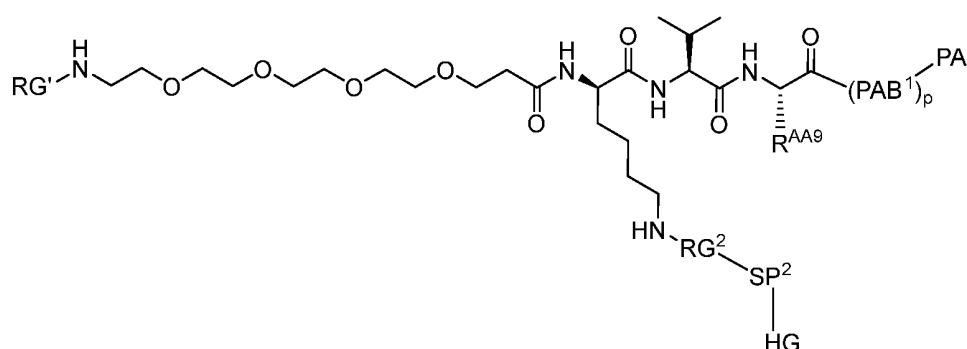
[0292] В некоторых примерах в настоящем документе соединение линкер-нагрузка, содержащее соединение, описанное в настоящем документе, соединено с кислородом или первичным или вторичным азотом любого соединения, описанного в настоящем документе.

[0293] В некоторых примерах в настоящем документе описан конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий соединение или линкер-полезную нагрузку,

описанные в настоящем документе, соединенное с антителом или его антиген-связывающим фрагментом.

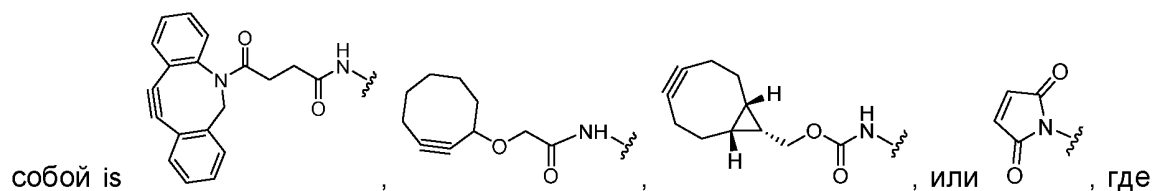
**[0294]** Предложенные в настоящем документе конъюгаты могут быть получены из реакционноспособных соединений линкер-полезная нагрузка с реакционноспособными группами RG, описанными выше, в разделе Примеры и показанными в фигурах. Реакционноспособные соединения линкер-полезная нагрузка может быть соединено с гидрофильными группами и/или связующими агентами при использовании описанных в настоящем документе способов, например в разделе Примеры и на фигурах.


**[0295]** В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособный линкер-полезная нагрузка представляет собой:



или фармацевтически приемлемую соль, сольват или стереоизомерную форму этого соединения, или его региоизомер, где **PAB<sup>1</sup>**, представляющий собой **PAB** или **PABC**, описан в настоящем документе; **p** равен 0 или 1; **R<sup>AA9</sup>** - метил или - (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-C(=O)-NH<sub>2</sub>; и **RG'**, **RG<sup>2</sup>**, **PA**, **SP<sup>2</sup>** и **HG** определены в настоящем документе.

**[0296]** В некоторых вариантах осуществления изобретения **RG'** представляет собой



каждый  указывает на атом, через который группа соединена с остальной молекулой.

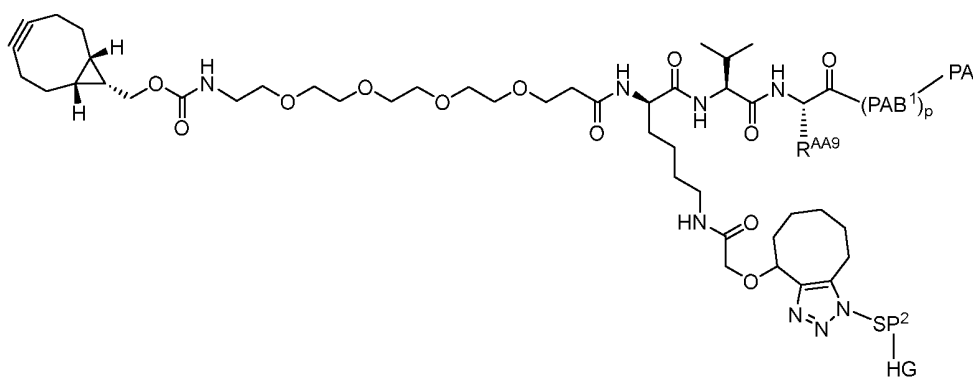
**[0297]** В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение реакционноспособный линкер-полезная нагрузка представляет собой:





или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или стереоизомерную форму этого соединения, или его региоизомер, где **PAB**<sup>1</sup> представляет собой **PAB** или **PABC**, описанные в настоящем документе; **p** равен 0 или 1; **R**<sup>AA9</sup> является метилом или  $-(\text{CH}_2)_3\text{-NH-C(=O)-NH}_2$ ; и **PA**, **SP**<sup>2</sup> и **HG** определены в настоящем документе. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе, и **PA** – полезная нагрузка А на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка В на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка С на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка D на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка E на Фиг. 1.

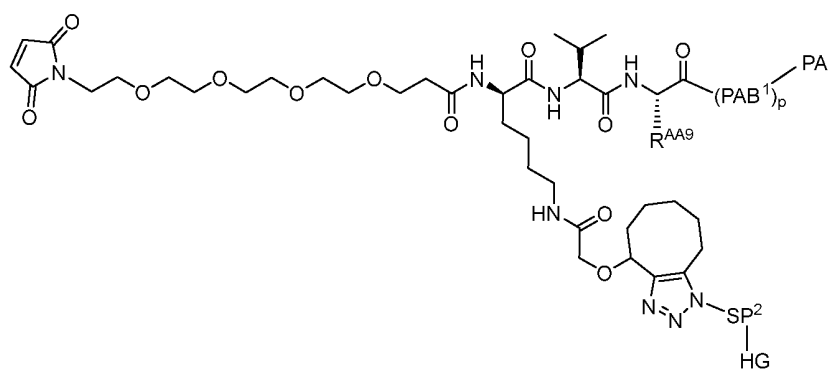
**[0299]** В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение реакционноспособный линкер-полезная нагрузка представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или стереоизомерную форму этого соединения, или его региоизомер, где **PAB**<sup>1</sup> представляет собой **PAB** или **PABC**, описанные в настоящем документе; **p** равен 0 или 1; **R**<sup>AA9</sup> – метил или  $-(\text{CH}_2)_3\text{-NH-C(=O)-NH}_2$ ; и **PA**, **SP**<sup>2</sup> и **HG** определены в настоящем документе. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем

документе, и **PA** – полезная нагрузка A на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка B на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка C на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка D на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка E на Фиг. 1.

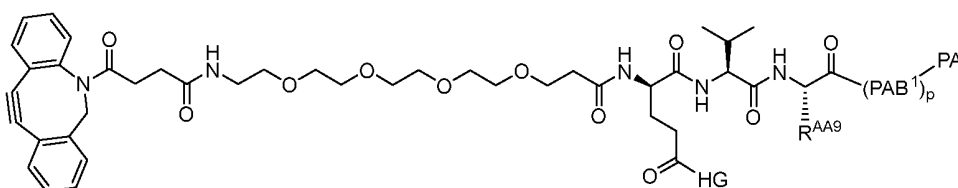
[0300] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение реакционноспособный линкер-полезная нагрузка представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или стереоизомерную форму этого соединения, или его региоизомер, где **PAB<sup>1</sup>** представляет собой **PAB** или **PABC**, описанные в настоящем документе; **p** равен 0 или 1; **R<sup>AA9</sup>** – метил или  $-(CH_2)_3-NH-C(=O)-NH_2$ ; и **PA**, **SP<sup>2</sup>** и **HG** определены в настоящем документе. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка B на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка C на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка D на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или

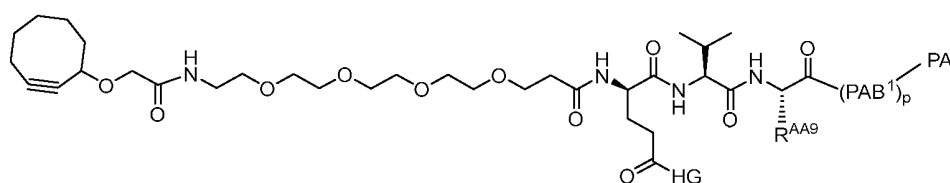
двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка E на Фиг. 1.

**[0301]** В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение реакционноспособный линкер-полезная нагрузка представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или стереоизомерную форму этого соединения, или его региоизомер, где **PAB<sup>1</sup>** представляет собой **PAB** или **PABC**, описанные в настоящем документе; **p** равен 0 или 1; **R<sup>AA9</sup>** – метил или  $-(CH_2)_3-NH-C(=O)-NH_2$ ; и **PA**, **SP<sup>2</sup>** и **HG** определены в настоящем документе. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе, и **PA** – полезная нагрузка A на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка B на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка C на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка D на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка E на Фиг. 1.

**[0302]** В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение реакционноспособный линкер-полезная нагрузка представляет собой:

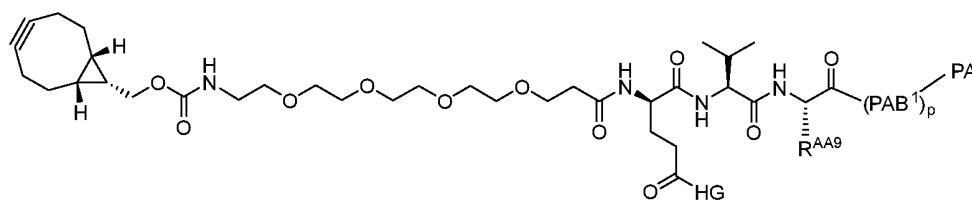


или его

фармацевтически приемлемую соль, сольват или стереоизомерную форму этого соединения, или его региоизомер, где **PAB<sup>1</sup>** представляет собой **PAB** или **PABC**, описанные в настоящем документе; **p** равен 0 или 1; **R<sup>AA9</sup>** представляет собой

метил или  $-(\text{CH}_2)_3\text{-NH-C(=O)-NH}_2$ ; и **PA**, **SP<sup>2</sup>** и **HG** определены в настоящем документе. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе, и **PA** представляет собой полезную нагрузку А на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка В на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка С на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка D на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка E на Фиг. 1.

**[0303]** В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение реакционноспособный линкер-полезная нагрузка представляет собой:

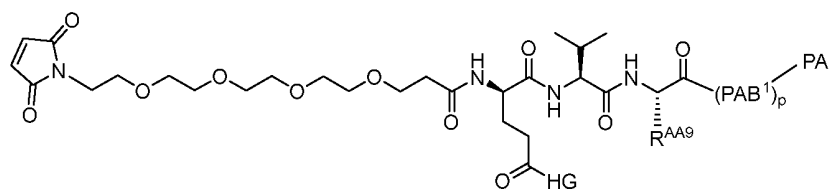


или его

фармацевтически приемлемую соль, сольват или стереоизомерную форму этого соединения, или его региоизомер, где **PAB<sup>1</sup>** представляет собой **PAB** или **PABC**, описанные в настоящем документе; **p** равен 0 или 1; **R<sup>AA9</sup>** – метил или  $-(\text{CH}_2)_3\text{-NH-C(=O)-NH}_2$ ; и **PA**, **SP<sup>2</sup>** и **HG** определены в настоящем документе. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе, и **PA** – полезная нагрузка А на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка В на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка С на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в

соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка D на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка E на Фиг. 1.

[0304] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение реакционноспособный линкер-полезная нагрузка представляет собой:

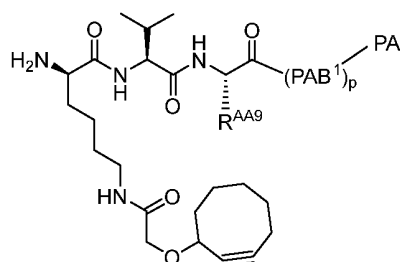


или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или стереоизомерную форму этого соединения, или его региоизомер, где **PAB<sup>1</sup>** представляет собой **PAB** или **PABC**, описанные в настоящем документе; **p** равен 0 или 1; **R<sup>AA9</sup>** – метил или - $(\text{CH}_2)_3\text{-NH-C(=O)-NH}_2$ ; и **PA**, **SP<sup>2</sup>** и **HG** определены в настоящем документе. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе, и **PA** – полезная нагрузка A на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка B на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка C на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка D на Фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения **HG** представляет собой таурин или двойной таурин в соответствии с определением в настоящем документе и **PA** полезная нагрузка E на Фиг. 1.

[0305] Во всех случаях в описанных в настоящем документе соединениях линкер-полезная нагрузка, реакционноспособное соединение линкер-нагрузка соединяется со связующим агентом (например, **Ab** или **Ab-1** в соответствии с определением в настоящем документе) посредством реакции азида (например, реакции клик-химии) с напряженным алкином. В других вариантах осуществления изобретения реакционноспособное соединение линкер-нагрузка соединяется со связующим агентом (например, **Ab** или **Ab-1** в соответствии с определением в

настоящем документе) посредством нуклеофильной атаки на группу сукцинимиды в реакционноспособном соединении линкер-полезная нагрузка.

**[0306]** В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособный линкер-полезная нагрузка представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или стереоизомерную форму этого соединения, или его региоизомер, где **PAB<sup>1</sup>** представляет собой **PAB** или **PABC**, описанные в настоящем документе; **p** равен 0 или 1; **R<sup>AA9</sup>** – метил или  $-(\text{CH}_2)_3\text{-NH-C(=O)-NH}_2$ ; и **PA**, **SP<sup>2</sup>** и **HG** определены в настоящем документе. В таких случаях гидрофильный линкер, содержащий азид, соединяется с реакционноспособным соединением линкер-полезная нагрузка посредством проведения реакции между азидом (например, методом клик-химии) с напряженным алкином.

### Способы получения соединений

**[0307]** Предложенные в настоящем документе соединения могут быть приготовлены, выделены или получены любым другим способом, очевидным для специалиста в данной области техники. Типичные способы получения соединения подробно описаны ниже в Примерах. В определенных вариантах осуществления изобретения предложенные в настоящем документе соединения могут быть получены способами, описанными в Примерах и на Фиг. 1-19.

**[0308]** Описанные в настоящем документе конъюгаты могут быть синтезированы посредством связывания соединений линкер-полезная нагрузка, описанных в настоящем документе, со связующим агентом, например, антителом, в стандартных условиях конъюгации (см., например, публикацию Doronina *et al. Nature Biotechnology* 2003, 21, 7, 778, которая во всей полноте включена в настоящий документ посредством ссылки). Когда связующий агент является антителом, антитело может быть связано с соединением линкер-полезная нагрузка через один или несколько остатков цистеина или лизина в молекуле антитела. Соединения линкер-полезная нагрузка могут быть сопряжены с остатками

цистеина. Например, в результате воздействия восстановителя на антитело., например дитиотеритола, для расщепления дисульфидных связей в молекуле антитела, и очистки восстановленного антитела, например, посредством гель-фильтрации и далее обработки антитела соединением линкер-полезная нагрузка, содержащим подходящую реакционноспособную группу, например, малеимидо-группу. Подходящие растворители включают, не ограничиваясь перечисленным, вода, ДМА, ДМФ, и ДМСО. Соединения линкер-полезная нагрузка, содержащие реакционноспособную группу, например, активированный сложный эфир и галогенангидрил, могут быть сопряжены с остатками лизина молекулы антитела. Подходящие растворители включают, не ограничиваясь перечисленным, воду, ДМА, ДМФ, и ДМСО.. Конъюгаты могут быть очищены известными методами, применяемыми для белков, включая, например, эксклюзионную хроматографию, диализ и ультрафильтрацию/диафильтрацию.

**[0309]** Связующие агенты, например антитела могут быть конъюгированы также посредством реакций клик-химии. В некоторых вариантах осуществления таких реакций клик-химии соединение линкер-полезная нагрузка включает реакционноспособную группу, например алкин, который может вступать в реакцию 1,3-циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реакционноспособные группы оисаны выше. В молекуле антитела имеется одна или несколько азидных групп. Такие антитела включают, антитела, функционалиированные, например, азидополиэтиленгликольными группами. В определенных вариантах осуществления изобретения такое функционализированное антитело получают, обрабатывая антитело, в котором имеется, по меньшей мере, один остаток глутамин, например, Gln295 в тяжелой цепи, первичным амином в присутствии фермента трансглутаминазы. К таким антителам относятся также мутанты, содержащие Asn297Gln (N297Q). В определенных вариантах осуществления изобретения такое функционализированное антитело получают, обрабатывая антитело, в молекуле которого имеется, по меньшей мере, два остатка глутамин, например, Gln295 в тяжелой цепи и Gln297 в тяжелой цепи, первичным амином в присутствии фермента трансглутаминазы. К таким антителам относятся мутанты, содержащие Asn297Gln (N297Q). В определенных вариантах осуществления изобретения в антителе имеются две тяжелые цепи, как описано в этом абзаце, для антитела, содержащего два или суммарно четыре остатка глутамин. В определенных случаях антитела, подлежащие конъюгации, содержат один или более дополнительных природных остатков глутамин в переменных областях,

например, Gln55 (Q55), которые могут быть доступными для трансглутаминазы и поэтому могут вступать в реакции конъюгации. В таких случаях после конъюгации, осуществляемой трансглутаминазой, значение ОЛСА антитела может быть выше 4. К таким антителам относятся мутанты, содержащие Asn297Gln (N297Q). В некоторых вариантах осуществления изобретения в антителе имеются две тяжелые цепи, как описано в этом абзаце, и антитело при этом содержит суммарно два, или суммарно четыре, или суммарно пять или шесть остатков глутамин.

**[0310]** В определенных вариантах осуществления изобретения остаток глутамин в молекуле антитела находится в одном или нескольких положениях тяжелой цепи, обозначаемых 295 согласно принятой в ЕС системе нумерации. В настоящем изобретении это положение обозначено, как глутамин 295, или Gln295, или Q295. Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что у многих антител этот консервативный остаток глутамин присутствует в последовательности дикого типа. В других полезных вариантах осуществления изобретения антитело может быть сконструировано таким образом, чтобы содержать остаток глутамин. Приемы, применяемые для модификации последовательности антитела, чтобы включить в них остаток глутамин, известны специалистам в данной области техники (см. например, Ausubel *et al. Current Protoc. Моль. Biol.*).

**[0311]** В определенных вариантах осуществления изобретения антитело содержит два остатка глутамин, по одному в каждой тяжелой цепи. В частных случаях осуществления изобретения антитело содержит остаток Q295 в каждой тяжелой цепи. В других вариантах осуществления изобретения антитело содержит один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или более остатков глутамин. Эти остатки глутамин могут находиться в тяжелых цепях, легких цепях или и в тяжелых, и в легких цепях. Эти остатки глутамин могут быть остатками дикого типа или остатками, созданными инженерными методами. Антитела могут быть получены при использовании стандартных приемов. В определенных вариантах осуществления изобретения антитела содержат остаток Q55.

**[0312]** Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что антитела часто бывают гликозилированными по остатку N297, рядом с остатком Q295 в последовательности тяжелой цепи. Гликозилирование остатка N297 может создавать препятствия для трансглутаминазы возле остатка Q295 (Dennler *et al.*,



*supra*). Соответственно, желательными являются варианты осуществления изобретения, в которых антитело не гликозилировано. В определенных вариантах осуществления изобретения антитело дегликозилировано или агликозилировано. В частных случаях осуществления изобретения тяжелой цепи антитела имеется мутация в положении N297. Другими словами, в результате мутации антитело утрачивает остаток аспарагина в положении 297. В частных случаях осуществления изобретения в тяжелой цепи антитела имеется мутация N297Q. Такое антитело может быть получено методом сайт-специфичного мутагенеза, который проводится для удаления или отключения последовательности гликозилирования, либо методом сайт-специфичного мутагенеза, который приводит к вставке остатка глутаминна несмотря на интерферирующий участок гликозилирования или другую интерферирующую структуру. Такое антитело может быть также выделено из природных или искусственных источников.

**[0313]** Затем антитело, в котором отсутствует интерферирующее гликозилирование, обрабатывают первичным амином. В определенных вариантах осуществления изобретения агликозилированное антитело обрабатывают первичным амином, чтобы получить глутаминил-модифицированное антитело. В определенных вариантах осуществления изобретения дегликозилированное антитело вводят во взаимодействие с первичным амином, чтобы получить глутаминил-модифицированное антитело.

**[0314]** Первичный амин может представлять собой первичный амин, способный образовать ковалентную связь с остатком глутаминна в присутствии трансглутаминазы. Полезные первичные амины описаны в настоящем документе. В качестве трансглутаминазы может быть использована любая трансглутаминаза, представляющаяся подходящей специалисту. В определенных вариантах осуществления изобретения трансглутаминазой является фермент, который катализирует образование изопептидной связи между свободной аминной группой первичного амина и ацильной группой на боковой цепи остатка глутаминна. Трансглутаминазу называют также протеин-глутамин- $\gamma$ -глутамилтрансферазой. В частных случаях осуществления изобретения трансглутаминаза классифицирована, как EC 2.3.2.13. Может быть использована трансглутаминаза из любого подходящего источника. В определенных вариантах осуществления изобретения трансглутаминаза имеет микробное происхождение. Полезные трансглутаминазы были выделены из *Streptomyces mobaraense*, *Streptomyces*

*cinnamoneum*, *Streptomyces griseo-carneum*, *Streptomyces lavendulae*, и *Bacillus subtilis*. Могут быть использованы также немикробные трансглутаминазы, включая трансглутаминазы млекопитающих. В определенных вариантах осуществления изобретения трансглутаминаза может быть получена любым способом или из любого источника, представляющегося подходящим специалисту. В частных случаях осуществления изобретения приобретают коммерческую трансглутаминазу.

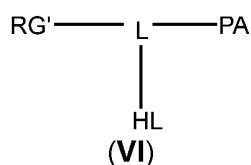
**[0315]** В частных случаях осуществления изобретения первичный амин содержит реакционноспособную группу, способную вступать в другие реакции после трансглутаминации. В этих вариантах осуществления изобретения глутаминил-модифицированное антитело может быть введено в реакцию с или обработано реакционной способной полезной нагрузкой или реакционноспособным соединением линкер-полезная нагрузка с образованием конъюгата антитело-полезная нагрузка. В определенных вариантах осуществления изобретения первичный амин содержит азид, описанный в настоящем изобретении.

**[0316]** В определенных вариантах осуществления изобретения глутаминил-модифицированное антитело может быть введено во взаимодействие или обработано реакционноспособным соединением линкер-полезная нагрузка с образованием конъюгата антитело-полезная нагрузка. Реакция может проводиться в условиях, представляющихся подходящими специалисту. В определенных вариантах осуществления изобретения глутаминил-модифицированное антитело приводят в контакт с реакционноспособным соединением линкер-полезная нагрузка в условиях, подходящих для образования связи между глутаминил-модифицированным антителом и соединением линкер-полезная нагрузка. Подходящие условия реакции хорошо известны специалистам.

**[0317]** Примеры таких реакций представлены в показанных ниже Примерах.

**[0318]** В некоторых примерах, представленных в настоящем документе, описан способ получения конъюгата, заключающийся в обработке или приведения в контакт соединения со связующим агентом в условиях сопряжения, где соединение содержит реакционноспособный линкер соединенный, по меньшей мере, с одной полезной нагрузкой, и соединенный, по меньшей мере, с одной группой циклодекстрина через ковалентный линкер, где указанный ковалентный линкер связан прямо или опосредованно с реакционноспособным линкером, с полезной нагрузкой и с группой циклодекстрина. В некоторых примерах

соединением, которое взаимодействует со связующим агентом, является соединением по формуле (VI):



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,

где **RG'** - реакционноспособная группа; **L** - трехвалентный линкер; **HL** - гидрофильный остаток; и **PA** - остаток полезной нагрузки.

[0319] В некоторых примерах связующий агент, который взаимодействует с соединением по формуле (II), является антителом или его антиген-связывающим фрагментом.

[0320] В некоторых представленных в данном документе примерах, D-Lys можно заменить реагентом, показанным на Фиг. 20.

[0321] В некоторых примерах циклодекстрин-содержащие группы могут вступать в биортогональную реакцию, которую выбирают из [3+2] клик-реакции, реакции Дильса-Алдера, восстановительного аминирования, фотоклик-реакции или других реакций.

[0322] Другие биоортогональные реакции, которые подходят для использования с описанными в настоящем документе способами, включают, не ограничиваясь перечисленным, реакцию лигирования по Штаудингеру, клик-реакцию, тетразин-лигирование и фотоклик-реакцию.

[0323] В следующей публикации, содержание которой во всей полноте и во всех отношениях включено в настоящий документ в форме ссылки, показаны примеры реакций и реактивов, которые могут быть использованы при проведении биоортогональных реакций, описанных в настоящем документе: Zheng, Mengmeng, *et al.*, *Molecules* 2015, 20, 3190-3205.

### **Фармацевтические композиции и способы лечения**

[0324] Предложены способы лечения и профилактики заболеваний, состояний или нарушений, заключающиеся во введении в терапевтически или профилактически эффективном количестве одного или нескольких соединений, предложенных в настоящем изобретении, например, одного или нескольких соединений по

формуле, предложенной в настоящем документе. Специалистам в данной области техники понятно, что заболевания, нарушения и/или состояния включают, не ограничиваясь перечисленным, те их них, которые ассоциированы с перечисленными в настоящем документе антигенами.

**[0325]** Описанные в настоящем документе соединения могут быть введены отдельно или совместно с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами. Одно или несколько терапевтических средств могут быть введены непосредственно перед, одновременно с, или вскоре после введения соединений, описанных в настоящем документе. Настоящее изобретение включает также фармацевтические композиции, содержащие любое из описанных в настоящем документе соединений, в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, и способы лечения, заключающиеся во введении таких комбинаций нуждающимся в них субъектам.

**[0326]** Подходящие дополнительные терапевтические средства включают, не ограничиваясь перечисленным: второй глюкокортикоид, аутоиммунный терапевтический агент, гормон, биопрепарат или моноклональное антитело. Подходящие терапевтические средства включают также, не ограничиваясь перечисленным, любые фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные описанного в настоящем документе соединения.

**[0327]** В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, субъекту в течение определенного периода времени могут вводиться повторные дозы соединения, описанного в настоящем документе (или фармацевтической композиции, содержащей комбинацию описанного в настоящем документе соединения с любым из дополнительных терапевтических средств, упоминаемых в настоящем документе). Способы согласно данной особенности изобретения заключаются в последовательном введении субъекту повторных доз описанного в настоящем документе соединения. В настоящем документе «последовательное введение» означает, что каждую дозу соединения вводят субъекту в разные моменты времени, *например*, в разные дни, разделенные предопределенным интервалом (*например*, часами, днями, неделями или месяцами). Настоящее изобретение включает способы, заключающиеся в последовательном введении пациенту одной начальной дозы соединения, описанного в настоящем документе, с последующим введением

одной или более вторичных доз соединения, и с необязательным последующим введением одной или более третичных доз соединения.

**[0328]** Термины «начальная доза», «вторичные дозы» и «третичные дозы» относятся к временной последовательности введения соединений, описанных в настоящем документе. Так, «начальная доза» - это доза, которую вводят в начале схемы лечения (называемая также «исходной дозой»); «вторичные дозы» вводят после начальной дозы, и «третичные дозы» вводят после вторичных доз. Начальная, вторичные и третичные дозы может содержать одинаковое количество описанного в настоящем документе соединения, но, как правило, могут различаться по частоте введения. В определенных вариантах осуществления изобретения количество соединения, содержащегося в начальной, вторичных и/или третичных дозах варьирует в ходе лечения (*например*, корректируется вверх или вниз, в зависимости от ситуации. В определенных вариантах осуществления изобретения в начале схемы лечения вводят две или более (*например*, 2, 3, 4, или 5) «нагрузочные дозы» с последующим менее частым введением доз (*например*, «поддерживающих доз»).

**[0329]** В определенных иллюстративных примерах осуществления настоящего изобретения каждую вторичную и/или третичную дозу вводят через 1-26 (*например*, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½, или более) недель после непосредственно предшествовавшей дозы. В настоящем документе фраза «непосредственно предшествовавшая» означает дозу соединения, которая была введена пациенту перед введением следующей дозы в последовательности, в которой отсутствуют промежуточные дозы.

**[0330]** Способы согласно данной особенности изобретения могут заключаются в введении пациенту любого количества вторичных и/или третичных доз соединения. Например, в определенных вариантах осуществления изобретения пациенту вводят только одну вторичную дозу. В других вариантах осуществления изобретения пациенту вводят две или более (*например*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, или более) вторичные дозы. Аналогично, в определенных вариантах осуществления изобретения пациенту вводят только одну третичную дозу. В других вариантах осуществления изобретения пациенту вводят две или более (*например*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, или более) третичные дозы. Схема введения может выполняться в течение

неопределенного времени в ходе жизни определенного субъекта или до тех пор, пока лечение не перестанет быть необходимым или полезным.

**[0331]** В вариантах осуществления изобретения, предусматривающих повторные вторичные дозы, каждая вторичная доза может вводиться с такой же частотой, как и другие вторичные дозы. Например, каждая вторичная доза может быть введена пациенту через 1-2 недели или через 1-2 месяца после непосредственно предшествовавшей дозы. Аналогично, в вариантах осуществления изобретения, предусматривающих повторные третичные дозы, каждая третичная доза может вводиться с такой же частотой, как и другие третичные дозы. Например, каждая вторичная доза может быть введена пациенту через 2-12 недель после непосредственно предшествовавшей дозы. В определенных вариантах осуществления изобретения частота введения пациенту вторичных и/или третичных доз может варьировать в схеме лечения. Частота введения может быть скорректирована врачом в ходе лечения после клинического обследования в зависимости от индивидуальных потребностей пациента.

**[0332]** Настоящее изобретение включает схемы введения, в соответствии с которыми пациенту вводят от 2 до 6 нагрузочных доз с первой частотой (*например*, один раз в неделю, один раз в 2 недели, один раз в 3 недели, один раз в месяц, один раз в 2 месяца и т.д.) с последующим введением пациенту двух или более поддерживающих доз с меньшей частотой. Например, согласно данной особенности настоящего изобретения, если нагрузочные дозы вводят с частотой один раз в месяц, то поддерживающие дозы могут вводиться пациенту один раз в шесть недель, один раз в два месяца, один раз в три месяца и т.д.

**[0333]** Настоящее изобретение включает фармацевтические композиции, содержащие описанные в настоящем документе соединения и/или их конъюгаты, *например*, соединений по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), *например*, композиции, содержащие описанное в настоящем документе соединение, его соль, стереоизомер или полиморф, и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество. Примеры подходящих носителей, разбавителей и вспомогательных веществ включают, не ограничиваясь перечисленным, буферы для поддержания надлежащего pH композиции (*например*, цитратные буферы, сукцинатные буферы, ацетатные буферы, фосфатные буферы, лактатные буферы, оксалатные

буферы и т.п.), белки-носители (*например*, человеческий сывороточный альбумин), физиологический раствор, полиолы (*например*, трегалоза, сахароза, ксилит, сорбит и т.п.), поверхностно-активные вещества (*например*, полисорбат 20, полисорбат 80, полиоксалат и т.п.), противомикробные вещества и антиоксиданты.

**[0334]** В некоторых примерах в настоящем документе предложен способ лечения заболевания, нарушения или состояния, заключающийся в введении пациенту с таким нарушением в терапевтически эффективном количестве соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), или содержащей его фармацевтической композиции.

**[0335]** В некоторых примерах в настоящем документе предложен способ профилактики заболевания, нарушения или состояния, заключающийся в введении пациенту с таким нарушением в профилактически эффективном количестве соединения по формуле (I), формуле (II), формуле (III), формуле (IV), формуле (IVa), формуле (IVb), формуле (IVc), формуле (Va), формуле (Vb), формуле (Vc), или формуле (Vd), или содержащей его фармацевтической композиции.

**[0336]** В некоторых примерах в настоящем документе изложен способ лечения или профилактики заболевания, нарушения или состояния, которое выбирают из группы, включающей пролиферативное нарушение, нейродегенеративное нарушение, иммунологическое нарушение, аутоиммунное нарушение, воспалительное нарушение, дерматологическое заболевание, заболевание обмена веществ, сердечно-сосудистое заболевание и заболевание желудочно-кишечного тракта

**[0337]** В настоящем изобретении предложены способы модуляции экспрессии белка LDLR (рецептора липопротеина низкой плотности) или эффлюкса холестерина в клетке, заключающиеся в приведении такой клетки в контакт с конъюгатом антитело-лекарственное средство (КАЛС, ADC), где КАЛС содержит антитело, нацеленное на указанную клетку, гидрофильный остаток и агониста LXR.

**[0338]** Пролиферативным нарушениям может быть любое пролиферативное нарушение, известное специалисту. В определенных вариантах осуществления изобретения пролиферативные нарушения включают, не ограничиваясь

перечисленным, онкологические нарушения, где онкологическое нарушение может быть любым типом рака, известным специалисту. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики меланомы. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики метастатической меланомы. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики рака легкого. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики рака легкого, резистентного к ингибиторам тирозинкиназы EGFRr. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики рака ротовой полости. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики плоскоклеточной карциномы полости рта. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики рака предстательной железы. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики лимфомы Ходжкина. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики рака молочной железы.

**[0339]** Нейродегенеративным нарушением может быть любое нейродегенеративное нарушение, известное специалисту. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики болезни Альгеймера. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики болезни Паркинсона. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики болезни Хантингтона. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики бокового амиотрофического склероза. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики экспрессии гена миелина. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики миелинизирующих и ремиелинизирующих состояний, заболеваний или нарушений.

**[0340]** Иммунологическим нарушением может быть любое иммунологическое нарушение, известное специалисту известное специалисту. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или



профилактики воспалительного заболевания кишечника. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики язвенного колита. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики болезни Крона.

**[0341]** Воспалительным нарушением может быть любое воспалительное нарушение, известное специалисту. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики артрита. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики ревматоидного артрита.

**[0342]** Заболеванием обмена веществ может быть любое заболевание обмена веществ, известное специалисту. В определенных вариантах осуществления изобретения дислипидемию выбирают из группы, включающей гиперлипидемию, гиперхолестеринемию, гипертриглицеридемию, гиперлипопротеинемию, недостаточность ЛВП, недостаточность АпоА-1, и сердечно-сосудистое заболевание, такое как ишемическая болезнь сердца (включая, например, лечение и профилактику стенокардии, инфаркта миокарда и внезапную сердечную смерть); атеросклероз (включая, например, лечение и профилактику атеросклероза); и рестеноз (включая, например, лечение и профилактику атеросклероза); и рестеноз (включая, например, профилактику и лечение атеросклеротических бляшек, которые развиваются, как последствия медицинских процедур, таких, как баллонная ангиопластика). В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики сахарного диабета.

**[0343]** Сердечно-сосудистым заболеванием может быть любое сердечно-сосудистое заболевание, известное специалисту. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики атеросклероза. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики атеросклероза, развившегося в результате аномальных преобразований макрофага. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики атеросклероза, развившегося из-за образования окисленных липопротеинов низкой плотности (оксЛНП; oxLDL), когда макрофаги не способны where macrophages переработать оксЛНП. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики ишемической

болезни сердца. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики инсульта. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики гипертензивной кардиопатии. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики аневризмы аорты. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики эндокардита. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики заболевания периферических артерий. В определенных вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения или профилактики сочетаний любых заболеваний, перечисленных в этом абзаце.

**[0344]** В некоторых примерах в настоящем документе описан способ модулирования функции ядерного рецептора. В качестве неограничивающего примера, функция может быть выбрана из экспрессии/секреции медиаторов воспаления (*например* цитокинов, хемокинов), регуляции холестерина, усвоения холестерина, оттока холестерина, активности холестерина, регуляции липидов, апоптоза, миграции, хемотаксиса, транскрипции генов и экспрессии белков.

**[0345]** В некоторых примерах в настоящем документе описан способ лечения заболевания или нарушения у нуждающегося в таком лечении пациента, заключающийся в введении пациенту соединения или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых примерах вводимым соединением является конъюгат антитело-лекарственное средство, описанный в настоящем документе.

**[0346]** В некоторых примерах в настоящем документе описан способ (получения?) конъюгата антитело-лекарственное средство, включающий стадию приведения в контакт связующего агента и соединения линкер-полезная нагрузка в условиях, подходящих для образования связи между связующим агентом и соединением.

**[0347]** В некоторых примерах в настоящем документе описан способ лечения пролиферативного заболевания, заболевания обмена веществ, воспаления или нейродегенеративного заболевания у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых примерах вводимое соединение представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, описанный в настоящем документе.

[0348] В некоторых примерах в настоящем документе описан способ лечения заболевающая, нарушения или состояния у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых примерах вводимое соединение представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, описанный в настоящем документе.

[0349] В некоторых примерах в настоящем документе описан способ лечения пролиферативного заболевания у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых примерах вводимое соединение представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, описанный в настоящем документе.

[0350] В некоторых примерах в настоящем документе описан способ лечения заболевания обмена веществ у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых примерах вводимое соединение представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, описанный в настоящем документе.

[0351] В некоторых примерах в настоящем документе описан способ лечения воспаления у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых примерах вводимое соединение представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, описанный в настоящем документе.

[0352] В некоторых примерах в настоящем документе описан способ лечения нейродегенеративного заболевания у субъекта, заключающийся в введении субъекту в эффективном терапевтическом количестве соединения или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых примерах вводимое соединение представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, описанный в настоящем документе.

## **ПРИМЕРЫ**

**[0353]** Реактивы и растворители были приобретены в коммерческих источниках, таких как компании Sinopharm Chemical Reagent Co. (SCRC), Sigma-Aldrich, Alfa, или у других поставщиков, если иное не указано в явной форме.

**[0354]** Для регистрации спектров  $^1\text{H}$  ЯМР и других ЯМР-спектров использовали приборы Bruker AVIII 400 или Bruker AVIII 500. Данные обрабатывали с помощью программного обеспечения Nuts или MestReNova, измеряя протонные сдвиги в частях на миллион (ppm) в сторону слабого поля от внутреннего стандарта тетраметилсилан (TMS).

**[0355]** Измерения для анализа ВЭЖХ-МС проводились на оборудовании Agilent 1200 HPLC/6100 SQ System в следующих условиях:

**[0356]** Измерения методом А ВЭЖХ-МС включали использование Подвижной фазы А: Вода (0,01% трифторуксусная кислота (ТФУ; TFA)), Подвижной фазы В: ацетонитрил (0,01% ТФУ); Градиентной фазы: содержание подвижной фазы В увеличивали от 5% до 95% в течение 15 мин (мин); скорость потока подвижной фазы: 1,0 мл/мин; Колонка: SunFire C18, размеры 4.6x50 мм, размер частиц наполнителя 3,5 мкм; Температура колонки: 50 °С. Детекторы: Испарительный детектор по светорассеянию (ИДСР; ELSD) с аналого-цифровым преобразователем (АЦП; ADC), Диодно-матричный детектор (ДМД; DAD) (214 нм и 254 нм), электрораспылительная ионизация-ионизация при атмосферном давлении (ЕСИ-ИАД; ES-API).

**[0357]** Измерения методом В ВЭЖХ-МС включали использование: Подвижной фазы А: Вода (10 мМ  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), Подвижной фазы В: ацетонитрил; Градиентной фазы: содержание подвижной фазы В увеличивали от 5% до 95% в течение 15 мин; Скорость потока подвижной фазы: 1.0 мл/мин; Колонка: XBridge C18, размеры 4.6x50 мм, размер частиц наполнителя 3.5 мкм; Температура колонки: 50 °С. Детекторы: ИДСР АЦП, ДМД (214 нм и 254 нм), масс-селективный детектор (МСД; MSD) (ЕСИ-ИАД).

**[0358]** Измерения для анализа ЖХ-МС проводились на оборудовании Agilent 1200 HPLC/6100 SQ System в следующих условиях:

**[0359]** Измерения методом А ЖХ-МС проводились на следующем оборудовании: Прибор: WATERS 2767; Колонка: Shimadzu Shim-Pack, PRC-ODS, размеры 20x250 мм, размер частиц наполнителя 15 мкм, две последовательно соединенных колонки; Подвижная фаза А: Вода (0,01% ТФУ), Подвижная фаза В:

ацетонитрил (0,01% ТФУ); Градиентная фаза: содержание подвижной фазы В увеличивали от 5% до 95% в течение 3 мин; Скорость потока подвижной фазы: 1,8 – 2,3 мл/мин; Колонка: SunFire C18, размеры 4.6x50 мм, размер частиц наполнителя 3.5 мкм; Температура колонки: 50 °С. Детекторы: ADC ELSD, DAD (214 нм и 254 нм), ES-API.

**[0360]** Измерения методом В ЖХ-МС проводились на следующем оборудовании: Прибор: Gilson GX-281; Колонка: Xbridge Prep C18 10 мкм OBD, 19x250 мм; Подвижная фаза: А: Вода (10 мМ NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), В: Ацетонитрил; содержание подвижной фазы В увеличивали от 5% до 95% в течение 3 мин; Скорость потока подвижной фазы: 1.8 – 2.3 мл/мин; Колонка: XBridge C18, размеры 4.6x50 мм, размер частиц наполнителя 3.5 мкм; Температура колонки: 50 °С. Детекторы: ИДСР АЦП, ДМД (214 нм и 254 нм), МСД (ЕСИ-ИАД).

**[0361]** Пнепаративная жидкостная хроматография высокого разрешения (Преп-ВЭЖХ) в кислой (Метод А) или щелочной (Метод В) системе растворителей проводилась на оборудовании Gilson GX-281. В экспериментах с кислой системой растворителей использовали колонку Waters SunFire 10 мкм C18 (100Å, 250x19 мм), и растворителем А для преп-ВЭЖХ являлась вода/0,05% ТФУ, растворителем В являлся ацетонитрил. Условия элюции: линейный градиент растворителя В, содержание которого увеличивали от 5% до 100% в течение 20 мин при скорости потока подвижной фазы 30 мл/мин. Основную систему растворителей использовали с колонкой Waters Xbridge 10 мкм C18 (100 Å, 250x19 мм), для преп-ВЭЖХ использовали растворитель А: вода/10 мМ аммония бикарбонат (NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>); растворитель В: ацетонитрил. Условия элюции: линейный градиент растворителя В, содержание которого увеличивали от 5% до 100% в течение 20 мин при скорости потока подвижной фазы 30 мл/мин.

**[0362]** Для флэш-хроматографии использовали прибор Biotage, картриджи с диоксидом кремения CS для колонки Agela для флэш-хроматографии; для флэш-хроматографию с обращенной фазой использовали прибор Biotage и картриджи Boston ODS или Agela C18.

**[0363]** Аналитическая хиральная ВЭЖХ – условия сверхкритической жидкостной хроматографии (СКЖХ; SFC).

**[0364]** Прибор для СКЖХ: SFC Method Station (Thar, Waters)

- [0365] Колонка: CHIRALPAK AD-H/AS-H/OJ-H/OD-H, размеры 4.6×100 мм, размер частиц наполнителя 5 мкм (Daicel)
- [0366] Температура колонки: 40°C
- [0367] Подвижная фаза: CO<sub>2</sub>/ IPA (изопропиловый спирт) (0,1% DEA)= 55/45
- [0368] Скорость потока: 4.0 мл/мин
- [0369] Обратное давление: 120 бар
- [0370] Объем вводимой пробы: 2 мкл
- [0371] Препаративная хиральная ВЭЖХ – условия СКЖХ
- [0372] Прибор: SFC-80 (Thar, Waters)
- [0373] Колонка: CHIRALPAK AD-H/AS-H/OJ-H/OD-H, размеры 20×250mm, размер частиц наполнителя 10 мкм (Daicel)
- [0374] Температура колонки: 35 °C
- [0375] Подвижная фаза: CO<sub>2</sub>/ IPA(0.2% аммоний в метаноле)= 30/70
- [0376] Скорость потока подвижной фазы: 80 г/мин
- [0377] Обратное давление: 100 бар
- [0378] Рабочая длина волны детектора: 214 нм
- [0379] Продолжительность цикла: 6.0 мин
- [0380] Раствор образца: 1500 мг растворяют в 70 мл метанола
- [0381] Объем вводимой пробы: 2 мл (нагрузка: 42.86 мг/проба)
- [0382] В настоящем документе при описании процессов, схем и в Примерах используются символы и условные обозначения и определения, независимо от наличия конкретного определения того или иного сокращения, которые соответствуют используемым в современной научной литературе, например, в Журнале Американского химического общества (Journal of the American Chemical Society) или Журнале биологической химии (Journal of Biological Chemistry). Следующие сокращения могут использоваться в конкретных случаях, но без ограничения в примерах и во всем тексте описания изобретения:
- [0383] Следующие сокращения могут использоваться в конкретных случаях, но без ограничения в примерах и во всем тексте описания изобретения:

Сокращение	Термин	
ADC	КАЛС	Конъюгат антитело-лекарственное средство
Aglycosylated antibody	Негликозилированное антитело	Антитело, у которого отсутствует гликан
aq		Водный
Boc		N-трет-бутоксикарбонил
BupH™		Продукт компании Thermo Scientific Prod № 28372, содержащий 100 мМ натрия фосфата и 150 мМ натрия хлорида, без калия, рН корректировали с 7.2 до 7.6-7.8 MQ, если не указано иное.
COT		Циклооктинол
Da	Да	Дальтон
DAR	ОЛСА	Отношение лекарственное средство/антитело
DCM		Дихлорметан
DIBAC		Дибенз [b,f]азоцин, 11,12-дидегидро-5,6-дигидро- или Дибензоциклооктин или дибенз[b,f]азоцин-5(6H)-масляная кислота, 11,12-дидегидро
DIBAC-Suc		Дибенз [b,f]азоцин-5(6H)-масляная кислота, 11,12-дидегидро
BCN		Бицикло[6.1.0]нонин
MAL		Малеимид
COT		Циклооктинол
DIBACT		3H-Бензо[c]-1,2,3-триазоло[4,5-e][1]банзазоцин, 8,9-дигидро-
DIPEA		Диизопропилэтиламин
DMF	ДМФ	N,N-диметилформамид
DMSO	ДМСО	Диметилсульфоксид
ESI	ЭРИ	Электрораспылительная ионизация
Fmoc		Флуоренилметилоксикарбонил
Fmoc-		N-Fmoc-L-валин-L-цитруллин-p-

vcPAB-PNP		аминобензиловый спирт п-нитрофенил карбонат
г	г	Грамм
HATU		2-(7-аза-1Н-бензотиазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония гексафторфосфат
HC		Тяжелая цепь иммуноглобулина
HEK		Эмбриональные клетки почки человека
HPLC	ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
hr или hrs	ч	Часы
LC		Легкая цепь иммуноглобулина
LC	ЖХ	Жидкостная хроматография
MC		Малеимидакапроил
мг	мг	милиграммы
мин	мин	Минуты
мл	мм	Миллиметры
mM	mM	Миллимолярный
MMAE		Монометил ауристатин E
MS	МС	Масс-спектрометрия
MSD	МСД	Масс-селективный детектор
MTG		Микробная трансглутаминаза (MTG EC 2.3.2.13, Zedira, Дармштадт, Германия)
MW	м.м.	Молекулярная масса
ncADC	нцКАЛС	Не-цитотоксичная конъюгация антитела с лекарственным средством
NHS		N-гидроксисукцинимид
nm	нМ	Наномолярный
NMR	ЯМР	Ядерный магнитный резонанс
NOESY		Спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера
PAB		Пара-аминобензилокси(карбонил)
PBS		10 mM натрий-фосфатный буфер, содержащий 150 mM хлорида натрия
PBSg		10 mM фосфат, 150 mM хлорид натрия, 5%

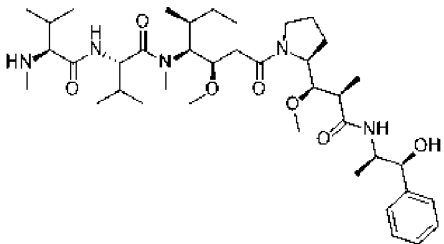
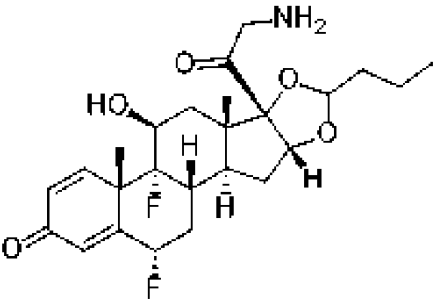


		глицерол
PEG	ПЭГ	Полиэтиленгликоль
ppm	ч/млн	Частей на миллион (химический сдвиг)
RP	ОФ	Обращенная фаза
КТ	КТ	Комнатная температура
SDS-PAGE	ДСН-ПААГ	Электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия
SEC	ГФХ	Гель-фильтрационная хроматография
Suc		Янтарная кислота
TCEP		Трис(2-карбоксиитил)фосфин гидрохлорид
TEA		Триэтиламин
TFA	ТФУ	Трифторуксусная кислота
TG		Трансглутаминаза
THF	ТГФ	Тetraгидрофуран
TOF		Времяпролетный
UPLC	УЭЖХ	Ультразэффективная жидкостная хроматография
UV	УФ	Ультрафиолетовый
VA		Валин-анилин
VC		Валин-цитруллин
мкл	мкл	Микролитры
μM	мкM	Микромолярный

## СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ

ТАБЛИЦА 1

Перечень полезных нагрузок

№	Структура	Степень чистоты (ВЭЖХ)	cLogP	Молекулярная формула	Мол. масса (расчетная)	МС (M+H)	Синтез
A		>95	3.51	C <sub>39</sub> H <sub>67</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	717.98	Не определено	Коммерческий препарат
B		98	2.33	C <sub>25</sub> H <sub>33</sub> F <sub>2</sub> NO <sub>5</sub>	465.54	466.2	Фиг. 4

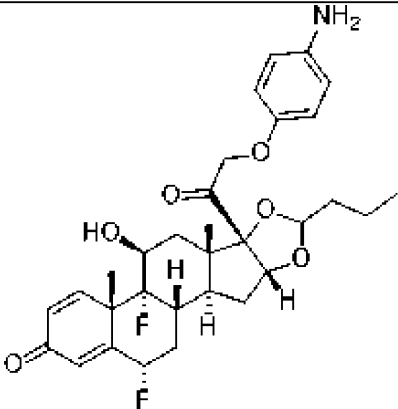
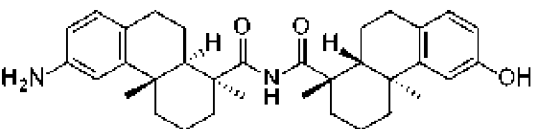
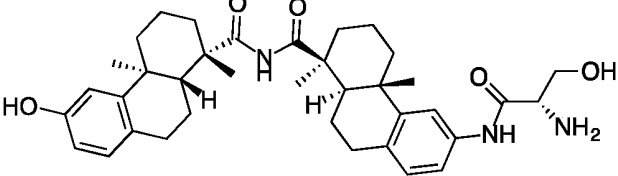
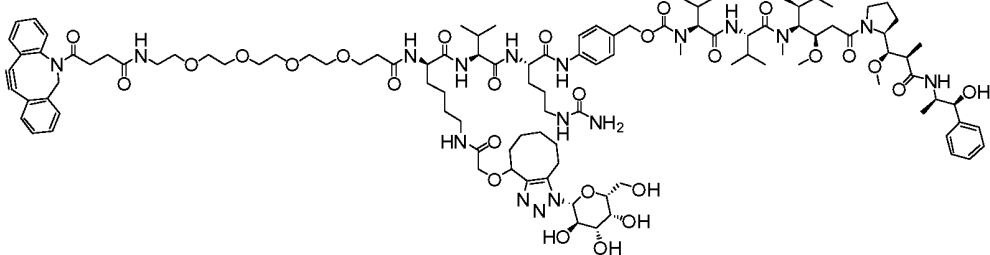
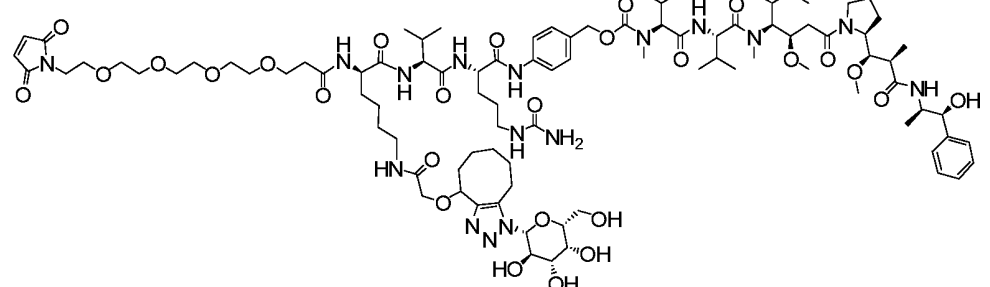
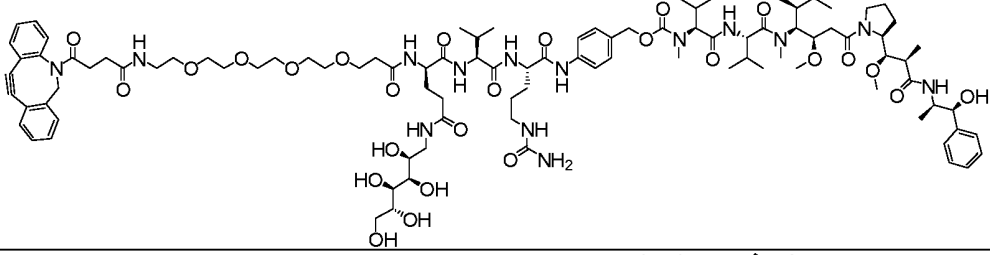
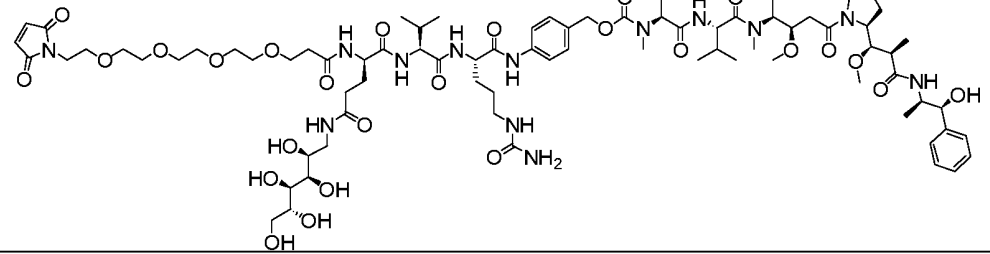
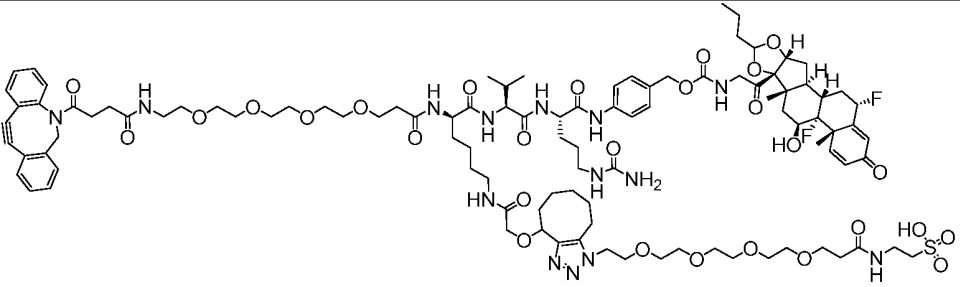
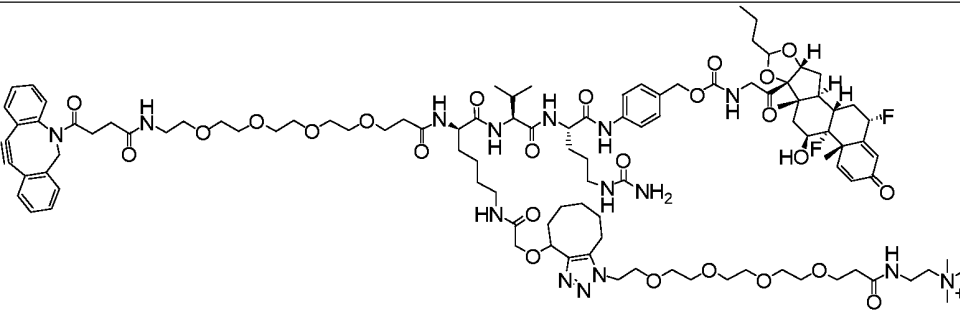
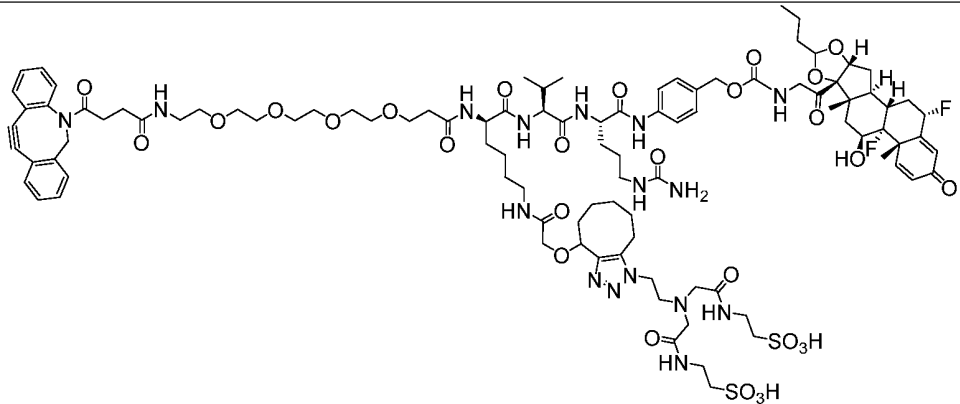
№	Структура	Степень чистоты (ВЭЖХ)	cLogP	Молекулярная формула	Мол. масса (расчетная)	МС (M+H)	Синтез
C		97	3.94	C <sub>31</sub> H <sub>37</sub> F <sub>2</sub> NO <sub>6</sub>	557.63	558.2	Фиг. 4
D		>95	7.28	C <sub>34</sub> H <sub>44</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	528.72	529.3	Фиг. 5
E		92	5.94	C <sub>37</sub> H <sub>49</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	615.8	616.3	Фиг. 5

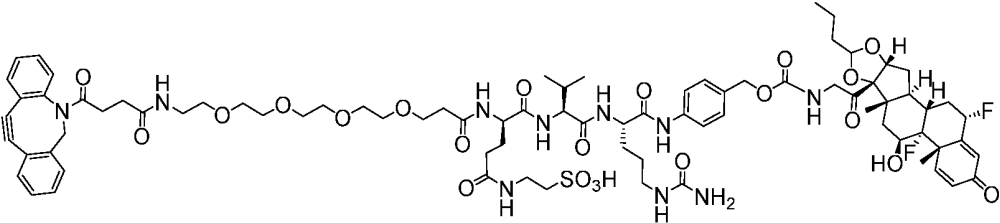
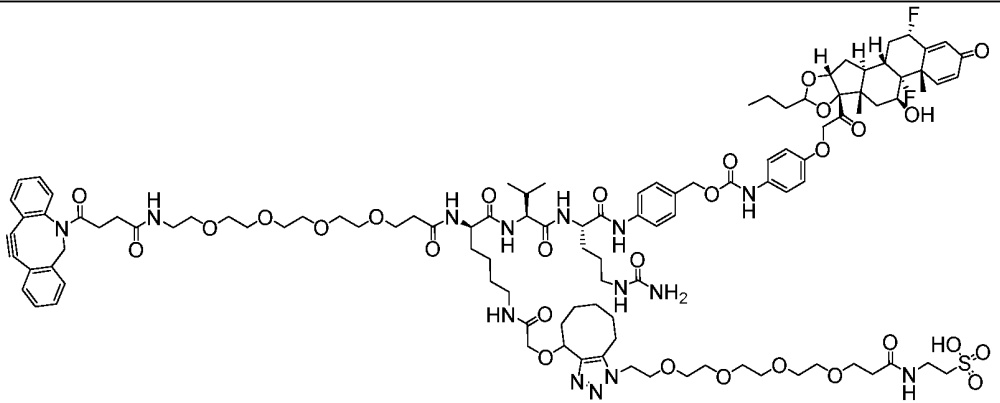
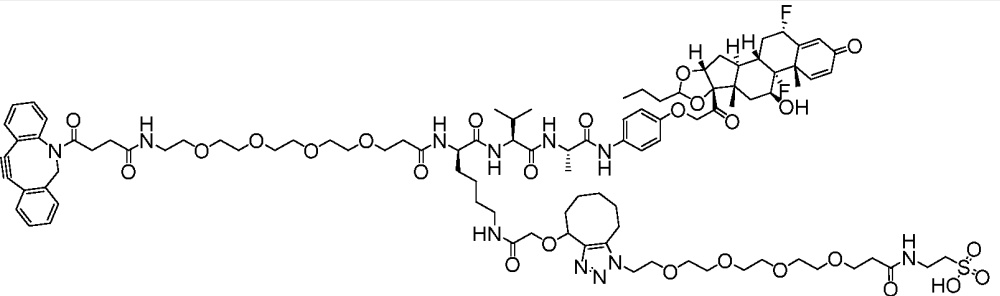
ТАБЛИЦА 2

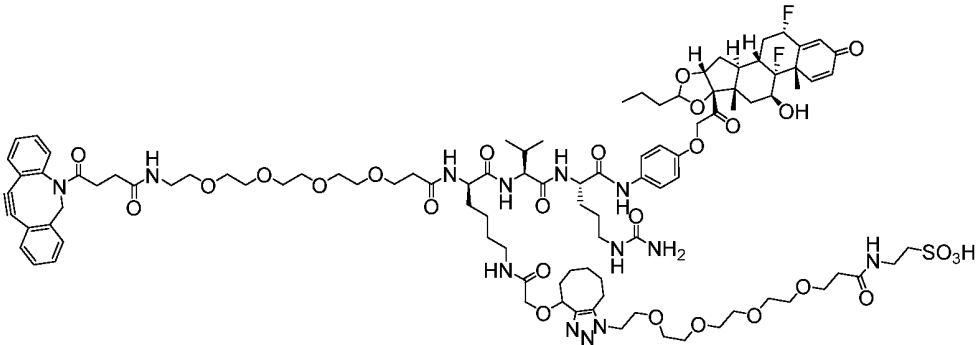
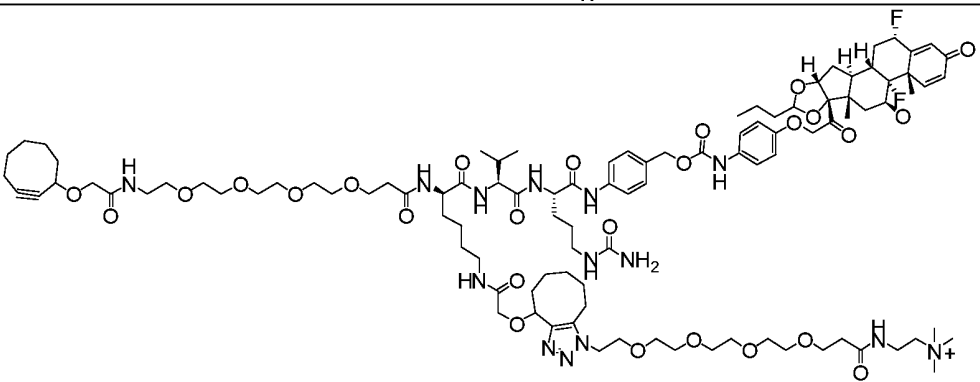
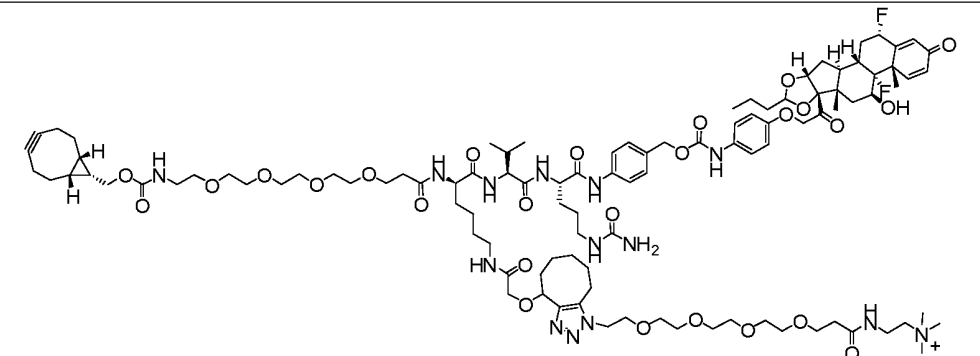
Перечень заряженных соединений линкер-полезная нагрузка (ЛПН)

ЛПН	Пример	Полезная нагрузка	Название линкера	Структура
1a	17	ММАЕ	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dLys(COT-PEG <sub>6</sub> )-vcPAB	
1b	17A	ММАЕ	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dLys(COT-PEG <sub>4</sub> -N <sup>+</sup> Me <sub>3</sub> )-vcPAB	
1c	18	ММАЕ	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dLys(COT-PEG <sub>4</sub> -таурин)-vcPAB	
1d	18A	ММАЕ	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dLys(COT-PEG <sub>5</sub> -фосфат)-vcPAB	

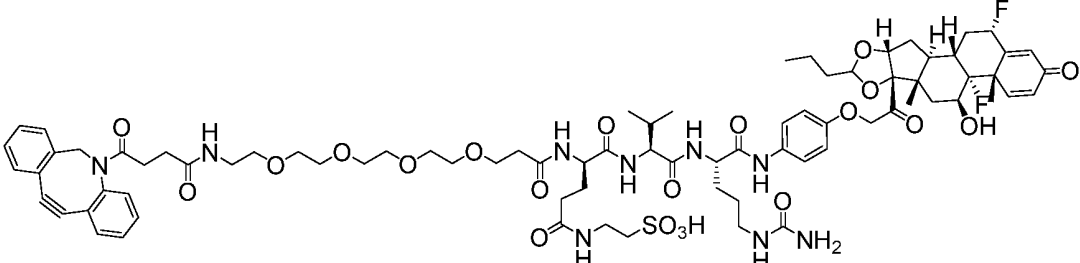
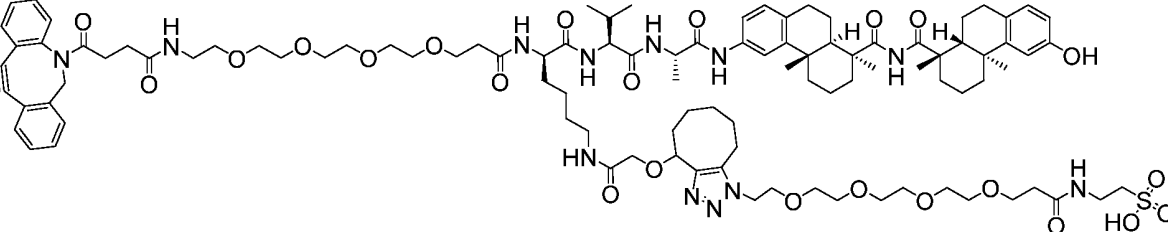
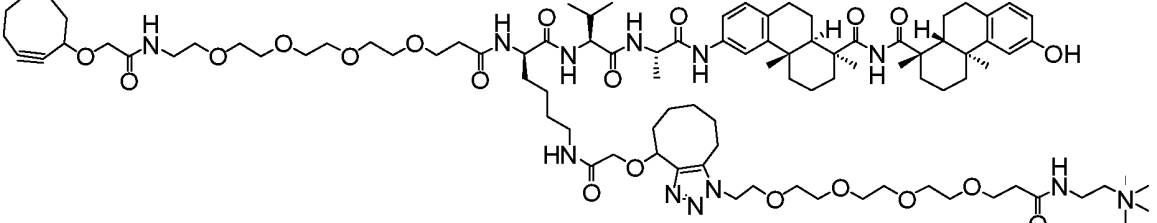
<b>Ie-1</b>	<b>18B</b>	ММАЕ	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dLys(СОТ-галактоза)-vcРАВ	
<b>If-1</b>	<b>18C</b>	ММАЕ	MAL-PEG <sub>4</sub> -dLys(СОТ-галактоза)-vcРАВ	
<b>Ig</b>	<b>18D</b>	ММАЕ	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dGlu(глюка мид)-vcРАВ	
<b>Ih-1</b>	<b>18E</b>	ММАЕ	MAL-PEG <sub>4</sub> -dGlu(глюка мид)-vcРАВ	

<b>1e</b>	<b>19</b>	B	DIBAC-PEG <sub>4</sub> - dLys(COT- PEG <sub>4</sub> - таурин)- vcPAB	
<b>1lb</b>	<b>19A</b>	B	DIBAC-PEG <sub>4</sub> - dLys(COT- PEG <sub>4</sub> -N+Me <sub>3</sub> )- vcPAB	
<b>1f</b>	<b>20</b>	B	DIBAC-PEG <sub>4</sub> - dLys(COT- двойной таурин)- vcPAB	

1h	21	B	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dGlu(таурин)-vcPAB	
1i	22	C	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dLys(COT-PEG <sub>4</sub> -таурин)-vcPAB	
1j	23	C	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dLys(COT-PEG <sub>4</sub> -таурин)-VA	

1k	24	C	DIBAC-PEG <sub>4</sub> - dLys(COT- PEG <sub>4</sub> - таурин)-vc	 <p>The structure shows a DIBAC (1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene) fluorophore attached to a lysine residue. This lysine is part of a dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-taurine) conjugate. The COT (cyclooctatetraene) moiety is linked to a PEG<sub>4</sub> chain, which is further connected to a taurine group. The structure also includes a valine residue and a vinyl carbamate (vc) group.</p>
III d	24A	C	COT-PEG <sub>4</sub> - dLys(COT- PEG <sub>4</sub> -N <sup>+</sup> Me <sub>3</sub> )- vcPAB	 <p>The structure features a COT (cyclooctatetraene) moiety attached to a lysine residue. This lysine is part of a dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-vcPAB conjugate. The COT is linked to a PEG<sub>4</sub> chain, which is further connected to a trimethylammonium (N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>) group. The structure also includes a valine residue, a vinyl carbamate (vc) group, and a PAB (p-aminobenzoyl) group.</p>
III e	24B	C	BCN-PEG <sub>4</sub> - dLys(COT- PEG <sub>4</sub> -N <sup>+</sup> Me <sub>3</sub> )- vcPAB	 <p>The structure features a BCN (bicyclic cyclooctatetraene) moiety attached to a lysine residue. This lysine is part of a dLys(COT-PEG<sub>4</sub>-N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>)-vcPAB conjugate. The BCN is linked to a PEG<sub>4</sub> chain, which is further connected to a trimethylammonium (N<sup>+</sup>Me<sub>3</sub>) group. The structure also includes a valine residue, a vinyl carbamate (vc) group, and a PAB (p-aminobenzoyl) group.</p>



<b>1l</b>	<b>25</b>	C	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dGlu(таурин)-vc	
<b>1m</b>	<b>26</b>	D	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dLys(COT-PEG <sub>4</sub> -таурин)-VA	
<b>IVb</b>	<b>26A</b>	D	DIBAC-PEG <sub>4</sub> -dLys(COT-PEG <sub>4</sub> -N <sup>+</sup> Me <sub>3</sub> )-VA	



## ПРИМЕР 1

**Общая методика получения соединений линкер-полезная нагрузка** (см. Фиг.2)

[0384] Синтез соединений линкер-полезная нагрузка **1** (кроме **1h** и **1l**) начинали с Fmoc-vcPAB-PNP (**2a**), Fmoc-Val-Ala-OH (**2b**) и Fmoc-Val-Cit-OH (**2c**), используя полезные нагрузки **A-D**, и получали карбаматы (**3a-g**). Амиды (**5a-h**) были синтезированы из соединений **3a-f** при использовании Fmoc-D-Lys-COT (**4a**). Соединения **5a-f** подвергали циклизации с азидами (**6a-d**), чтобы получить соединение **7**. На последнем этапе соединение **7** взаимодействовало с кислотой **8a** или ее активным сложным эфиром **8b** с образованием соединений линкер - полезная нагрузка **1** (кроме **1h** и **1l**).

[0385] Синтез соединений линкер-полезная нагрузка **I, II, III и IV** (кроме **Ig-1, Ih-1, 1h** и **1l**) начинали с Fmoc-vcPAB-PNP (**2a**), Fmoc-Val-Ala-OH (**2b**) и Fmoc-Val-Cit-OH (**2c**), используя полезные нагрузки **A-E**, и получали карбаматы (**3a-g**). Амиды (**5a-g**) синтезировали из соединения **3a-g** с Fmoc-D-Lys-COT (**4a**). Соединения **5a-g** подвергали циклизации с азидами (**6a-g**), чтобы получить соединение **7**. На последнем этапе соединение **7** взаимодействовало с кислотой **8a** или ее активными сложными эфирами **8b-e** с образованием соединений линкер - полезная нагрузка **I, II, III и IV** (кроме **Ig-1, Ih-1**).

## ПРИМЕР 2

**Получение полезная нагрузки **1h** и **1l**** (см. Фиг. 3)

[0386] Синтез соединений линкер-полезная нагрузка **1h** и **1l** начинали с соединений **3b** и **3e** с Fmoc-dGlu-таурин (**4b**) в условиях конденсации EDCI (1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида), с последующей реакцией удаления de-Fmoc, и на последнем этапе выполняли амидирование, используя активный сложный эфир **8b**. Синтез соединений линкер-полезная нагрузка **1h** и **1l** начинали с конденсации соединений **3b** и **3e** с Fmoc-dGlu-таурином (**4b**), которую выполняли раздельно, затем удаляли Fmoc и на последнем этапе проводилось амидирование с использованием активного сложного эфира **8b**.

[0387] Синтез соединений линкер-полезная нагрузка **Ig-1** и **Ih-1** начинали с реакции между амидами **3a** и Fmoc-dGlu-ацеталь глюкамидом (**4c**), с последующей конденсацией с соединением **8e**, и на последнем этапе удалили

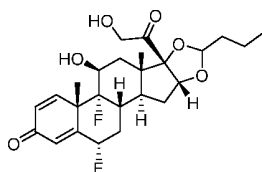
защиту, используя для этого ТФУ, и проводили реакцию конденсации с соединением **8b**.

### ПРИМЕР 3

**Получение соединений линкер-полезная нагрузка В и С** (см. Фиг. 4)

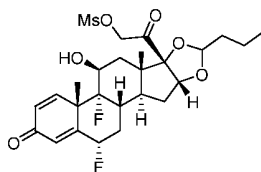
[0388] ММАЕ (**A**) (CAS № 474645-27-7) приобретали из коммерческих источников, стероидные полезные нагрузки получали, как показано на Фиг. 4, начиная с коммерческого флуоцинолона ацетонида **9** (CAS № 67-73-2). Соединение **10**, полученное из соединения **9** в результате обмена кеталей с масляным альдегидом в присутствии перхлорной кислоты, превращали в мезилат **11** с последующим замещением мезилатной группы азидной группой и получали соединение **12**, который подвергали дальнейшему восстановлению до амина **B**. Или же мезилатную группу в соединении **11** тоже замещали 4-амино-фенолом и получали анилин **C**.

[0389] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-16-он (**10**)



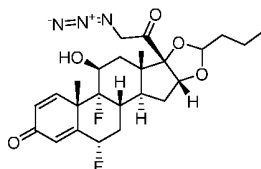
[0390] К смеси флуоцинолона ацетонида (**9**, 0.90 г, 2.0 ммоль) и силикагеля (18 г) в гептанах (90 мл) добавляли масляный альдегид (0.27 мл, 3.0 ммоль) при 10 °С и суспензию перемешивали при 10-20 °С в течение 10 минут. К смеси по каплям добавляли перхлорную кислоту (70%, 0.68 мл, 8.3 ммоль) при 0 °С. Затем реакционную смесь снова перемешивали при температуре 10-20 °С в течение ночи. Согласно данным ТСХ и ЖХ-МС, большая часть флуоцинолона ацетонида **9** была израсходована. Реакционную смесь разбавляли петролейным эфиром, и реакцию останавливали насыщенным водным раствором Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Суспензию фильтровали, твердый остаток промывали смесью дихлорметана/метанола (отношение объемов = 1). Объединенный фильтрат концентрировали под вакуумом. Остаток очищали методом флэш-хроматографии на силикагеле (0-100% этилацетата в петролейном эфире) и получали соединение **10** (0.15 г, выход 16%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 467.1 (M + H)<sup>+</sup>.

[0391] 2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил метансульфонат (**11**)



[0392] К раствору соединения **10** (0.28 г, 0.65 ммоль) и триэтиламина (0.13 г, 1.3 ммоль) в дихлорметане (3 мл) добавляли метансульфонил хлорид (89 мг, 0.78 ммоль) при температуре 0 °С. После перемешивания при 0 °С в течение 0,5 ч реакционную смесь разбавляли лдихлорометаном DCM (20 мл). Смесь промывали H<sub>2</sub>O (20 мл×2), сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (0-50% этилацетата в петролейном эфире) и получали соединение **11** (0.26 г, выход >99%) представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 545 (M + H)<sup>+</sup>.

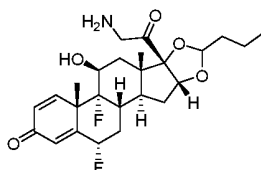
[0393] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-(2-азидоацетил)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-16-он (**12**)



[0394] Суспензию соединения **11** (1.0 г, 1.8 ммоль) и натрия азиды (1.2 г, 18 ммоль) в ацетоне (15 мл) перемешивали при 50 °С в течение ночи. Смесь охлаждали до КТ и вливали в воду (80 мл). Водную смесь экстрагировали этилацетатом (50 мл × 3). Объединенные органические слои промывали концентрированным соевым раствором (30 мл), сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали под вакуумом, получая неочищенное соединение **12** (0.90 г, выход > 99%), представляющее собой твердое вещество желтого цвета, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЭРИ m/z: 492 (M + H)<sup>+</sup>.

**Полезная нагрузка В**

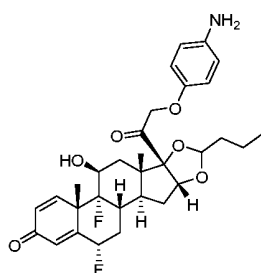
**[0395] (1S,2S,4R,6R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-(2-аминоацетил)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-16-он; соль трифторуксусной кислоты (соединение В)**



**[0396]** К раствору соединения **12** (0.85 г, 1.7 ммоль) в тетрагидрофуране (20 мл) добавляли водный гидрохлорид (1 N, 10 мл). Смесь перемешивали при 28-32 °С, пока она не становилась прозрачной, затем к смеси добавляли трифенилфосфин (0.68 г, 2.6 ммоль). Полученный желтый прозрачный раствор перемешивали при КТ в течение 18 ч. Смесь концентрировали под вакуумом и остаток очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-50% ацетонитрил в водном растворе ТФУ (0,05%)) получая соединение **В** (0.56 г, выход 57%, соль ТФУ), представляющее собой твердое вещество серовато-желтоватого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 466 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.33 (d, J = 9.9 Гц, 1H), 6.40-6.29 (m, 2H), 5.69-5.45 (m, 1H), 4.93-4.92 (m, 1H), 4.71 (t, J = 4.3 Гц, 1H), 4.35-4.27 (m, 2H), 3.90-3.84 (m, 1H), 2.81-2.54 (m, 1H), 2.42-2.06 (m, 3H), 1.82-1.32 (m, 11H), 1.09-0.87 (m, 6H) ppm. <sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ -77.01, -166.24, -166.92, -188.81, -188.83 ppm. Аналитическая ВЭЖХ: 100%, время удерживания: 6.86 мин (метод А).

### Полезная нагрузка С

**[0397] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-[2-(4-аминофенокси)ацетил]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-16-он (С)**



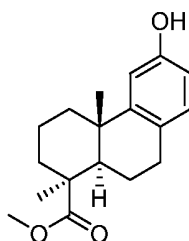
**[0398]** Смесь соединения **11** (93 мг, 0.17 ммоль), 4-аминофенола (37 мг, 0.34 ммоль) и карбоната цезия (0.11 г, 0.34 ммоль) в ацетоне (0.5 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 2 ч. Смесь охлаждали до КТ и разбавляли

H<sub>2</sub>O (10 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (10 мл×3). Объединенные органические слои промывали вода (20 мл) и концентрированным соевым раствором (20 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали методом препаративной ВЭЖХ, получая полезную нагрузку **C** (6.0 мг, выход 6.3%), представляющую собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 298 (M/2 + H)<sup>+</sup>, 558 (M + H)<sup>+</sup> (10%). <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.34 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6.78-6.71 (m, 4H), 6.37-6.33 (m, 2H), 5.63-5.49 (m, 1H), 5.10-4.99 (m, 1H), 4.77-4.63 (m, 2H), 4.33 (d, J = 9.1 Гц, 1H), 2.74-2.57 (m, 1H), 2.39-2.13 (m, 3H), 1.98-1.31 (m, 12H), 1.03-0.93 (m, 6H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: чистота 97.4%, время удерживания: 7.55 мин (метод В).

#### ПРИМЕР 4

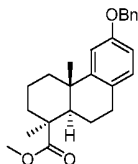
Получение полезной нагрузки **D** (см. Фиг. 5)

[0399] Метил (1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксилат (**14**)



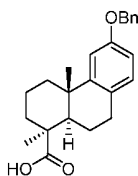
[0400] К раствору подокаприновой кислоты (**13**, 90 г, 0.33 моль) в метаноле (200 мл) и толуоле (600 мл) добавляли (триметилсилил)дiazометан (2 M в гексане, 200 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Согласно данным ЖХ-МС, после этого подокаприновая кислота была полностью израсходована. Летучие вещества удаляли под вакуумом, остаток растирали с петролейным эфиром (2 л), получая соединение **14** (91 г, выход 96%) представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 289 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>) δ 8.95 (s, 1H), 6.79 (d, J = 8.2 Гц, 1H), 6.63 (d, J = 2.4 Гц, 1H), 6.48 (dd, J = 8.2, 2.4 Гц, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.80-2.55 (m, 2H), 2.20-2.02 (m, 3H), 1.96-1.71 (m, 2H), 1.56-1.45 (m, 2H), 1.27 (t, J = 13.5 Гц, 1H), 1.21 (s, 3H), 1.09 (td, J = 13.5, 4.1 Гц, 1H), 0.91 (s, 3H) ppm.

[0401] Метил (1S,4aS,10aR)-6-(бензилокси)-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксилат (**20**)



[0402] Смесь соединения **14** (12 г, 40 ммоль) и цезия карбоната (14 г, 44 ммоль) в ДМФ (100 мл) перемешивали при 20-25 °С в течение 15 минут. В смесь добавляли бензилбромид (7.1 мл, 60 ммоль) при комнатной температуре. После перемешивания при при комнатной температуре в течение 4 ч полученную смесь вливали в холодную воду и экстрагировали этилацетатом. Объединенный органический раствор промывали водой и концентрированным соевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали под вакуумом. Полученный продукт product очищали методом флэш-хроматографии (0-10% этилацетат в петролейном эфире) , получая указанное в заголовке соединение **20** (13 г, выход 89%) представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 379 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.60-7.20 (m, 5H), 7.00-6.82 (m, 2H), 6.73 (d,  $J$  = 7.1 Гц, 1H), 5.03 (s, 2H), 3.66 (s, 3H), 2.95-2.58 (m, 2H), 2.36-2.10 (m, 3H), 2.10-1.85 (m, 2H), 1.70-1.48 (m, 2H), 1.44-1.21 (m, 4H), 1.15 (t,  $J$  = 17.2 Гц, 1H), 1.01 (s, 3H) ppm.

[0403] **(1S,4aS,10aR)-6-(бензилокси)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоновая кислота (21)**

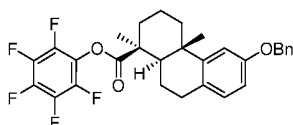


[0404] Смесь соединения **20** (11 г, 29 ммоль) и *tert*-бутоксиды калия (33 г, 0.29 моль) в ДМСО (0.19 L) перемешивали при 100 °С в течение часа, до тех пор, пока не достигалось полное удаление метильной группы, для контроля удаления использовали ЖХ-МС и ТСХ. После охлаждения до 25 °С в смесь добавляли водный гидрохлорид (1 N), чтобы остановить реакцию, и выполняли экстракцию этилацетатом. Объединенный органический раствор промывали концентрированным соевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (0-24% этилацетат в петролейном эфире), получая соединение **21** (7.5 г, выход 71%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 365 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.42 (d,  $J$  = 7.4 Гц, 2H), 7.36 (t,  $J$  =



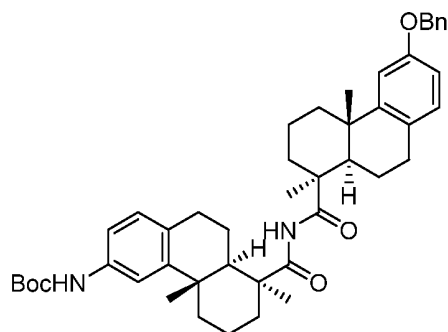
7.5 Гц, 2H), 7.30 (t,  $J = 7.3$  Гц, 1H), 6.92 (d,  $J = 8.4$  Гц, 1H), 6.87 (d,  $J = 2.5$  Гц, 1H), 6.72 (dd,  $J = 8.4, 2.5$  Гц, 1H), 5.02 (s, 2H), 2.82 (dd,  $J = 16.3, 4.4$  Гц, 1H), 2.77-2.65 (m, 1H), 2.24 (d,  $J = 13.2$  Гц, 2H), 2.19 (dd,  $J = 13.8, 6.0$  Гц, 1H), 2.11-1.96 (m, 2H), 1.64-1.56 (m, 1H), 1.53 (d,  $J = 11.0$  Гц, 1H), 1.35 (td,  $J = 13.3, 3.7$  Гц, 1H), 1.30 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.11-1.05 (m, 1H) ppm.

**[0405] Пентафторфенил (1S,4aS,10aR)-6-(бензилокси)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксилат (22)**



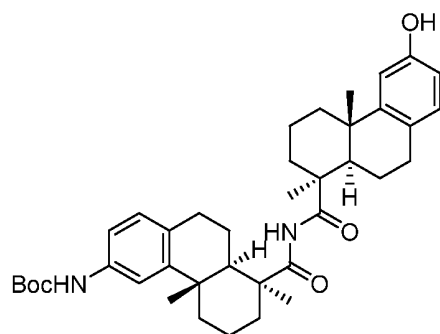
**[0406]** К раствору соединения **21** (9.6 г, 26 ммоль) в ДМФ (100 мл) добавляли DIPEA (14 мл, 79 ммоль), и перфторфенил 2,2,2-трифторацетат (15 г, 53 ммоль). Эту смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, контролируя процесс с помощью ЖХ-МС. Затем реакционную смесь разбавляли эфиром (200 мл) и промывали водой (300 мл) и концентрированным солевым раствором (200 мл). Органический раствор was сушили над сульфатом натрия, и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали методом флэш-хроматографии (0-10% этилацетат в петролейном эфире), получая соединение **22** (12 г, выход 88%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 531 ( $M + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.43 (d,  $J = 7.1$  Гц, 2H), 7.38 (t,  $J = 7.4$  Гц, 2H), 7.31 (t,  $J = 7.2$  Гц, 1H), 6.93 (dd,  $J = 10.2, 5.5$  Гц, 2H), 6.76 (dd,  $J = 8.4, 2.5$  Гц, 1H), 5.05 (s, 2H), 2.81 (dd,  $J = 16.3, 4.5$  Гц, 1H), 2.77-2.68 (m, 1H), 2.28-2.19 (m, 2H), 2.18 (dd,  $J = 13.4, 5.6$  Гц, 1H), 2.00-1.83 (m, 2H), 1.74 (d,  $J = 11.8$  Гц, 1H), 1.65 (d,  $J = 14.1$  Гц, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.38-1.27 (m, 2H), 1.08 (s, 3H) ppm.

**[0407] Трет-бутил N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-(бензилокси)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамат (23)**



[0408] К раствору соединения **18** (2.3 г, 6.2 ммоль) в тетрагидрофуране (20 мл) добавляли по каплям *n*-BuLi (2.5 М в гексане, 5.5 мл, 14 ммоль) при -78°C. Реакционную смесь перемешивали при этой температуре в течение 1 ч. В смесь добавляли раствор соединения **22** (3.0 г, 5.6 ммоль) в тетрагидрофуране (20 мл), и после этого полученную смесь перемешивали при температуре 10-20 °С в течение ночи, пока соединение **22** не было израсходовано, контролируя процесс с помощью ЖХ-МС. Реакцию останавливали насыщенным водным раствором хлорида аммония, и реакционную смесь экстрагировали этилацетатом. Объединенный органический раствор промывали водой и концентрированным соевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали методом флэш-хроматографии (0-30% этилацетат в петролейном эфире), получая соединение **23** (1.59 г, выход 51%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ *m/z*: 719 (*M* + 1)<sup>+</sup>.

[0409] Трет-бутил *N*-[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{{{(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил}формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамат (**24**)

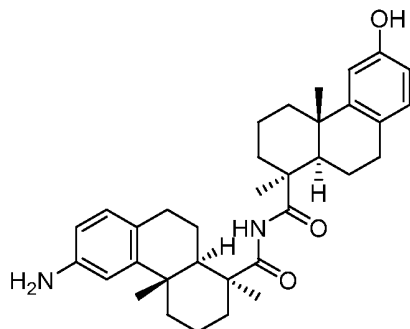


[0410] К раствору соединения **23** (2.0 г, 2.78 ммоль) в этилацетате (40 мл) добавляли влажный палладий на углеводе (10% Pd, 0.9 г) под защитой азота. Смесь дегазировали и обрабатывали водородом и перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода из баллона в течение ночи пока соединение **23** не оказывалось полностью израсходованным, для контроля над процессом использовали ЖХ-МС. Смесь фильтровали через целит, и фильтрат концентрировали под вакуумом. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (0-55% этилацетат в петролейном эфире), получая соединение **24** (1.06 г, выход 61%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ *m/z*: 629 (*M* + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.10 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.15 (d, *J* = 7.5 Гц, 1H), 6.90 (d, *J* = 8.4 Гц, 1H),

6.81 (d,  $J = 8.3$  Гц, 1H), 6.63 (d,  $J = 2.3$  Гц, 1H), 6.50 (dd,  $J = 8.2, 2.4$  Гц, 1H), 2.84 (td,  $J = 16.3, 3.8$  Гц, 2H), 2.77-2.64 (m, 2H), 2.30-2.22 (m, 2H), 2.14 (t,  $J = 10.9$  Гц, 4H), 2.00-1.80 (m, 4H), 1.65-1.54 (m, 4H), 1.45 (s, 9H), 1.34-1.28 (m, 2H), 1.27 (d,  $J = 2.5$  Гц, 6H), 1.15-1.08 (m, 2H), 0.99 (s, 6H) ppm.

### Полезная нагрузка D

**[0411] (1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-амино-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил]-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (D)**



**[0412]** К раствору соединения **24** (0.17 г, 0.27 ммоль) в дихлорметане (10 мл) добавляли по каплям ТФУ (3 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение часа до тех пор, пока не достигалось удаление Вос, согласно данным to ЖХ-МС. Летучие вещества удаляли под вакуумом, и остаток очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод В) , получая соединение **D** (0.10 г, выход 70%) представляющее собой твердое вещество белого цвета.

**[0413]** ЭРИ  $m/z$ : 529.3 ( $M + 1$ )<sup>+</sup>.

**[0414]** <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.14 (s, 1H), 6.92 (d,  $J = 8.3$  Гц, 1H), 6.86 (d,  $J = 8.1$  Гц, 1H), 6.73 (d,  $J = 2.5$  Гц, 1H), 6.65-6.57 (m, 2H), 6.50 (dd,  $J = 8.1, 2.3$  Гц, 1H), 4.75 (s, 1H), 3.49 (s, 1H), 2.99-2.85 (m, 2H), 2.79 (tt,  $J = 11.6, 5.8$  Гц, 2H), 2.34-2.14 (m, 6H), 2.15-1.95 (m, 4H), 1.74-1.51 (m, 5H), 1.46-1.34 (m, 2H), 1.30 (s, 6H), 1.21-1.06 (m, 8H) ppm.

**[0415]** <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.99 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 6.81 (d,  $J = 8.0$  Гц, 1H), 6.68 (d,  $J = 8.0$  Гц, 1H), 6.63 (d,  $J = 2.5$  Гц, 1H), 6.50 (dd,  $J = 8.0, 2.5$  Гц, 1H), 6.48 (d,  $J = 2.5$  Гц, 1H), 6.34 (dd,  $J = 8.0, 2.5$  Гц, 1H), 4.69 (s, 2H), 2.86-2.60 (m, 4H), 2.28-2.10 (m, 6H), 1.94-1.75 (m, 4H), 1.65-1.53 (m, 4H), 1.35-1.20 (m, 8H), 1.20-1.06 (m, 2H), 0.98 (s, 6H) ppm.

[0416]  $^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц,  $\text{DMCO}_{d6}$ )  $\delta$  174.03, 173.92, 155.34, 148.39, 147.63, 146.43, 129.56, 129.09, 124.60, 121.65, 113.23, 112.58, 111.81, 110.77, 52.32, 52.09, 45.56, 45.52, 39.20, 39.36, 38.23, 38.17, 37.18, 37.12, 31.08, 31.00, 27.65, 27.64, 23.08, 23.03, 21.43, 21.27, 19.64, 19.61 ppm.

[0417] ВЭЖХ (метод В): время удерживания: 8.92 мин, чистота: 99.4%. хиральная ВЭЖХ: >99.9% (в колонках AD, AS, OD и OJ).

[0418] Оптическое вращение ( $\alpha$ ): +2.53° (1.7 г/100 мл ТГФ, 25 °С).

### Полезная нагрузка E

[0419] **(1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-амино-3-гидроксипропанамидо)-N-((1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (E)**

[0420] К раствору соединения Fmoc-Ser-OH (30 мг, 0.1 ммоль) в ДМФ (1 мл) добавляли HATU (38 мг, 0.1 ммоль), и DIPEA (39 мг, 0.3 ммоль) при 25 °С. Полученную смесь перемешивали при этой температуре в течение часа. Затем к смеси добавляли соединение **D** (30 мг, 0.06 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при 25 °С в течение 16 ч. В смесь добавляли пиперидин (0.2 мл), и полученную смесь перемешивали в течение дополнительных 30 мин при КТ. Летучие вещества удаляли под вакуумом, и остаток сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод В), получая желаемый продукт (18 мг, выход 51%), представляющий собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 616 ( $M + 1$ )<sup>+</sup>.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMCO}_{d6}$ )  $\delta$  9.74 (br s, 1H, CONH-Ph), 9.00 (s, 1H, OH), 8.11 (s, 1H, NH имидина), 7.58 (s, 1H), 7.41 (dd,  $J = 8.2, 2.0$  Гц, 1H), 6.96 (d,  $J = 8.4$  Гц, 1H), 6.82 (d,  $J = 8.3$  Гц, 1H), 6.63 (d,  $J = 2.3$  Гц, 1H), 6.50 (dd,  $J = 8.2, 2.4$  Гц, 1H), 4.82 (t,  $J = 5.5$  Гц, 1H, OH on Ser), 3.62-3.45 (m, 3H), 2.97-2.61 (m, 4H), 2.33-2.21 (m, 2H), 2.21-2.03 (m, 4H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.36-1.20 (m, 8H), 1.23-1.06 (m, 2H), 1.06-0.93 (m, 6H) ppm.

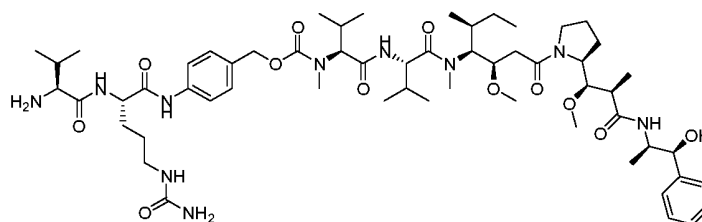
### ПРИМЕР 5

**Получение промежуточных продуктов 3a-c, 3g** (см. Фиг. 6)

[0421] **Общая методика A:** К раствору полезной нагрузки (1,0 экв. **A**, **B**, **C**, или **E**) в ДМФ (0.3 мл на 10 мг полезной нагрузки) добавляли Fmoc-vcPAB-PNP **2a** (1.1 экв.), HOBT (1.5 экв.) и DIPEA (2.0 экв.) при КТ. Смесь перемешивали при КТ в течение 3 ч, пока полезная нагрузка не оказывалась полностью израсходованной, для контроля над процессом использовали ЖХ-МС. К реакционной смеси

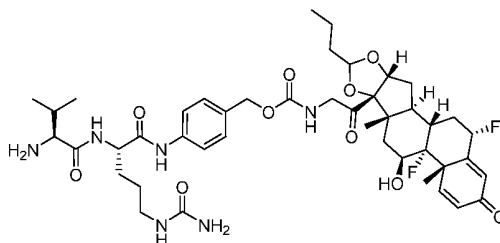
добавляли диэтиламин (0,03 мл на 10 мг полезной нагрузки) и смесь перемешивали при КТ (18-30 °С) в течение 1 ч до удаления Fmoc. Смесь фильтровали и фильтрат концентрировали под вакуумом. Остаток очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой или преп-ВЭЖХ получая указанное в заголовке соединение (**3a**, **3b**, **3c** или **3g**).

**[0422] 4-((S)-2-(((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензил (S)-1-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-иламино)-1-метокси-2-метил-3-оксопропил)пирролидин-1-ил)-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-иламино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил(метил)карбамат (3a) (vsPAB-ММАЕ)**



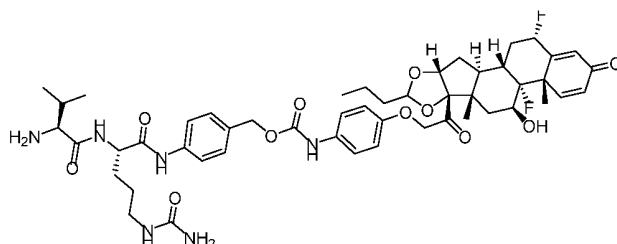
**[0423]** [Ссылка: WO2012/166560] По общей методике А из соединения **2a** (90 мг, чистота 75%, 88 мкмоль) с полезной нагрузкой **A** (45 мг, 63 мкмоль), получали соединение **3a** (28 мг, выход 40%), представляющее собой белый порошок. ЭРИ  $m/z$ : 1123.5 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (DMCO<sub>d6</sub>, 500 МГц): δ 10.12 (br s, 1H), 8.25-8.05 (m, 2H), 7.89-7.58 (m, 3H), 7.34-7.16 (m, 7H), 5.98 (t, J = 5.5 Гц, 1H), 5.42-5.34 (m, 3H), 5.06-4.95 (m, 2H), 4.78-4.57 (m, 1H), 4.51-4.26 (m, 3H), 3.80-3.40 (m, 2H), 3.28-3.18 (m, 7H), 3.12-2.84 (m, 10H), 2.43-2.40 (m, 1H), 2.30-2.27 (m, 1H), 2.15-1.91 (m, 5H), 1.96-1.68 (m, 4H), 1.59-1.34 (m, 6H), 1.06-0.93 (m, 6H), 0.90-0.70 (m, 26H) ppm.

**[0424] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамат (3b)**



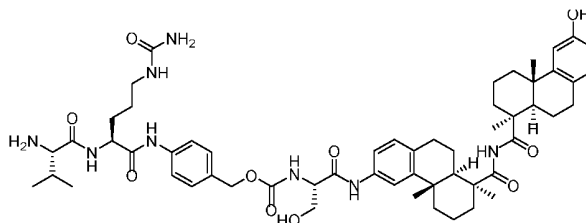
[0425] По общей методике А из соединения **2a** (93 мг, 0.20 ммоль) с полезной нагрузкой **B** после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (50-80% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ)), получали соединение **3b**, представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 871 (M + H)<sup>+</sup>.

[0426] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамат (3c)



[0427] По общей методике А из соединения **2a** (0.10 г, 0.22 ммоль) с полезной нагрузкой **C** после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (50-80% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ)), получали соединение **3c** (160 мг, выход 76%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 963.4 (M + H)<sup>+</sup>.

[0428] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-[(1S)-1-[[4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо]карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил]-2-гидроксиэтил]карбамат (3g)



[0429] К раствору соединения Fmoc-vc-PAB-PNP (58 мг, 76 мкмоль) и соединению **E** (36 мг, 58 мкмоль) в ДМФ (3 мл) добавляли HOBT (7.9 мг, 58 мкмоль) и DIPEA (15

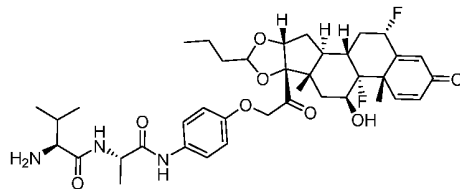
мг, 0.12 ммоль), и смесь перемешивали при 30 °С в течение 16 часов. После этого соединение **E** оказывалось полностью израсходованным согласно данным ЖХ-МС. В полученную смесь добавляли диэтиламин (0.1 мл) и смесь перемешивали при КТ в течение часа до удаления Fmoc, для контроля над процессом использовали ЖХ-МС. После фильтрования фильтра After фильтровали, фильтрат сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение **3g** (36 мг, выход 48%), представляющее собой твердое вещество желтого цвета. ЭРИ m/z: 1021 (M + 1)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСO-d<sub>6</sub>) δ 10,02 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.69-8.65 (m, 1H), 8.11-8.00 (m, 4H), 7.65-7.53 (m, 3H), 7.40-7.30 (m, 3H), 7.30-7.20 (m, 1H), 6.96 (d, J = 8.0 Гц, 1H), 6.81 (d, J = 8.0 Гц, 1H), 6.65-6.61 (m, 1H), 6.50 (dd, J = 8.0 Гц, 2.0 Гц, 1H), 6.00-5.95 (m, 1H), 5.48 (s, 2H), 5.00-4.95 (m, 3H), 4.60-4.40 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 4H), 3.15-2.55 (m, 10H), 2.40-2.20 (m, 3H), 2.20-2.00 (m, 5H), 2.00-1.80 (m, 4H), 1.86-1.55 (m, 6H), 1.27 (d, J = 4.8 Гц, 9H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.97-0.90 (m, 6H) ppm.

### ПРИМЕР 6

**Получение промежуточных продуктов 3d и 3f** (см. Фиг. 7)

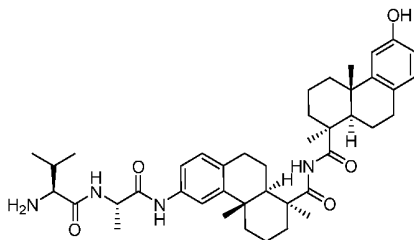
**[0430] Общая методика В:** К раствору Fmoc-Val-Ala-OH (**2b**, 1.2 экв.) в ДМФ (25 мл на грамм полезной нагрузки) добавляли HATU (1.5 экв.) и DIPEA (3.0 экв.) при КТ. Смесь перемешивали при КТ в течение 5 минут с последующим добавлением полезной нагрузки (**C** или **D**, 1.0 экв.). Смесь перемешивали в течение дополнительных 2 часов, и данные ЖХ-МС показывали завершение реакции. К реакционной смеси добавляли диэтиламин (5 экв.). Смесь перемешивали при КТ в течение 2 часов, до полного удаления Fmoc, подтвержденного данными ЖХ-МС. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали под вакуумом. Остаток очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ)) или преп-ВЭЖХ (Метод В), получая желаемый продукт (**3d** или **3f**, выход 64-72% от полезной нагрузки).

**(2S)-2-амино-N-[(1S)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси)фенил)карбамоил]этил]-3-метилбутанамид (3d)**



[0431] По общей методике В из соединения **2b** (0.50 г, 0.90 ммоль) с полезной нагрузкой **C**, после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ)), получали соединение **3d** (0.69 г, выход 72%), представляющее собой вязкую маслянистую жидкость желтого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 728 ( $M + H$ )<sup>+</sup>.

**(1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)-N-((1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (3f)**



[0432] По общей методике В из соединения **2b** с полезной нагрузкой **D** (53 мг, 0.10 ммоль) после очистки методом препаративной ВЭЖХ (метод В) получали соединение **3f** (45 мг, выход 64%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 699 ( $M + 1$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 8.40 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.32 (d,  $J = 8.0$  Гц, 1H), 7.03 (d,  $J = 8.3$  Гц, 1H), 6.88 (d,  $J = 8.2$  Гц, 1H), 6.72 (d,  $J = 2.4$  Гц, 1H), 6.56 (dd,  $J = 8.3, 2.4$  Гц, 1H), 4.60-4.48 (m, 1H), 3.22-3.11 (m, 1H), 3.02-2.93 (m, 1H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.74-2.70 (m, 1H), 2.43-2.31 (m, 3H), 2.28 (d,  $J = 14.1$  Гц, 3H), 2.16-1.96 (m, 3H), 1.81 (s, 1H), 1.78-1.65 (m, 4H), 1.53-1.42 (m, 4H), 1.38 (d,  $J = 5.3$  Гц, 6H), 1.33-1.22 (m, 2H), 1.14 (d,  $J = 6.6$  Гц, 6H), 1.09 (d,  $J = 18.6$  Гц, 6H) ppm.

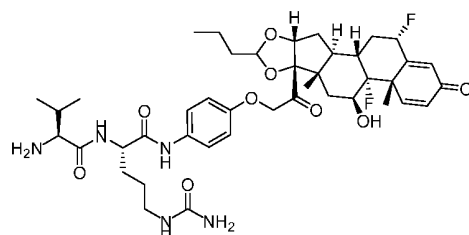
## ПРИМЕР 7

Получение промежуточного продукта **3e** (см. Фиг. 8)

**(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)-N-(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-**



**оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)пентанамид (3e)**



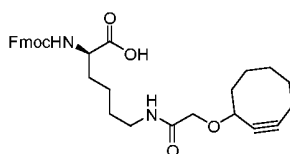
[0433] К раствору соединения Fmoc-Val-Cit-ОН (0.23 г, 0.43 ммоль) в ДМФ (5 мл) добавляли HATU (0.38 г, 0.43 ммоль) и DIPEA (93 мг, 0.72 ммоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ в течение 5 минут с последующим добавлением полезной нагрузки **С** (0.20 г, 0.36 ммоль). Смесь перемешивали в течение дополнительных 2 часов, и ЖХ-МС продемонстрировала завершение реакции. К реакционной смеси добавляли диэтиламин (0.5 мл). Смесь перемешивали при КТ в течение часа, до полного удаления Fmoc, подтвержденного данными ЖХ-МС. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали под вакуумом. Остаток очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ)) и затем метанолом), получая соединение **3e** (выход 38% из полезной нагрузки **С**). ЭРИ m/z: 814 (M + 1)<sup>+</sup>.

### ПРИМЕР 8

#### Получение промежуточного продукта **4** (см. Фиг. 9)

[0434] Промежуточный продукт **4a** был синтезирован посредством амидирования из соединения Fmoc-(D)-Lys-ОН с использованием коммерческого активированного сложного эфира **25**.

#### **(2R)-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]-2-[[9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}капроновая кислота (4a)**



[0435] К смеси соединения **25** (65 мг, 0.23 ммоль, CAS: 1425803-45-7) в ДМФ (2 мл) добавляли Fmoc-D-Lys-ОН (85 мг, 0.23 ммоль) и триэтиламин (52 мг, 0.51 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течении 30 минут. Смесь сразу разделяли методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в воде (0,05% ТФУ)) , получая промежуточный

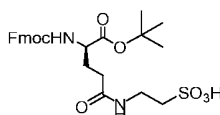
продукт 4a (85 мг, выход 70%), представляющий собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 533 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (MeODd<sub>4</sub>, 500 МГц): δ 7.70 (d, J = 7.5 Гц, 2H), 7.59 (t, J = 8.0 Гц, 2H), 7.30 (t, J = 7.5 Гц, 2H), 7.22 (t, J = 7.4 Гц, 2H), 4.35-4.22 (m, 2H), 4.22-4.09 (m, 2H), 4.09-3.99 (m, 1H), 3.94-3.81 (m, 1H), 3.79-3.67 (m, 1H), 3.15 (t, J = 6.9 Гц, 2H), 2.17-1.96 (m, 3H), 1.96-1.86 (m, 1H), 1.85-1.66 (m, 4H), 1.66-1.41 (m, 5H), 1.41-1.25 (m, 3H) ppm.

### ПРИМЕР 9

**Получение промежуточного продукта 4b** (см. Фиг. 10)

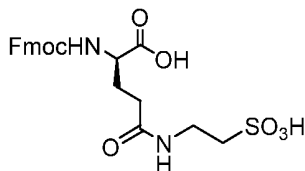
[0436] Промежуточный продукт **4b** был синтезирован из Fmoc-(D)-Glu-O<sup>t</sup>Bu (**26**). Соединение **26** активировали HOSu и затем выполняли амидирование таурином, получая , соединение **27**, которое гидролизovali ТФУ , получая промежуточный продукт **4b**.

[0437] **2-[(4R)-5-(трет-бутокси)-4-[[[9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино]-5-оксопентанамидо]этан-1-сульфоная кислота (27)**



[0438] К раствору соединения Fmoc-(D)-Glu-O<sup>t</sup>Bu (**26**) (2.0 г, 4.7 ммоль) в дихлорметане (20 мл) добавляли HOSu (1.1 г, 9.6 ммоль) и EDCI (1.8 г, 9.4 ммоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ в течение ночи, для контроля над процессом использовали ЖХ-МС. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (100 мл), промывали водой (50 мл x 2) и концентрированным соевым раствором (50 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали под вакуумом. Остаток растворяли в ДМФ (2 мл) и в раствор добавляли таурин (1.2 г, 9.6 ммоль) и DIPEA (1.4 г, 14 ммоль). Полученную смесь перемешивали при КТ в течение ночи до завершения реакции подтвержденного данными ЖХ-МС. Реакционную смесь сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение **27** (2.0 г, выход 81%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 477 (M – 55 + H)<sup>+</sup>.

**(2R)-2-[[[9H-Флуорен-9-илметокси)карбонил]амино]-4-[(2-сульфоэтил)карбамоил]масляная кислота (4b)**



[0439] К раствору соединения **27** (0.52 г, 0.98 ммоль) в дихлорметане (2 мл) добавляли ТФУ (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 3 часов до завершения гидролиза? подтвержденного данными ЖХ-МС. Летучие вещества удаляли под вакуумом и остаток очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ)) , получая промежуточный продукт **4b** (0.45 г, выход 97%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 477 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (ДМСO<sub>d6</sub>, 500 МГц) δ 7.89 (d, J = 7.5 Гц, 2H), 7.72 (d, J = 7.5 Гц, 2H), 7.42 (t, J = 7.5 Гц, 2H), 7.34 (t, J = 7.5 Гц, 2H), 7.21-7.17 (br s, 1H), 4.27-4.23 (m, 2H), 3.82-3.79 (m, 1H), 3.27-3.19 (m, 1H), 2.71-2.67 (m, 1H), 2.54 (t, J = 7.5 Гц, 2H), 2.13-1.89 (m, 2H), 1.80-1.75 (m, 1H), 1.07-1.06 (m, 4H) ppm (протон COOH не был обнаружен).

[0440] Соединение **4c** получали в соответствии с методиками синтеза, описанными в *J. Org. Chem.* 2010, 75, 3685-3691, общий выход соединения **4c** составил 25%. ЭРИ m/z: 613.3 (M + H)<sup>+</sup>.

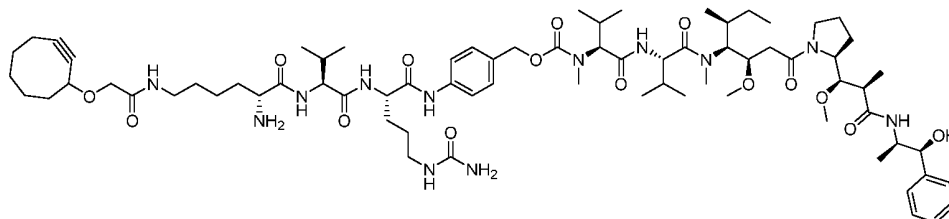
## ПРИМЕР 10

**Получение промежуточных продуктов 5a-г** (см. Фиг. 11)

[0441] **Общая методика D:** К раствору соединения **4a** (1.2 экв.) в ДМФ (0.2 мл на 10 мг соединения **4a**) добавляли НАТУ (1.4 экв.) и DIPEA (3 экв.) при КТ. Смесь перемешивали при КТ в течение 5 минут, затем добавляли соединение **3** (1.0 экв.). Реакционную смесь затем перемешивали при КТ в течение 2 часов, пока соединение **3a-г** не оказывалось полностью израсходованным, для контроля над процессом использовали ЖХ-МС. К реакционной смеси добавляли диэтиламин (5.0 экв.). Смесь перемешивали при КТ в течение 2 часов. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали. Остаток очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ)) или методом преп-ВЭЖХ (Метод В) получая соединение **5a-г**.

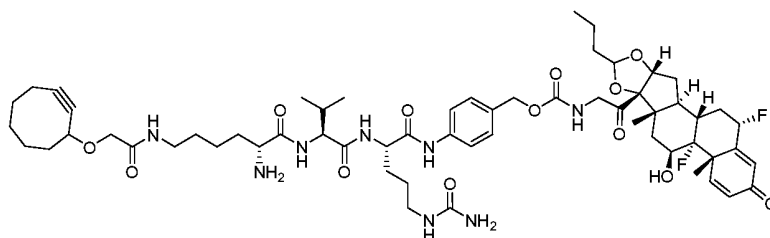
**4-((2S)-2-((2S)-2-((2R)-2-амино-6-(2-(циклоокт-2-инилокси)ацетамидо)гексанамидо)-3-метилбутанамидо)-5-**

уреидопентанамидо)бензил (S)-1-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-иламино)-1-метокси-2-метил-3-оксопропил)пирролидин-1-ил)-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-иламино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил(метил)карбамат (5a)



[0442] По общей методике D из соединения **3a** (38 мг, 34 мкмоль) с использованием **4** (34 мг, 64 мкмоль), получали соединение **5a** (17 мг, выход 35%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 1415 ( $M + 1$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (DMCO<sub>d6</sub>, 400 МГц)  $\delta$  10,09-10,02 (m, 1H), 8.54 (d,  $J = 8.4$  Гц, 1H), 8.38 (d,  $J = 7.5$  Гц, 1H), 8.35-8.26 (m, 0.5H), 8.12-8.02 (m, 3H), 7.94-7.85 (m, 0.5H), 7.66-7.54 (m, 3H), 7.34-7.23 (m, 6H), 7.20-7.13 (m, 1H), 6.08-5.97 (m, 1H), 5.54-5.37 (m, 3H), 5.13-4.94 (m, 2H), 4.52-4.21 (m, 6H), 4.03-3.70 (m, 4H), 3.63-3.51 (m, 1H), 3.25-3.17 (m, 8H), 3.13-2.82 (m, 10H), 2.31-1.91 (m, 10H), 1.85-1.64 (m, 9H), 1.64-1.25 (m, 15H), 1.07-0.96 (m, 6H), 0.90-0.74 (m, 26H) ppm.

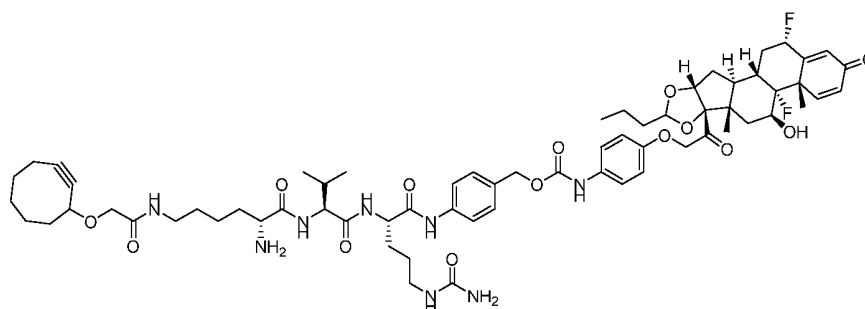
{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиамидо]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамат (5b)



[0443] По общей методике D из соединения **3b** (0.20 г, 0.23 ммоль) получали соединение **5b** (0.12 г, выход 45%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после преп-ВЭЖХ (метод В). ЭРИ  $m/z$ : 1385 ( $M + 1$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, MeOD<sub>d4</sub>)  $\delta$  7.65-7.55 (m, 2H), 7.40-7.26 (m, 3H), 6.39-6.27 (m, 2H), 5.65-5.45 (m,

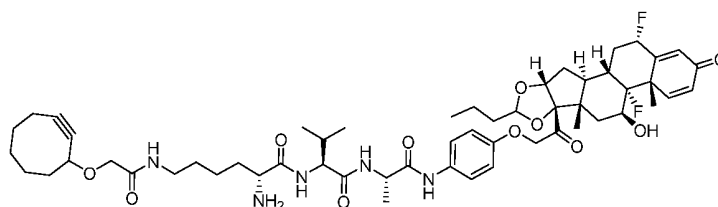
1H), 5.13-5.01 (m, 2H), 4.71-4.50 (m, 2H), 4.40-4.14 (m, 4H), 4.11-3.82 (m, 3H), 3.46-3.39 (m, 1H), 3.29-3.09 (m, 4H), 2.76-2.54 (m, 1H), 2.41-2.10 (m, 7H), 2.09-1.99 (m, 1H), 1.96-1.80 (m, 5H), 1.78-1.21 (m, 23H), 1.06-0.82 (m, 12H) ppm.

**{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-амино-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил}-2-оксоэтокси)фенил)карбамат (5c)**



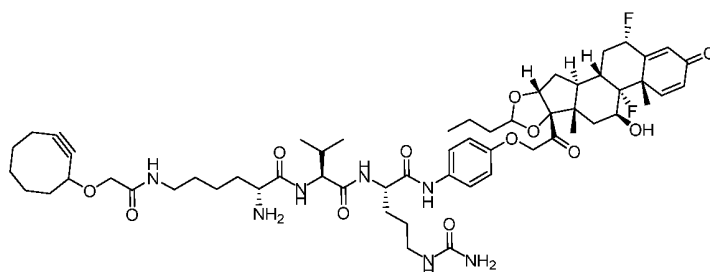
**[0444]** По общей методике D из соединения **3c** (55 мг, 54 мкмоль) с использованием соединения **4a** получали соединение **5c** (0.10 г, выход 57%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 1255.5 (M + 1)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.61 (d, J = 8.4 Гц, 2H), 7.32-7.39 (m, 5H), 6.84-6.88 (m, 2H), 6.31-6.36 (m, 2H), 5.05-5.16 (m, 3H), 4.71-4.83 (m, 1H), 4.50-4.54 (m, 1H), 4.18-4.33 (m, 3H), 3.00-2.85 (m, 2H), 3.40-3.51 (m, 1H), 3.00-3.29 (m, 6H), 1.31-2.35 (m, 34H), 1.29 (t, J = 7.2 Гц, 2H), 0.93-1.02 (m, 12H) ppm.

**(2R)-2-амино-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]-N-[(1S)-1-[(1S)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил}-2-оксоэтокси)фенил)карбамоил]этил]карбамоил]-2-метилпропил]гексанамид (5d)**



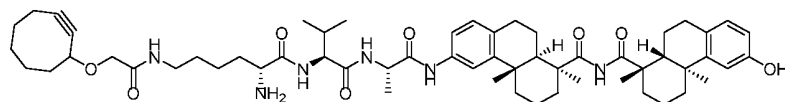
[0445] По общей методике D из соединения **3d** (0.28 г, 0.38 ммоль), получали соединение **5d** (0.21 г, выход 46%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после преп-ВЭЖХ (метод В). ЭРИ m/z: 1021.5 (M + 1)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.33-7.60 (m, 3H), 6.87-6.91 (m, 2H), 6.32-6.37 (m, 2H), 5.47-5.65 (m, 1H), 5.07-5.30 (m, 1H), 4.72-4.86 (m, 3H), 4.34-4.51 (m, 3H), 3.83-4.20 (m, 3H), 3.33-3.49 (m, 1H), 3.14-3.27 (m, 3H), 2.59-2.75 (m, 1H), 1.31-2.39 (m, 33 H), 0.93-1.05 (m, 12H) ppm.

**(2R)-2-амино-N-[(1S)-1-[[[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{2-[[[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил]-2-метилпропил]-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]гексанамид (5e)**



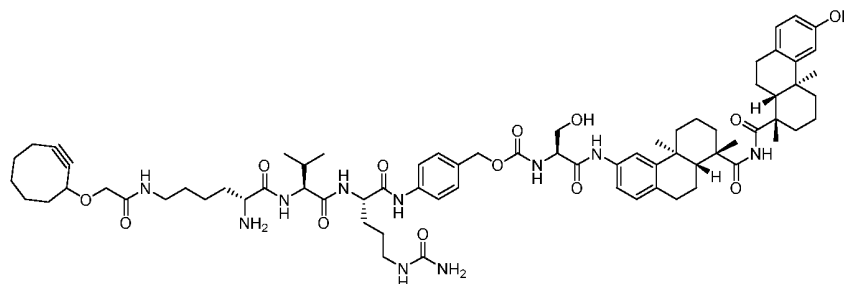
[0446] По общей методике D из соединения **3e** (0.10 г, 0.12 ммоль) получали соединение **5d** (0.12 г, выход 88%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ)). ЭРИ m/z: 553.7 (M/2 + 1)<sup>+</sup>.

**(1S,4aS,10aR)-6-((2S)-2-((2S)-2-((2R)-2-амино-6-(2-(циклоокт-2-инилокси)ацетамидо)гексанамидо)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)-N-((1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (5f)**



[0447] По общей методике D из соединения **3f** (80 мг, 0.11 ммоль), получали соединение **5f** (48 мг, выход 84%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после преп-ВЭЖХ (метод В). ЭРИ m/z: 991.5 (M + 1)<sup>+</sup>.

**{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-амино-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил]-2-гидроксиэтил]карбамат (5g)**



**[0448]** К раствору соединения **4a** (24 мг, 44 мкмоль) в ДМФ (2 мл) добавляли НАТУ (17 мг, 44 мкмоль) и затем соединение **3g** (35 мг, 34 мкмоль) при КТ. Смесь перемешивали в течение нескольких минут при КТ до получения однородной смеси. К этой смеси шприцом добавляли DIPEA (8.8 мг, 68 мкмоль) при КТ. Полученную смесь перемешивали при КТ в течение 2 часов до почти полного израсходования соединения **3g**, подтвержденного данными ЖХ-МС. Затем в эту реакционную смесь добавляли added диэтиламин или пиперидин (0.1 мл, с избытком)<sup>[1]</sup> по каплям при КТ, и смесь перемешивали в течение часа до удаления группы Fmoc, подтвержденного методом ЖХ-МС. Реакционную смесь сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение **5g** (15 мг, выход 33%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 1313.6 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.59 (d, J = 8.5 Гц, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.36-7.26 (m, 3H), 7.01 (d, J = 8.5 Гц, 1H), 6.88 (d, J = 8.0 Гц, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.57-6.54 (m, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.64-4.52 (m, 1H), 4.35-4.28 (m, 2H), 4.21 (d, J = 7.0 Гц, 1H), 4.01-3.98 (m, 1H), 3.88-3.84 (m, 3H), 3.43 (t, J = 6.5 Гц, 1H), 3.26-3.10 (m, 4H), 3.00-2.76 (m, 3H), 2.38-2.24 (m, 7H), 2.19-2.02 (m, 9H), 1.98-1.78 (m, 4H), 1.74-1.54 (m, 12H), 1.45-1.26 (m, 14H), 1.13 (s, 6H), 1.00 (t, J = 7.5 Гц, 6H) ppm.

#### ПРИМЕР 10-1

**[0449]** Получение соединений **10a-d** (Фиг. 11C)

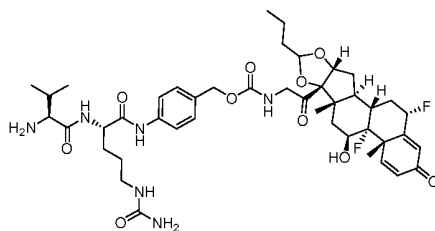
**[0450]** Для получения соединений **10a-d** использовали методику сопряжения амидов, показанную на Фиг. 11C.

[0451] **Общая методика D2 для получения соединений 10a-d:** К раствору DIBAC-suc-PEG<sub>4</sub>-кислоты **8a** (1.1-1.3 экв.) в ДМФ (1 мл на 5-10 мг соединения **8a**) добавляли HATU (1.5 экв.) и DIPEA (5.0 экв.) при КТ. Смесь перемешивали при КТ получение с последующим добавлением соединения **3** (1.0 экв.). Полученную смесь перемешивали при КТ, до тех пока пока соединение **3** не было израсходовано, для контроля над процессом использовали ЖХ-МС. После фильтрования, фильтрат сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ, получая соединение **10a-d**.

### ПРИМЕР 10А

Получение соединения **10a** (см. Фиг. 11А)

**4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2</sup>,<sup>9</sup>.0<sup>4</sup>,<sup>8</sup>.0<sup>13</sup>,<sup>18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамат **10a****

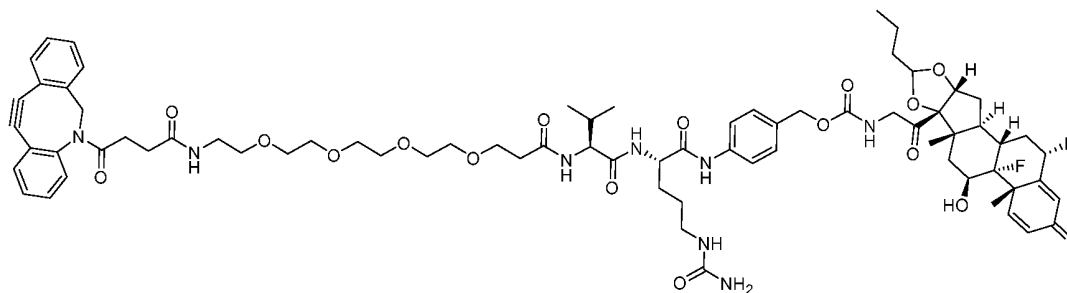


[0452] К раствору соединения Fmoc-VC-PAB-PNP (**10-1**, 0.17 г, 0.22 ммоль) и соединения **B**, (93 мг, 0.20 ммоль) в ДМФ (3 мл) шприцом добавляли DIPEA (51 мг, 0.40 ммоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ в течение 3 часов, после чего большая часть материалов была израсходована, что подтверждалось данными ЖХ-МС. В полученную смесь добавляли пиперидин (0.3 мл, с избытком и смесь перемешивали при КТ в течение часа до полного удаления Fmoc, подтвержденного данными ЖХ-МС. После фильтрования через мембрану фильтрат сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение **3b** (0.13 г, выход 73%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 871 (M + 1)<sup>+</sup>.

**4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4</sup>,<sup>9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил**



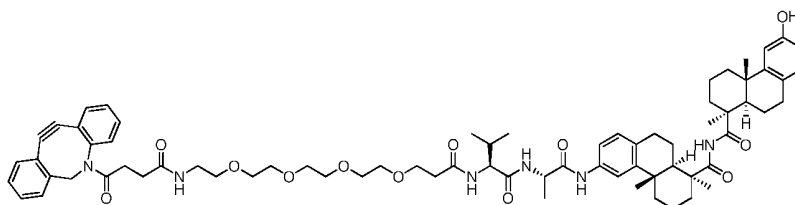
***N*-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2</sup>,9.0<sup>4</sup>,8.0<sup>13</sup>,18]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамат **10a****



**[0453]** К раствору соединения acid **8a** (30 мг, 54 мкмоль) в ДМФ (5 мл) последовательно добавляли DIPEA (13 мг, 0.10 ммоль) и HATU (31 мг, 81 мкмоль) при КТ. Перед добавлением амина **3b** (43 мг, 50 мкмоль) полученную смесь перемешивали при этой температуре в течение 0,5 часа. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 3 часов, до полного расходования амина, подтвержденного данными ЖХ-МС. Реакционную смесь фильтровали через мембрану, после чего фильтрат отделяли методом препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение **10a** (16 мг, выход 23%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ *m/z*: 1406 (*M* + *H*)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>) δ 9.99 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 7.5 Гц, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.5 Гц, 1H), 7.80-7.75 (m, 1H), 7.70-7.66 (m, 1H), 7.65-7.60 (m, 3H), 7.53-7.33 (m, 6H), 7.33-7.28 (m, 3H), 6.30 (dd, *J* = 10,0 Гц, 1.5 Гц, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.10-6.00 (m, 1H), 5.72-5.55 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.05-5.01 (m, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.80-4.72 (m, 1H), 4.60-4.58 (m, 1H), 4.43-4.33 (m, 1H), 4.25-4.10 (m, 3H), 3.88-3.80 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 3H), 3.50-3.40 (m, 12H), 3.30-3.25 (m, 2H), 3.12-2.90 (m, 4H), 2.70-2.55 (m, 2H), 2.48-2.35 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 2H), 2.15-1.95 (m, 4H), 1.86-1.65 (m, 3H), 1.64-1.54 (m, 5H), 1.49 (s, 4H), 1.46-1.34 (m, 5H), 0.90-0.80 (m, 12H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: 100%, время удерживания: 7.40 мин (метод В). Растворимость: 0,02 мг/мл воды.

### ПРИМЕР 10B

**Получение** **1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*S*)-1-[(1*S*)-1-[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил]-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил]этил]карбамоил]-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид **10b** (см. Фиг. 11B)**



[0454] Для получения соединения использовали процедуру сопряжения амидов, показанную на Фиг. 11В. Следуя общей методике D2, амин **3f** (20 мг, 29 мкмоль), кислоту **8a** (18 мг, 33 мкмоль), НАТУ (33 мг, 87 мкмоль) и DIPEA (33 мг, 87 мкмоль), перемешивали в 1 мл ДМФ при 15-20 °С в течение 16 часов, и очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод В). Выход соединения **10b**: 10 мг, 28%. ЭРИ  $m/z$ : 1234 (M + H)<sup>+</sup>.

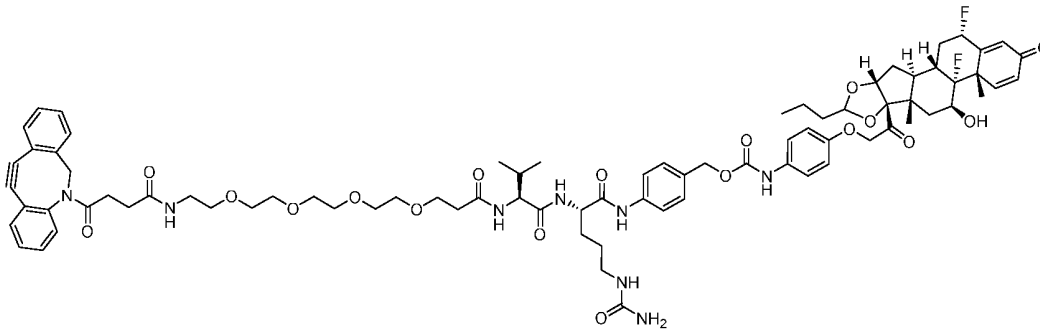
[0455] <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*<sub>4</sub>) δ 7.65 (d, *J* = 7.4 Гц, 1H), 7.62-7.51 (m, 2H), 7.48-7.28 (m, 6H), 7.27-7.21 (m, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.5 Гц, 1H), 6.88 (d, *J* = 8.0 Гц, 1H), 6.72 (d, *J* = 2.4 Гц, 1H), 6.56 (dd, *J* = 8.3, 2.4 Гц, 1H), 5.15-5.10 (m, 1H), 4.52-4.43 (m, 1H), 4.20 (d, *J* = 6.5 Гц, 0.5H), 4.04 (d, *J* = 7.9 Гц, 0.5H), 3.77-3.64 (m, 3H), 3.63-3.49 (m, 12H), 3.47-3.39 (m, 2H), 3.24 (t, *J* = 5.5 Гц, 2H), 2.99-2.66 (m, 5H), 2.57-2.42 (m, 2H), 2.42-1.94 (m, 14H), 1.76-1.63 (m, 4H), 1.48-1.21 (m, 13H), 1.14-1.10 (m, 6H), 1.05-0.97 (m, 6H) ppm.

[0456] Аналитическая ВЭЖХ: >99%, время удерживания: 9.21 мин (метод В).

[0457] Растворимость: <0.1 мг/мл вода.

#### ПРИМЕР 10С

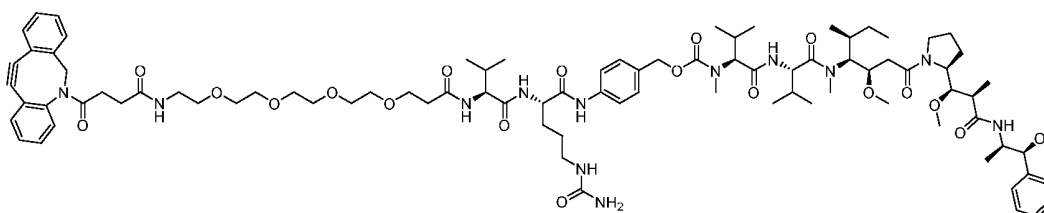
[0458] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамат (10с)



[0459] По общей методике D2 из соединения **3c** (58 мг, 60 мкмоль) и соединения **8a** было получено соединение **10c** (20 мг, выход 22%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 1499 ( $M + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10,02 (s, 1H), 9,59 (s, 1H), 8,14 (d,  $J = 7.6$  Гц, 1H), 7,88 (d,  $J = 8.8$  Гц, 1H), 7,80-7,75 (m, 1H), 7,70-7,66 (m, 1H), 7,65-7,60 (m, 3H), 7,53-7,45 (m, 3H), 7,40-7,28 (m, 7H), 6,84 (d,  $J = 9.2$  Гц, 2H), 6,30 (dd,  $J = 10.4$  Гц, 1.6 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,10-6,00 (m, 1H), 5,72-5,55 (m, 1H), 5,52 (s, 1H), 5,43 (s, 2H), 5,16-5,05 (m, 4H), 4,88-4,70 (m, 3H), 4,43-4,33 (m, 1H), 4,25-4,20 (m, 2H), 3,65-3,55 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 12H), 3,30-3,25 (m, 2H), 3,12-2,90 (m, 4H), 2,70-2,55 (m, 2H), 2,48-2,43 (m, 1H), 2,40-2,35 (m, 1H), 2,30-2,20 (m, 2H), 2,15-1,95 (m, 4H), 1,86-1,75 (m, 2H), 1,64-1,54 (m, 5H), 1,49 (s, 4H), 1,46-1,34 (m, 4H), 1,23 (s, 2H), 0,90-0,80 (m, 12H) ppm. Растворимость: <0,01 мг/мл вода.

#### ПРИМЕР 10D

[0460] **4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-[(1S)-1-[(1S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-[(1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил]-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил](метил)карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]-2-метилпропил]-N-метилкарбамат (10d)**



[0461] По общей методике D2 из соединения vsPAB-MMAE **3a** (6.9 мг, 6.1 мкмоль) и соединения **8a**, было получено соединение **10d** (2.0 мг, выход 20%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 830 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>) δ 9.98 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 7.3 Гц, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.92-7.82 (m, 2H), 7.75 (t, *J* = 5.1 Гц, 1H), 7.68 (d, *J* = 7.2 Гц, 1H), 7.65-7.53 (m, 3H), 7.53-7.42 (m, 3H), 7.41-7.22 (m, 9H), 7.22-7.10 (m, 1H), 6.06-5.91 (m, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.33 (d, *J* = 4.8 Гц, 1H), 5.15-4.91 (m, 3H), 4.79-4.57 (m, 1H), 4.54-4.46 (m, 1H), 4.46-4.32 (m, 2H), 4.32-4.17 (m, 2H), 4.08-3.88 (m, 2H), 3.67-3.53 (m, 4H), 3.50-3.40 (m, 12H), 3.27-3.15 (m, 8H), 3.14-2.91 (m, 8H), 2.91-2.80 (m, 3H), 2.62-2.53 (m, 1H), 2.41-2.33 (m, 2H), 2.32-2.19 (m, 2H), 2.17-2.05 (m, 2H), 2.05-1.90 (m, 4H), 1.86-1.65 (m, 5H), 1.64-1.52 (m, 2H), 1.52-1.40 (m, 2H), 1.39-1.27 (m, 2H), 1.07-0.95 (m, 6H), 0.90-0.67 (m, 26H) ppm.

### ПРИМЕР 11

**Получение промежуточного продукта 6с** (см. Фиг. 12)

[0462] Промежуточный азид **6с** был синтезирован из активированного сложного эфира **30** посредством реакции амидирования с использованием таурина, как описано на Фиг. 12.

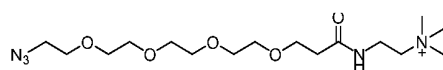
#### **1-азидо-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азаоктадекандекан-18-сульфоновая кислота (6с)**

[0463] К раствору соединения **30** 2,5-диоксопирролидин-1-ил 1-азидо-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оата (0.10 г, 0.26 ммоль) и таурина (39 мг, 0.31 ммоль) в безводном ДМФ (4 мл) добавляли диизопропилэтиламин (15 мг, 0.52 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °С в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали, и раствор очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод А), получая промежуточный продукт **6с** (0.80 г, выход 78%), представляющи собой бесцветное масло. ЭРИ *m/z*: 399.1 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 3.69 (t, *J* = 6.0 Гц, 2H), 3.64-3.59 (m, 14H), 3.49 (t, *J* = 6.5 Гц, 2H), 3.41 (t, *J* = 4.5 Гц, 2H), 3.00 (t, *J* = 7.0 Гц, 2H), 2.45 (t, *J* = 6.0 Гц, 2H) ppm.

### ПРИМЕР 11А

[0464] Промежуточный азид **6b** был синтезирован из активированного сложного эфира **30** посредством реакции амидирования с использованием соединения **6b-1**, как описано на Фиг. 13А.

#### **[2-(1-азидо-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)этил]триметилазания хлорид (6b)**



[0466] К раствору соединения азидо-PEG<sub>4</sub>-NHS **30** (0.19 г, 0.50 ммоль) в безводном ДМФ (4 мл) добавляли соединение **6b-1** (83 мг, 0.60 ммоль) и DIPEA (19 г, 1.5 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °С в течение ночи. Смесь фильтровали, и фильтрат очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод А) получая соединение **6b** (0.13 г, выход 64%), представляющее собой бесцветное масло. ЭРИ *m/z*: 376 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>) δ 3.65-3.58 (m, 4H), 3.58-3.45 (m, 16H), 3.45-3.30 (m, 12H), 2.35 (t, *J* = 6.5 Гц, 2H) ppm.

#### ПРИМЕР 11В

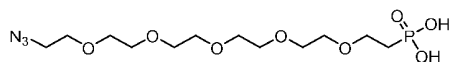
[0467] Промежуточный азид **6a** являлся коммерческим продуктом, CAS № 86770-69-6.

#### ПРИМЕР 11С

[0468] [2-(1-азидо-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15

[0469] Промежуточный азид **6f** был синтезирован из соединения **6d-1** посредством замещения брома азидной группой с последующим гидролизом.

[0470] 17-азидо-3,6,9,12,15-пентаоксагептадецилфосфоновая кислота (**6f**) (см. Фиг. 13В)



[0471] В круглодонную колбу вместимостью 10 мл вносили соединение **6d-1** (50 мг, 0.11 ммоль), азид натрия (28 мг, 0.43 ммоль), ацетонитрил (2 мл) и воду (2 мл). Смесь перемешивали при 80 °С в течение 16 часов. ЖХ-МС показала, что соединение **6d-1** было полностью израсходовано. Реакционную смесь охлаждали до КТ и ацетонитрил удаляли под вакуумом. Остаток разделяли между этилацетатом (20 мл) и H<sub>2</sub>O (20 мл). Органический слой промывали H<sub>2</sub>O (15 мл x 2), концентрированным соевым раствором (15 мл), сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали, получая соединение **6d-2** (35 мг, выход: 76%, ЭРИ *m/z*: 428.2 (M + H)<sup>+</sup>), представляющее собой масло красного цвета, которое растворяли в безводном ДМФ (2 мл). В раствор добавляли бромтриметилсилан (TMSBr, 0.12 г, 0.32 ммоль) при 0 °С. Смесь перемешивали при 0 °С в течени 30 минут, и затем при КТ в течение 16 часов. Летучие вещества удаляли под вакуумом, и остаток выпаривали вместе с сухим толуолом (3-кратно). The residue растворяли в воде и лиофилизировали, получая неочищенное

соединение **6f** (выход неочищенного продукта >100%), в виде масла, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

#### ПРИМЕР 11E

[0472] Промежуточный азид **6e** являлся коммерческим продуктом, CAS № 35899-89-9.

#### ПРИМЕР 11F

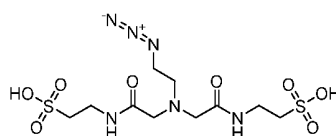
[0473] Промежуточный азид мальтоза-N<sub>3</sub> (**6g**) был синтезирован, как описано в публикации *Tetrahedron Letters*, **2001**, 42 (7), 1325-1328.

#### ПРИМЕР 12

**Получение промежуточного продукта 6d** (см. Фиг. 13)

[0474] Промежуточный азид **6d** с двумя сульфо-группами был синтезирован, как показано на Фиг. 13. Была проведена реакция между азидоэтанамином **31** и 2 эквивалентами бромацетата **32**, с последующим гидролизом, в результате которого была получена двойная кислота, которая была превращена в активированный сложный эфир **35** после взаимодействия с пентафторфенолом **34**. Соединение **35** было амидировано тауарином, что привело к получению промежуточного продукта **6d**.

**2-{2-[(2-азидоэтил){[(2-сульфоэтил)карбамоил]метил})амино]ацетило}этан-1-сульфоная кислота (6d)**



[0475] К раствору 2-азидоэтанамина **31** (0.52 г, 6.0 ммоль) этанамина (50 мл) добавляли *трет*-бутил 2-бромацетат **32** (2.6 г, 13 ммоль) и натрия карбонат (3.2 г, 30 ммоль). Суспензию нагревали с обратным холодильником в течение 16 ч. После охлаждения до КТ смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали под вакуумом, получая желтое масло (1.6 г, ЭРИ m/z: 315 (M + H)<sup>+</sup>). 0.62 г маслянистого продукта растворяли в растворе гидрохлорида в диоксане (4 N, 10 мл). Смесь перемешивали при 25 °С в течение ночи, после чего ЖХ-МС показала, что реакция завершена. Летучие вещества удаляли под вакуумом, получая соединение **33** (0.39 г, ЭРИ m/z: 203 (M + H)<sup>+</sup>), представляющую собой соль

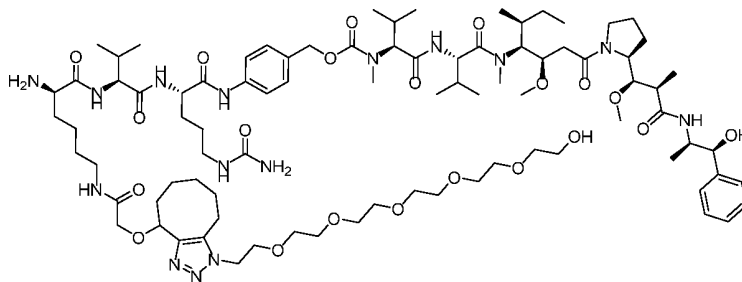
гидрохлорид, 0.20 г которой растворяли в дихлорметане (5 мл) для использования на следующей стадии без дополнительной очистки. В раствор добавляли DIC (0.38 г, 3.0 ммоль), DIPEA (0.77 г, 6.0 ммоль) и пентафторфенол **34** (0.55 г, 3.0 моль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение ночи, после чего ЖХ-МС показала, что реакция завершена. Смесь концентрировали под вакуумом, получая неочищенное соединение **35** (ЭРИ m/z: 289 (M/2 + Na)<sup>+</sup>), которое растворяли в ДМФ (5 мл). В раствор добавляли таурин (0.38 г, 3.0 ммоль) и DIPEA (0.52 г, 4.0 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °С в течение ночи, и полученную смесь сразу очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-10% ацетонитрил в воде (with 0,01% ТФУ)), получая соединение **6d** (0.18 г, выход 34% из 2-азидэтанамин), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 417 (M + H)<sup>+</sup>.

### ПРИМЕР 13

**Получение промежуточных продуктов 7a, 7c, 7e, 7f, 7j, 7k, 7l, 7m, 7q, 7ab, 7ad, 7ae, 7bb, 7cb, 7fb** (см. Фиг. 14)

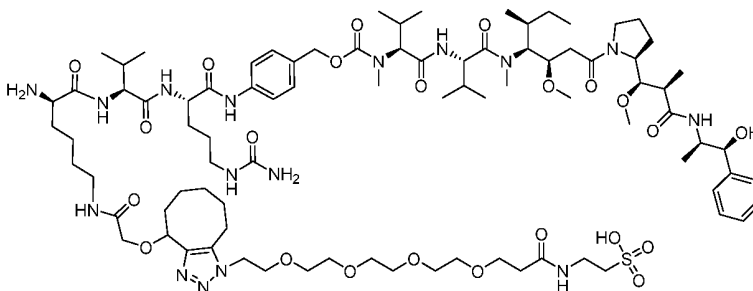
**[0476] Общая методика E:** К раствору соединения **5** в ДМФ (0.5 мл на 10 мг соединения **5**) добавляли промежуточный азид **6** (1.5 экв.) и DIPEA (0.1 мл на 10 мг соединения **5**) при КТ. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 24 часов, ЖХ-МС продемонстрировала завершение реакции. Реакционную смесь сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ, получая соединение **7** представляющее собой твердое вещество белого цвета.

**{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-Амино-6-(2-{[1-(17-гидрокси-3,6,9,12,15-пентаоксагептадекан-1-ил)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил]окси}ацетамидо)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-[(1S)-1-[(1S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-[(1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил]-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил](метил)карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил]-N-метилкарбамат (7a)**



**[0477]** По общей методике E из соединения **5a** (30 мг, 21 мкмоль) и соединения **6a** (20 мг, 64 мкмоль) получали соединение **7a** (30 мг, выход 74%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 862 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (MeOD<sub>d4</sub>, 500МГц):  $\delta$  7.66-7.57 (m, 2H), 7.44-7.29 (m, 6H), 7.26-7.18 (m, 1H), 5.25-5.04 (m, 2H), 4.88-4.74 (m, 2H), 4.70-4.47 (m, 2H), 4.59-4.48 (m, 4H), 4.29-4.17 (m, 4H), 4.00-3.95 (m, 2H), 3.93-3.88 (m, 2H), 3.76-3.70 (m, 1H), 3.69-3.64 (m, 10H), 3.62-3.59 (m, 2H), 3.59-3.55 (m, 8H), 3.49-3.42 (m, 2H), 3.38-3.36 (m, 4H), 3.31-3.28 (m, 3H), 3.27-3.17 (m, 3H), 3.15-3.06 (m, 3H), 3.00-2.87 (m, 4H), 2.57-2.46 (m, 2H), 2.41-2.18 (m, 2H), 2.17-1.99 (m, 5H), 1.98-1.86 (m, 3H), 1.85-1.68 (m, 6H), 1.67-1.54 (m, 9H), 1.50-1.36 (m, 4H), 1.34-1.25 (m, 1H), 1.22-1.12 (m, 6H), 1.06-0.98 (m, 11H), 0.96-0.93 (m, 3H), 0.92-0.84 (m, 9H), 0.79 (m, 2H). ppm.

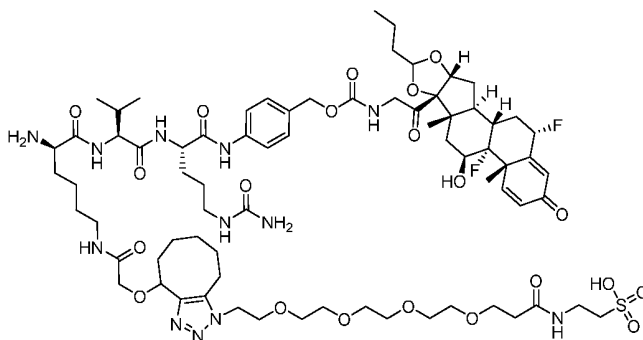
**2-{1-[4-({[(5R)-5-амино-5-{{(1S)-1-{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-{{4-{{((1S)-1-{{(1S)-1-{{(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-{{(1R,2R)-2-{{(1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил}-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил}(метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил}(метил)карбамоил}окси)метил]фенил}карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоновая кислота (**7c**)**



**[0478]** По общей методике E из соединения **5a** (28 мг, 20 мкмоль) и соединения **6c** (20 мг, 50 мкмоль) получали соединение **7c** (20 мг, выход 56%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 907.3 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>.

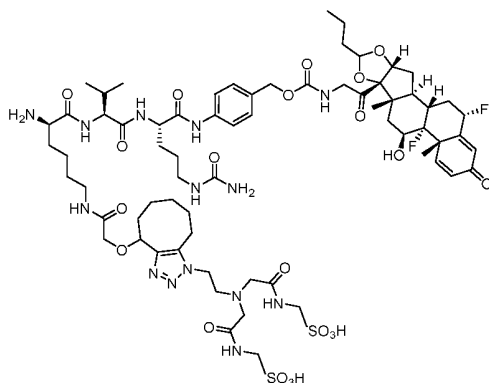


**2-[1-[4-({[(5R)-5-амино-5-{{(1S)-1-{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{{(2-[[1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамоил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил)-2-метилпропил]карбамоил]пентил]карбамоил]метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоная кислота (7e)**



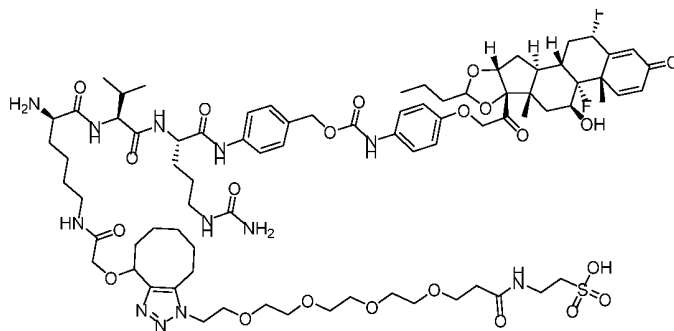
[0479] По общей методике E из соединения **5b** (60 мг, 52 мкмоль) и соединения **6c** получали соединение **7e** (60 мг, выход 74%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 781 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.61 (d,  $J = 8.5$  Гц, 2H), 7.39-7.28 (m, 3H), 6.39-6.30 (m, 2H), 5.66-5.46 (m, 1H), 5.29-5.13 (m, 1H), 5.12-5.04 (m, 3H), 4.72-4.60 (m, 2H), 4.56-4.49 (m, 2H), 4.36-3.84 (m, 8H), 3.76-3.70 (m, 2H), 3.66-3.54 (m, 14H), 3.30-3.23 (m, 2H), 3.21-3.04 (m, 3H), 3.03-2.97 (m, 2H), 2.96-2.84 (m, 1H), 2.75-2.52 (m, 1H), 2.50-2.42 (m, 2H), 2.39-2.01 (m, 6H), 1.99-1.78 (m, 6H), 1.74-1.22(m, 22H), 1.03-0.87 (m, 12H) ppm.

**2-[2-({2-[4-({[(5R)-5-амино-5-{{(1S)-1-{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{{(2-[[1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамоил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил)-2-метилпропил]карбамоил]пентил]карбамоил]метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]этил}{{(2-сульфоэтил)карбамоил]метил})амино]ацетамидо]этан-1-сульфоная кислота (7f)**



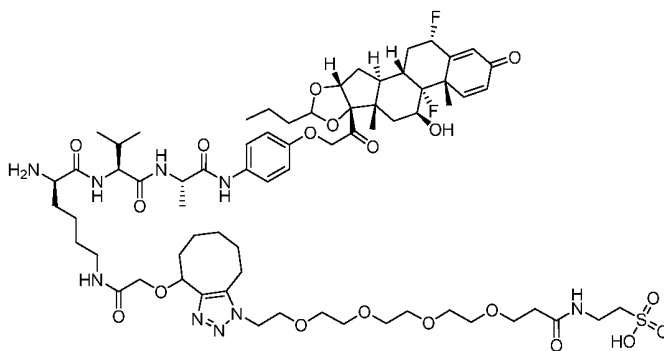
**[0480]** По общей методике Е из соединения **5b** (0.10 г, 86 мкмоль) и соединения **6d** получали соединение **7f** (65 мг, выход 48%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 790 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500МГц, ДМСО<sub>d6</sub>) δ 10.1-10,0 (m, 1H), 8.60-8.50 (m, 1H), 8.40-8.30 (m, 1H), 8.30-8.20 (m, 2H), 8.15-8.00 (m, 4H), 7.60-7.55 (m, 2H), 7.50-7.40 (m, 1H), 7.30-7.20 (m, 4H), 6.30 (d,  $J = 10.5$  Гц, 1H), 6.15-6.00 (m, 2H), 5.70-5.55 (m, 3H), 4.98 (s, 2H), 4.80-4.70 (m, 1H), 4.59 (t,  $J = 4.0$  Гц, 1H), 4.50-4.45 (m, 1H), 4.40-4.35 (m, 2H), 4.25-4.10 (m, 2H), 3.95-3.80 (m, 4H), 3.20-2.90 (m, 10H), 2.85-2.75 (m, 2H), 2.70-2.60 (m, 4H), 2.31-2.10 (m, 3H), 2.10-1.95 (m, 6H), 1.80-1.65 (m, 6H), 1.65-1.55 (m, 7H), 1.40-1.20 (m, 12H), 1.20-1.10 (m, 1H), 1.06 (t,  $J = 7.0$  Гц, 1H), 1.02-1.00 (m, 1H), 0.90-0.80 (m, 16H) ppm.

**2-{1-[4-({[(5R)-5-амино-5-{{(1S)-1-{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[4-({[(4-{2-{{(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]окси}метил)фенил]карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоная кислота (7i)**



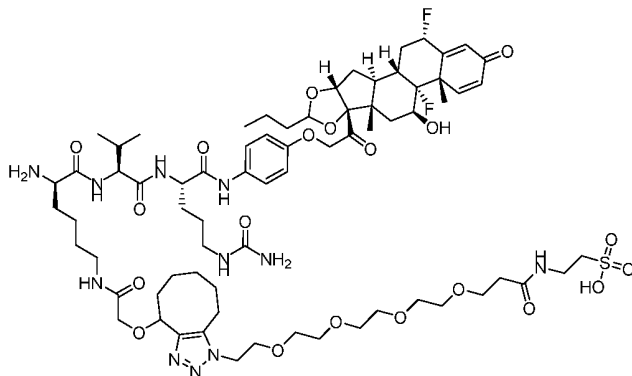
[0481] По общей методике E из соединения **5c** (55 мг, 54 мкмоль) и соединения **6c** получали соединение **7i** (53 мг, выход 43%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 827.6 (m/2 + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.63-7.61 (m, 2H), 7.40-7.29 (m, 5H), 6.89-6.85 (m, 2H), 6.38-6.33 (m, 2H), 5.65-5.48 (m, 1H), 5.31-5.06 (m, 4H), 4.91-4.70 (m, 4H), 4.65-4.22 (m, 5H), 4.07-3.86 (m, 5H), 3.74-3.63 (m, 16H), 3.33-2.82 (m, 4H), 2.76-1.21 (m, 39H), 1.06-0.93 (m, 12H) ppm.

**2-{1-[4-({[(5R)-5-амино-5-{{[(1S)-1-{{[(1S)-1-[(4-{2-[[1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоная кислота (7j)**



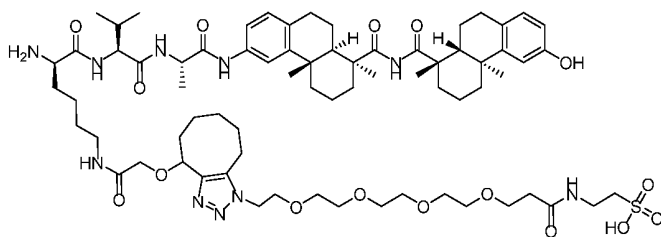
[0482] По общей методике E из соединения **5d** (55 мг, 54 мкмоль) и соединения **6c**, получали соединение **7j** (70 мг, выход 67%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 709.9 (M/2 + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.58-7.48 (m, 2H), 7.35 (d, J = 8.8 Гц, 1H), 6.92-6.88 (m, 2H), 6.38-6.34 (m, 1H), 6.33 (s, 1H), 5.65-5.46 (m, 1H), 5.31-5.07 (m, 2H), 4.87-4.44 (m, 7H), 4.36-4.13 (m, 2H), 4.06-3.87 (m, 5H), 3.75-3.55 (m, 16H), 3.33-2.60 (m, 6H), 2.47-1.79 (m, 13H), 1.72-1.43 (m, 21H), 1.03-0.94 (m, 12H) ppm.

**2-{1-[4-({[(5R)-5-амино-5-{{[(1S)-1-{{[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{2-[[1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоная кислота (7k)**



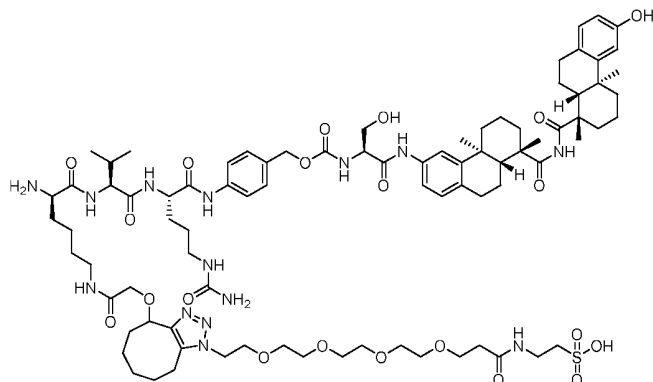
[0483] По общей методике E из соединения **5e** (60 мг, 54 мкмоль) и соединения **6c** получали соединение **7k** (50 мг, выход 61%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 753 ( $M/2+H$ )<sup>+</sup>.

**1-(4-(2-((R)-5-амино-6-((S)-1-((S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонилкарбамоил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-иламино)-1-оксопропан-2-иламино)-3-метил-1-оксобутан-2-иламино)-6-оксогексиламино)-2-оксоэтокси)-4,5,6,7,8,9-hexahydro-1H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил)-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азаоктадекан-18-сульфоная кислота (7m)**



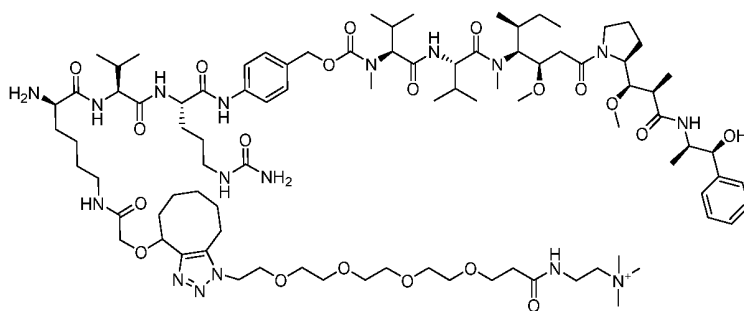
[0484] По общей методике E из соединения **5f** (40 мг, 40 мкмоль) и соединения **6c** получали соединение **7m** (52 мг, выход 77%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 695.4 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>.

**2-{1-[4-({[(5R)-5-амино-5-{{(1S)-1-{{(1S)-1-({4-[[[(1S)-1-{{(4bS,8S,8aR)-8-{{[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-ил]формаидо}карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамоил}окси)метил]фенил]карбамоил)-4-(карбамоиламино)бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоная кислота (7q)**



[0485] К раствору соединения **6c** (20 мг, 50 мкмоль) в воде (1 мл) добавляли по каплям насыщенный водный раствор бикарбоната натрия при 0°C до достижения pH ~ 7. Затем к полученному раствору при перемешивании добавляли шприцом раствор соединения **5?** (28 мг, 21 мкмоль) в ацетонитриле (1 мл). Смесь перемешивали при 25 °С в течение ночи. Проводился мониторинг реакционной смеси методом ЖХ-МС, до тех пор, пока соединение **5?** не было полностью израсходовано. Реакционную смесь фильтровали и очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод А), получая соединение **7q** (15 мг, выход 41%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 856.5 (M/2 + 1)<sup>+</sup>.

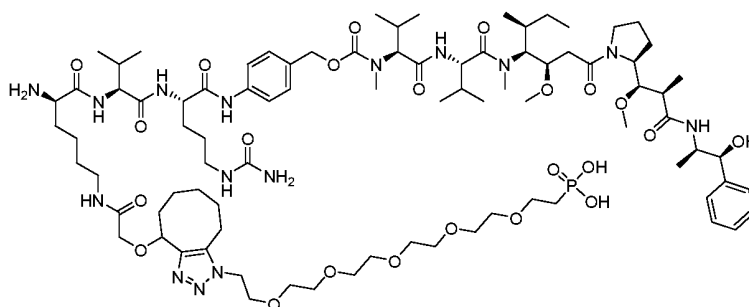
[0486] (2-{1-[4-({[(5R)-5-амино-5-{{[(1S)-1-{{[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-{{4-{{[(1S)-1-{{[(1S)-1-{{[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-{{[(1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил}-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил}(метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил}(метил)карбамоил}окси)метил]фенил]карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)этил}триметилазания хлорид (**7ab**)



[0487] По общей методике из соединения **5a** (55 мг, 39 мкмоль) и соединения **6b**, исключая перемешивание при 50 °С в течение ночи, получали соединение **7ab** (50

мг, выход 70%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 896  $[(M + H)/2]^+$ .  $^1H$  ЯМР (400 МГц,  $DMCO_{d4}$ )  $\delta$  9.35 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.43-8.34 (m, 1H), 8.07-8.00 (m, 1H), 7.91-7.83 (m, 1H), 7.79-7.60 (m, 4H), 7.33-7.23 (m, 6H), 7.20-7.13 (m, 1H), 6.30-5.80 (m, 1H), 5.49-5.34 (m, 1H), 5.12-4.83 (m, 3H), 4.77-4.71 (m, 1H), 4.54-4.38 (m, 4H), 4.27 (t,  $J = 11.6$  Гц, 1H), 4.03-3.93 (m, 4H), 3.85-3.75 (m, 5H), 3.59 (t,  $J = 6.2$  Гц, 3H), 3.50-3.40 (m, 15H), 3.38-3.35 (m, 2H), 3.26-3.16 (m, 7H), 3.13-3.03 (m, 14H), 2.99-2.92 (m, 4H), 2.89-2.78 (m, 4H), 2.44-2.38 (m, 1H), 2.34 (t,  $J = 6.2$  Гц, 2H), 2.30-2.22 (m, 2H), 2.15-1.93 (m, 6H), 1.85-1.42 (m, 19H), 1.37-1.23 (m, 3H), 1.06-0.96 (m, 7H), 0.94-0.71 (m, 27H) ppm.

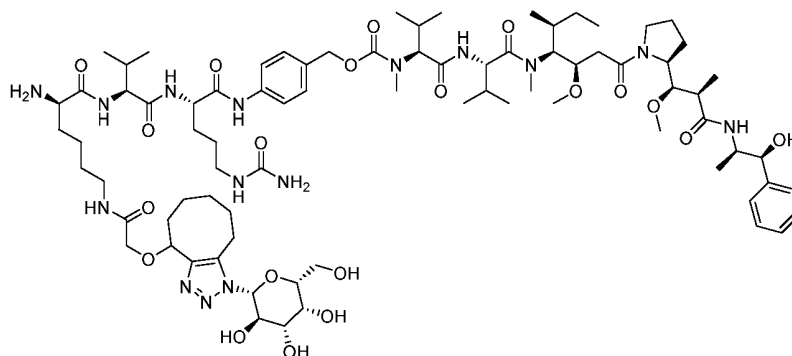
**[0488] {17-[4-({[(5R)-5-амино-5-{{[(1S)-1-{{[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-({4-{{[[[(1S)-1-{{[(1S)-1-{{[(3R,4S,5S)-1-{{[(2S)-2-{{[(1R,2R)-2-{{[(1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил}-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил}(метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил}(метил)карбамоил}окси)метил]фенил}карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12,15-пентаоксагептадекан-1-ил}фосфоновая кислота (7ad)**



**[0489]** По общей методике из соединения **5a** (18 мг, 13 мкмоль) и соединения **6f** (14 мг, 38 мкмоль) получали соединение **7ad** (15 мг, выход 58%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 893.9  $(M/2 + H)^+$ .  $^1H$  ЯМР ( $MeOD_{d4}$ , 500МГц):  $\delta$  7.98-7.91 (m, 1H), 7.79-7.59 (m, 2H), 7.41-7.20 (m, 6H), 5.51-5.06 (m, 2H), 4.78-4.53 (m, 6H), 4.29-3.88 (m, 9H), 3.78-3.75 (m, 3H), 3.64-3.58 (m, 16H), 3.47-3.36 (m, 6H), 3.29-3.07 (m, 8H), 3.01-2.80 (m, 4H), 2.58-2.05 (m, 10H), 1.96-1.32 (m, 26H), 1.21-1.14 (m, 6H), 1.02-0.71 (m, 25H) ppm.

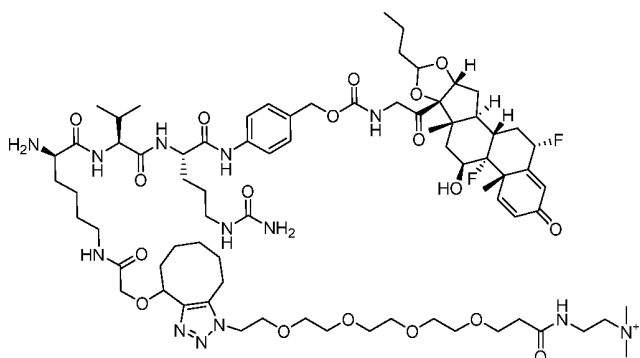
**[0490] {4-{{[(2S)-2-{{[(2S)-2-{{[(2R)-2-амино-6-[2-{{1-{{[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксап-2-ил]-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил}окси)ацетида]гексанамида]-3-**

метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(1*S*)-1-[[[(1*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-[[[(1*S*,2*R*)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил]-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил](метил)карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]-2-метилпропил]-*N*-метилкарбамат (7ае)



[0491] По общей методике из соединения **5a** (6.0 мг, 4.2 мкмоль) и соединения **6e** (3.0 мг, 15 мкмоль) получали реакционноспособный раствор соединения **7ae**, который сразу использовали на следующей стадии. ЭРИ *m/z*: 811 (*M*/2 + *H*)<sup>+</sup>.

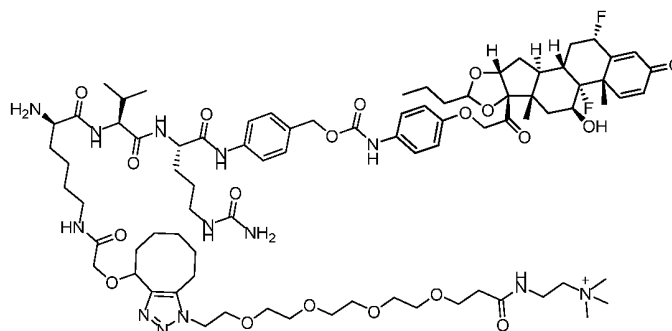
[0492] (2-{1-[4-({[(5*R*)-5-амино-5-[[[(1*S*)-1-[[[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[[4-[[{2-[[[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2</sup>,<sup>9</sup>.0<sup>4</sup>,<sup>8</sup>.0<sup>13</sup>,<sup>18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамоил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]пентил]карбамоил]метокси)-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)этил)триметилазания хлорид (**7bb**)



[0493] По общей методике E из соединения **5b** (40 мг, 34 мкмоль) и соединения **6b** кроме перемешивания при 50 °C в течение ночи получали соединение **7bb** (40 мг, выход 76%, представляющее собой твердое вещество белого цвета после очистки методом препаративной ВЭЖХ (метод В). ЭРИ *m/z*: 770 [(*M* + 18)/2]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H

ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>) δ 10.13-8.87 (m, 2H), 8.58-8.21 (m, 2H), 8.09-7.85 (m, 2H), 7.82-7.64 (m, 3H), 7.63-7.55 (m, 1H), 7.49-7.37 (m, 1H), 7.34-7.16 (m, 3H), 6.34-6.21 (m, 1H), 6.15-5.99 (m, 2H), 5.78-5.42 (m, 3H), 5.01-4.83 (m, 3H), 4.81-4.69 (m, 2H), 4.63-4.47 (m, 2H), 4.45-4.34 (m, 2H), 4.27-4.07 (m, 3H), 4.04-3.96 (m, 1H), 3.91-3.70 (m, 6H), 3.60 (t, *J* = 6.2 Гц, 2H), 3.53-3.40 (m, 14H), 3.15-3.01 (m, 11H), 3.00-2.88 (m, 3H), 2.83-2.73 (m, 1H), 2.68-2.56 (m, 1H), 2.38-2.19 (m, 4H), 2.13-1.93 (m, 4H), 1.87-1.74 (m, 2H), 1.71-1.64 (m, 2H), 1.62-1.18 (m, 22H), 1.14-1.02 (m, 1H), 0.97-0.70 (m, 12H) ppm.

**[0494] (2-{1-[4-({(5*R*)-5-амино-5-{{{(1*S*)-1-{{{(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[4-({(4-{2-{{(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил)-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]окси}метил)фенил]карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этил)триметилазания (7*cb*)**

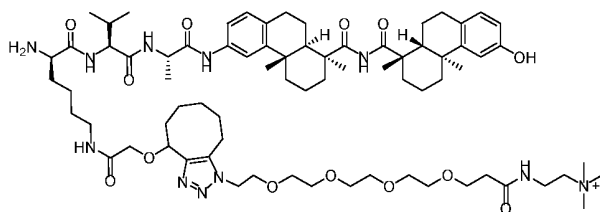


**[0495]** По общей методике из соединения **6b** (44 мг, 35 мкмоль), которое перемешивали при КТ в течение 24 часов, получали соединение **7cb** (44 мг, выход 77%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе ТФУ (0,03%). ЭРИ *m/z*: 816.0 (*m*/2 + *H*)<sup>+</sup>; 544.5 (*M*/3 + *H*)<sup>+</sup>.

**[0496] 1-(4-(2-(((*R*)-5-амино-6-(((*S*)-1-(((*S*)-1-(((4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-(((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)карбамоил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-6-оксогексил)амино)-2-оксоэтокси)-4,5,6,7,8,9-hexahydro-1*H*-**



циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил)-*N,N,N*-триметил-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азаоктадекан-18-аминий (**7fb**)



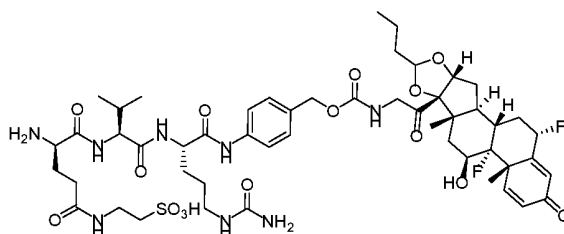
[0497] По общей методике из соединения **6b** (50 мг, 50 мкмоль), которое перемешивали при КТ в течение 24 часов, получали соединение **7fb** (50 мг, выход 73%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-30% ацетонитрил в водном растворе ТФУ (0,03%)). ЭРИ  $m/z$ : 684 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>.

#### ПРИМЕР 14

Получение промежуточных продуктов **7h**, **7l** (см. Фиг. 15)

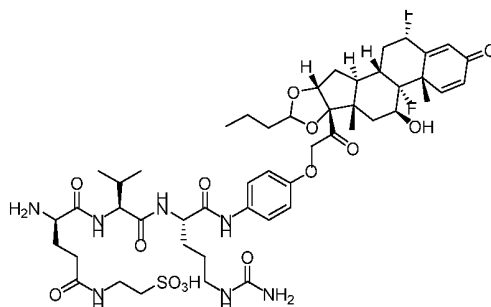
[0498] **Общая методика F**: К раствору соединения **4b** (1.2 экв.) в ДМФ (40 мл на грамм соединения **3**) последовательно, при КТ, добавляли EDCI (1.5 экв.), HOBT (2.0 экв.), соединение **3** (**3b** или **3e**, 1.0 экв.) и триэтиламин (3.0 экв.). Полученную смесь перемешивали при КТ в течение ночи. ЖХ-МС показала, что соединение **4b** полностью израсходовано (соединение **3** не было израсходовано). В реакционную смесь добавляли диэтиламин (6 мл на грамм соединения **3**, с избытком). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 часов до подтвержденного данными ЖХ-МС удаления Fmoc. Реакционную смесь сразу очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ)), получая соединение **7** (**7h** или **7l**, выход 25-26%), представляющее собой твердое вещество белого цвета, при возможности извлечения непрорегировавшего соединения **3**.

2-[(4*R*)-4-амино-4-[[[(1*S*)-1-[[[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[[4-[[[[(2-[[[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамоил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]бутанамидо]этан-1-сульфоная кислота (**7h**)



[0499] По общей методике F из соединения **3b** (50 мг, 57 мкмоль) и соединения **4b** получали соединение **7h** (17 мг, выход 26%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрила в воде, 17 мг соединения **3b** было восстановлено (выход восстановленного **3b** - 34%)). ЭРИ  $m/z$ : 1107 ( $M + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10,07 (s, 1H), 8,31 (d,  $J = 7.0$  Гц, 2H), 7,81 (t,  $J = 5.5$  Гц, 1H), 7,61-7,60 (m, 2H), 7,45-7,42 (m, 1H), 7,30-7,27 (m, 3H), 6,30 (d,  $J = 10$  Гц, 1H), 6,11-6,03 (m, 2H), 5,86-5,82 (m, 1H), 5,70-5,57 (m, 2H), 5,46 (s, 2H), 4,97 (s, 2H), 4,78-4,76 (m, 1H), 4,59 (t,  $J = 4.5$  Гц, 1H), 4,41-4,12 (m, 4H), 3,86-3,80 (m, 1H), 3,64-3,58 (m, 1H), 3,21-3,16 (m, 1H), 3,01-2,90 (m, 6H), 2,56 (t,  $J = 7.5$  Гц, 2H), 2,35-2,32 (m, 2H), 2,17-2,14 (m, 2H), 2,09-1,28 (m, 18H), 1,17-1,14 (m, 1H), 0,97 (t,  $J = 6.5$  Гц, 2H), 0,89-0,84 (m, 10H) ppm.

**2-[(4R)-4-Амино-4-[[[(1S)-1-[[[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]бутанамидо]этан-1-сульфоная кислота (7I)**



[0500] По общей методике F из соединения **3e** (80 мг, 98 мкмоль) и соединения **4b** было получено соединение **7I** (26 мг, выход 25%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрила в воде). ЭРИ  $m/z$ : 525.8 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>.

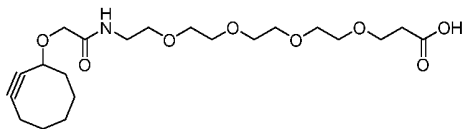
**Получение промежуточного продукта 7ah** (см. Фиг. 15A)



## ПРИМЕР 14А

[0503] Получение промежуточного продукта **8с** (см. Фиг. 15В)

[0504] 1-[2-(Циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиамидо]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оевая кислота (**8с**)



[0505] К смеси соединения **36** (0.50 г, 1.8 ммоль) и соединения **37** (0.65 г, 1.8 ммоль) в ДМФ (3 мл) добавляли DIPEA (1.2 г, 9.0 ммоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ в течени 30 минут. Реакционную смесь сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод А), получая ОКТ-PEG4-кислоту (**8с**) (0.70 г, выход 91%), представляющую собой светло-желтое масло. ЭРИ m/z: 430 (M + H)<sup>+</sup>.

[0506] Соединения **8d** и **8e** были получены при использовании методов, сходных со способом получения **8с**, при использовании подходящих исходных материалов, известных специалистов в данной области техники.

## ПРИМЕР 15

Получение соединения **1a** (см. Фиг. 16)

[0507] К раствору соединения DIBAC-suc-PEG<sub>4</sub>-acid **8a** (1.2-1.3 экв.) в ДМФ (1 мл на 10 мг of **8a**) добавляли HATU (1.3 экв.) и DIPEA (5.0 экв.) при КТ. Смесь перемешивали при КТ получение с последующим добавлением раствора соединения **7a** (1.0 экв.) в ДМФ (0.6 мг на 10 мг соединения **7a**). Полученную смесь перемешивали при КТ до тех пор, пока соединение **7** не было израсходовано, для контроля над процессом использовали ЖХ-МС. После фильтрования, фильтрат сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ получая соединение **1a**.

[0508] Общая методика Г (получение из соединений **8a**, **8с** или **8d**): К раствору кислоты **8** (**8a**, **8с** или **8d**, 1.2-1.3 экв.) в ДМФ (1 мл на 10 мг соединения **8**) добавляли HATU (1.3 экв.) и DIPEA (5.0 экв.) при КТ. Смесь перемешивали при КТ в течение получаса с последующим добавлением раствора соединения **7** (1.0 экв.) в ДМФ (0.6 мг на 10 мг соединения of **7**). Полученную смесь перемешивали при КТ до тех пор, пока соединение **7** не было израсходовано, для контроля над процессом использовали ЖХ-МС. После фильтрования, фильтрат сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ, получая соединения линкер-полезная нагрузка **1**, и II-V.

## ПРИМЕР 16

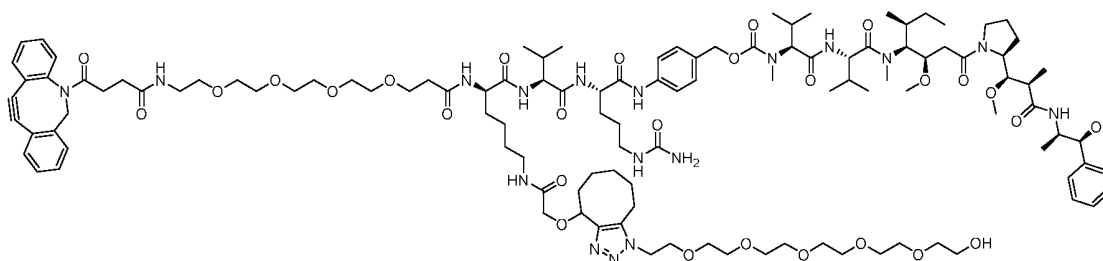
Получение соединений **1a**, **1c**, **1e**, **1f**, **1h**, **1i**, **1j**, **1k**, **1l**, **1m**, **1q** (см. Фиг. 17)

[0509] **Общая методика Н** (получение из соединений **8b** или **8e**): К раствору соединения **7** (1.0 экв.) в ДМФ (1 мл на 50 мг) добавляли соединение DIBAC-PEG<sub>4</sub>-NHS **8b** (1.1-1.2 экв.) и DIPEA (5.0 экв.) при КТ. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 3 часов. Реакционную смесь сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ, получая соединение **1**.

## ПРИМЕР 17

Получение соединения **1a** (см. Фиг. 17)

**{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-6-(2-{[1-(17-гидрокси-3,6,9,12,15-пентаоксагептадекан-1-ил)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил]окси}ацетамидо)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо] фенил}метил N-[(1S)-1-[(1S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-[(1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил]-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил](метил)карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]-2-метилпропил]-N-метилкарбамат (1a)**



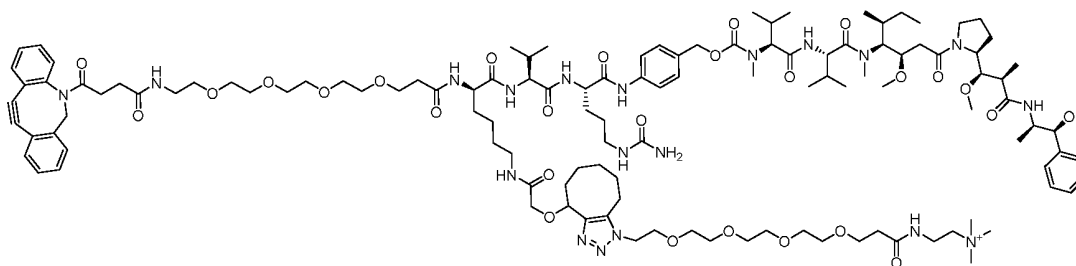
[0510] По общей методике G из соединения **7a** (25 мг, 15 мкмоль) и соединения **8a** (10 мг, 18 мкмоль), получали соединение линкер-полезная нагрузка **1a** (24 мг, выход 73%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ: 753 (M/3 + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.74-7.69 (m, 2H), 7.67-7.64 (m, 1H), 7.63-7.59 (m, 1H), 7.53-7.45 (m, 3H), 7.42-7.29 (m, 9H), 7.25-7.20 (m, 1H), 5.22-5.05 (m, 3H), 4.70-4.49 (m, 4H), 4.47-4.43 (m, 1H), 4.33-4.29 (m, 1H), 4.27-4.16 (m, 4H), 4.00-3.95 (m, 2H), 3.92-3.87 (m, 2H), 3.77-3.69 (m, 2H), 3.68-3.63 (m, 10H), 3.61-3.52 (m, 21H), 3.49-3.41 (m, 5H), 3.38-3.36 (m, 4H), 3.30-3.27 (m, 3H), 3.27-3.22 (m, 3H), 3.20-3.14 (m, 2H), 3.12 (s, 1H), 3.10-3.03 (m, 1H), 2.99-2.86 (m, 4H), 2.82-2.68 (m, 2H),

2.56-2.12 (m, 10H), 2.11-1.97 (m, 5H), 1.91-1.79 (m, 5H), 1.76-1.53 (m, 10H), 1.48-1.37 (m, 3H), 1.34-1.26 (m, 1H), 1.21-1.12 (m, 14H), 1.06-0.93 (m, 14H), 0.92-0.81 (m, 10H) ppm.

### ПРИМЕР 17А

Получение соединения **Ib** (см. Фиг. 17)

[0511] (2-{1-[4-({[(5*R*)-5-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-{{[(1*S*)-1-{{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-{{4-{{[[[(1*S*)-1-{{[(1*S*)-1-{{[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-[(1*S*,2*R*)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил}-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил](метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил](метил)карбамоил}окси)метил]фенил]карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)этил)триметилазания (**Ib**)

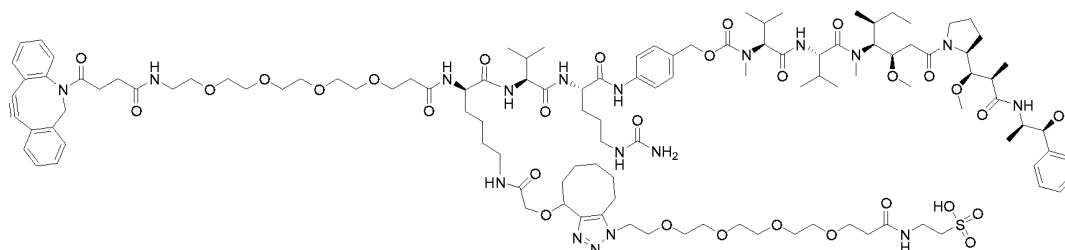


[0512] По общей методике G из соединения **7ab** (45 мг, 25 мкмоль) и соединения **8a** (16 мг, 29 мкмоль) получали соединение линкер-полезная нагрузка **Ib** (16 мг, выход 27%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ *m/z*: 766 [(*M*+*H*)/3]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): δ 9.78 (s, 1H), 8.34-8.04 (m, 5H), 7.95-7.83 (m, 2H), 7.79-7.74 (m, 1H), 7.70-7.56 (m, 5H), 7.52-7.43 (m, 3H), 7.40-7.11 (m, 12H), 6.08 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.06-5.00 (m, 2H), 4.76-4.71 (m, 1H), 4.54-4.39 (m, 4H), 4.35-4.15 (m, 4H), 4.03-3.92 (m, 2H), 3.85-3.73 (m, 5H), 3.64-3.55 (m, 5H), 3.46-3.43 (m, 20H), 3.25-3.16 (m, 11H), 3.13-3.05 (m, 15H), 3.00-2.93 (m, 5H), 2.89-2.82 (m, 4H), 2.80-2.73 (m, 2H), 2.61-2.55 (m, 1H), 2.42-2.32 (m, 5H), 2.31-2.20 (m, 4H), 2.15-2.04 (m, 4H), 2.03-1.95 (m, 4H), 1.83-1.65 (m, 8H), 1.57-1.38 (m, 11H), 1.30-1.19 (m, 10H), 1.06-0.96 (m, 7H), 0.87-0.76 (m, 20H) ppm.

## ПРИМЕР 18

Получение соединения **1c** (см. Фиг. 17)

[0513] 2-{1-[4-({[(5*R*)-5-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-[[1*S*]-1-[[1*S*]-4-(карбамоиламино)-1-({4-[[[(1*S*)-1-[[1*S*]-1-[[3*R*,4*S*,5*S*]-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-[(1*S*,2*R*)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил}-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил](метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил](метил)карбамоил}окси)метил]фенил}карбамоил)бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)этан-1-сульфовая кислота (**1c**)



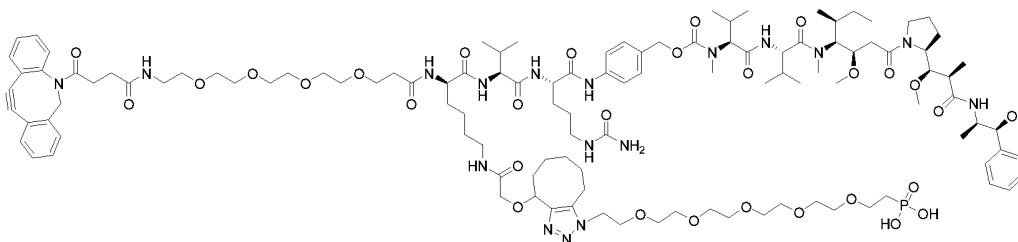
[0514] По общей методике Н из соединения **7c** (20 мг, 11 мкмоль) и соединения **8b** (7.1 мг, 11 мкмоль) получали соединение **1c** (5.0 мг, выход 19%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ *m/z*: 1174.7 (*M*/*z* + *H*)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (MeOD<sub>d4</sub>, 500МГц): δ 8.38-8.17 (m, 2H), 7.99-7.87 (m, 2H), 7.77-7.56 (m, 4H), 7.49-7.20 (m, 9H), 5.36 (t, *J* = 4.5 Гц, 1H), 5.21 -5.07 (m, 4H), 4.71-4.18 (m, 9H), 3.98-3.88 (m, 5H), 3.74-3.43 (m, 37H), 3.37-3.36 (m, 6H), 3.29-3.12 (m, 6H), 3.00-2.88 (m, 6H), 2.75 -2.33 (m, 5H), 2.32-1.78 (m, 17H), 1.64-1.34 (m, 15H), 1.20-1.13 (m, 6H), 1.03-0.76 (m, 30H) ppm.

## ПРИМЕР 18А

Получение соединения **1d** (Фиг. 17)

[0515] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-6-(2-{1-(14-[[1*S*]-1-[[1*S*]-4-(карбамоиламино)-1-({4-[[[(1*S*)-1-[[1*S*]-1-[[3*R*,4*S*,5*S*]-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-[(1*S*,2*R*)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил}-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-

метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил](метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил](метил)карбамоил}окси)метил]фенил}карбамоил)бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-3,6,9,12-тетраоксатетрадекан-1-ил)-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил]окси)ацетамидо)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-[(1*S*,2*R*)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил}-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил](метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил]-*N*-метилкарбамат (**Id**)



[0516] По общей методике G из соединения **7ad** (12 мг, 6.7 мкмоль) и соединения **8a** (4.4 мг, 8.0 мкмоль) получали соединение линкер-полезная нагрузка **Id** (3.0 мг, выход 19%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ *m/z*: 774.7 (*M/z* + *H*)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (MeOD<sub>d4</sub>, 500МГц): δ 8.00-7.90 (m, 1H), 7.94-7.61 (m, 4H), 7.49-7.47(m, 3H), 7.41-7.14 (m, 9H), 5.37-5.03 (m, 5H), 4.70-4.44 (m, 6H), 4.34-3.90 (m, 7H), 3.77-3.42 (m, 38H), 3.37-3.35 (m, 4H), 3.29 (s, 3H), 3.27-3.01 (m, 9H), 2.97-2.87 (m, 6H), 2.75-2.59 (m, 2H), 2.53-2.16 (m, 9H), 2.06-1.81 (m, 12H), 1.64-1.32 (m, 19H), 1.20-1.13 (m, 6H), 1.03-0.79 (m, 21H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: 95%, время удерживания: 5.56 и 6.64 мин (метод B).

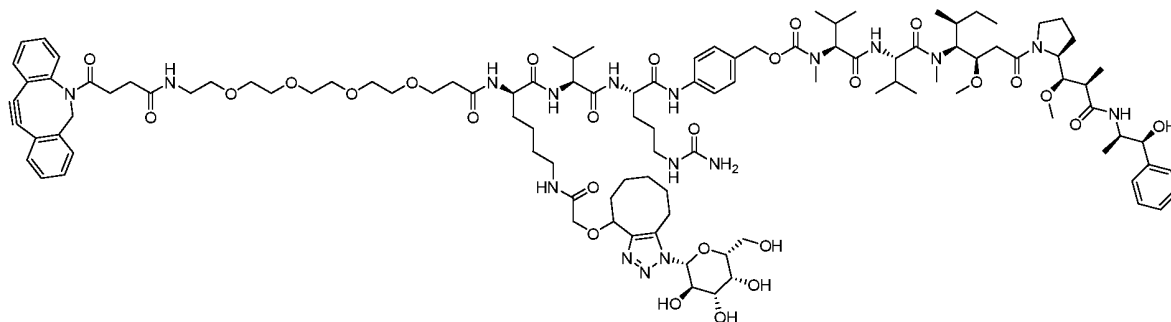
### ПРИМЕР 18В

Получение соединения **le-1** (Фиг. 17)

[0517] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-6-[2-{1-[(2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,6*R*)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксан-2-ил]-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил]окси)ацетамидо]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-



**[(2S)-2-[(1R,2R)-2-[[[(1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил]-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил](метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил]-N-метилкарбамат (Ie-1) (с изомерами триазола)**



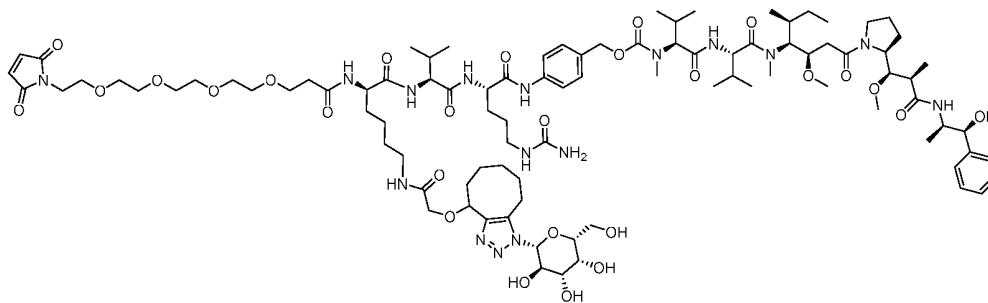
[0518] По общей методике Н из соединения **7ae** (реакционный раствор) и соединения **8b** получали соединение **Ie-1** с триазоловыми изомерами (соотношение которых, определенное методом ВЭЖХ, составляло 3/2) (13 мг, выход из **5a** -30%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после очистки методом препаративной ВЭЖХ (метод В). ЭРИ  $m/z$ : 1078 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup> (100%), 2156.9 ( $M + H$ )<sup>+</sup> (10%). <sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО-*d*<sub>6</sub>, 500 МГц):  $\delta$  9.69 (m, 1H), 8.08-8.30 (m, 4H), 7.84-7.89 (m, 1H), 7.61-7.75 (m, 6H), 7.45-7.49 (m, 2H), 7.16-7.37 (m, 10H), 5.96 (m, 1H), 5.34-5.51 (m, 4H), 4.97-5.16 (m, 5H), 4.62-4.75 (m, 4H), 3.92-4.49(m, 9H), 3.77-3.80 (m, 3H), 3.40-3.72 (m, 18H), 3.24 (s, 3H), 3.23 (s, 2H), 3.18-3.20 (m, 4H), 2.88-3.17 (m, 17H), 2.54-2.83 (m, 2H), 2.35-2.42 (m, 2H), 2.22-2.29 (m, 3H), 1.96-2.15 (m, 7H), 1.72-1.82 (m, 5H), 1.28-1.65 (m, 16H), 0.87-1.05 (m, 6H), 0.75-0.87 (m, 27H). Аналитическая ВЭЖХ: изомер 1: 60.3%, время удерживания: 7.34 мин; изомер 2: 39.7%, время удерживания: 7.41 мин (метод В).

### ПРИМЕР 18С

Получение соединения **If-1** (Фиг. 17)

[0519] **{4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пуррол-1-ил)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-6-[2-({1-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксап-2-ил]-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил}окси)ацетамидо]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метил N-[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-[[[(1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил]-1-**

**метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил](метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил]-N-метилкарбамат (If-1)**



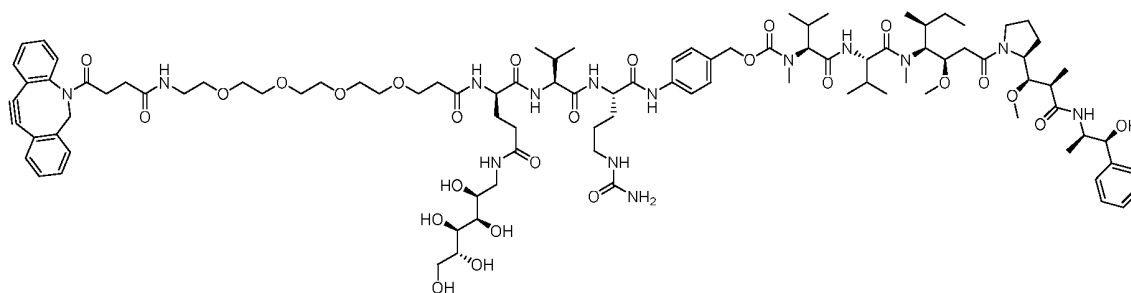
[0520] По общей методике Н из соединения **7ae** (реакционный раствор) и соединения **8e** получали соединение **If-1** с триазоловыми изомерами (соотношение которых, определенное методом ВЭЖХ, составляло 3/2) (1,5 мг, выход из **5a** -18%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после очистки методом препаративной ВЭЖХ (метод А). ЭРИ  $m/z$ : 974.7 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup> (100%), 1972 ( $M + Na$ )<sup>+</sup> (20%). <sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО-*d*<sub>6</sub>, 500 МГц): δ 9.69 (s, 1H), 8.19-7.97 (m, 4H), 7.92-7.83 (m, 1H), 7.66-7.54 (m, 3H), 7.36-7.23 (m, 6H), 7.22-7.12 (m, 2H), 7.01 (s, 2H), 6.87 (s, 2H), 6.68-6.59 (m, 2H), 6.03-5.93 (m, 1H), 5.47-5.26 (m, 5H), 5.20-5.11 (m, 1H), 5.07-4.95 (m, 2H), 4.80-4.58 (m, 3H), 4.53-4.38 (m, 2H), 4.36-4.12 (m, 5H), 4.04-3.94 (m, 2H), 3.84-3.76 (m, 3H), 3.68-3.37 (m, 21H), 3.26-3.17 (m, 7H), 3.13-2.96 (m, 7H), 2.90-2.81 (m, 3H), 2.44-2.34 (m, 2H), 2.31-2.21 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.15-1.94 (m, 9H), 1.77-1.74 (m, 2H), 1.69-1.59 (m, 4H), 1.56-1.42 (m, 9H), 1.32-1.27 (m, 2H), 1.06-0.96 (m, 6H), 0.90-0.72 (m, 26H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: изомер 1: 76.0%, время удерживания: 7.19 мин; изомер 2: 24.0%, время удерживания: 7.28 мин (метод А).

### ПРИМЕР 18D

Получение соединения **Ig** (Фиг. 18)

[0521] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-4-[(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил]карбамоил]бутанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил} метил *N*-[(1S)-1-[(1S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-[(1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил]-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-

**ил](метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил]-N-метилкарбамат (Ig)**



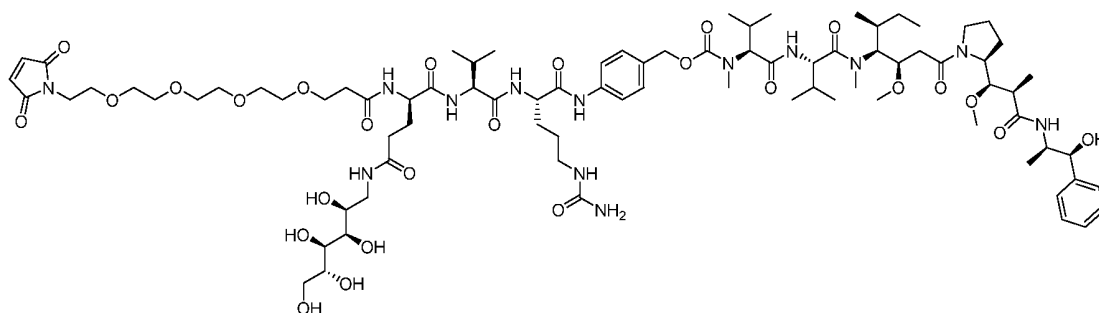
**[0522]** К смеси промежуточного продукта **7ah** (40 мг, 27 мкмоль) в дихлорметане (3 мл) добавляли ТФУ (0.25 мл) по каплям при 0 °С. Смесь перемешивали при КТ в течение часа, пока соединение **7ah** не было израсходовано. Удаление защиты было подтверждено данными ЖХ-МС. Летучие вещества удаляли под вакуумом и остаток (ЭРИ  $m/z$ : 708 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>) растворяли в ДМФ (2 мл). В раствор добавляли промежуточный продукт **8b** (17 мг, 27 мкмоль) и триэтиламин (8.2 мг, 81 мкмоль). Смесь перемешивали при КТ в течение ночи. Реакционную смесь сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод В), получая из **7ah** в 2 стадии соединение **Ig** (8.0 мг, выход 15%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 650.8 ( $M/3 + H$ )<sup>+</sup> (100%), 975 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup> (40%). <sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО-*d*<sub>6</sub>, 500 МГц): δ 9.75 (s, 1H), 8.31-8.06 (m, 5H), 7.91-7.88 (m, 1H), 7.75-7.74 (m, 2H), 7.68-7.61 (m, 5H), 7.50-7.46 (m, 3H), 7.39-7.24 (m, 11H), 7.17-7.15 (m, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.41-5.34 (m, 3H), 5.04-5.01 (m, 2H), 4.77-4.75 (m, 1H), 4.48-4.18 (m, 11H), 4.05-3.95 (m, 3H), 3.62-3.55 (m, 7H), 3.47-3.17 (m, 14H), 3.12-2.97 (m, 10H), 2.88-2.83 (m, 3H), 2.60-2.54 (m, 1H), 2.53-2.51 (m, 2H), 2.42-2.36 (m, 2H), 2.29-2.21 (m, 3H), 2.17-1.99 (m, 8H), 1.79-1.71 (m, 7H), 1.54-1.44 (m, 3H), 1.36-1.28 (m, 2H), 1.05-0.97 (m, 8H), 0.88-0.75 (m, 28H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: 96.9%, время удерживания: 7.58 мин (метод В).

**ПРИМЕР 18E**

**Получение соединения Ih-1 (Фиг. 18)**

**[0523]** {4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-4-[[2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил]карбамоил]бутанамидо]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метил N-[(1S)-1-[[1S)-1-[[3R,4S,5S)-1-[[2S)-2-[(1R,2R)-2-[(1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил]карбамоил]-1-метокси-2-метилэтил]пирролидин-1-ил]-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-

**ил](метил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-2-метилпропил]-N-метилкарбамат (Ih-1)**



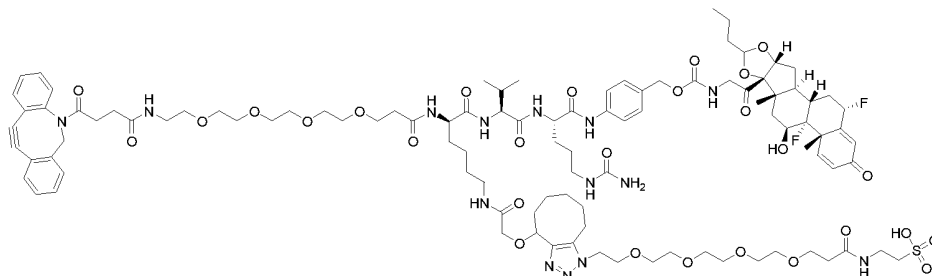
[0524] К раствору промежуточного продукта **7ah** (10 мг, 6.7 мкмоль) в ДМФ (1 мл) добавляли промежуточный продукт **8e** (5.9 мг, 13 мкмоль) и DIPEA (1.7 мг, 13 мкмоль). Смесь перемешивали при КТ в течение 24 часов, пока анализ методом ЖХ-МС не подтверждал, что большая часть соединения **10a** израсходована. Реакционную смесь фильтровали через мембрану, и фильтрат очищали методом препаративной ВЭЖХ (Метод А) (ЭРИ  $m/z$ : 912 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>). Остаток после лиофилизации растворяли в ацетонитриле (2 мл), и в раствор добавляли хлорид меди (II), дигидрат (19 мг, 0.12 ммоль). Смесь перемешивали при КТ в течение 2 суток. При детекции желаемой массы методом ЖХ-МС было показано, что основным продуктом является соединение **Ih**. После фильтрования, которое проводилось для удаления неорганических солей, раствор сразу очищали методом препаративной ВЭЖХ (Метод А), получая из **7ah** в 2 стадии соединение **Ih-1** (2.0 мг, выход 17%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 1742.7 ( $M + H$ )<sup>+</sup>, 1764.8 ( $M + Na$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО-*d*<sub>6</sub>, 500 МГц):  $\delta$  9.75 (s, 1H), 8.42-7.84 (m, 5H), 7.79-7.70 (m, 1H), 7.68-7.52 (m, 3H), 7.44-7.11 (m, 8H), 7.02 (s, 2H), 6.04-5.93 (m, 1H), 5.45-5.31 (m, 3H), 5.15-4.57 (m, 5H), 4.53-3.91 (m, 14H), 3.84-3.74 (m, 1H), 3.63-3.53 (m, 8H), 3.52-3.09 (m, 9H), 3.04-2.92 (m, 4H), 2.90-2.82 (m, 3H), 2.42-2.36 (m, 2H), 2.32-2.21 (m, 2H), 2.19-1.92 (m, 8H), 1.90-1.15 (m, 23H), 1.06-0.97 (m, 6H), 0.90-0.71 (m, 26H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: 99.4%, время удерживания: 6.09 мин (метод А).

**ПРИМЕР 19**

**Получение соединения 1e** (см. Фиг. 17)

**2-{1-[4-{{{(5R)-5-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-{{{(1S)-1-{{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[[4-{{{2-**

**[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамоил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]этан-1-сульфоная кислота (1e)**



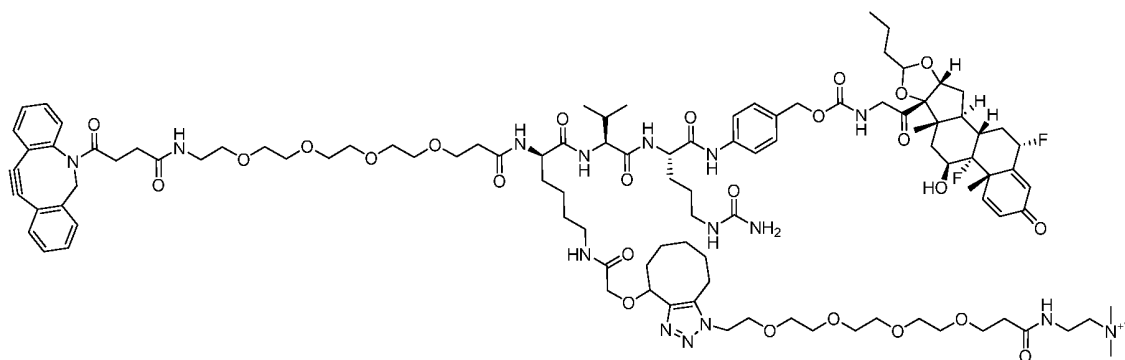
**[0525]** По общей методике Н из соединения **7e** (47 мг, 30 мкмоль) и соединения **8b** получали соединение **1e** (28 мг, выход 45% выход), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 1049 (M/2 + H)<sup>+</sup>. 1H ЯМР (500 МГц, MeODd<sub>4</sub>) δ 7.75-7.57 (m, 4H), 7.48-7.43 (m, 3H), 7.38-7.23 (m, 6H), 6.37-6.28 (m, 2H), 5.65-5.43 (m, 1H), 5.17-5.03 (m, 3H), 4.69-4.59 (m, 2H), 4.52-4.47 (m, 1H), 4.45-4.41 (m, 1H), 4.34-4.25(m, 2H), 4.23-4.13 (m, 2H), 4.07-3.86 (m, 5H), 3.77-3.68 (m, 4H), 3.64-3.54 (m, 22H), 3.52-3.47 (s, 3H), 3.46-3.40 (m, 4H), 3.29-3.21 (m, 4H), 3.20-3.14 (m, 2H), 3.10-3.01 (m, 1H), 3.00-2.95 (m, 2H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.76-2.60 (m, 2H), 2.47-2.42 (m, 2H), 2.40-2.25 (m, 5H), 2.23-2.13 (m, 3H), 2.07-1.97 (m, 3H), 1.90-1.79 (m, 4H), 1.71-1.55 (m, 14H), 1.52-1.42 (m, 3H), 1.40-1.29 (m, 8H), 1.07-0.85 (m, 12H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: 98%, время удерживания: 5.88 мин (метод В).

### ПРИМЕР 19А

**Получение соединения IIb** (Фиг. 17)

**[0526]** (2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-[(1S)-1-[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамоил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-

**циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этил)триметилазания хлорид (IIb)**



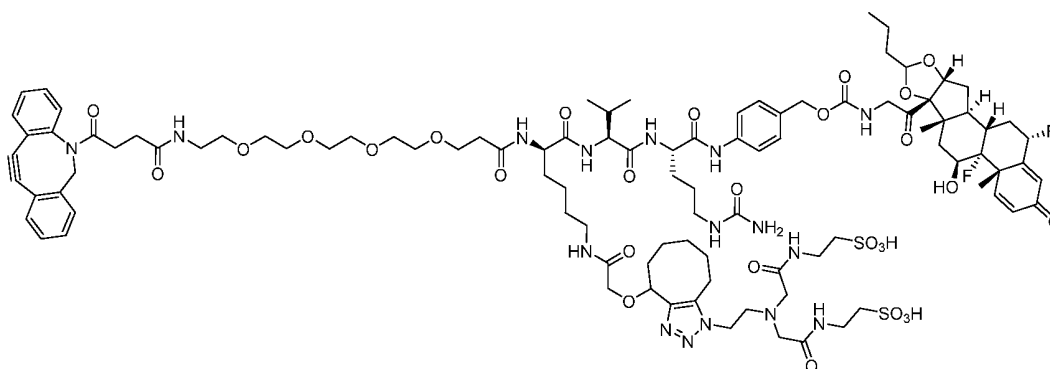
**[0527]** По общей методике G из соединения **7bb** (35 мг, 23 мкмоль) и соединеия **8a** был получено соединение **IIb** (25 мг, 52% выход), представляющее собой твердое вещество белого цвета после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ) и затем 100% метанол). ЭРИ m/z: 1037 [(M + 18)/2]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 9.82-9.74 (m, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.21-8.08 (m, 2H), 7.92-7.82 (m, 1H), 7.76 (t, J = 5.5 Гц, 1H), 7.69-7.58 (m, 3H), 7.53-7.18 (m, 9H), 6.34-6.26 (m, 1H), 6.15-6.03 (m, 2H), 5.71-5.53 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.31 (t, J = 12.4, 7.8 Гц, 1H), 5.10-4.90 (m, 3H), 4.79-4.72 (m, 1H), 4.58 (t, J = 4.2 Гц, 1H), 4.52 (t, 1H), 4.44-4.28 (m, 3H), 4.25-4.11 (m, 3H), 3.88-3.74 (m, 4H), 3.64-3.55 (m, 3H), 3.49-3.42 (m, 20H), 3.13-3.02 (m, 12H), 3.00-2.91 (m, 3H), 2.81-2.73 (m, 1H), 2.61-2.54 (m, 1H), 2.41-2.32 (m, 3H), 2.29-2.19 (m, 3H), 2.12-1.93 (m, 7H), 1.83-1.73 (m, 3H), 1.70-1.62 (m, 3H), 1.60-1.31 (m, 20H), 1.31-1.19 (m, 17H), 1.15-1.04 (m, 3H), 0.89-0.79 (m, 12H) ppm.

**ПРИМЕР 20**

**Получение соединения 1f** (см. Фиг. 17)

**2-[2-{{2-[4-{{{(5R)-5-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-{{{(1S)-1-{{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[[4-{{{2-[[1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамоил)окси}метил}фенил)карбамоил}бутил}карбамоил}-2-метилпропил}карбамоил}пентил}карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил}этил}}{(2-**

**сульфоэтил)карбамоил]метил})амино)ацетамидо]этан-1-сульфоная кислота (1f)**

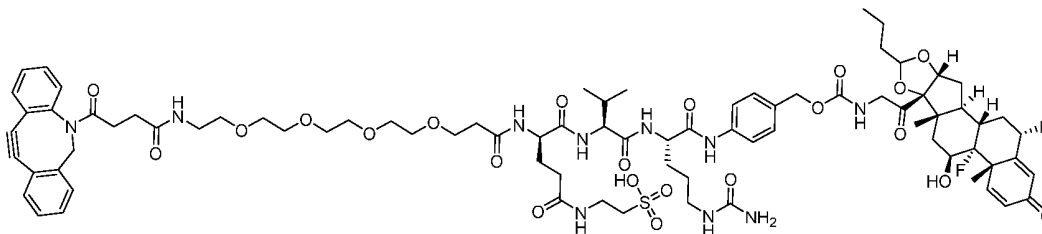


[0528] По общей методике Н из соединения **7f** (60 мг, 38 мкмоль) и соединения **8b** было получено соединение **1f** (25 мг, выход 31%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 1058 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.62-9.58 (m, 1H), 8.25-8.00 (m, 6H), 7.90-7.80 (m, 1H), 7.77 (t,  $J = 5.5$  Гц, 1H), 7.70-7.60 (m, 4H), 7.55-7.25 (m, 12H), 6.30 (d,  $J = 10.5$  Гц, 1H), 6.10 (s, 1H), 6.05-5.95 (m, 1H), 5.70-5.55 (m, 2H), 5.40 (s, 2H), 5.10-4.90 (m, 4H), 4.80-4.70 (m, 1H), 4.59 (t,  $J = 4.0$  Гц, 1H), 4.50-4.35 (m, 2H), 4.35-4.25 (m, 2H), 4.25-4.10 (m, 3H), 3.90-3.75 (m, 3H), 3.65-3.50 (m, 5H), 3.50-3.40 (m, 16H), 3.20-3.05 (m, 12H), 3.00-2.80 (m, 6H), 2.65-2.55 (m, 6H), 2.40-2.35 (m, 1H), 2.30-2.20 (m, 5H), 2.10-1.95 (m, 5H), 1.85-1.70 (m, 4H), 1.65-1.30 (m, 18H), 0.90-0.80 (m, 12H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: 97%, время удерживания: 6.82 мин (метод В).

**ПРИМЕР 21**

Получение соединения **1h** (см. Фиг. 17)

[0529] 2-[(4*R*)-4-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,<sup>0</sup><sub>4,9</sub>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил)-4-оксобутанамидо]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-4-[[[(1*S*)-1-[[[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[[4-[[[2-[[[1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,<sup>0</sup><sub>2,9</sub>.<sup>0</sup><sub>4,8</sub>.<sup>0</sup><sub>13,18</sub>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил)карбамоил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]бутанамидо]этан-1-сульфоная кислота (**1h**)



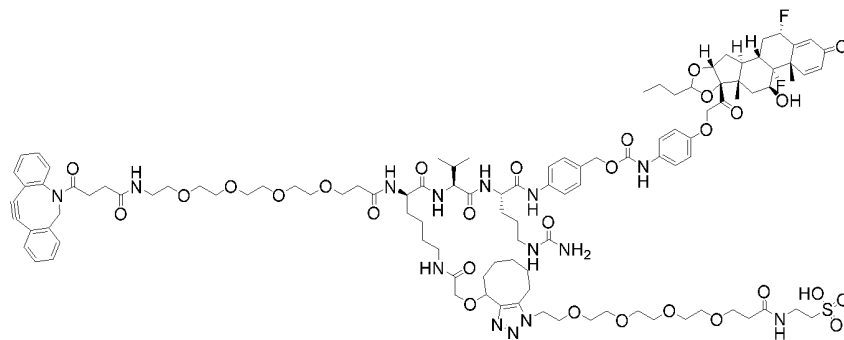
[0530] По общей методике Н из соединения **7h** (20 мг, 18 мкмоль) и соединения **8b** было получено соединение **1h** (11 мг, выход 37%), представляющее собой твердое вещество белого цвета после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой 0-100% ацетонитрил в водном растворе бикарбоната аммония (10 мМ). ЭРИ  $m/z$ : 821.3 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.70 (s, 1H), 8.22 (d,  $J = 7.0$  Гц, 1H), 8.10 (d,  $J = 7.0$  Гц, 2H), 7.95-7.61 (m, 7H), 7.51-7.26 (m, 11H), 6.30 (d,  $J = 10$  Гц, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.01-5.99 (m, 1H), 5.69-5.57 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.22-4.92 (m, 4H), 4.78-4.58 (m, 1H), 4.35-4.13 (m, 5H), 3.86-3.80 (m, 1H), 3.62-3.40 (m, 14H), 3.30-3.28 (m, 4H), 3.10-2.73 (m, 5H), 2.63-2.53 (m, 2H), 2.41-2.20 (m, 3H), 2.09-1.57 (m, 13H), 1.48-1.12 (m, 15H), 0.90-0.84 (m, 10H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: 96%, время удерживания: 7.28 мин (метод В).

## ПРИМЕР 22

Получение соединения **1i** (см. Фиг. 17)

**2-(1-{4-[[{5-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-[[{(1S)-1-[[{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-{4-[[{4-{2-[[{(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]окси}метил)фенил]карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил)метокси]-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил}-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)этан-1-сульфоная кислота (**1i**)**



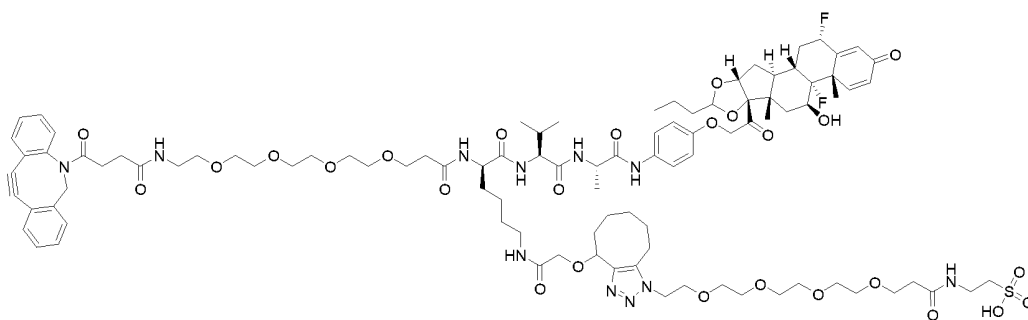


[0531] По общей методике Н из соединения **7i** (46 мг, 28 мкмоль) и соединения **8b** получали соединение **1i** (28 мг, выход 46%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 1095.0 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.42-7.23 (m, 15H), 6.87-6.83 (m, 2H), 6.36-6.31 (m, 2H), 5.64-5.47 (m, 1H), 5.29-5.05 (m, 5H), 4.94-4.90 (m, 1H), 4.84-4.59 (m, 2H), 4.49-4.41 (m, 2H), 4.34-4.26 (m, 2H), 4.16-4.13 (m, 1H), 4.02-3.86 (m, 4H), 3.72-3.68 (m, 3H), 3.66-3.34 (m, 31H), 3.24-3.14 (m, 5H), 3.08-2.83 (m, 4H), 2.73-2.60 (m, 2H), 2.46-2.36 (m, 9H), 2.12-1.19 (m, 32H), 1.05-0.90 (m, 12H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: 100%, время удерживания: 7.62 мин (метод В).

### ПРИМЕР 23

Получение **1j** (см. Фиг. 17)

[0532] 2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-{{(1S)-1-{{(1S)-1-[(4-{2-[[1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил}-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил)карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоная кислота (**1j**)

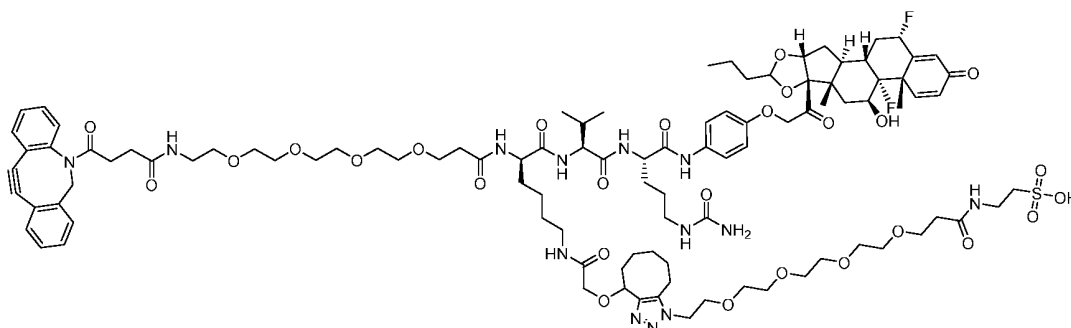


[0533] По общей методике Н из соединения **7j** (66 мг, 47 мкмоль) и соединения **8b** получали соединение **1j** (40 мг, выход 44%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 977.5 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.66-7.55 (m, 4H), 7.48-7.24 (m, 7H), 6.90-6.85 (m, 2H), 6.35 (d,  $J = 10,0$  Гц, 1H), 6.32 (s, 1H), 5.64-5.47 (m, 1H), 5.28-5.07 (m, 3H), 4.85-4.60 (m, 3H), 4.50-4.44 (m, 2H), 4.34-4.25 (m, 2H), 4.12-3.88 (m, 5H), 3.73-3.49 (m, 29H), 3.45-3.39 (m, 3H), 3.25-3.20 (m, 3H), 3.14-2.86 (m, 5H), 2.74-2.63 (m, 2H), 2.46-1.27 (m, 41H), 1.05-0.92 (m, 12H) ppm. Аналитическая ВЭЖХ: 95%, время удерживания: 7.55 мин (метод В).

#### ПРИМЕР 24

Получение соединения **1k** (см. Фиг. 17)

**2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-([(1S)-1-([(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]бутил)карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоновая кислота (1k)**



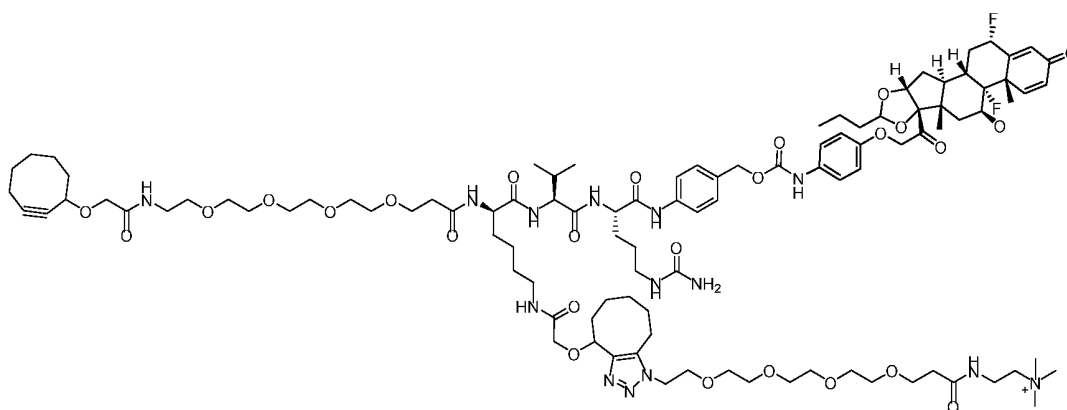
[0534] По общей методике Н из соединения **7k** (50 мг, 33 мкмоль) и соединения **8b** получали соединение **1k** (30 мг, выход 44%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 680 ( $M/3 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>) δ 9.51 (s, 1H), 8.30-7.97 (m, 3H), 7.92-7.84 (m, 1H), 7.80-7.73 (m, 2H), 7.68 (d,  $J = 7.5$  Гц, 1H), 7.62 (d,  $J = 7.9$  Гц, 1H), 7.50-7.45 (m, 4H), 7.38-7.26 (m, 4H), 7.08 (br s, 3H), 6.90-6.78 (m, 2H), 6.30 (d,  $J = 10.5$  Гц, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.01-5.94 (m, 1H), 5.72-5.55 (m, 1H), 5.52 (s, 1H), 5.39 (s, 2H), 5.12 (d,  $J = 18.5$  Гц, 1H), 5.03 (d,  $J = 14.5$  Гц, 1H), 4.84 (d,  $J = 18.5$  Гц, 1H), 4.80-4.71 (m, 2H), 4.55-4.49 (m, 1H), 4.42 (t,  $J = 5.5$  Гц, 1H),

4.38-4.12 (m, 4H), 3.81-3.76 (m, 4H), 3.62-3.53 (m, 4H), 3.46-3.39 (m, 21H), 3.33-3.25 (m, 4H), 3.09-2.93 (m, 7H), 2.81-2.78 (m, 1H), 2.64-2.52 (m, 8H), 2.40-2.36 (m, 2H), 2.27-2.20 (m, 5H), 2.09-1.98 (m, 5H), 1.61-1.35 (m, 29H), 0.89-0.83 (m, 11H) ppm.

#### ПРИМЕР 24А

Получение соединения **IIIId** (Фиг. 17)

[0535] (2-{1-[4-({[(5*R*)-5-{{[(1*S*)-1-{{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[4-({[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]окси}метил)фенил]карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-{1-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}пентил]карбамоил}метокси)-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этил)триметилазания (**IIIId**)

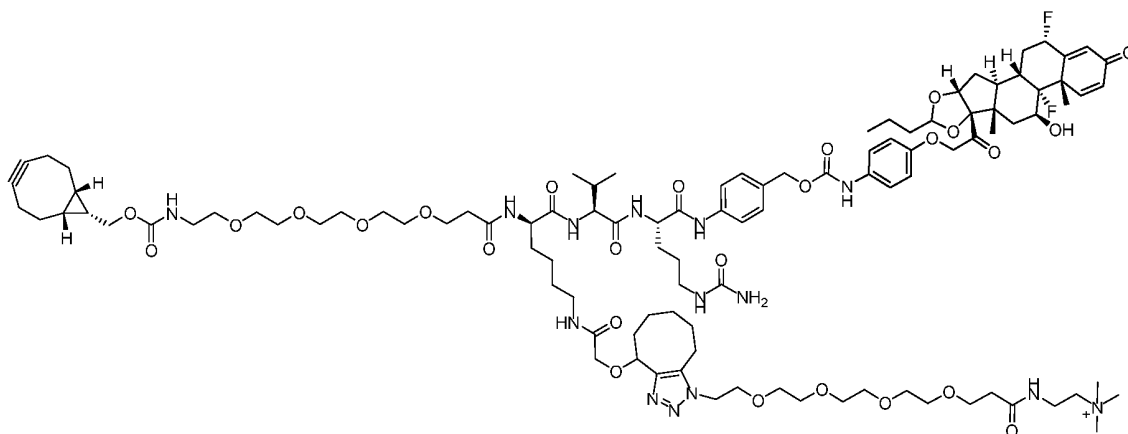


[0536] По общей методике **G** из соединения **7cb** (20 мг, 12 мкмоль) и соединения **8c** (5.2 мг, 12 мкмоль) получали соединение **IIIId** (8 мг, выход 32%), представляющее собой твердое вещество желтого цвета после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе ТФУ (0,01%)). ЭРИ *m/z*: 681.7 (*M*/3 + *H*)<sup>+</sup>; 1021.7 (*M*/2 + *H*)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>) δ 9.73-9.67 (m, 1H), 9.61-9.54 (m, 1H), 8.26-8.20 (m, 1H), 8.19-8.04 (m, 2H), 7.91-7.77 (m, 1H), 7.66-7.57 (m, 3H), 7.40-7.26 (m, 4H), 6.84-6.78 (m, 2H), 6.30 (d, *J* = 10 Гц, 1H), 6.12 (s, 1H), 6.01-5.99 (m, 1H), 5.72-5.42 (m, 4H), 5.24-5.06 (m, 3H), 4.91-4.73 (m, 3H), 4.55-4.16 (m, 7H), 3.89-3.73 (m, 5H), 3.58 (t, *J* = 10.4 Гц, 3H), 3.49-3.41 (m, 29H), 3.26-3.22 (m, 4H), 3.08 (s, 9H), 3.04-2.93 (m, 4H), 2.77-2.62 (m, 3H), 2.40-1.98 (m, 13H), 1.89-1.02 (m, 41H), 0.89-0.84 (m, 9H) ppm.

## ПРИМЕР 24В

Получение соединения **IIIe** (Фиг. 17)

[0537] (2-{1-[4-({[(5*R*)-5-[1-({[(1*R*,8*S*,9*S*)-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметокси]карбонил}амино)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-({[(1*S*)-1-({[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[4-({[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>.0<sup>4,8</sup>.0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]окси}метил)фенил]карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этил)триметилазания (**IIIe**)

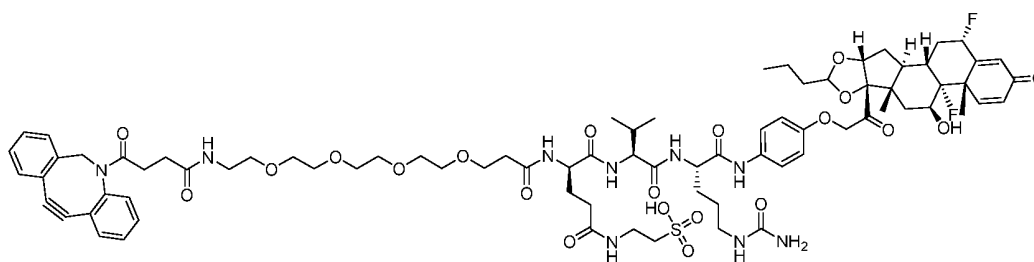


[0538] По общей методике G из соединения **7cb** (25 мг, 15 мкмоль) и соединения **8d** (6.8 мг, 15 мкмоль) получали соединение **IIIe** (4 мг, выход 13%), представляющее собой твердое вещество желтого цвета после очистки методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном растворе ТФУ (0,01%)). ЭРИ *m/z*: 685.6 (*M*/3 + *H*)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, MeOD<sub>*d*4</sub>) δ 7.77-7.71 (m, 2H), 7.40-7.34 (m, 5H), 6.90-6.86 (m, 2H), 6.38-6.33 (m, 2H), 5.66-5.47 (m, 1H), 5.38-5.24 (m, 1H), 5.14-5.02 (m, 2H), 4.76-4.58 (m, 4H), 4.52-4.27 (m, 6H), 4.19-4.11 (m, 3H), 3.99-3.86 (m, 4H), 3.75-3.42 (m, 37H), 3.30-3.27 (m, 3H), 3.17 (s, 9H), 3.16-3.00 (m, 2H), 3.0-2.84 (m, 1H), 2.72-2.46 (m, 4H), 2.38-2.04 (m, 15H), 1.83-1.31 (m, 27H), 1.06-0.90 (m, 13H) ppm.

## ПРИМЕР 25

Получение **1I** (см. Фиг. 17)

**2-[(4R)-4-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-4-[[1(1S)-1-[[1(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[4-{2-[[1(1S),2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диокаспентацикло[10.8.0,0<sup>2,9</sup>,0<sup>4,8</sup>,0<sup>13,18</sup>]икоза-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]бутанамидо]этан-1-сульфоная кислота (**1I**)**



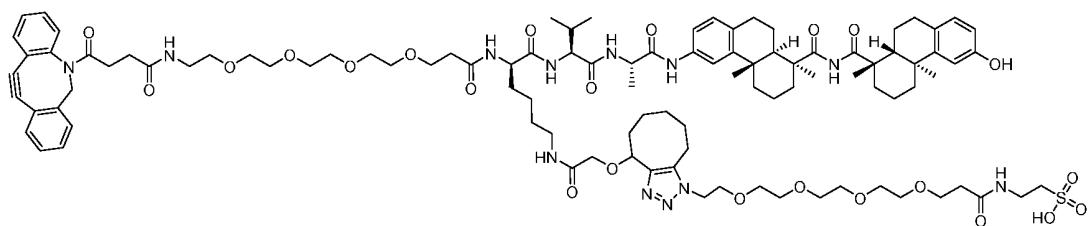
[0539] По общей методике Н из соединения **7I** (20 мг, 19 мкмоль) и соединения **8b** получали соединение **1I** (6.0 мг, выход 20%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 793 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>) δ 9.81-9.48 (m, 1H), 8.32-8.18 (m, 1H), 8.12-7.96 (m, 2H), 7.81-7.60 (m, 4H), 7.58-7.43 (m, 5H), 7.41-7.25 (m, 5H), 7.18-6.98 (m, 2H), 6.88-6.81 (m, 2H), 6.30 (d,  $J = 10.3$  Гц, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.02-5.95 (m, 1H), 5.71-5.52 (m, 2H), 5.40 (s, 2H), 5.15-5.00 (m, 2H), 4.86-4.74 (m, 2H), 4.34-4.13 (m, 4H), 3.63-3.54 (m, 2H), 3.48-3.42 (m, 9H), 3.30-3.28 (m, 2H), 3.12-3.05 (m, 2H), 3.01-2.92 (m, 2H), 2.62-2.56 (m, 1H), 2.42-2.37 (m, 1H), 2.29-2.20 (m, 3H), 2.12-1.95 (m, 7H), 1.86-1.70 (m, 5H), 1.64-1.56 (m, 4H), 1.52-1.22 (m, 14H), 0.92-0.81 (m, 14H) ppm.

## ПРИМЕР 26

Получение соединения **1m** (см. Фиг. 17)

**2-{1-[4-[[1(5R)-5-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-[[1(1S)-1-[[1(1S)-1-[[4bS,8S,8aR)-8-[[1(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо]карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил]этил]карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]пентил]карбамоил]метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-**

**циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоновая кислота (1m)**

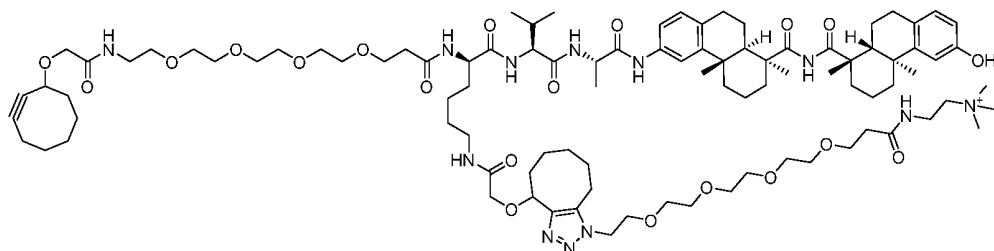


[0540] По общей методике Н из соединения **7m** (30 мг, 22 мкмоль) и соединения **8b** получали соединение **1m** (15 мг, выход 37%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ  $m/z$ : 642 ( $M/3 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>) δ 9.68-9.27 (m, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.23-7.85 (m, 4H), 7.79-7.71 (m, 2H), 7.76-7.42 (m, 6H), 7.39-7.28 (m, 3H), 7.21 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.96-6.93 (m, 2H), 6.81 (d,  $J = 8.4$  Гц, 1H), 6.63 (d,  $J = 2.4$  Гц, 1H), 6.50 (dd,  $J = 8.4$  Гц, 2.4 Гц, 1H), 5.02 (d,  $J = 14.0$  Гц, 1H), 4.93-4.72 (m, 1H), 4.53-4.09 (m, 5H), 3.82-3.75 (m, 4H), 3.62-3.53 (m, 3H), 3.51-3.38 (m, 23H), 3.30-3.27 (m, 6H), 3.12-2.67 (m, 10H), 2.61-2.54 (m, 4H), 2.39-1.52 (m, 31H), 1.45-1.08 (m, 18H), 1.01-0.98 (m, 6H), 0.90-0.82 (m, 6H) ppm.

**ПРИМЕР 26А**

**Получение соединения IVb** (Фиг. 17)

[0541] (2-{1-[4-({[(5*R*)-5-{{[(1*S*)-1-{{[(1*S*)-1-{{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-{1-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}пентил]карбамоил}метокси)-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этил)триметилазания (**IVb**)



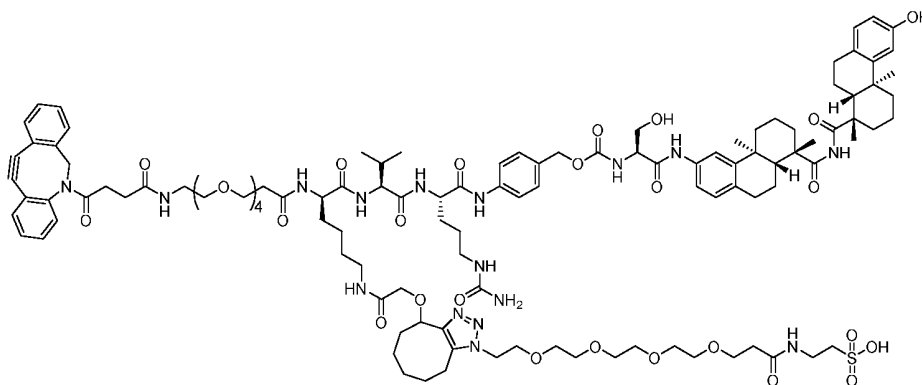
[0542] По общей методике G из соединения **7fb** (20 мг, 15 мкмоль) и соединения **8** получали соединение **IVb** (6 мг, выход 23%), представляющее собой твердое

вещество желтого цвета после очистки методом препаративной ВЭЖХ (метод А). ЭРИ  $m/z$ : 889.8 ( $M/2 + H$ )<sup>+</sup>, 593.5 ( $M/3 + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.30 (d,  $J = 8.5$  Гц, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.76 (d,  $J = 5.5$  Гц, 1H), 8.54-8.48 (m, 1H), 8.32-7.76 (m, 6H), 7.62-7.60 (m, 2H), 7.53-7.51 (m, 2H), 7.44 (d,  $J = 8.0$  Гц, 1H), 6.95 (d,  $J = 8.5$  Гц, 1H), 6.81 (d,  $J = 8.5$  Гц, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.50 (d,  $J = 8.0$  Гц, 1H), 5.33-4.71 (m, 2H), 4.55-4.05 (m, 7H), 3.88-3.74 (m, 6H), 3.61-3.58 (m, 4H), 3.50-3.42 (m, 44H), 3.26-3.24 (m, 4H), 3.08 (s, 9H), 2.84-2.65 (m, 3H), 2.44 (t,  $J = 6.5$  Гц, 2H), 2.35-1.26 (m, 35H), 1.16-1.13 (m, 2H), 1.02-0.98 (m, 6H), 0.89-0.84 (m, 6H) ppm.

### ПРИМЕР 27

Получение соединения **1q** (см. Фиг. 17)

**2-{1-[4-({[(5*R*)-5-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0,0<sup>4,9</sup>]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-({[(1*S*)-1-({[(1*S*)-1-{4-({[(1*S*)-1-({(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил)-2-гидроксиэтил]карбамоил)окси)метил]фенил]карбамоил)-4-(карбамоиламино)бутил]карбамоил)-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфовая кислота (**1q**)**



[0543] К раствору соединения **7q** (15 мг, 8.8 мкмоль) и коммерческого DIBAC-Suc-PEG<sub>4</sub>-OSu (5.7 мг, 8.8 мкмоль, CAS №1427004-19-0) в ДМФ (1 мл) добавляли DIPEA (2.3 мг, 18 мкмоль), и смесь перемешивали при КТ в течение 2 часов. Большую часть летучих вещества удаляли под вакуумом, и остаток очищали методом препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение **1q** (6.0 мг, выход

30%), представляющее собой твердое вещество белого цвета. ЭРИ m/z: 1123.8 (M/2 + H)<sup>+</sup>, 749.5 (M/3 + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, MeOD<sub>d4</sub>) δ 7.76-7.16 (m, 14H), 7.06-7.00 (m, 1H), 6.88 (d, J = 8.5 Гц, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.56-6.55 (m, 1H), 5.39-5.33 (m, 1H), 5.14-5.09 (m, 5H), 4.61 (s, 18H), 4.50-4.43 (m, 2H), 4.33-4.30 (m, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.89-3.85 (m, 3H), 3.73-3.42 (m, 28H), 3.25-2.72 (m, 8H), 2.45 (t, J = 7.5 Гц, 2H), 2.36-1.96 (m, 18H), 1.81-1.51 (m, 12H), 1.45-1.32 (m, 15H), 1.12-0.89 (m, 12H) ppm.

[0544] В Таблице 2В и Таблице 2В-1 представлены результаты определения чистоты соединений линкер-полезная нагрузка методом ВЭЖХ, определения времени удерживания методом ЖХ, и определения отношения M/Z по масс-спектрам. Аналитические методы ВЭЖХ и МС описаны в Общих методиках.

**Таблица 2В. Физико-химические свойства соединений линкер-полезная нагрузка**

ЛП Н	Пример	cLog P	Молекулярная формула	Молекулярная масса	ВЭЖХ чистота (%)	ВЭЖХ ВУ (мин) <sub>1</sub>	МС (m/z) 100%	Максимальное отношение m/z
1a	17	5.07	C <sub>116</sub> H <sub>177</sub> N <sub>17</sub> O <sub>28</sub>	2257.74	95	6.89	753.3 (M/3+H)	1029.3 (M/2+H) (30%)
1c	18	2.75	C <sub>117</sub> H <sub>178</sub> N <sub>18</sub> O <sub>30</sub> S	2348.83	100	7.17	783.7 (M/3+H)	1174.7 (M/2+H) (20%)
1e	19	2.98	C <sub>103</sub> H <sub>144</sub> F <sub>2</sub> N <sub>14</sub> O <sub>28</sub> S	2096.38	98	5.88	699.6 (M/3+H)	1049.0 (M/2+H) (67%)
1f	20	-1.43	C <sub>100</sub> H <sub>138</sub> F <sub>2</sub> N <sub>16</sub> O <sub>28</sub> S <sub>2</sub>	2114.38	97	6.82	1057.6 (M/2+H)	1057.6 (M/2+H)
1h	21	1.94	C <sub>81</sub> H <sub>108</sub> F <sub>2</sub> N <sub>10</sub> O <sub>22</sub> S	1641.82	96	7.28	821.4 (M/2+H)	821.4 (M/2+H)
1i	22	3.75	C <sub>109</sub> H <sub>148</sub> F <sub>2</sub> N <sub>14</sub> O <sub>29</sub> S	2188.48	100	7.62	1095.0 (M/2+H)	1095.0 (M/2+H)
1j	23	3.15	C <sub>98</sub> H <sub>135</sub> F <sub>2</sub> N <sub>11</sub> O <sub>26</sub> S	1953.24	95	7.55	977.5 (M/2+H)	977.5 (M/2+H)
1k	24	2.06	C <sub>101</sub> H <sub>141</sub> F <sub>2</sub> N <sub>13</sub> O <sub>27</sub> S	2039.33	100	5.97	1020.3 (M/2+H)	1020.3 (M/2+H)
1l	25	2.22	C <sub>79</sub> H <sub>103</sub> F <sub>2</sub> N <sub>9</sub> O <sub>21</sub> S	1584.77	100	5.89	792.8 (M/2+H)	792.8 (M/2+H)



ЛП Н	Пример	cLog P	Молекулярная формула	Молекулярная масса	ВЭЖХ чистота (%)	ВЭЖХ ВУ (мин) <sup>1</sup>	МС (m/z) 100%	Максимальное отношение m/z
1m	26	6.49	C <sub>101</sub> H <sub>142</sub> N <sub>12</sub> O <sub>23</sub> S	1924.34	97	7.57	642.2 (M/3+H)	962.5 (M/2+H) (70%)
1q	27	6.59	C <sub>115</sub> H <sub>160</sub> N <sub>16</sub> O <sub>28</sub> S	2245.13	99	7.24	749.5 (M/3+H)	1123.8 (M/2+H) <sup>+</sup>

1. Могут быть изомеры СОТ.

**Таблица 2В-1. Химико-физические свойства соединений линкер-полезная нагрузка**

ЛП Н	Пример	cLog P	Молекулярная формула	Молекулярная масса	ВЭЖХ чистота (%)	ВЭЖХ КТ (мин) <sup>1</sup>	МС (m/z) 100%	Максимальное отношение m/z
1a	17	2.75	C <sub>117</sub> H <sub>178</sub> N <sub>18</sub> O <sub>30</sub> S	2348.83	100	7.17	783.7 (M/3+H)	1174.7 (M/2+H) (20%)
1b	17A	0.79	C <sub>120</sub> H <sub>186</sub> N <sub>19</sub> O <sub>27</sub> <sup>+</sup>	2326.87	91	8.08	776.0 (M/3+H)	776.0 (M/3+H)
1c	18	5.07	C <sub>116</sub> H <sub>177</sub> N <sub>17</sub> O <sub>28</sub>	2257.74	95	6.89	753.3 (M/3+H)	1029.3 (M/2+H) (30%)
1d	18A	3.50	C <sub>116</sub> H <sub>178</sub> N <sub>17</sub> O <sub>30</sub> P	2321.72	95	5.56, 5.64	774.7 (M/3+H)	774.7 (M/3+H)
1e-1	18B	3.58	C <sub>110</sub> H <sub>163</sub> N <sub>17</sub> O <sub>27</sub>	2155.57	100	7.34	1078.3 [M/2+H]	2156.9 [M+H] (10%)
1f-1	18C	0.98	C <sub>95</sub> H <sub>150</sub> N <sub>16</sub> O <sub>27</sub>	1948.3	100	7.19 (A)	974.7 [M/2+H]	1971.8 [M+Na] (20%)
1g	18D	0.68	C <sub>99</sub> H <sub>148</sub> N <sub>14</sub> O <sub>26</sub>	1950.31	97	7.58	650.8 [M/3+H]	975.8 [M/2+H] (40%)
1h-1	18E	-1.92	C <sub>84</sub> H <sub>135</sub> N <sub>13</sub> O <sub>26</sub>	1743.04	>97	6.09 (A)	1742.7 [M+H]	1764.8 [M+Na] (90%)
1e	19	2.98	C <sub>103</sub> H <sub>144</sub> F <sub>2</sub> N <sub>14</sub> O <sub>28</sub> S	2096.38	98	5.88	699.6 (M/3+H)	1049.0 (M/2+H) (67%)
11b	19A	-0.18	C <sub>106</sub> H <sub>152</sub> F <sub>2</sub> N <sub>15</sub> O <sub>25</sub> <sup>+</sup>	2074.42	96	8.36	1037.6 (M/2+H)	692.2 (M/3+H)
1f	20	-1.43	C <sub>100</sub> H <sub>138</sub> F <sub>2</sub> N <sub>16</sub> O <sub>28</sub> S	2114.38	97	6.82	1057.6 (M/2+H)	1057.6 (M/2+H)
1h	21	1.94	C <sub>81</sub> H <sub>106</sub> F <sub>2</sub> N <sub>10</sub> O <sub>22</sub> S	1641.82	96	7.28	821.4 (M/2+H)	821.4 (M/2+H)
1i	22	3.75	C <sub>109</sub> H <sub>148</sub> F <sub>2</sub> N <sub>14</sub> O <sub>29</sub> S	2188.48	100	7.62	1095.0 (M/2+H)	1095.0 (M/2+H)
1j	23	3.15	C <sub>98</sub> H <sub>135</sub> F <sub>2</sub> N <sub>11</sub> O <sub>26</sub> S	1953.2	95	7.55	977.5	977.5 (M/2+H)

ЛП Н	Пример	cLog P	Молекулярная формула	Молекулярная масса	ВЭЖХ чистота (%)	ВЭЖХ КТ (мин) <sup>1</sup>	МС (m/z) 100%	Максимальное отношение m/z
				4			(M/2+H)	
1k	24	2.06	C <sub>101</sub> H <sub>141</sub> F <sub>2</sub> N <sub>13</sub> O <sub>27</sub> S	2039.33	100	5.97	1020.3 (M/2+H)	1020.3 (M/2+H)
III d	24A	0.94	C <sub>103</sub> H <sub>155</sub> F <sub>2</sub> N <sub>14</sub> O <sub>26</sub> <sup>+</sup>	2043.41	96	6.86 (A)	681.7 (M/3+H)	1021.7 (M/2+H) (33%)
III e	24B	1.55	C <sub>104</sub> H <sub>155</sub> F <sub>2</sub> N <sub>14</sub> O <sub>26</sub> <sup>+</sup>	2055.42	100	7.15 (A)	685.7 (M/3+H)	685.7 (M/3+H)
1l	25	2.22	C <sub>79</sub> H <sub>103</sub> F <sub>2</sub> N <sub>9</sub> O <sub>21</sub> S	1584.77	100	5.89	792.8 (M/2+H)	792.8 (M/2+H)
1m	26	6.49	C <sub>101</sub> H <sub>142</sub> N <sub>12</sub> O <sub>23</sub> S	1924.34	97	7.57	642.2 (M/3+H)	962.5 (M/2+H) (70%)
IV b	26A	3.78	C <sub>95</sub> H <sub>149</sub> N <sub>12</sub> O <sub>20</sub> <sup>+</sup>	1779.27	92	6.20 (A)	593.7 (M/3+H)	889.8 (M/2+H)
1q	27	6.59	C <sub>115</sub> H <sub>160</sub> N <sub>16</sub> O <sub>28</sub> S	2245.13	99	7.24	749.5 (M/3+H)	1123.8 (M/2 + H) <sup>+</sup>
10a	10A	4.39	C <sub>74</sub> H <sub>94</sub> F <sub>2</sub> N <sub>8</sub> O <sub>17</sub>	1405.58	100	7.40	703.5 (M/2+H)	1405.7 (M+H) (5%)
10b	10B	9.10	C <sub>72</sub> H <sub>92</sub> N <sub>6</sub> O <sub>12</sub>	1233.53	100	9.21	617.3 (M/2+H)	1233.6 (M+H) (80%)
10c	10C	6.25	C <sub>80</sub> H <sub>98</sub> F <sub>2</sub> N <sub>8</sub> O <sub>18</sub>	1497.67	100	7.99	749.5 (M/2+H)	1497.7 (M+H) (5%)
10d	10D	5.37	C <sub>88</sub> H <sub>128</sub> N <sub>12</sub> O <sub>19</sub>	1658.03	>95	8.25	829.7 (M/2+H)	1659.7 (M+H) (20%)

1. Могут быть два региоизомера.

### ПРИМЕР 28

[0545] Этот пример иллюстрирует активность нецитотоксичных КАЛС антител к MSR1 стероид, содержащих группу SO<sub>3</sub>H при проведении *in vitro* анализа опосредованного липополисахаридами (ЛПС) высвобождения ИЛ-1□.

[0546] Для проведения анализа в 96-луночные планшеты вносили клетки THP-1 по 40 000 клеток/луночка в питательных средах RPMI, обогащенных 10% эмбриональной бычьей сывороткой (ЭБС) и пенициллином/стрептомицином, и клетки дифференцировали 200 нМ форбол-миристан-ацетатом (ФМА) в течение 3 дней. После 3-дневной дифференцировки выполняли трехкратные серийные разведения конъюгатов антител-лекарственное средство и некоъюгированных

антител в свежей среде, которые добавляли к клеткам в конечной концентрации от 100 нМ до 0,01 нМ. Последнюю лунку оставляли в качестве холостого контроля и вносили в нее только среду. Через 72 часа клетки обрабатывали ЛПС (InVivoGen, Cat# tlr-ekips в концентрации 5 мкг/мл в течение 5 часов. После этого из лунок отбирали клеточные среды и измеряли в них содержание ИЛ-1 $\beta$  используя набор для определения воспалительных маркеров человека V-PLEX (Meso Scale Diagnostics, № по каталогу 15049D-2), в соответствии с инструкциями производителя. После этого снимали показания с планшета на планшетном анализаторе MSD (Meso Scale Discovery). Для определения ИК<sub>50</sub> использовали логистическую формулу с четырьмя параметрами на 10-точечной характеристической кривой (GraphPad Prism). Все значения ИК<sub>50</sub> выражены в молярной концентрации (М).

**[0547]** Как показано в Таблице 1А, Н1Н21234N-N297Q, конъюгированные с соединением линкер-стероидная полезная нагрузка без группы SO<sub>3</sub>H (**Н1Н21234N-N297Q- Пример 10А**), продемонстрировали подавление опосредованного ЛПС высвобождения ИЛ-1 $\beta$  из клеток ТНР1 с ИК<sub>50</sub>, равной 1,73 нМ, и снижали высвобождение ИЛ-1 $\beta$  до 97,2 пг/мл. Н1Н21234N-N297Q, конъюгированные с соединением линкер-стероидная полезная нагрузка с группой SO<sub>3</sub>H (**Н1Н21234N-N297Q- Пример 19**) продемонстрировали аналогичное подавление опосредованного ЛПС высвобождения ИЛ-1 $\beta$  из клеток ТНР1 с ИК<sub>50</sub>, равной 1.97 нМ, и снижали высвобождение ИЛ-1 $\beta$  до 97,17 пг/мл. Неконъюгированные антитела продемонстрировали подавление опосредованного ЛПС высвобождения ИЛ-1 $\beta$  из клеток ТНР1 с ИК<sub>50</sub>, равной 22,9 нМ, и снижали высвобождение ИЛ-1 $\beta$  до 343,7 пг/мл, что указывало на отсутствие эффективности по сравнению с конъюгированными антителами.

**Таблица 1А:** Активность нцКАЛС «антитело к MSR1-стероид» в отношении вызываемого ЛПС высвобождения ИЛ-1 $\beta$  из клеток ТНР1

Тип полезной нагрузки	Модификация линкера	нцКАЛС	ИК <sub>50</sub> (М) через 72 часа	Высвобождение ИЛ-бета при максимальной изученной концентрации (пг/мл)
Стероид	Неприменимо	Н1Н21234N-N297Q- Пример 10А	1.73E-09	97.24
	SO <sub>3</sub> H	Н1Н21234N-N297Q- Пример 19	1.97E-09	97.17

Тип полезной нагрузки	Модификация линкера	нцКАЛС	ИК <sub>50</sub> (М) через 72 часа	Высвобождение ИЛ-бета при максимальной изученной концентрации (пг/мл)
Неприменимо	Неприменимо	H1H21234N-N297Q	2.29E-08	343.7

### Стабильность кислотности среды

[0548] Стабильность кислотности среды оценивали следующим образом. Образец 0.1 мг растворяли с 0.2-0.3 мл ДМСО, и полученный раствор добавляли по каплям в буферы с разным рН (1 мл), поддерживая прозрачность растворов во время тестирования. Образцы отбирали в нескольких временных точках (например, на протяжении 72 часов), для определения стабильности рН использовали метод ЖХ-МС. Буферы для оценки стабильности рН готовили следующим образом: Натрий-боратный буфер, рН 8.0: К 900 мл дистиллированной воды добавляли 9,534 г натрия бората декагидрата, 1.461 г хлорида натрия и 0.393 г ДТПА, контролируя полное растворение всех компонентов, затем добавляли воду, разбавляя до конечного объема 1 л. Натрий-боратный буфер, рН 7,4: К 900 мл дистиллированной воды добавляли 900 мл воды Milli-Q, 9,534 г натрия бората декагидрата, 1.461 г хлорида натрия и 0.393 г ДТПА, контролируя полное растворение всех компонентов, затем добавляли воду, разбавляя до конечного объема 1 л. Сукцинатный буфер, рН 5.0: к 150 мл дистиллированной воды добавляли 10 мМ янтарной кислоты и затем изменяли рН до 5,0, добавляя 0.5М NaOH, после этого добавляли воду, разбавляя до конечного объема 250 мл. Фосфатно-солевой буфер рН 7.4: коммерческий реактив. Оценка стабильности проводилась через 72 часа методом ЖХ-МС.

### Растворимость

[0549] Методика испытания растворимости. 1 мг исследуемого образца растворяют в 1 мл ДМСО и готовят стандартные растворы (4.5 мл, 100 мкг/мл), В (4.5 мл, 10 мкг/мл), С (4.5 мл, 1 мкг/мл), D (5 мл, 0.1 мкг/мл).

Стандартный раствор	Количество образца (мг)	ДМСО (%)	Общий объем (мл)	Концентрация (мг/мл)
ДМСО	1	100%	1	1
А	0.5	10%	5	0.1

Стандартный раствор	Количество образца (мг)	ДМСО (%)	Общий объем (мл)	Концентрация (мг/мл)
B	0,05	1%	5	0,01
C	0,005	0.10%	5	0,001
D	0,0005	0,01%	5	0,0001

Раствор ДМСО (1 мг/мл, 0.5 мл) разбавляли водой (4.5 мл), чтобы получить раствор А (0.1 мг/мл, 5 мл, 0.5 мг). Раствор А (0.1 мг/мл, 0.5 мл) разбавляли водой (4.5 мл), чтобы получить раствор В (0,01 мг/мл, 5 мл, 0,05 мг). Раствор В (0,01 мг/мл, 0.5 мл) разбавляли водой (4.5 мл), чтобы получить раствор С (1 мкг/мл, 5 мл, 5 мкг). Раствор С (1 мкг/мл, 0.5 мл) разбавляли водой (4.5 мл), чтобы получить раствор D (0.1 мкг/мл, 5 мл, 0.5 мкг). Для того чтобы растворить исследуемый образец (0,05 мг), его суспендировали в воде (1 мл) и обрабатывали ультразвуком в течение 5-30 минут. Если полученный раствор был непрозрачным, то суспензию центрифугировали, и для анализа отбирали прозрачную надосадочную жидкость. Все стандартные растворы А, В, С, D и растворы образца тестировали с помощью одного метода на одном приборе для ЖХ-МС. Растворимость оценивали методом ЖХ-МС и рассчитывали по стандартной кривой. Полученные в этих экспериментах данные показаны в **Таблице 3** и **Таблице 3-1**.

**Таблица 3. Стабильность кислотности и данные по растворимости соединений линкер-полезная нагрузка**

ЛПН	Пример	Полезная нагрузка	cLogP	cLogD (pH 5.07)	Растворимость (мг/мл)	Стабильность pH
1e	19	B	2.98	0.61	> 10	Да
1j	23	C	3.15	1.97	> 10	Да
1k	24	C	2.06	0.88	> 1	Да

Да: Сохранение стабильности в буфере pH7.4 или 8 при комнатной температуре в течение более 3 дней;

**Таблица 3-1. Данные по стабильности кислотности и растворимости для соединений линкер-полезная нагрузка**

ЛПН	Пример	Полезная нагрузка	cLogP	cLogD (pH 5.07)	Растворимость (мг/мл)	Стабильность pH
10d	10D	A	5.37	5.37	<0.1	Y
1a	17	A	2.75	1.58	0.17	Y
1c	19	A	5.07	5.07	0.16	
1d	18A	A	3.50	1.23	0.25	Y
1e-1	18B	A	3.58	3.58	0.4	Y
1g	18D	A	0.68	0.68	0.28	Y
1h-1	18E	A	-1.92	-1.92	0.5	
10a	10A	B	4.39	4.39	0,02	Y
1e	19	B	2.98	0.61	> 10	Y
10c	10C	C	6.25	6.25	< 0.1	Y
1i	22	C	3.75	2.46	> 10	
1j	23	C	3.15	1.97	> 10	Y
1k	24	C	2.06	0.88	> 1	Y
11e	24B	C	2.22	-0.16	> 10	Y
10d	10D	D	9.10	9.10	< 0.1	Y
1q	27	E	6.59	4.22	0.17	Y

Да: Сохранение стабильности в буфере pH7.4 или 8 при комнатной температуре в течение более 3 дней;

#### ПРИМЕР 29

**Конъюгация АЛС** (см. Фиг. 19)

[0550] Данный пример демонстрирует способ сайтс-специфичной конъюгации, в целом, полезной нагрузки с антителом или антиген-связывающим фрагментом антитела.

[0551] Следующий пример демонстрирует способ получения конъюгатов. Негликозилированное антитело с IgG1 человеческого изоформа в ВирН™ (pH 7-8)

смешивали с  $\geq 200$  молярными эквивалентами азидо-dPEG<sub>3</sub>-амина (молекулярная масса 218.26 г/моль). Полученный раствор смешивали с трансклутаминазой (25 Е/мл; 5Е МТГ (микробной трансклутаминазы) на 1 мг антитела), в результате чего конечная концентрация антитела составляла 0,5-10 мг/мл, после чего раствор инкубировали при 37 °С в течение 4-24 часов при легком покачивании. Для мониторинга реакции использовали методы ДСН-ПААН или ЭРИ-МС. После завершения реакции избыток амина, и МТГ удаляли с помощью гель-фильтрационной хроматографии (ГФХ), чтобы получить функционализированные азидом антитела (mAb-N<sub>3</sub>). Для анализа этого продукта использовали ДСН-ПААГ и ЭРИ-МС. Азидо-dPEG<sub>3</sub>-амин добавляли к двум участкам антитела– Q295 и Q297, что привело к увеличению 4 ОЛСА конъюгатов негликозилированное антитело–PEG<sub>3</sub>–азид на 804 Да. Участки конъюгации были идентифицированы, и методом пептидного картирования гидролизованных трипсином тяжелых цепей было подтверждено, что для 4 ОЛСА это участок EEQ<sup>Линкер</sup>YQ<sup>Линкер</sup>STYR.

**[0552]** Посредством [2+3] клик-реакции между функционализированным азидом антителом (mAb-N<sub>3</sub>) и алкин-содержащим соединением линкер–полезная нагрузка (ЛНП) были получены конъюгаты «сайт-специфичное негликозилированное антитело – лекарственное средство» (КАЛС), содержащие человеческие IgG1 или IgG4 к MSR1, HER2 (или PRLR) и содержащие мутацию N297Q. FeID1 – несвязывающее контрольное антитело.

**[0553]** Как показано в Таблице 5, для того чтобы получить конъюгаты функционализированного азидом антитела (mAb-N<sub>3</sub>), включая антиMSR1 Ab–PEG<sub>3</sub>–N<sub>3</sub>, антиFeI D1 Ab–PEG<sub>3</sub>–N<sub>3</sub>, антиHER2 Ab–PEG<sub>3</sub>–N<sub>3</sub>, и антиPRLR Ab–PEG<sub>3</sub>–N<sub>3</sub>, сайт-специфичные негликозилированные антитела, содержащие мутацию N297Q, были конъюгированы с соединением амин–PEG<sub>3</sub>–N<sub>3</sub>.

**[0554]** Для получения конъюгата сайт-специфичного антитела с соединением линкер-полезная нагрузка (ЛПН) mAb–PEG<sub>3</sub>–N<sub>3</sub> (1–12 мг/мл) инкубировали в водной среде (например, в фосфатно-солевом буфере (ФСБ), ФСБ, содержащем 5% глицерол, HBS) с  $\geq 6$  молярными эквивалентами ЛПН, растворенными в подходящем органическом растворителе, например, ДМСО, ДМФ или ДМА (*m.e.*, в реакционной смеси, содержащей 5-20% органического растворителя, отношение объемов) при 24 °С - 37 °С при продолжительности инкубации от 30 мин до 24 ч. Для мониторинга развития реакции использовали метод ЭРИ-МС, и отсутствие

**mAb-PEG<sub>3</sub>-N<sub>3</sub>** указывало на завершение конъюгации. Избыток ЛПН и органического растворителя удаляли методом ГФК посредством элюции фосфатного солевого буфера и методом колоночной хроматографии с белком А посредством элюции кислым буфером с последующей нейтрализацией трисом (pH8.0). Для анализа очищенных конъюгатов использовали методы ГФХ, ДСН-ПААГ и ЭРИ-МС. В Таблице 5 показан перечень конъюгатов ММАЕ – антитело, стероид – антитело и агонист LXR -антитело с соответствующими ЛПН, их молекулярные массы и значения ЭРИ – ОЛСА.

**[0555]** В одном из примеров функционализированное азидом антитело (1 мг) в 0,800 мл ФСБг (ФСБ, 5% глицерол, pH 7.4) обрабатывали шестью молярными эквивалентами соединения линкер-полезная нагрузка (ЛПН) из Таблица 2 (с концентрацией 10 мг/мл в ДМСО) в течение 2 часов при КТ, и избыток соединения линкер-полезная нагрузка (ЛПН) удаляли методом гель-фильтрационной хроматографии (ГФХ, Superdex 200 HR, GE Healthcare). Готовый продукт концентрировали методом ультрацентрифугирования и определяли его характеристики методами УФ-спектроскопии, ГФХ, ДСН-ПААГ и ЭРИ-МС..

#### **Определение характеристик КАЛС методом ЖХ-ЭРИ-МС**

**[0556]** Были выполнены измерения интактной массы образцов КАЛС методом ЖХ-ЭРИ-МС, чтобы определить профиль распределения лекарственного средства-полезной нагрузки и рассчитать среднее отношение лекарственное средство/антитело (ОЛСА). Каждый исследуемый образец (20-50 нг, 5 мкл) наносили на колонку для УЭЖХ Acquity UPLC Protein BEH C4 (10К фунтов/дюйм<sup>2</sup>, 300 Å, 1.7 мкм, 75 мкм × 100 мм; № по каталогу 186003810). Белок элюировал после 3-минутного обессоливания, и для регистрации масс-спектров использовали масс-спектрометр Waters Synapt G2-Si. В Таблице 5 показаны молекулярные массы изолированных антител, антител, функционализированных азидом (mAb-N<sub>3</sub>), ЛПН и КАЛС, у большинства сайт-специфичных КАЛС ОЛСА составляли 3,9-4.



**Таблица 5. Перечень конъюгатов**

ЛПН	Пример	ММ (ЛПН)	Аб, Аб-N <sub>3</sub> , или нцКАЛС	Мишень	m/z, определенные методом МС (нцКАЛС)	ОЛСА (ЭРИ-МС)
1q	27	2246.7	H1H21234N-Ex 27	MSR1	155570	3.9
1e	19	2096.4	H1H21234N-Ex 19	MSR1	154964	3.9
1q	27	2246.2	H1H1238N-N297Q-Ex 27	FeID1 (контроль изотипа)	155245	4
1e	19	2096.4	H1H1238N-N297Q-Ex 19	FeID1 (контроль изотипа)	154641	3.9
1j	23	1953.2	H1H6958N2-N297Q-Ex 23	Anti-PRLRmAb1	154070	4
1i	22	2188.5	H1H6958N2-N297Q-Ex 22	Anti-PRLRmAb2	155011	3.9
1e	19	2096.4	H1H6958N2-N297Q-Ex 19	Anti-PRLRmAb3	153792	4
1f	20	2114.4	H1H6958N2-N297Q-Ex 20	Anti-PRLRmAb4	152301	3.7
1j	23	1953.2	H1H6958N2-N297Q-Ex 23	Anti-PRLRmAb5	153227	3.9
1i	22	2188.5	H1H6958N2-N297Q-Ex 22	Anti-PRLRmAb6	154168	3.9
1k	24	2039.3	H1H6958N2-N297Q-Ex 24	Anti-PRLRmAb7	153555	3.9
1c	18	2348.9	Anti-HER-N297Q-Ex 18	HER2	155358	3.9
1q	27	2246.7	Anti-HER-N297Q-Ex 27	HER2	154945	3.9

**ПРИМЕР 30**

**[0557]** Этот пример демонстрирует эффективность расщепления линкера с высвобождением полезной нагрузки, представляющей собой стероид или агонист

LXR, в присутствии группы  $\text{SO}_3\text{H}$ , группы  $\text{N}^+\text{Me}_3$ , фосфатной группы или галактозной группы в условиях анализа расщепления катепсином В.

**[0558]** В целях анализа концентрированный раствор соединения «линкер-полезная нагрузка» (10 мМ линкера-полезной нагрузки в ДМСО) вносили в раствор, содержащий 100 мМ NaOAc, 10 мМ дитиотреитол при pH 5, чтобы получить раствор субстрата с концентрацией 50 мкМ. В раствор субстрата вносили Катепсин В из печени человека (Athens Research & Technology, № по каталогу 16-12-030102) в среде содержащей 50 мМ NaOAc, 1 мМ ЭДТА при pH 5. Раствор, содержащий Катепсин В и раствор субстрата, смешивали либо не смешивали с ингибитором Катепсина В (CA074; APE Bio, № по каталогу A1926) и инкубировали при 37 °С в течение 4 часов. После 4-часовой инкубации добавляли уксусную кислоту и затем ацетонитрил, чтобы остановить реакцию. Образцы раствора с остановленной реакцией центрифугировали при 14000 об/мин. Затем аликвоты полученных надосадочных жидкостей разбавляли равным объемом воды и анализировали методом ЖХ/МС, чтобы определить количество высвободившейся полезной нагрузки. Стабильность и активность Катепсина В подтверждали посредством инкубации с 200 мкМ флуорогенного субстрата для Катепсина В (Santa Cruz Biotechnology, № по каталогу 207975) (флуоресценция при длине волны возбуждения 340 нм/эмиссия при длине волны 425 нм).

**[0559]** Как показано в **Таблице 1В**, из соединения линкер-полезная нагрузка, содержащего агонист LXR без группы  $\text{SO}_3\text{H}$ , в результате обработки Катепсином В в течение 4 часов высвобождалось 13,6% полезной нагрузки, тогда как из соединения линкер-полезная нагрузка, содержащего агонист LXR и группу  $\text{SO}_3\text{H}$ , высвобождалось 44,2% полезной нагрузки после 4-часовой обработки Катепсином В. из соединения линкер-полезная нагрузка, содержащей стероид в качестве полезной нагрузки, без группы  $\text{SO}_3\text{H}$ , в результате обработки Катепсином В в течение 4 часов высвобождалось 7.5 -17.2% полезной нагрузки, тогда как из соединения линкер-полезная нагрузка, содержащего стероид и группу  $\text{SO}_3\text{H}$ , высвобождалось 796% полезной нагрузки после 4-часовой обработки Катепсином В. В **Таблице 1С** и **Таблице 1D** показаны дополнительные данные о высвобождении полезной нагрузки после обработки соединения линкер-полезная нагрузка Катепсином В.

**Таблица 1В:** Количество полезной нагрузки, высвободившейся из соединений линкер-полезная нагрузка содержащих и не содержащих группу SO<sub>3</sub>H, в условиях анализа с Катепсином В (см. Фиг. 18)

Полезная нагрузка	Тип полезной нагрузки	Линкер-полезная нагрузка (ЛПН)	Модификация линкера	Процент полезной нагрузки, высвободившейся за 4 часа
D	Агонист LXR	Пример 10В	Неприменимо	13.6%
		Пример 26	SO <sub>3</sub> H	44.2%
B	Стероид	Пример 10А	Неприменимо	7.5 - 17.2%
		Пример 19	SO <sub>3</sub> H	79.6%

**Таблица 1С:** Количество полезной нагрузки, высвободившейся из соединений линкер-полезная нагрузка с разными линкерами, содержащими группу SO<sub>3</sub>H, в анализе с использованием Катепсина В (см. Фиг. 18)

№	Пример	Полезная нагрузка	Линкер		Процент полезной нагрузки, высвободившейся за 4 часа
			Расщепляемый участок	Линкер	
1e	19	B	vcPAB	PEG <sub>4</sub> -таурин	79.6
1f	20	B	vcPAB	Двойной таурин	63.0
1i	22	C	vcPAB	PEG <sub>4</sub> -таурин	57.8
1j	23	C	VA	PEG <sub>4</sub> -таурин	30.8
1k	24	C	vc	PEG <sub>4</sub> -таурин	31.0
1m	26	D	VA	PEG <sub>4</sub> -таурин	44.2

**Таблица 1D:** Процент полезной нагрузки, высвободившейся из соединений линкер-полезная нагрузка (Фиг. 19), в анализе с использованием Катепсина В

№	Пример	Полезная нагрузка	Линкер		Процент расщепления СаpВ через 4 часа
			Расщепляемый участок	линкер	
10b	10B	A	vcPAB	-	63
1b	17A	A	vcPAB	PEG <sub>4</sub> -N <sup>+</sup> Me <sub>3</sub>	65
1d	18A	A	vcPAB	PEG <sub>5</sub> -фосфат	50
1e-1	18B	A	vcPAB	галактоза	72
1g	18D	A	vcPAB	глюкамид	70
1h-1	18E	A	vcPAB	глюкамид	42
10a	10A	B	vcPAB	-	18.6
1e	19	B	vcPAB	PEG <sub>4</sub> -таурин	79.6
1f	20	B	vcPAB	двойной таурин	63.0
10c	10C	C	vcPAB	-	<5
1i	22	C	vcPAB	PEG <sub>4</sub> -таурин	57.8
1j	23	C	VA	PEG <sub>4</sub> -таурин	30.8
1k	24	C	vc	PEG <sub>4</sub> -таурин	31.0
10b	10B	D	VA	-	13.6
1m	26	D	VA	PEG <sub>4</sub> -таурин	44.2
1q	27	E	vcPAB	PEG <sub>4</sub> -таурин	30.4

### ПРИМЕР 31

**[0560]** Этот эксперимент демонстрирует влияние гидрофильного линкера, присутствующего в нецитотоксичном КАЛС (нцКАЛС) «антитело к MSR1-стероид», на эффективность отщепления полезной нагрузки, представленной стероидом, посредством измерения динамики расщепления лизосомами

**[0561]** При проведении анализа нцКАЛСs добавляли в свежеприготовленный рабочий раствор лизосом, содержащий 1x катаболический буферг (Xenotech Cat#K5200) и белки лизосом из печени человека в концентрации 0.125 мг/мл

(Xenotech № по каталогу H0610.L). 200 мкл полученной смеси, содержащей 0.25 мкМ нцКАЛС, инкубировали при температуре 37°C и легком покачивании в течение 24 часов. Аликвоты 20 мкл отбирали через 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 и 24 часов и переносили их в планшет, содержащий 80 мкл холодного ацетонирила, чтобы деактивировать лизосомы и вызвать осаждение белков. После центрифугирования при 2000 об/мин в течение 5 минут аликвоты надосадочной жидкости разбавляли равным объемом воды, после чего проводили анализ методом ЖХ-МС, чтобы определить количество высвободившейся полезной нагрузки.

[0562] Как показано в **Таблице 1Е**, из конъюгата нцКАЛС-стероид без гидрофильного линкера (**H1H21234N-N297Q- Пример 10А**) за 24-часовой период времени высвободилось 548 нМ стероида. Из конъюгата нцКАЛС-стероид с гидрофильным линкером (**H1H21234N-N297Q- Пример 19**) за 24-часовой период времени высвободилось 760 нМ стероида.

**Таблица 1Е: Количество стероида, высвобождающегося при наличии и в отсутствии гидрофильного линкера**

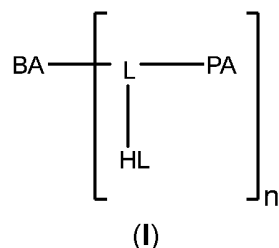
нцКАЛС	Полезная нагрузка	Тип нагрузки	Модификация линкера	Концентрация высвободившейся полезной нагрузки (нМ)						
				0 час ов	0.5 час а	1.0 час	2.0 час а	4.0 час а	8.0 час а	24 час а
H1H21234 N-N297Q- <b>Пример 10А</b>	В	Стероид	Не-применимо	0	43.1	105	265	628	719	548
H1H21234 N-N297Q- <b>Пример 19</b>	В	Стероид	SO <sub>3</sub> H	12.6	13.8	40.4	175	680	961	760

[0563] Описанные выше варианты осуществления и примеры изобретения являются иллюстративными и не являются ограничивающими. Специалистам в данной области техники должно быть понятно или они смогут установить, используя не более чем рутинный эксперимент, многочисленные эквиваленты

конкретных соединений, материалов и методик. Все такие эквиваленты входят в объем изобретения и на них распространяется прилагаемая формула изобретения.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение или его фармацевтически приемлемый сольват, стереоизомер или производное, содержащее связующий агент, соединенный, по меньшей мере, с одной полезной нагрузкой и соединенный, по меньшей мере, с одним гидрофильным остатком через ковалентный линкер, где указанный ковалентный линкер связан прямо или опосредованно со связующим агентом, с полезной нагрузкой и с гидрофильным остатком.
2. Соединение по п.1, где гидрофильный остаток содержит концевую гидрофильную группу.
3. Соединение по п.1 или п.2, где гидрофильный остаток содержит группу сульфоновой кислоты или ее соль.
4. Соединение по п.1 или п.2, где гидрофильный остаток содержит четвертичный амин или его соль, группу фосфоновой кислоты или ее соль, или остаток сахара.
5. Соединение по п.1, описываемое формулой (I):



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,

где:

**BA** представляет собой связующий агент;

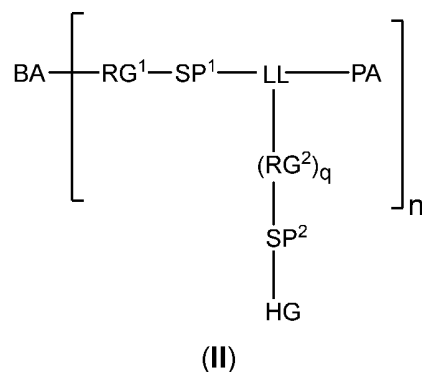
**L** представляет собой трехвалентный линкер;

**HL** представляет собой гидрофильный остаток;

**PA** представляет собой остаток полезной нагрузки; и

подстрочный индекс **n** является целым числом от 1 до 30.

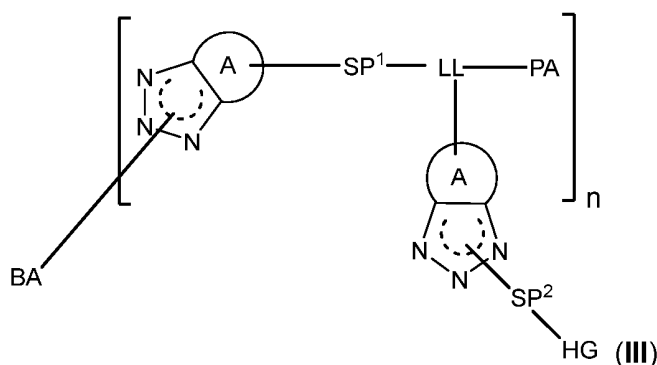
6. Соединение по п.5, описываемое формулой (II):



где:

- BA** представляет собой связующий агент;
- LL** представляет собой трехвалентный линкер;
- RG<sup>1</sup>** и **RG<sup>2</sup>** являются остатками реакционноспособной группы;
- SP<sup>1</sup>** и **SP<sup>2</sup>** независимо, в каждом случае, отсутствуют или являются остатком спейсерной группы;
- HG** представляет собой гидрофильный остаток;
- PA** представляет собой остаток полезной нагрузки;
- подстрочный индекс **n** является целым числом от 1 до 30; и
- подстрочный индекс **q** равен 0 или 1.

7. Соединение по п.5 или п.6, где подстрочный индекс **n** равен 1, 2, 3 или 4.
8. Соединение по п.5, описываемое формулой (III):



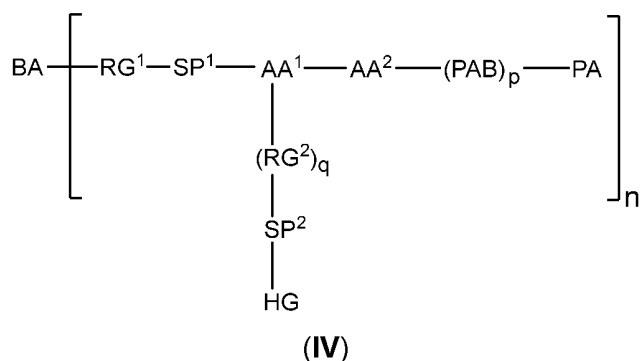
где

- кольцо **A** конденсировано с триазолом и выбрано из группы, включающей циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкил и гетероциклоалкенил;
- и где циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкил и гетероциклоалкенил необязательно замещены алкилом, -ОН



или  $-NR^aR^b$ , и где где  $R^a$  и  $R^b$  по отдельности представляют собой алкил или H.

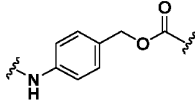

9. Соединение по п.6, описываемое формулой (IV):



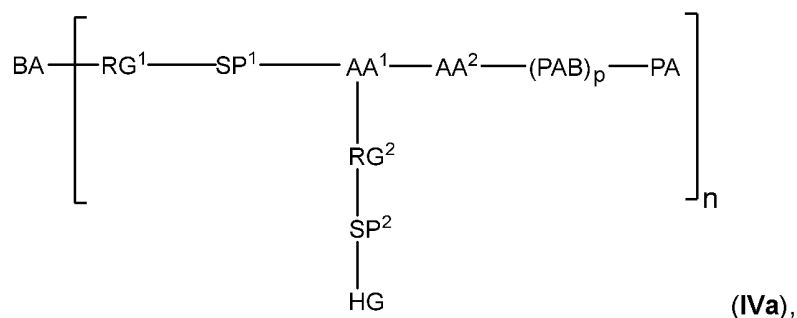
где:

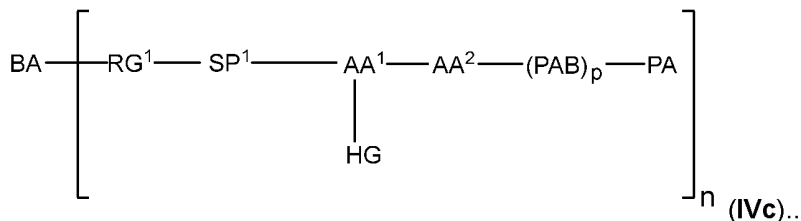
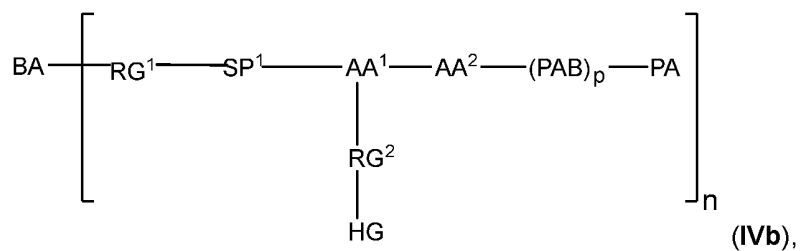
**AA<sup>1</sup>** представляет собой трехвалентный линкер, содержащий аминокислотный остаток;

**AA<sup>2</sup>** представляет собой остаток дипептида, трипептида или тетрапептида; и

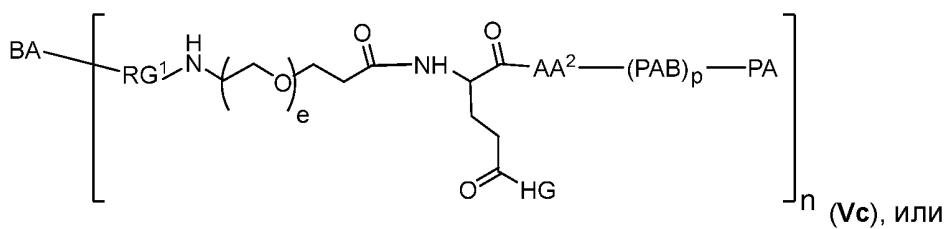
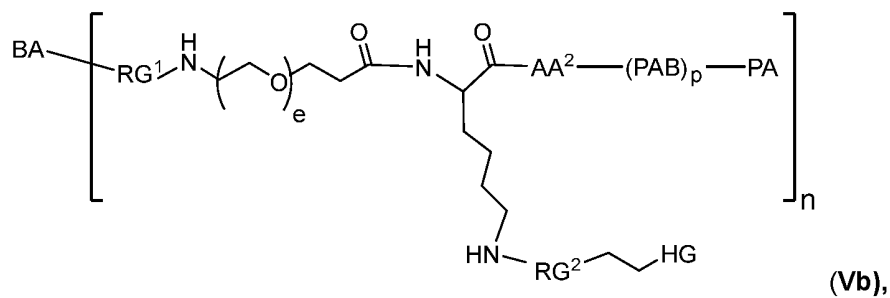
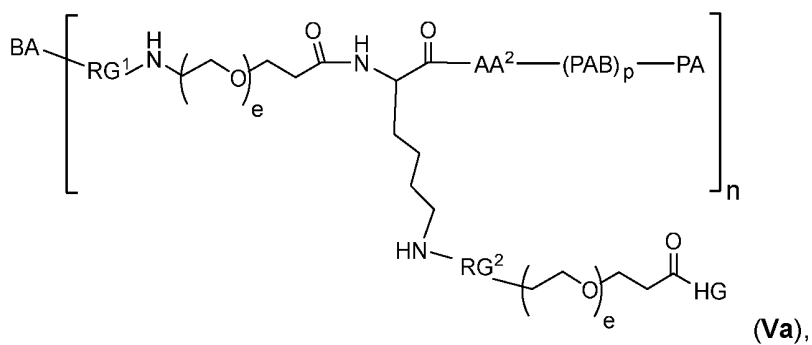
**PAB** представляет собой , где  указывает на атом, через которой **PAB** соединен с соседней группой в формуле; подстрочный индекс **p** равен 0 или 1; и подстрочный индекс **q** равен 0 или 1.

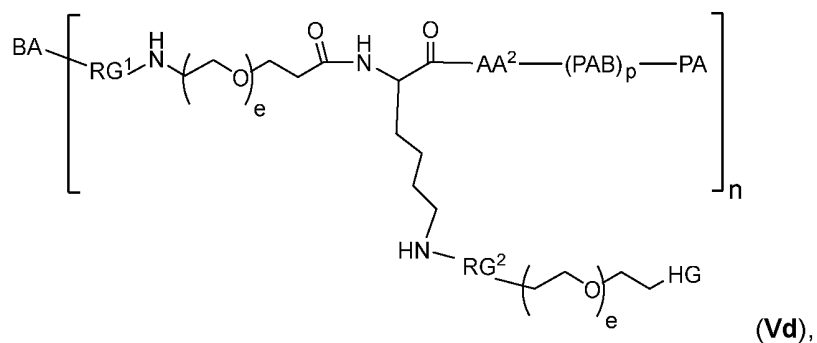
10. Соединение по п.9, описываемое формулой (IVa), формулой (IVb) или формулой (IVc):





11. Соединение по п.10, где **AA<sup>1</sup>** представляет собой лизин, глутамин, глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту.
12. Соединение по п.10, описываемое формулой (Va), (Vb), (Vc) или (Vd) соответственно:





где:

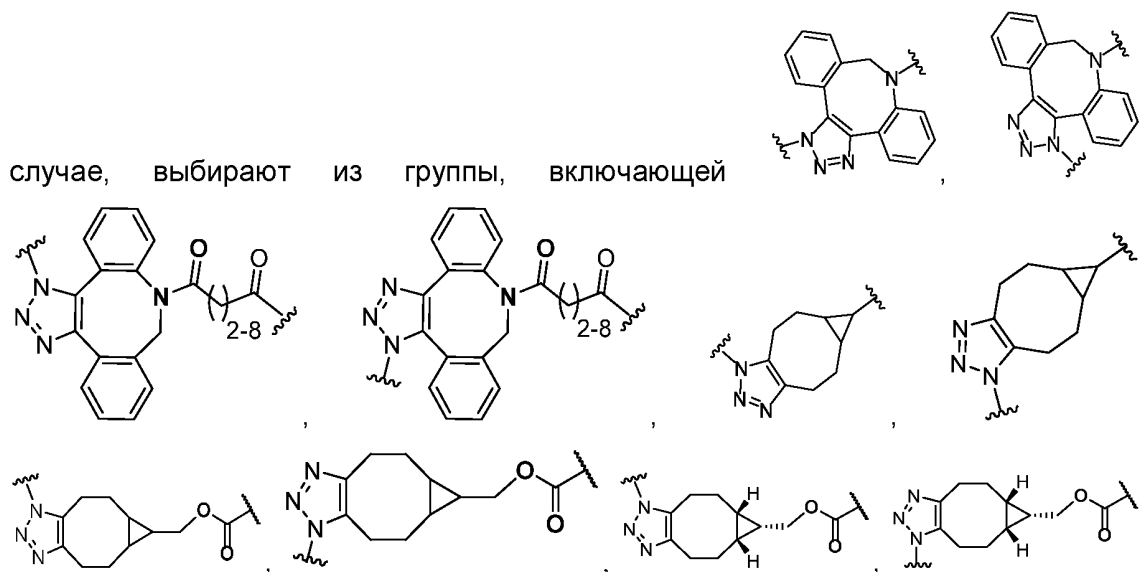
подстрочный индекс  $e$  независимо в каждом случае является целым числом от 0 до 6.

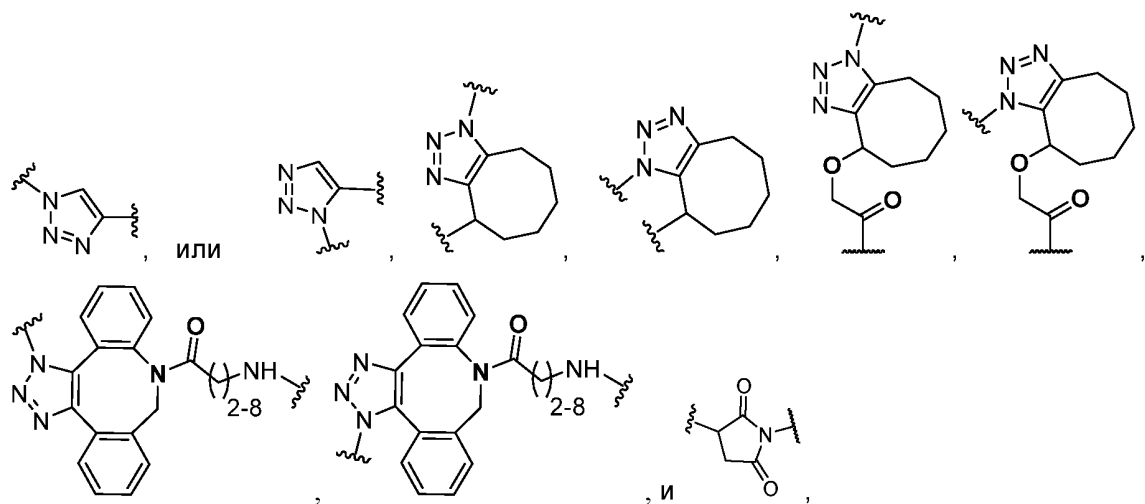
13. Соединение по любому из пп. 9-12, где  $\text{RG}^1$  и  $\text{RG}^2$  являются независимо в каждом случае, остатком клик-реактента.

14. Соединение по любому из пп. 9-12, где  $\text{RG}^1$  и  $\text{RG}^2$  независимо в каждом случае, содержат триазол или конденсированный триазол

15. Соединение по любому из пп. 9-14, где  $\text{RG}^1$  и  $\text{RG}^2$  независимо, в каждом

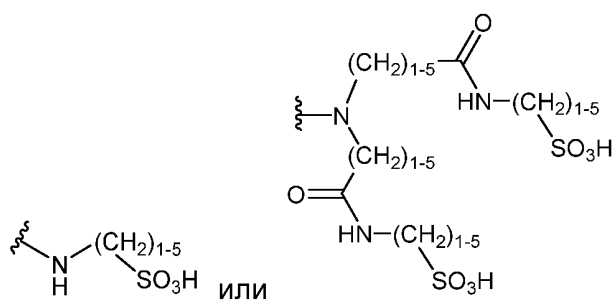
случае, выбирают из группы, включающей





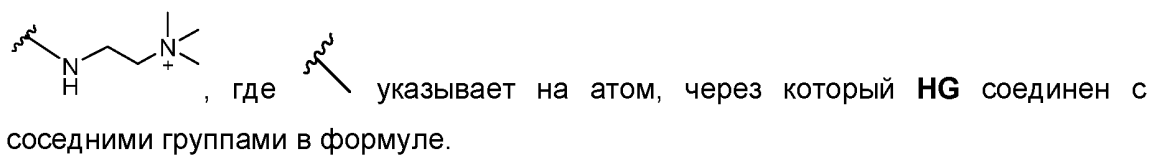
где указывает на атом, через который **RG<sup>1</sup>** или **RG<sup>2</sup>** соединен с соседними группами в формуле.

16. Соединение по любому из пп. 9-15, где **HG** представляет собой

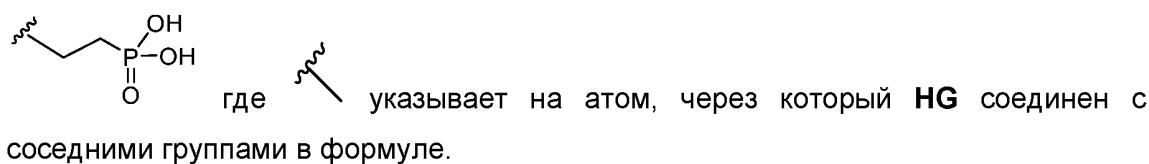


где указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.

17. Соединение по любому из пп. 9-15, где **HG** представляет собой



18. Соединение по любому из пп. 9-15, где **HG** представляет собой

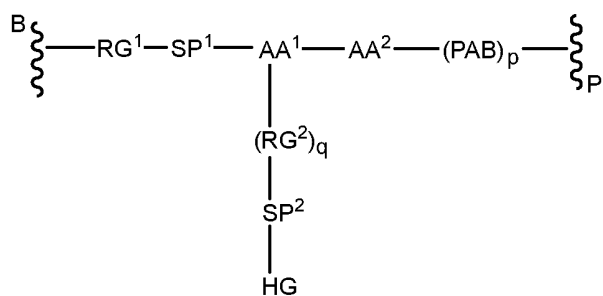


19. Соединение по любому из пп. 9-15, где **HG** представляет собой

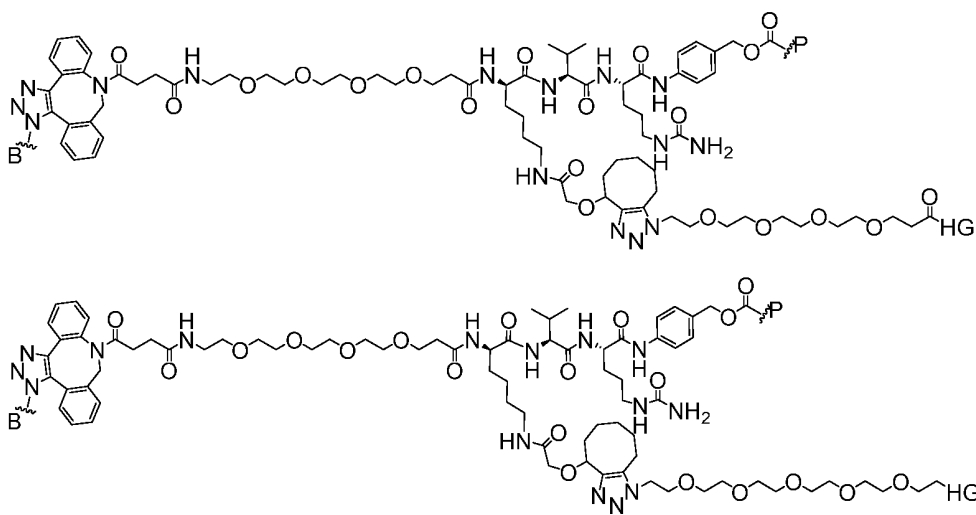


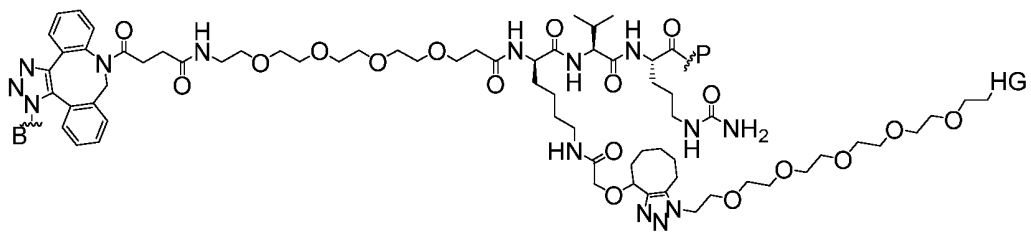
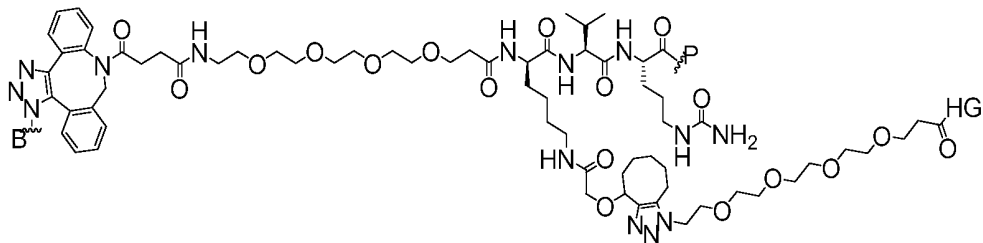
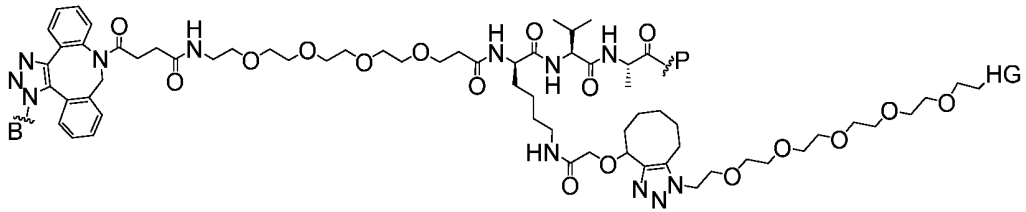
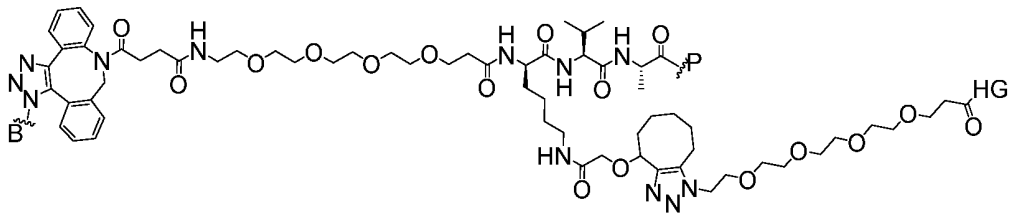
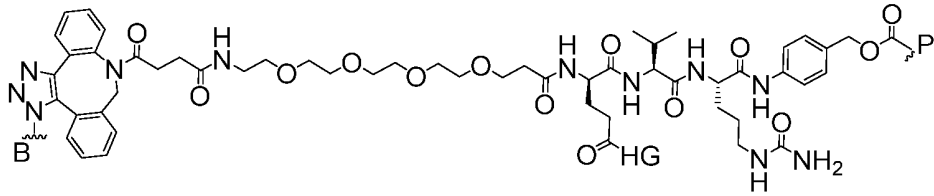
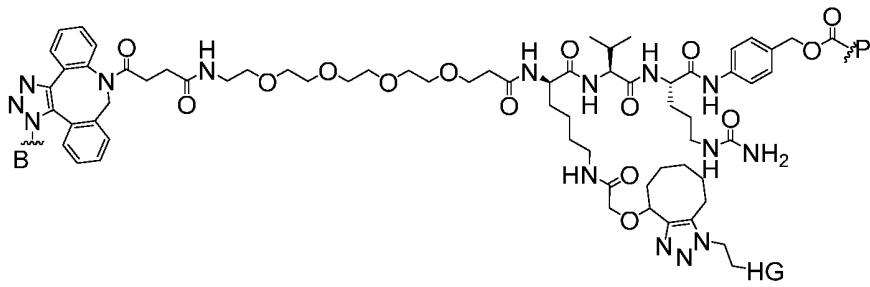
20. Соединение по любому из пп. 9-19, где **SP<sup>1</sup>** и **SP<sup>2</sup>** независимо, в каждом случае, отсутствуют или их выбирают из группы, включающей C<sub>1-6</sub> алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>e</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>e</sub>-C(O)-, -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>-C(O)-, -C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>v</sub>-, (глицин)<sub>4</sub>-серин, и их комбинаций, где подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4, подстрочный индекс **u** является целым числом от 1 до 8, и подстрочный индекс **v** является целым числом от 1 до 8.

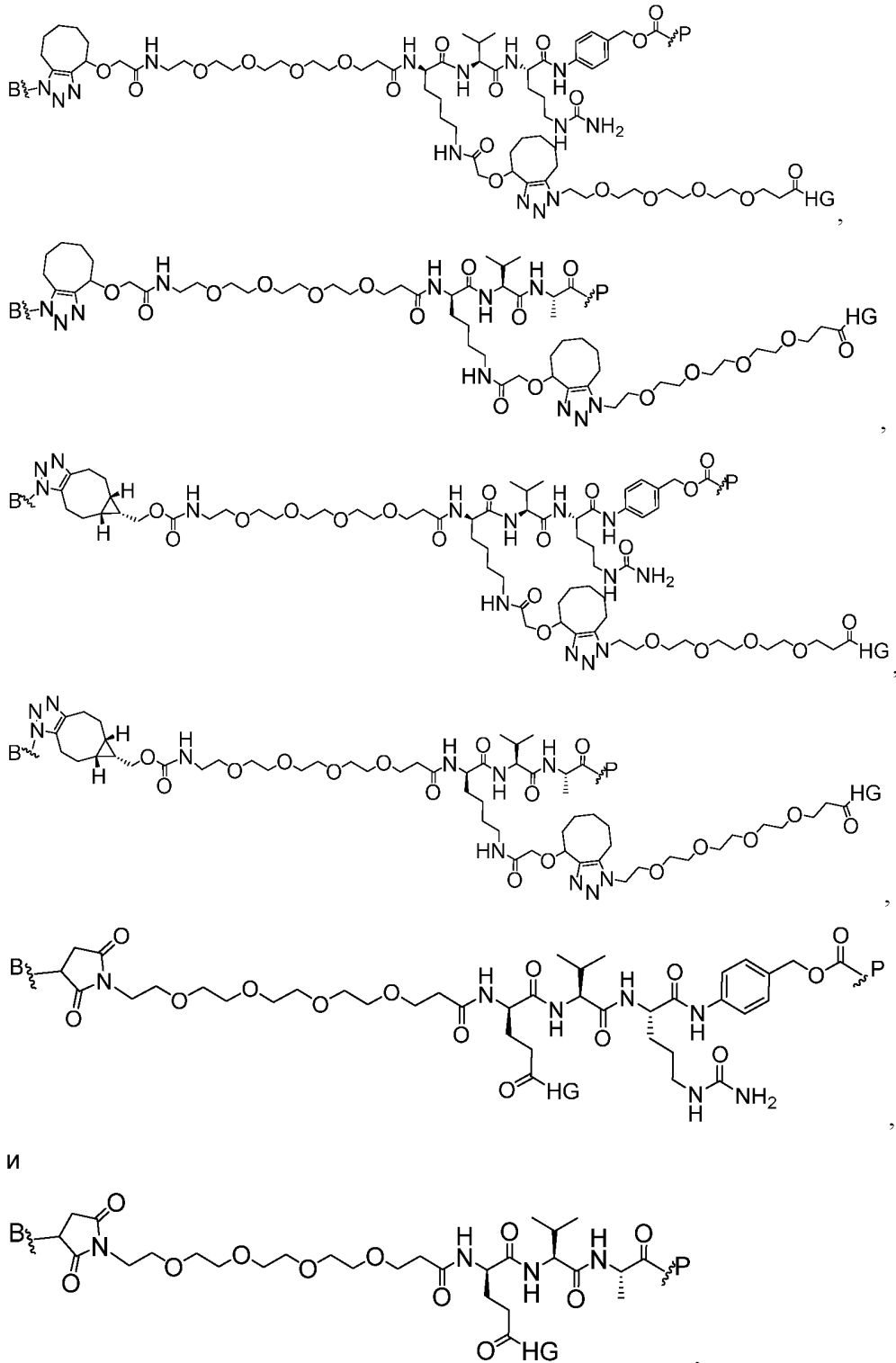
21. Соединение по любому из пп. 9-19, где



выбирают из группы, включающей:





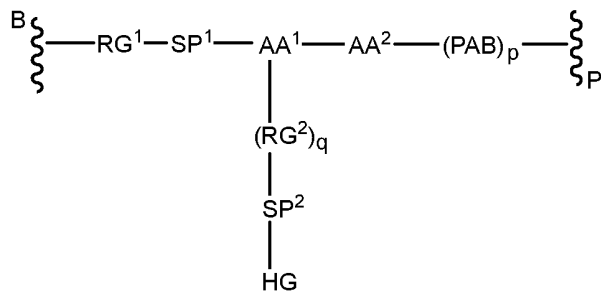


или его стереоизомерная форма, или его региоизомер или смесь региоизомеров, где

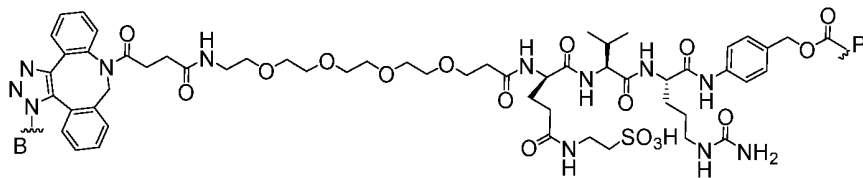
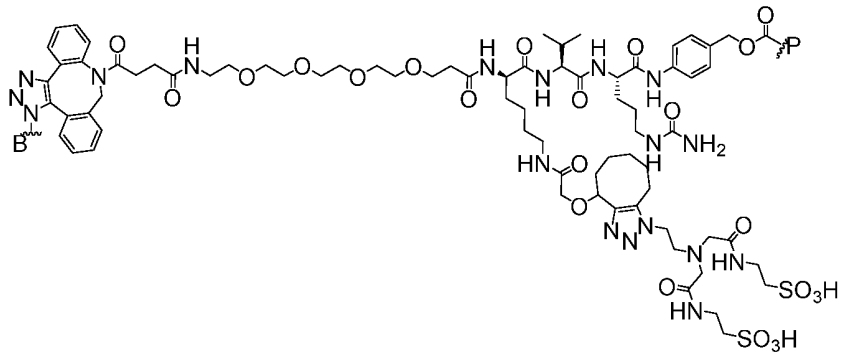
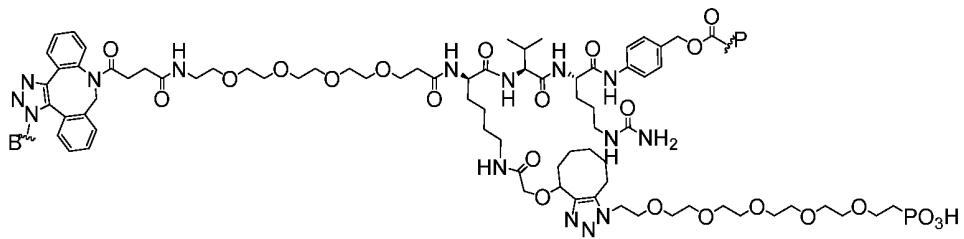
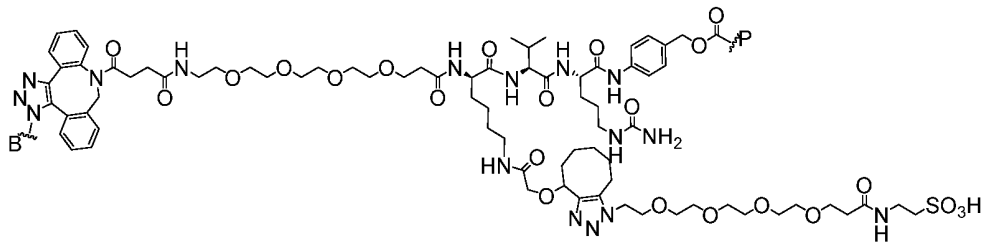
каждый  $Bz$  представляет собой связь со связующим агентом; и

каждый  $\begin{matrix} \text{P} \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{matrix}$  представляет собой связь с остатком полезной нагрузки.

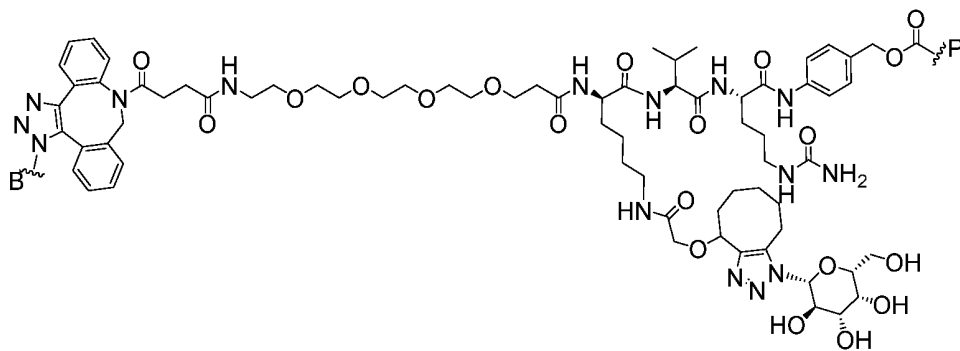
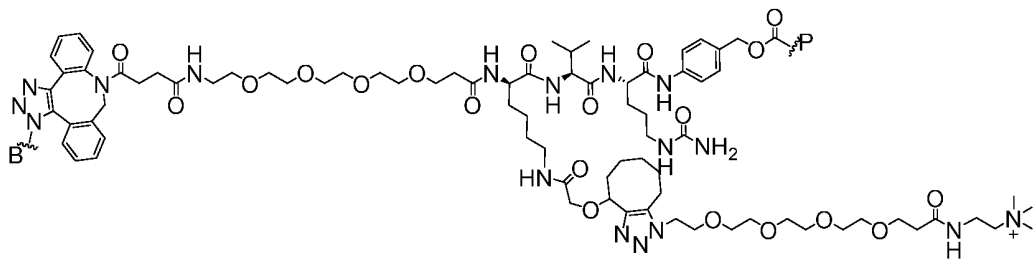
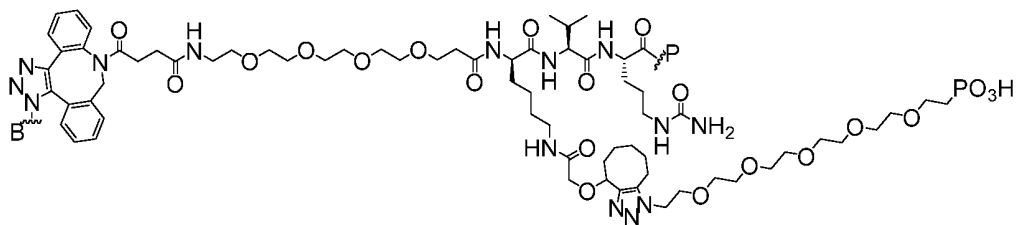
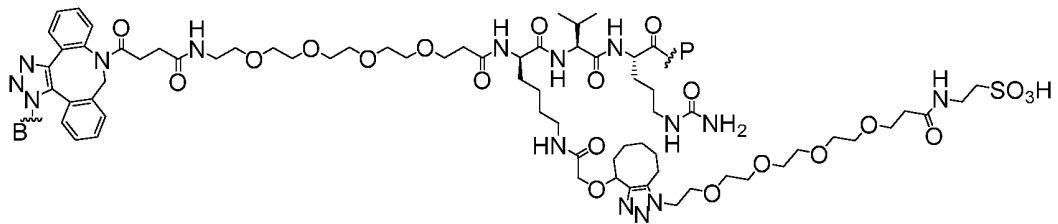
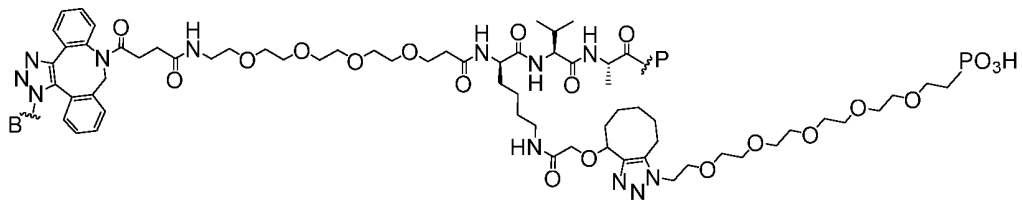
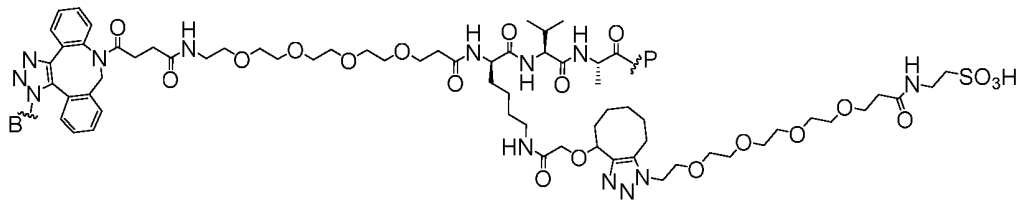
22. Соединение по любому из пп. 9-19, где

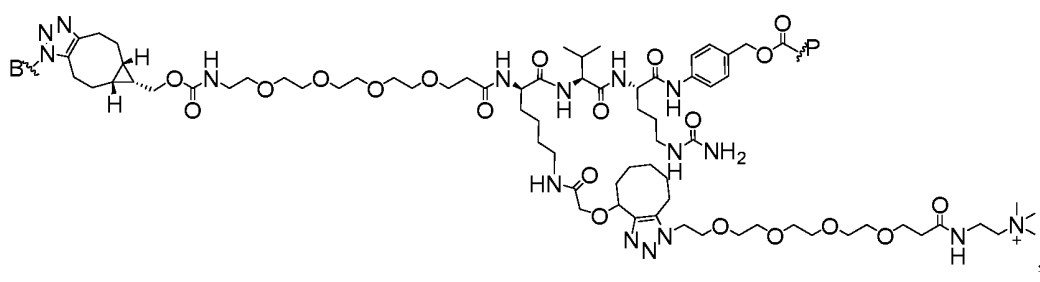
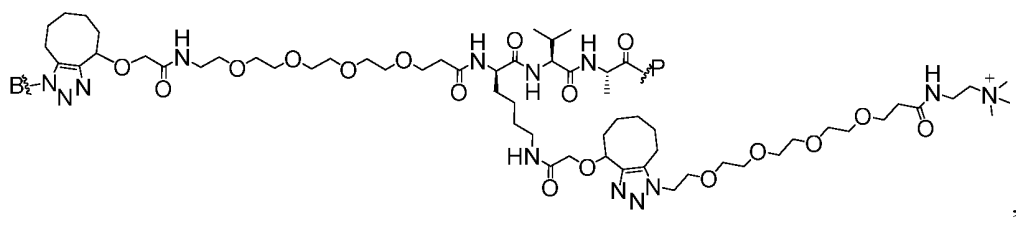
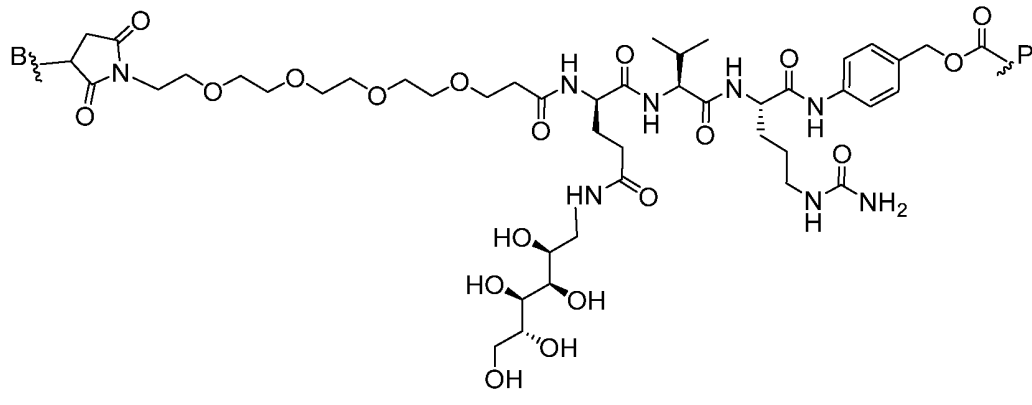
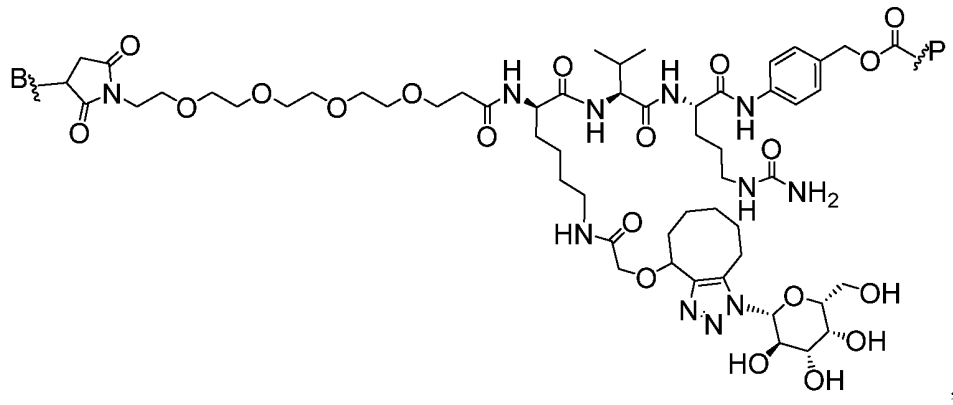
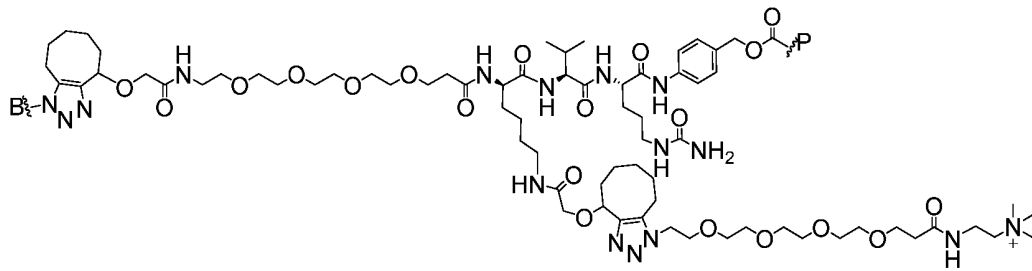


выбирают из группы, включающей:

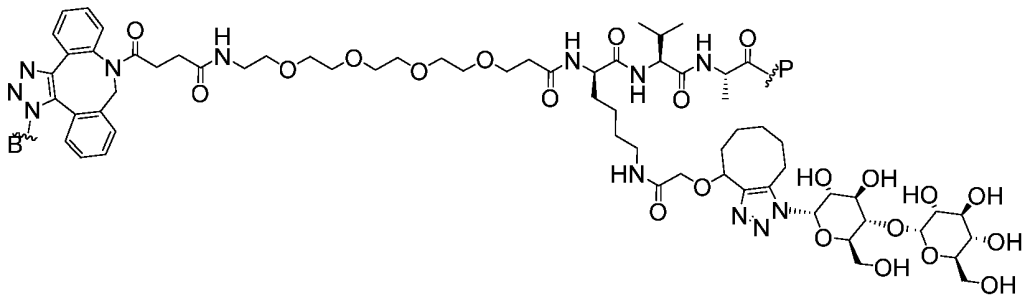








and

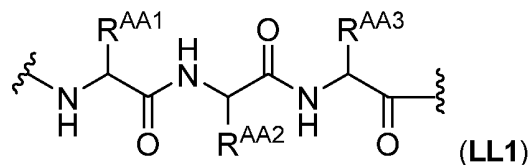


или его стереоизомерная форма, или региоизомер или смесь региоизомеров, где

каждый  $\text{B}^{\xi}$  представляет собой связь со связующим агентом; и

каждый  $\text{P}$  представляет собой связь с остатком полезной нагрузки.

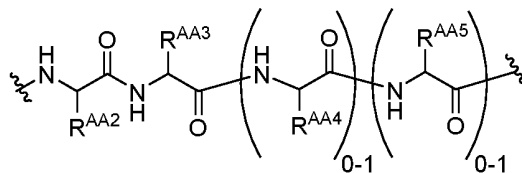
23. Соединение по п. 6, где **LL** имеет формулу (**LL1**):




где  $\text{R}^{\text{AA}1}$ ,  $\text{R}^{\text{AA}2}$ , и  $\text{R}^{\text{AA}3}$  каждый независимо является боковыми цепями аминокислот, по меньшей мере, одна из которых связана прямо или опосредованно с  $-(\text{RG}^2)_q\text{-SP}^2\text{-HG}$

24. Соединение по п.23, где  $\text{R}^{\text{AA}1}$  представляет собой боковую цепь лизина, глутамина, глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты, которая прямо или опосредовано связана с **HG**, и  $\text{R}^{\text{AA}2}$  и  $\text{R}^{\text{AA}3}$  являются боковыми цепями валина и аланина, либо валина и цитруллина, соответственно.

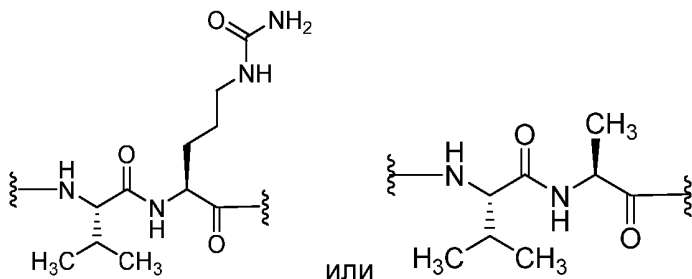
25. Соединение по любому из пп. 9-12, где  $\text{AA}^2$  представляет собой




где  $\text{R}^{\text{AA}2}$ ,  $\text{R}^{\text{AA}3}$ ,  $\text{R}^{\text{AA}4}$ , и  $\text{R}^{\text{AA}5}$  каждый, независимо, является боковыми цепями аминокислот, по меньшей мере одна из которых связана прямо или

опосредованно с  $-(RG^2)_q-SP^2-HG$ , где  указывает на атом, через который  $AA^2$  соединен с соседними группами в формуле.

26. Соединение по любому из пп. 9-12, где  $AA^2$  представляет собой



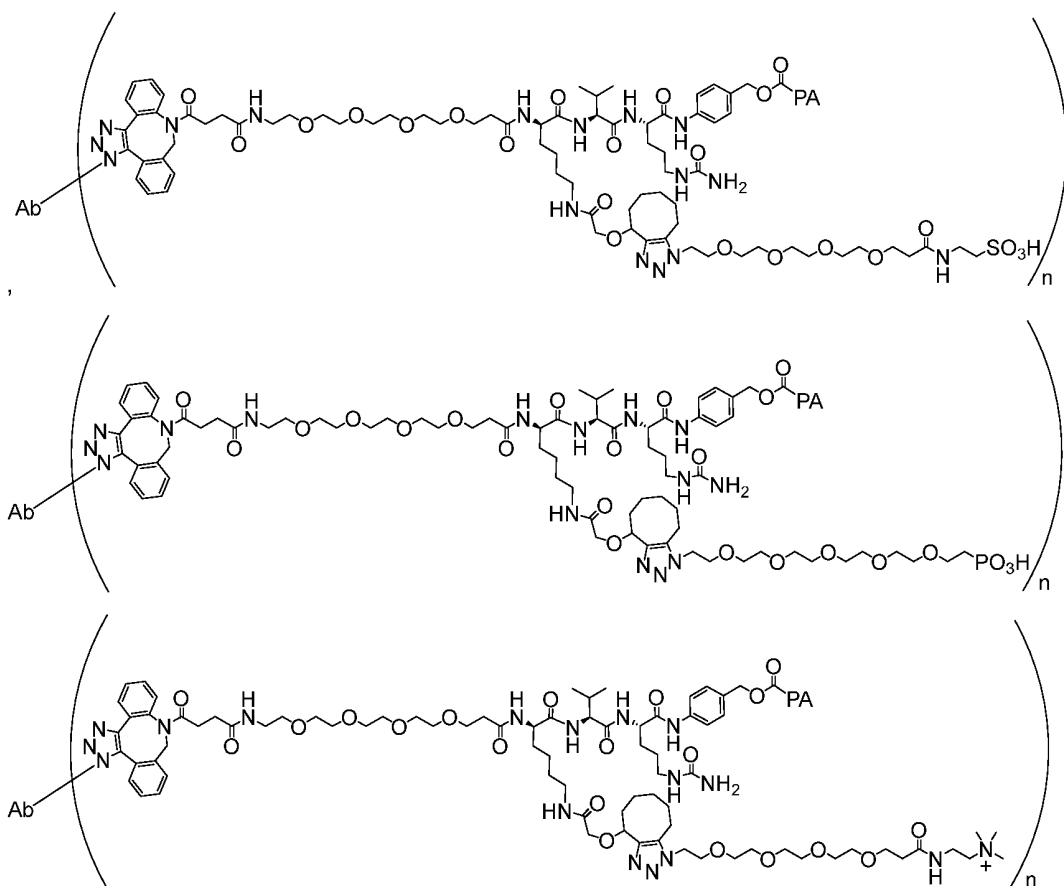
где  указывает на атом, через который  $AA^2$  соединен с соседними группами в формуле.

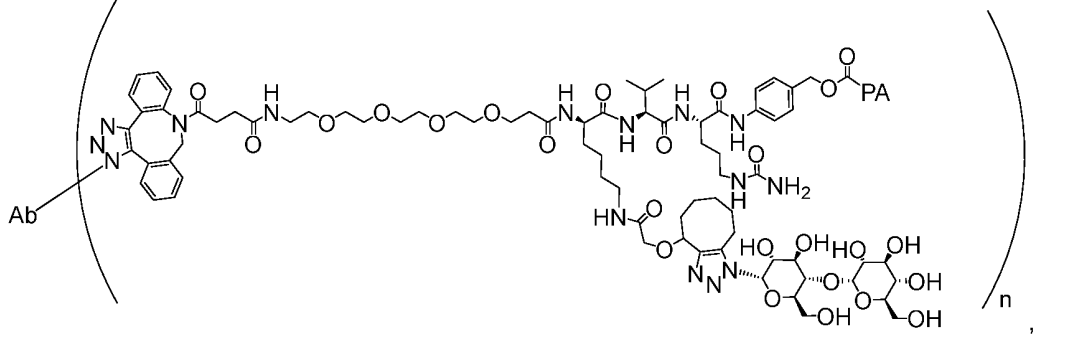
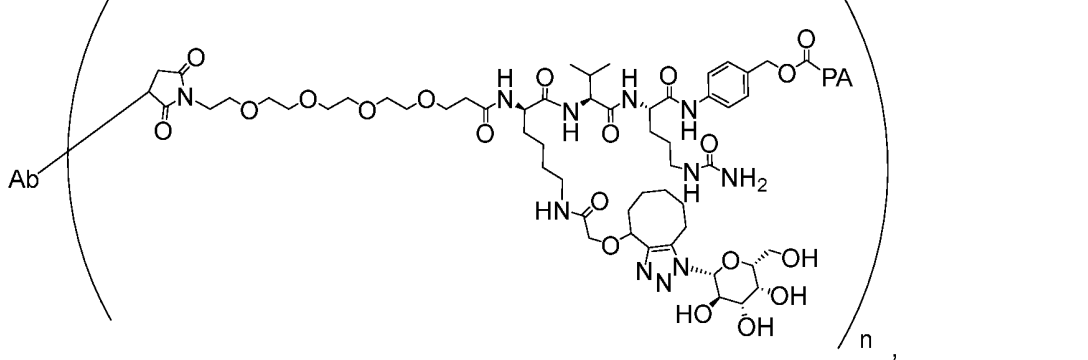
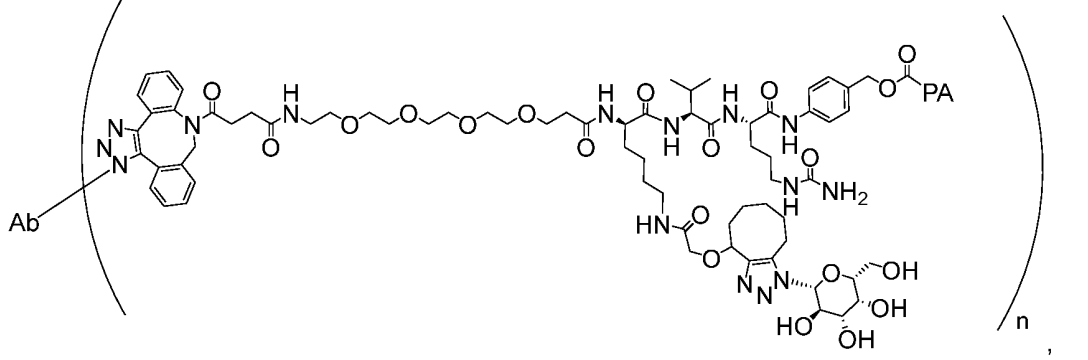
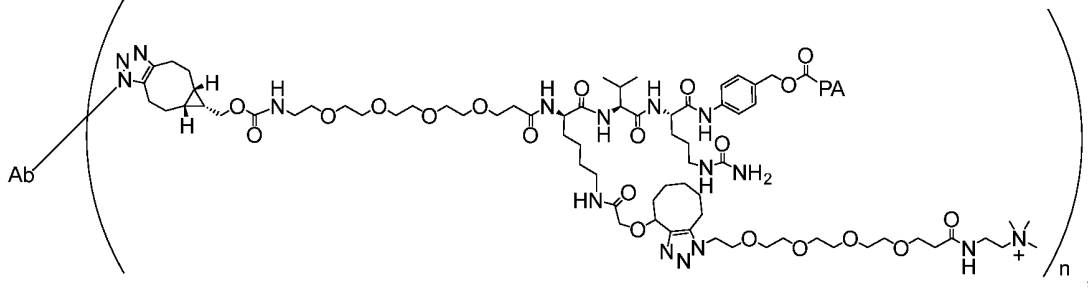
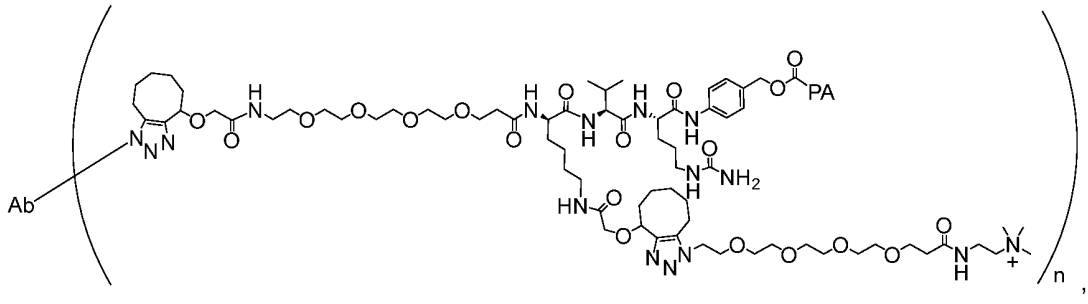
27. Соединение по любому из пп. 12-26, где подстрочный индекс  $e$  равен 4.
28. Соединение по любому из пп. 1-27, где связующий агент ( $BA$ ) является антителом или его антиген-связывающим фрагментом.
29. Соединение по любому из пп. 1-27, где связующий агент ( $BA$ ) является антителом, или его антиген-связывающим фрагментом, обладающим селективностью в отношении антигена, который выбирают из группы, включающей AXL, BAFFR, BCMA, компоненты перечня BCR, BDCA2, BDCA4, BTLA, BTNL2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C10 или f54, CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR9, CCR10, CD11c, CD137, CD138, CD14, CD168, CD177, CD19, CD20, CD209, CD209L, CD22, CD226, CD248, CD25, CD27, CD274, CD276, CD28, CD30, CD300A, CD33, CD37, CD38, CD4, CD40, CD44, CD45, CD46, CD48, CD5, CD52, CD55, CD56, CD59, CD62E, CD68, CD69, CD70, CD74, CD79a, CD79b, CD8, CD80, CD86, CD90.2, CD96, CLEC12A, CLEC12B, CLEC7A, CLEC9A, CR1, CR3, CRTAM, CSF1R, CTLA4, CXCR1/2, CXCR4, CXCR5, DDR1, DDR2, DEC-205, DLL4, DR6, FAP, Fc $\alpha$ mR, FcMR, FcR's, Fire, GITR, HHLA2, HLA класса II, HVEM, ICOSLG, IFNLR1, IL10R1, IL10R2, IL12R, IL13RA1, IL13RA2, IL15R, IL17RA, IL17RB, IL17RC, IL17RE, IL20R1, IL20R2, IL21R, IL22R1, IL22RA, IL23R, IL27R, IL29R, IL2Rg,

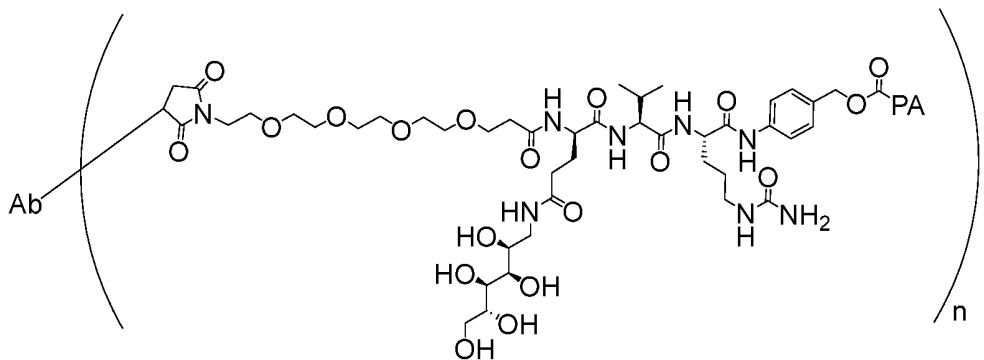
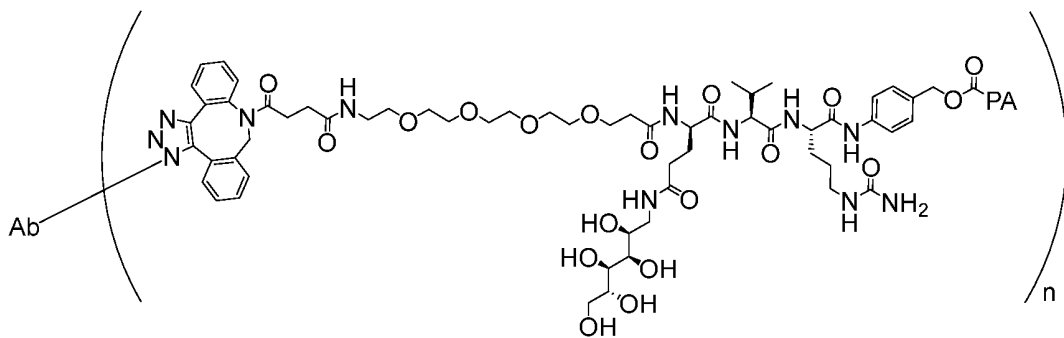
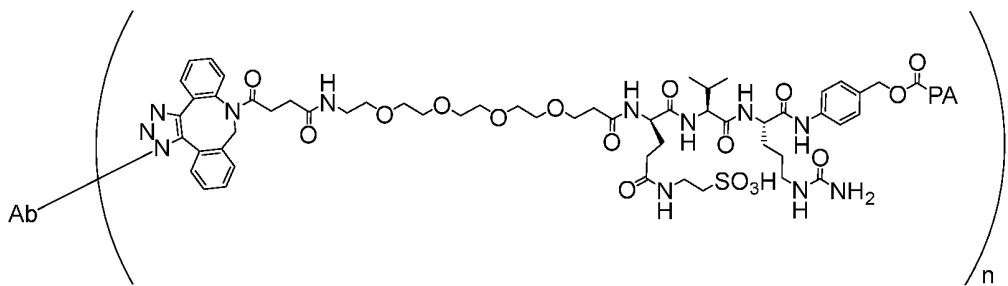
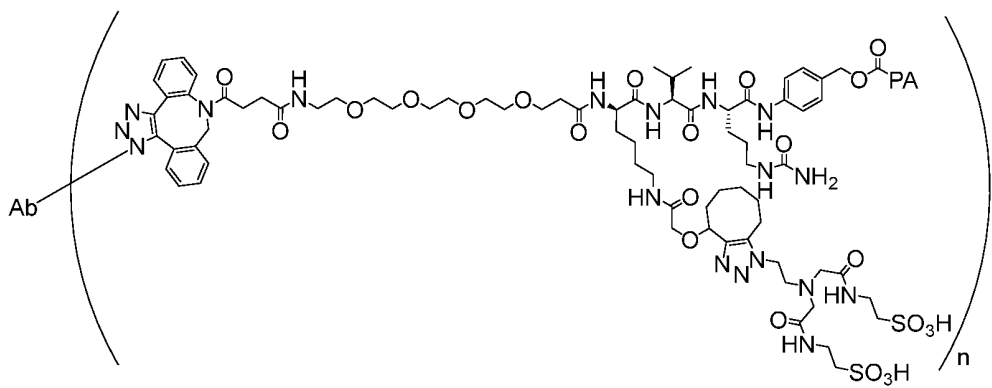
IL31R, IL36R, IL3RA, IL4R, IL6R, IL5R, IL7R, IL9R, интегрины, LAG3, LIFR, MAG/Siglec-4, MMR, MSR1, NCR3LG1, NKG2D, NKp30, NKp46, PDCD1, PROKR1, PVR, PVRIG, PVRL2, PVRL3, RELT, SIGIRR, Siglec-1, Siglec-10, Siglec-5, Siglec-6, Siglec-7, Siglec-8, Siglec-9, SIRPA, SLAMF7, TACI, компоненты/ассоциированные соединения из перечня TCR, PTCRA, TCRb, CD3z, CD3, TEK, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TIGIT, TLR2, TLR4, TROY, TSLPR, TYRO, VLDLR, VSIG4, и VTCN1.

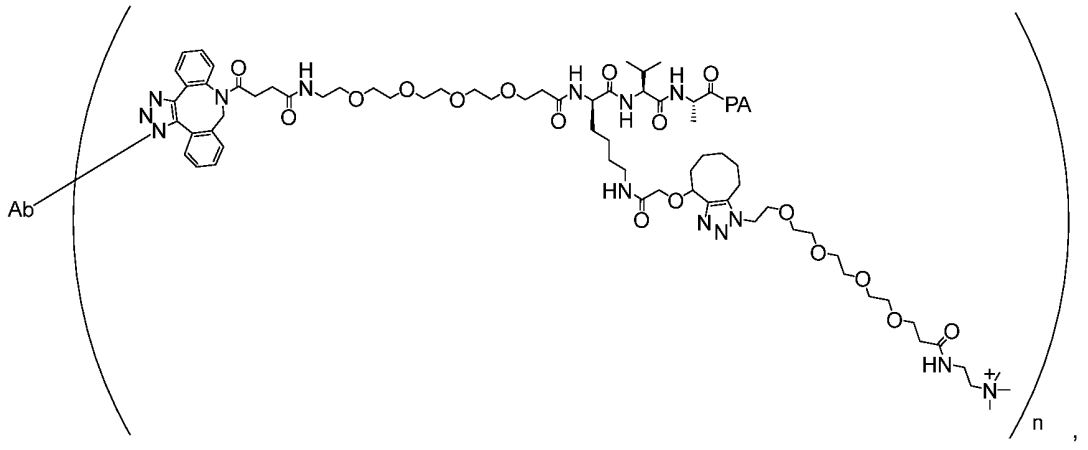
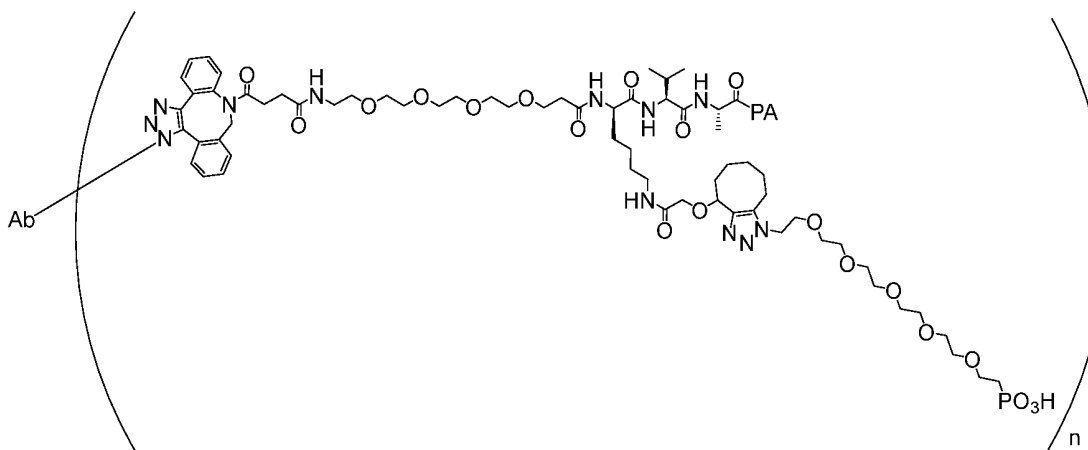
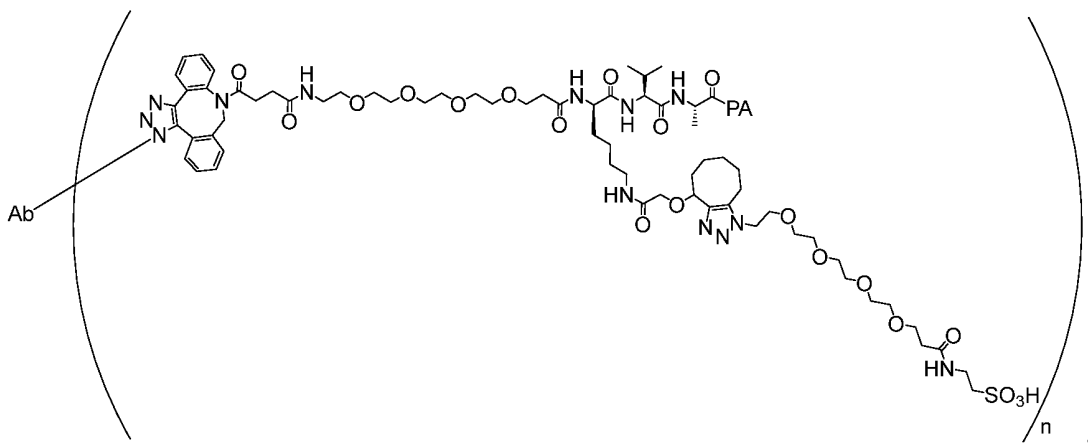
30. Соединение по любому из пп. 1-29, где **PA** представляет собой остаток группы, которую выбирают из группы, включающей доластатин, ауристатин, майтанзиноид, растительный алкалоид, таксан, алкалоид барвинка, стероид, и модулятор печеночного рецептора X (LXR).

31. Соединение по любому из пп. 1-30, которое выбирают из группы, включающей:

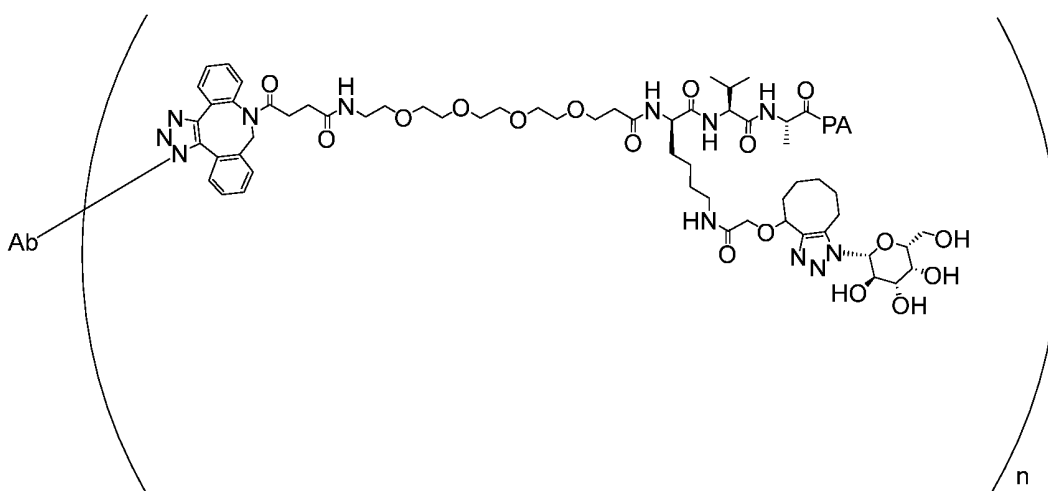
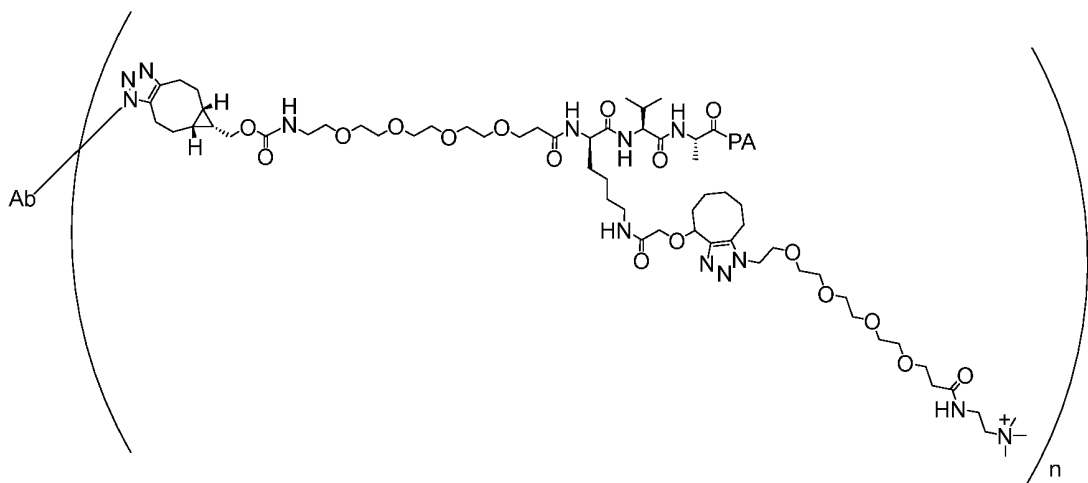
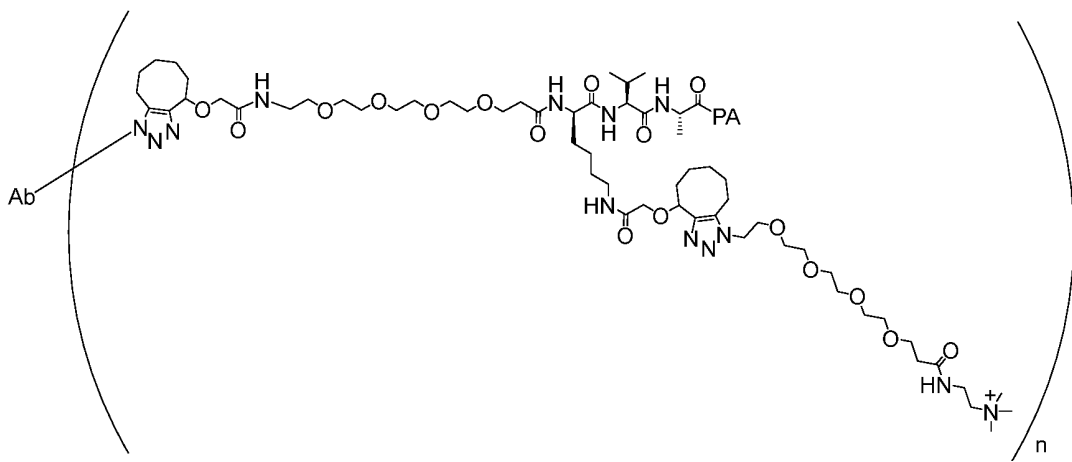


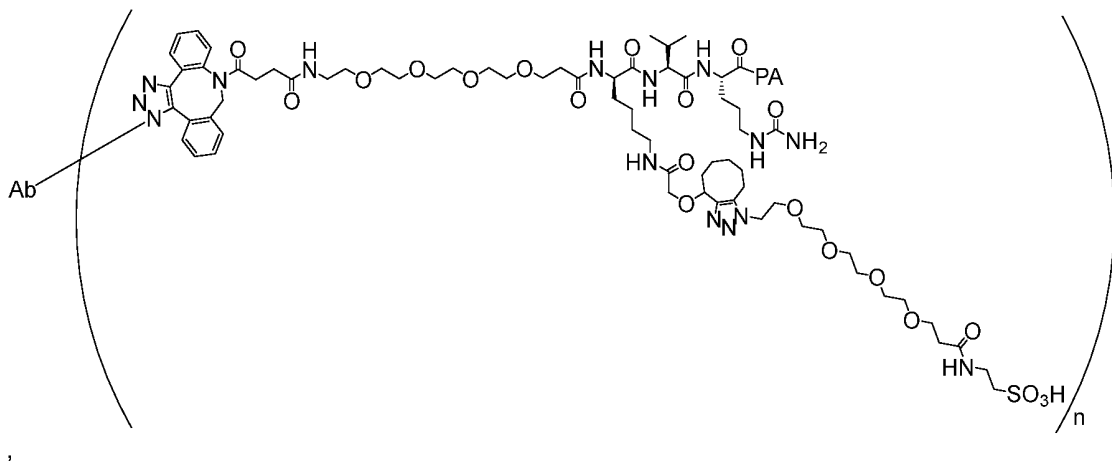
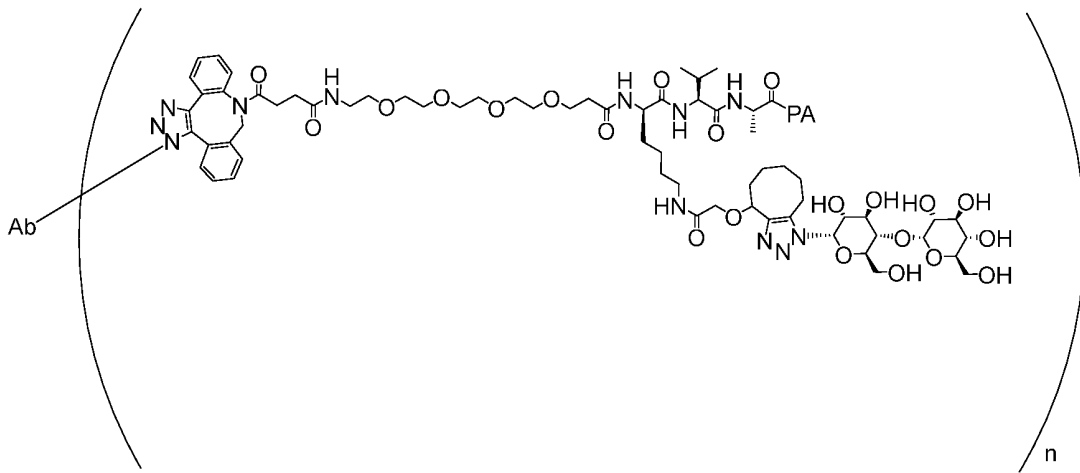
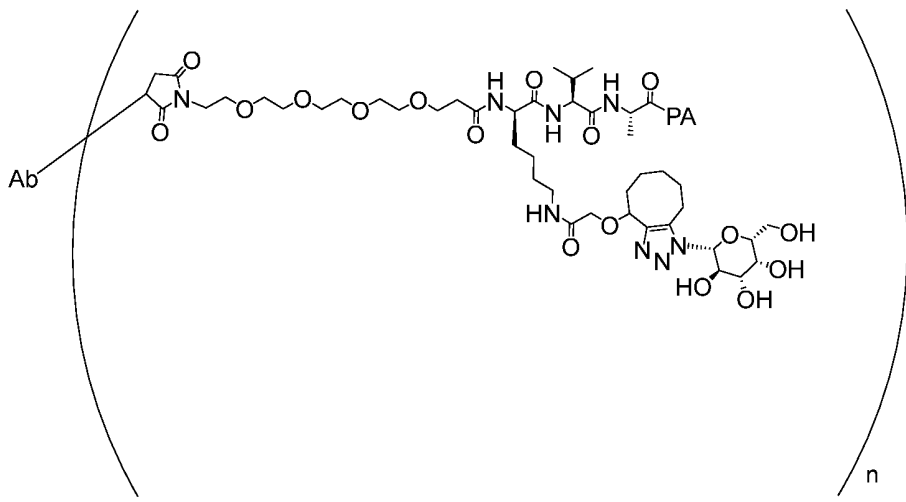


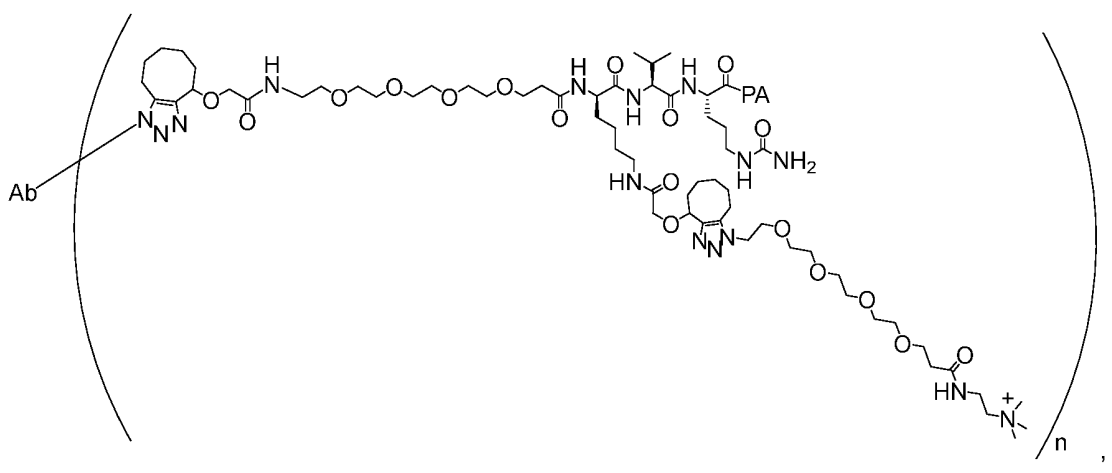
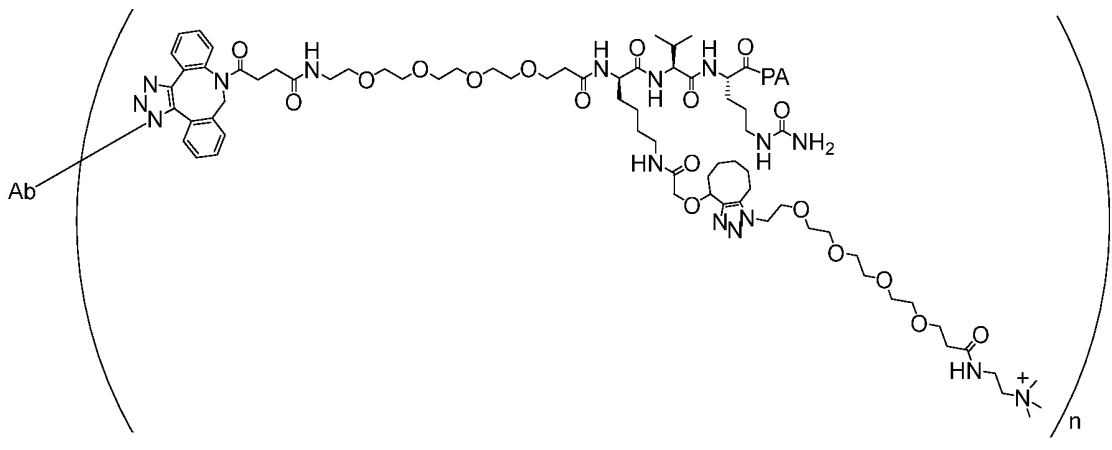
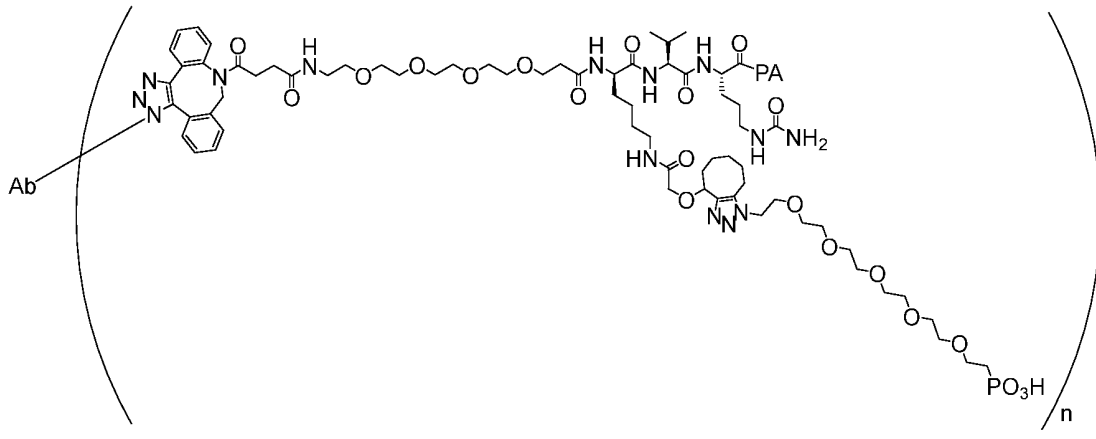


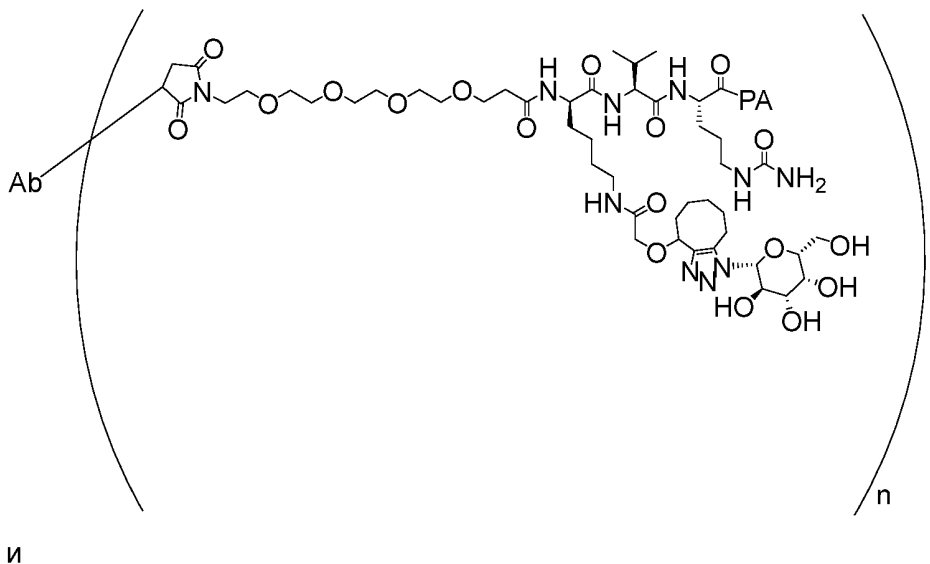
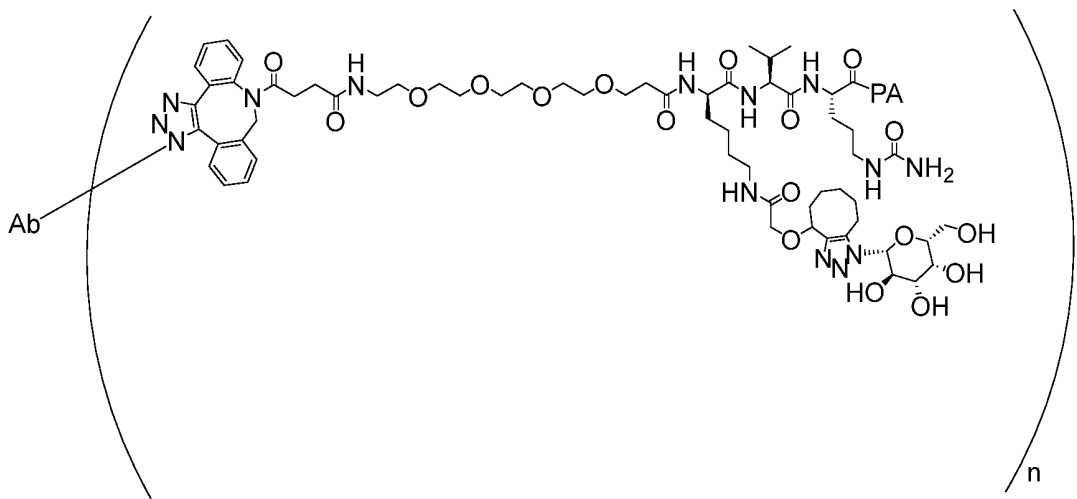
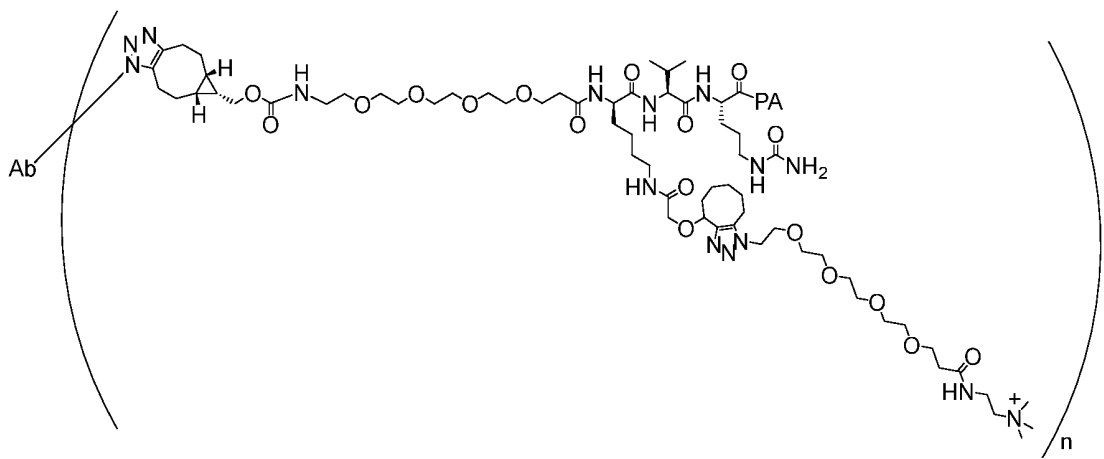


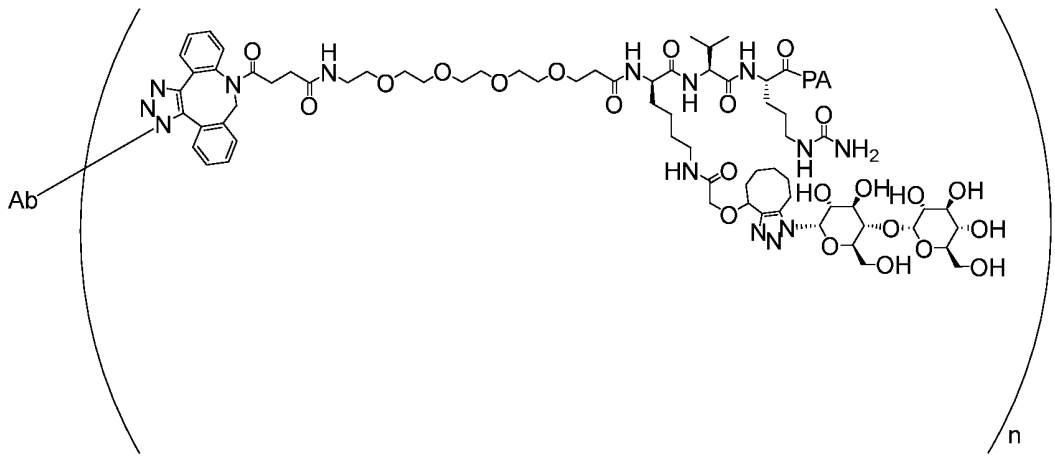






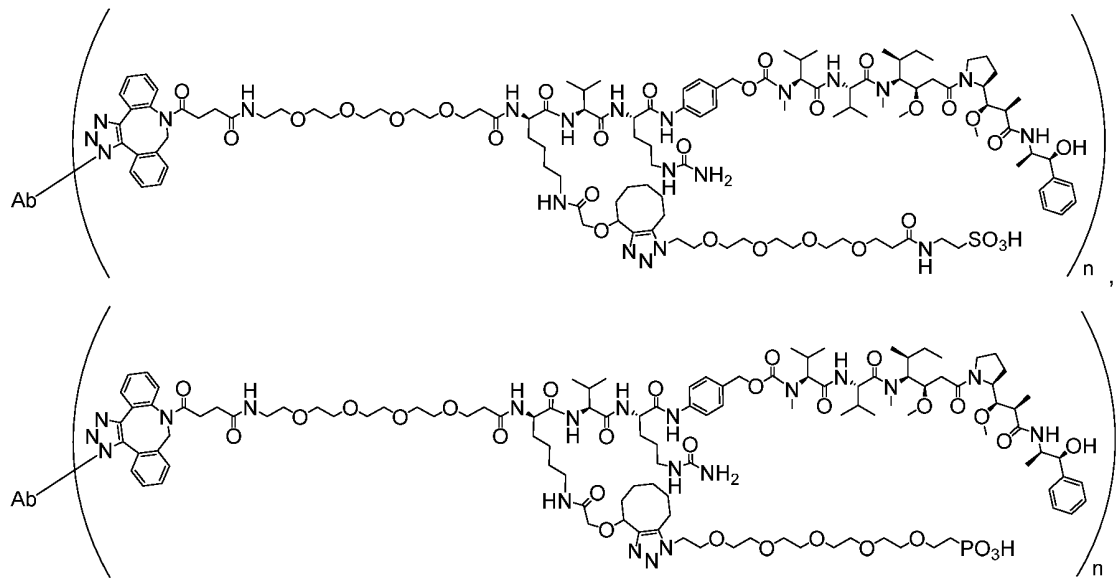


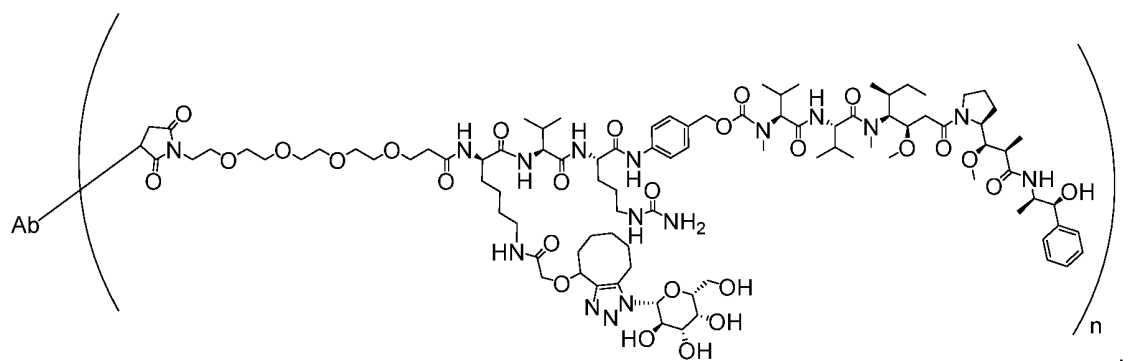
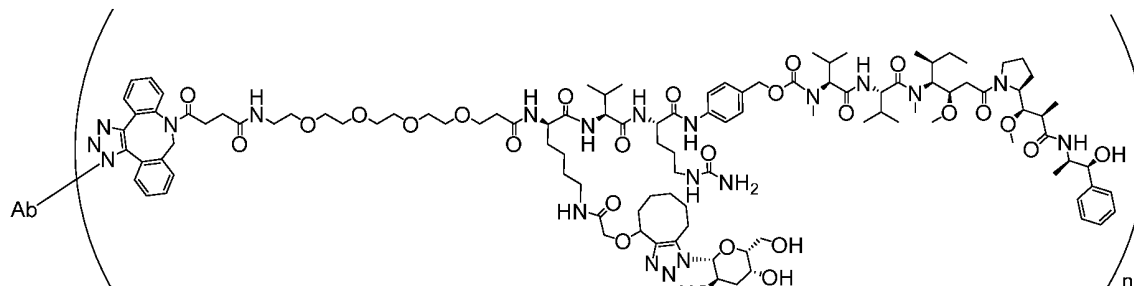
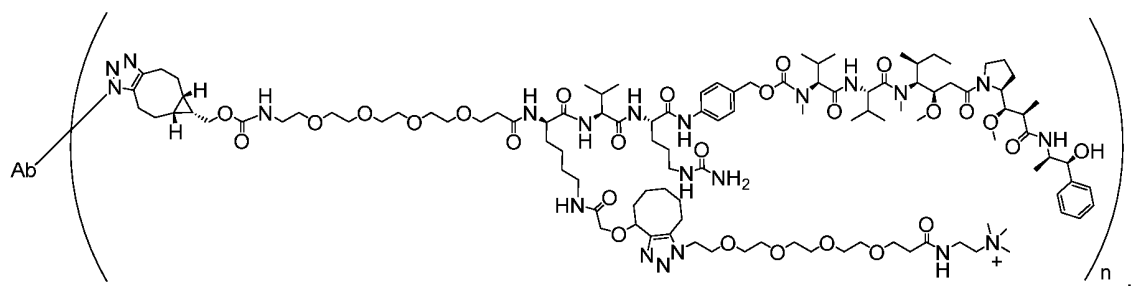
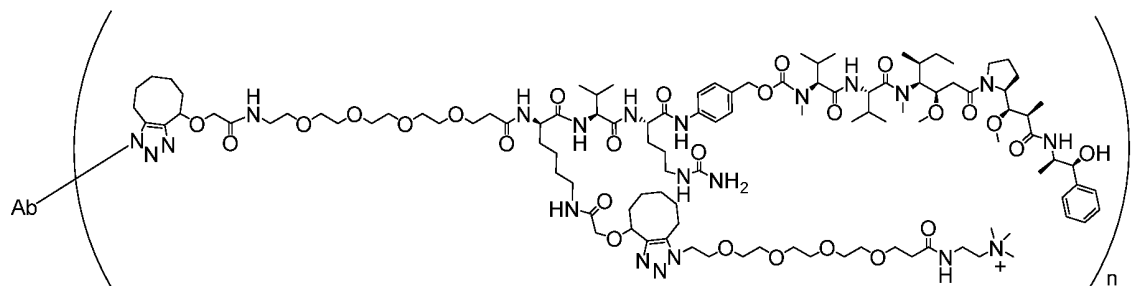
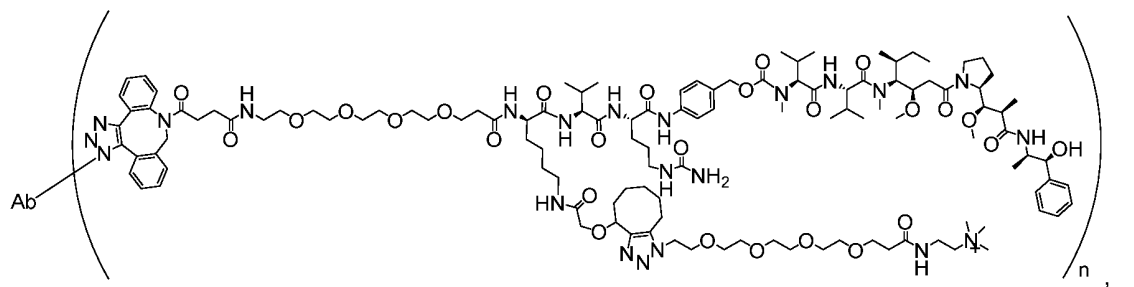


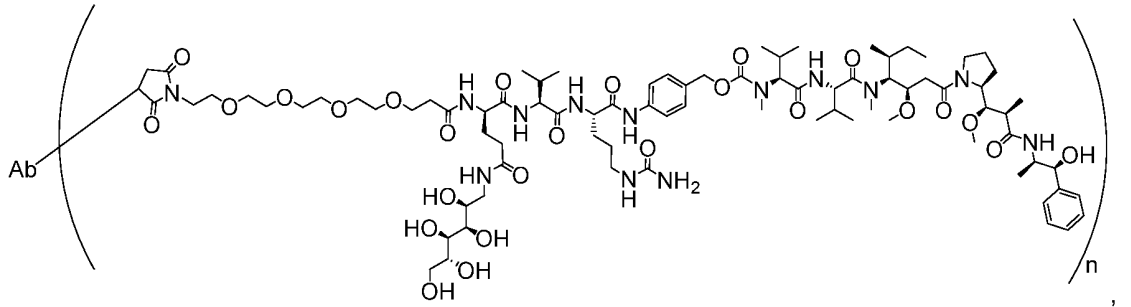
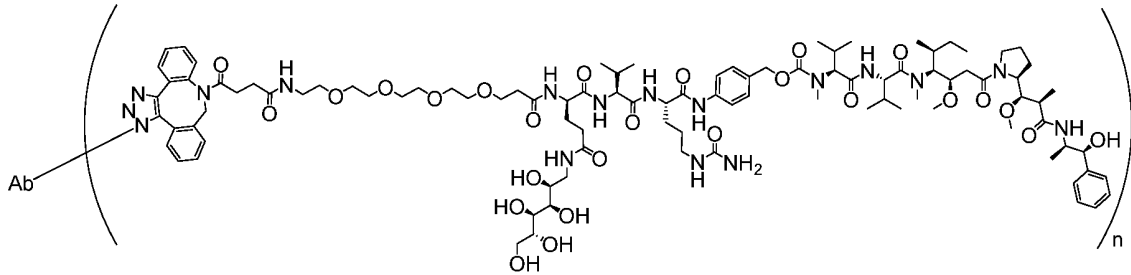
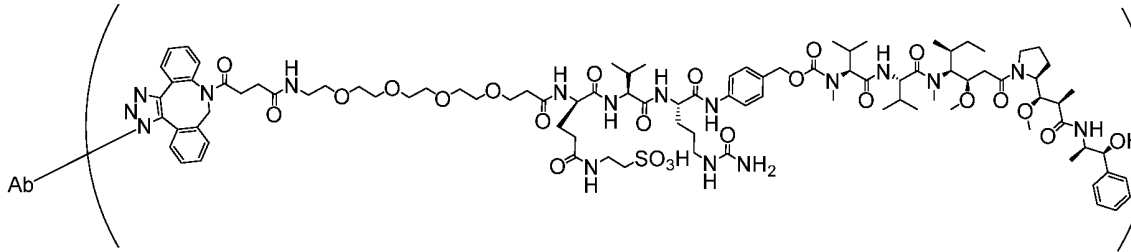
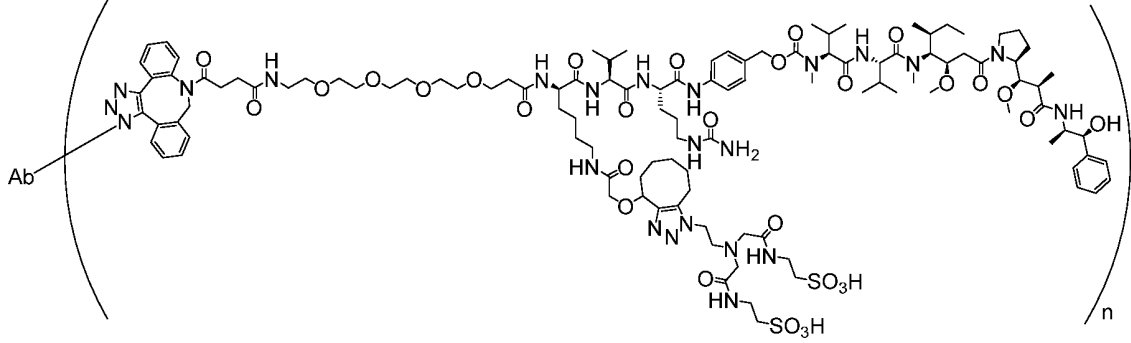
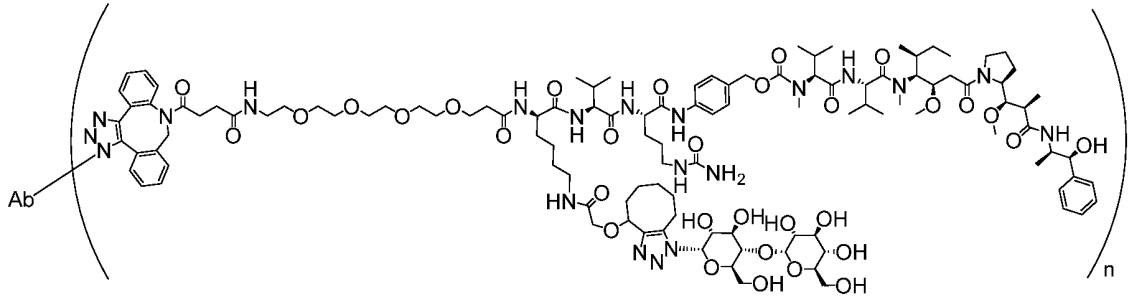


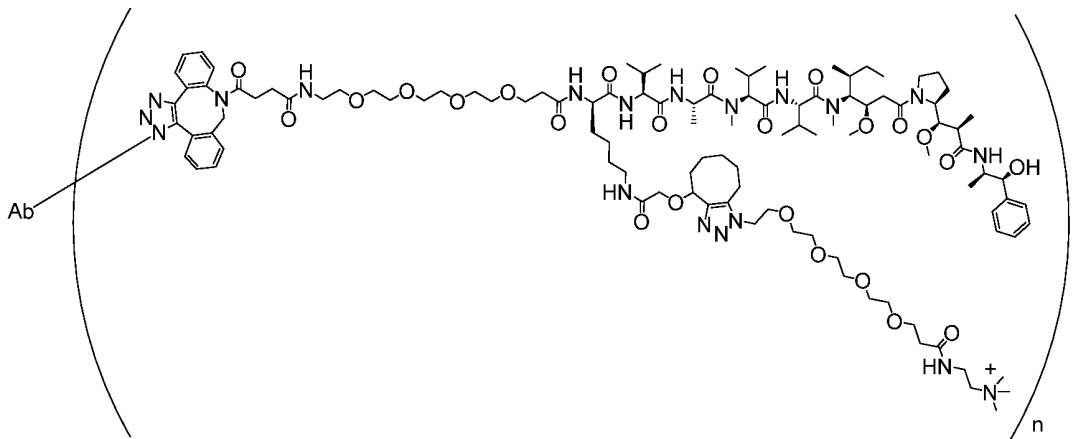
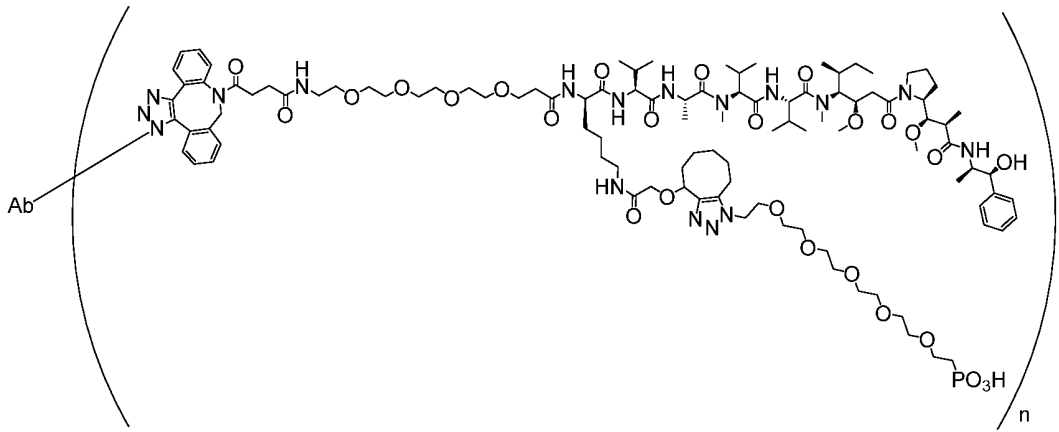
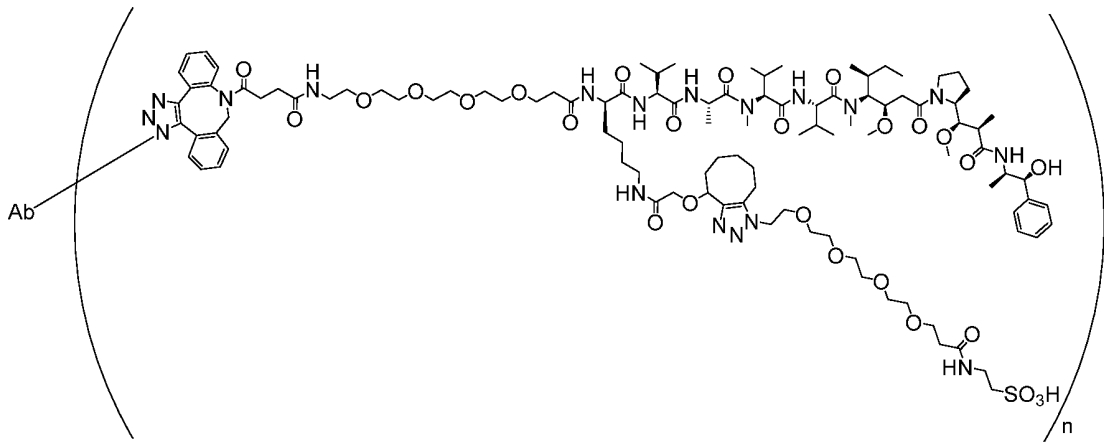
или его стереоизомерная форма, или региоизомер или смесь региоизомеров, где каждый **Ab** является антителом, или его антиген-связывающим фрагментом;  
**PA** представляет собой остаток полезной нагрузки; и  
 подстрочный индекс **n** является целым числом от 1 до 30.

32. Соединение по любому из пп. 1-30, которое выбирают из группы, включающей:



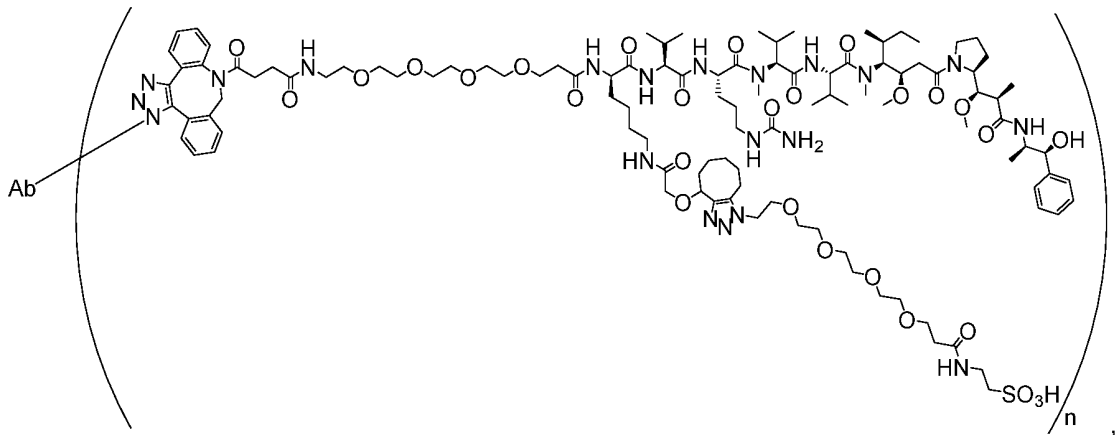
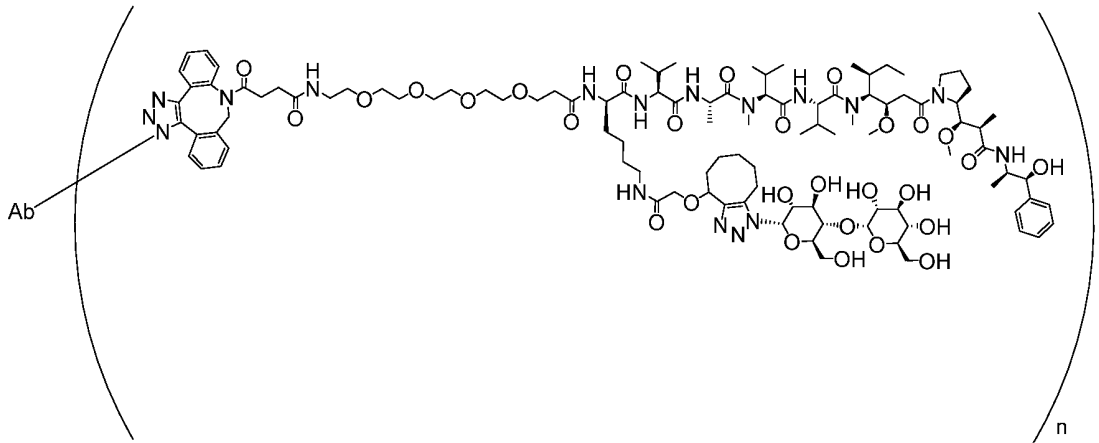
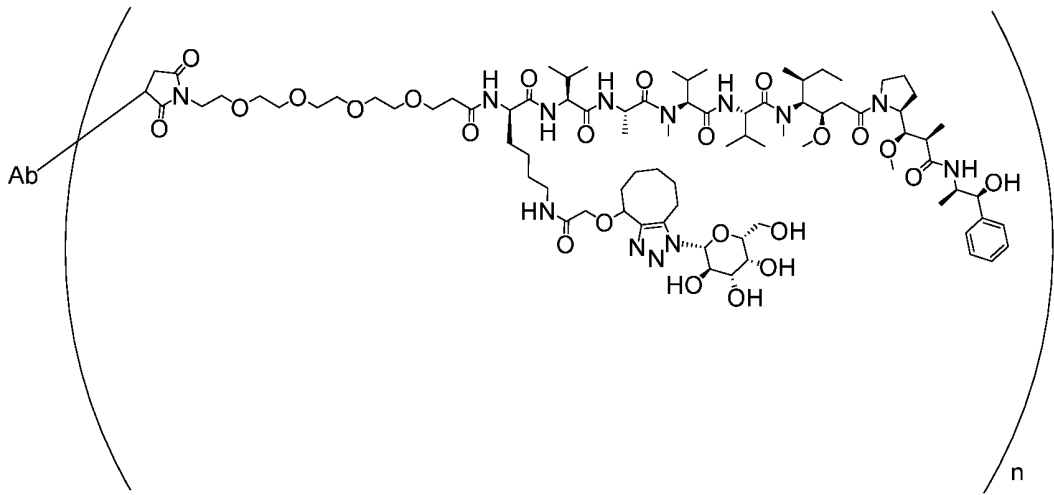


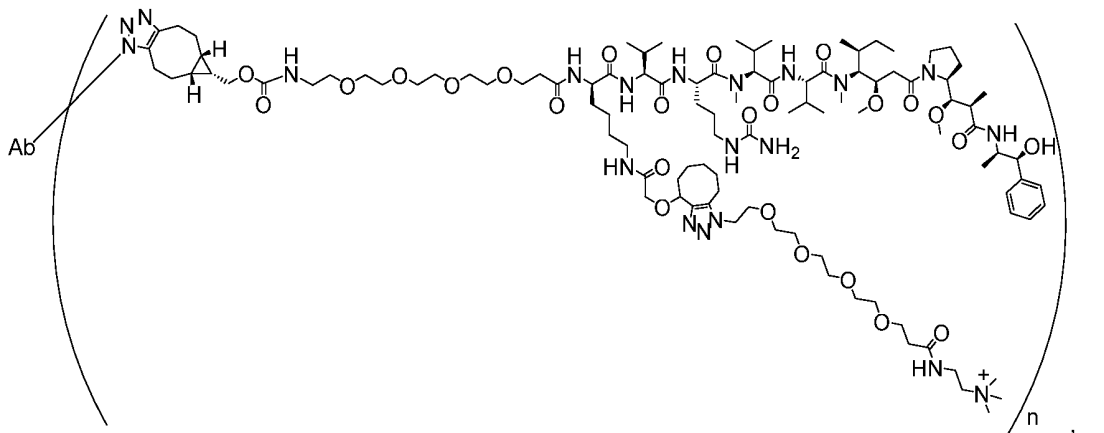
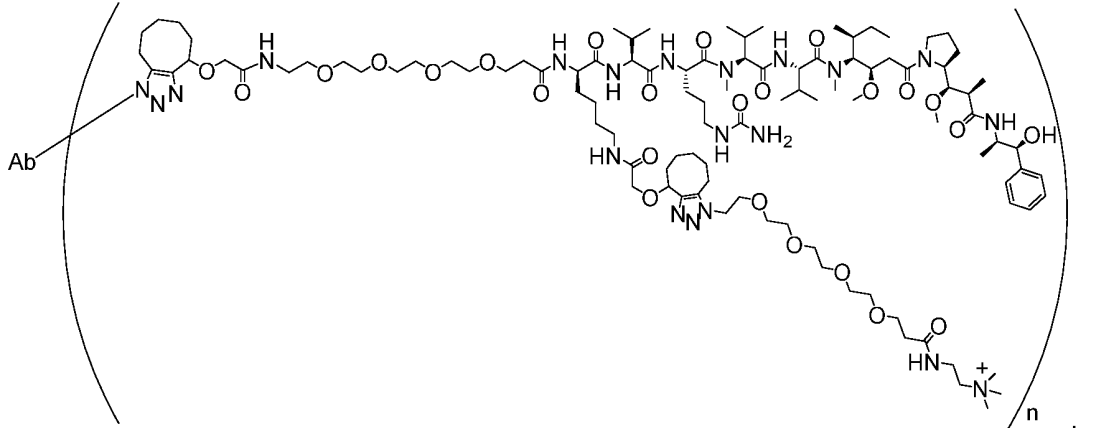
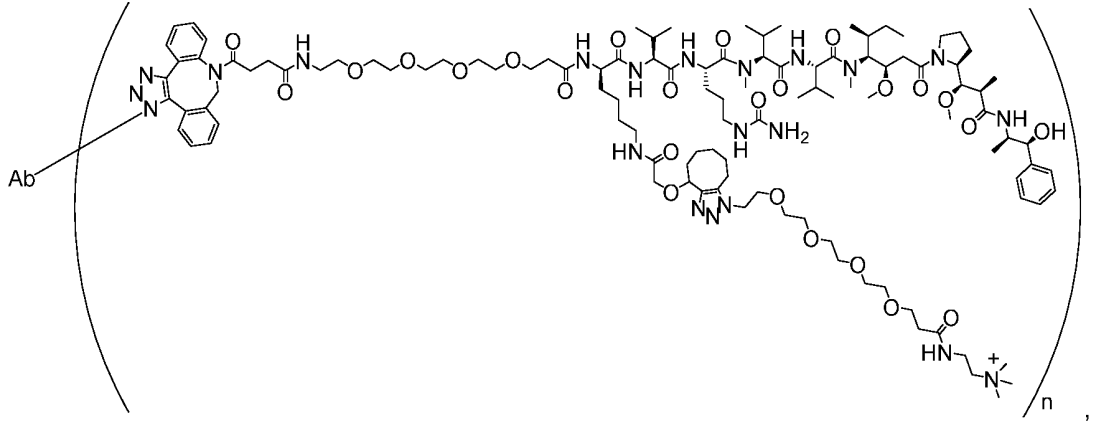
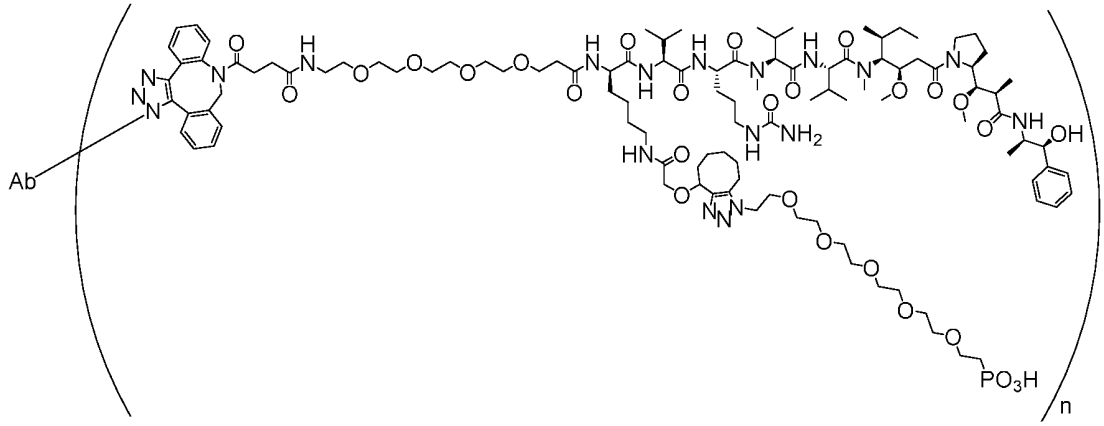


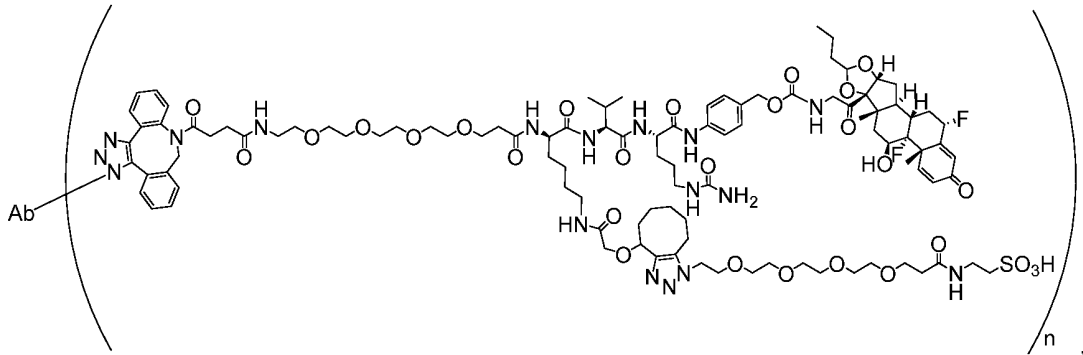
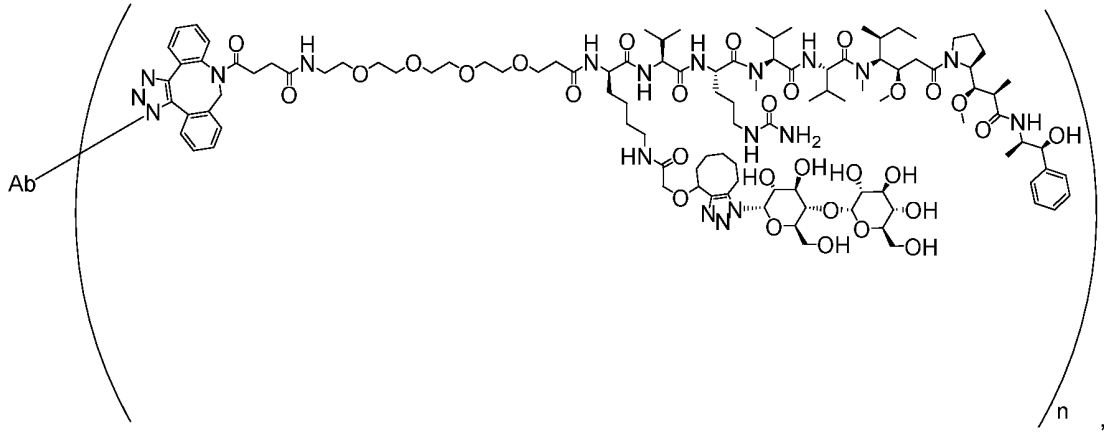
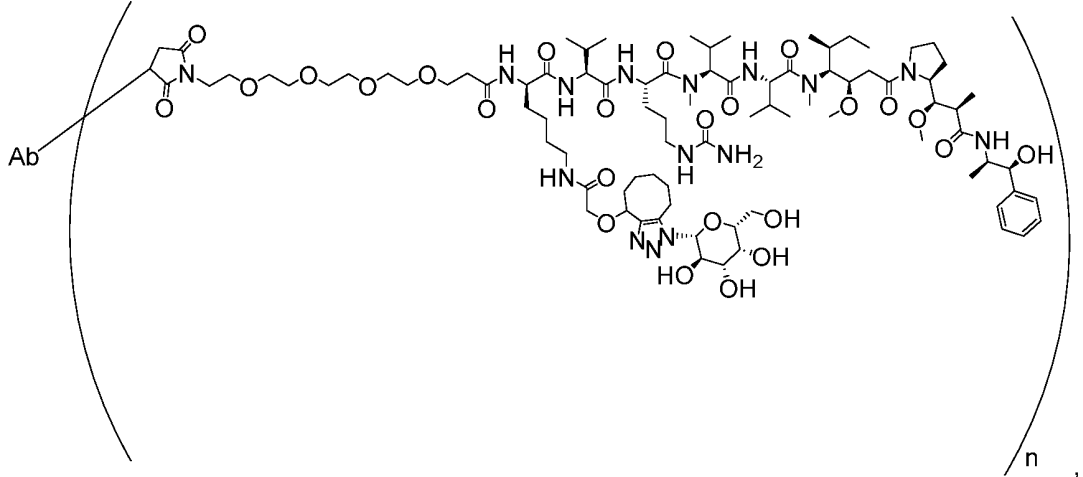
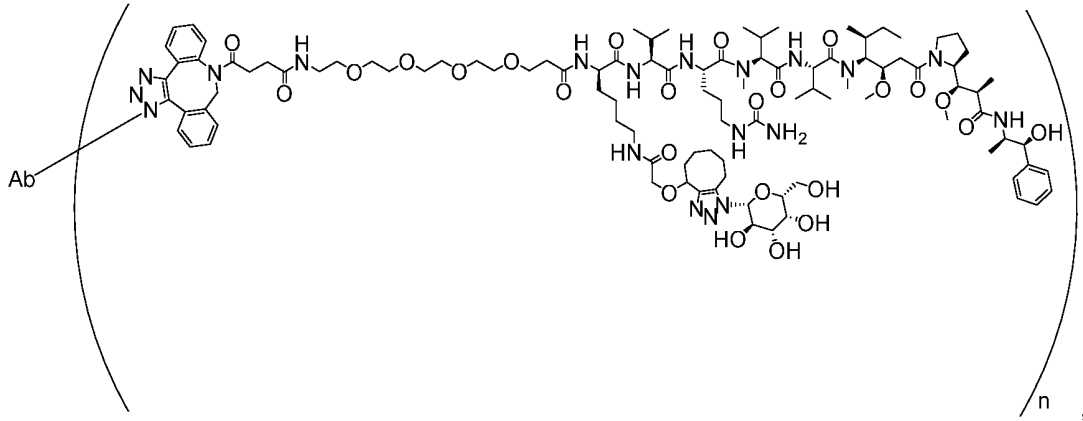


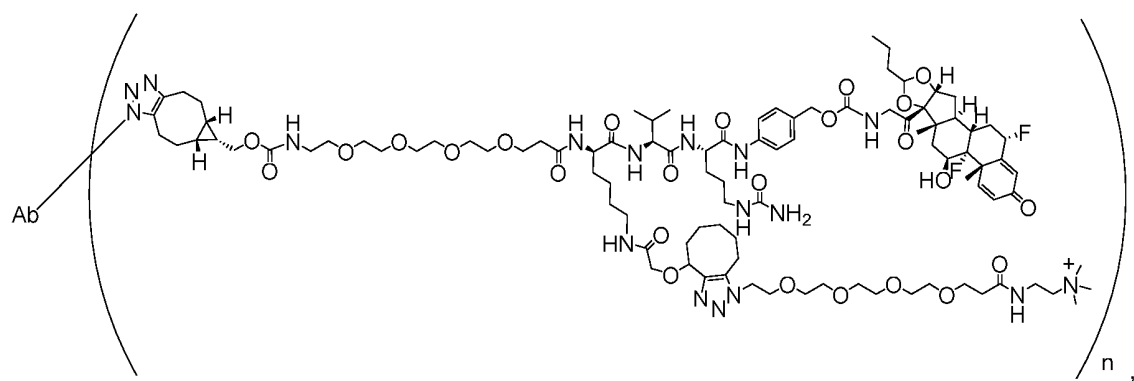
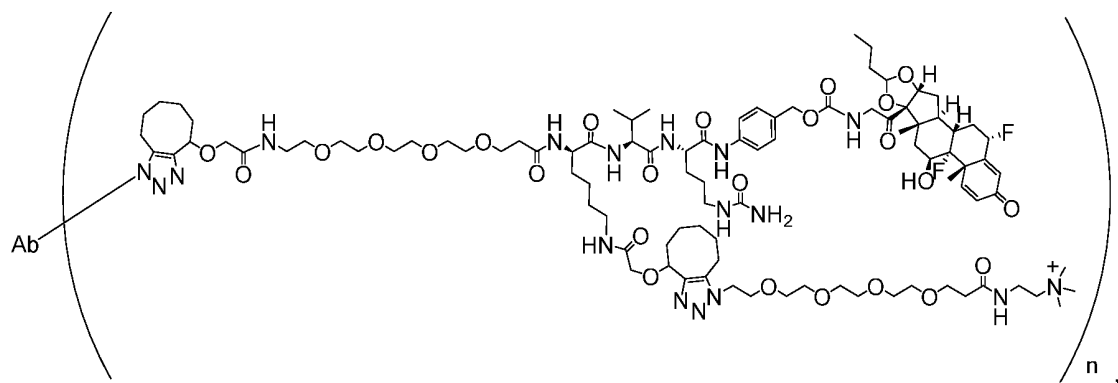
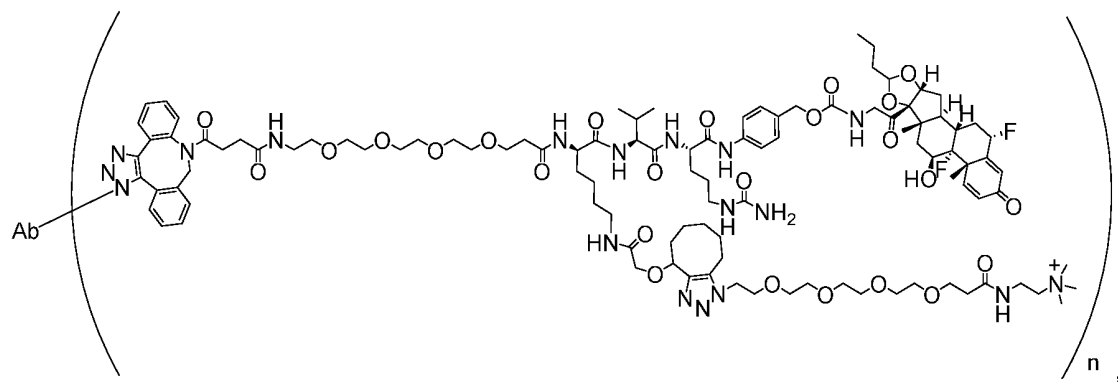
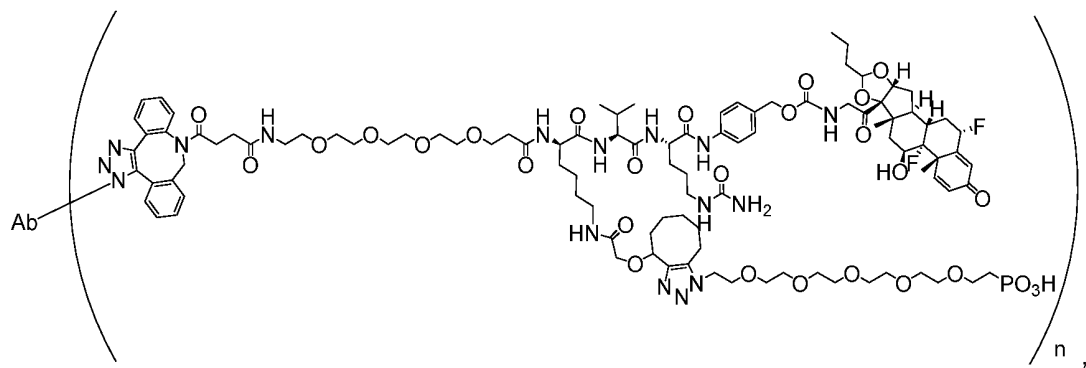


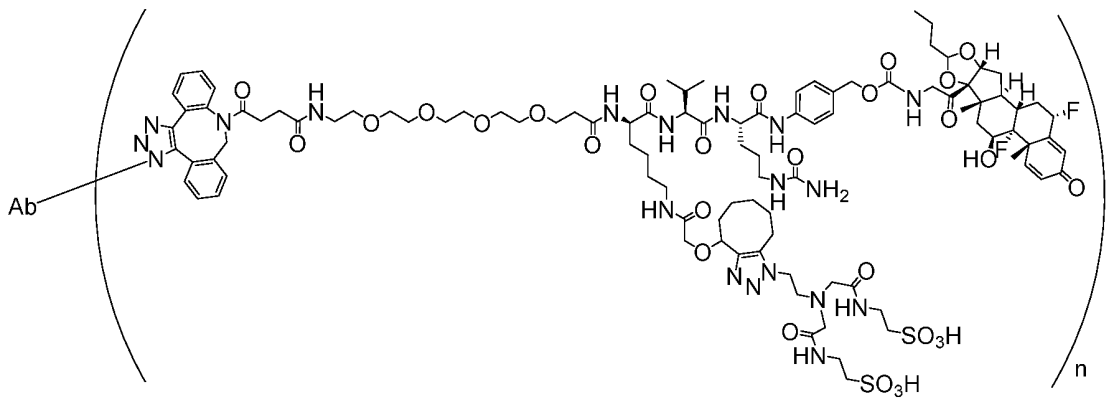
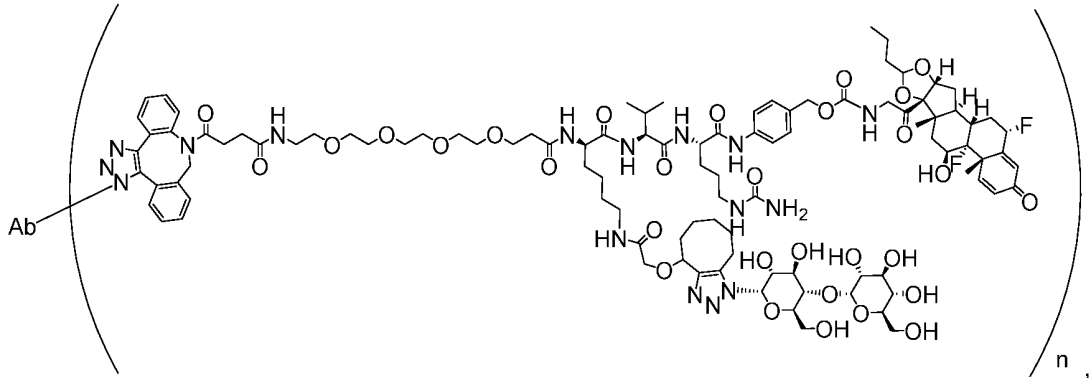
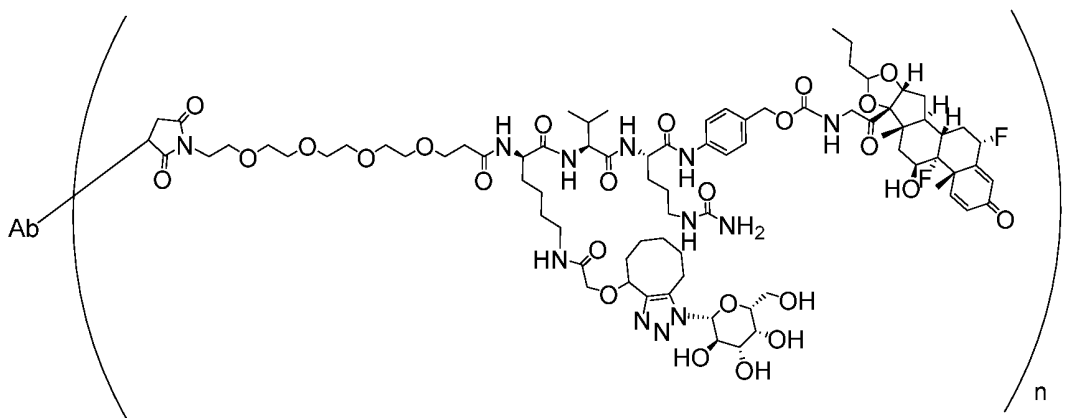
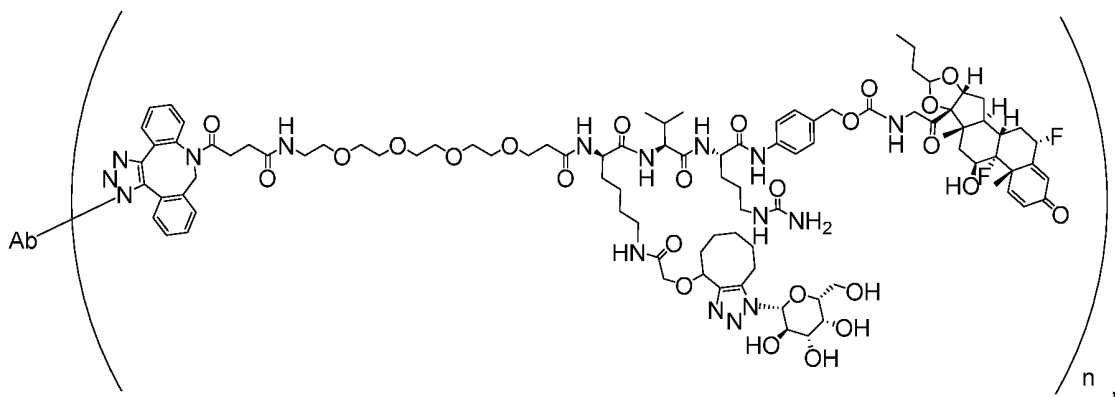


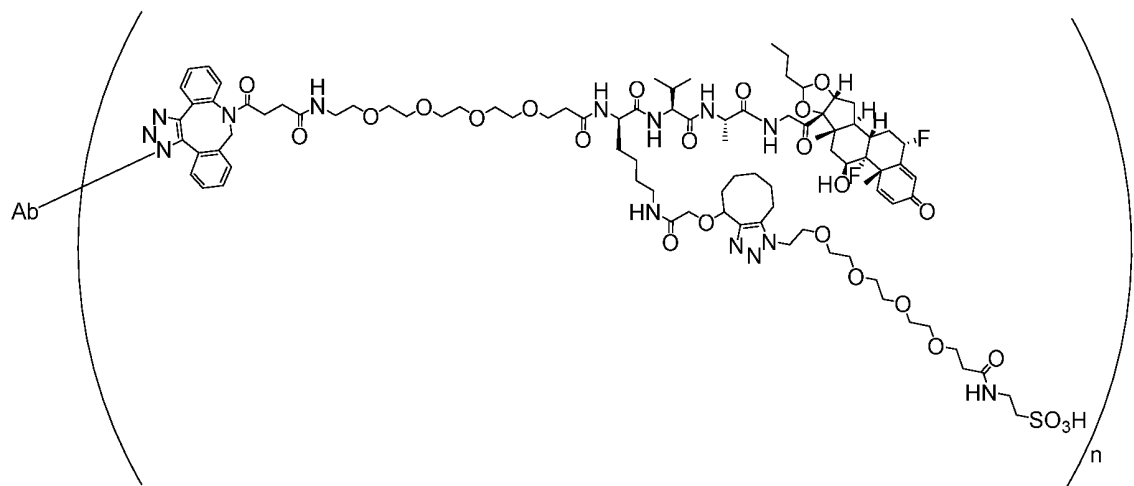
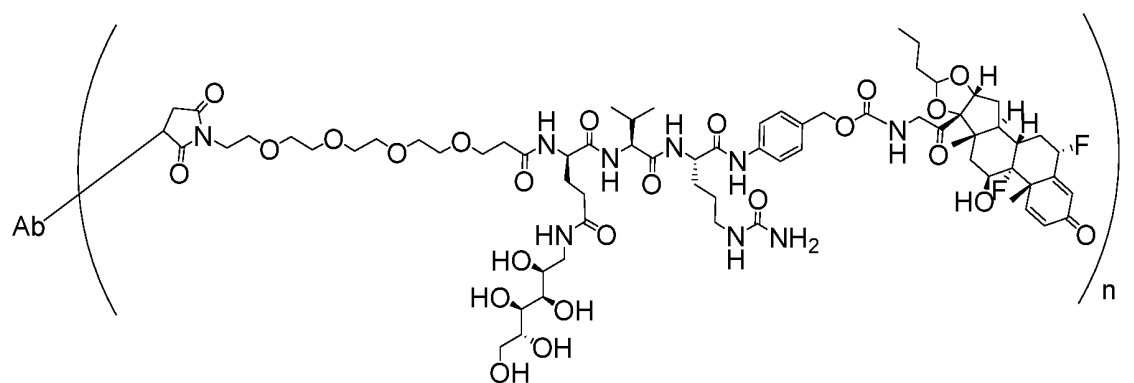
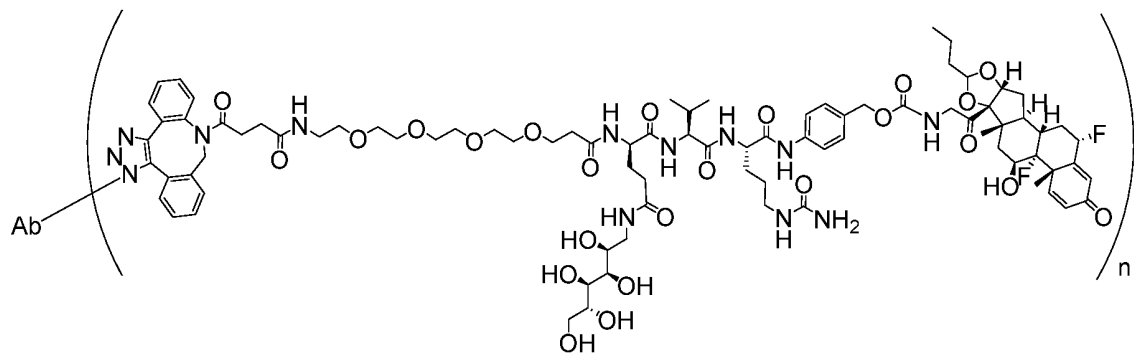
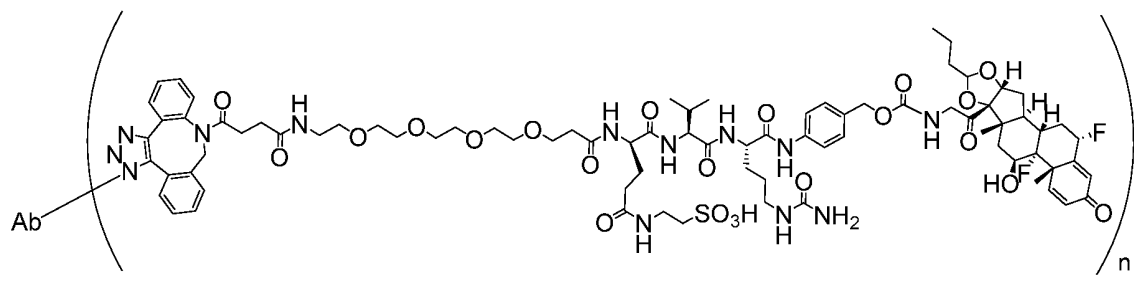


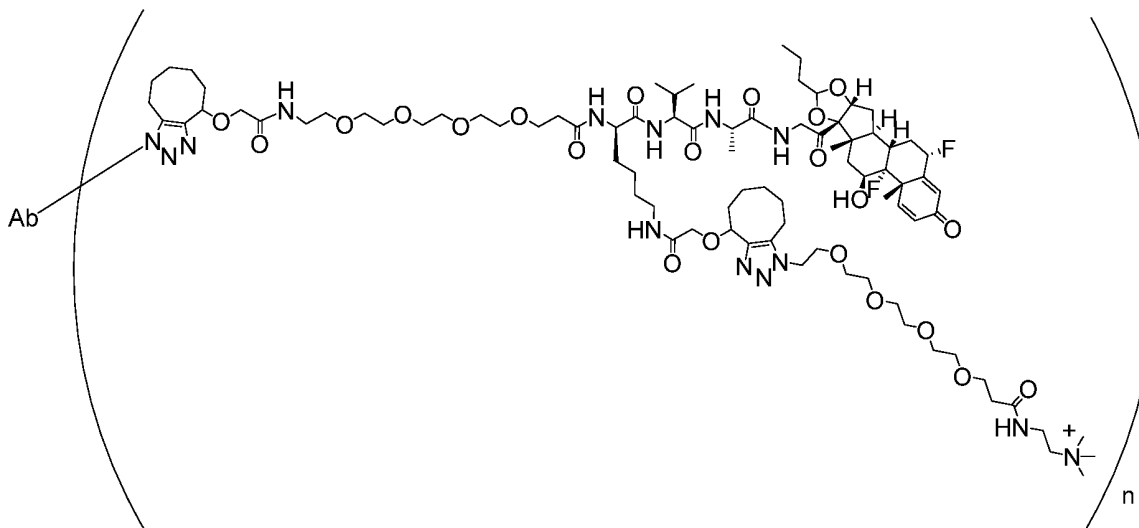
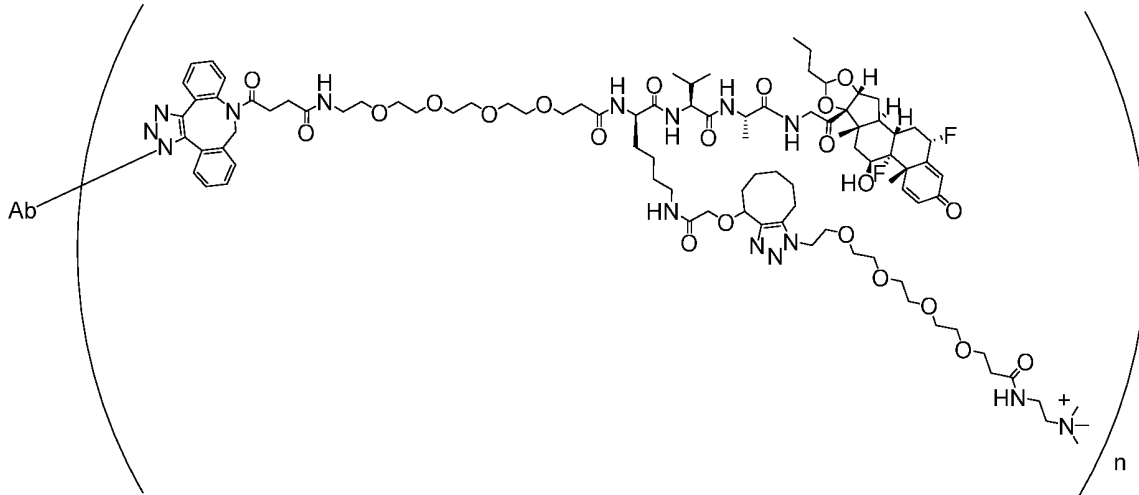
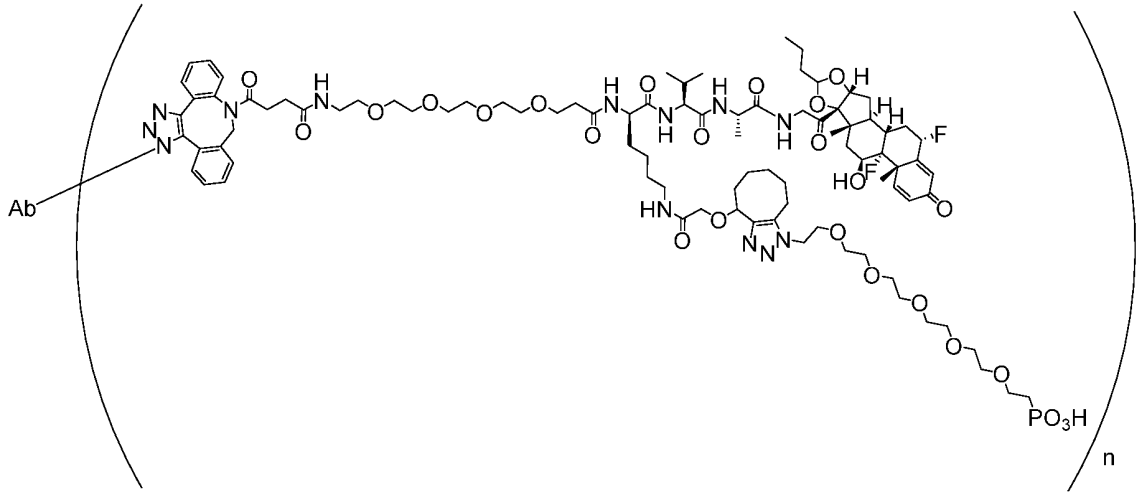




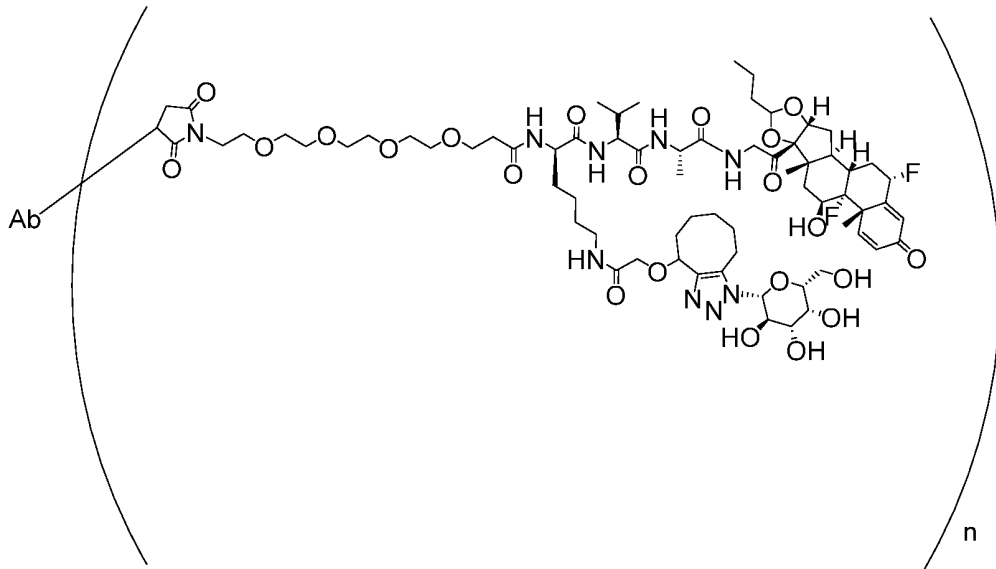
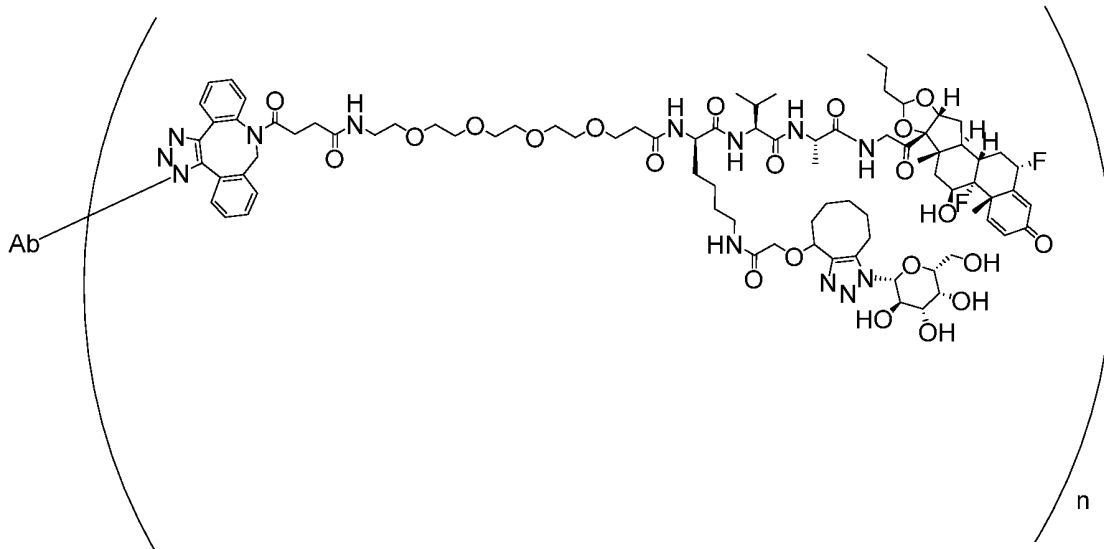
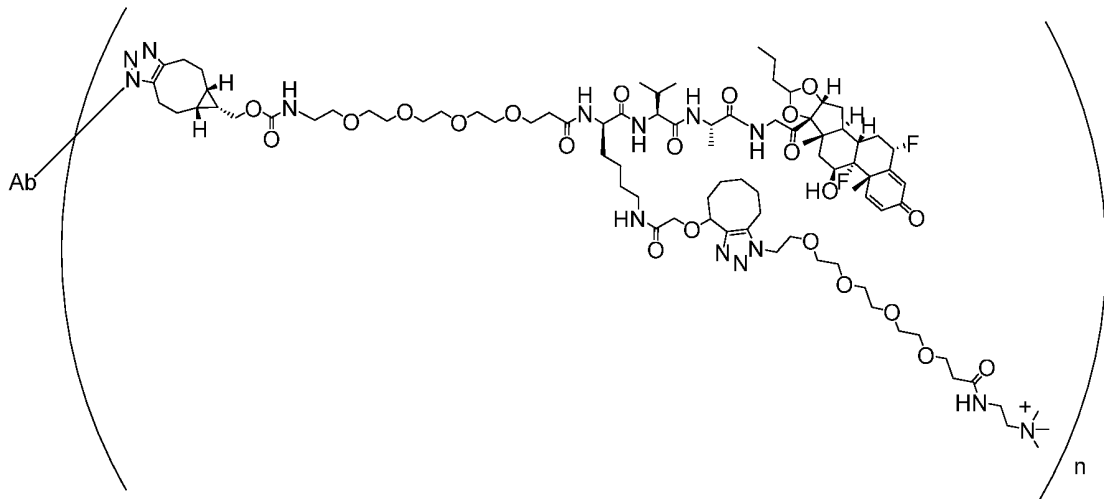


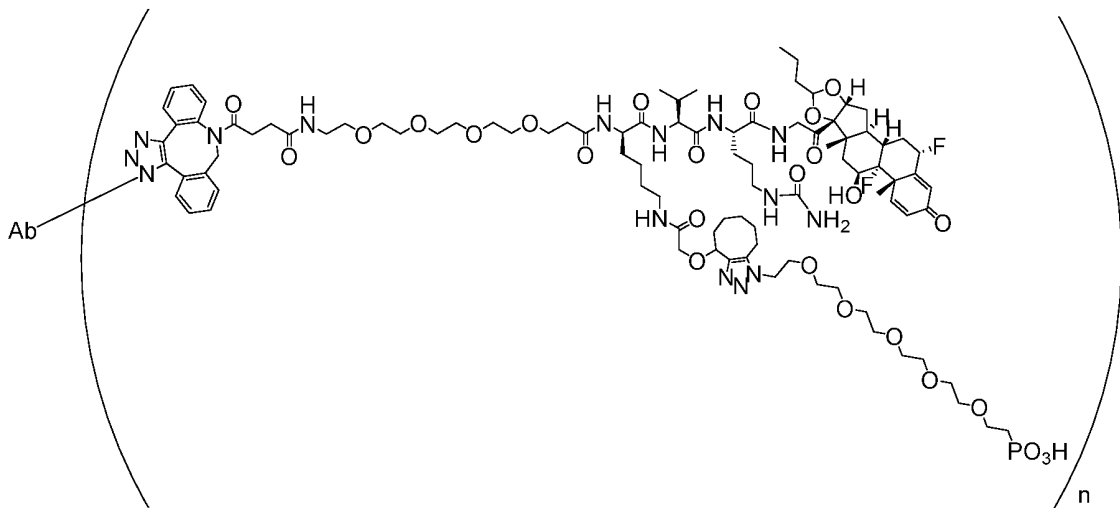
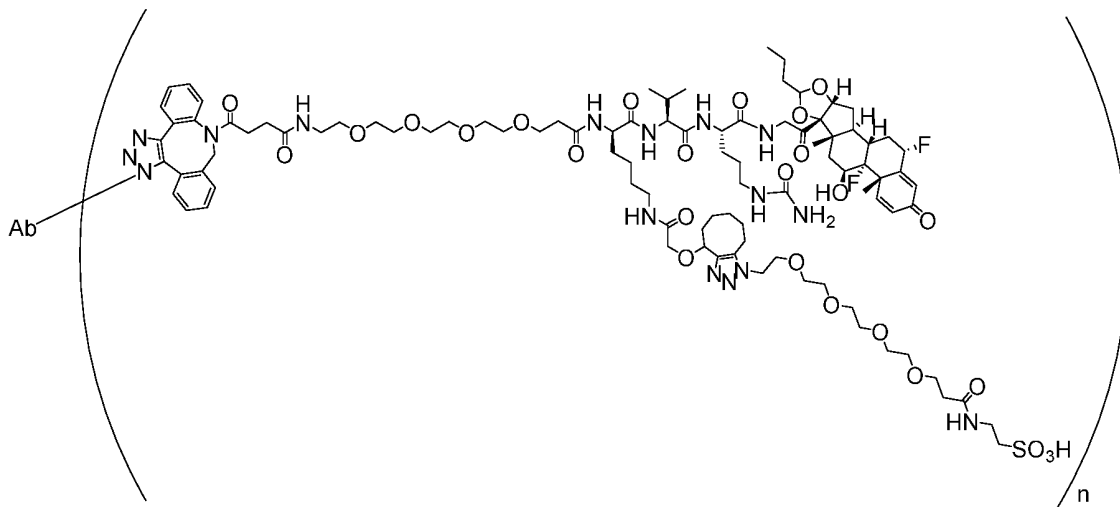
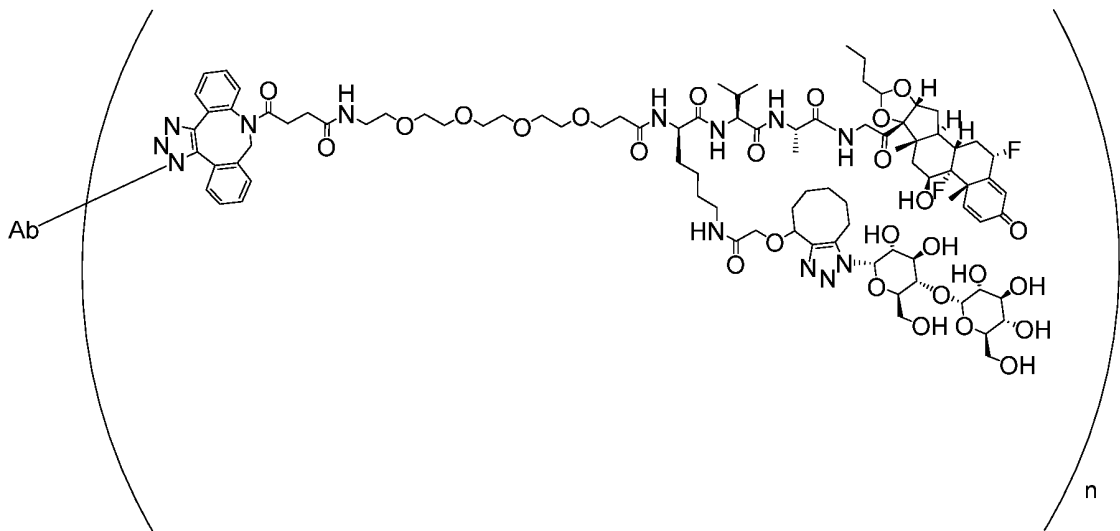


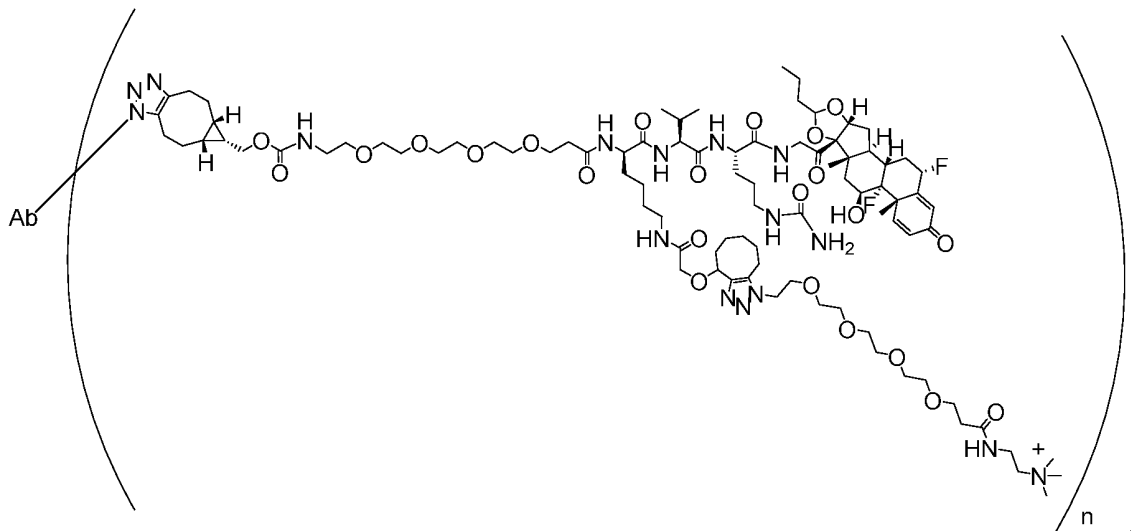
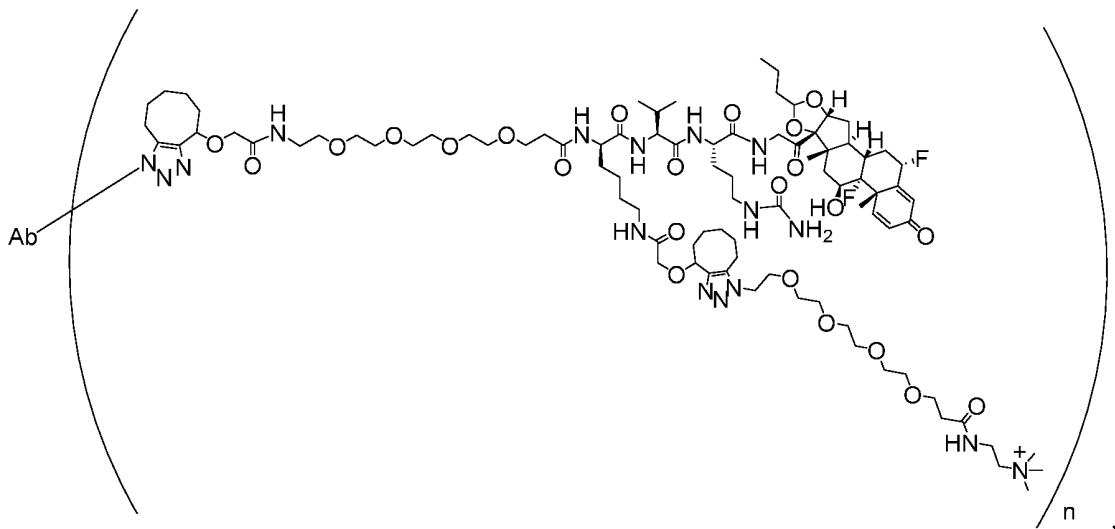
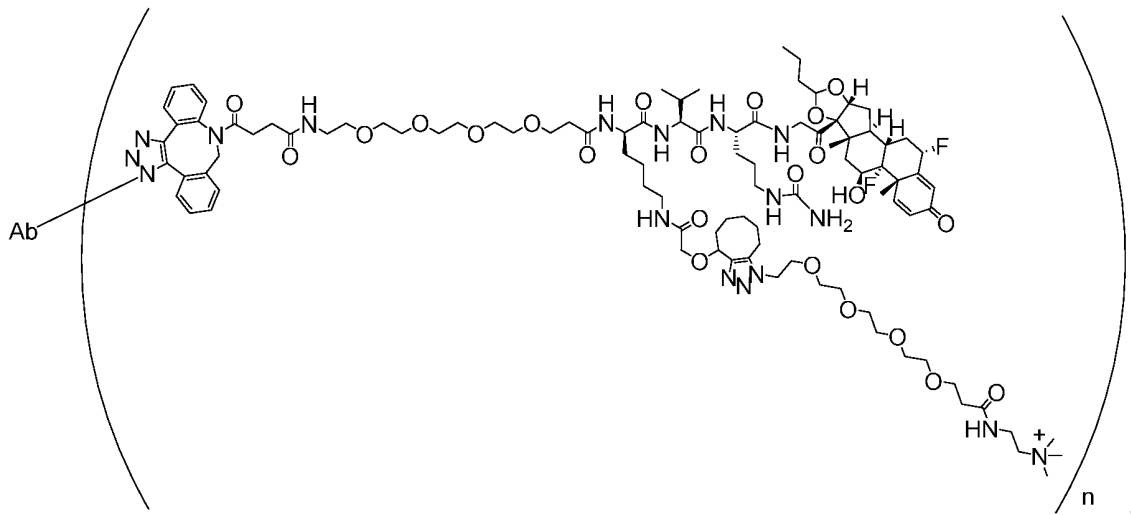


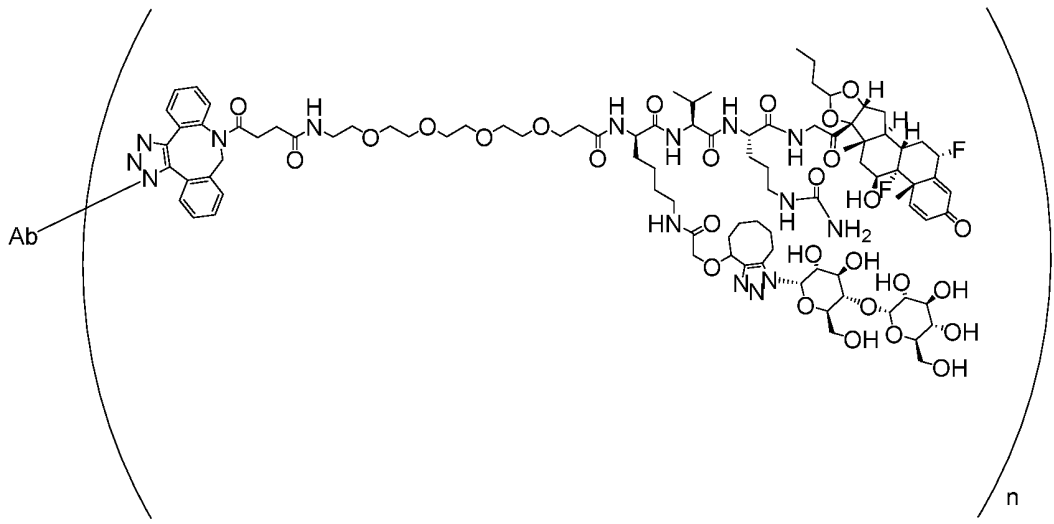
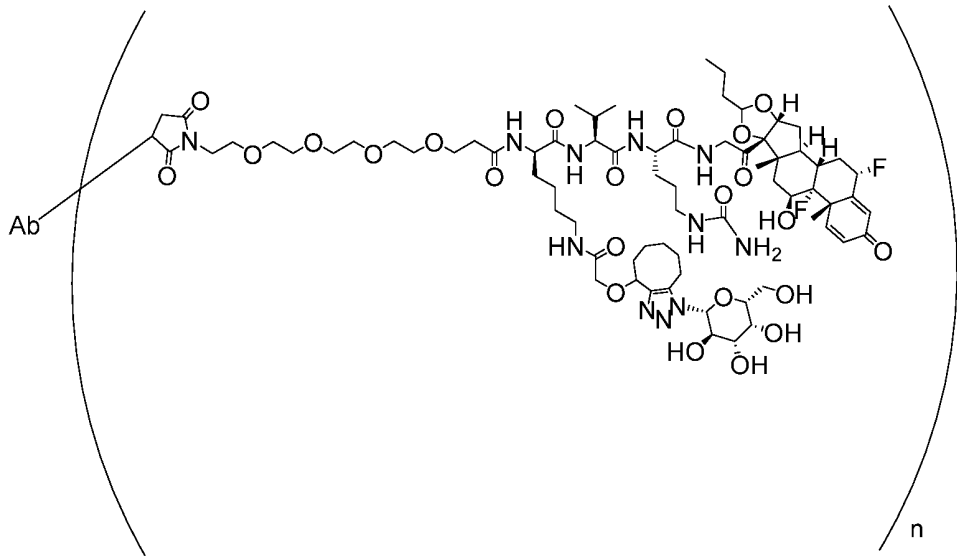
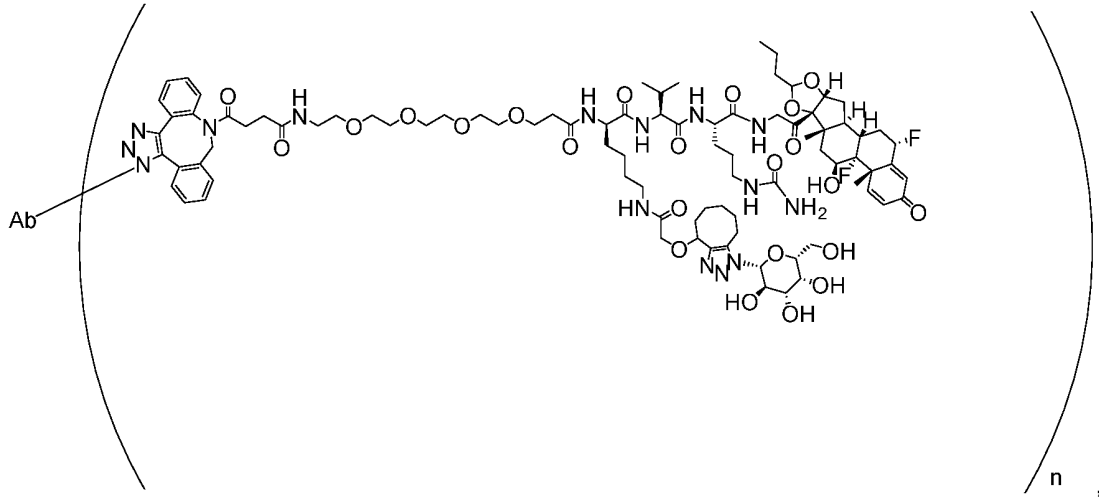


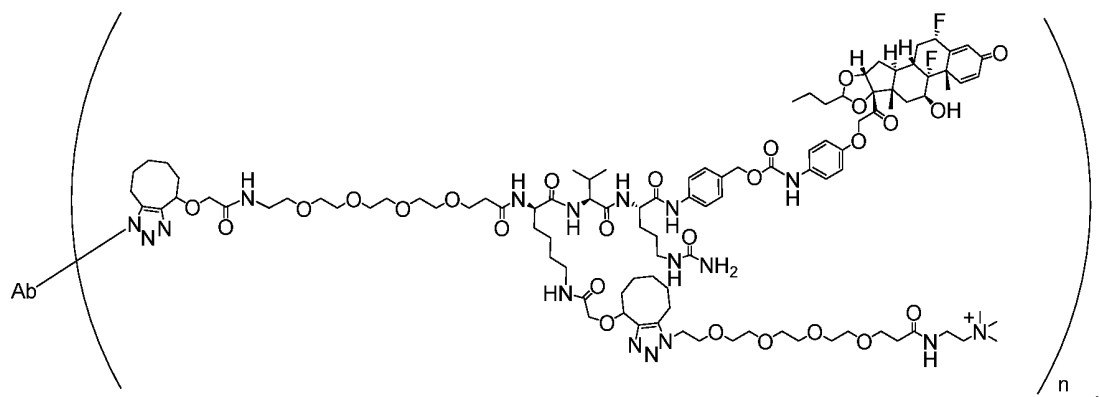
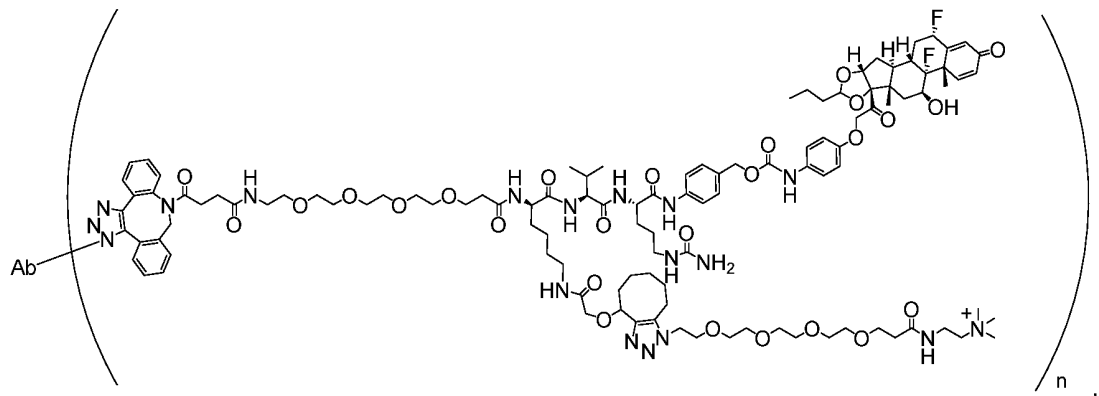
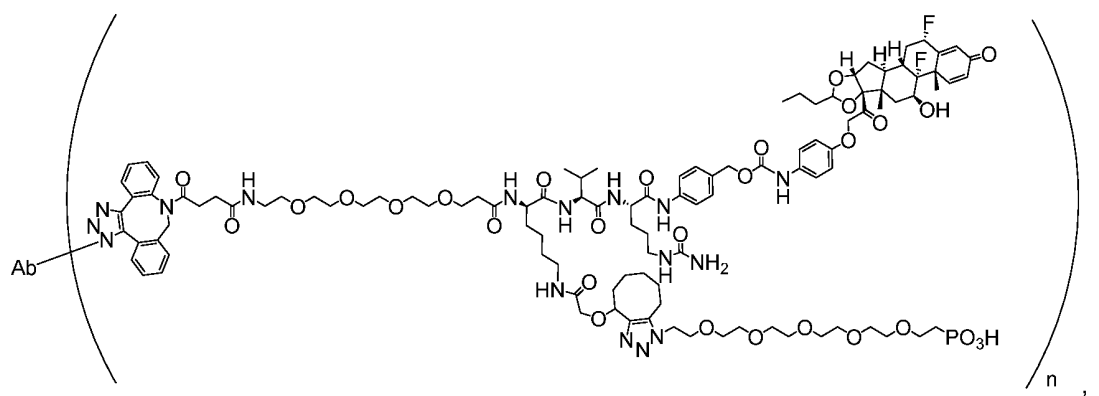
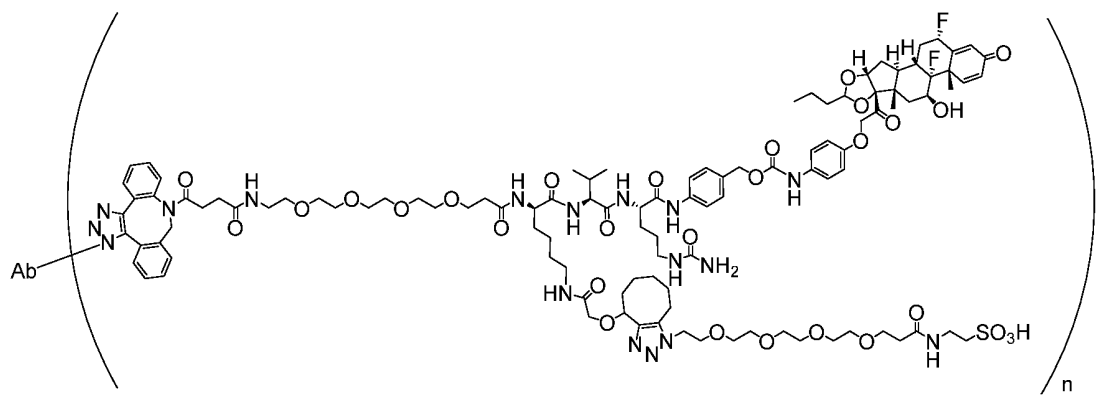


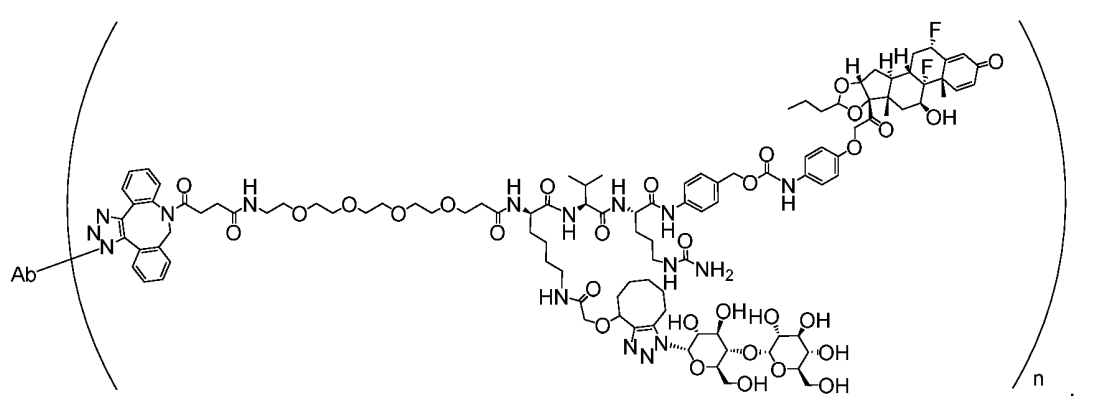
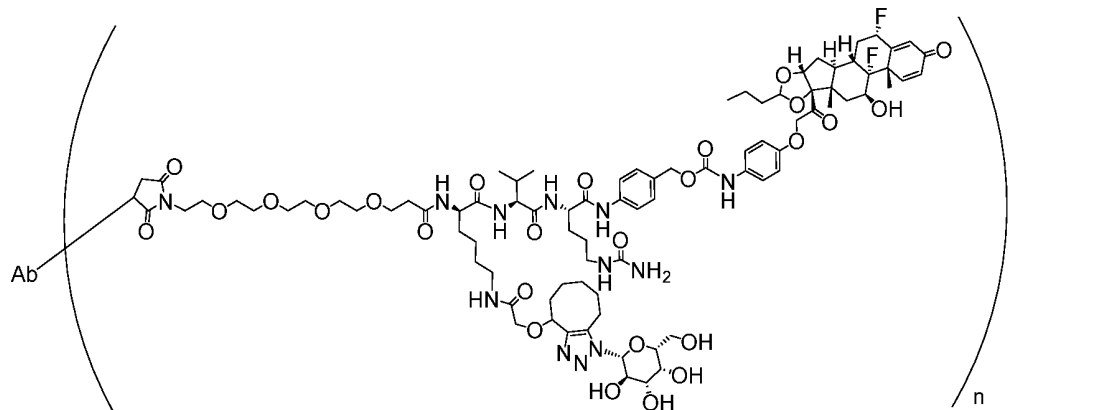
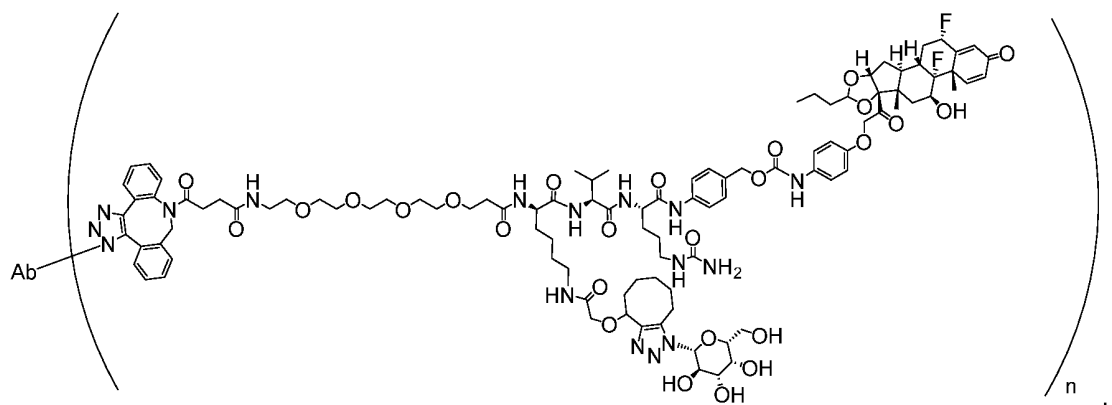
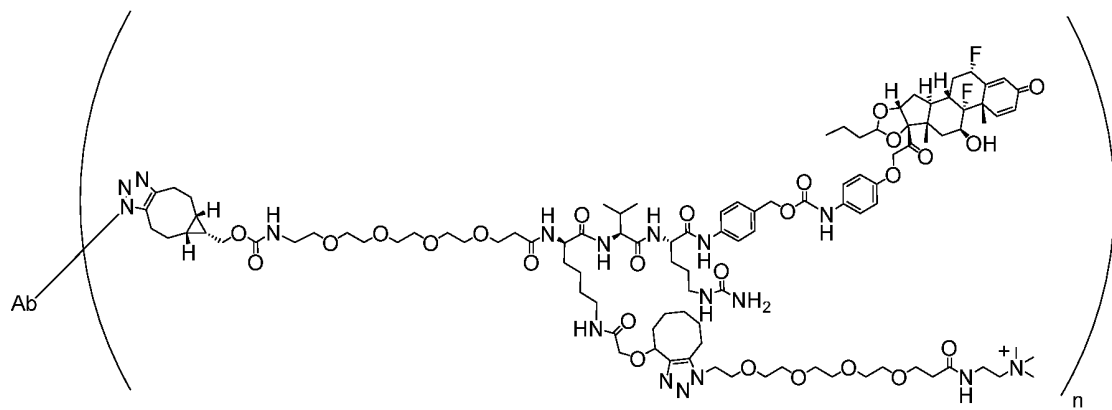


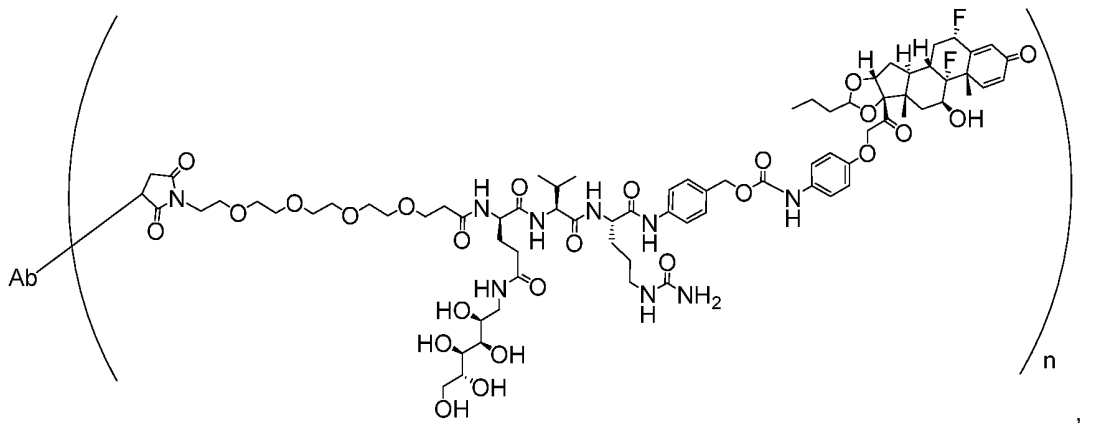
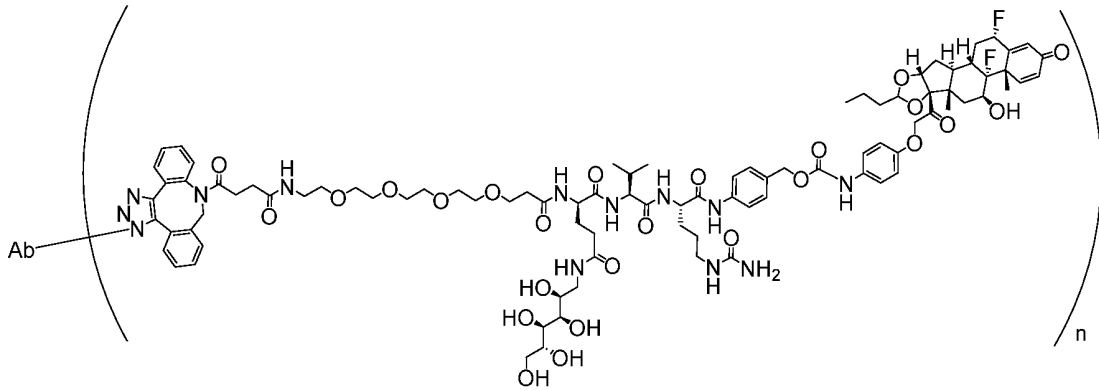
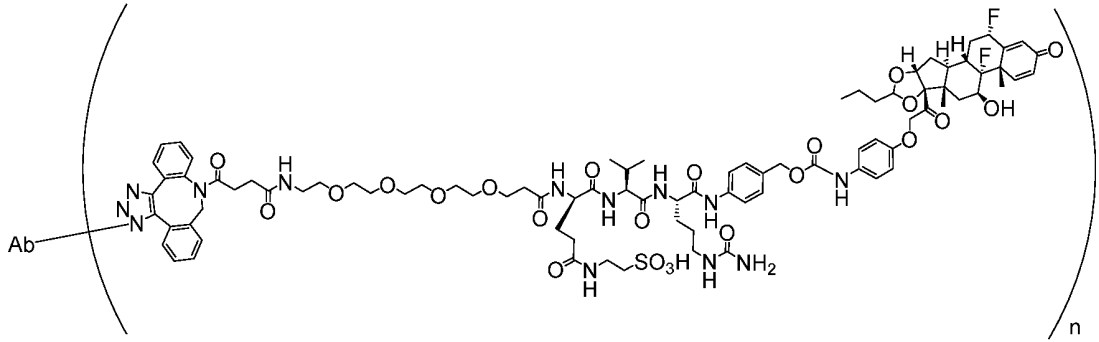
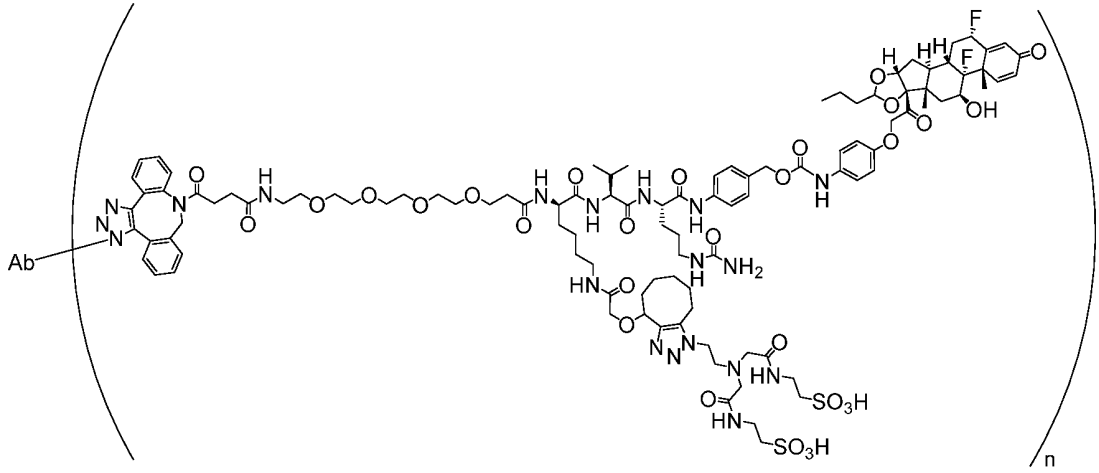


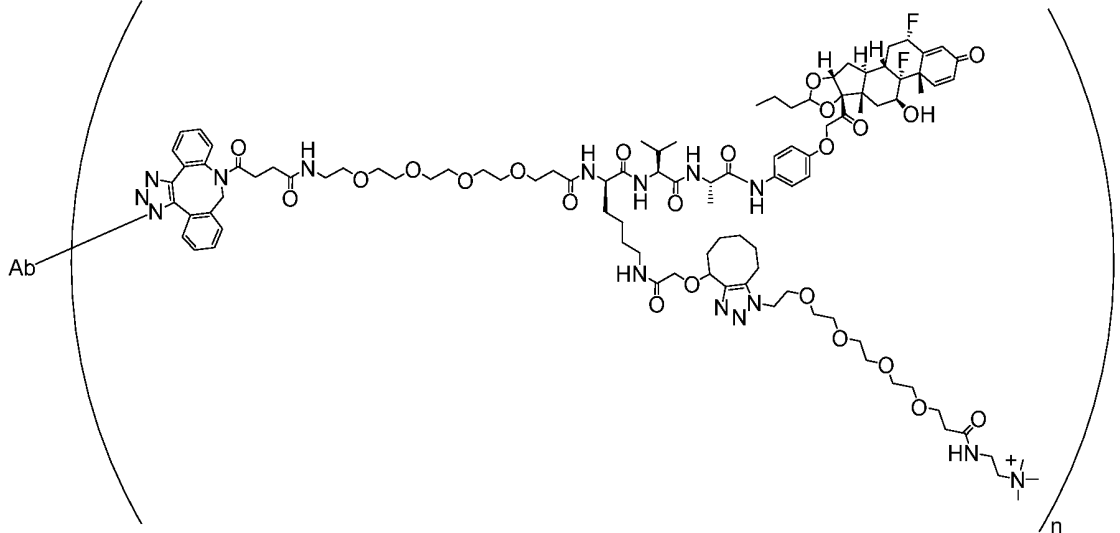
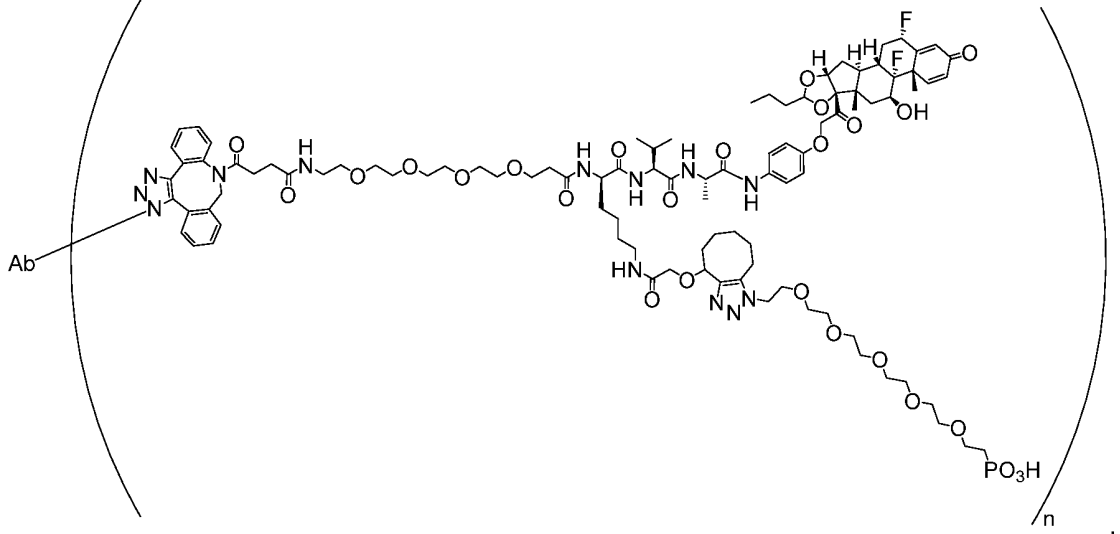
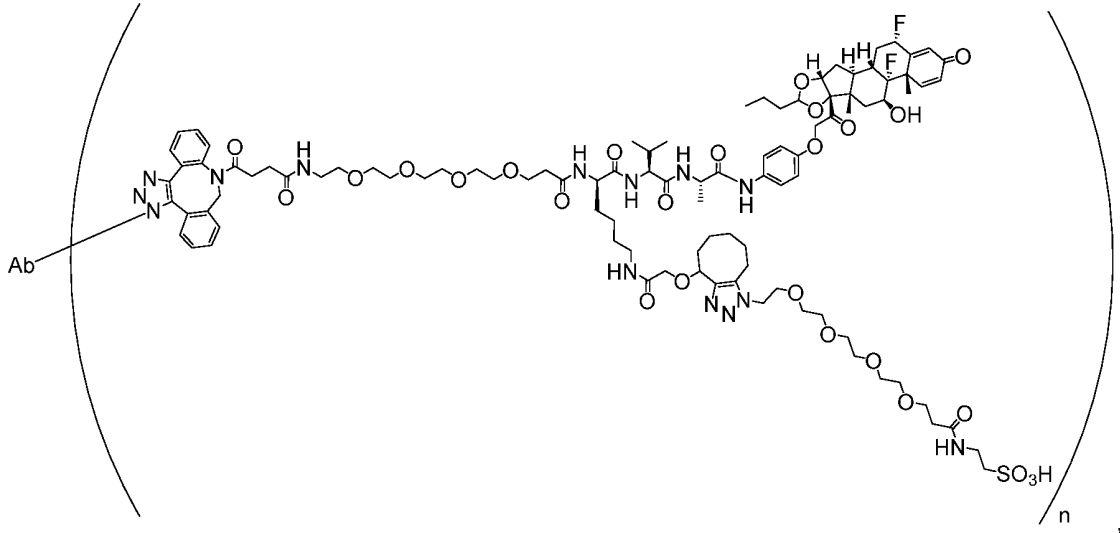




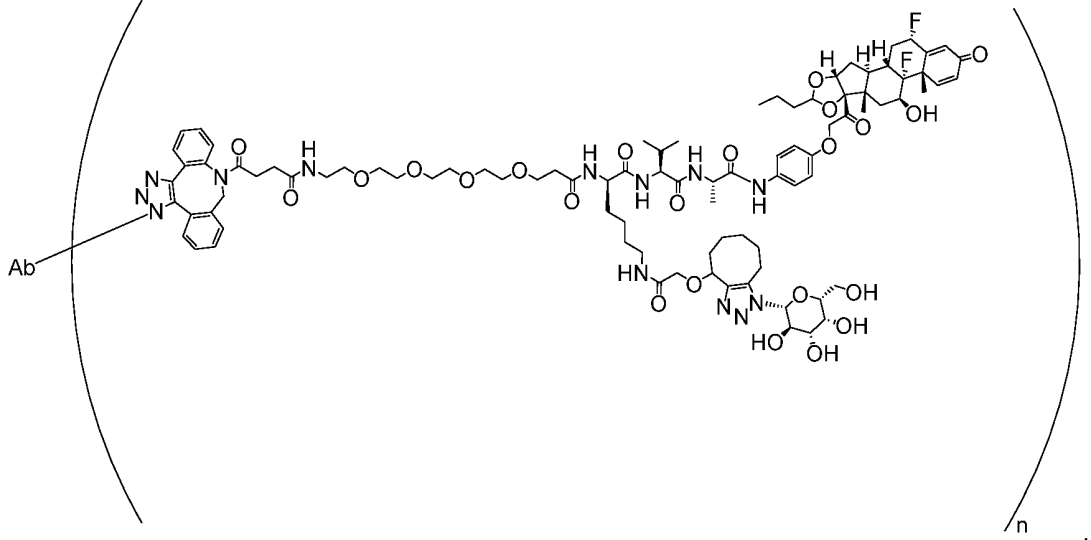
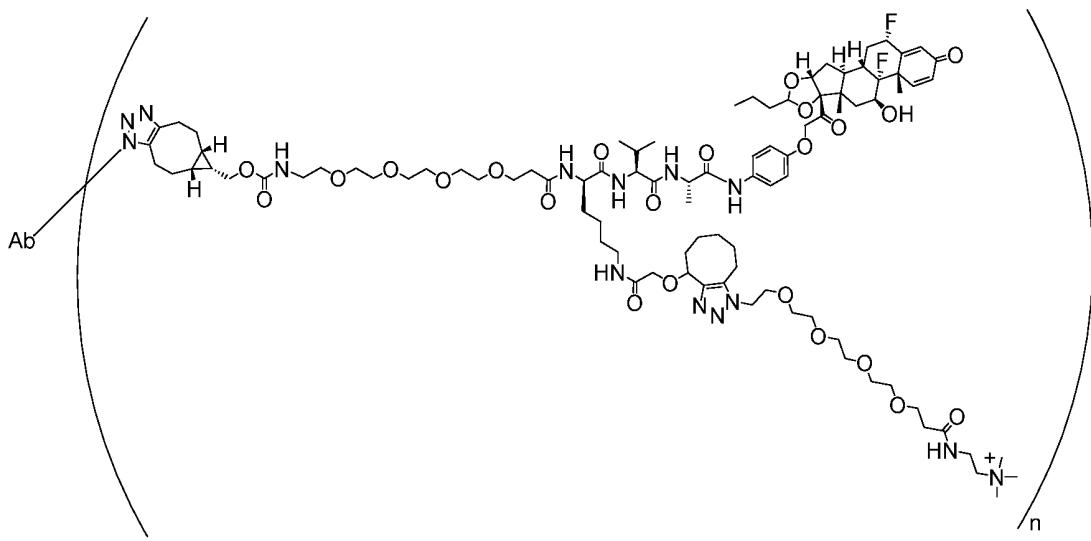
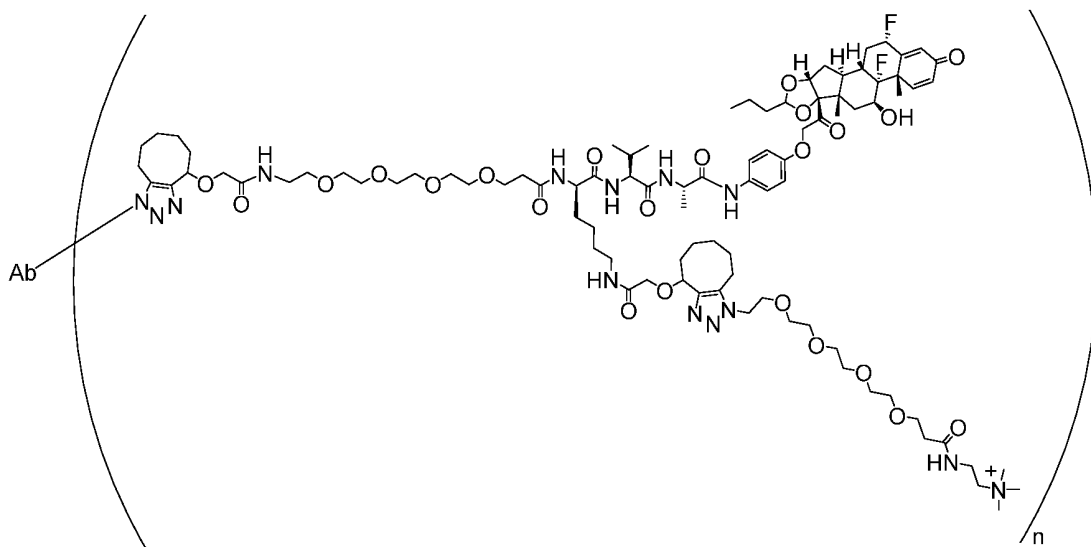


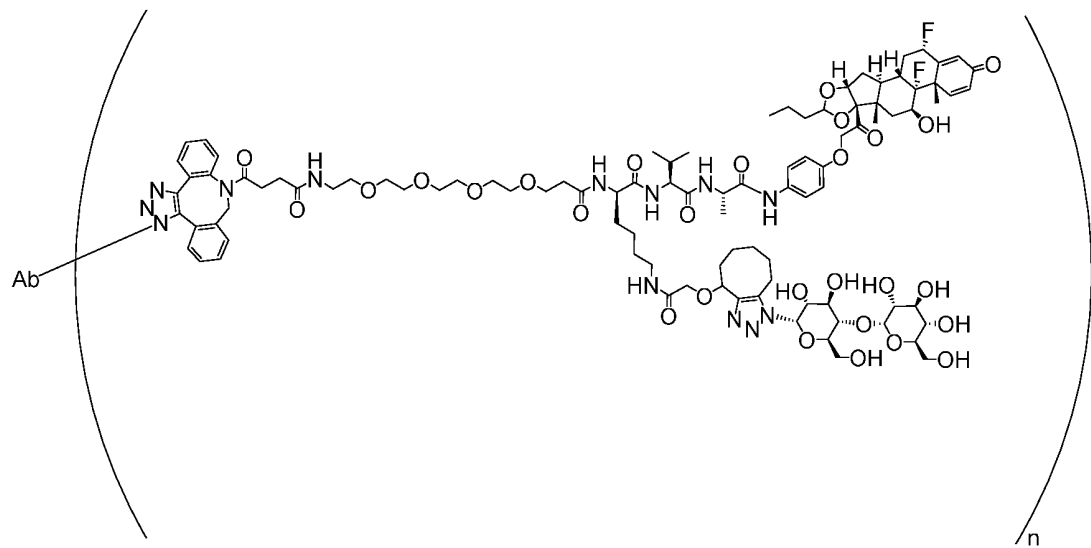
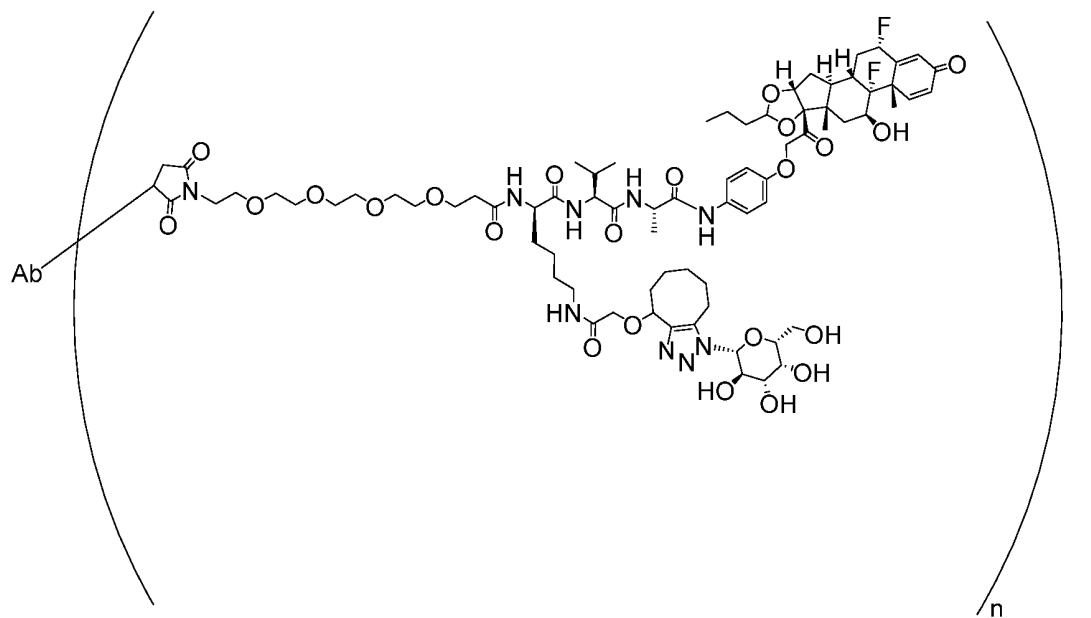


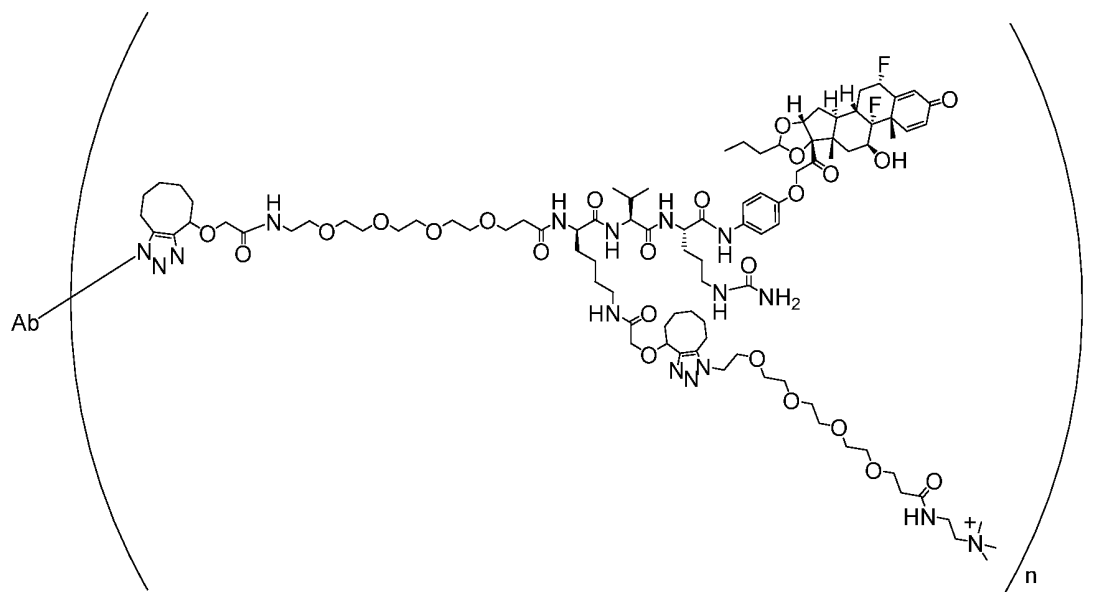
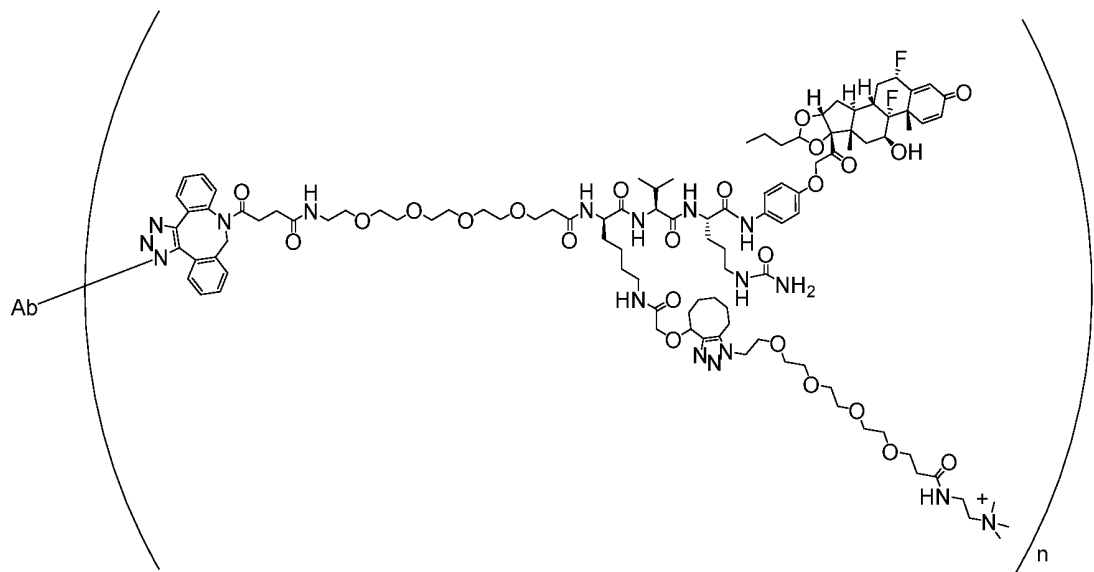
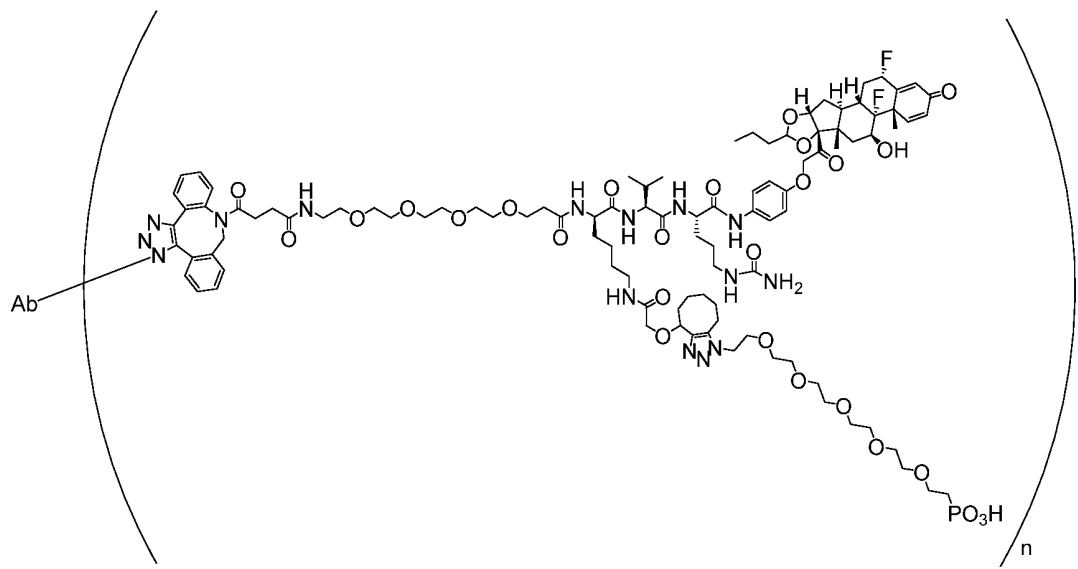


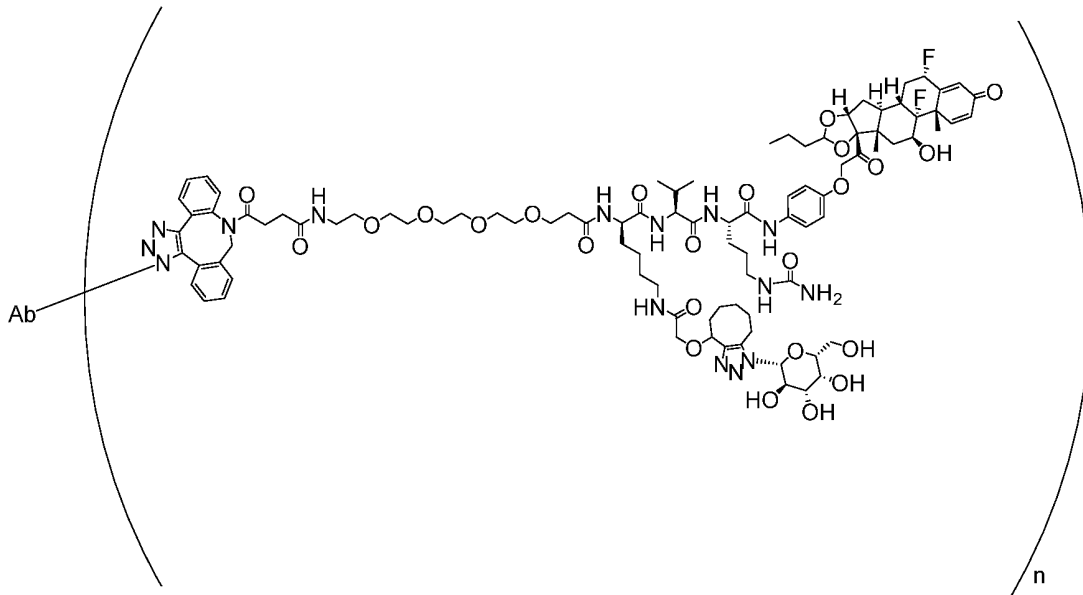
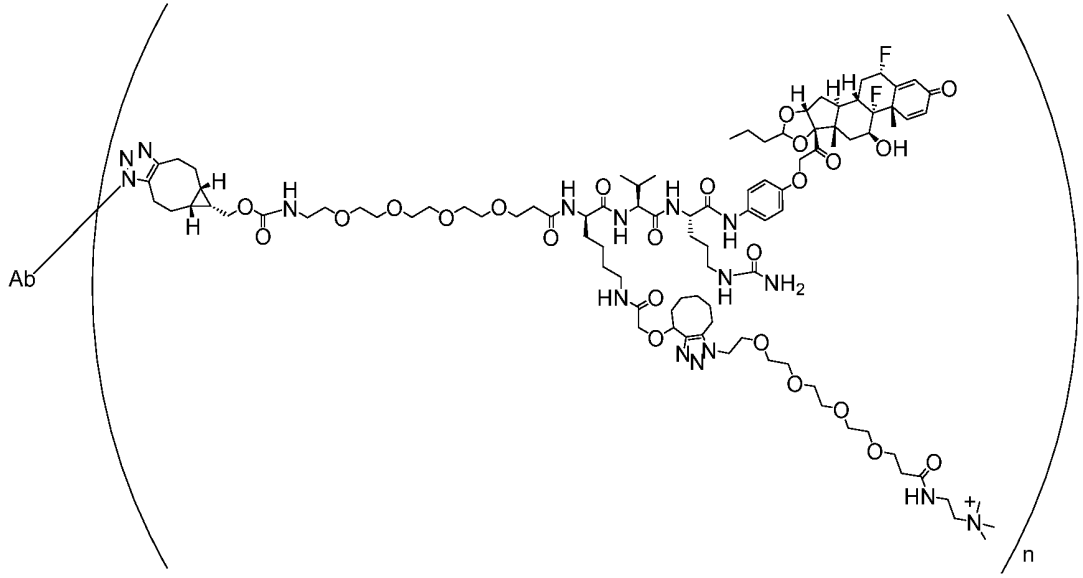


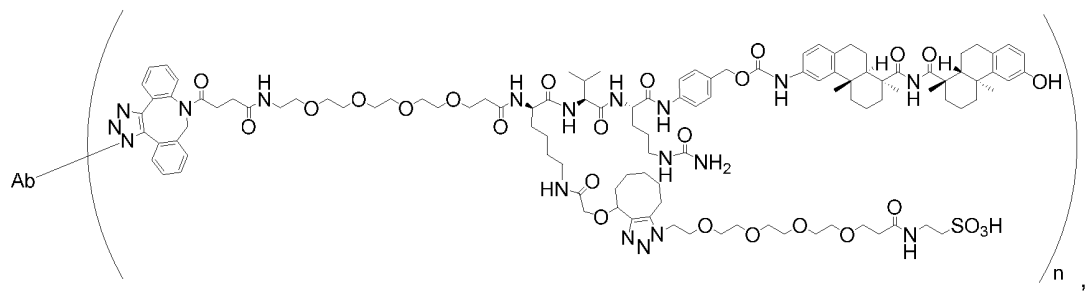
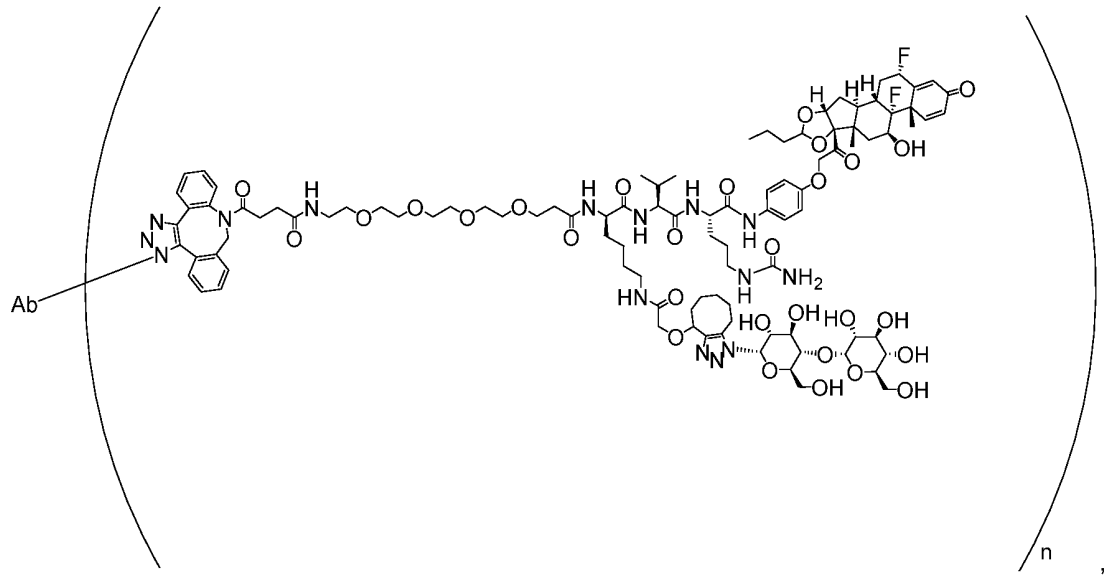
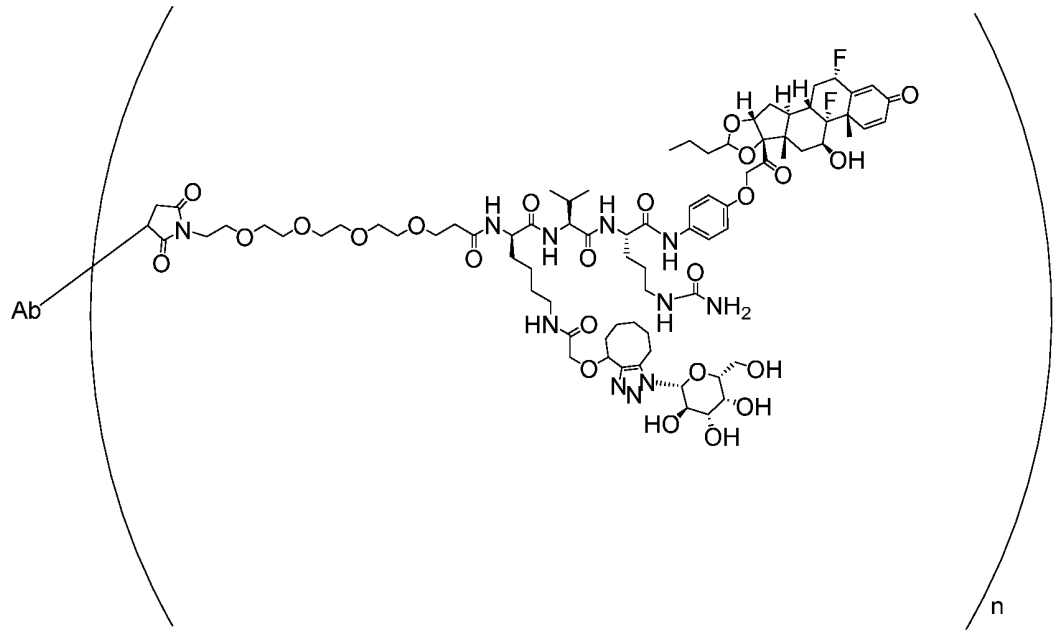


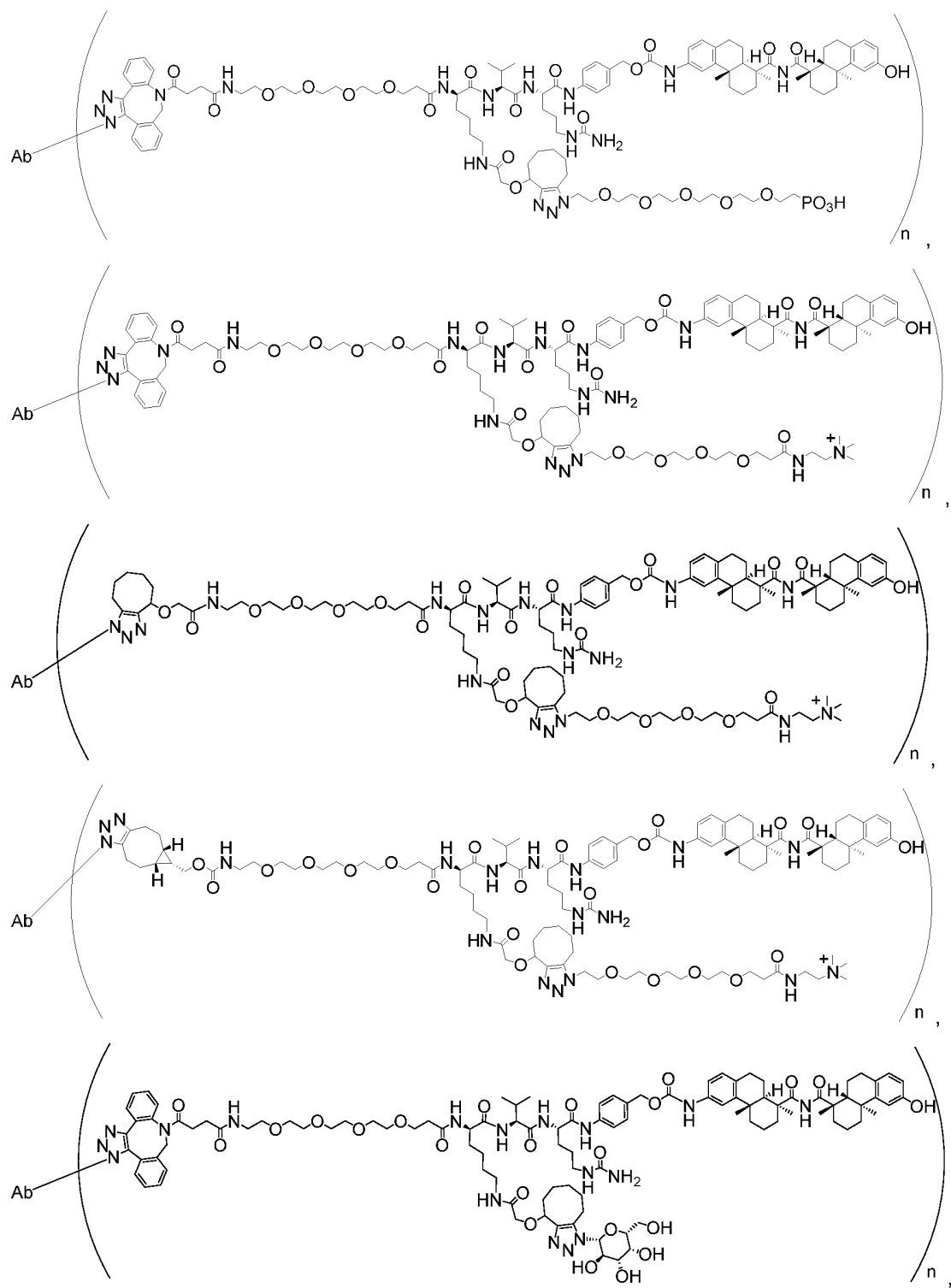


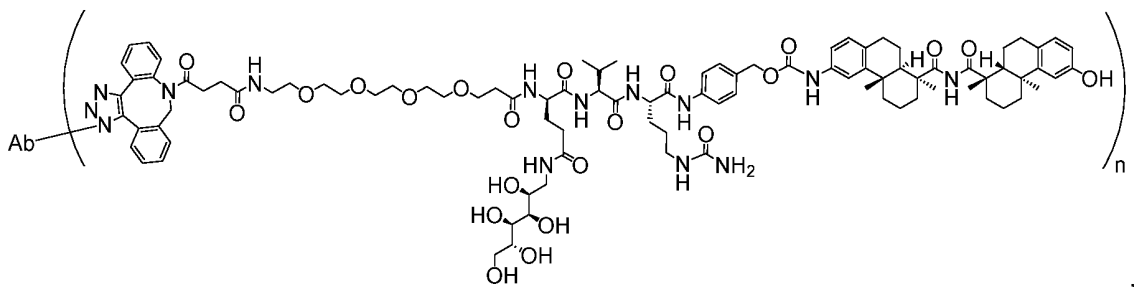
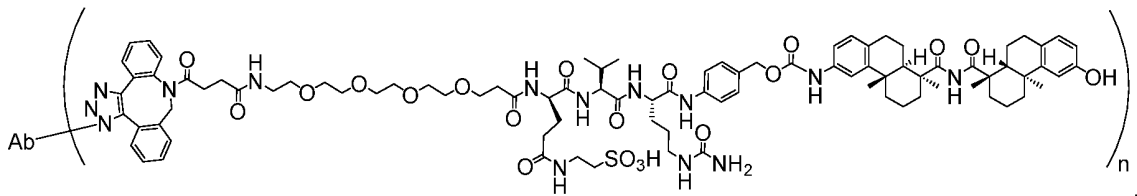
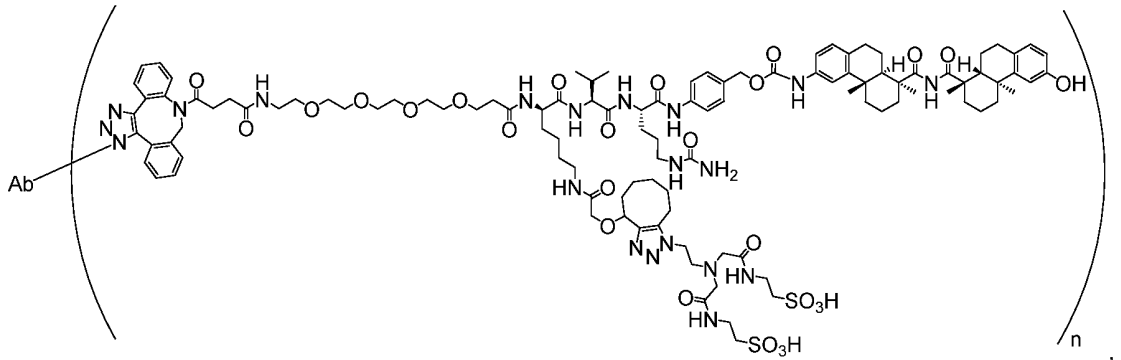
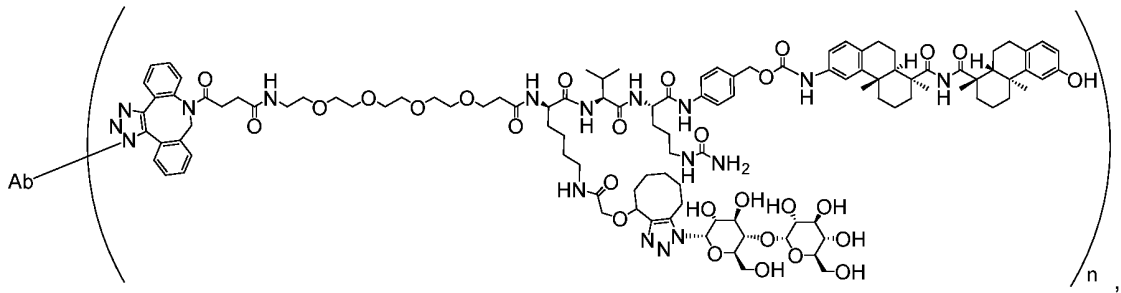
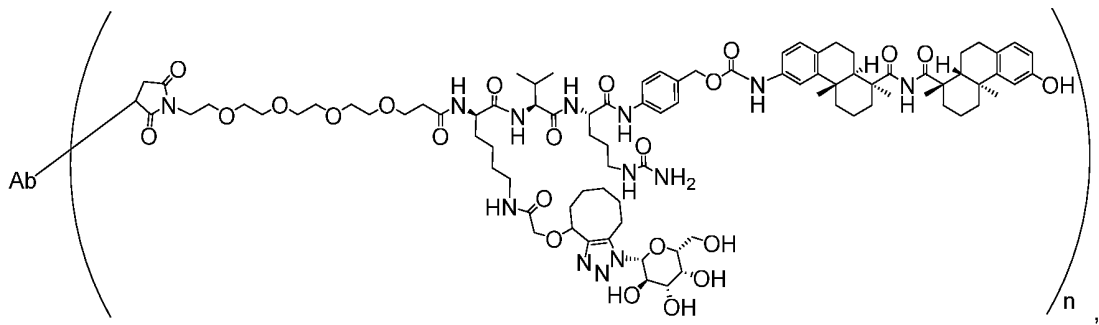


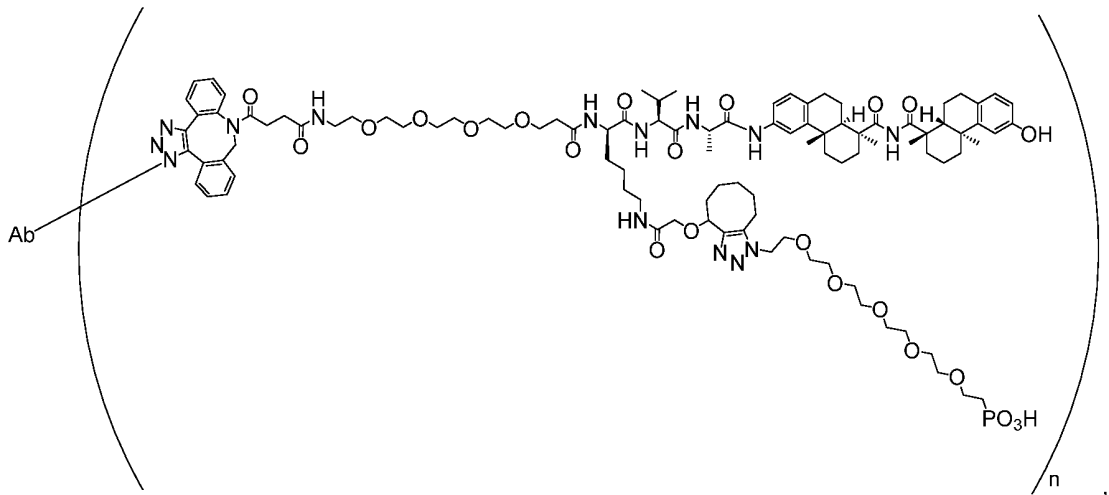
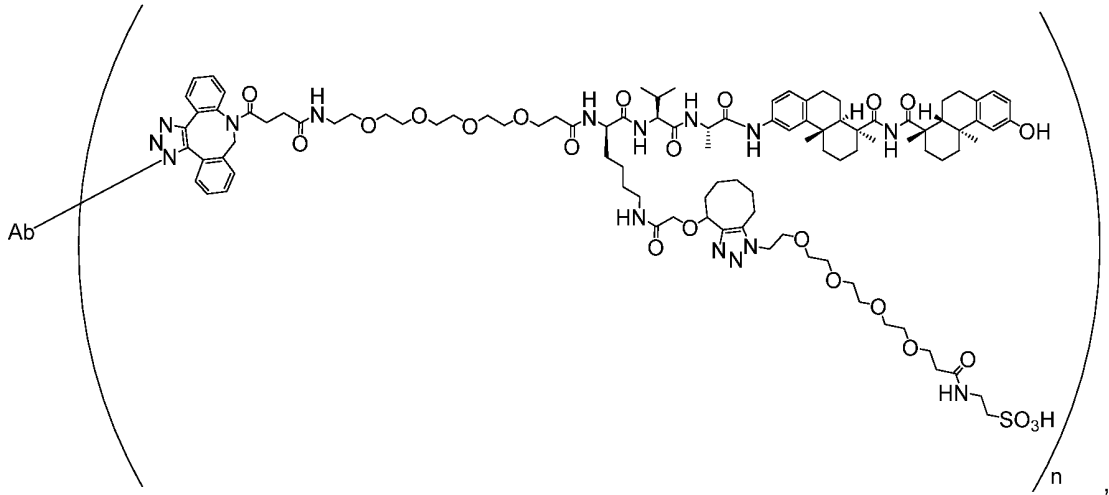
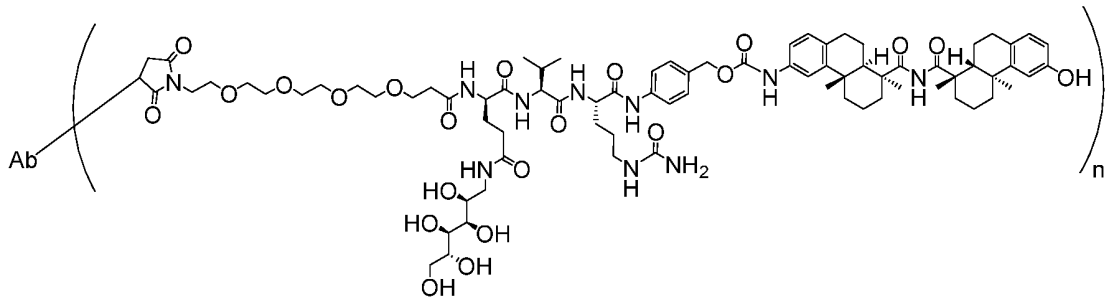




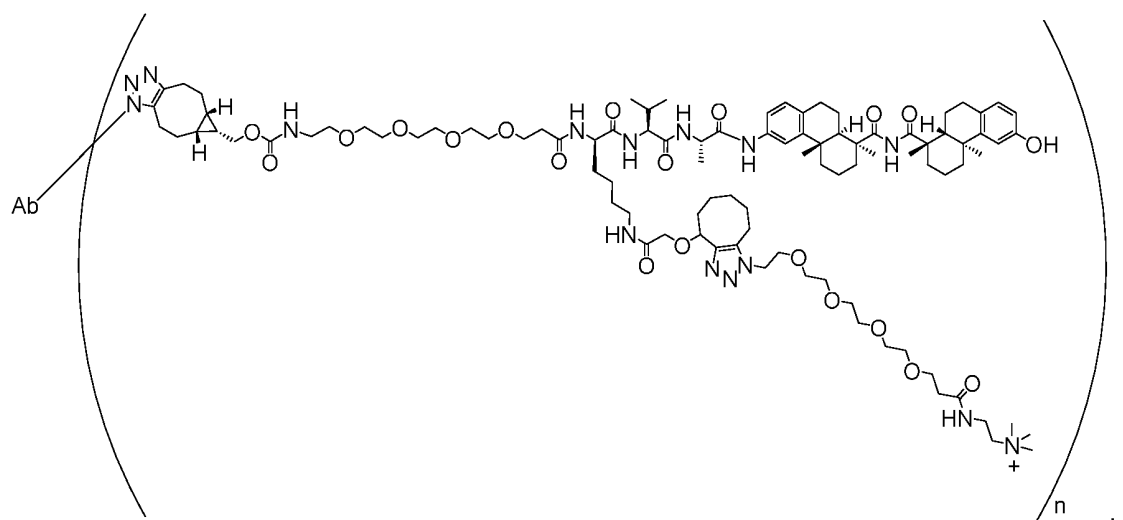
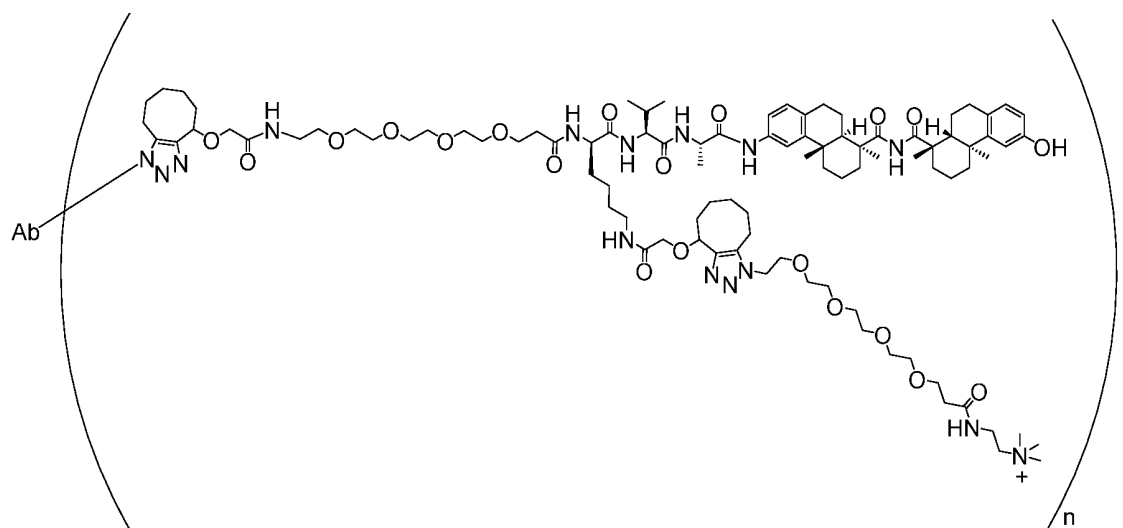
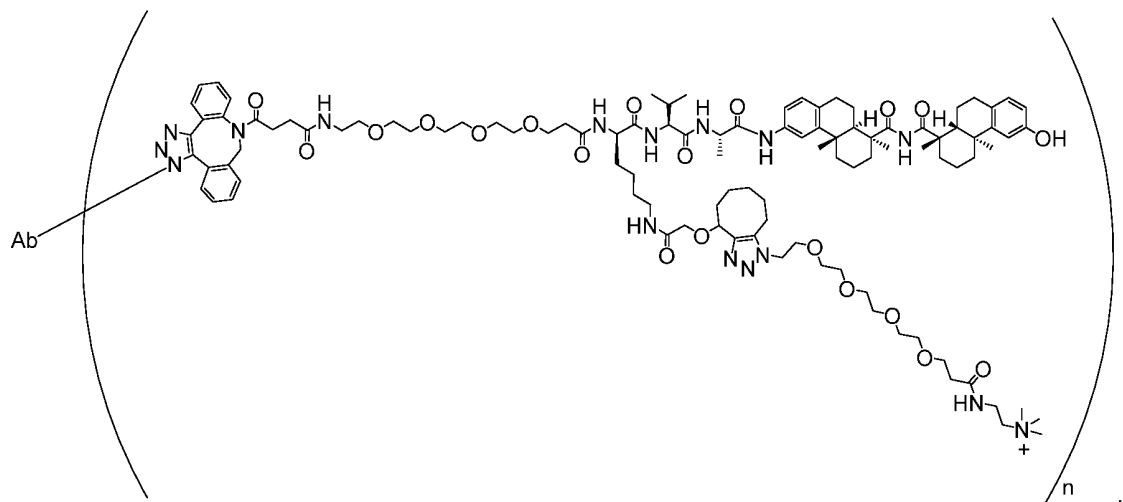




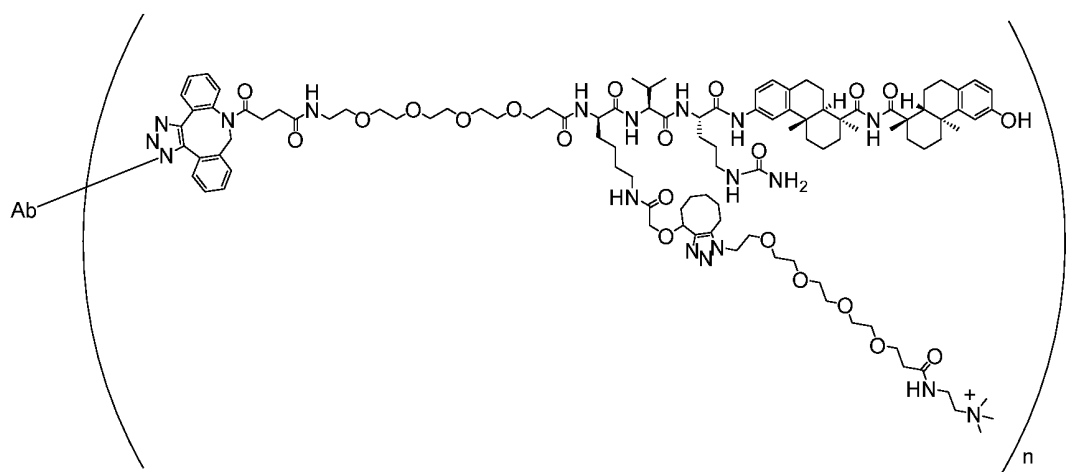
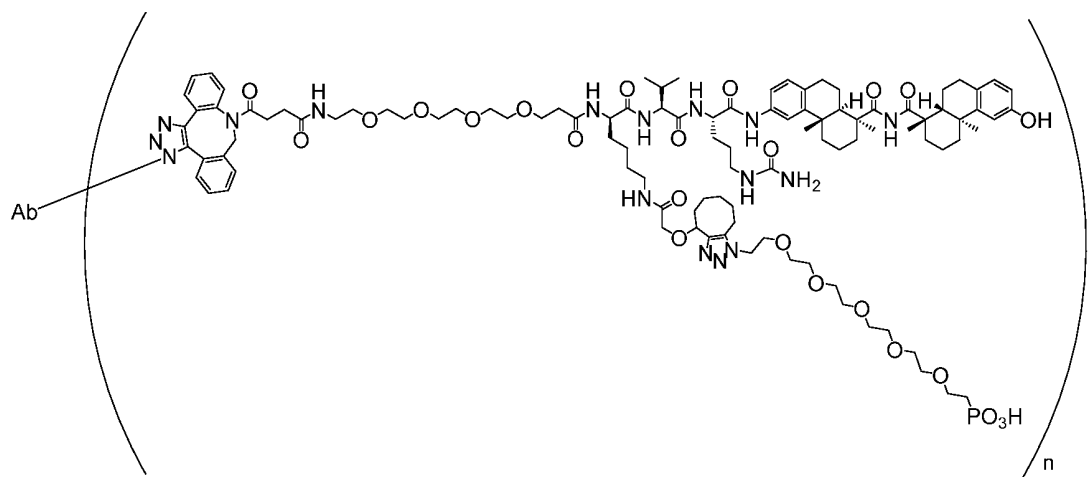
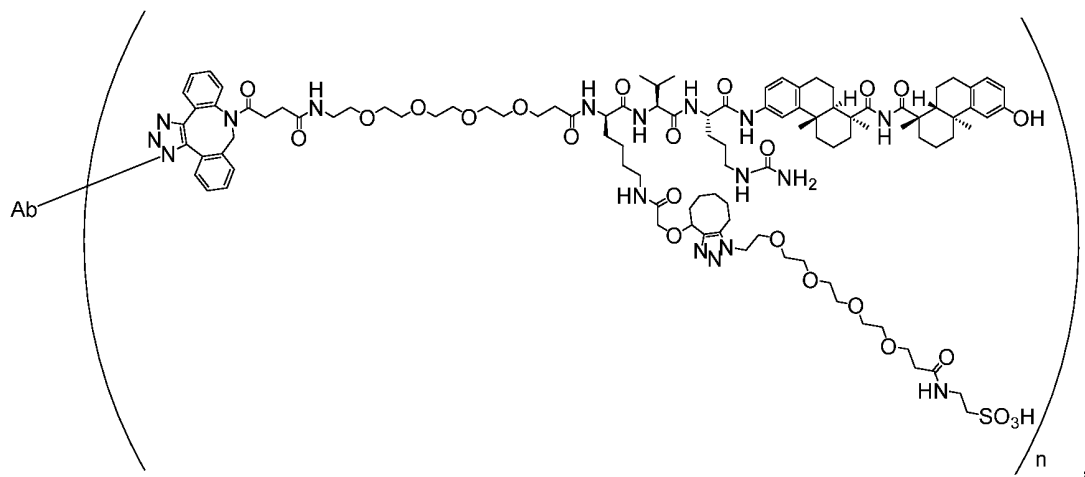


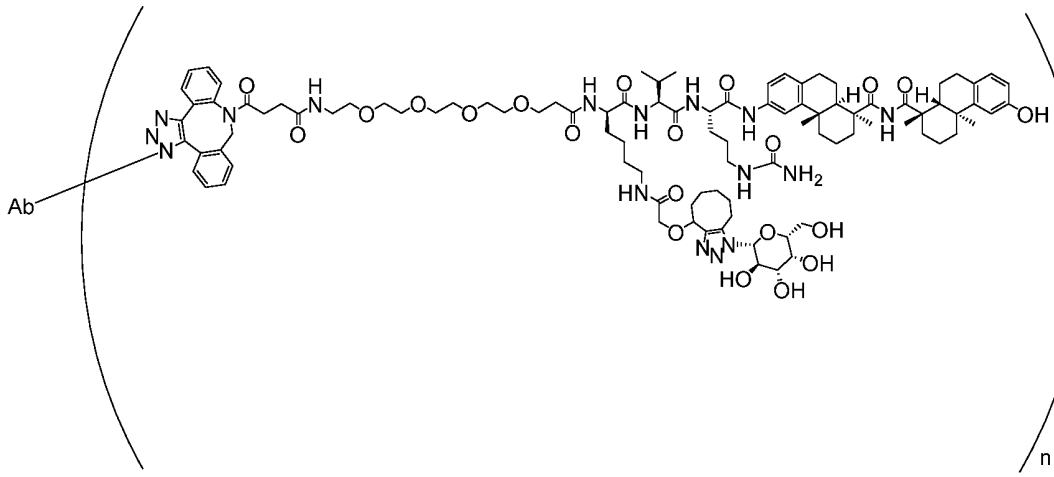
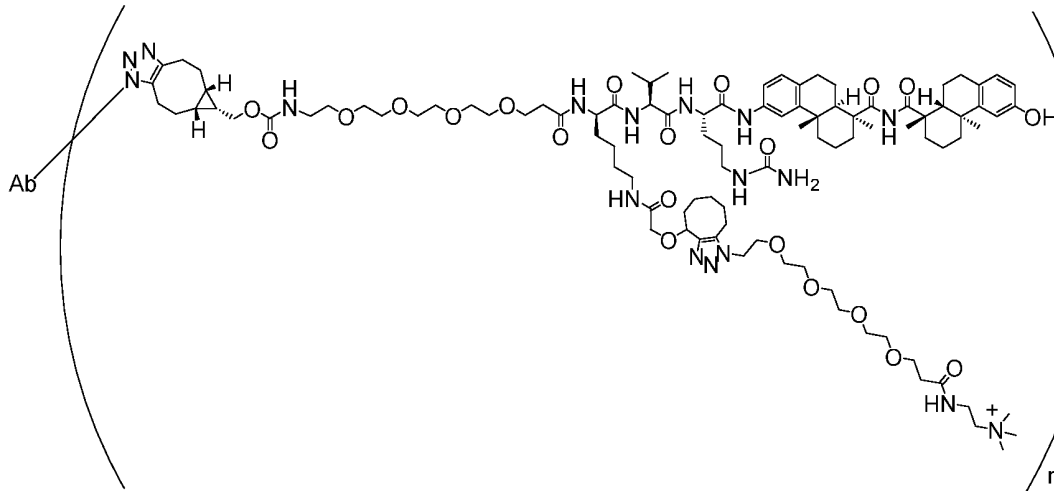
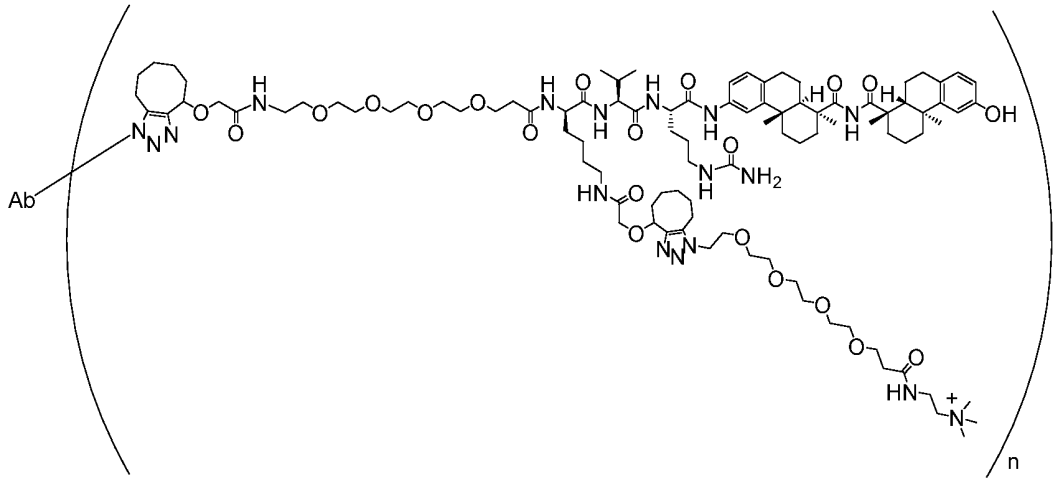


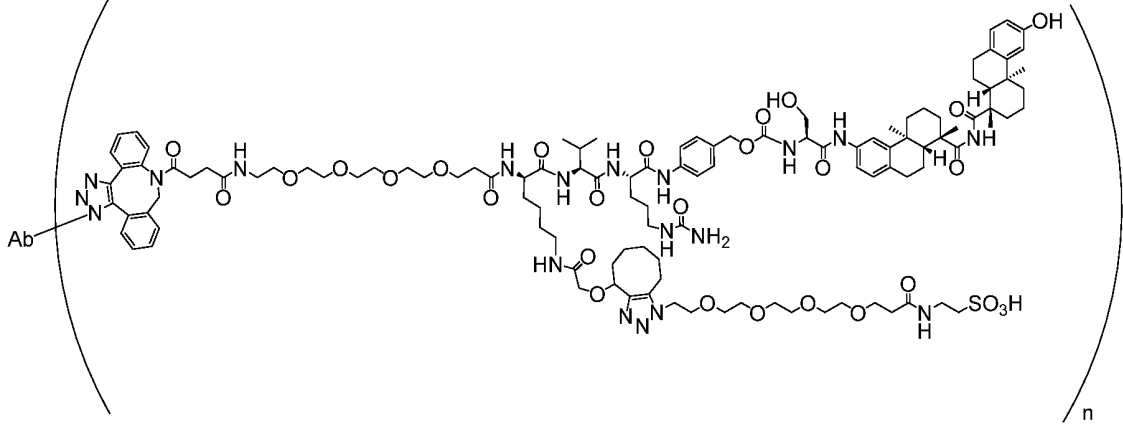
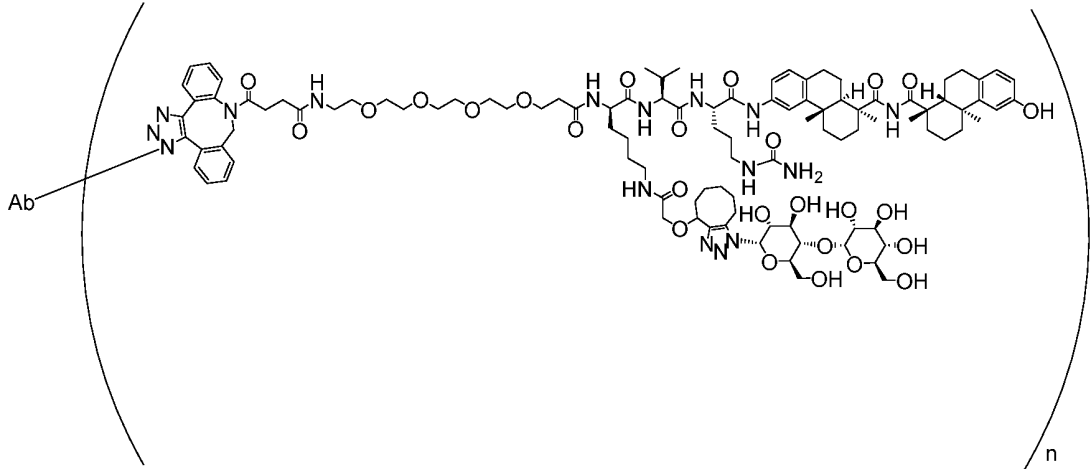
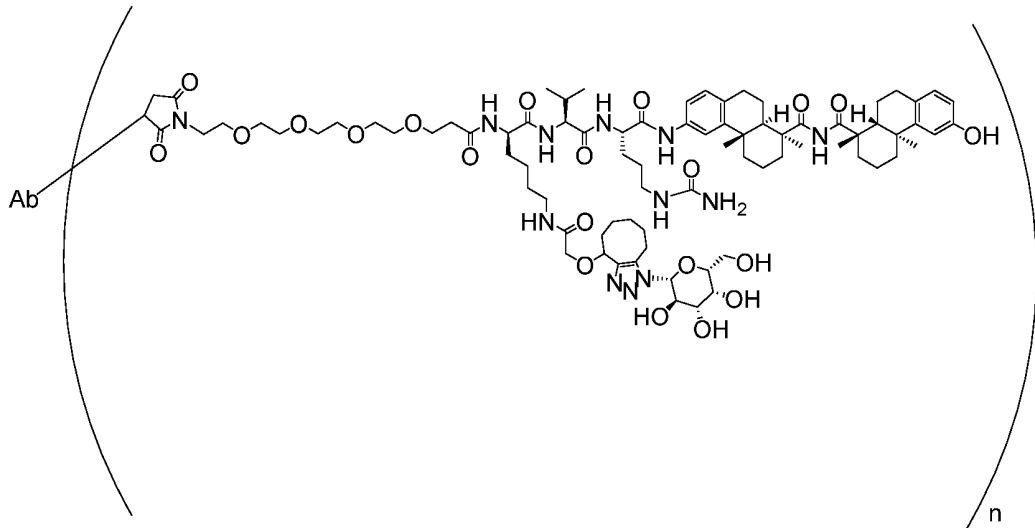


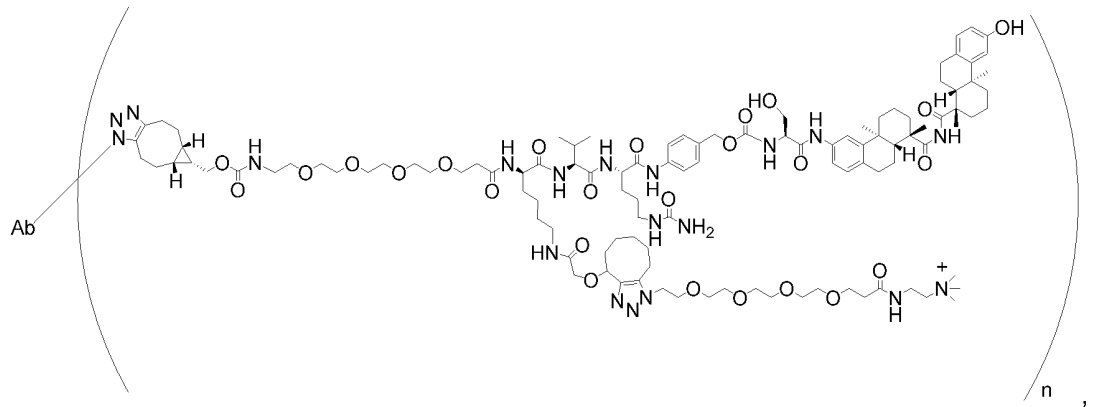
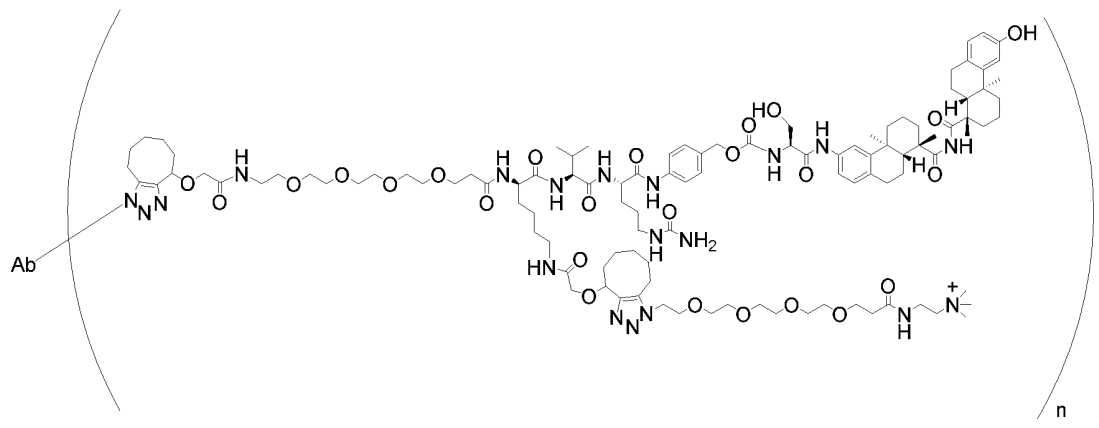
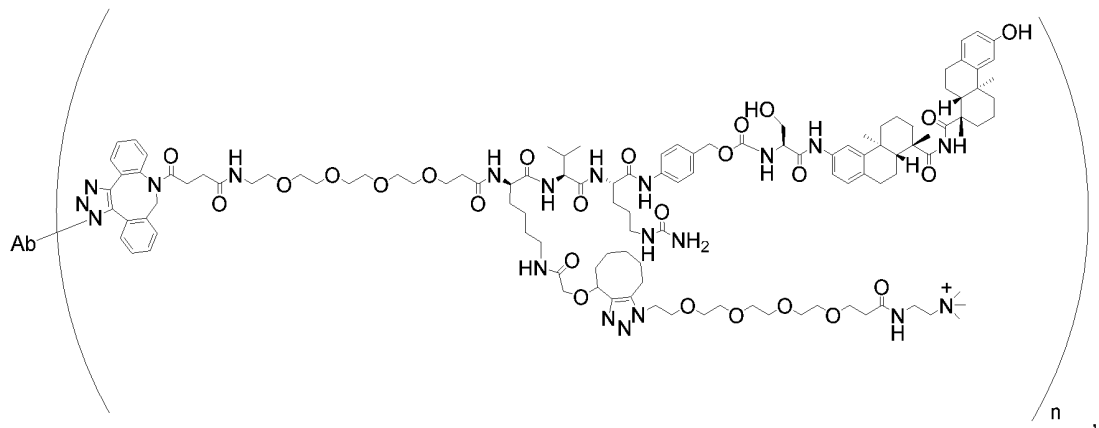
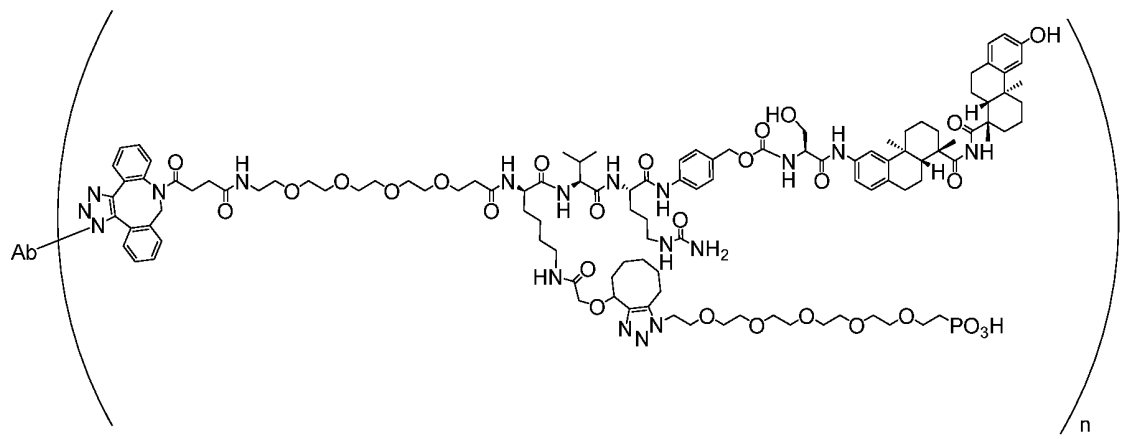


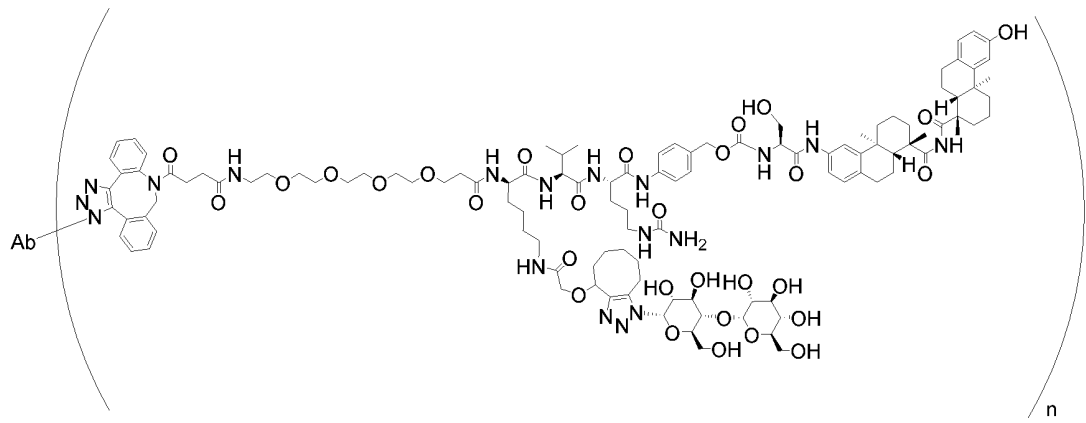
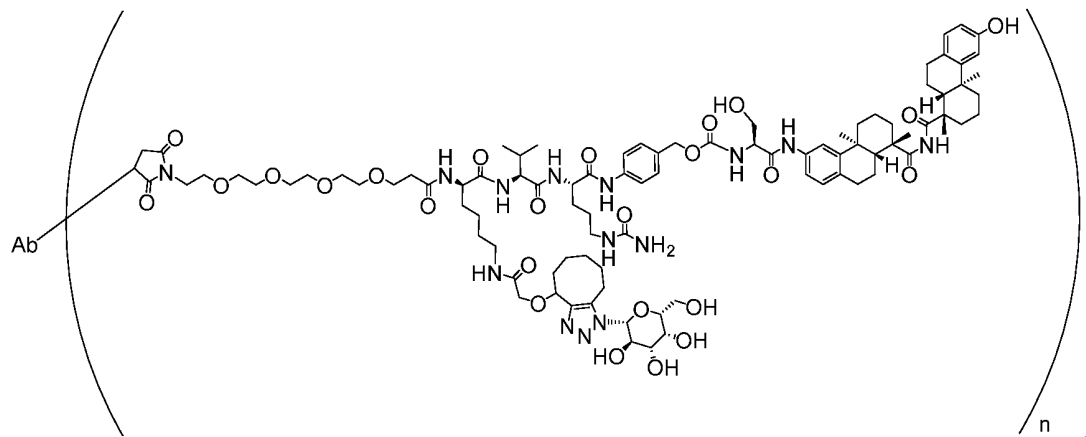
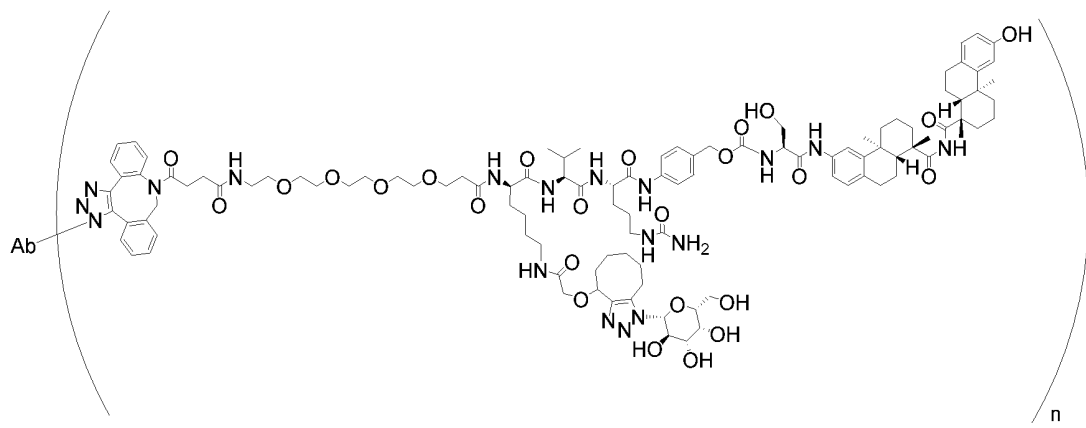


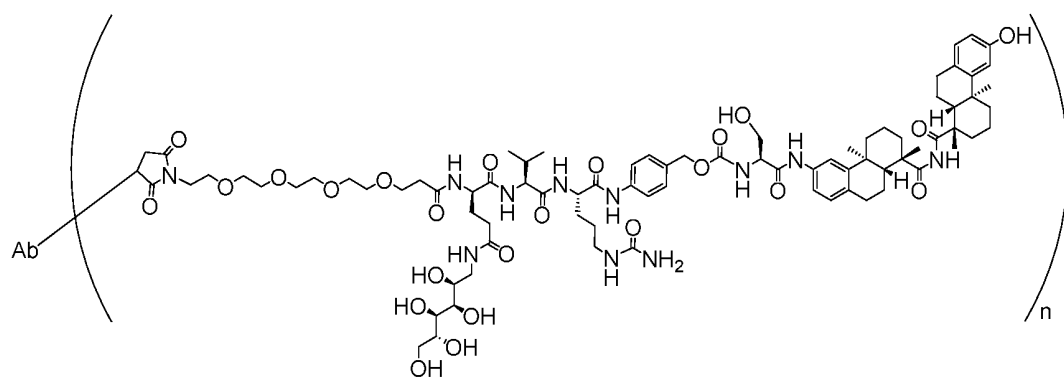
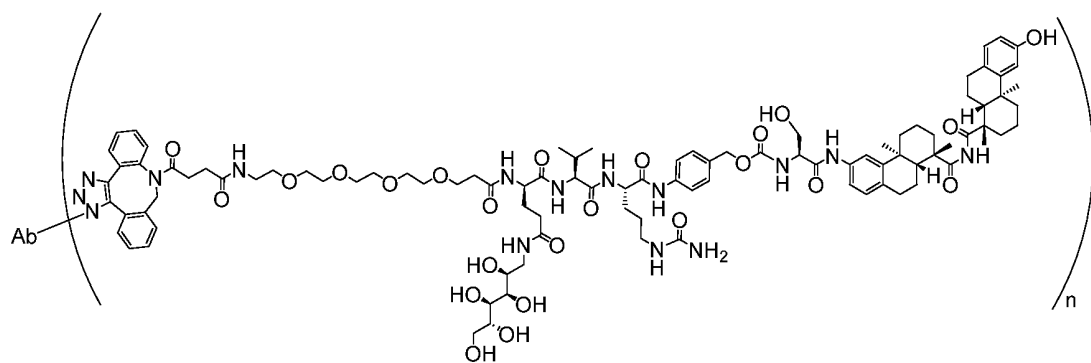
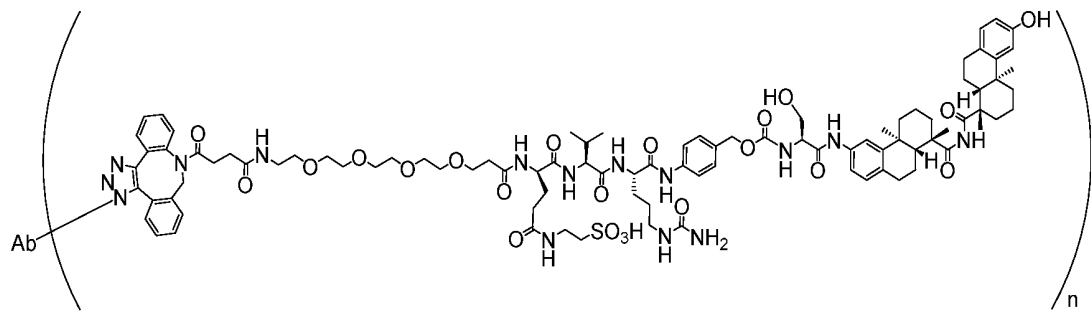
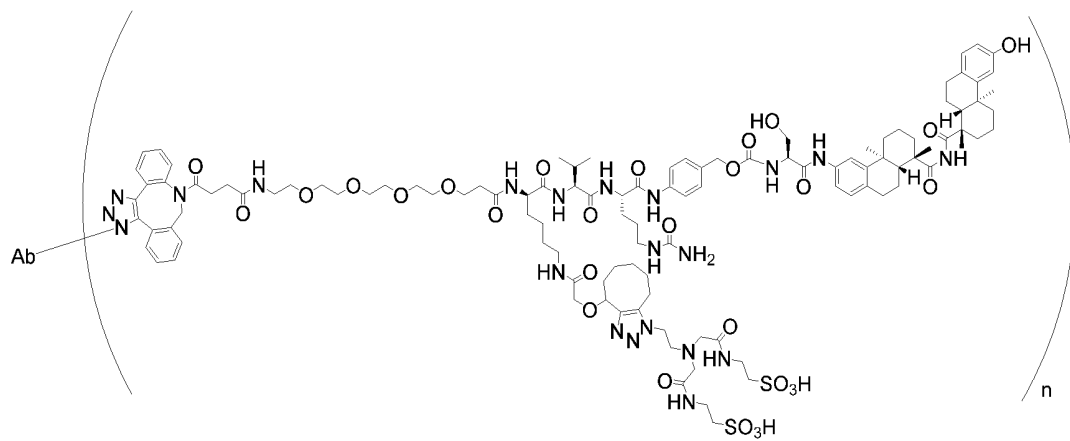




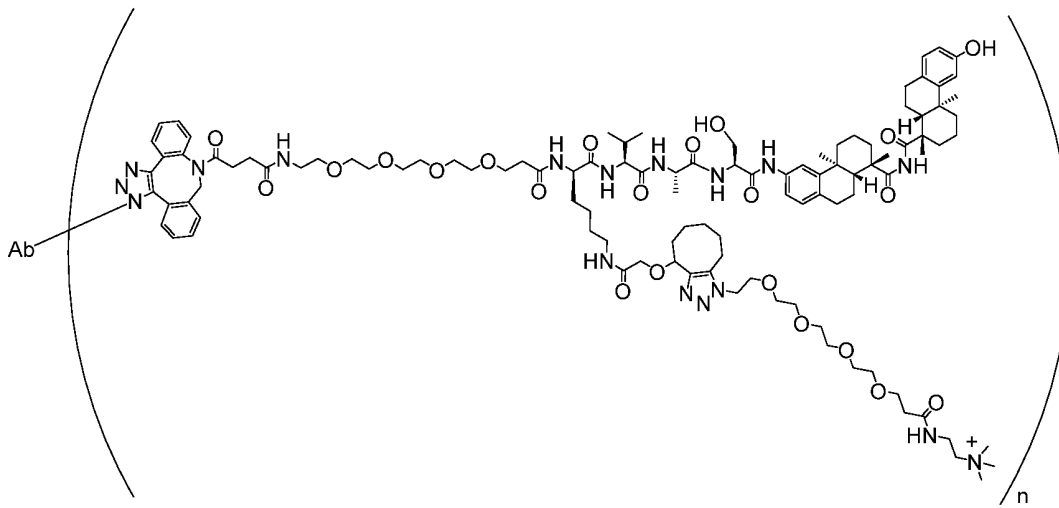
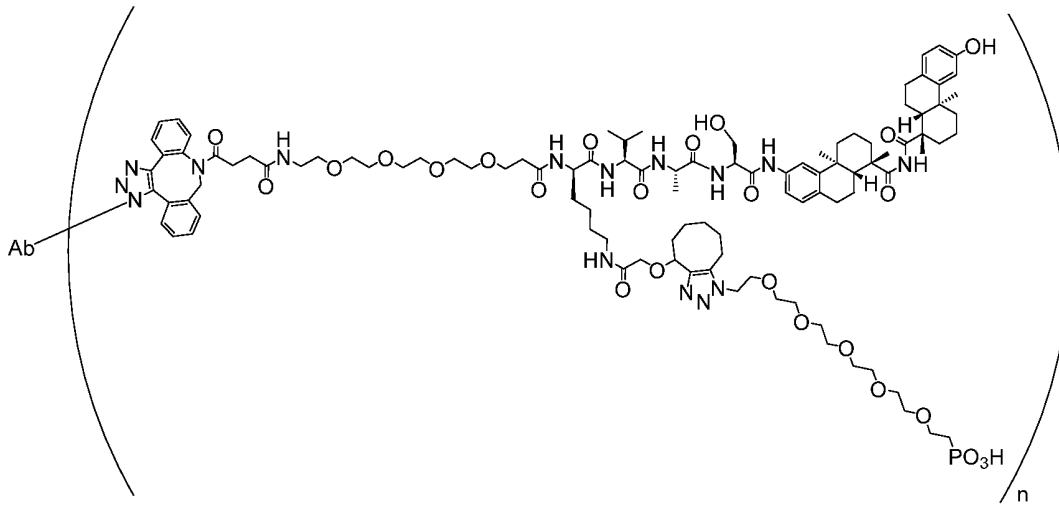
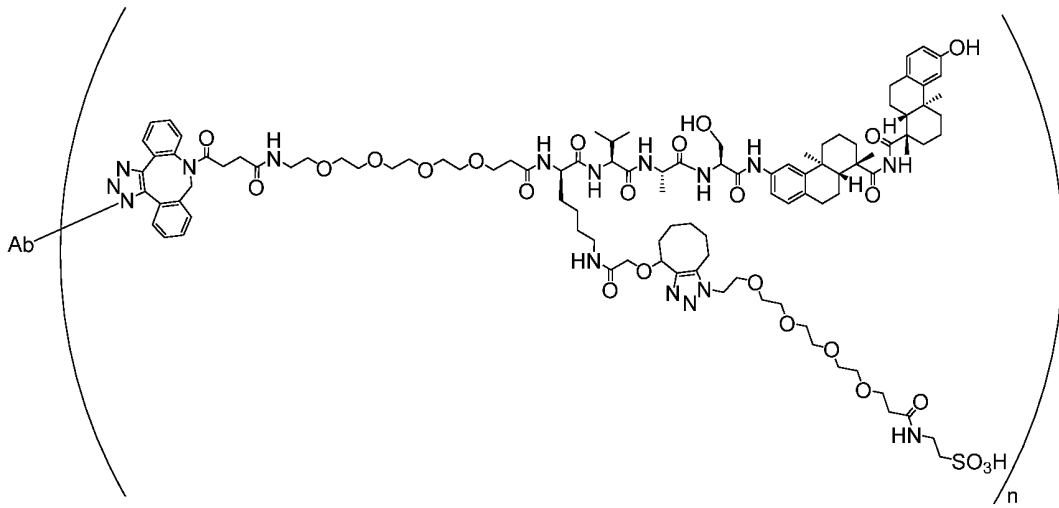


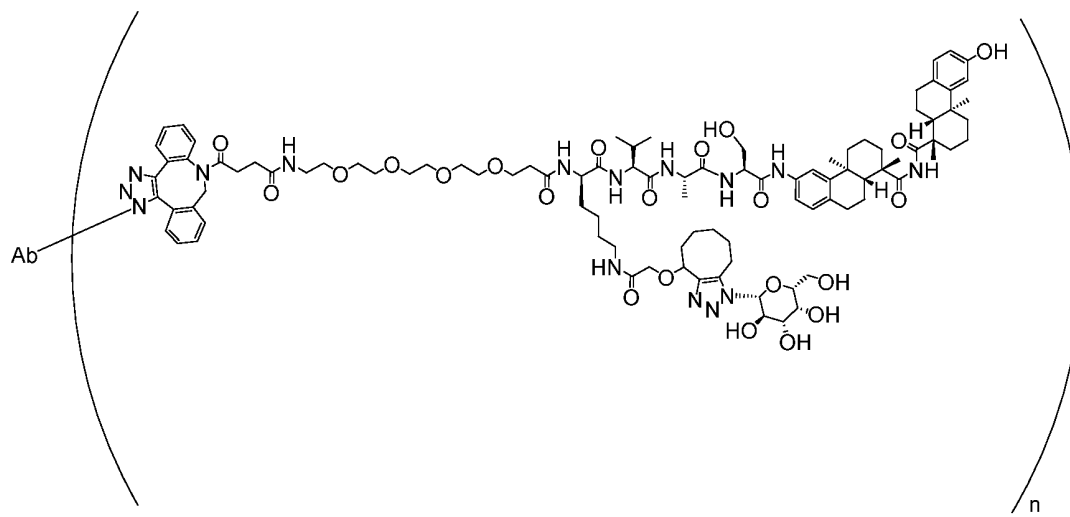
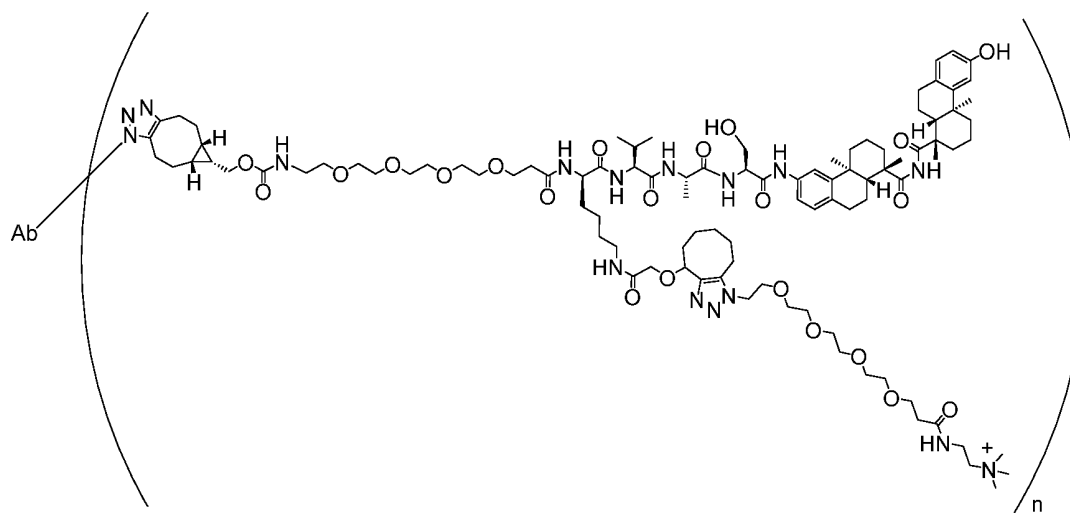
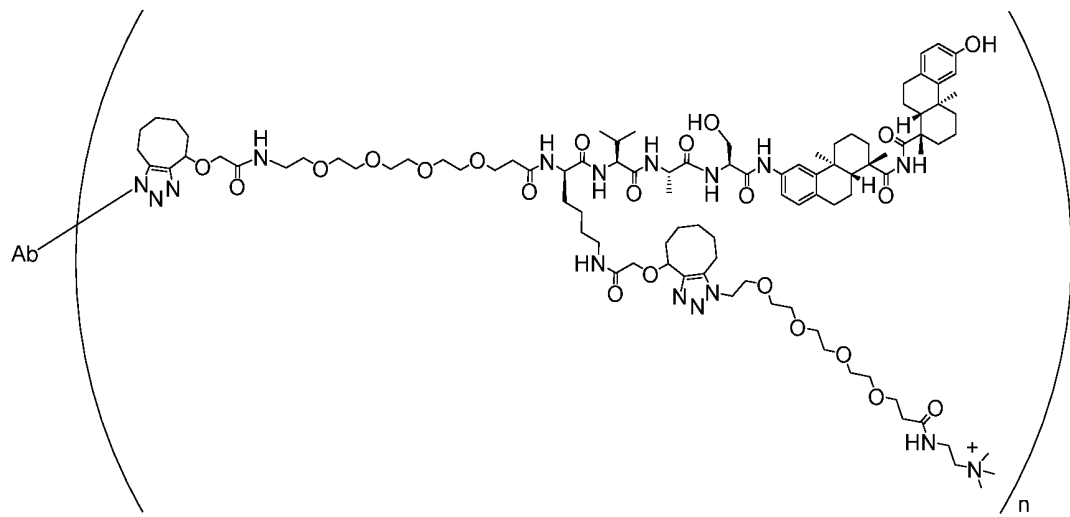


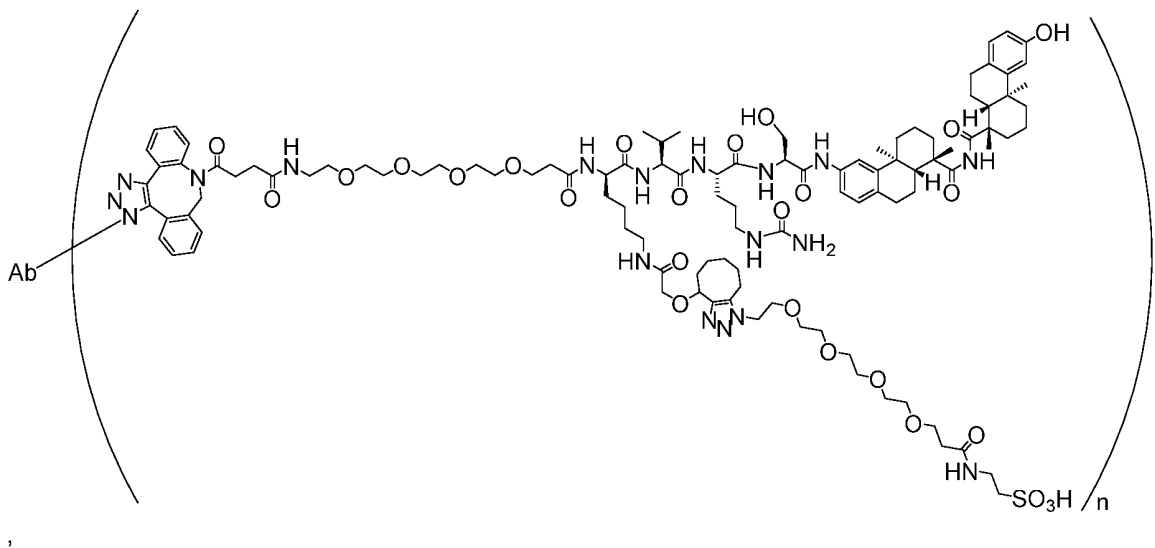
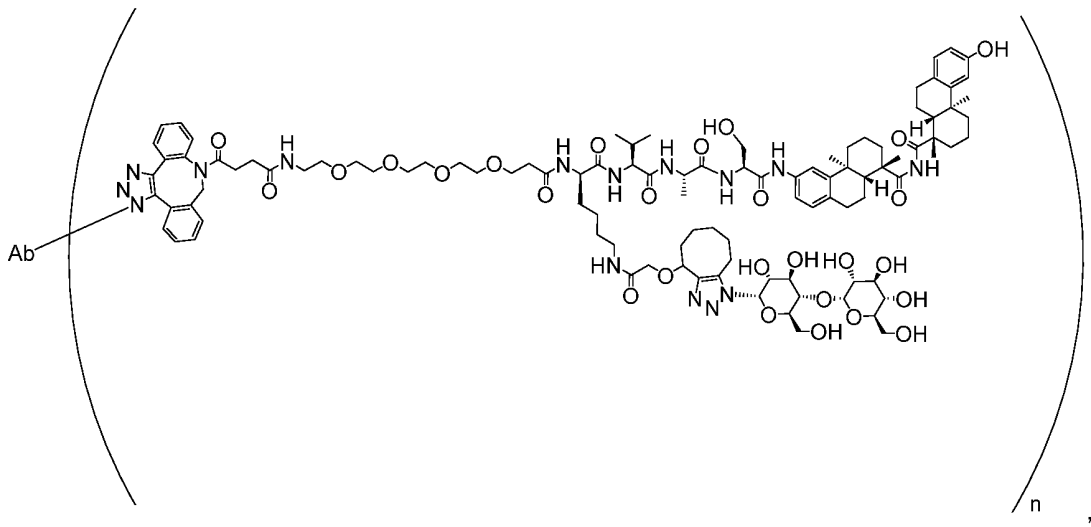
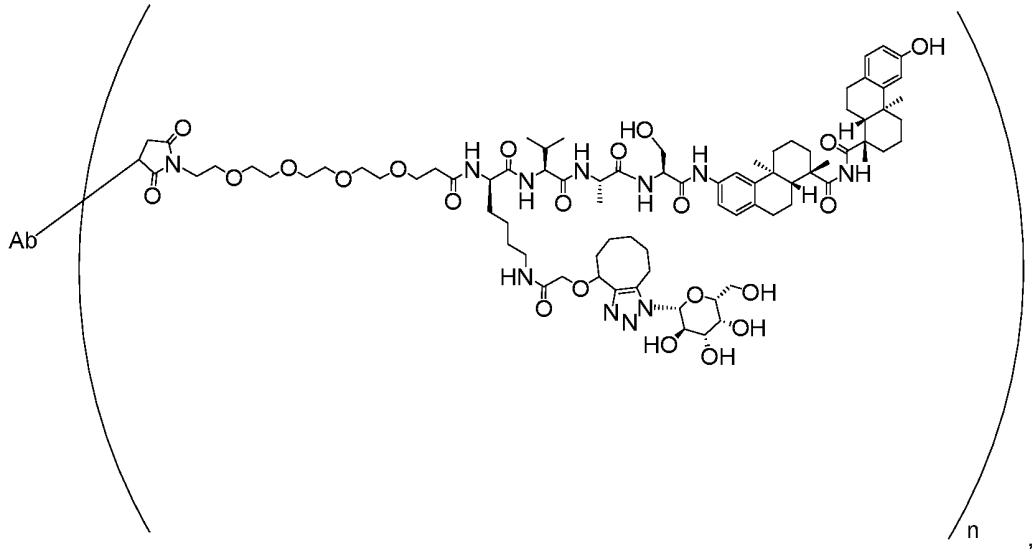




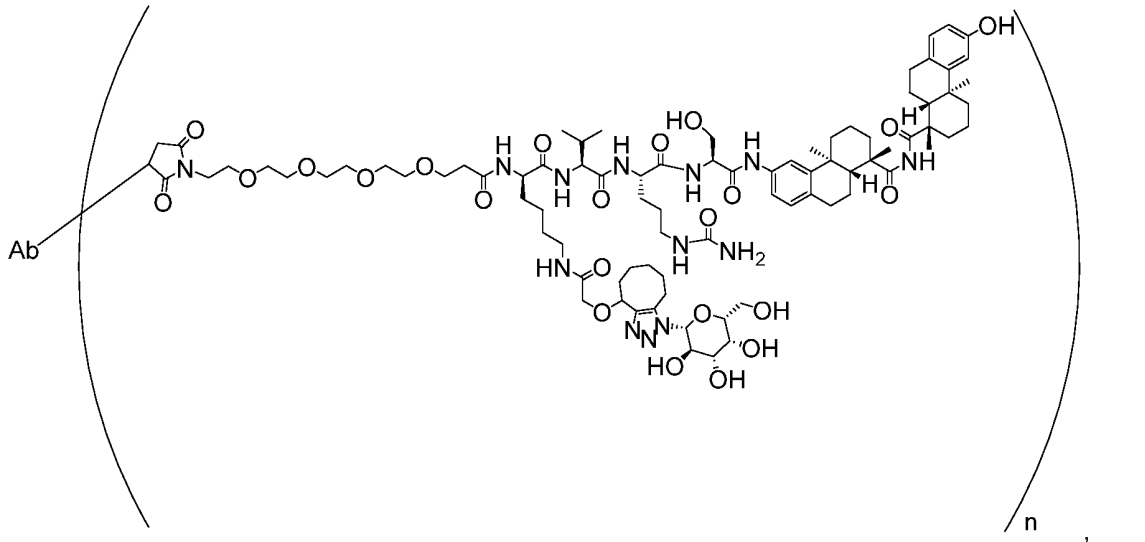
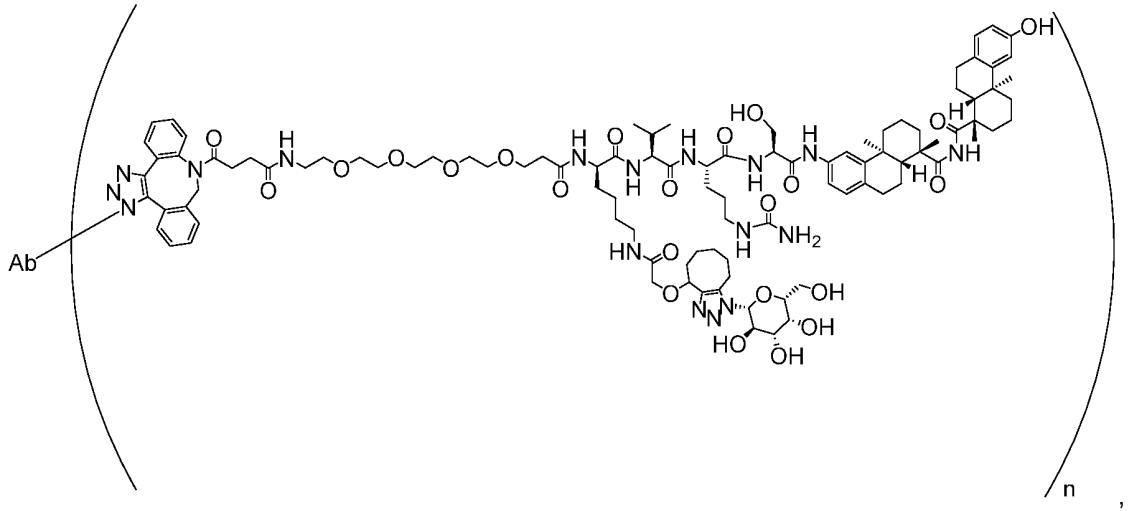
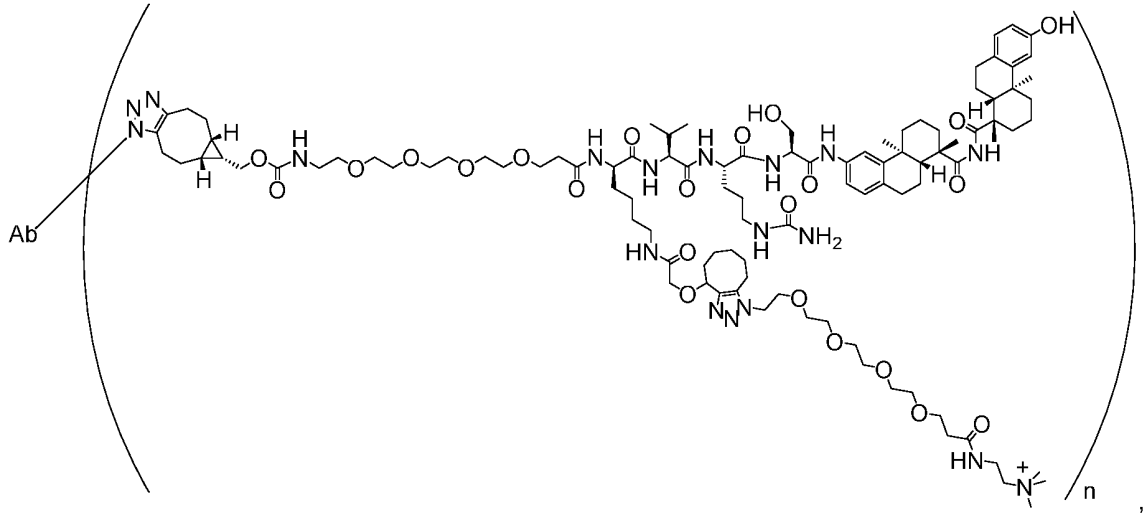




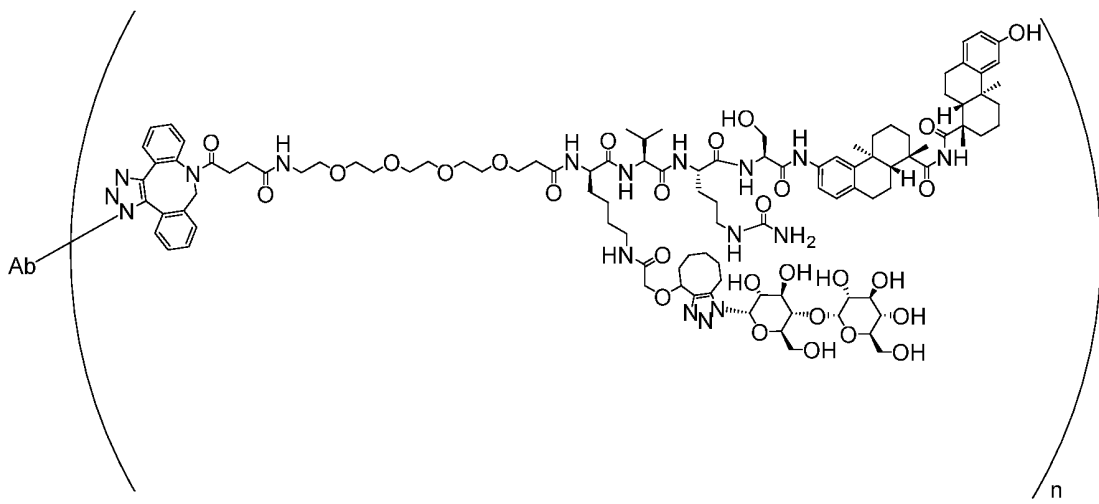






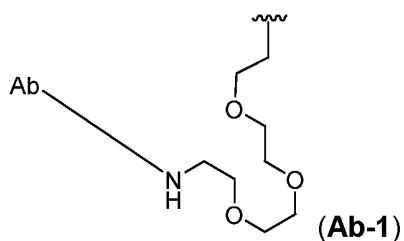


И



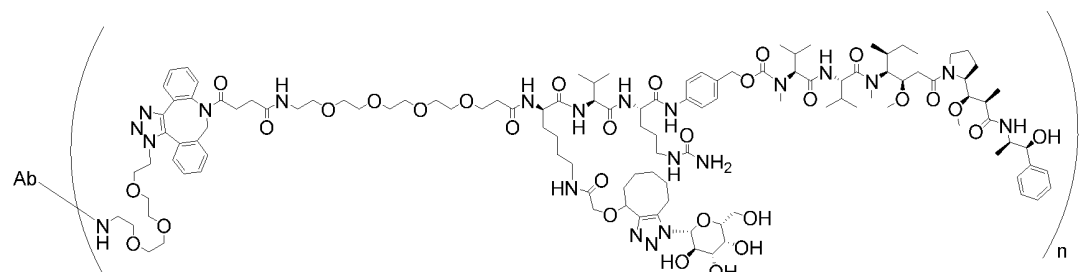
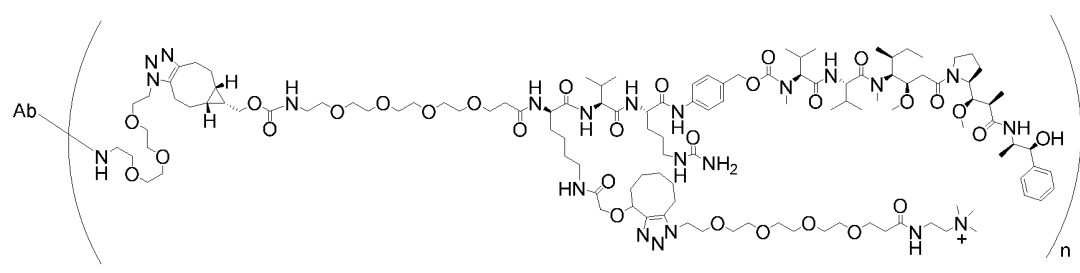
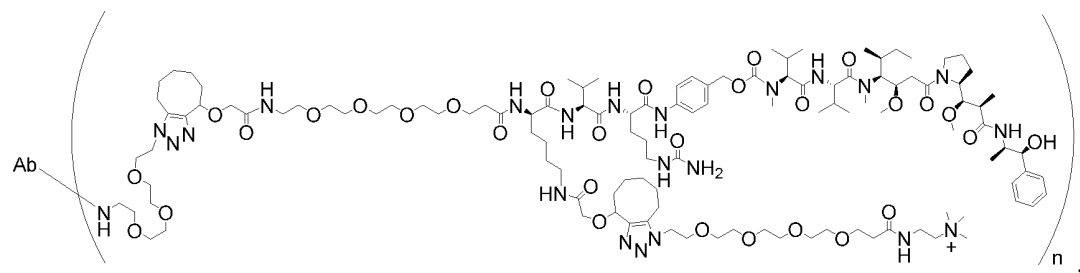
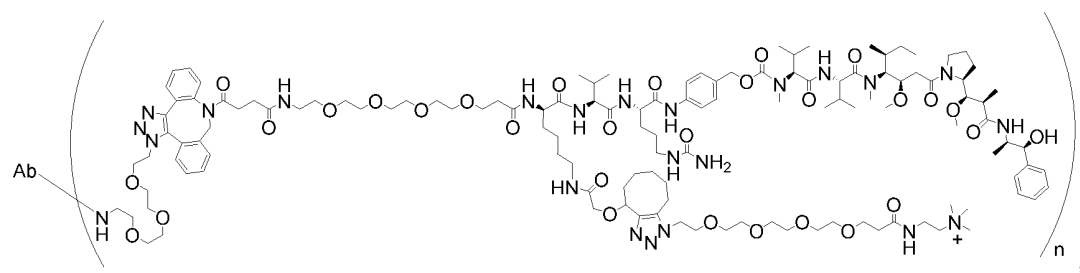
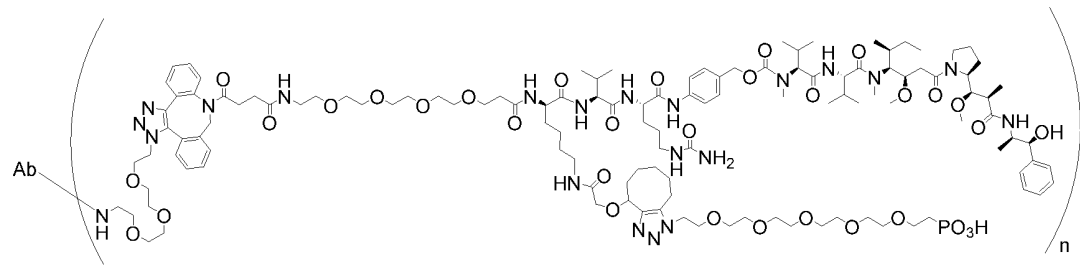
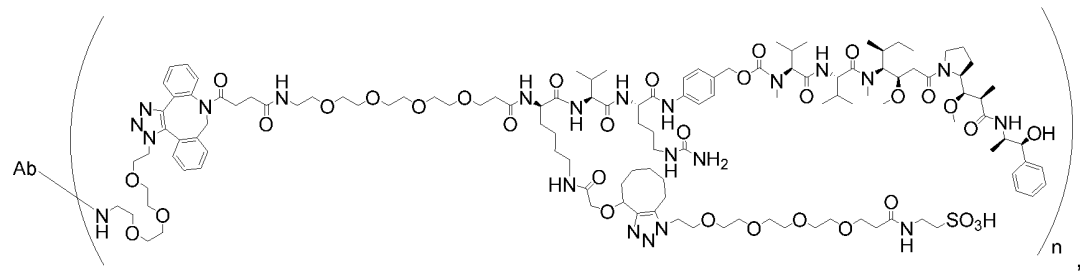
или его стереоизомерная форма, или региоизомер или смесь региоизомеров, где каждый **Ab** является антителом, или его антиген-связывающим фрагментом; и подстрочный индекс **n** является целым числом от 1 до 30.

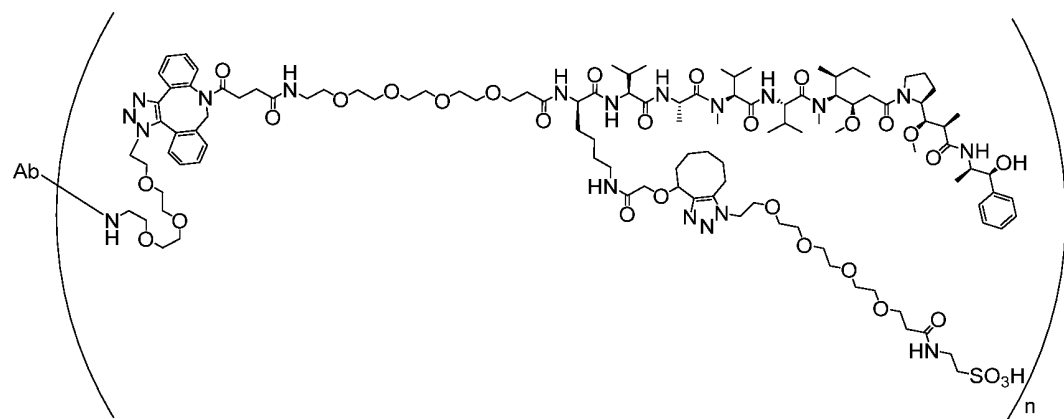
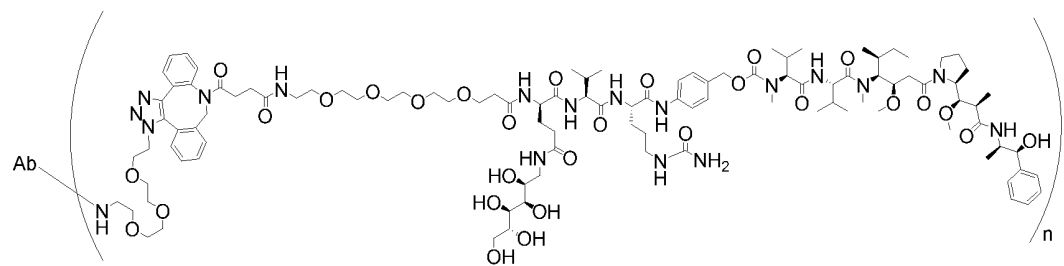
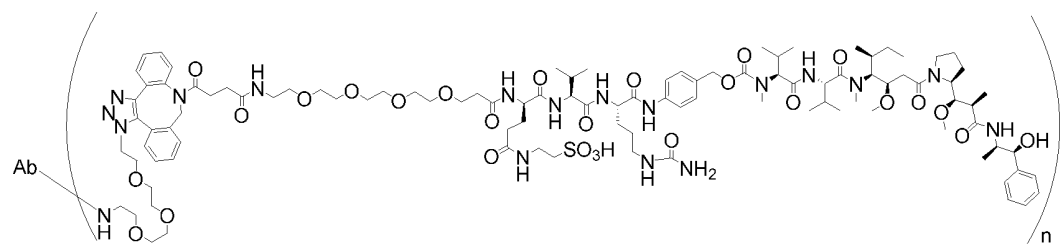
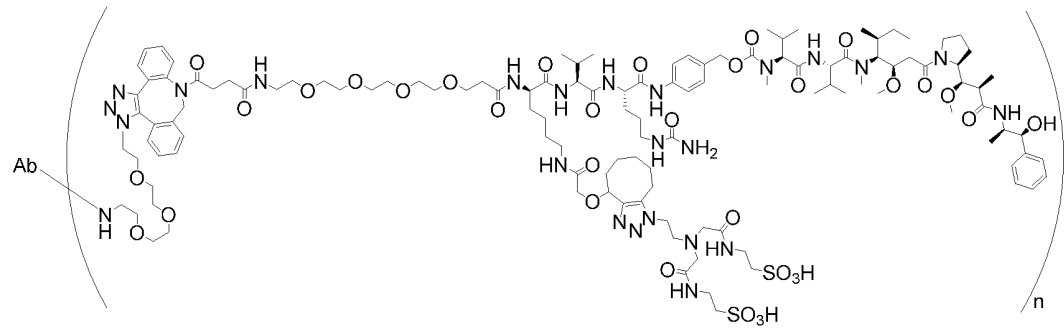
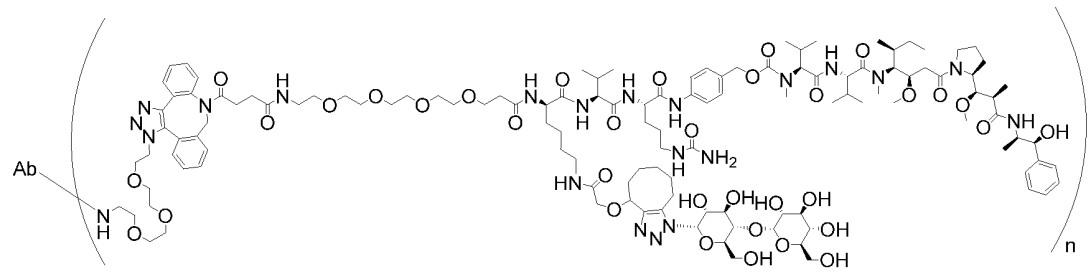
33. Соединение по любому из пп. 1-32, где **BA** является модифицированным антителом по формуле (**Ab-1**)



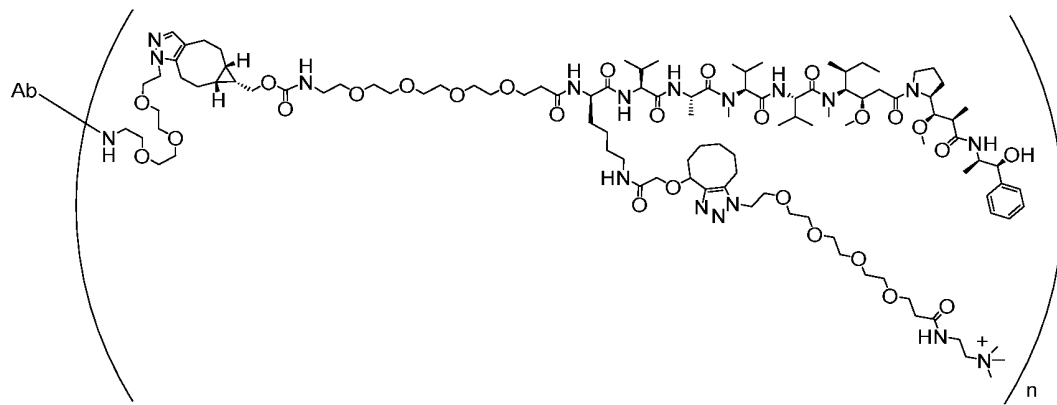
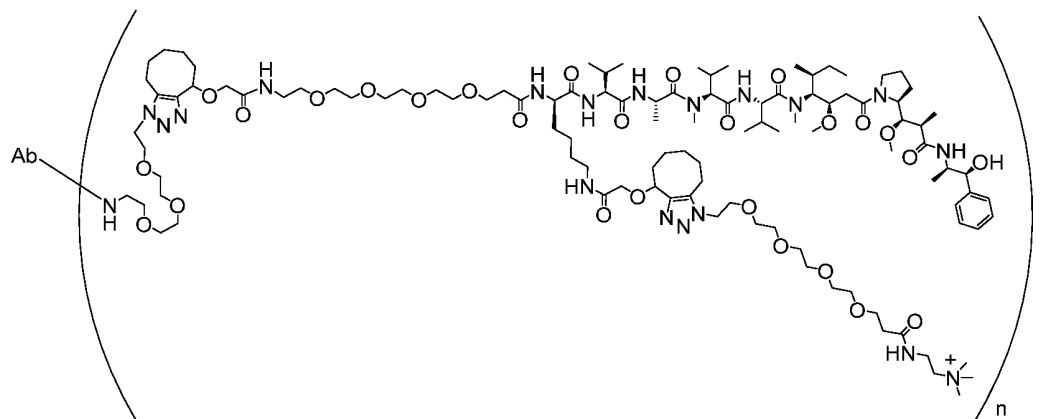
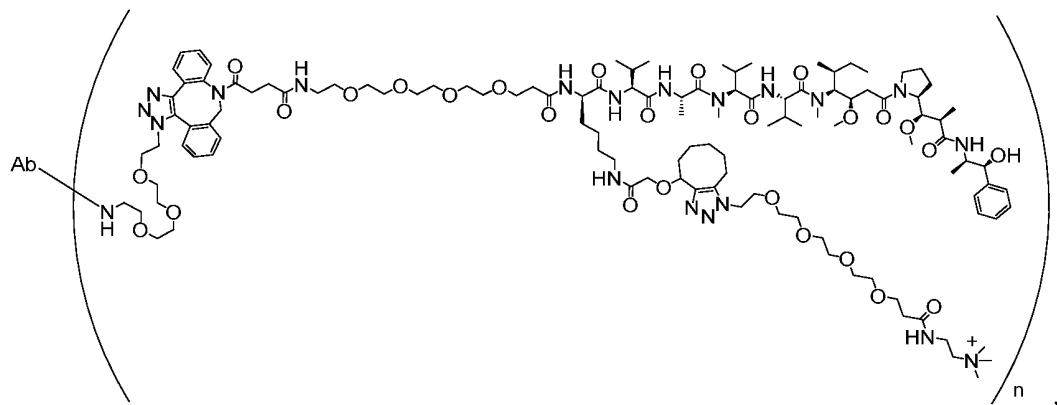
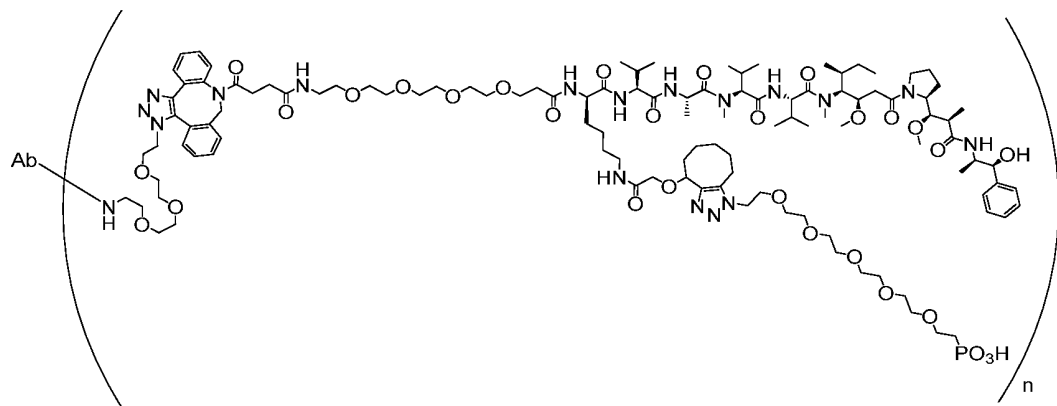
где указывает на атом, через который **Ab-1** соединен с соседними группами в формуле.

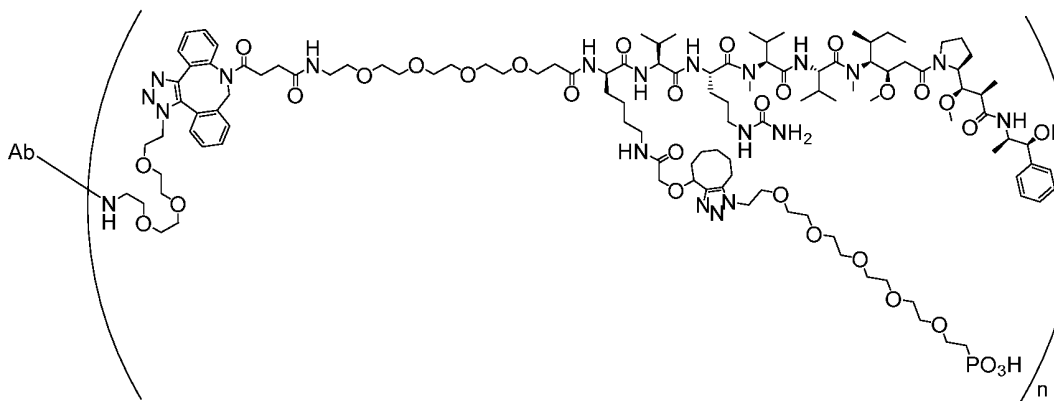
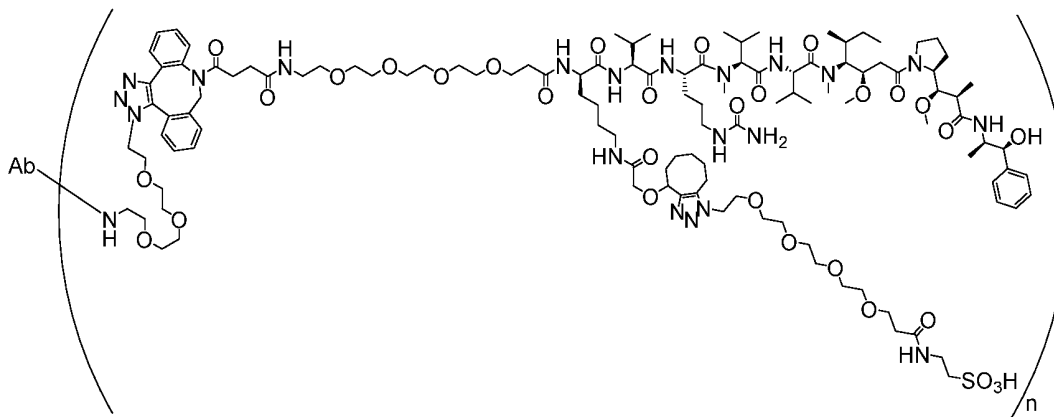
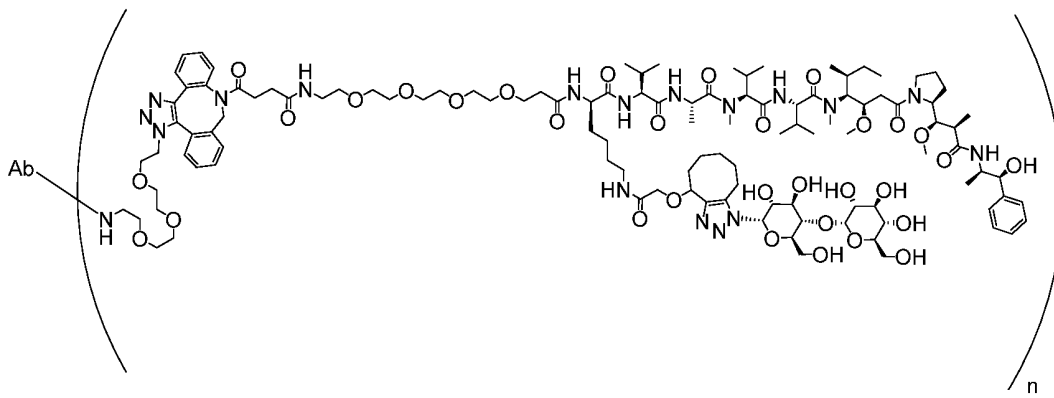
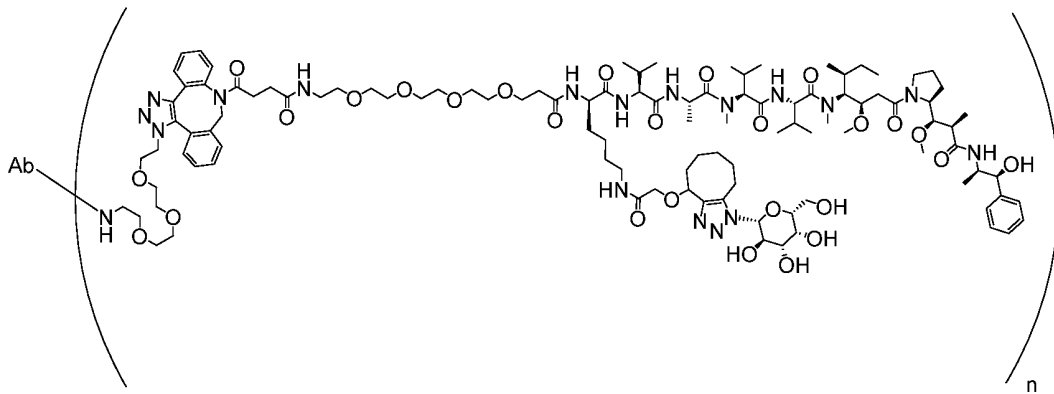
34. Соединение по любому из пп. 1-33, которое выбирают из группы, включающей:

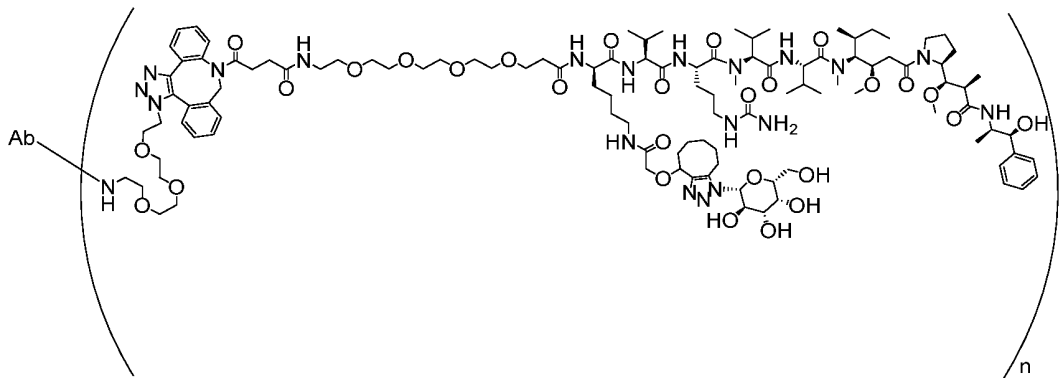
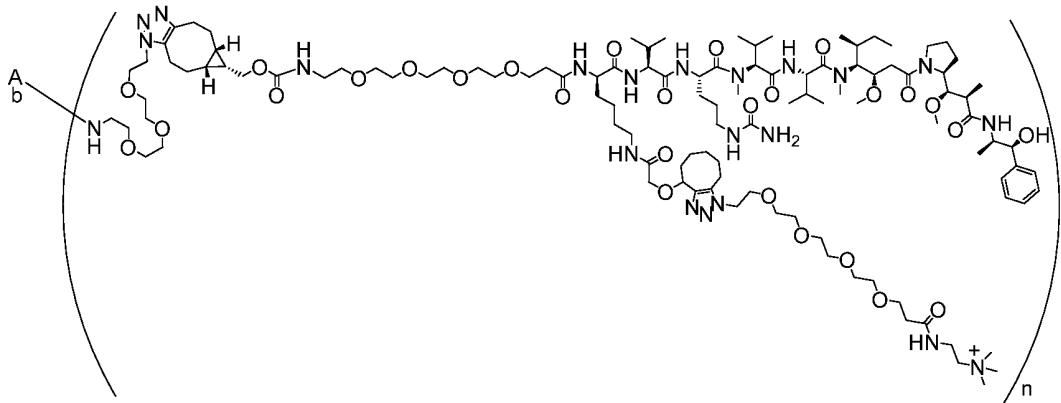
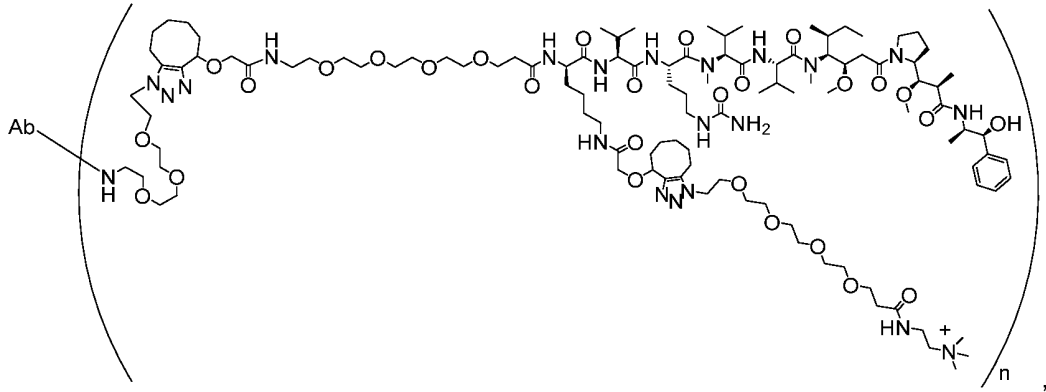
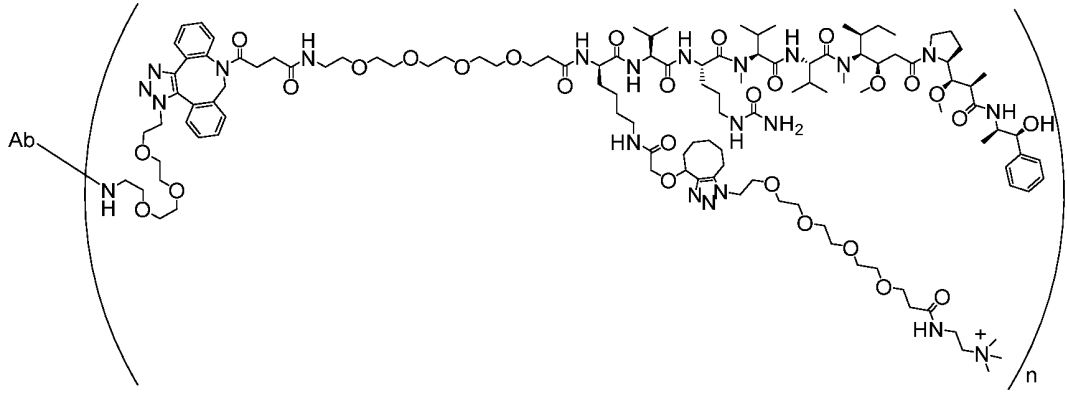


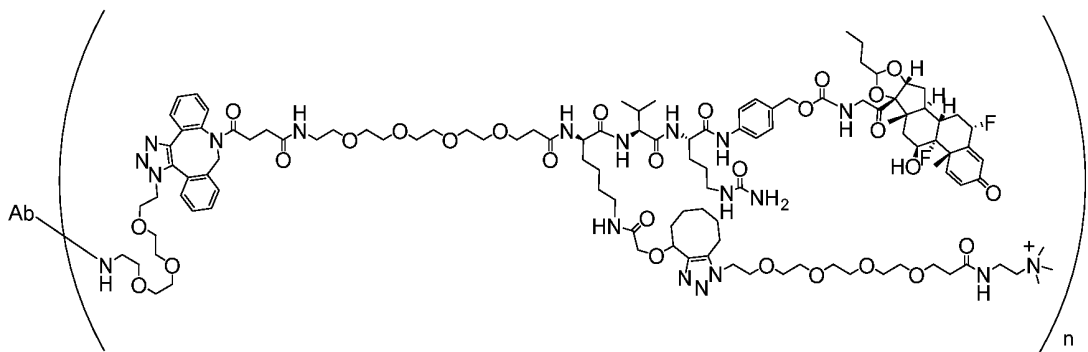
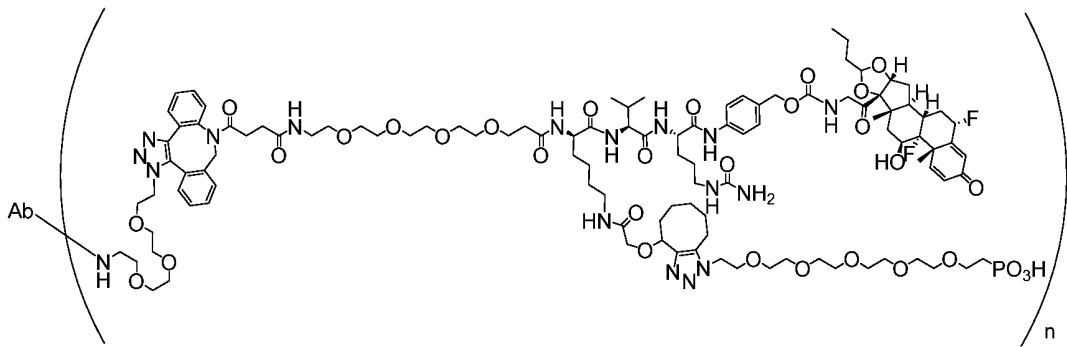
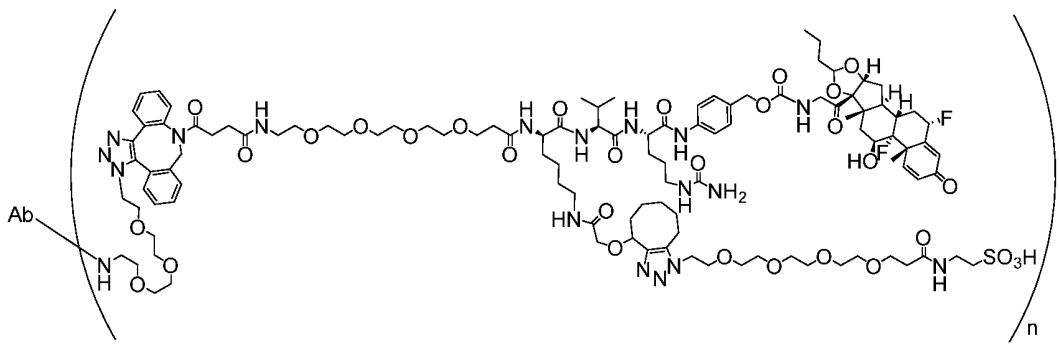
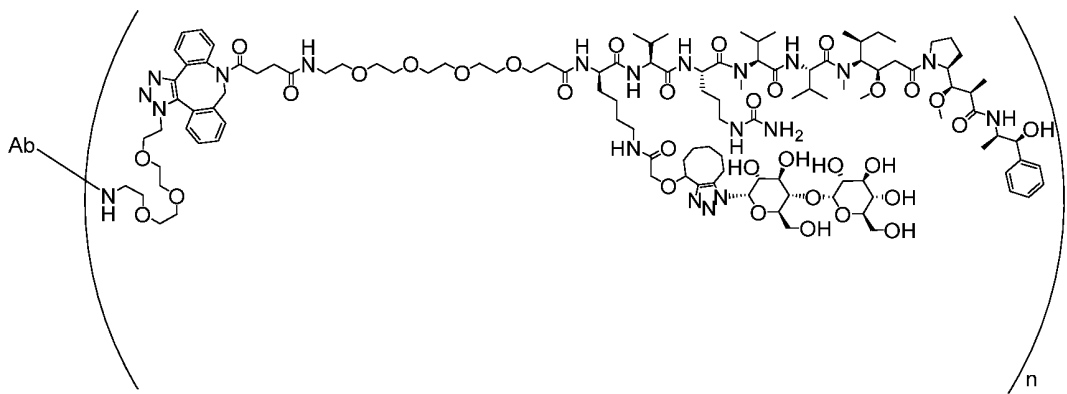


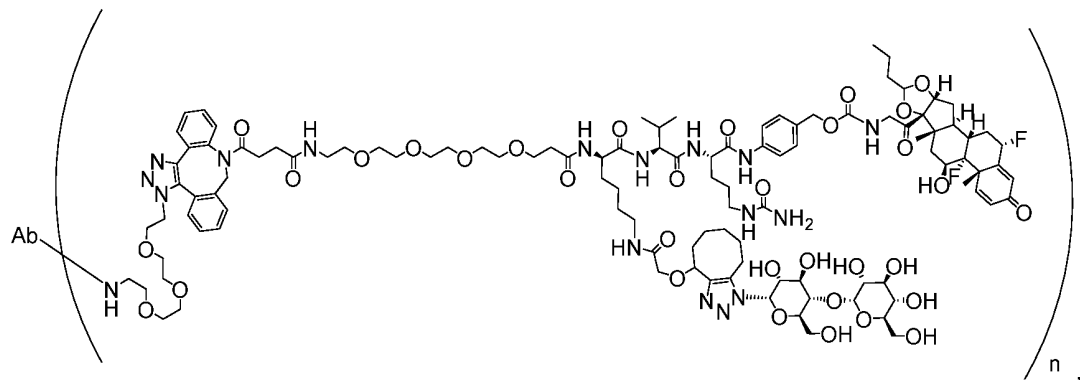
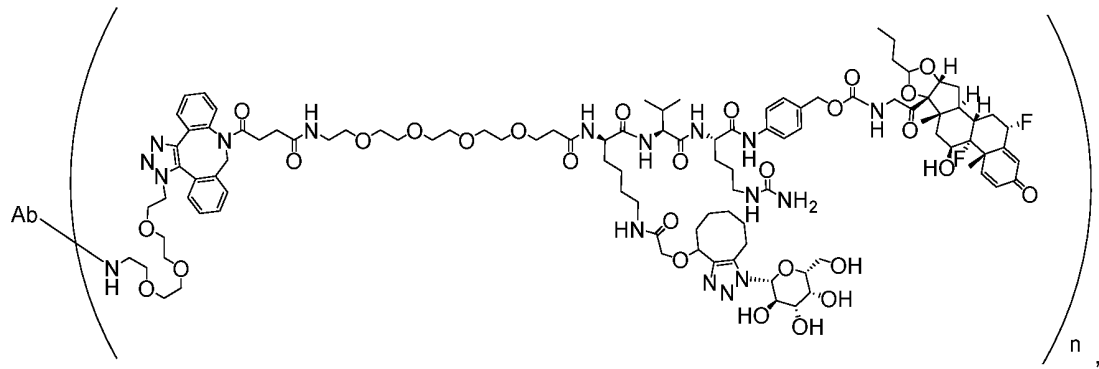
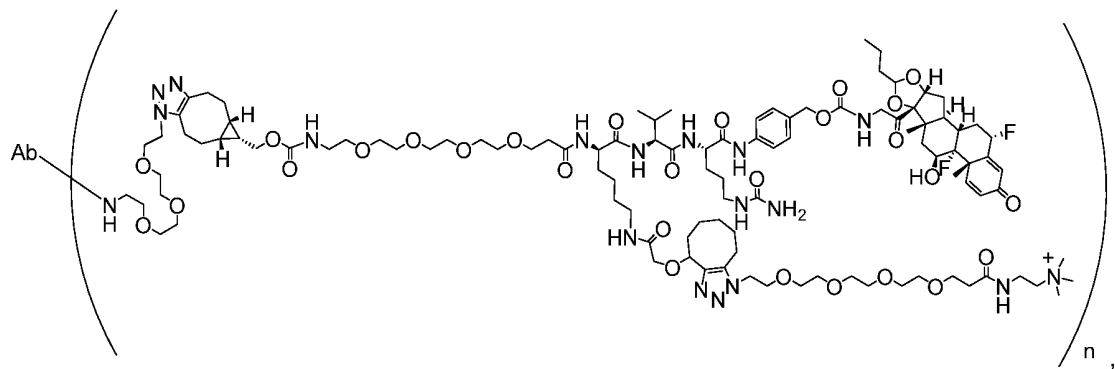
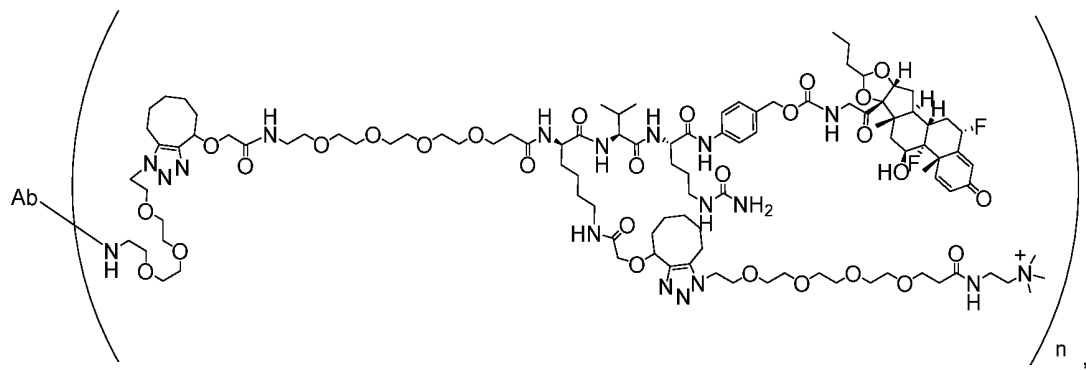


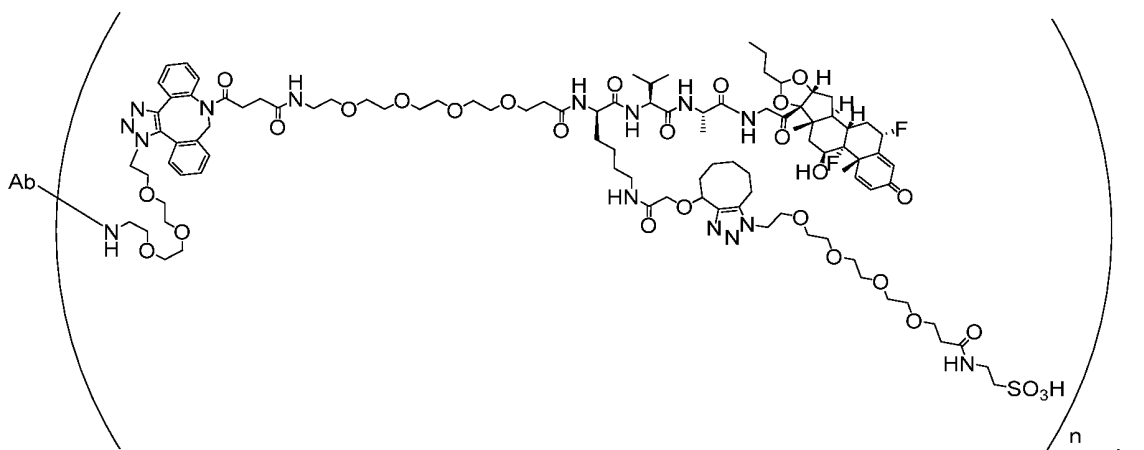
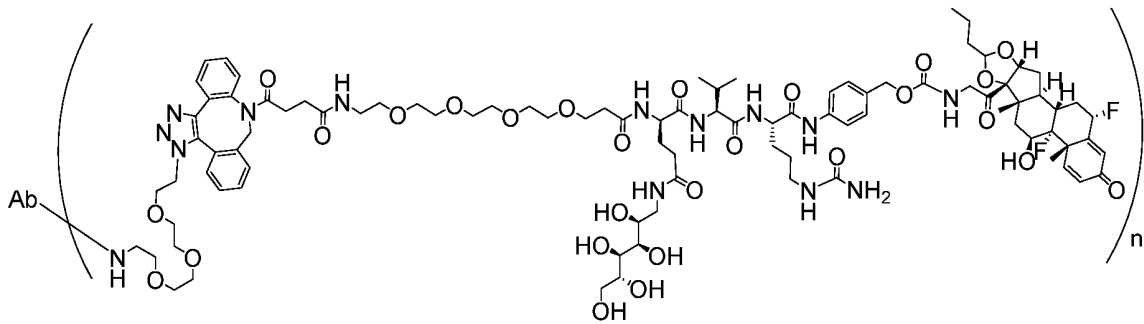
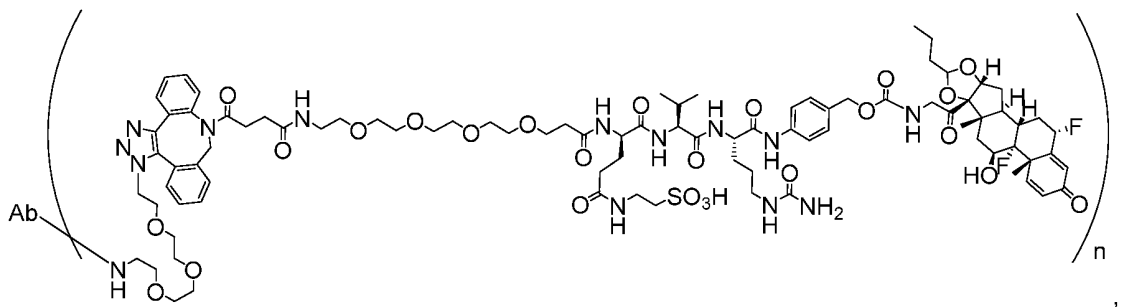
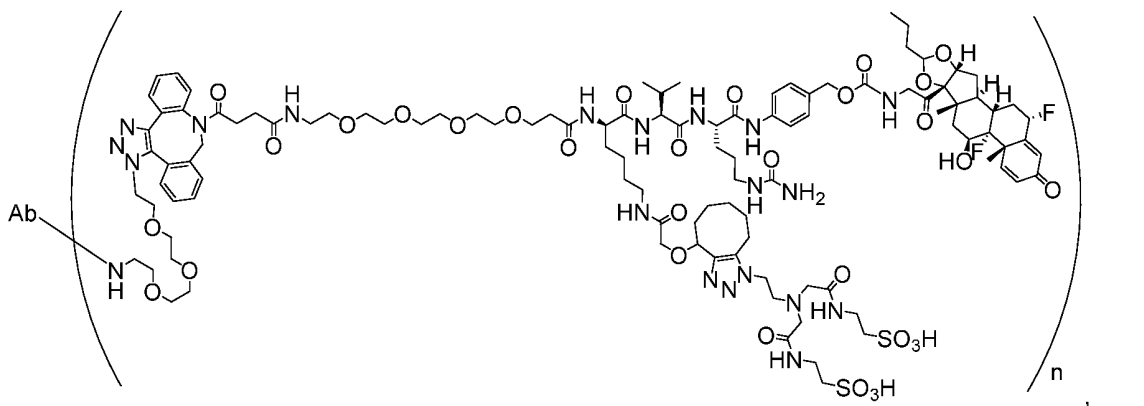


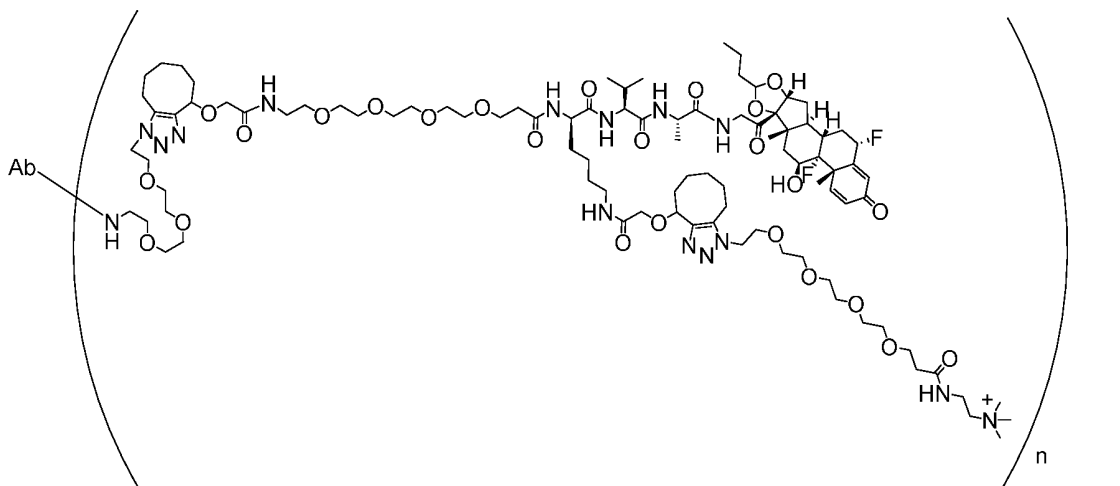
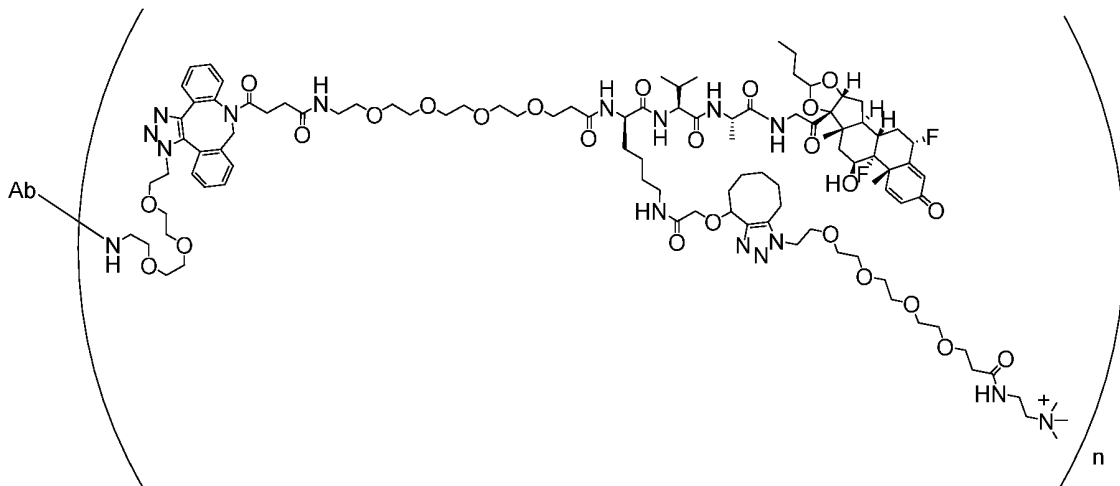
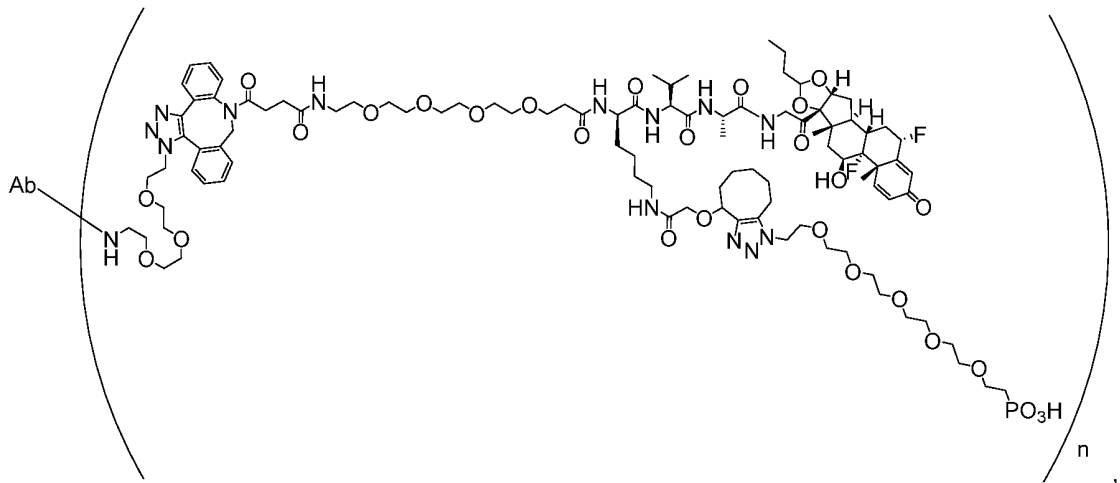


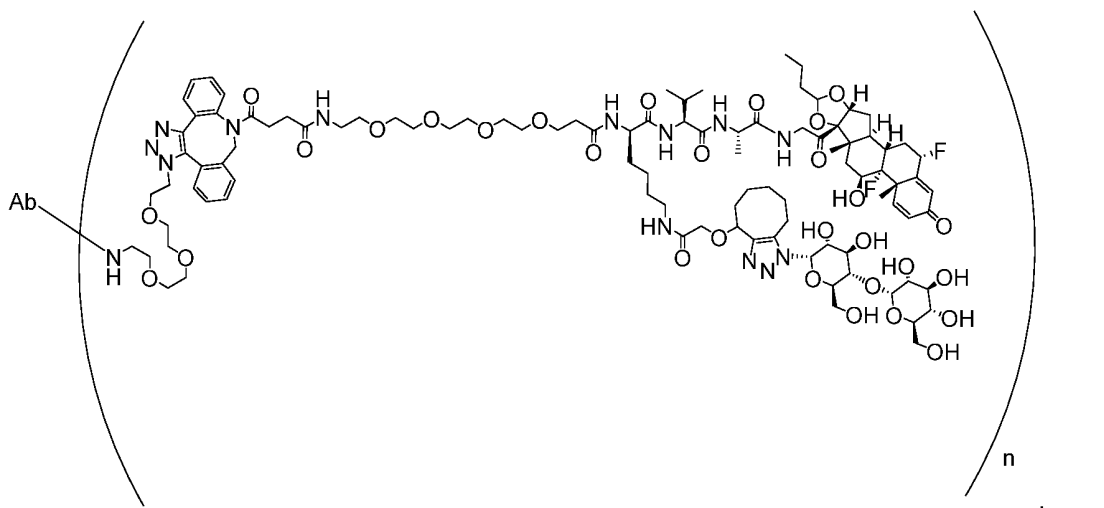
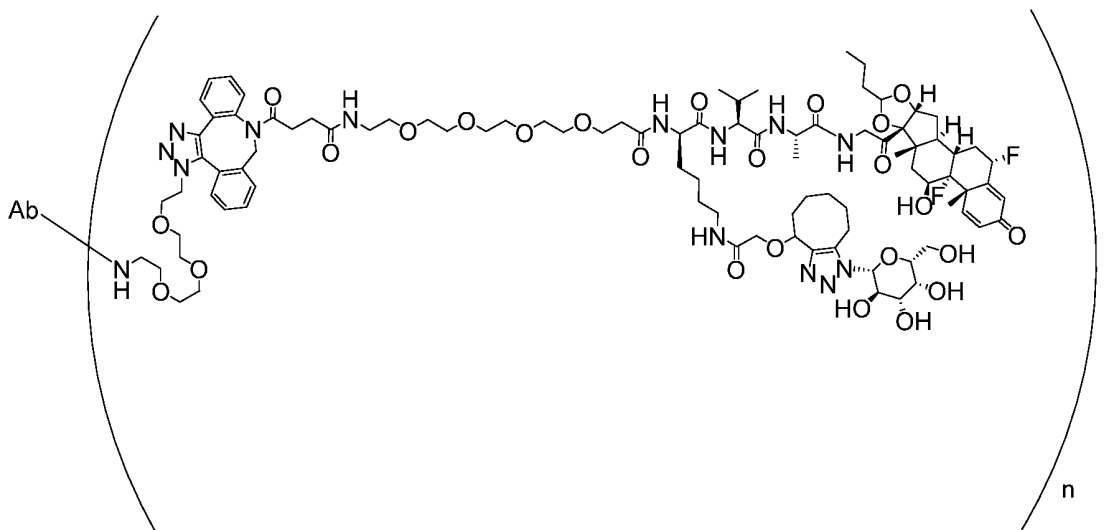
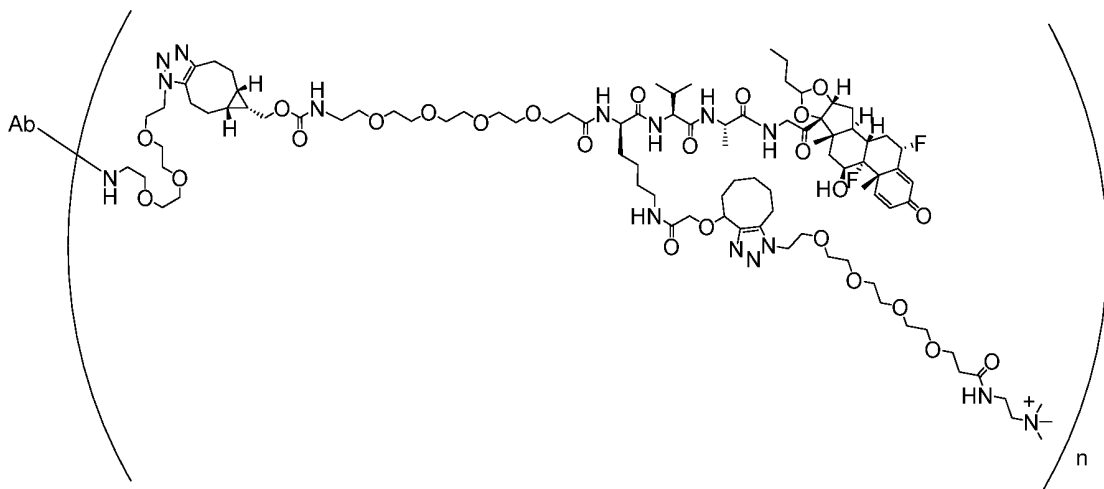




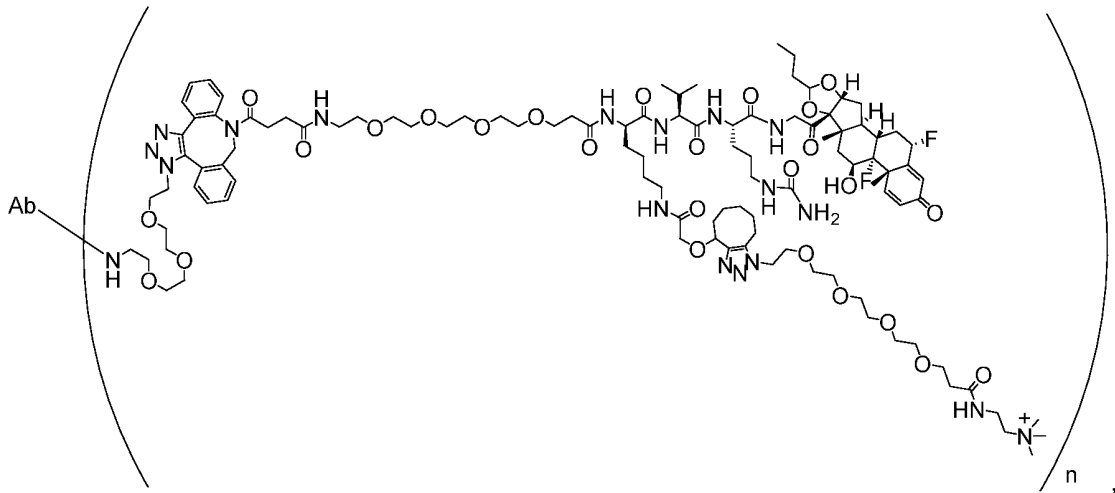
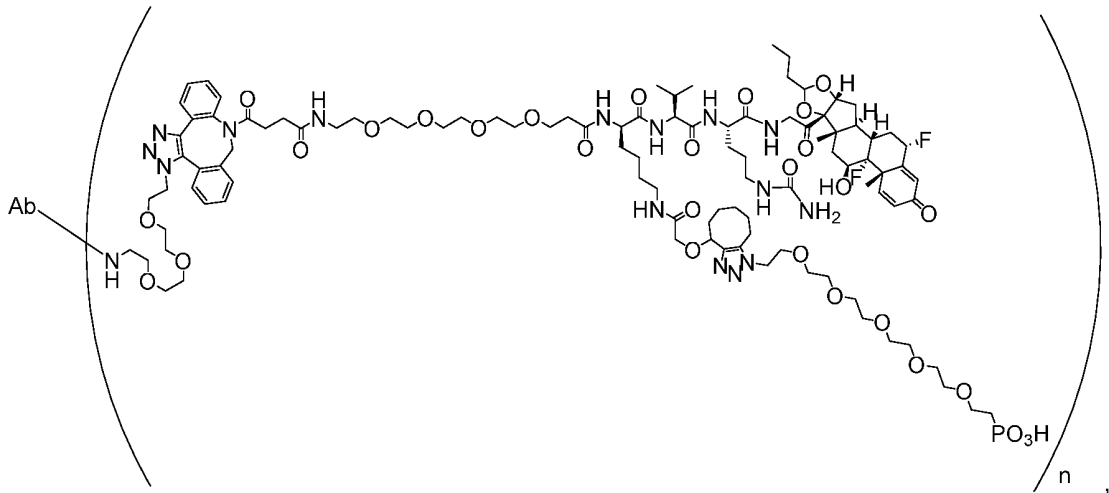
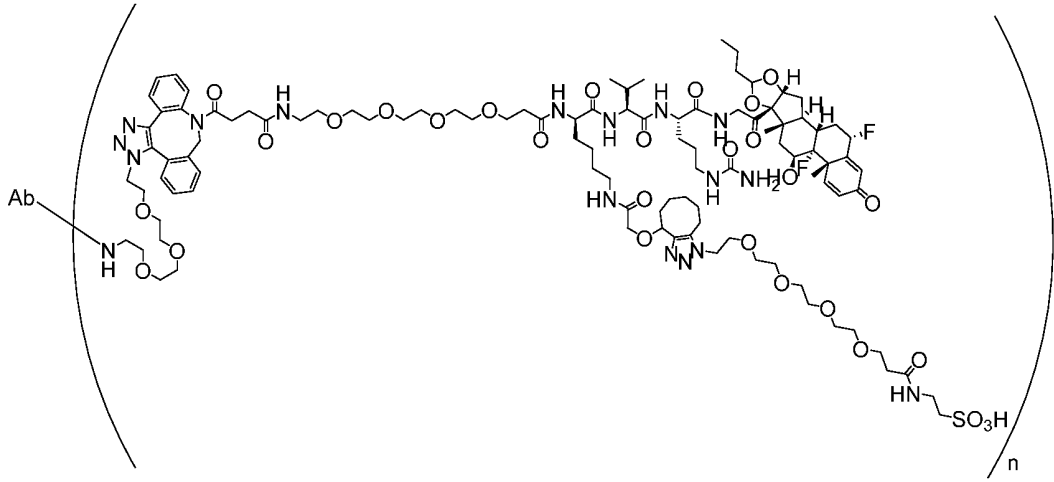


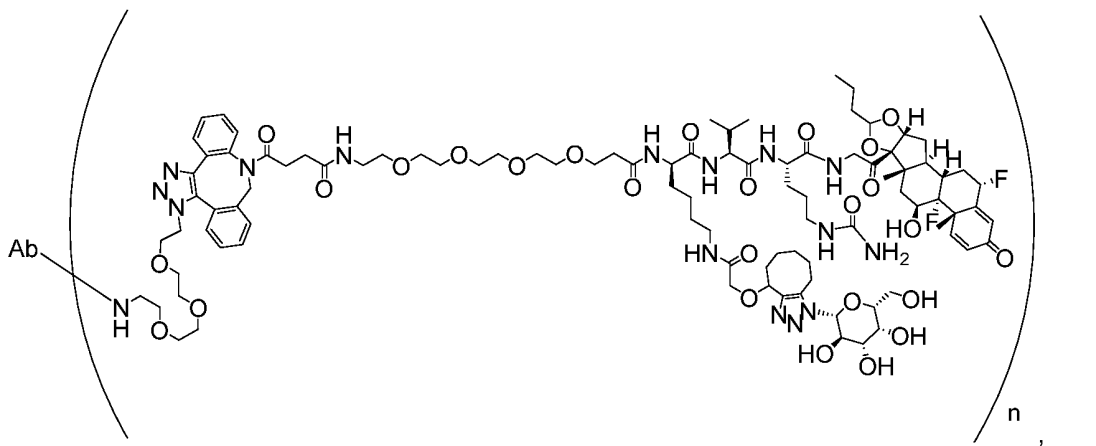
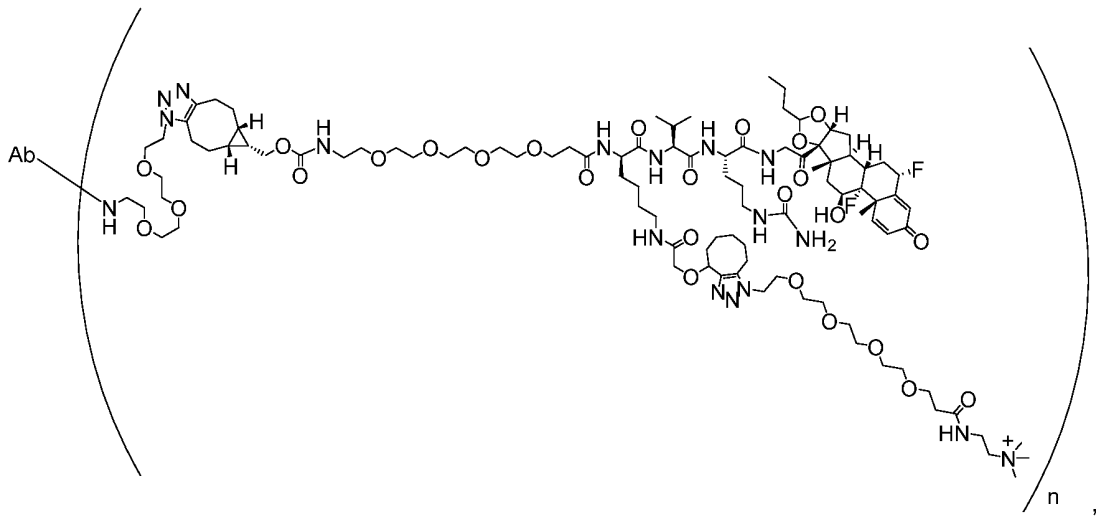
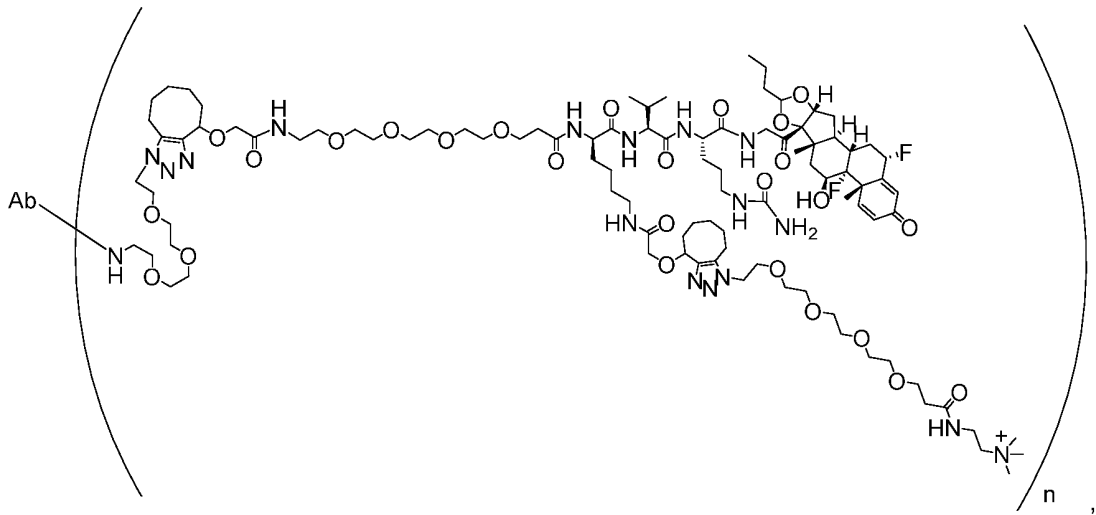


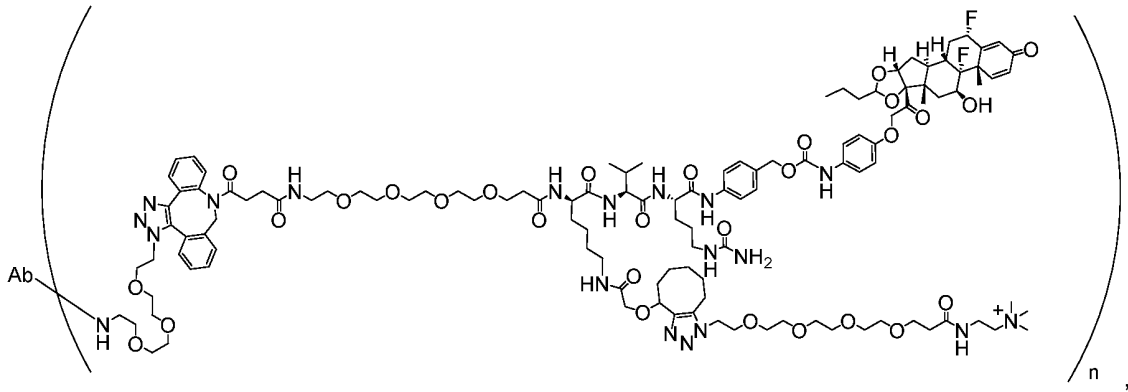
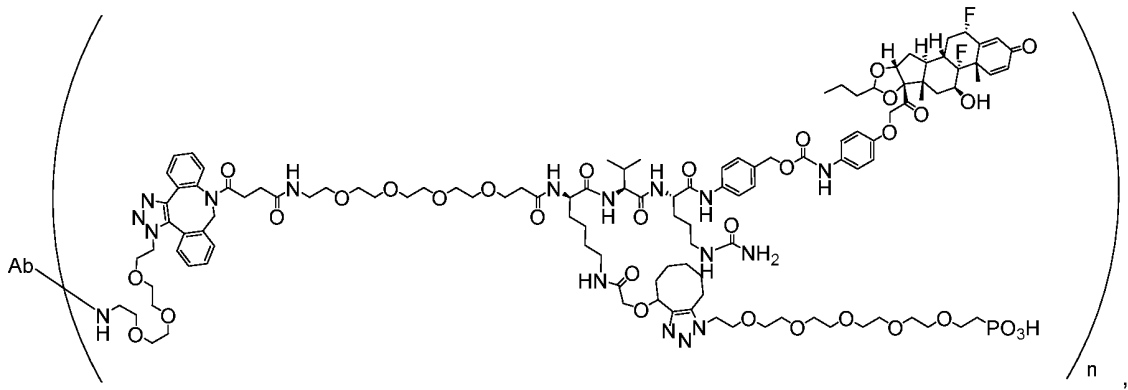
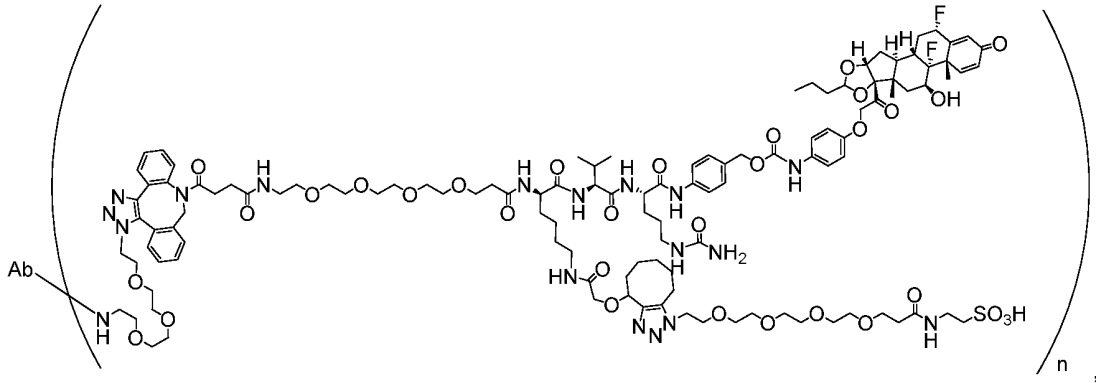
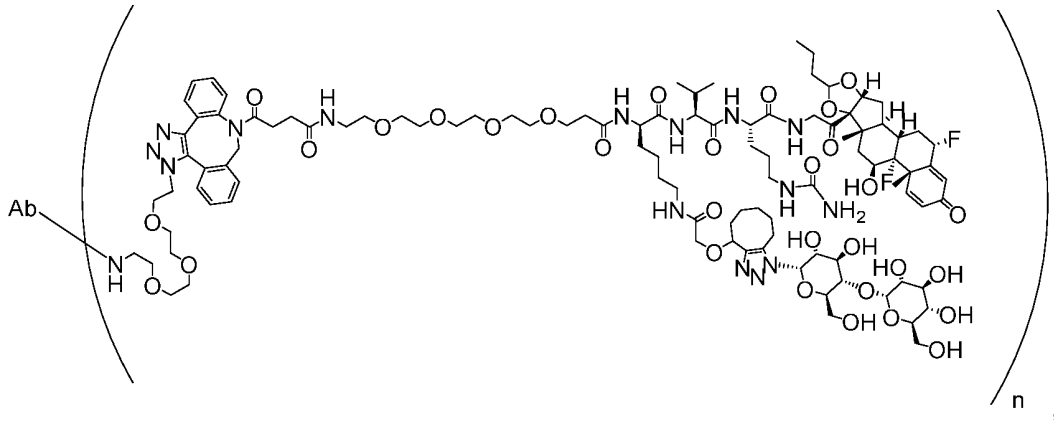


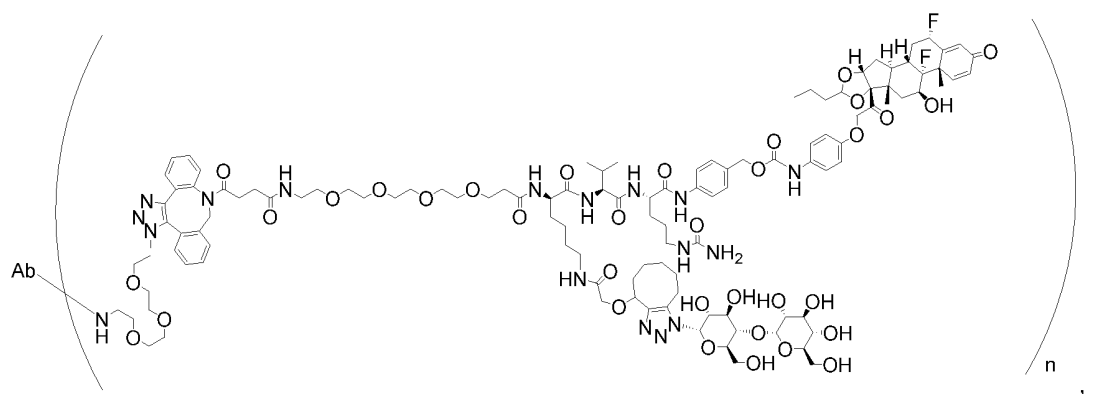
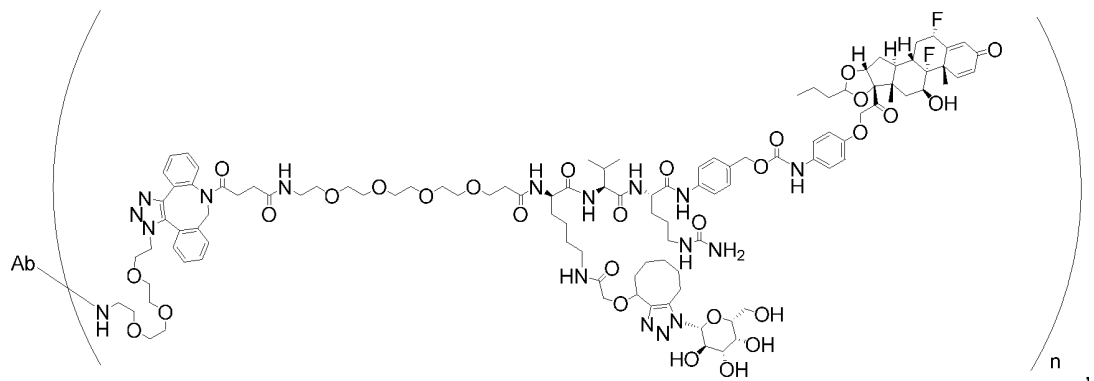
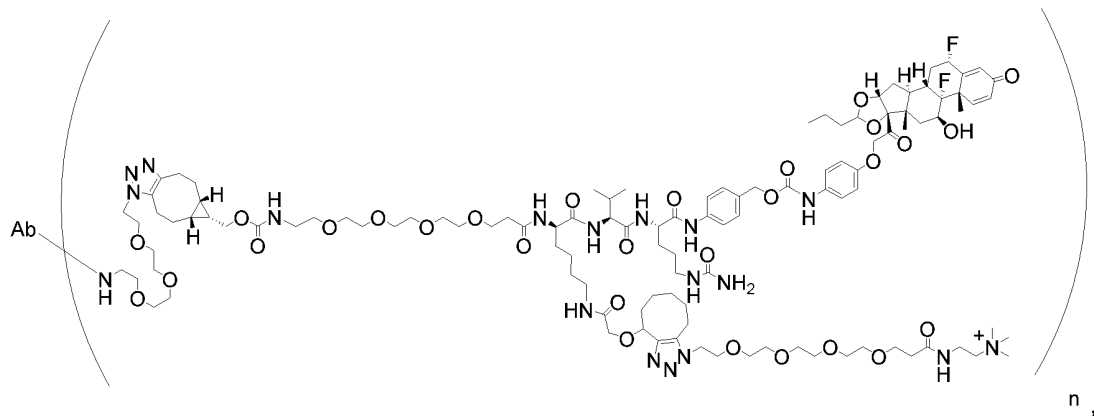
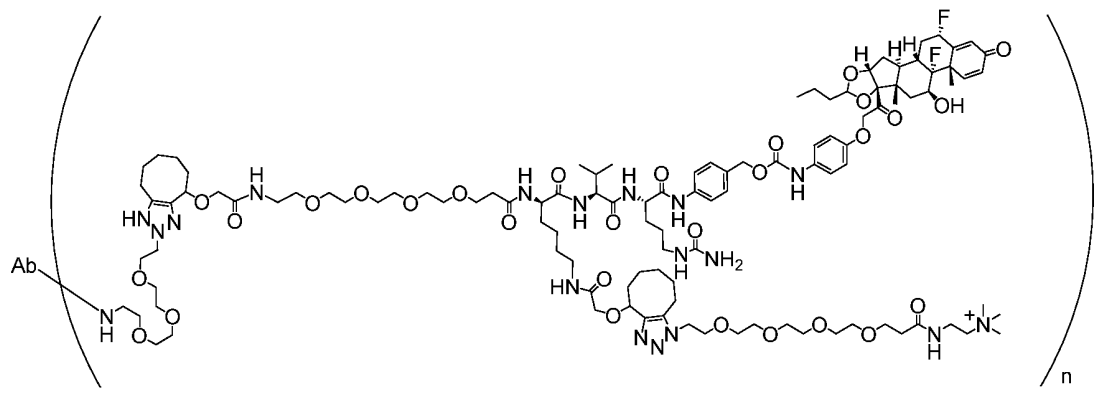


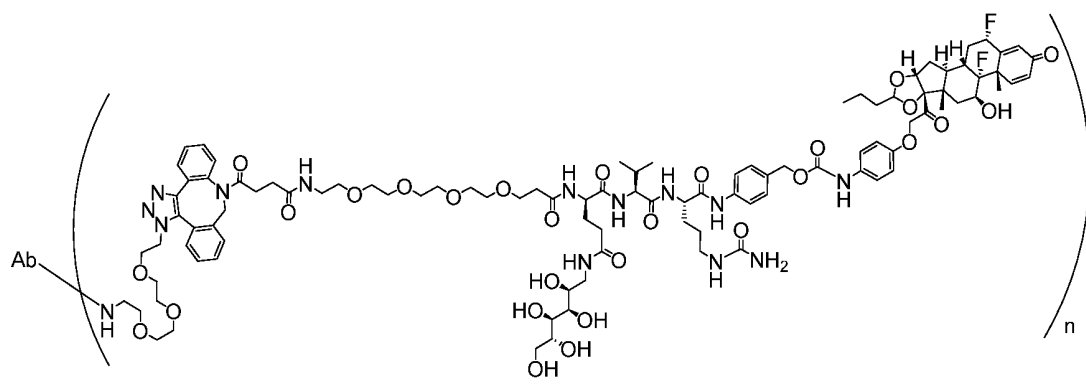
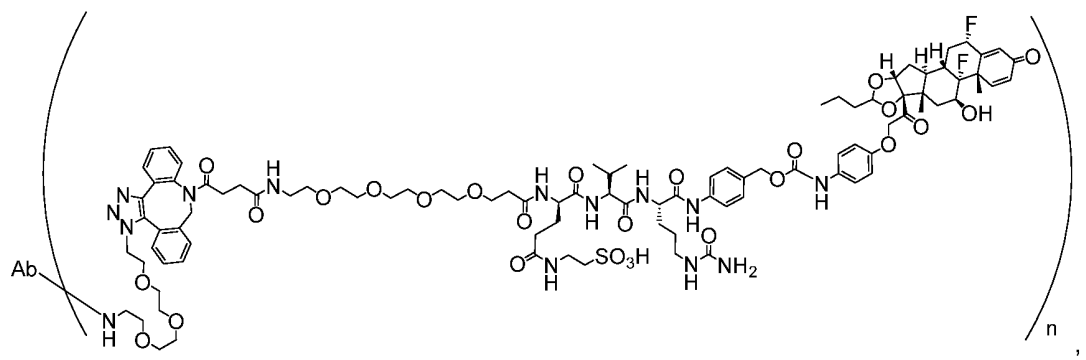
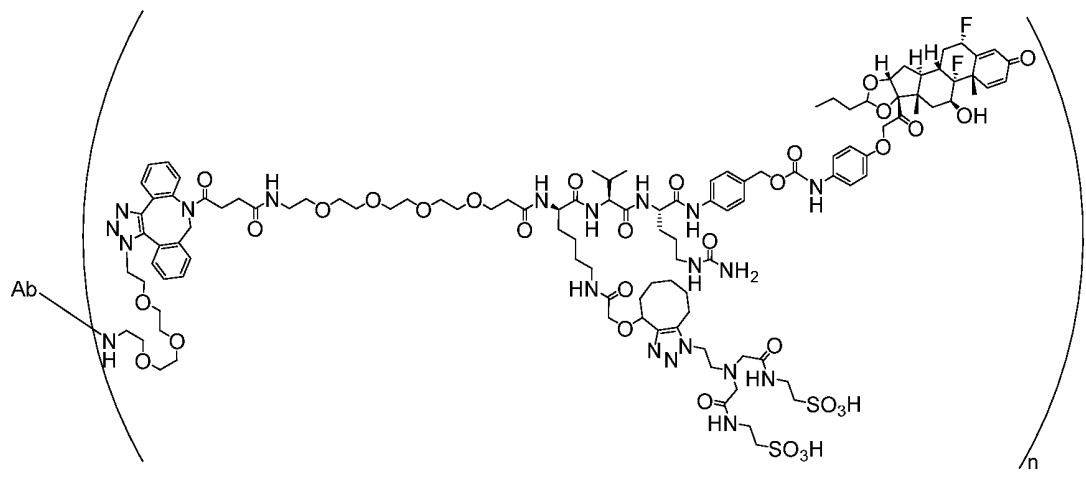


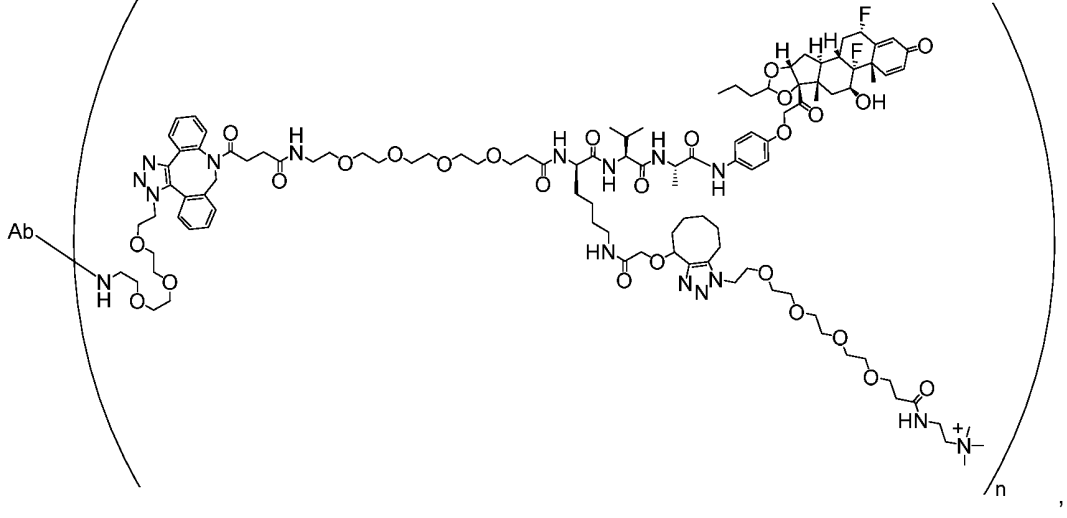
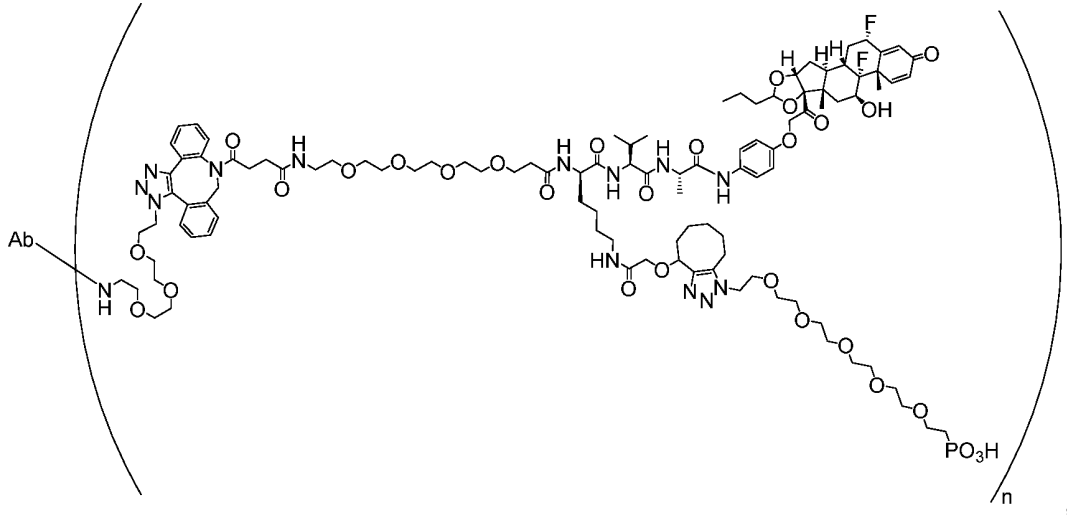
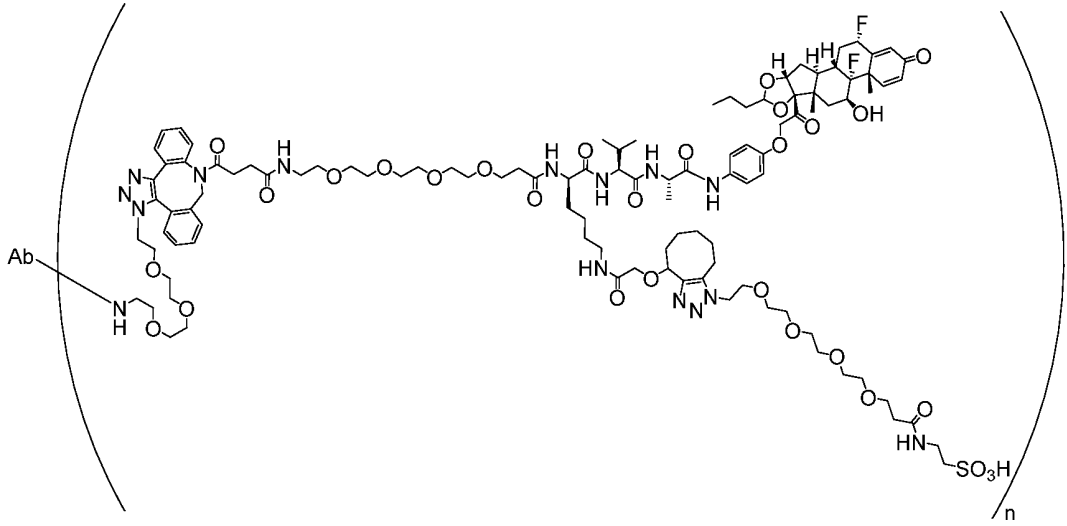


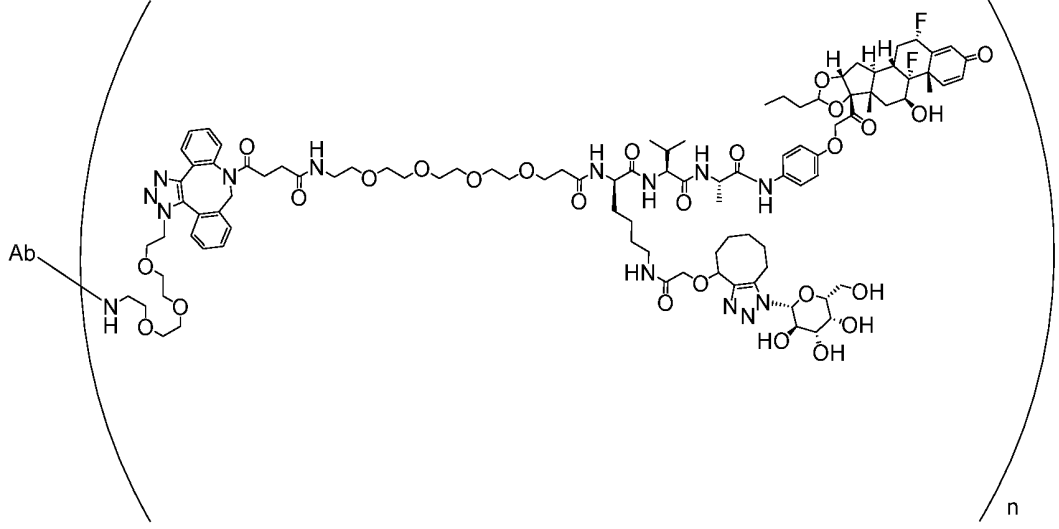
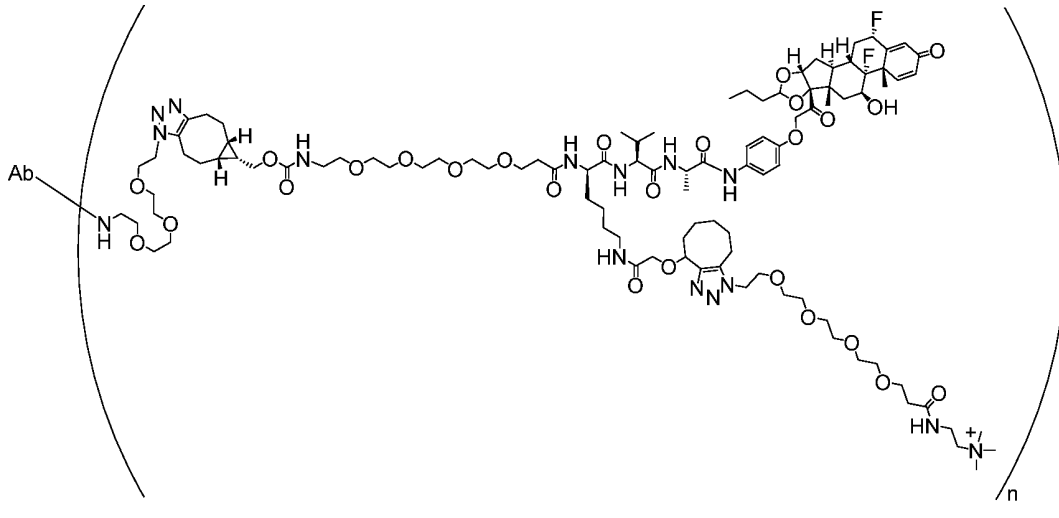
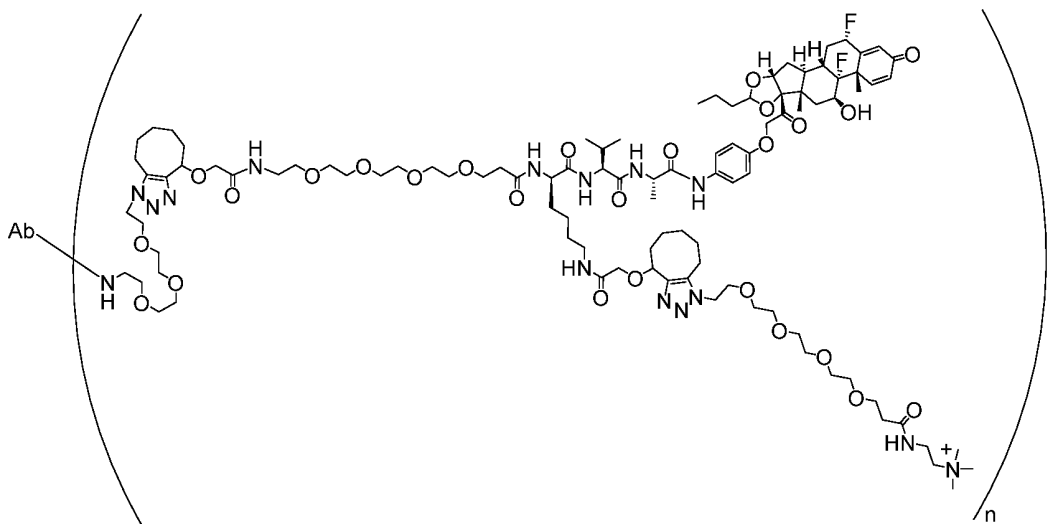


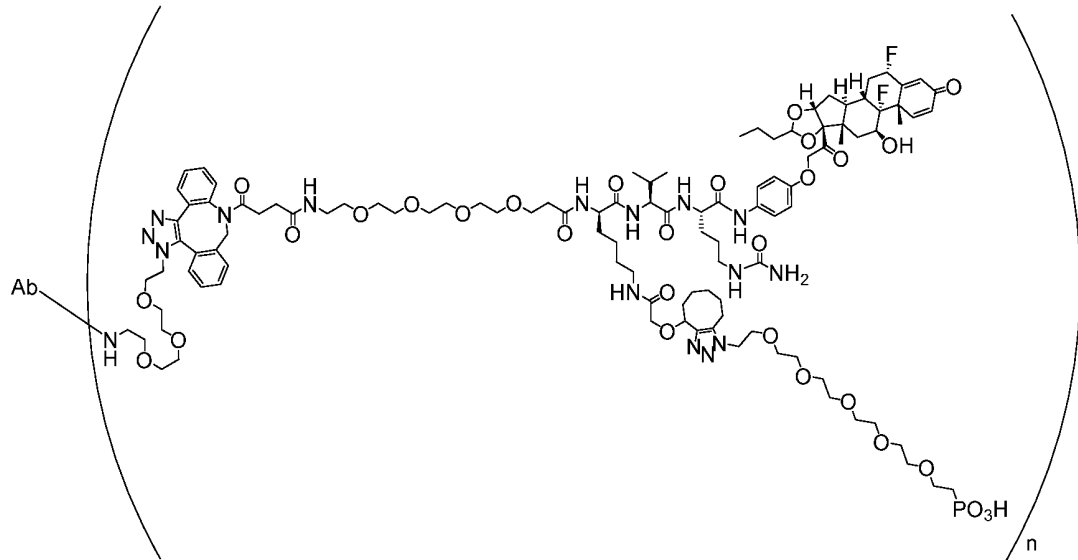
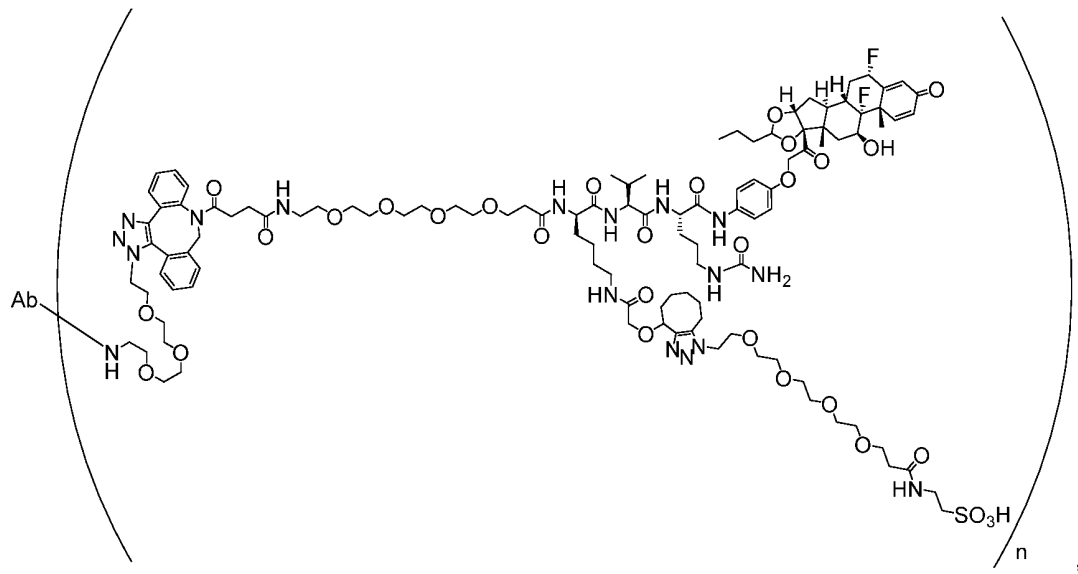
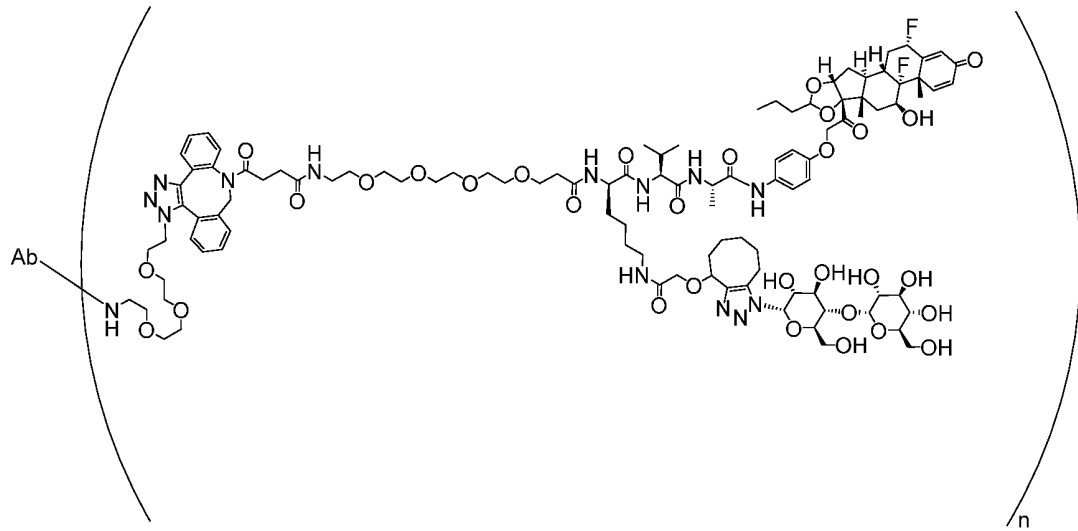




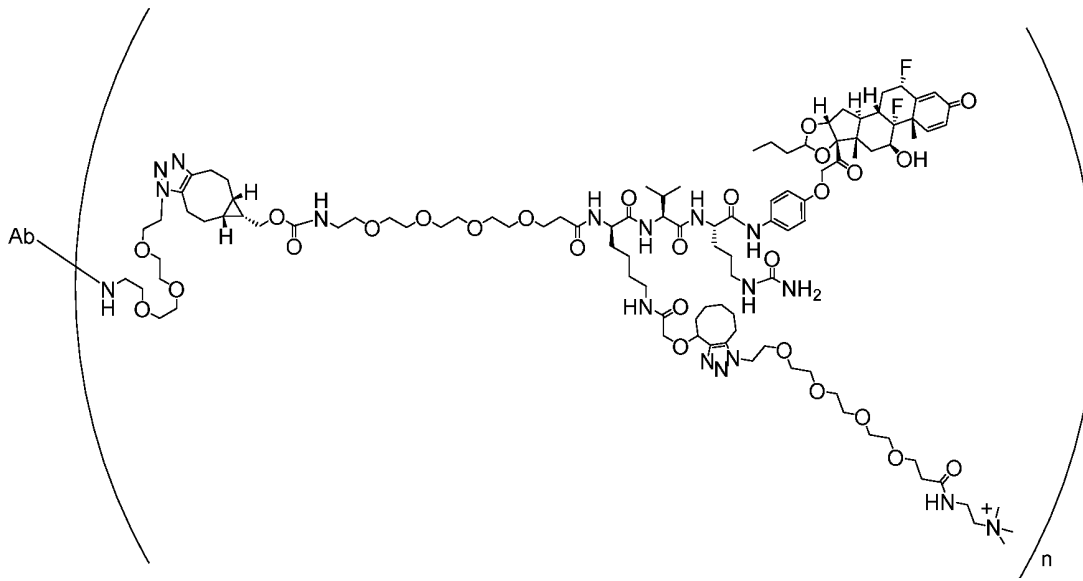
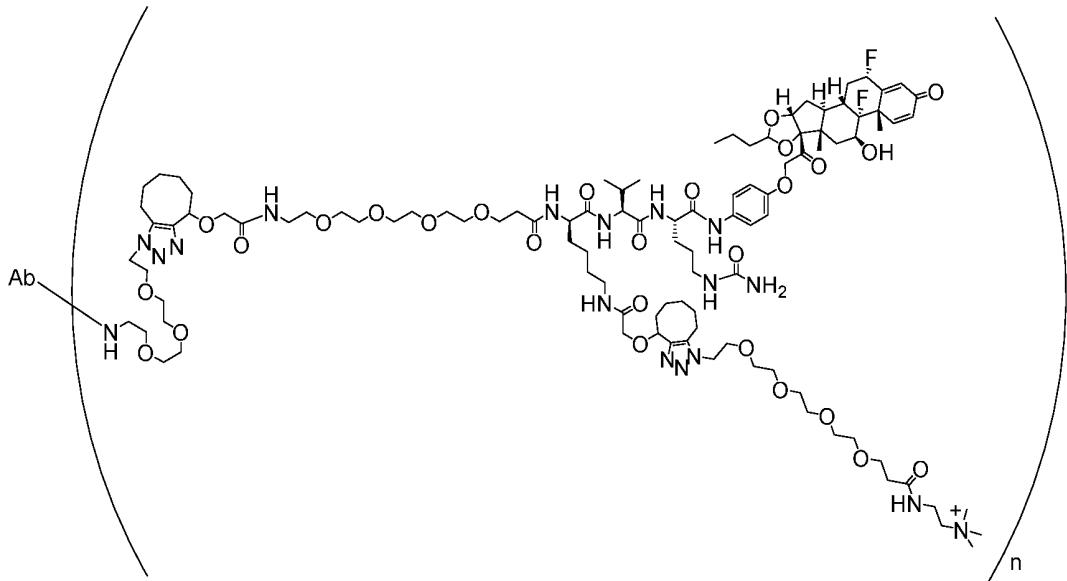
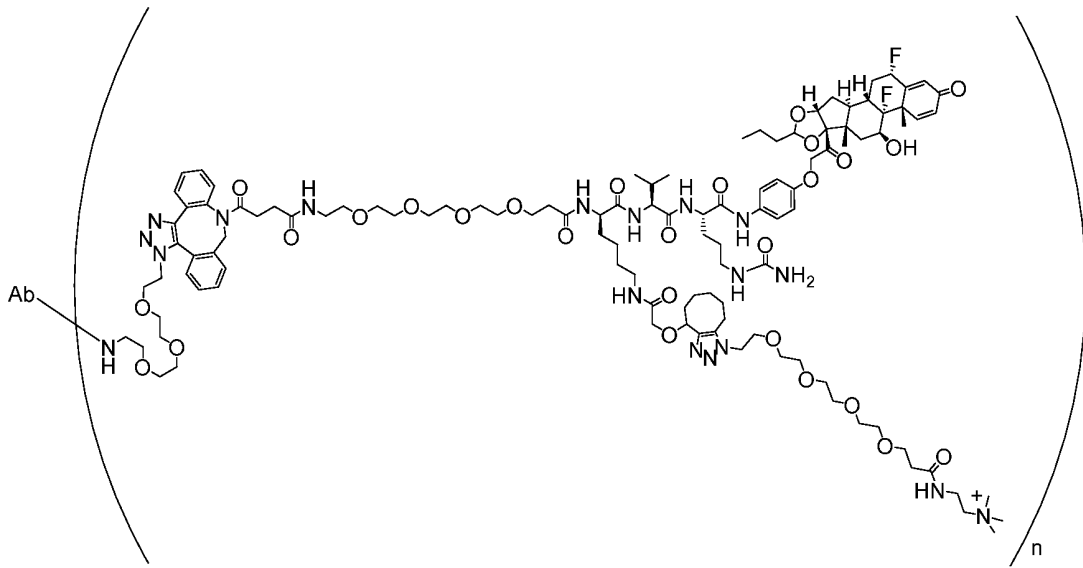


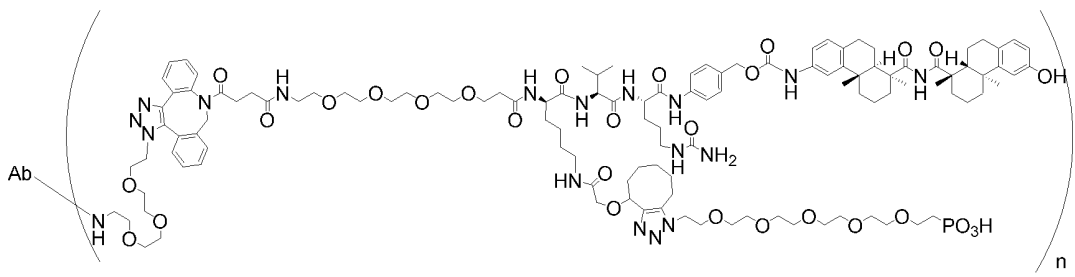
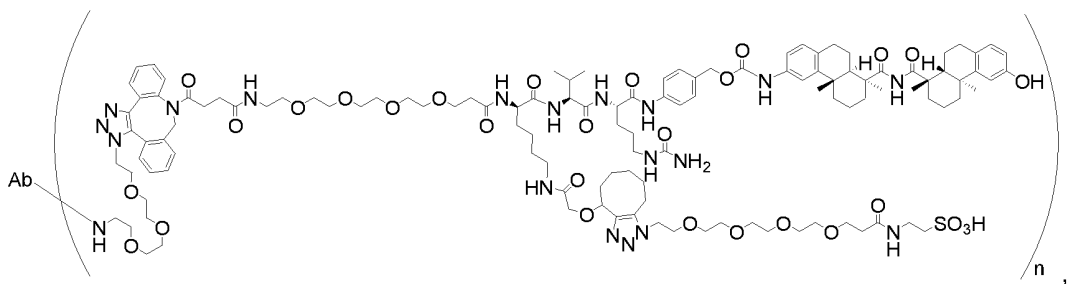
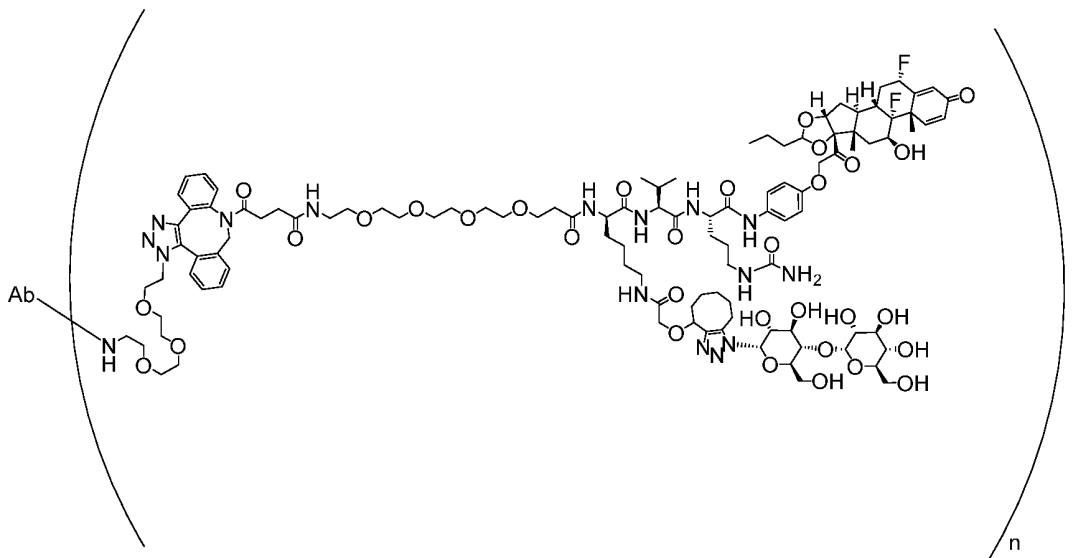
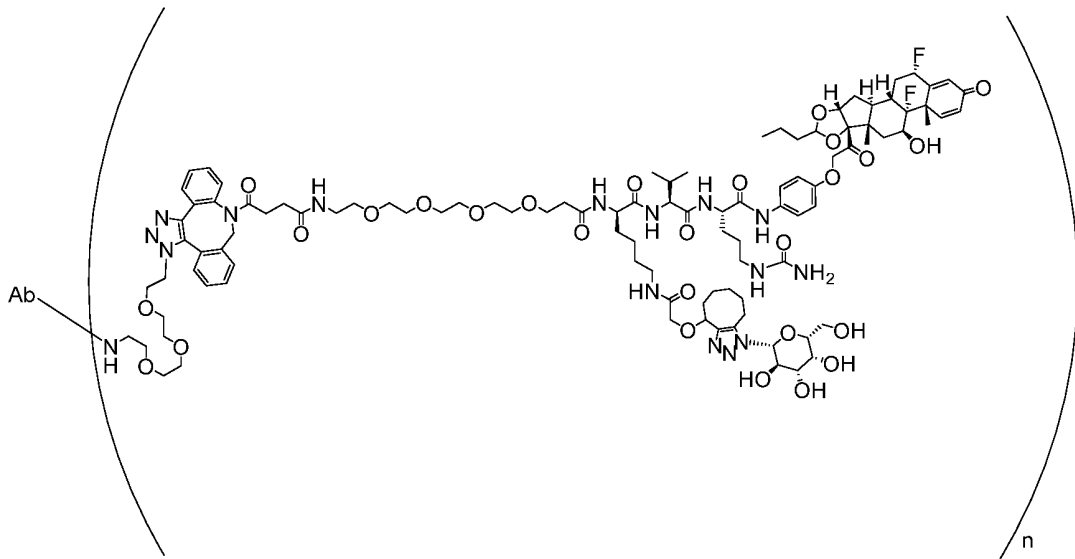


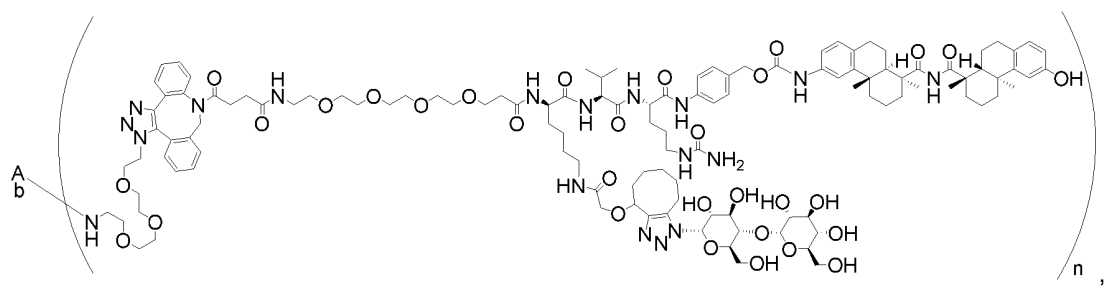
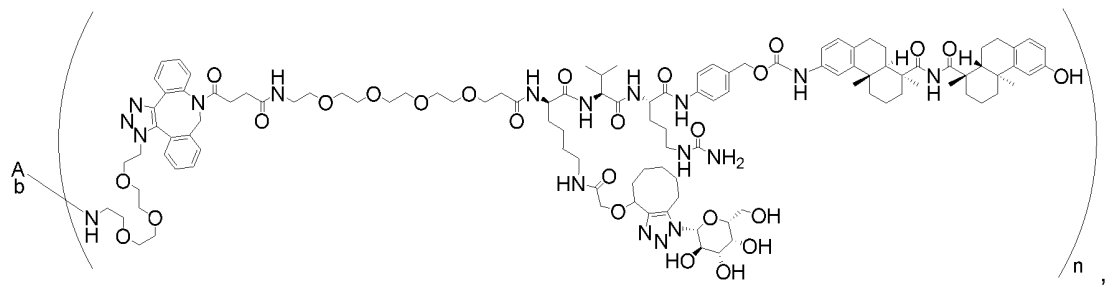
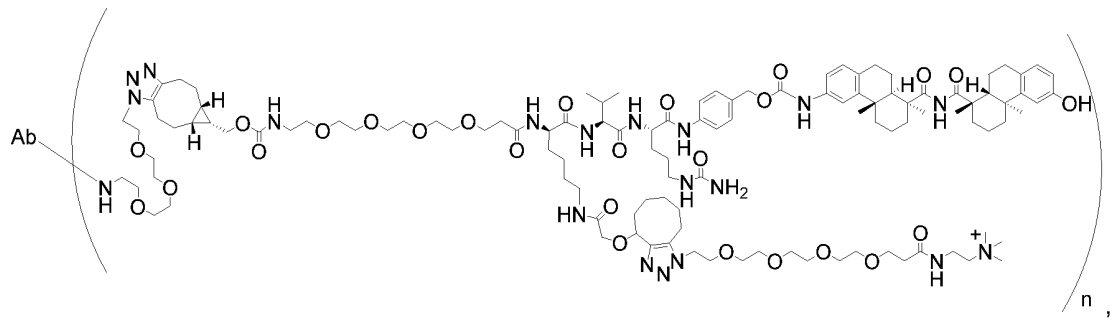
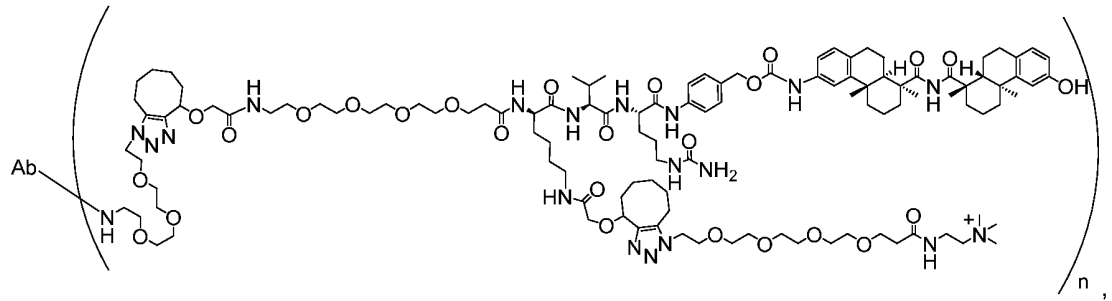
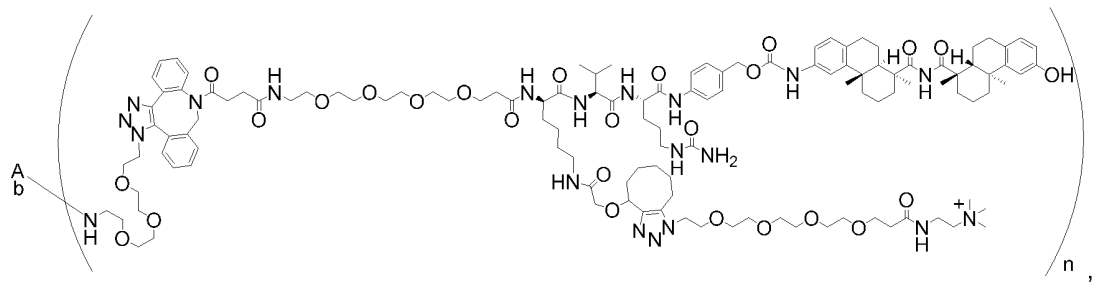


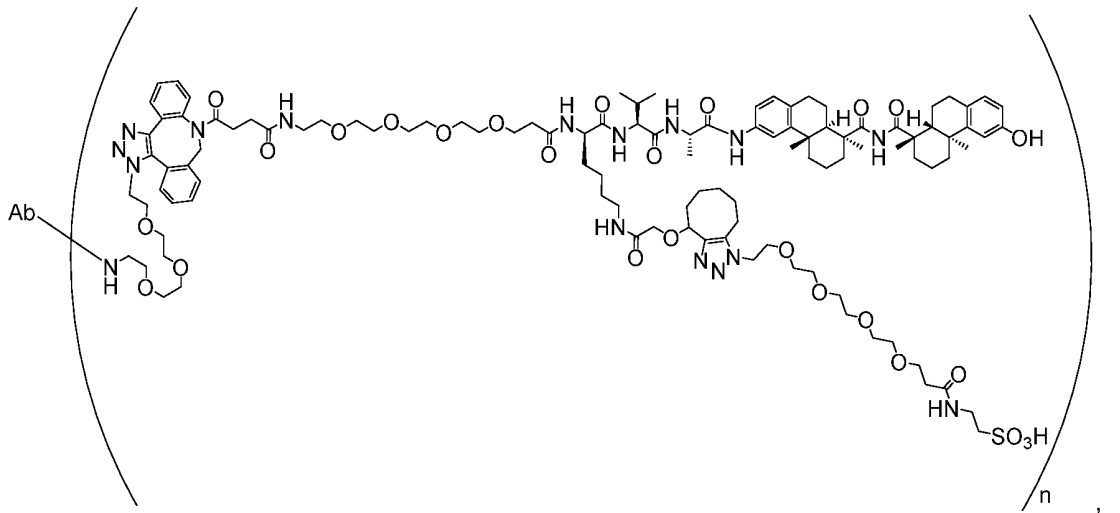
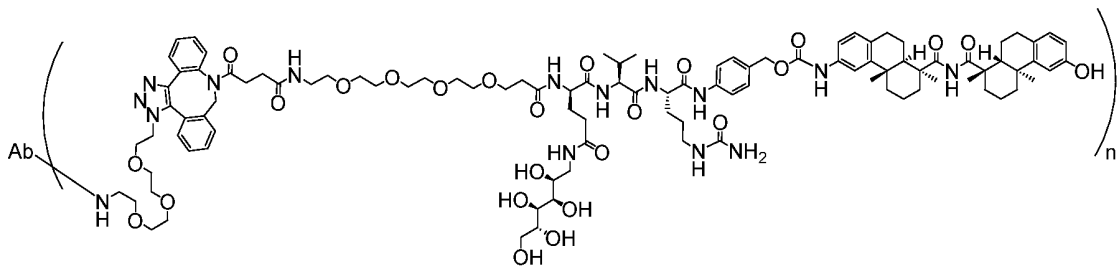
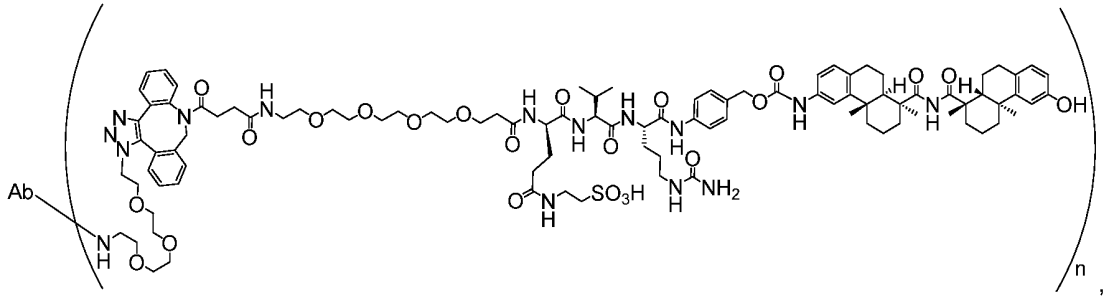
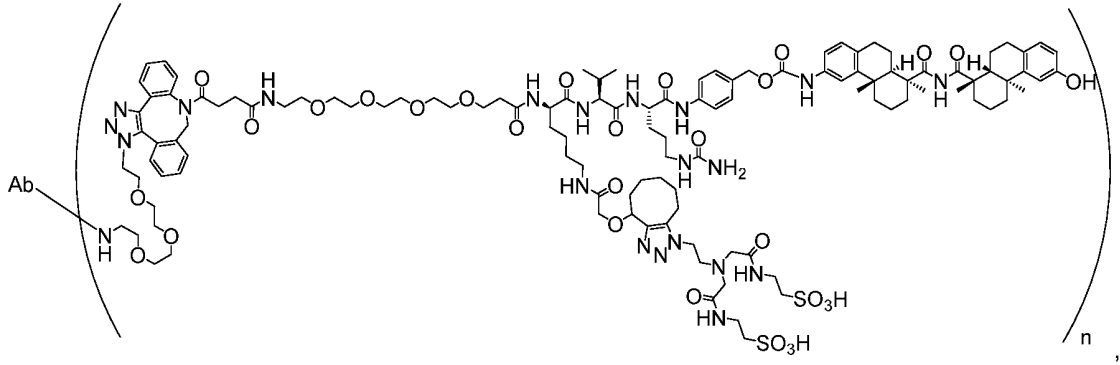


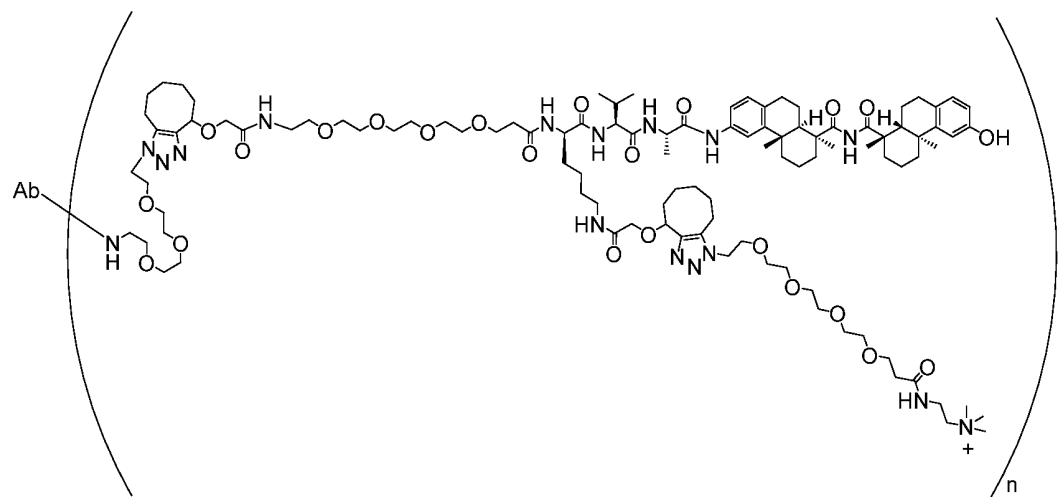
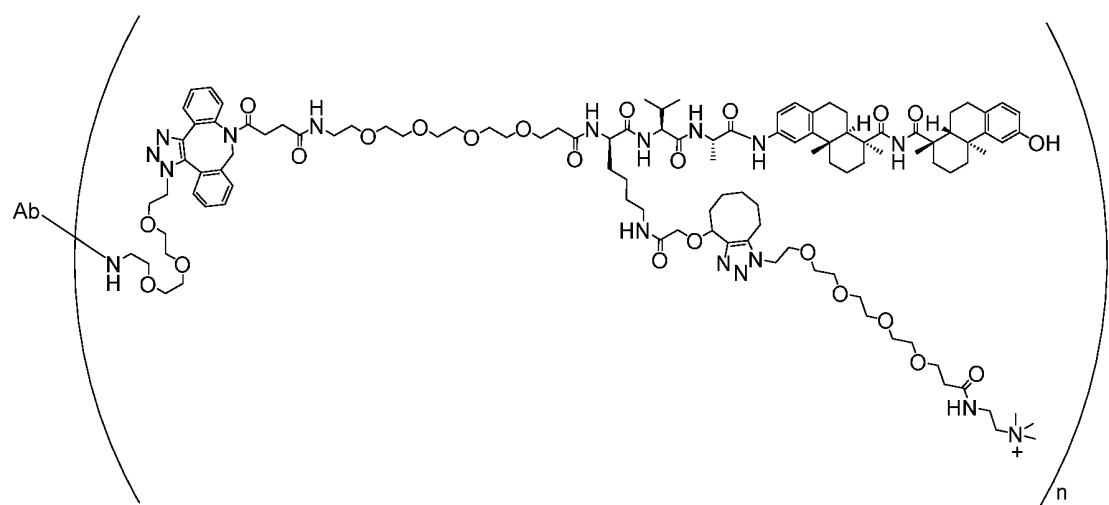
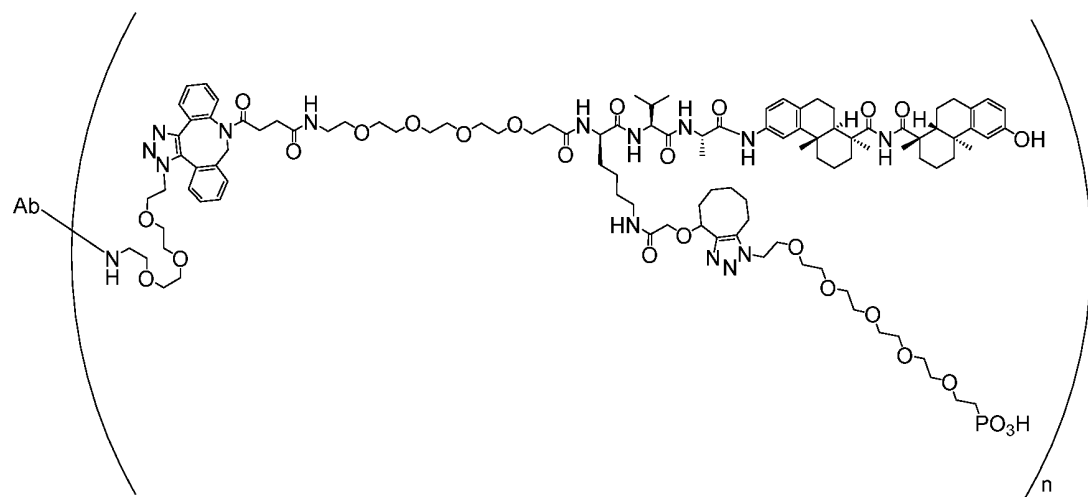


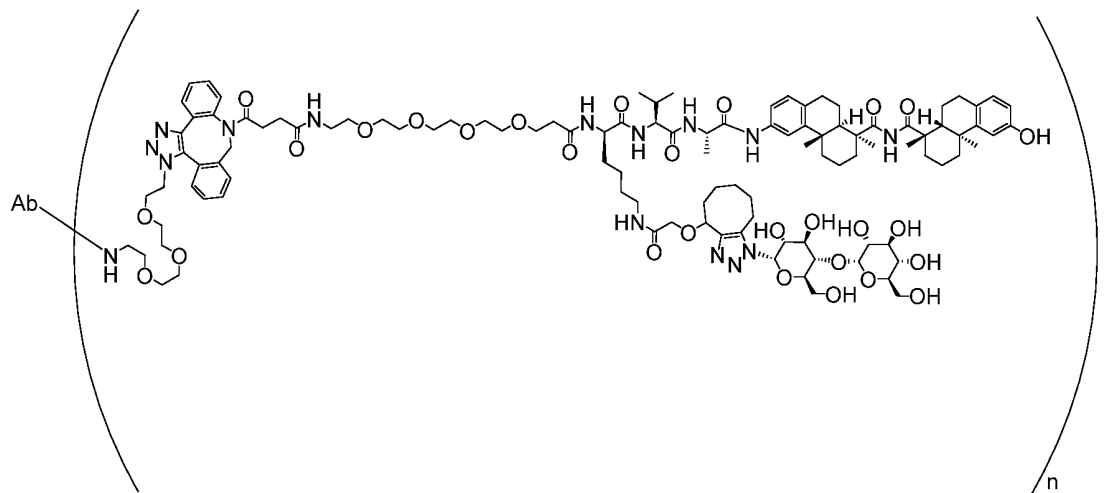
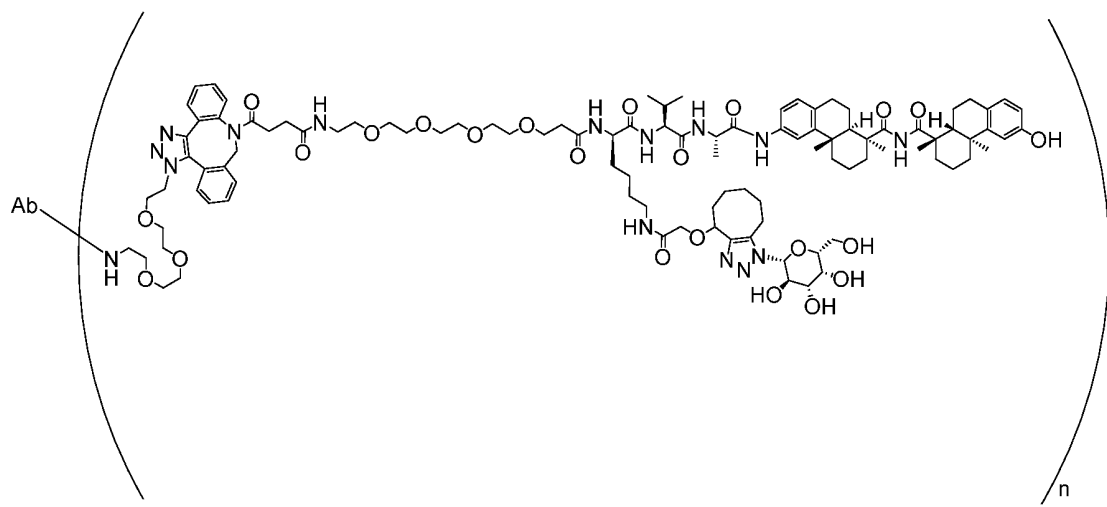
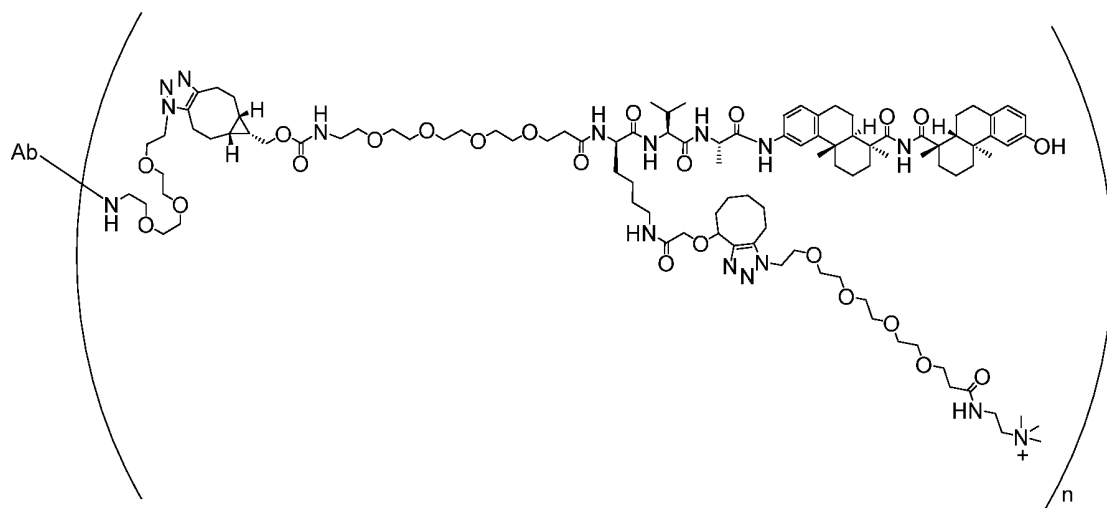


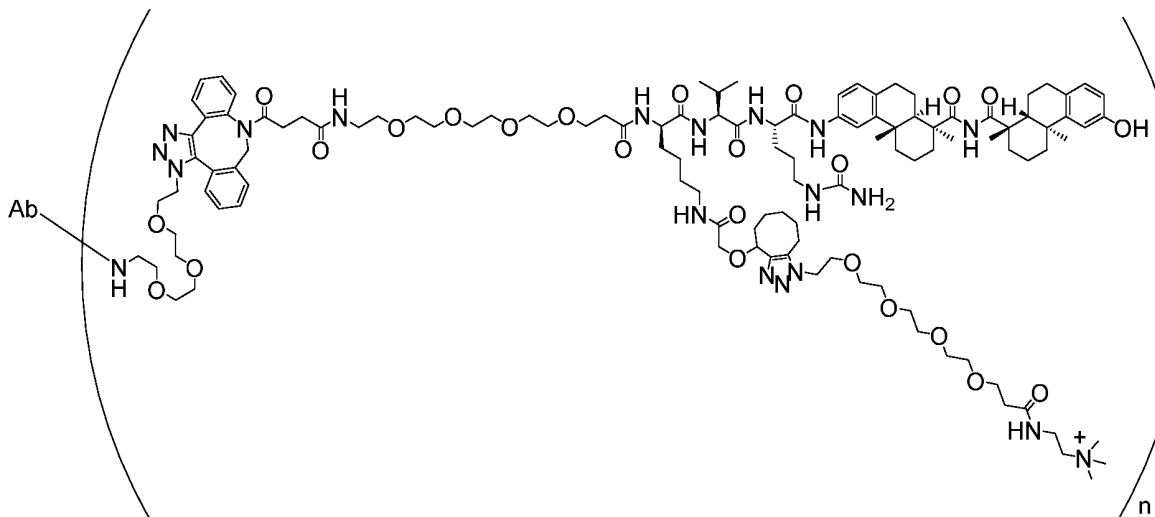
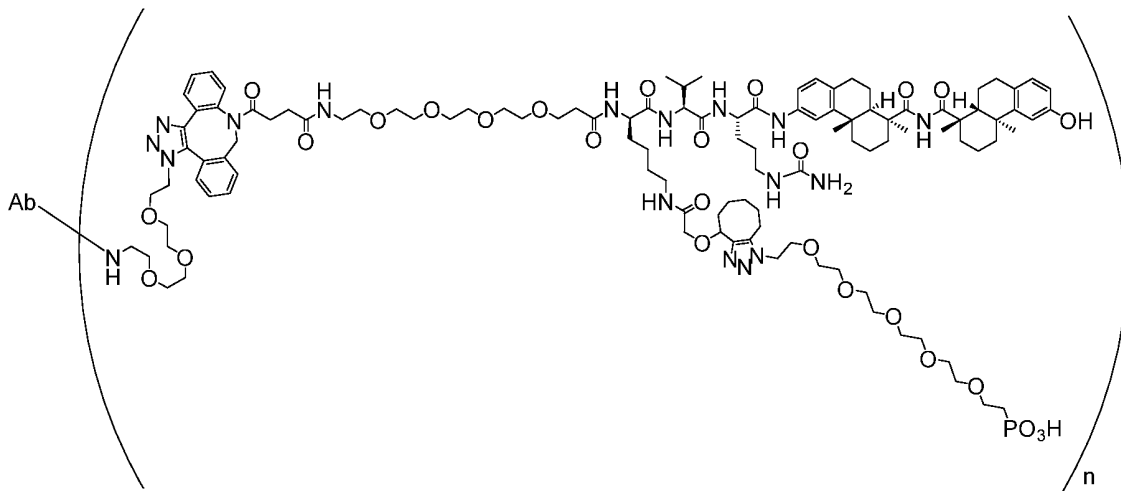
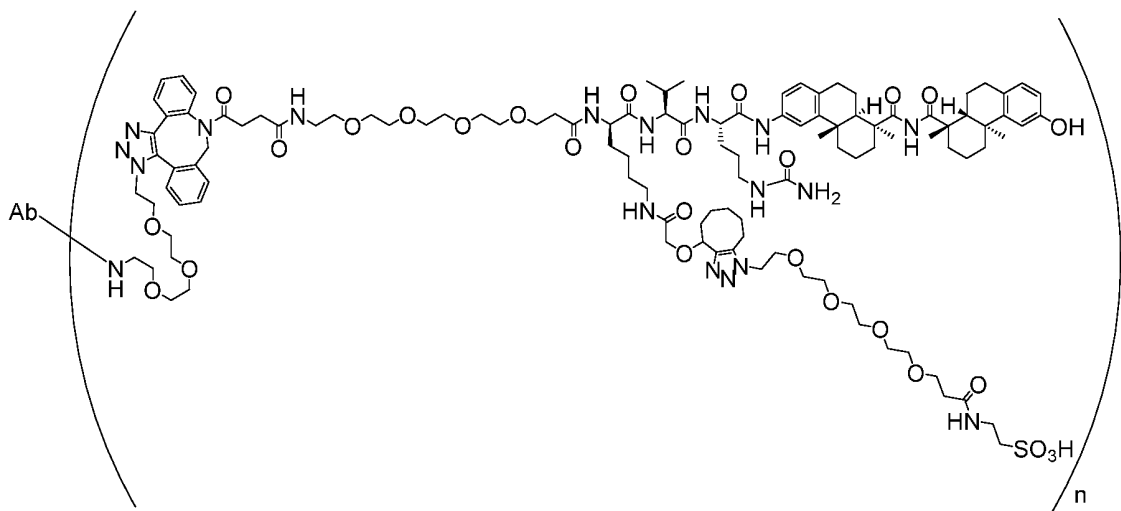


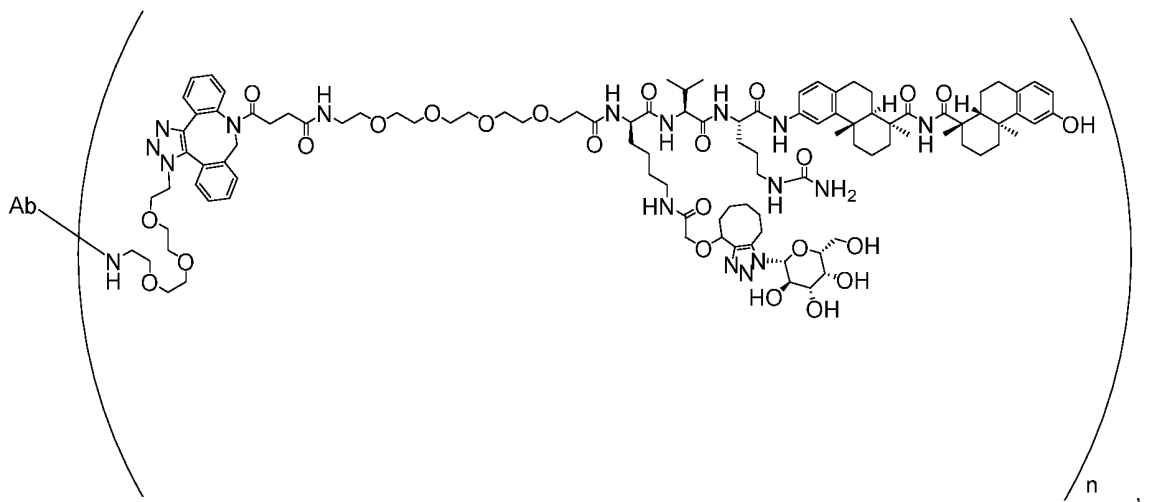
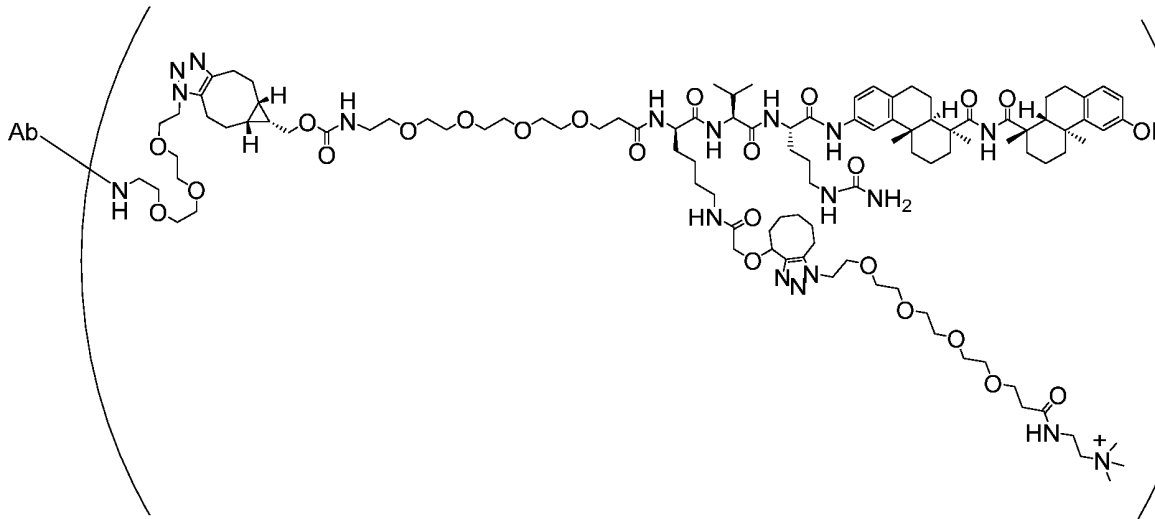
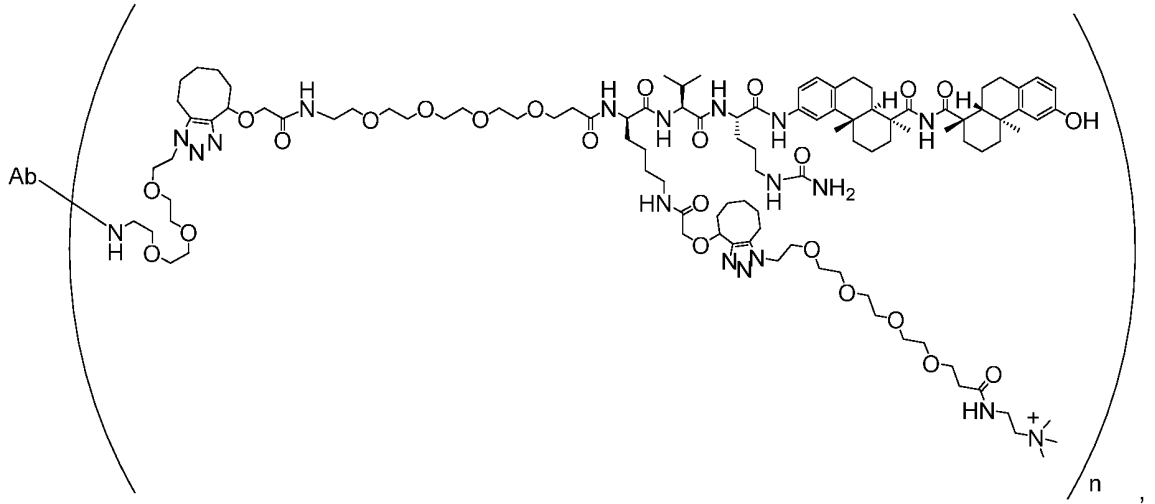




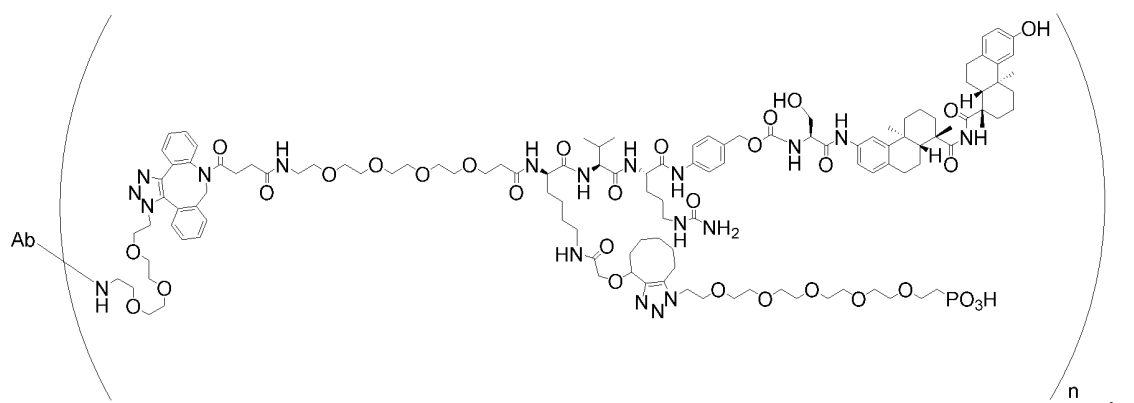
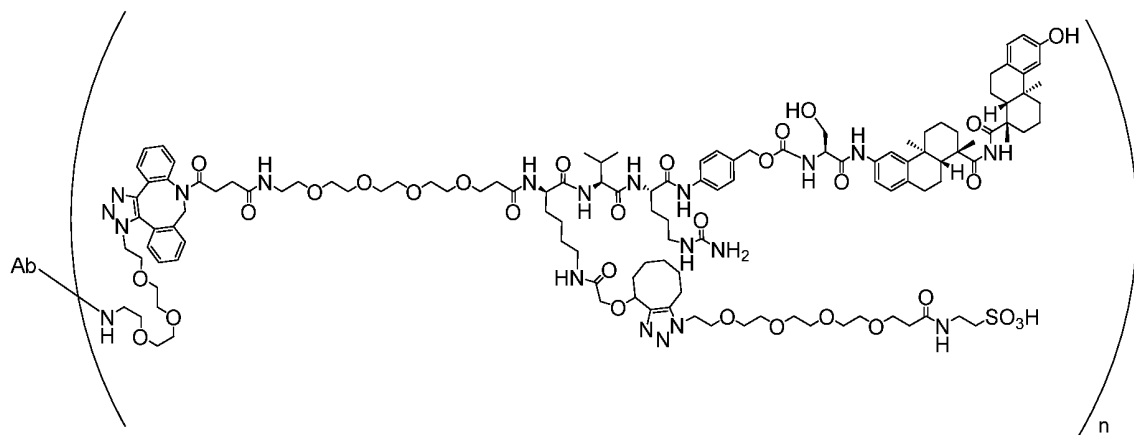
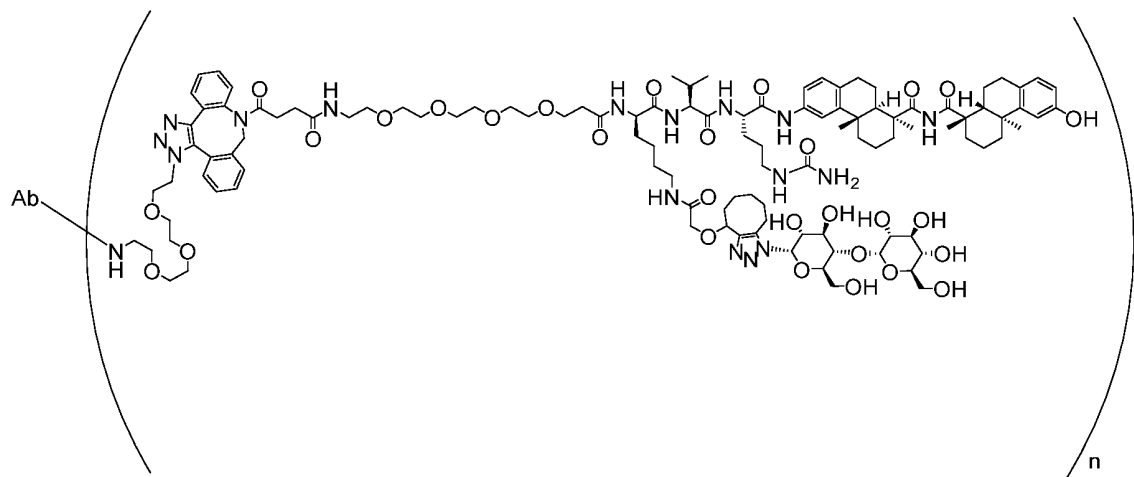




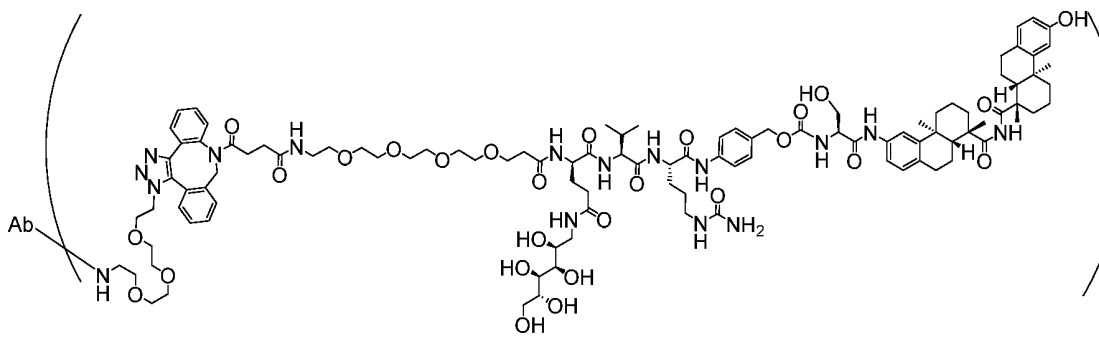
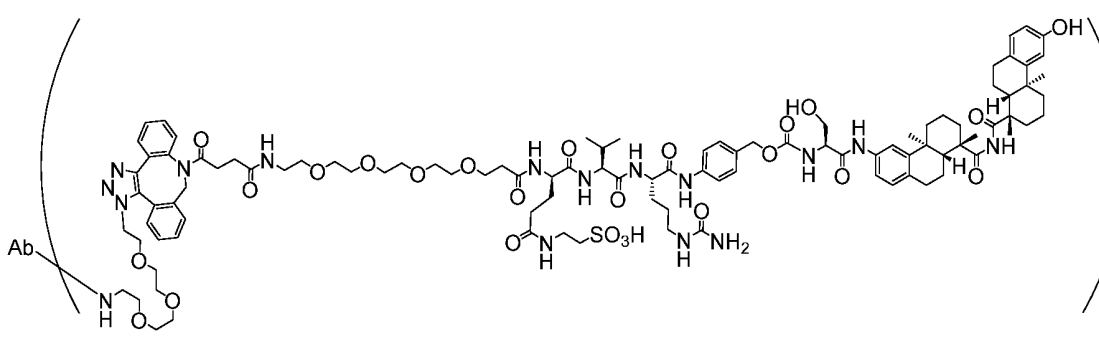
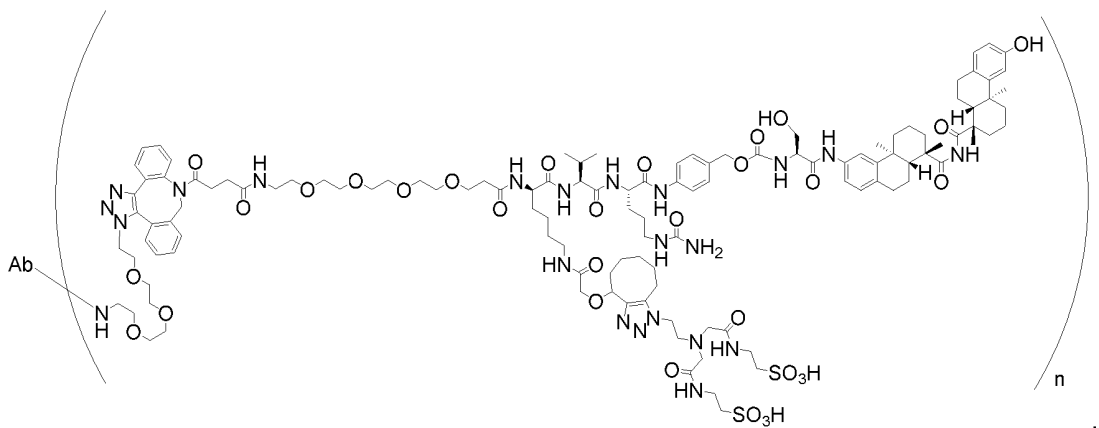
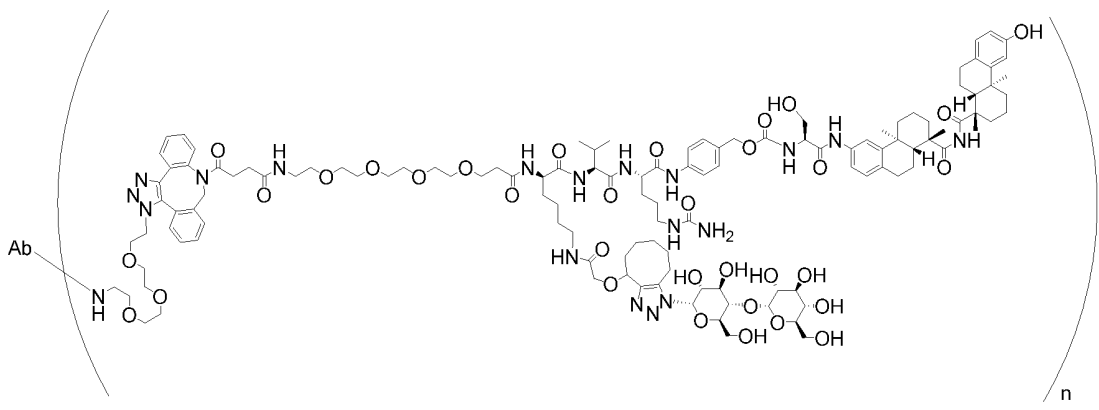


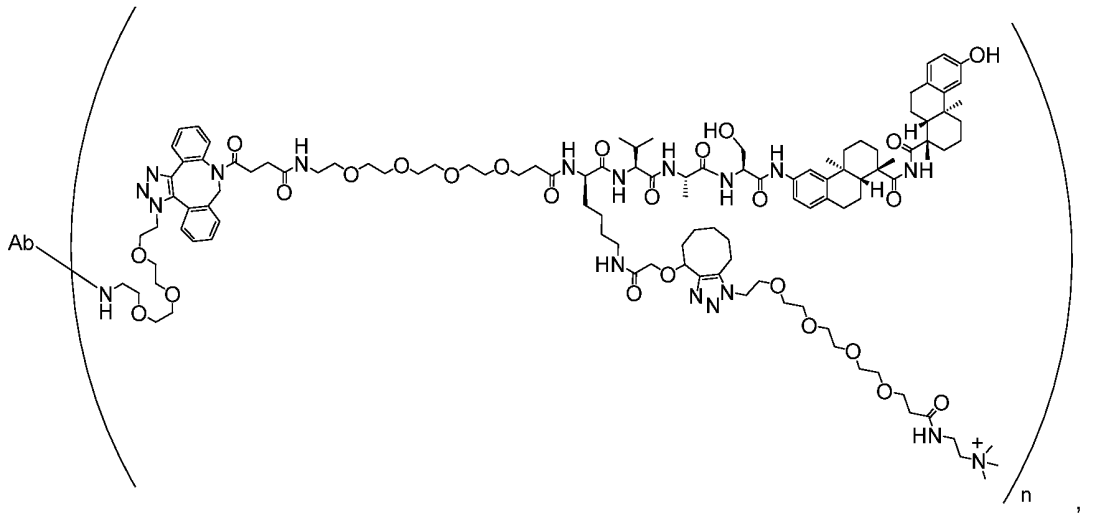
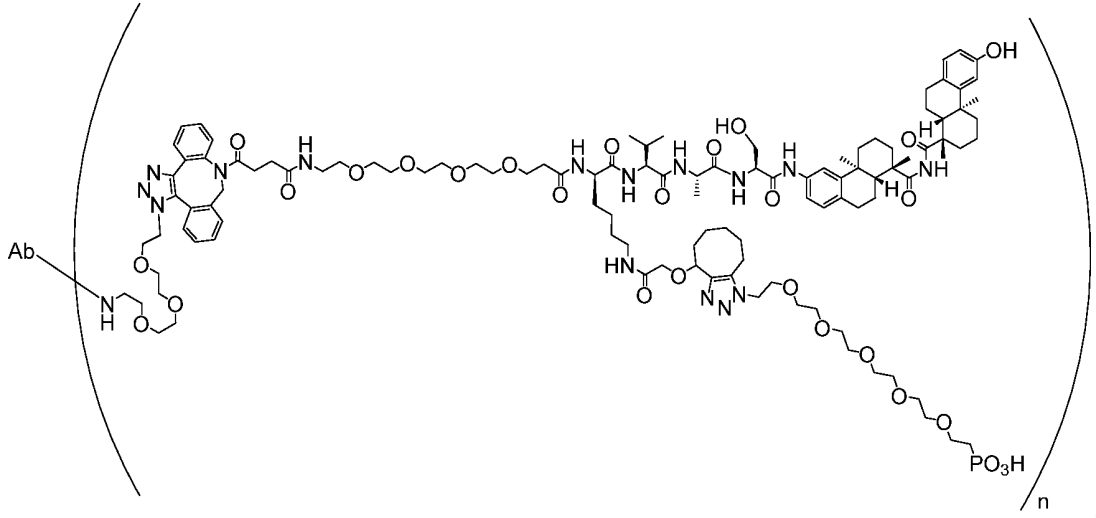
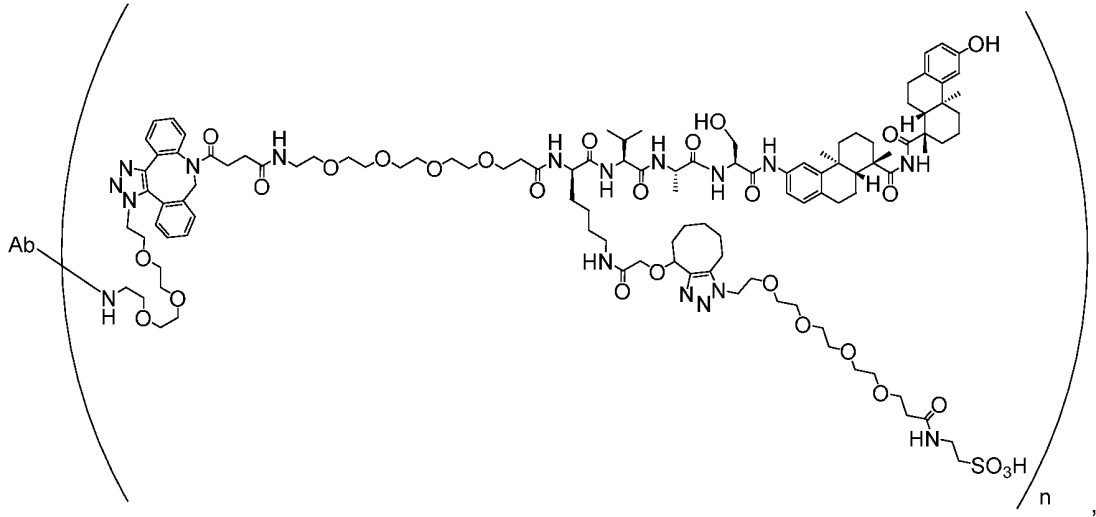


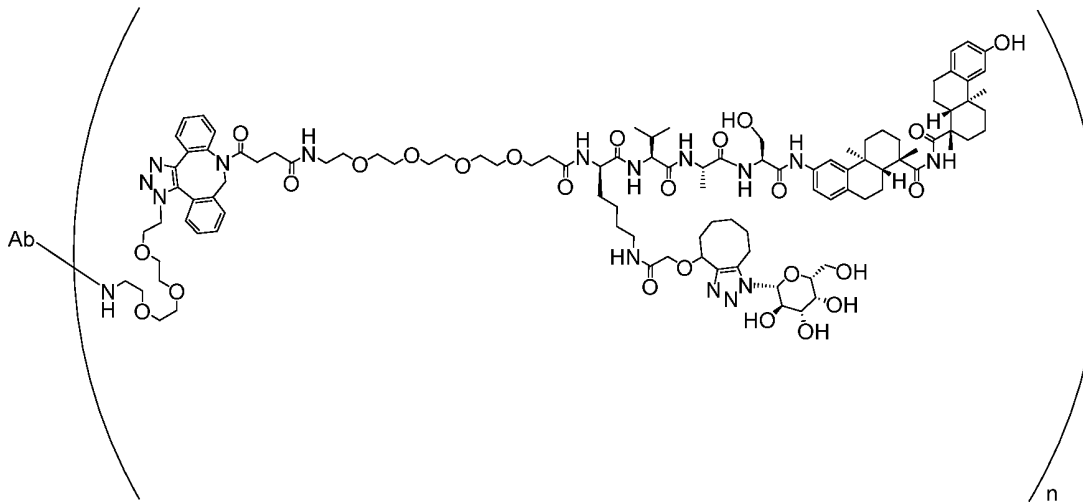
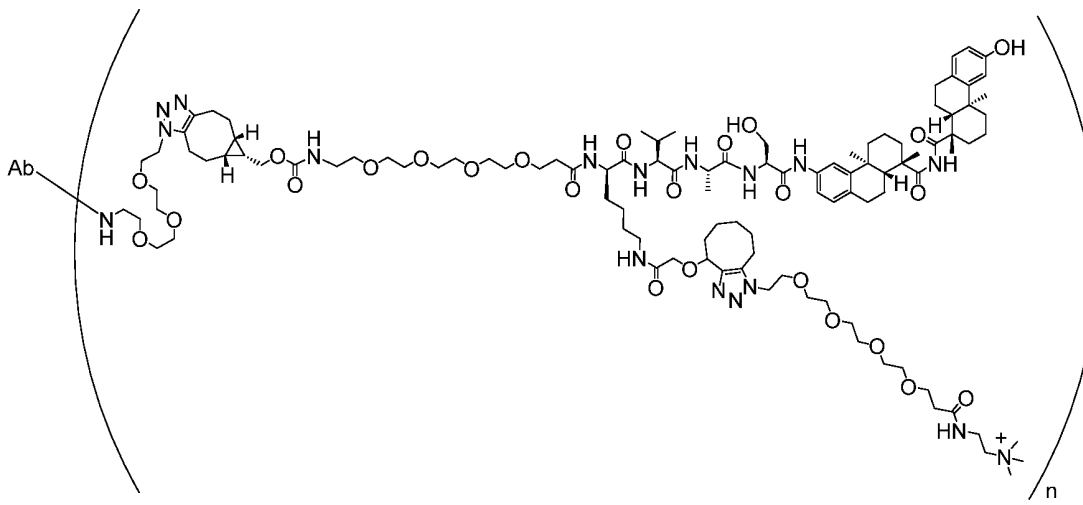
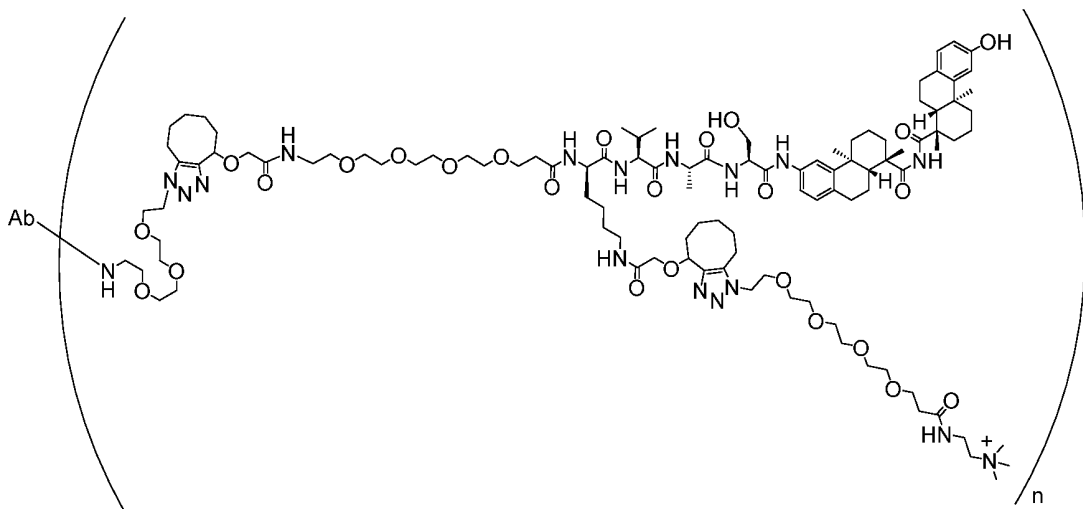




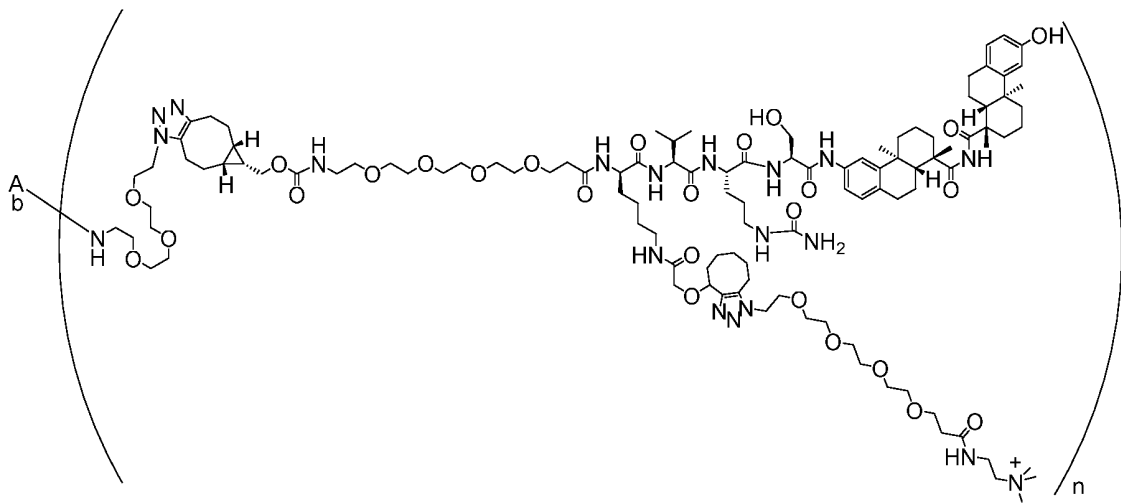
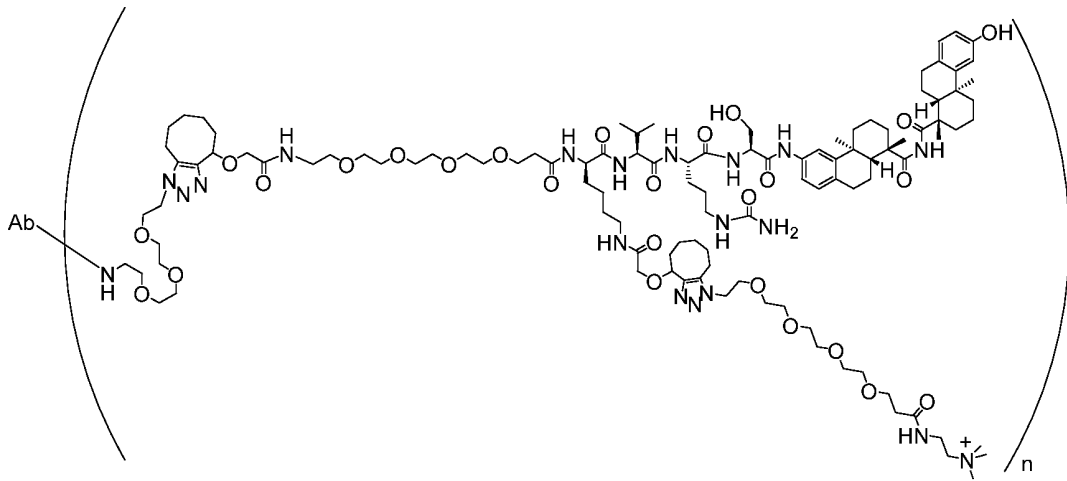
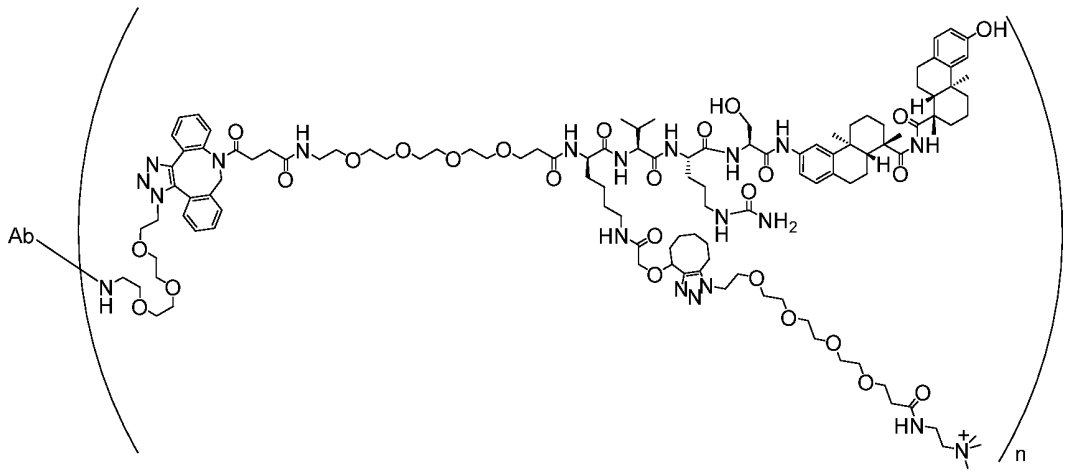


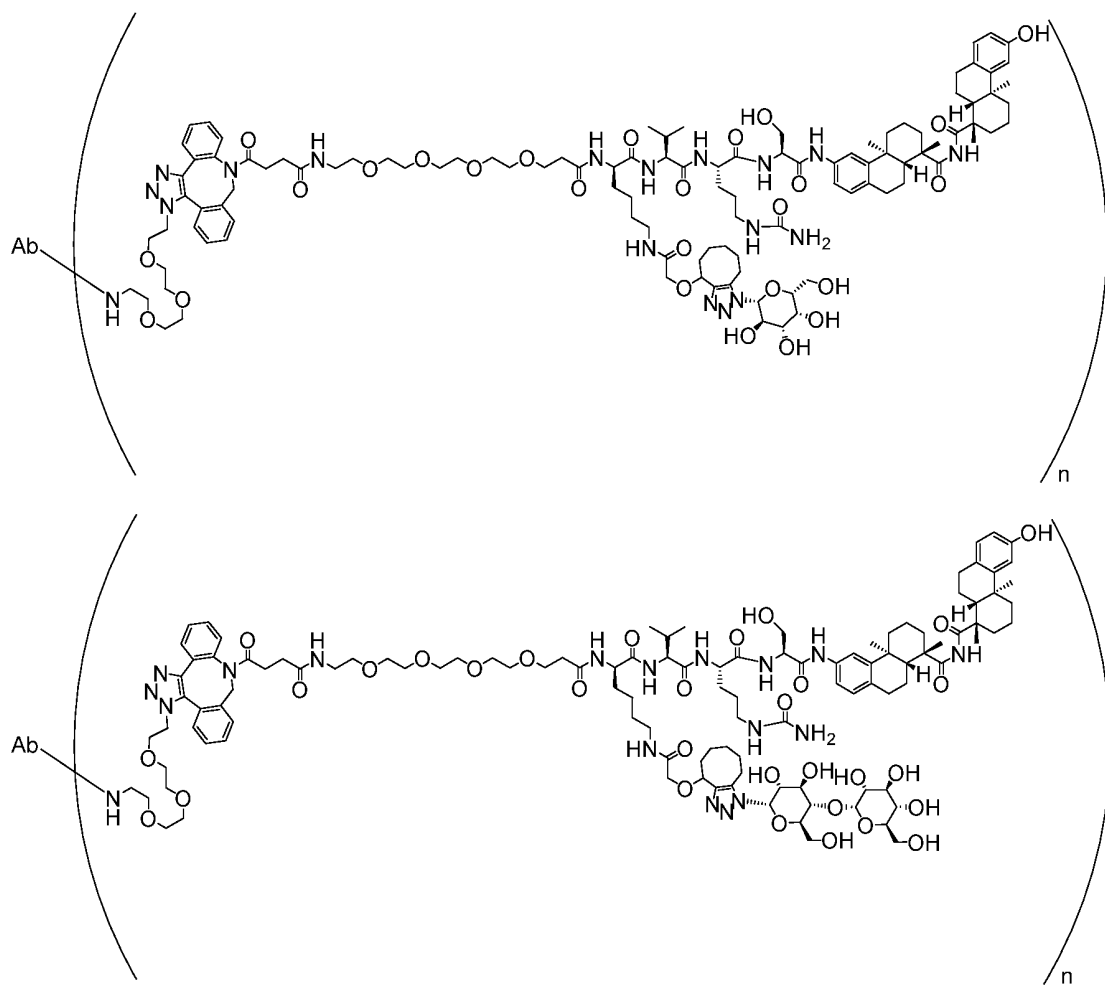












или его стереоизомерная форма, региоизомер или смесь региоизомеров, где

каждый **Ab** является антителом, или его антиген-связывающим фрагментом; и

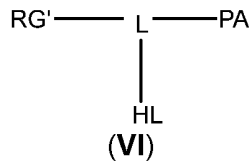
подстрочный индекс **n** является целым числом от 1 до 30.

35. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-34, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.
36. Способ лечения заболевания или нарушения у нуждающегося в таком лечении пациента, заключающийся во введении пациенту соединения по любому из пп.1-34, или композиции по п.35.
37. Соединение, содержащее реакционноспособный линкер, соединенный, по меньшей мере, с одной полезной нагрузкой, и соединенный с, по меньшей



мере, одним гидрофильным остатком через ковалентный линкер, где указанный ковалентный линкер связан прямо или опосредованно с реакционноспособным линкером, полезной нагрузкой и гидрофильным остатком.

38. Соединение по п.37, описываемое формулой (VI):



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,

где:

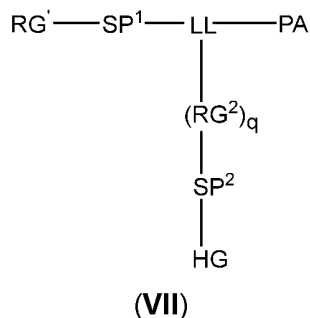
**RG'** является реакционноспособной группой;

**L** представляет собой трехвалентный линкер;

**HL** представляет собой гидрофильный остаток; и

**PA** представляет собой остаток полезной нагрузки.

39. Соединение по п.38, описываемое формулой (VII):



где:

**LL** представляет собой трехвалентный линкер;

**RG'** является реакционноспособной группой;

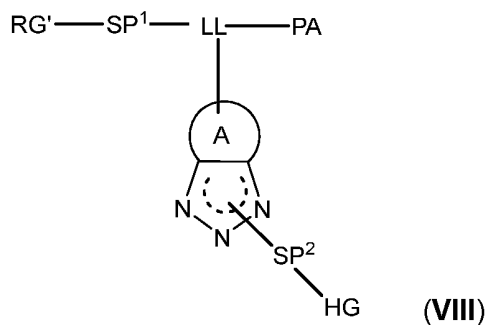
**RG<sup>2</sup>** является остатком реакционноспособной группы;

**SP<sup>1</sup>** и **SP<sup>2</sup>** независимо, в каждом случае, отсутствуют или являются остатком спейсерной группы;

**HG** представляет собой гидрофильный остаток;

**PA** представляет собой остаток полезной нагрузки; и  
подстрочный индекс **q** равен 0 или 1.

40. Соединение по п.39, описываемое формулой (VIII):

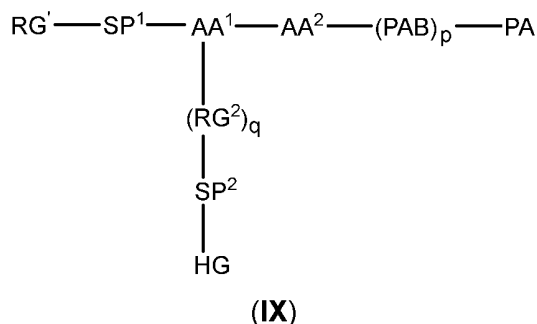


где

кольцо **A** конденсировано с триазолом и выбрано из группы, включающей циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкил и гетероциклоалкенил;

где циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкил и гетероциклоалкенил необязательно замещены алкилом, -ОН или -NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, и где R<sup>a</sup> и R<sup>b</sup> каждый представляют собой алкил или -H.

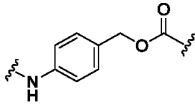

41. Соединение по п.39, описываемое формулой (IX):



где:

**AA**<sup>1</sup> представляет собой трехвалентный линкер, содержащий аминокислотный остаток;

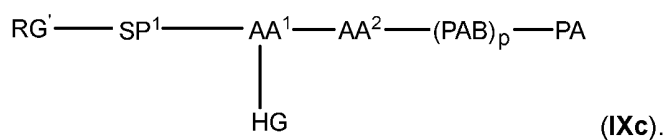
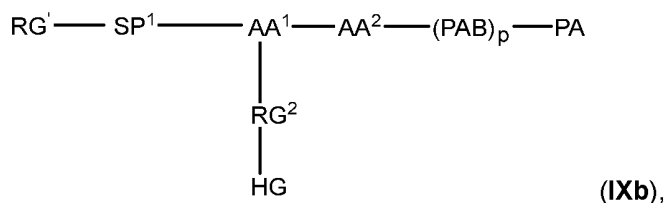
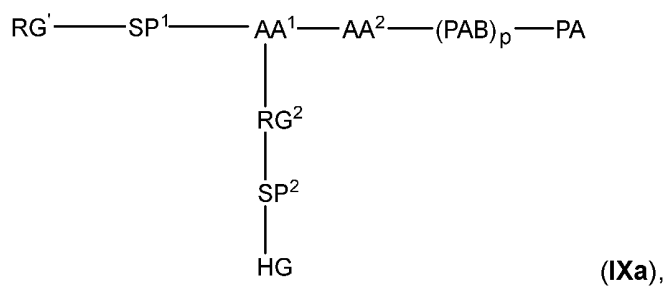
**AA**<sup>2</sup> представляет собой остаток дипептида, трипептида или тетрапептида; и

**PAB** представляет собой , где  указывает на атом, через который PAB соединен с соседними группами в формуле;

подстрочный индекс **p** равен 0 или 1; и

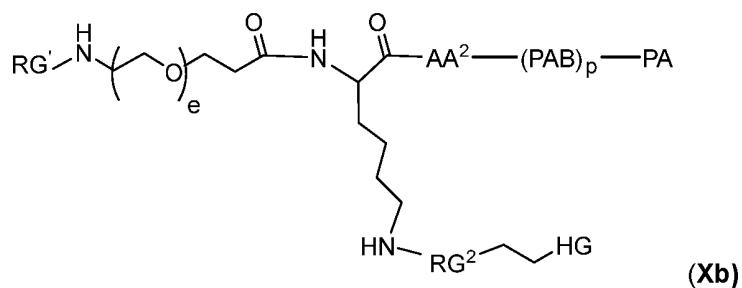
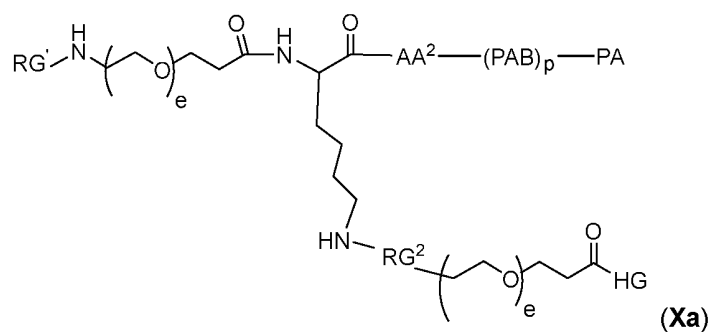
подстрочный индекс **q** равен 0 или 1.

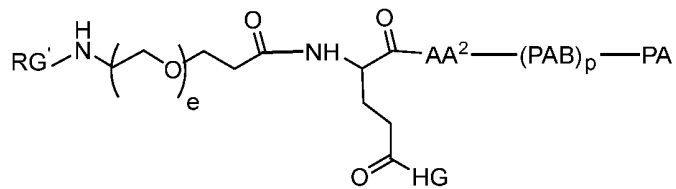
42. Соединение по п.41, описываемое формулой **(IXa)**, формулой **(IXb)** или формулой **(IXc)**:



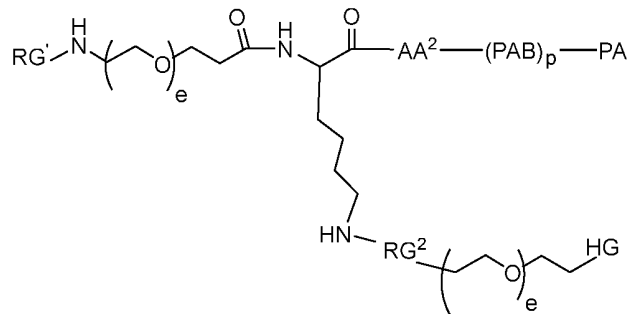
43. Соединение по п.42, где **AA<sup>1</sup>** представляет собой лизин, глутамин, глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту.

44. Соединение по п.42, описываемое формулой **(Xa)**, **(Xb)**, **(Xc)** или **(Xd)**:





(Xc), или



(Xd),

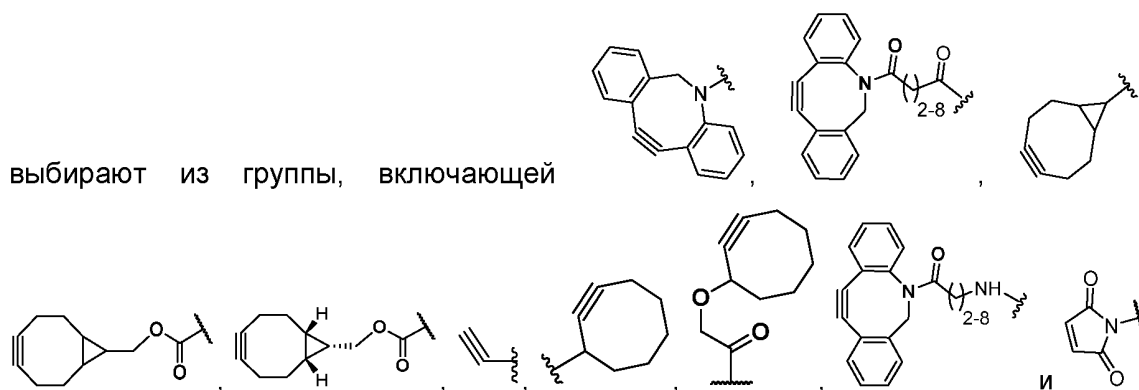
где:

подстрочный индекс **e** независимо, в каждом случае, является целым числом от 0 до 6.

45. Соединение по любому из пп.38-44, где **RG'** является, независимо в каждом случае, остатком клик-реактанта.

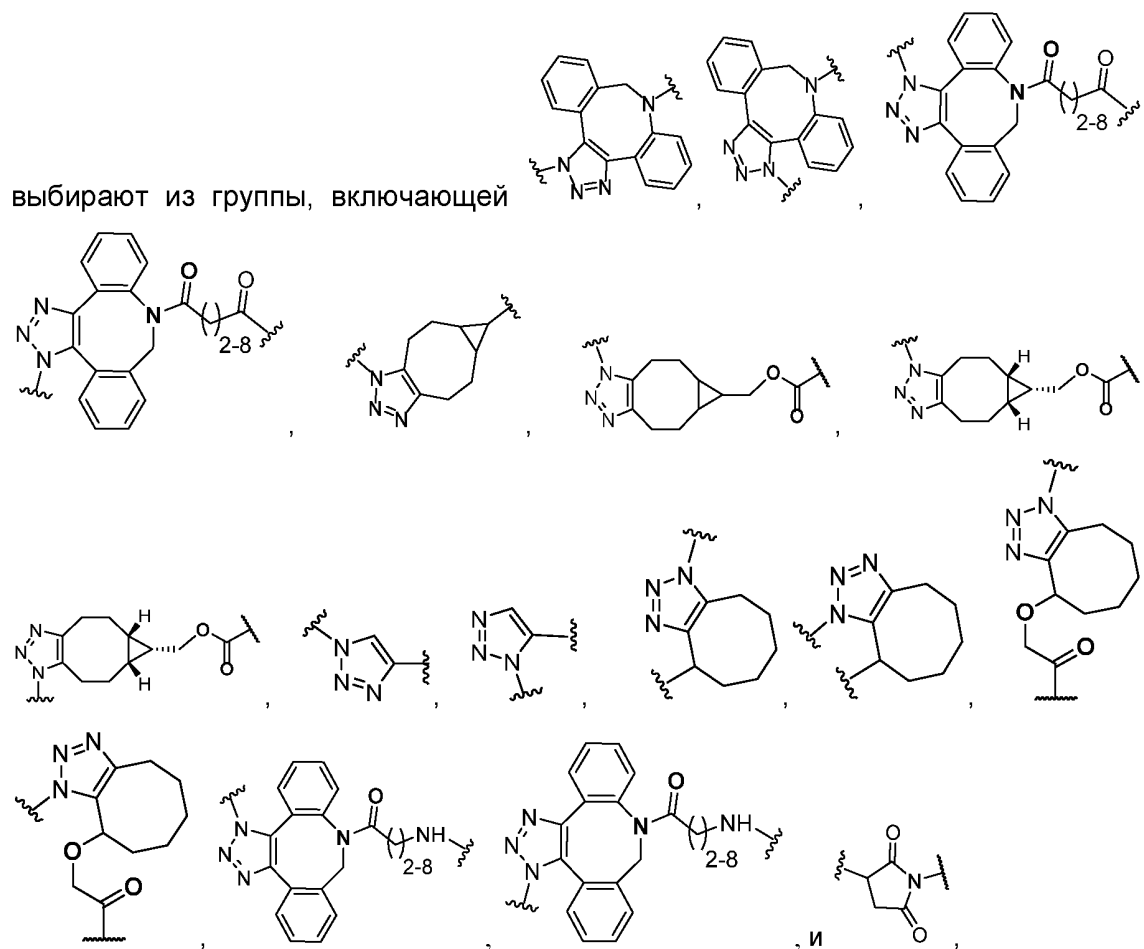
46. Соединение по любому из пп. 38-44, где **RG'** независимо в каждом случае,

выбирают из группы, включающей



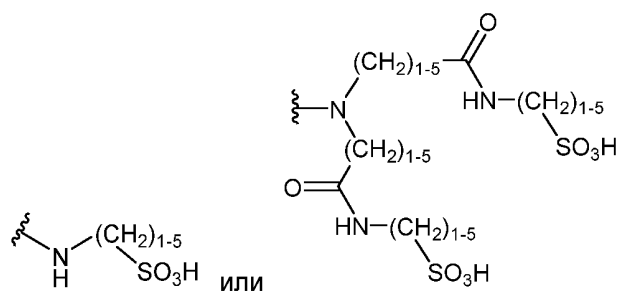
, где указывает на атом, через который **RG'** соединен с соседними группами в формуле.

47. Соединение по любому из пп.38-46, где **RG<sup>2</sup>** независимо, в каждом случае,



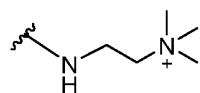
где указывает на атом, через который **RG<sup>2</sup>** соединен с соседними группами в формуле.

48. Соединение по любому из пп.39-47, где **HG** представляет собой



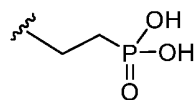
где указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.

49. Соединение по любому из пп.39-47, где **HG** представляет собой



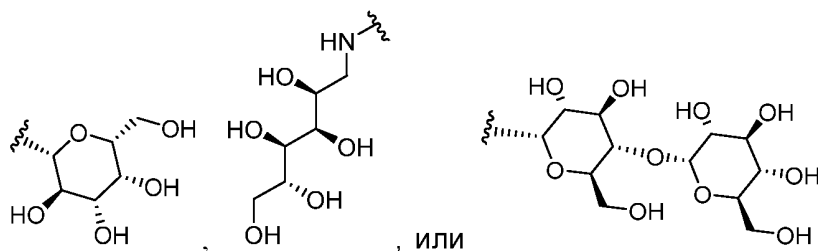
, и где указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.

50. Соединение по любому из пп.39-47, где **HG** представляет собой



и где указывает на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.

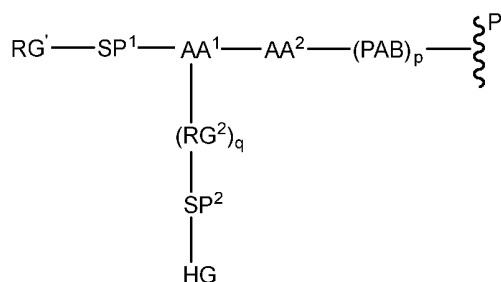
51. Соединение по любому из пп. 39-47, где **HG** представляет собой



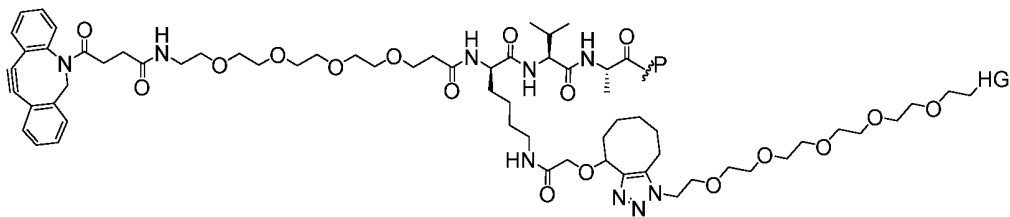
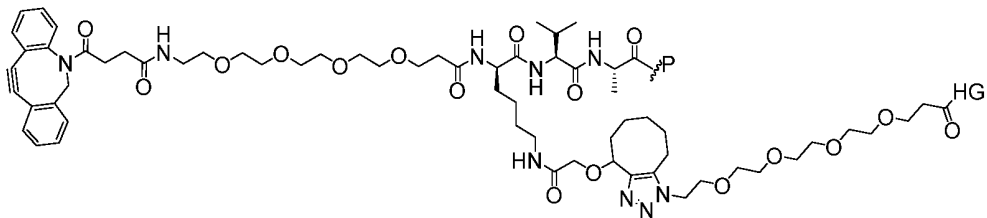
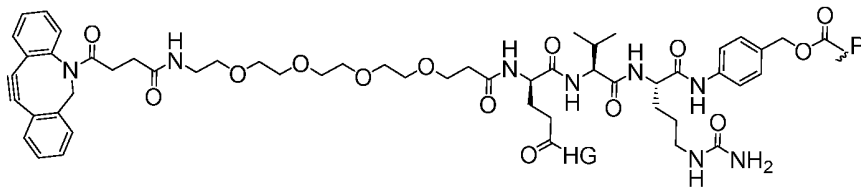
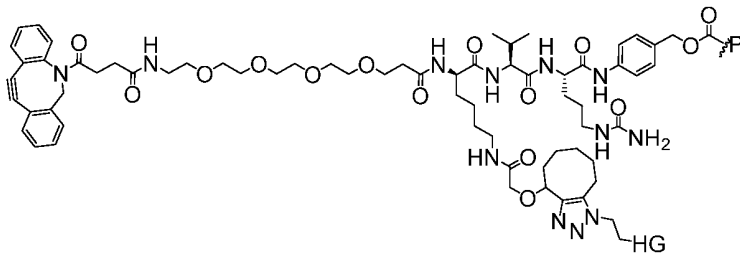
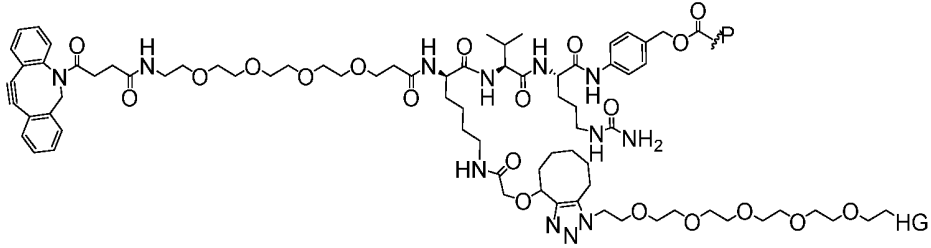
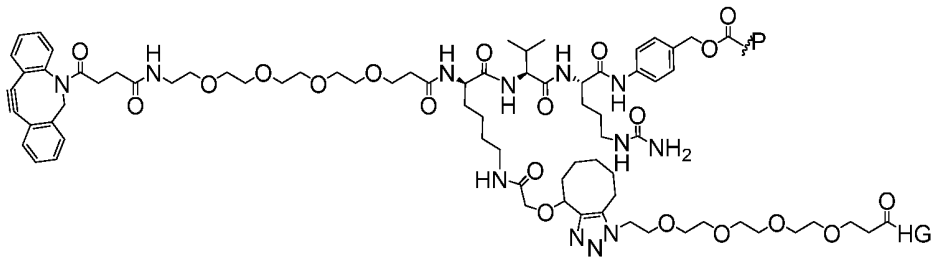
на атом, через который **HG** соединен с соседними группами в формуле.

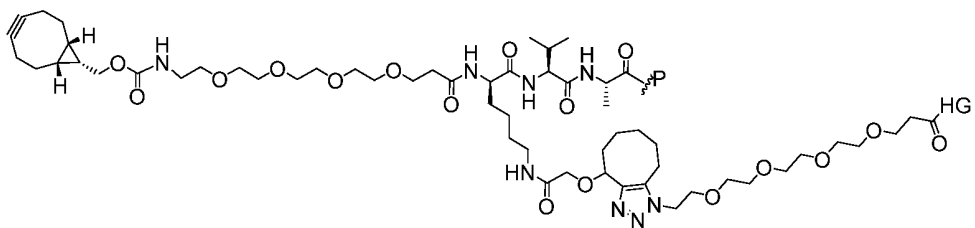
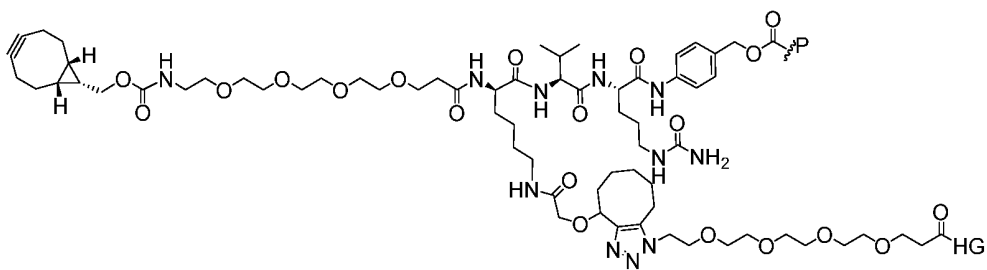
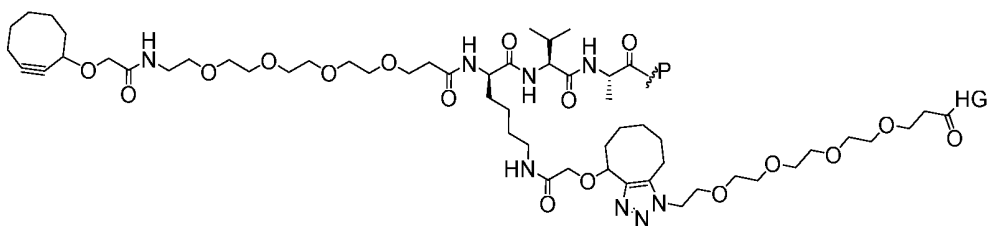
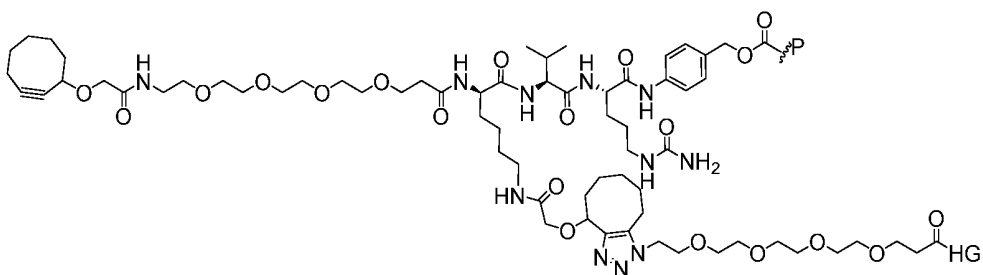
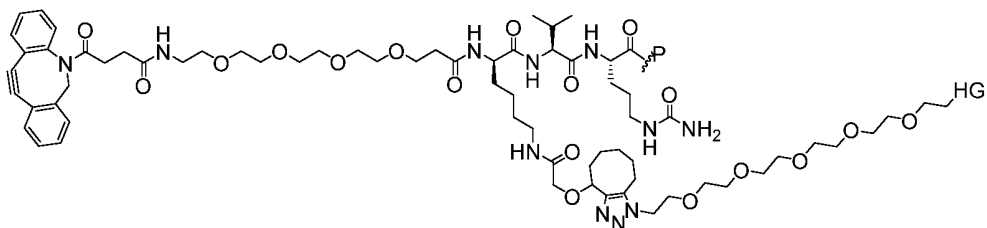
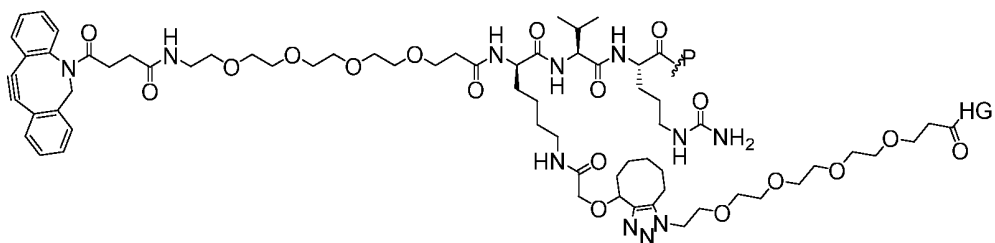
52. Соединение по любому из пп.39-51, где **SP<sup>1</sup>** и **SP<sup>2</sup>** независимо, в каждом случае, отсутствуют или их выбирают из группы, включающей C<sub>1-6</sub> алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>e</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>e</sub>-C(O)-, -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>-C(O)-, -C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>v</sub>-, (глицин)<sub>4</sub>-серин, и их комбинацию, где подстрочный индекс **e** является целым числом от 0 до 4, подстрочный индекс **u** является целым числом от 1 до 8, и подстрочный индекс **v** является целым числом от 1 до 8.

53. Соединение по любому из пп.39-52, где

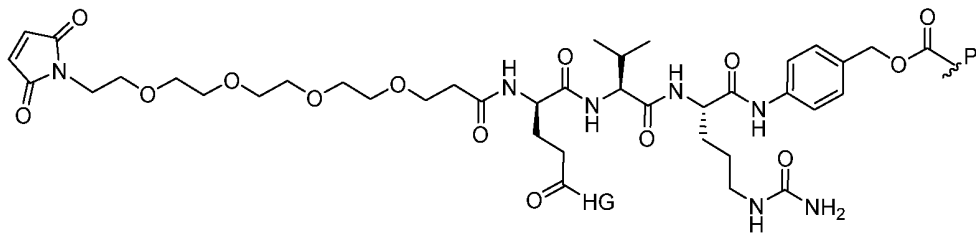


выбирают из группы, включающей:

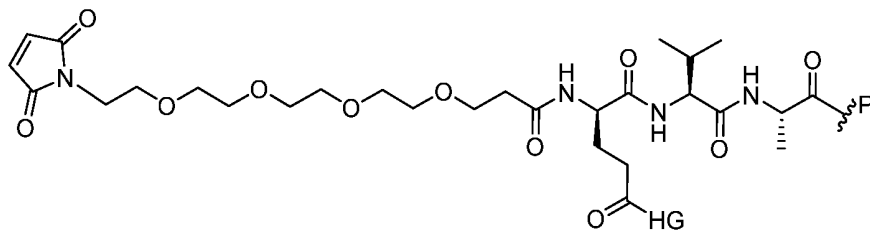








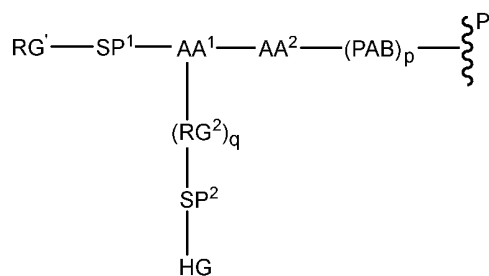
и



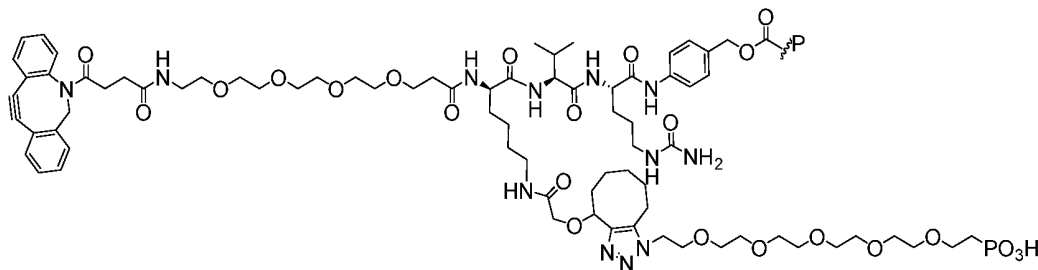
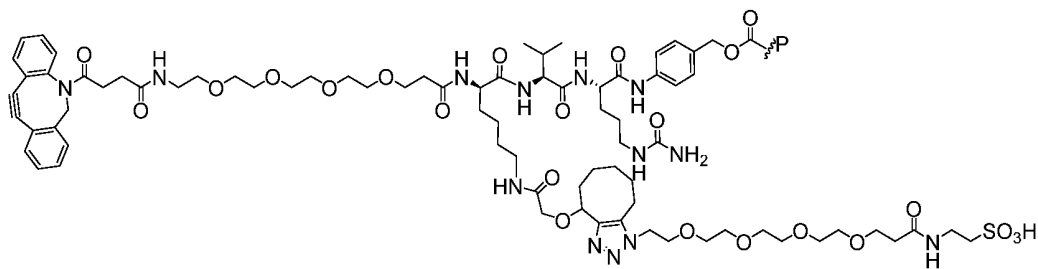
или его стереоизомерная форма, региоизомер или смесь региоизомеров, где

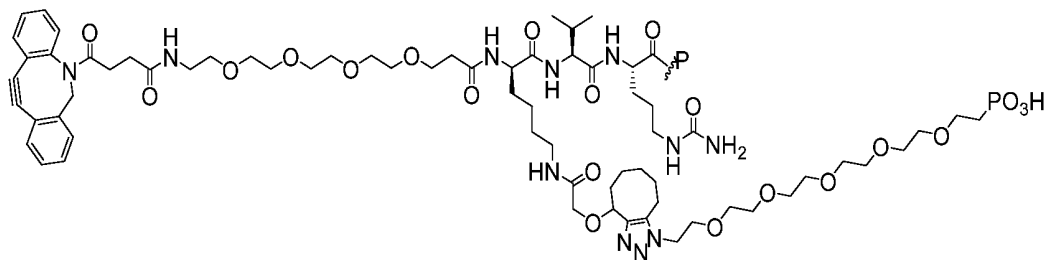
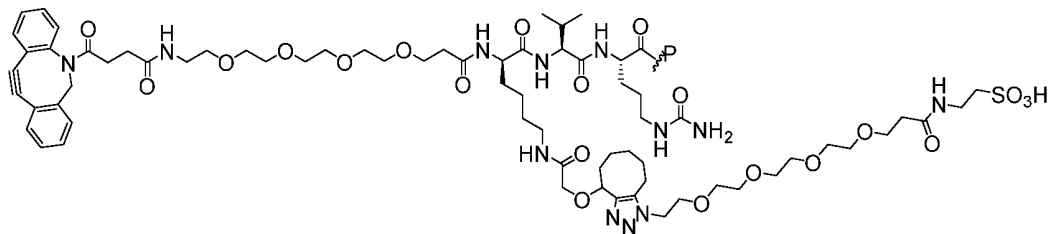
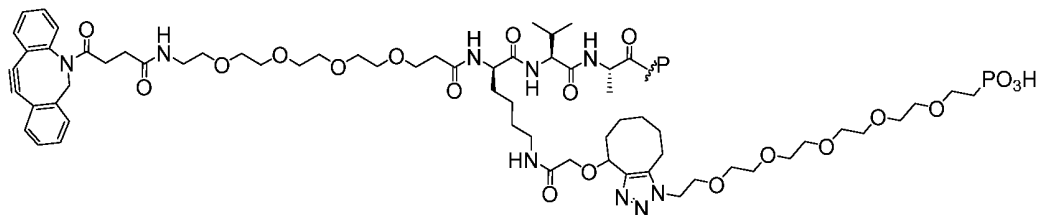
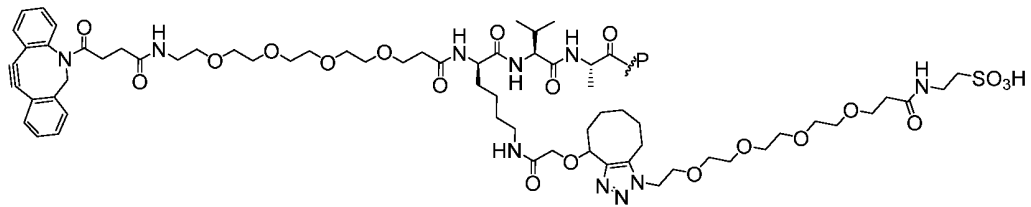
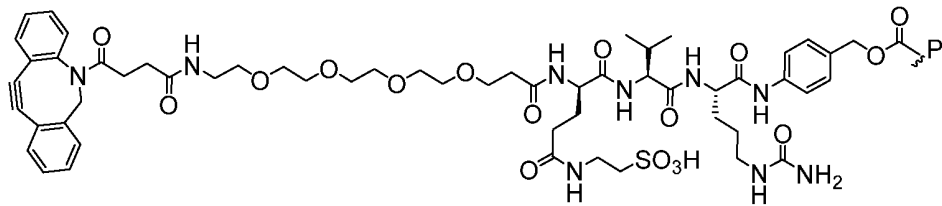
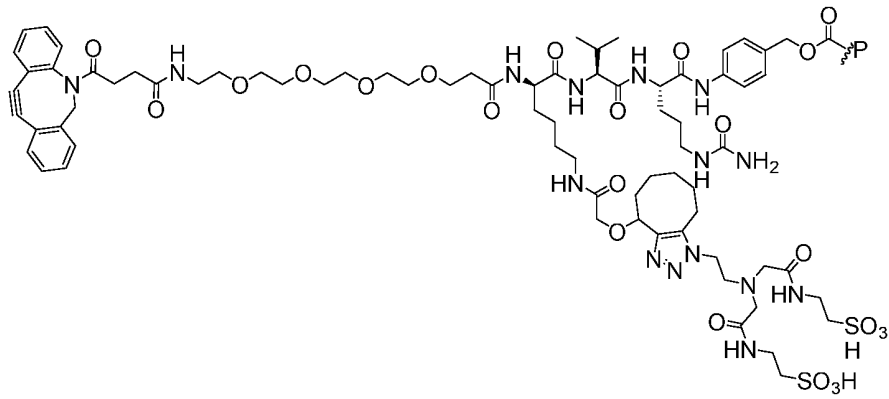
каждый  $\text{---P}$  представляет собой связь с остатком полезной нагрузки.

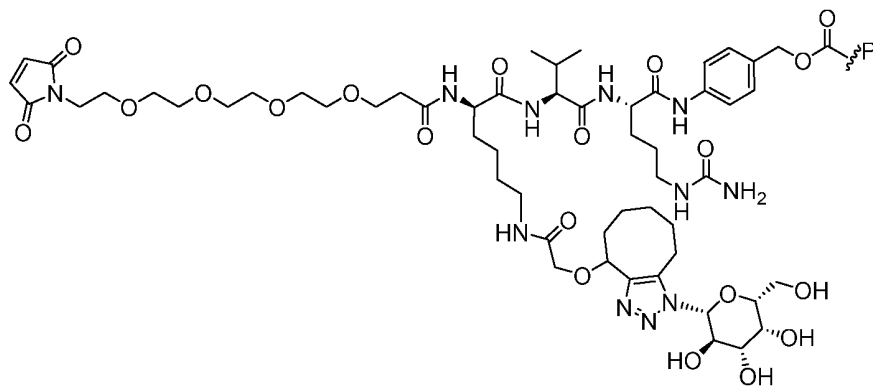
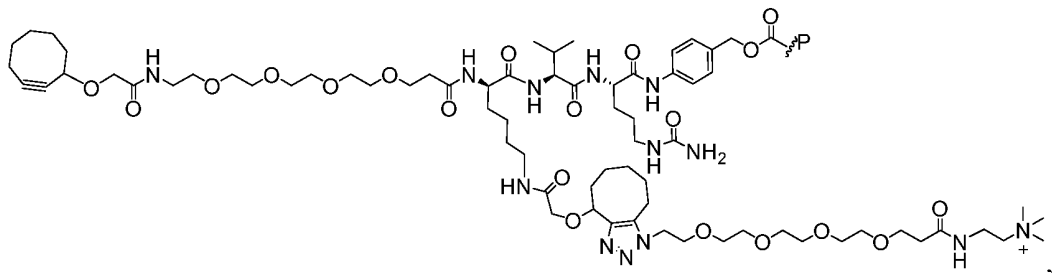
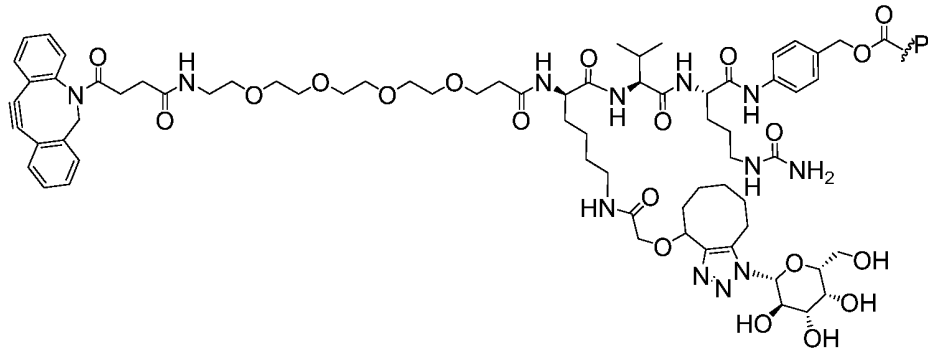
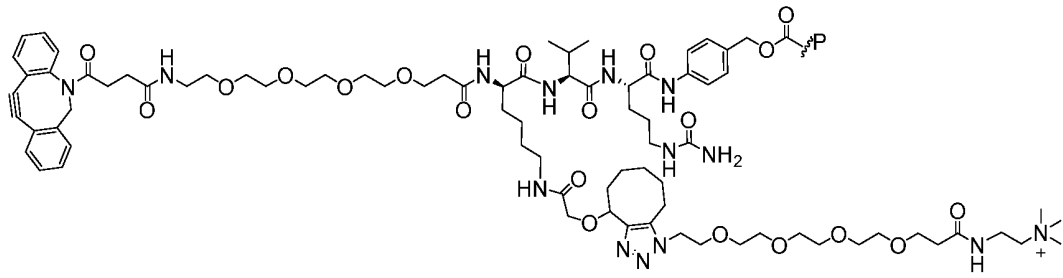
54. Соединение по любому из пп. 39-52, где

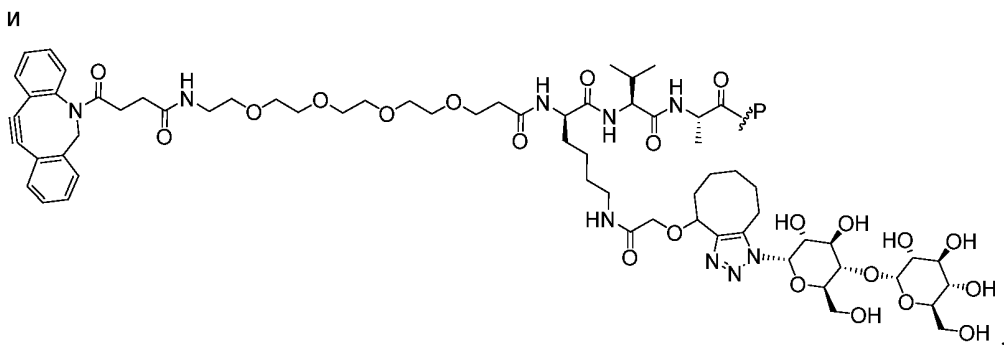
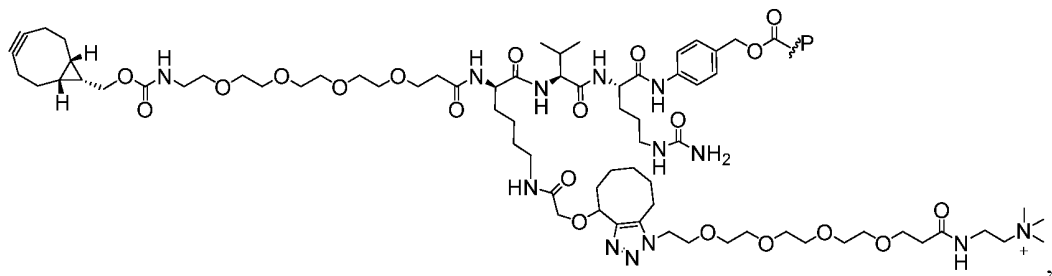
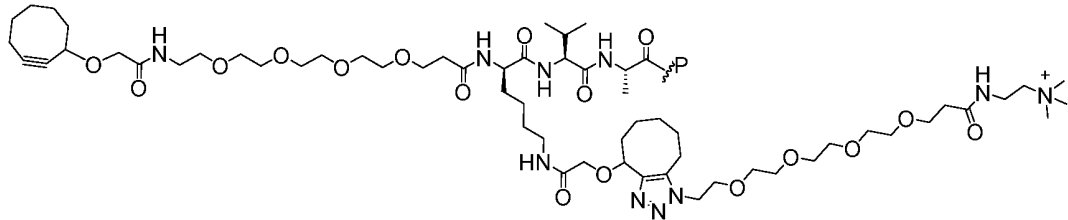
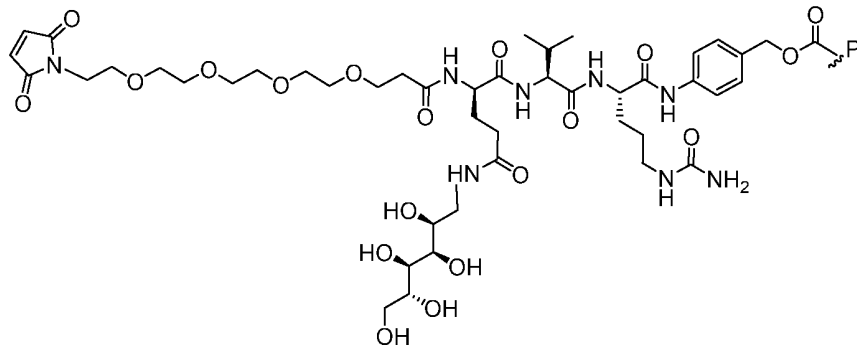


выбирают из группы, включающей:





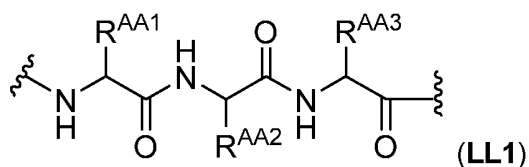




или его стереоизомерная форма, региоизомер или смесь региоизомеров, где

каждый  P представляет собой связь с остатком полезной нагрузки.

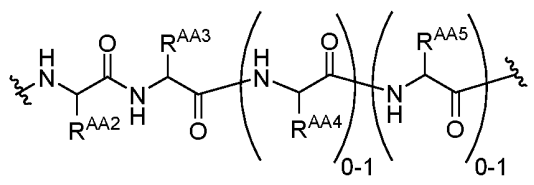
55. Соединение по п.39, где LL имеет формулу (LL1):



где  $R^{AA1}$ ,  $R^{AA2}$ , и  $R^{AA3}$  каждый независимо являются боковыми цепями аминокислот, по меньшей мере, одна из которых связана прямо или опосредованно с  $-(RG^2)_q-SP^2-HG$

56. Соединение по п.55, где  $R^{AA1}$  представляет собой боковую цепь лизина, глутамина, глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты, которая прямо или опосредованно связана с  $HG$ , и  $R^{AA2}$  и  $R^{AA3}$  являются боковыми цепями валина и аланина либо валина и цитруллина, соответственно.

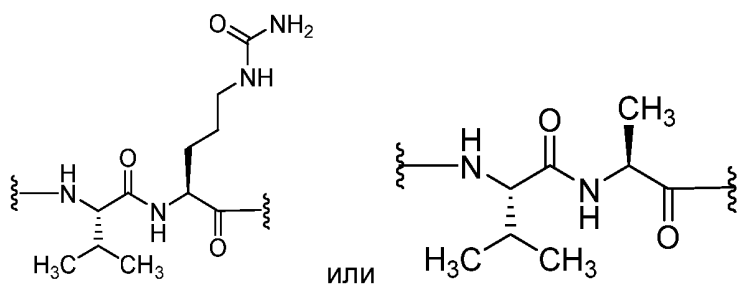
57. Соединение по любому из пп.41-54, где  $AA^2$  представляет собой



где  $R^{AA2}$ ,  $R^{AA3}$ ,  $R^{AA4}$ , и  $R^{AA5}$  каждый независимо являются боковыми цепями аминокислот, по меньшей мере, одна из которых связана прямо или

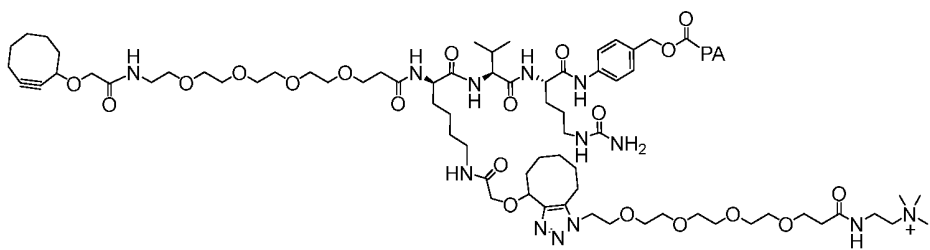
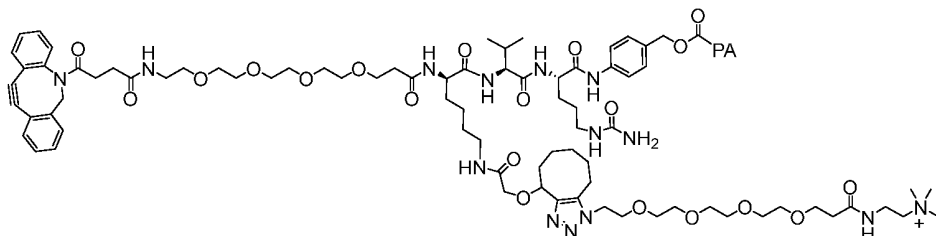
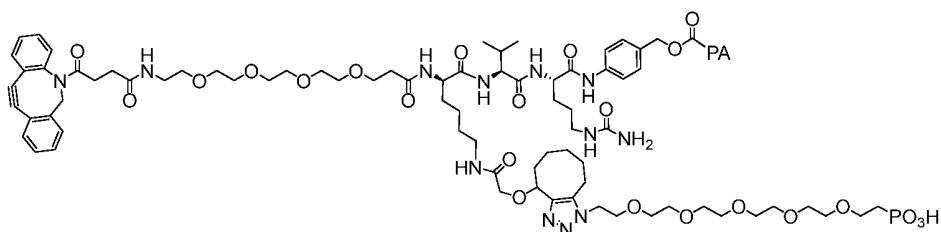
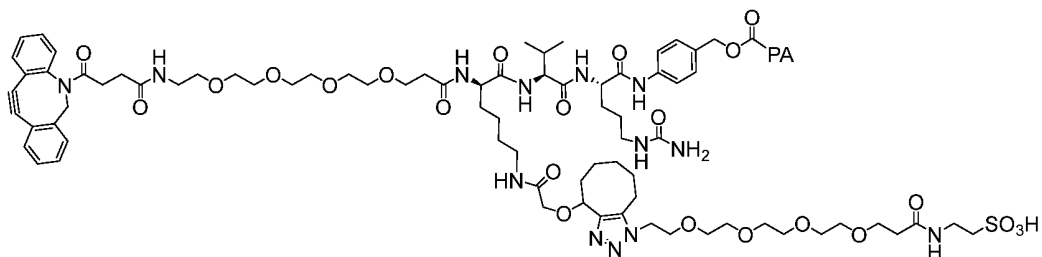
опосредованно с  $-(RG^2)_q-SP^2-HG$ , где указывает на атом, через который  $AA^2$  соединен с соседними группами в формуле.

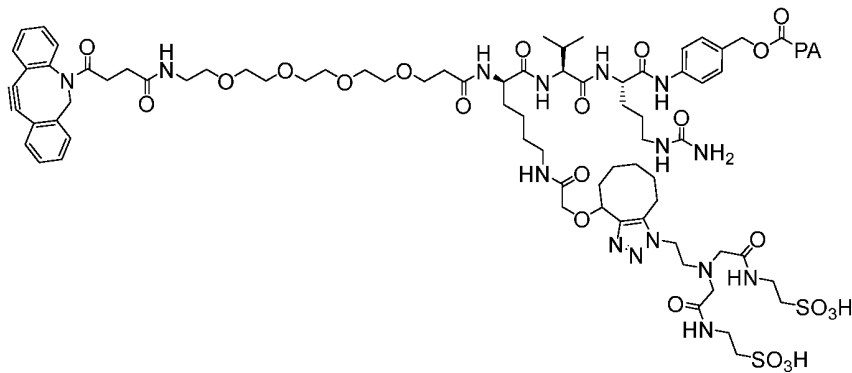
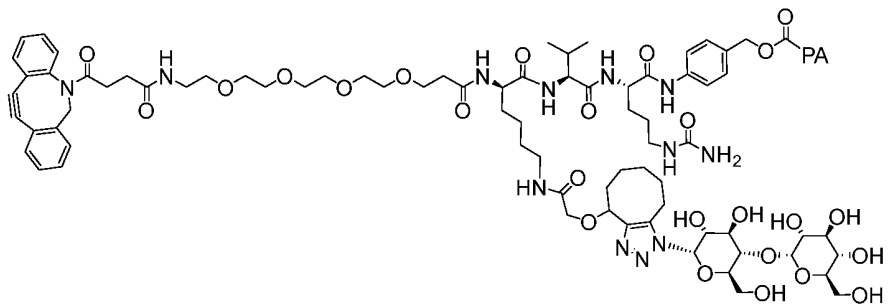
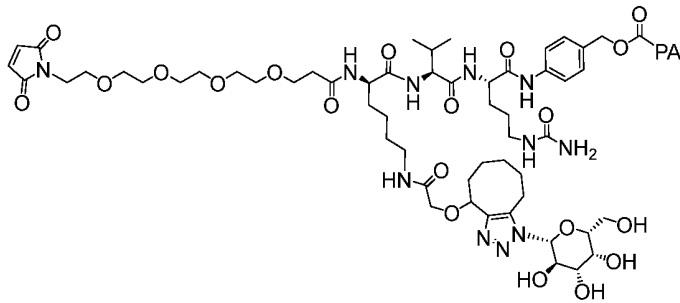
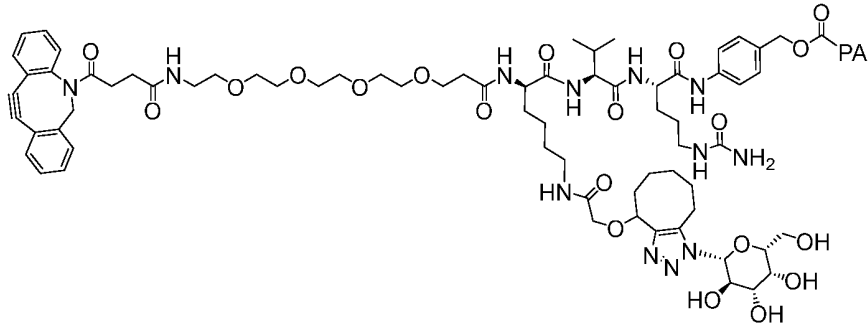
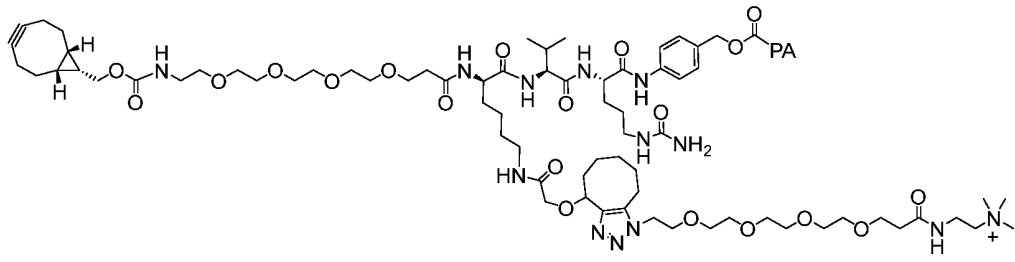
58. Соединение по любому из пп.41-54, где  $AA^2$  представляет собой

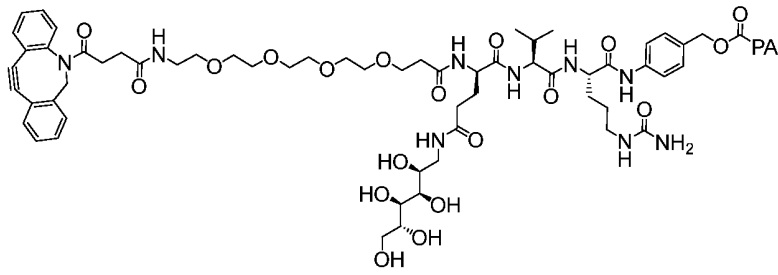


где указывает на атом, через который  $AA^2$  соединен с соседними группами в формуле.

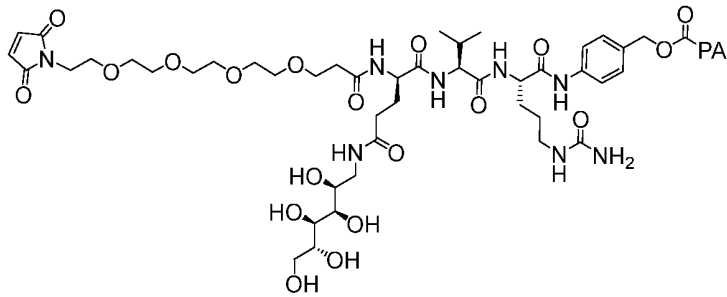
59. Соединение по любому из пп.44-52, где подстрочный индекс **e** равен 4.
60. Соединение по любому из пп. 37-59, где **PA** является остатком группы, которую выбирают из группы, включающей доластатин, ауристатин, майтанзиноид, растительный алкалоид, таксан, алкалоид барвинка, стероид, и модулятор печеночного рецептора X (LXR).
61. Соединение по любому из пп. 37-60, которое выбирают из группы, включающей:



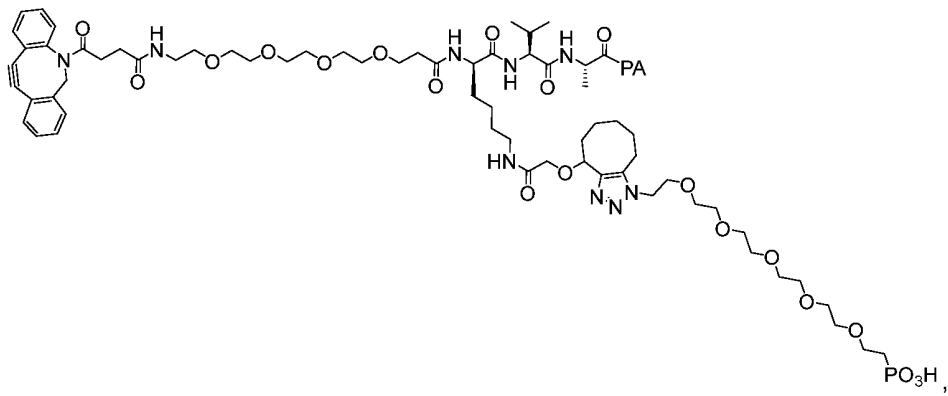
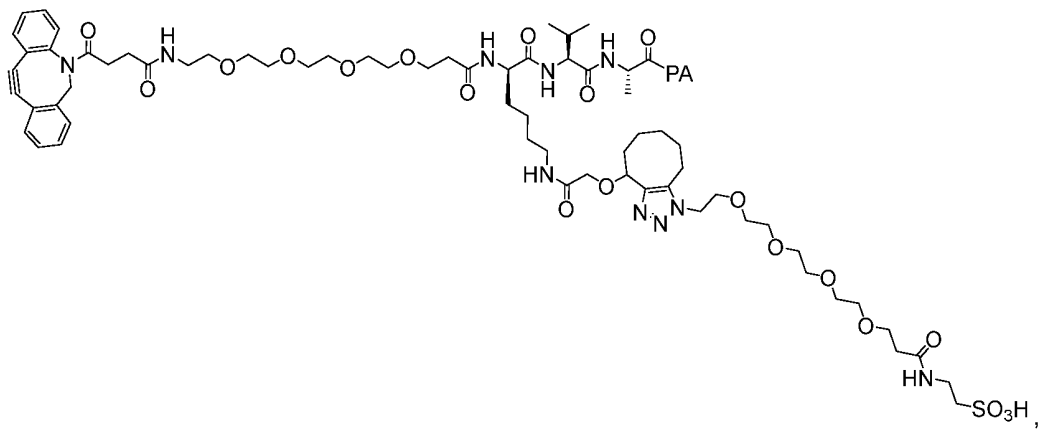




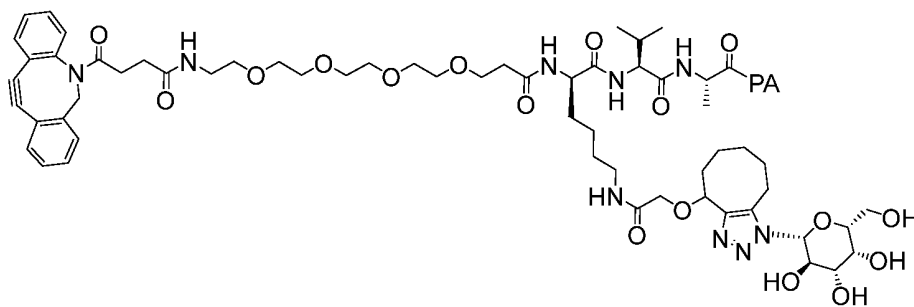
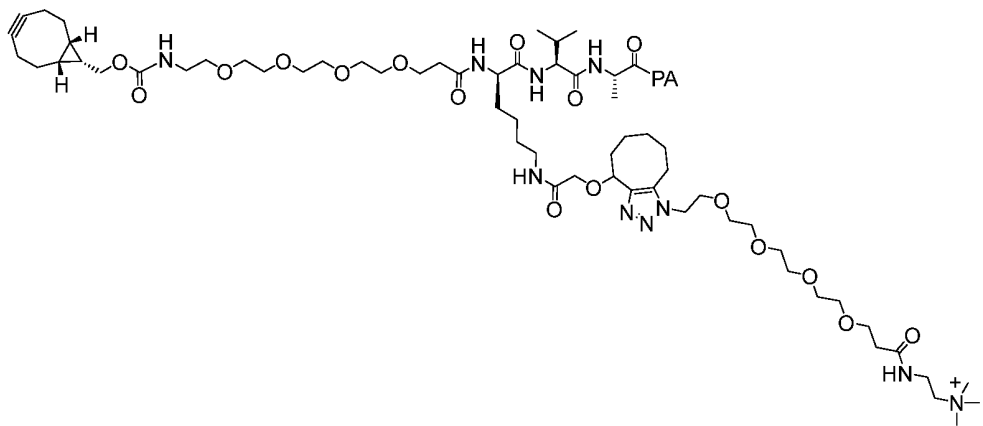
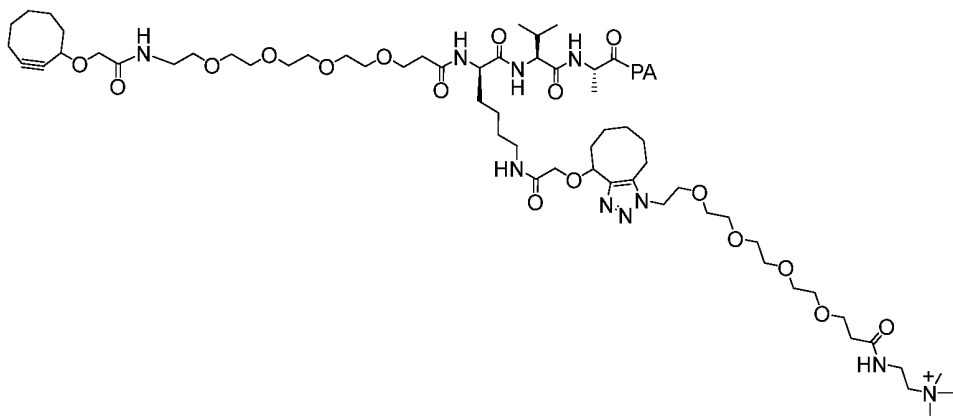
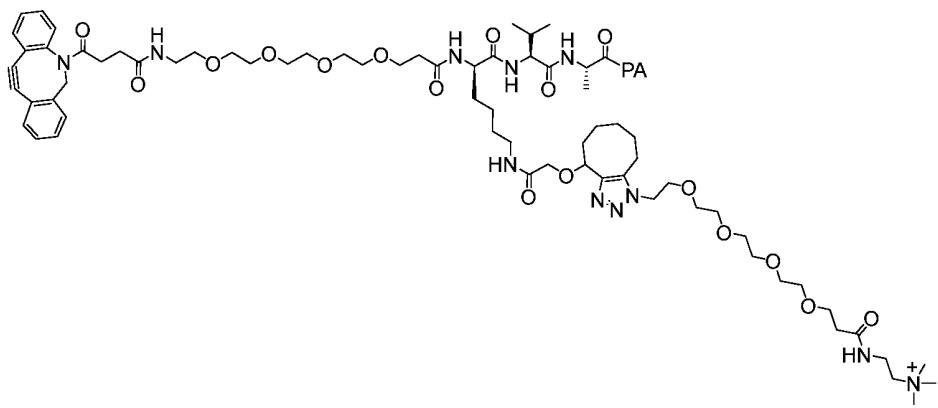
,z

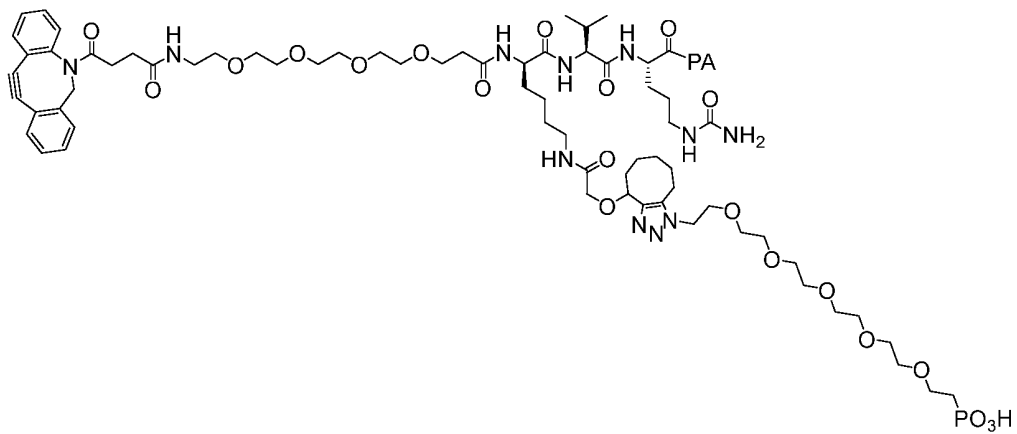
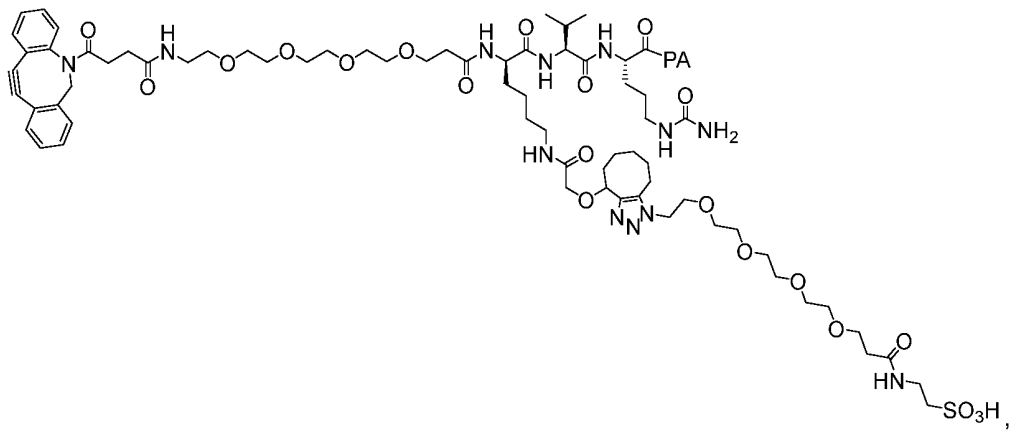
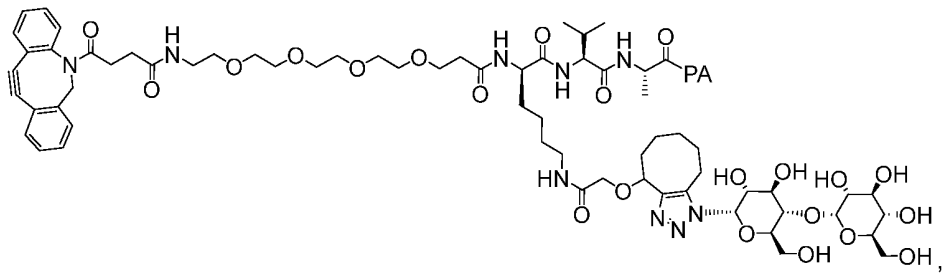
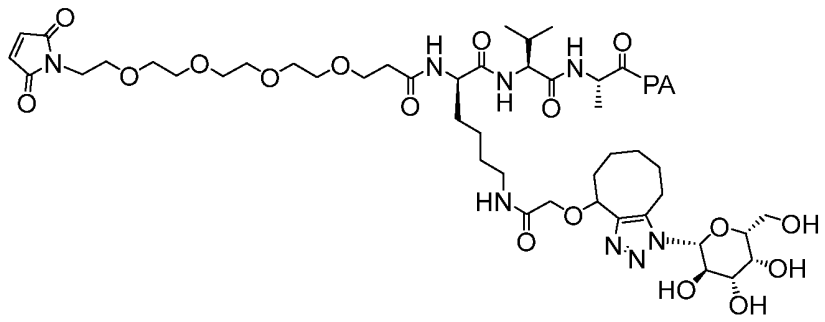


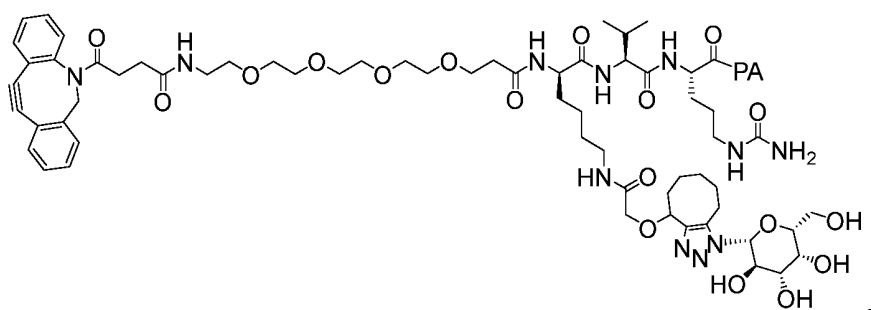
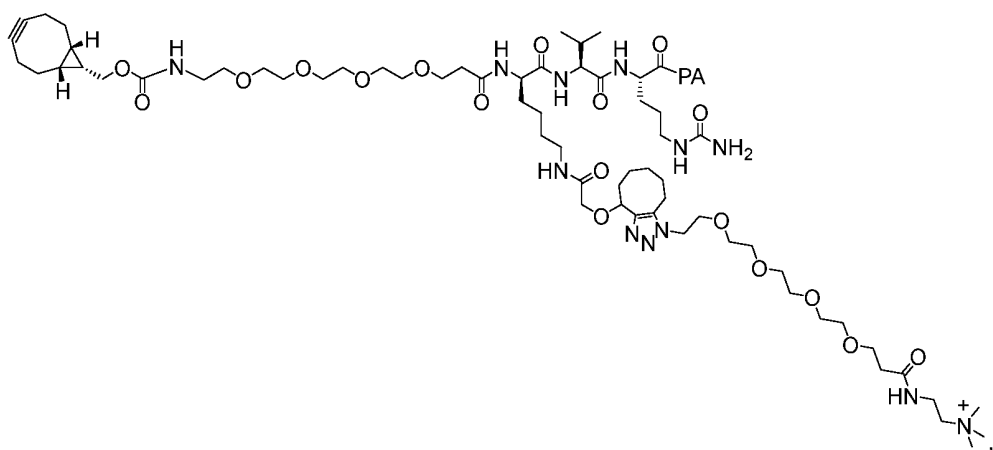
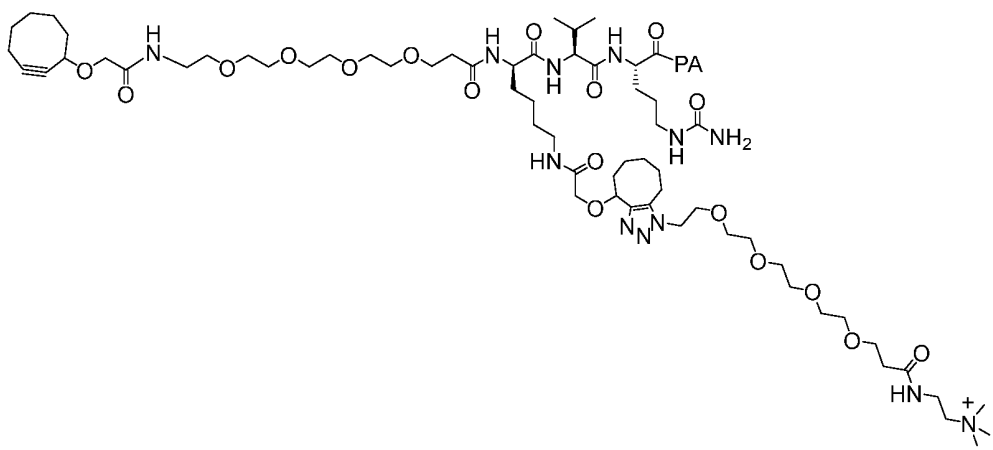
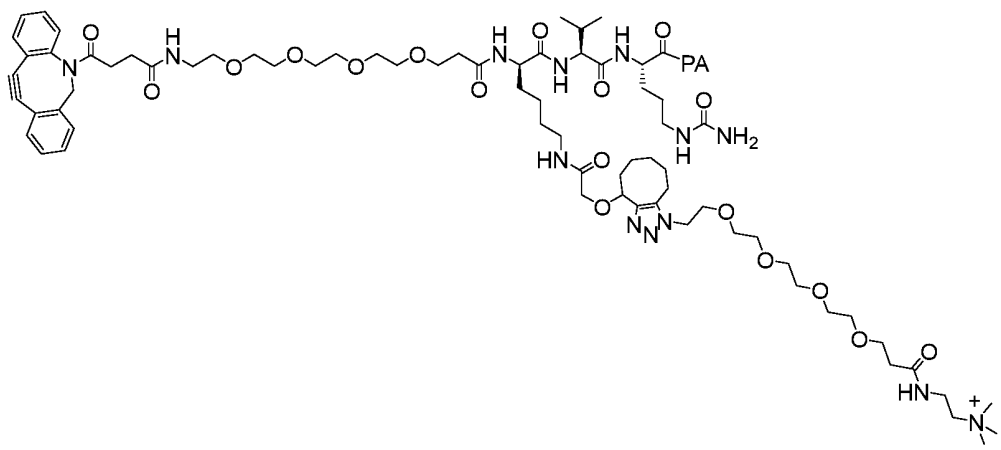
,

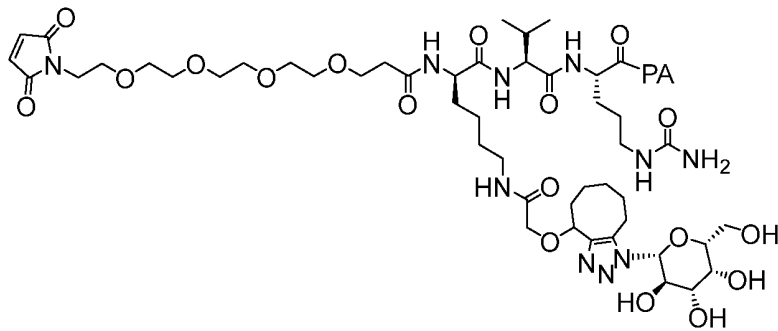




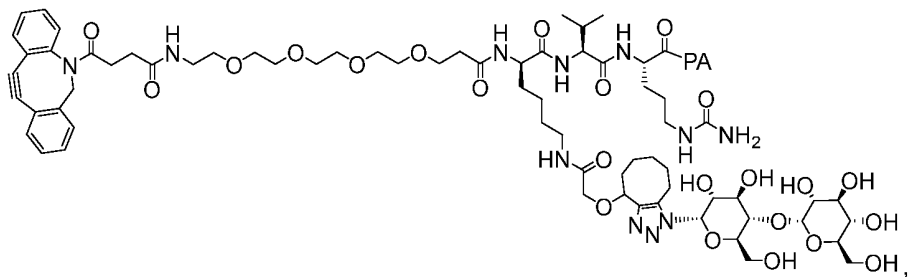






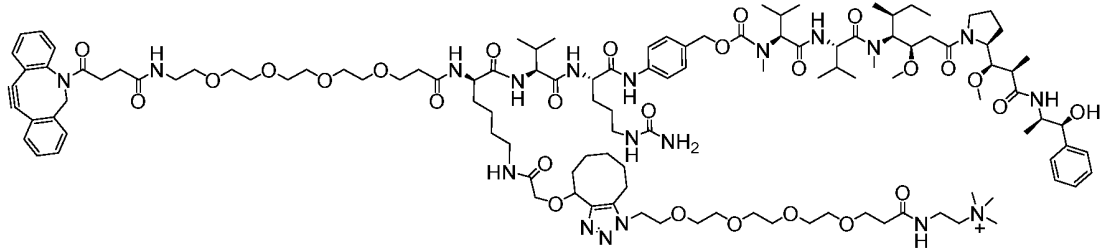
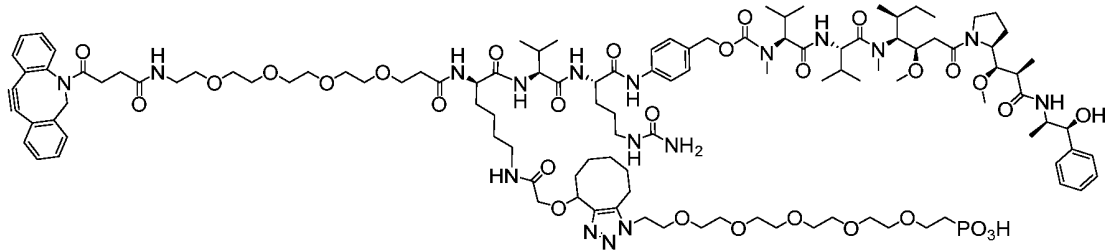
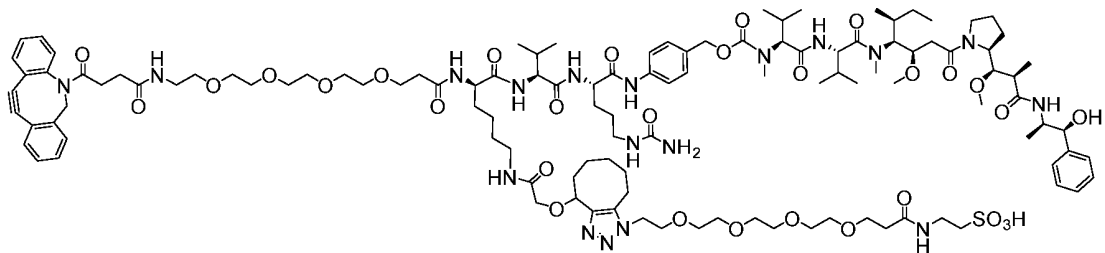


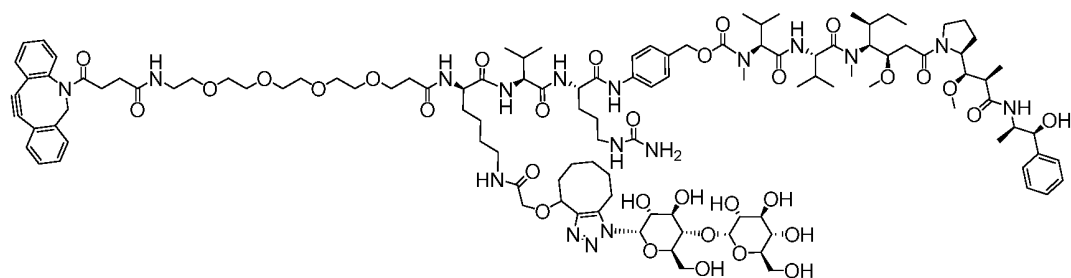
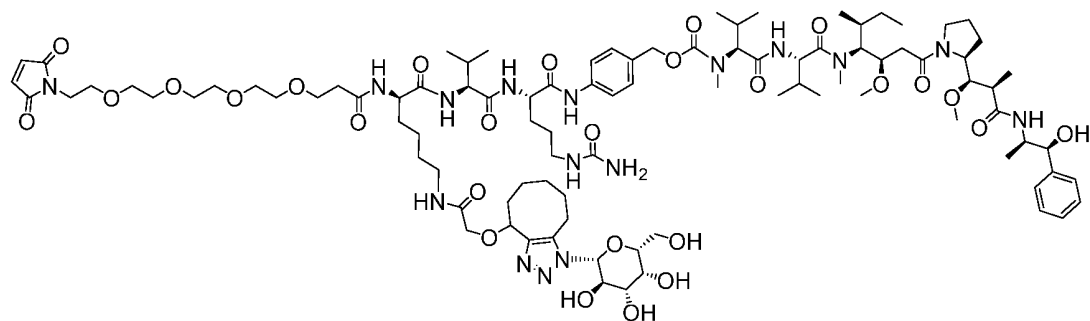
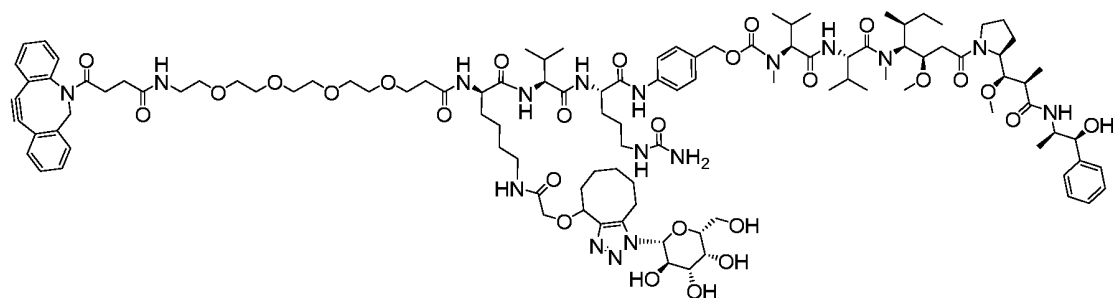
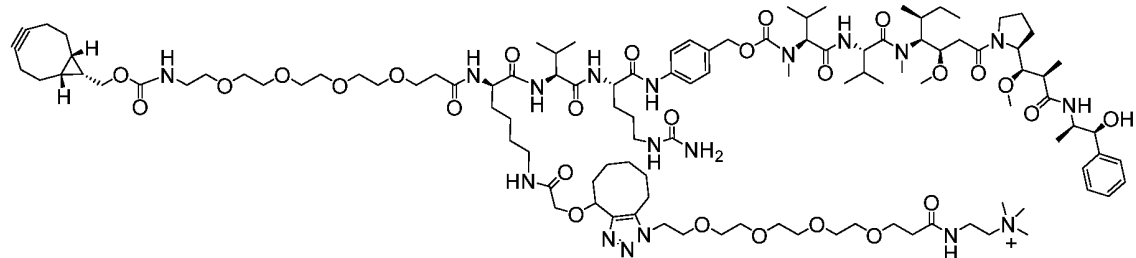
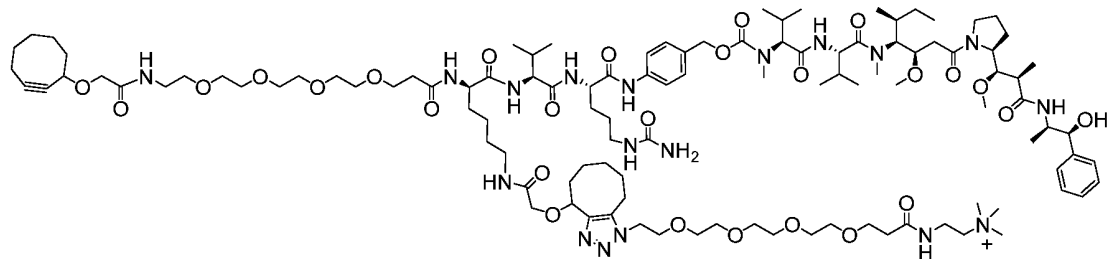
и

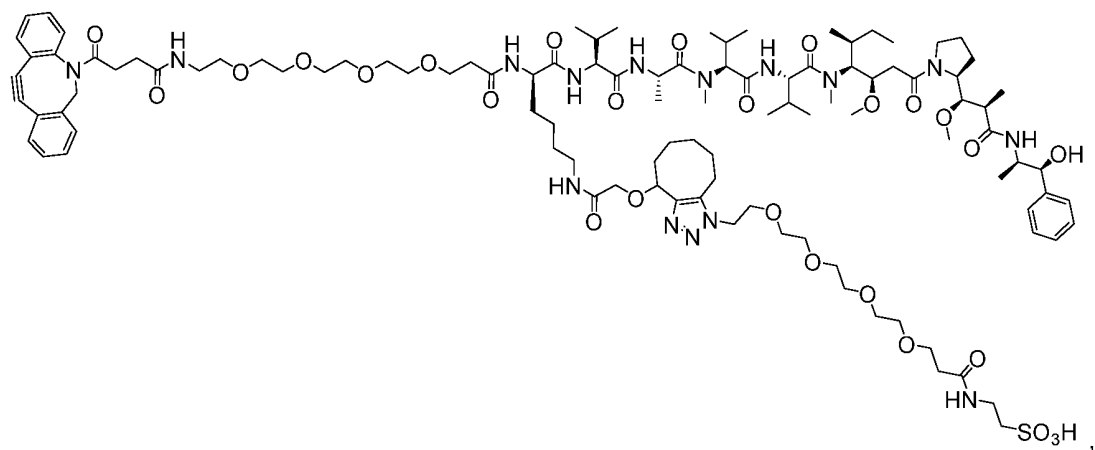
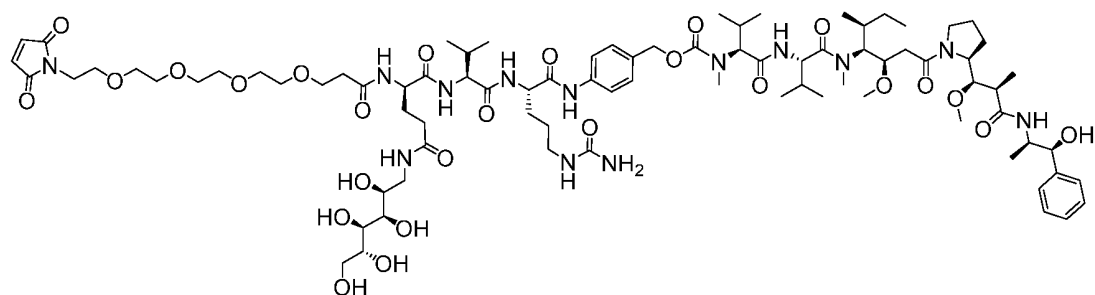
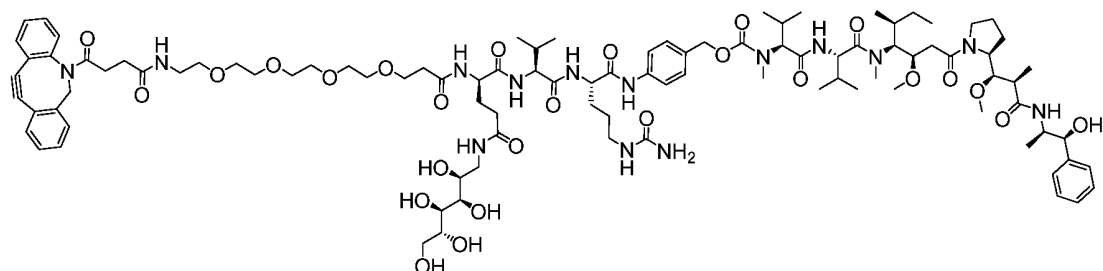
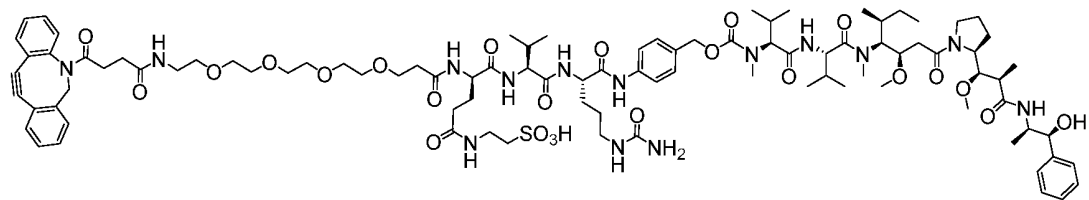
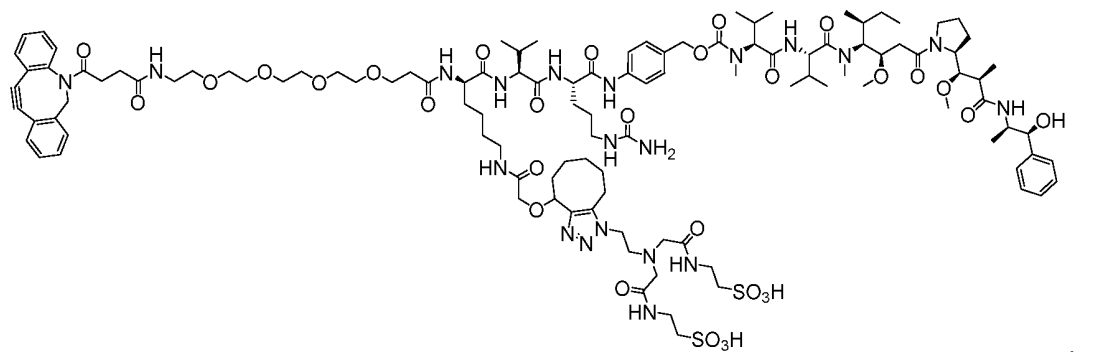


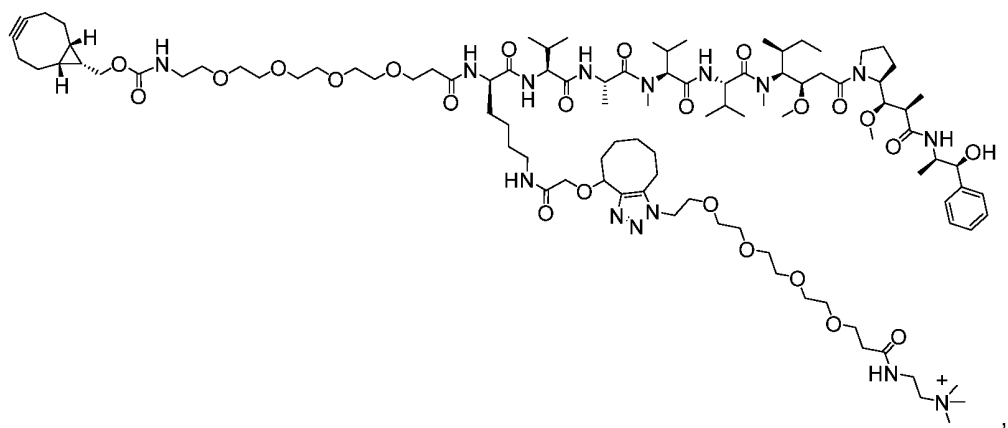
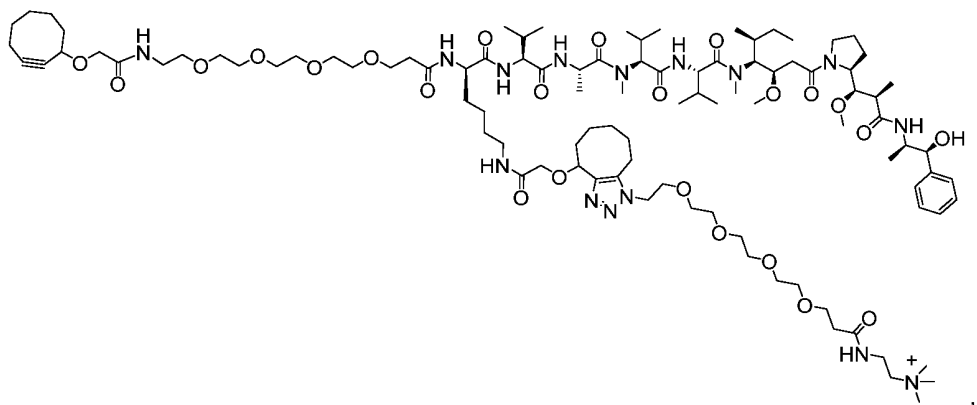
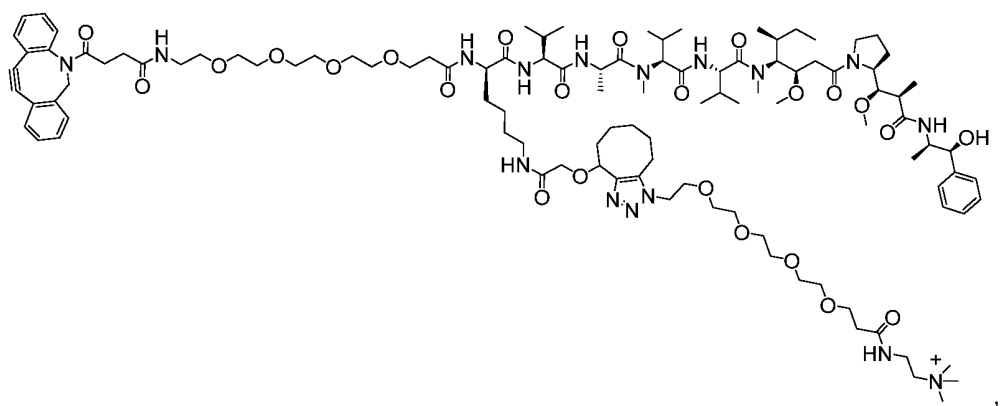
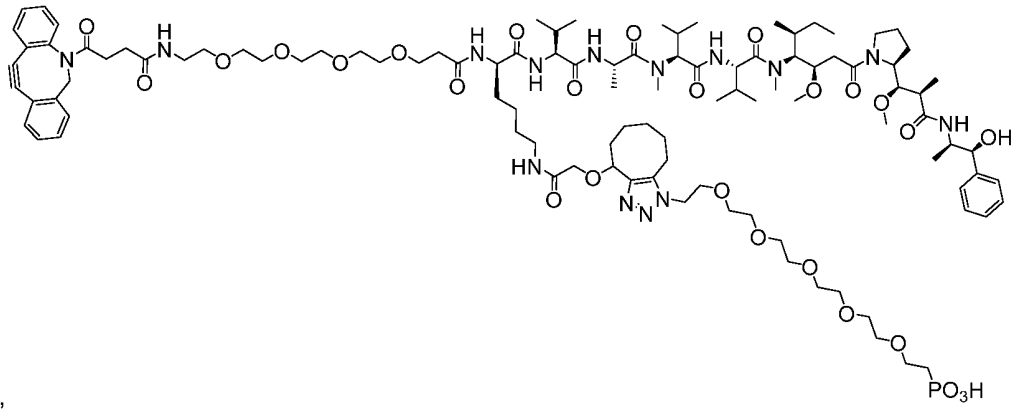
или его стереоизомерная форма, или региоизомер или смесь региоизомеров, где **PA** представляет собой остаток полезной нагрузки.

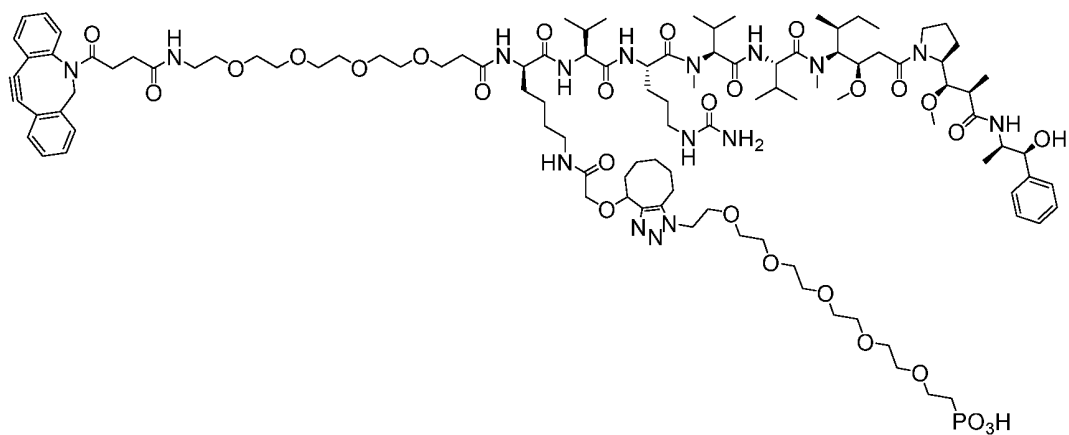
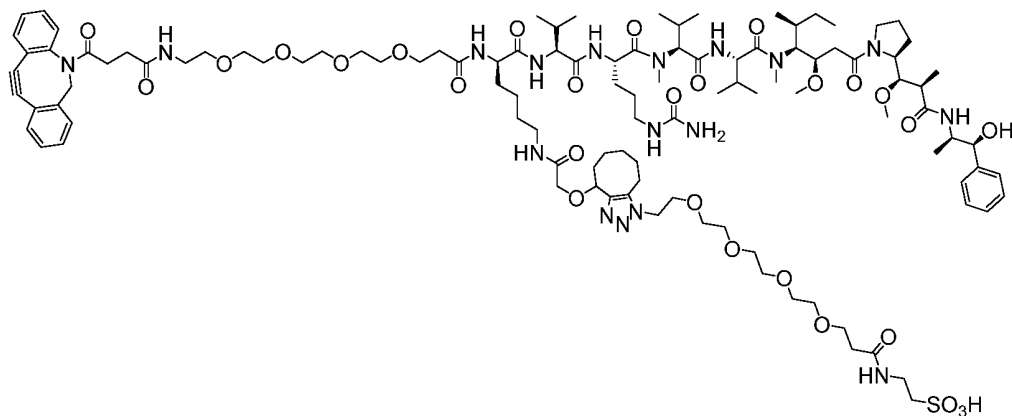
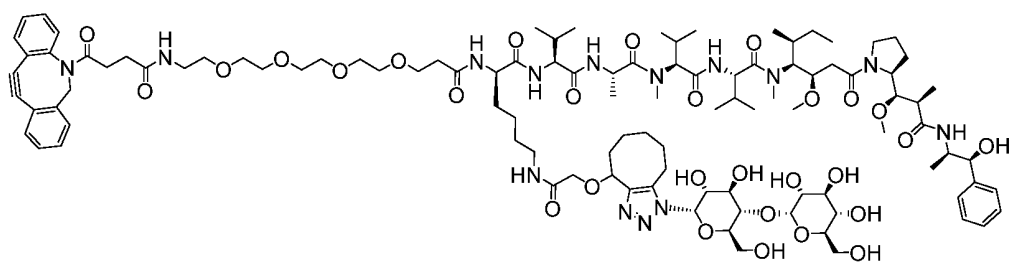
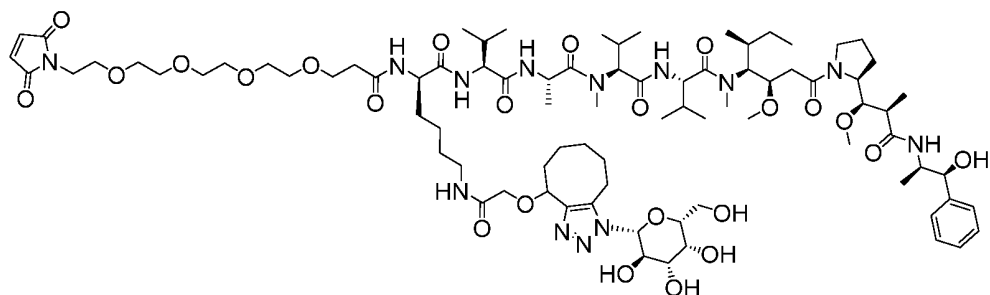
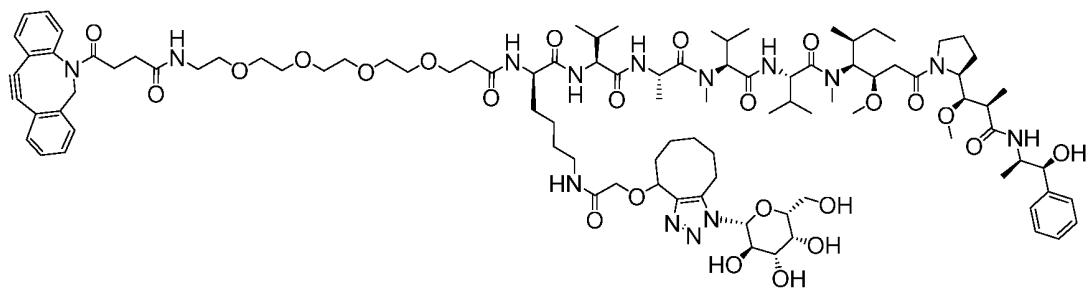
62. Соединение по любому из пп.37-60, которое выбирают из группы, включающей:



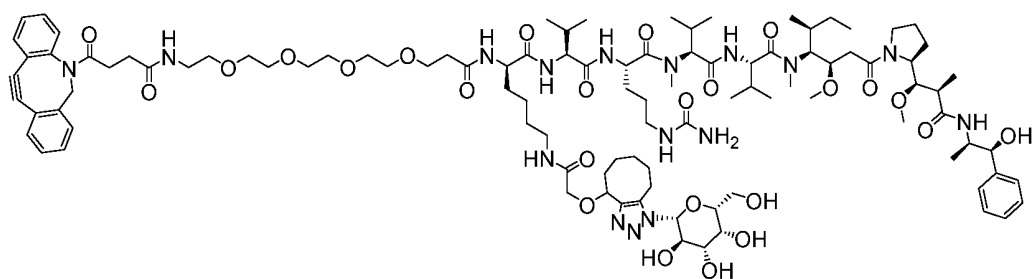
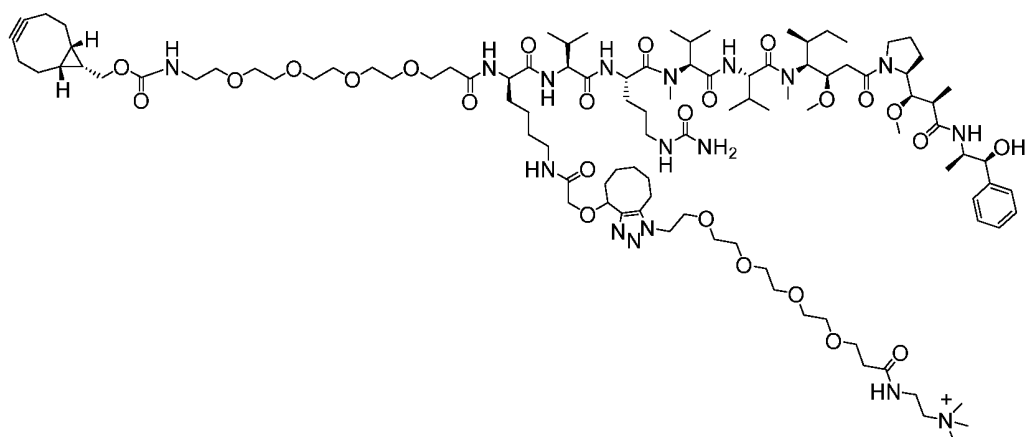
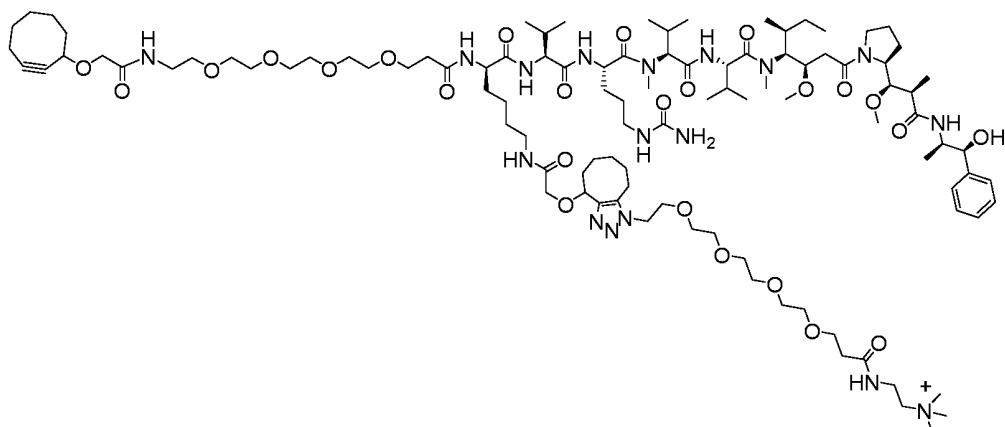
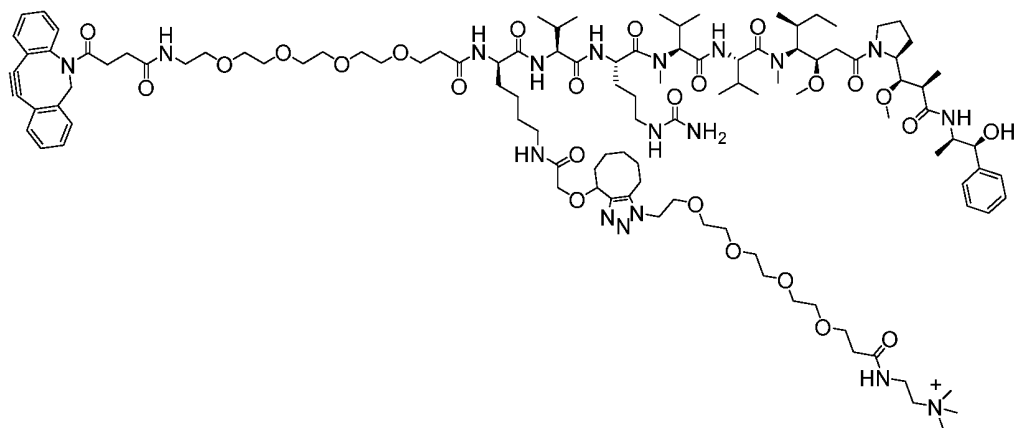


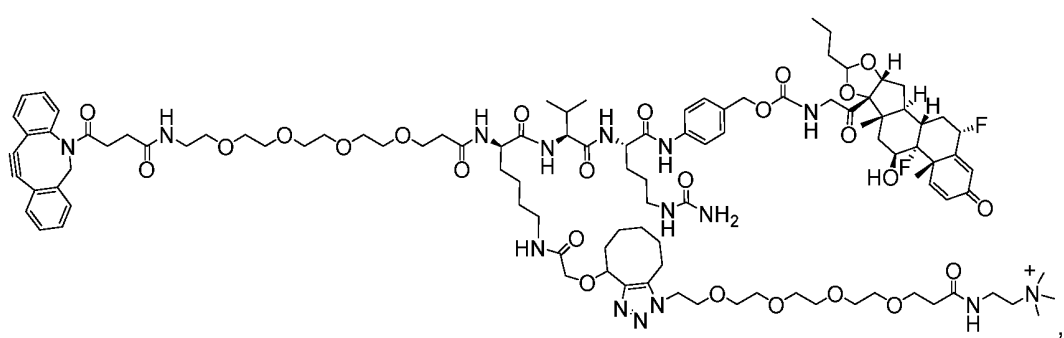
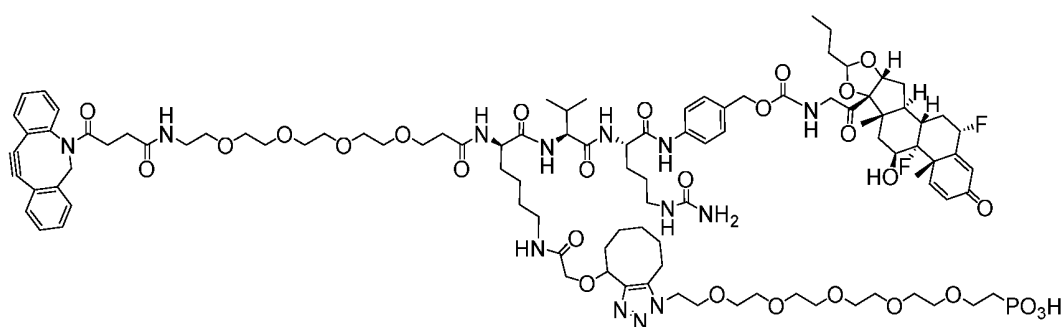
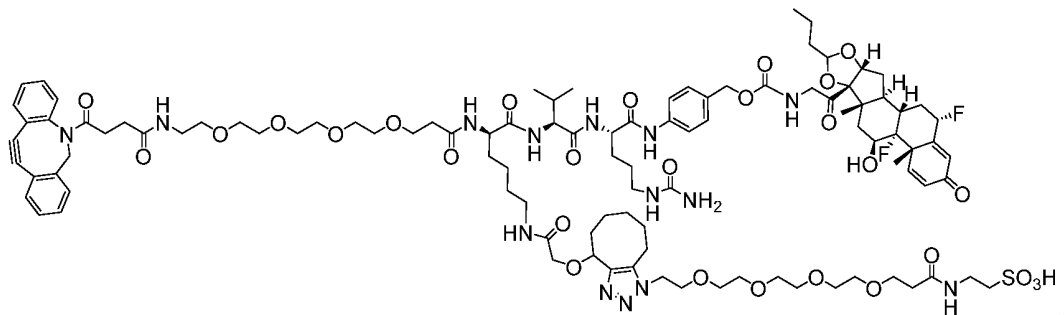
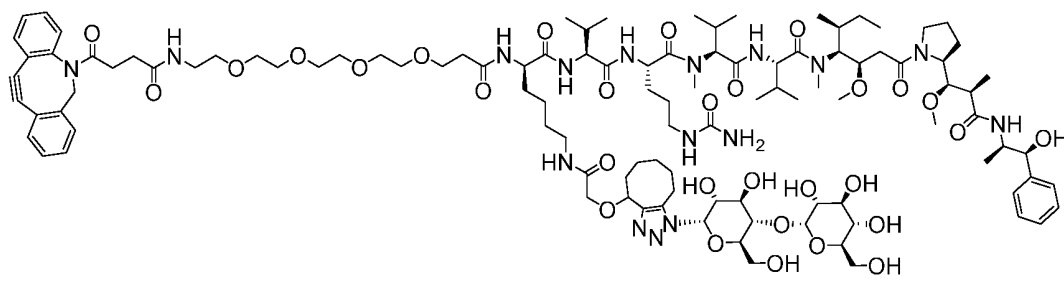
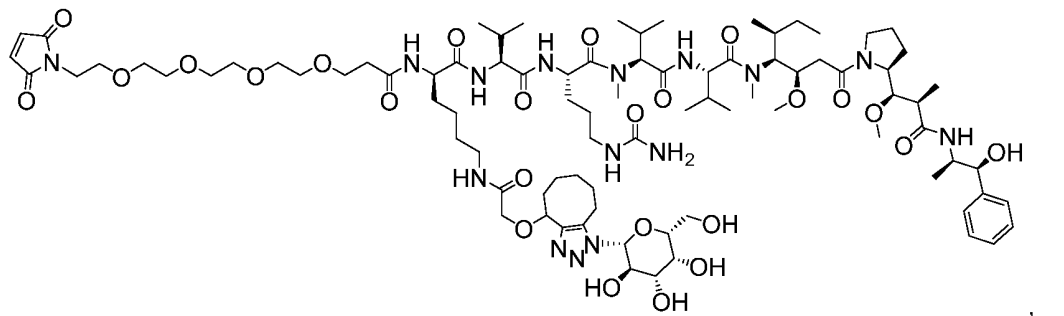


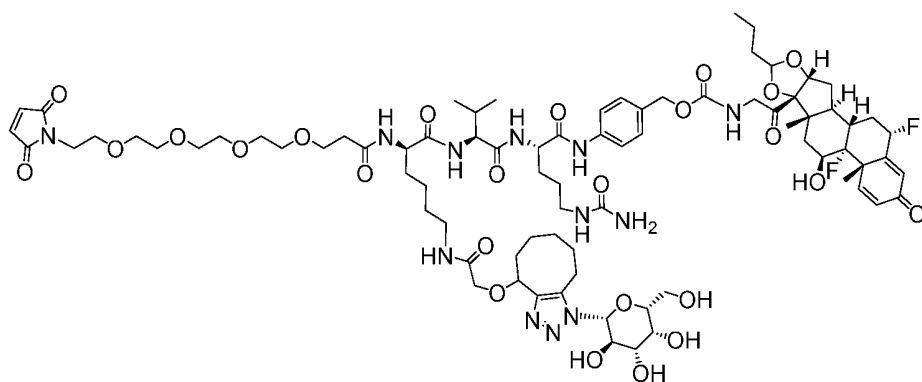
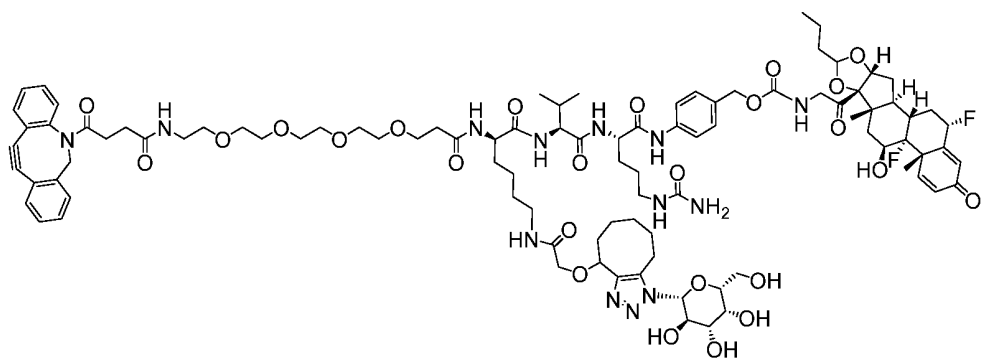
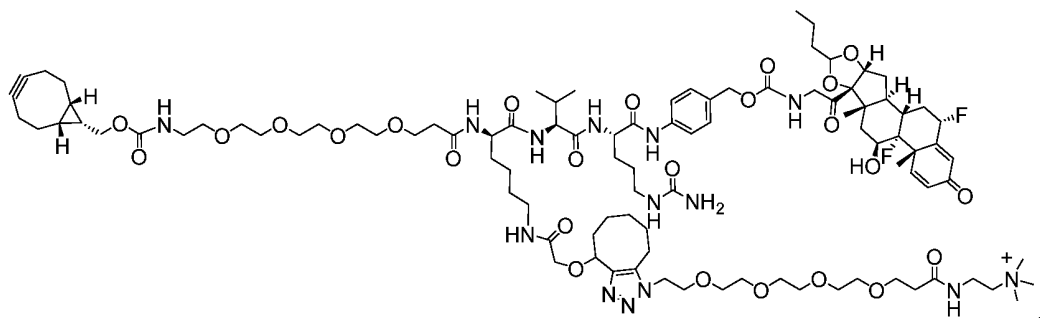
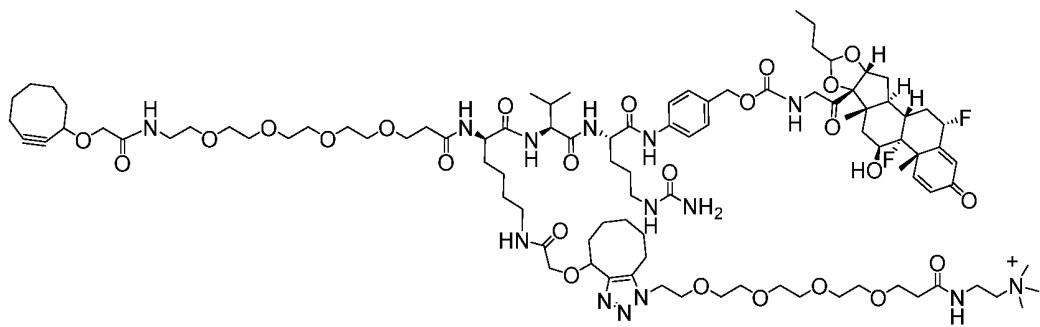


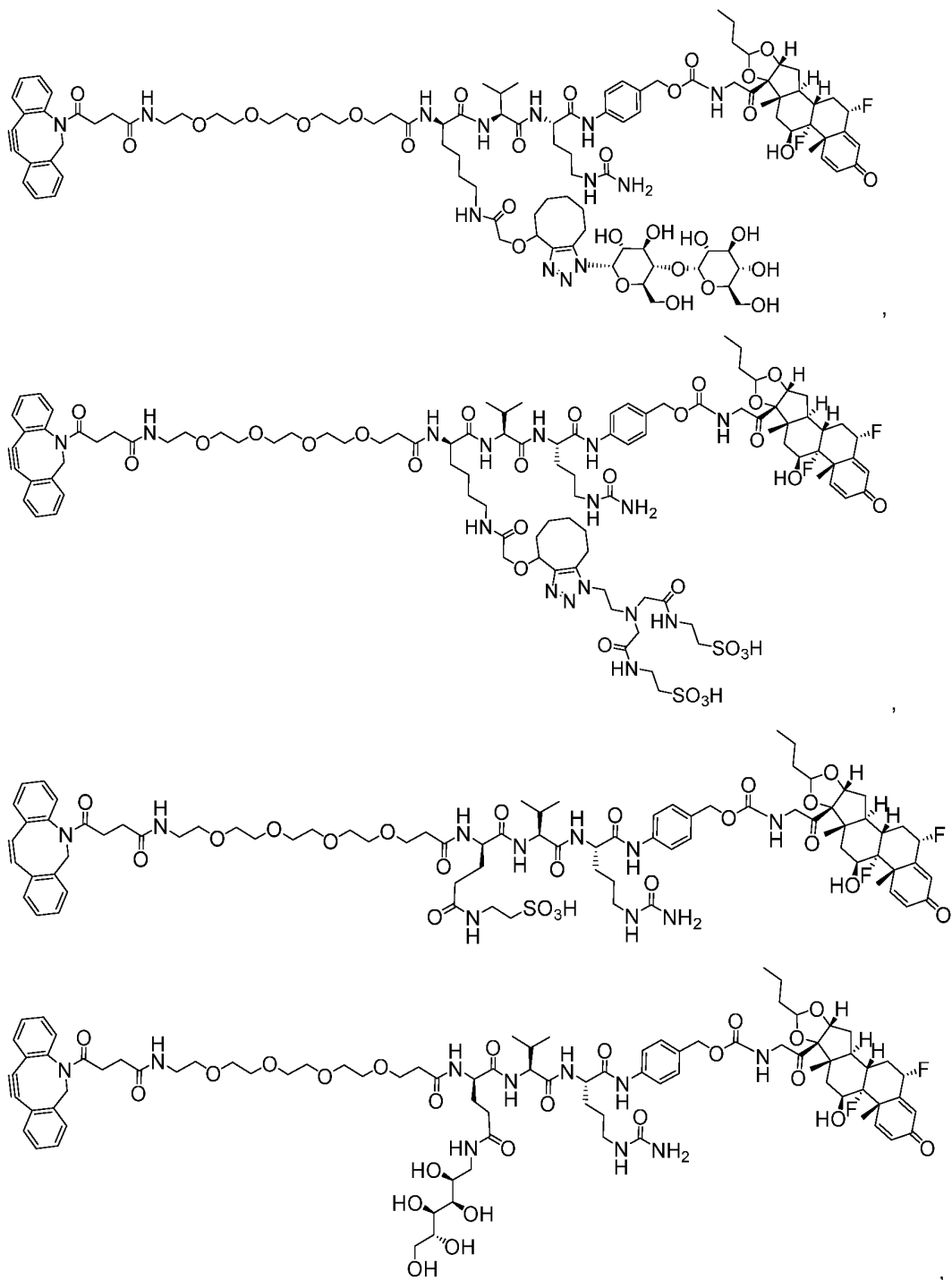


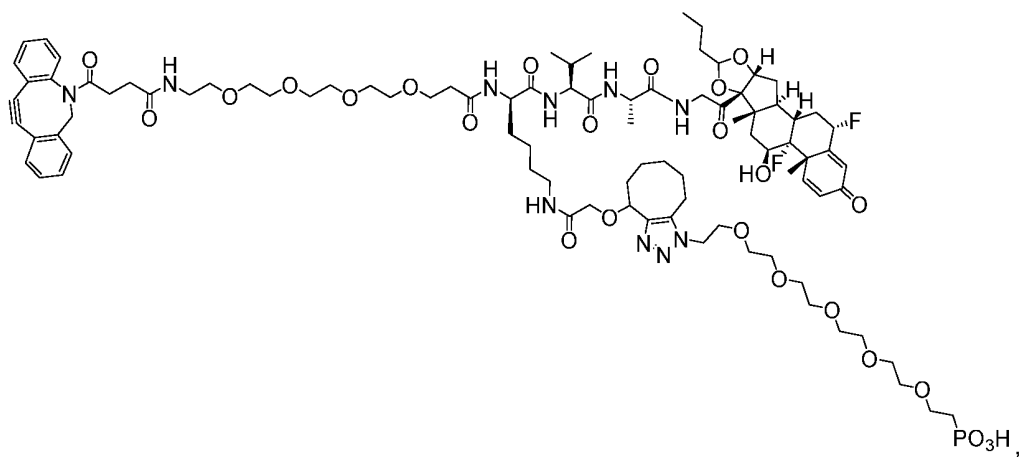
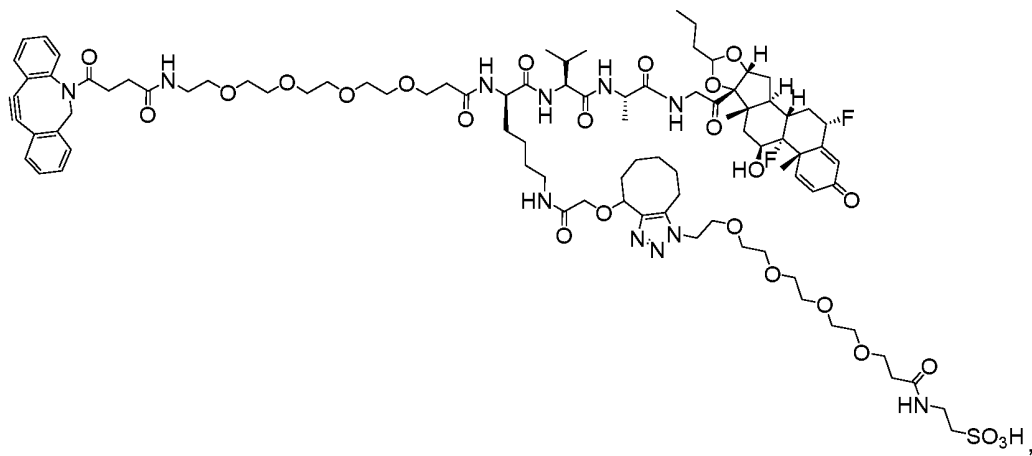
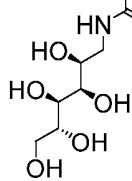
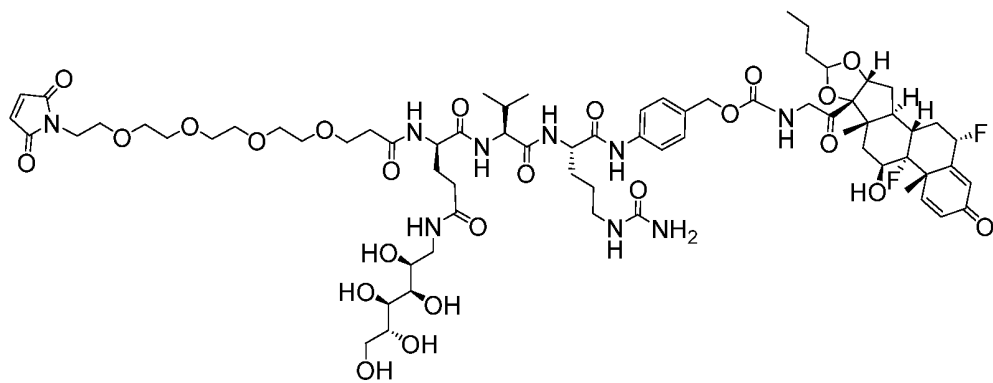


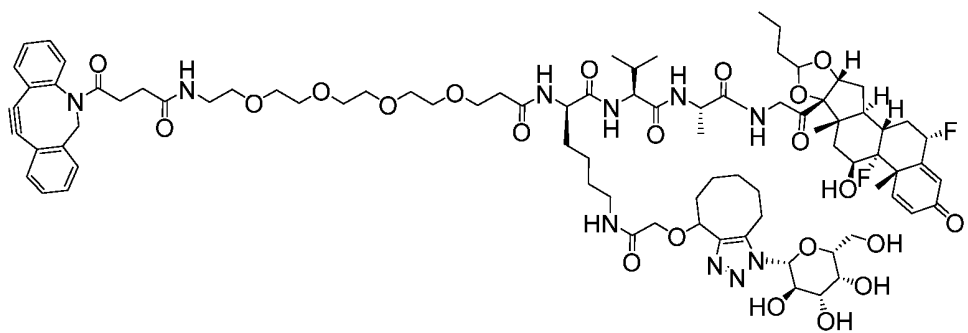
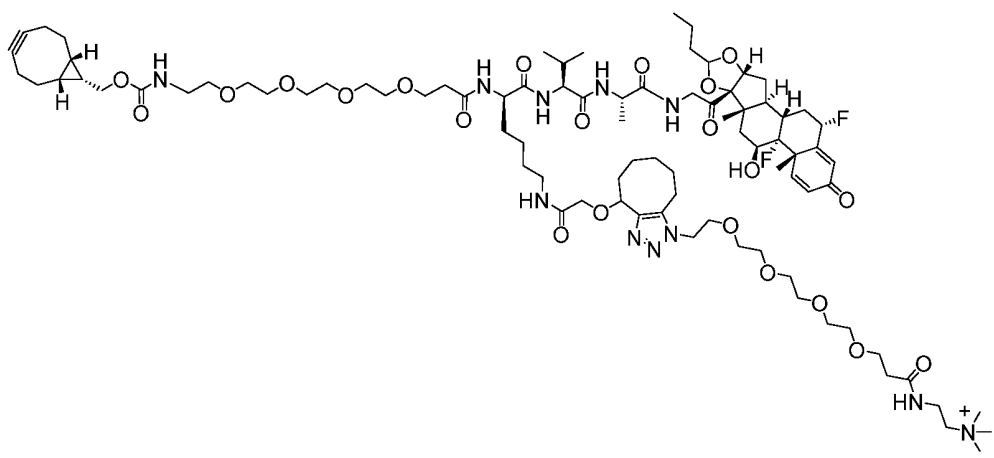
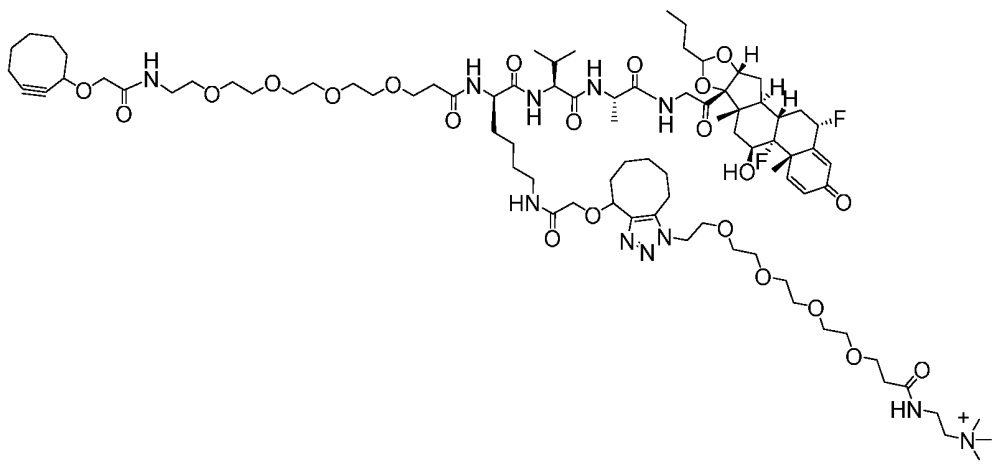
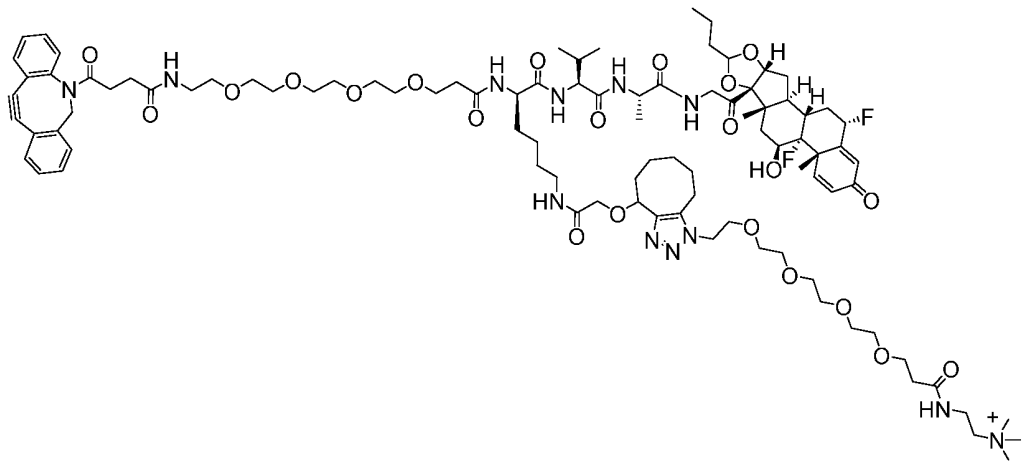


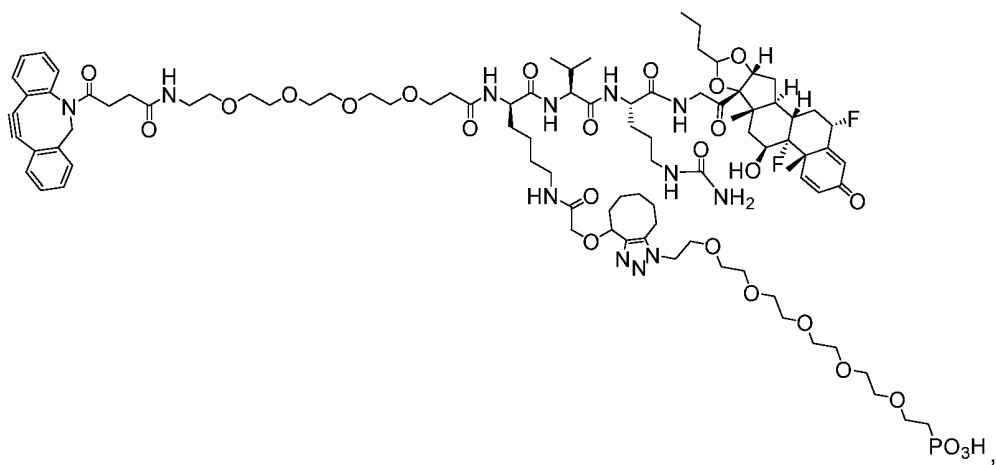
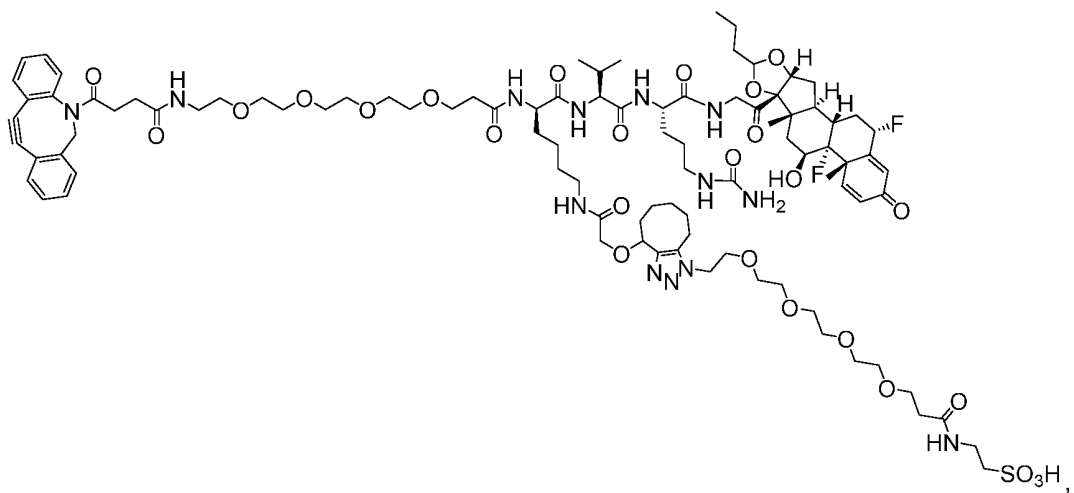
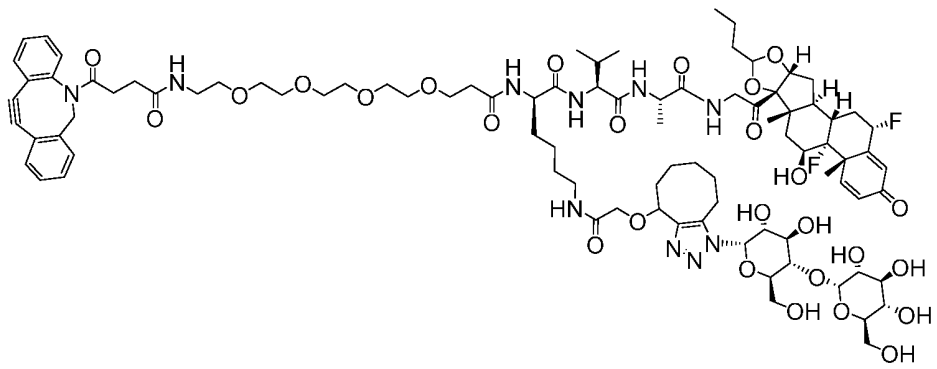
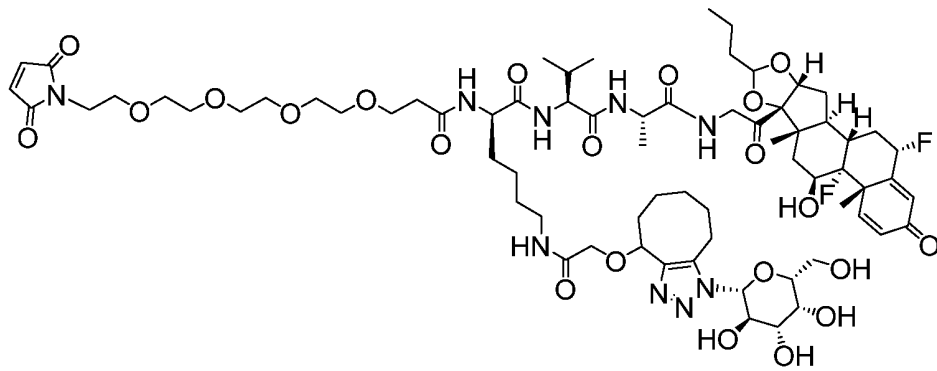


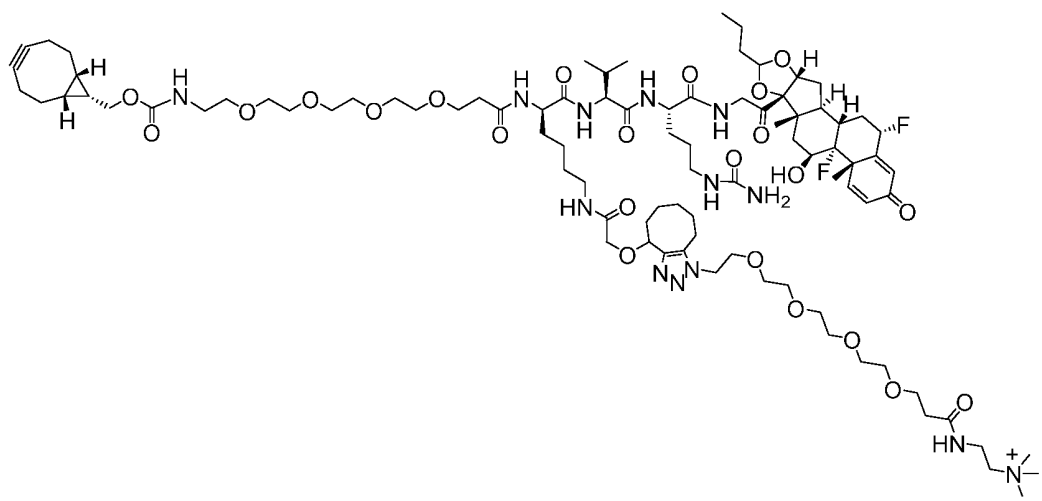
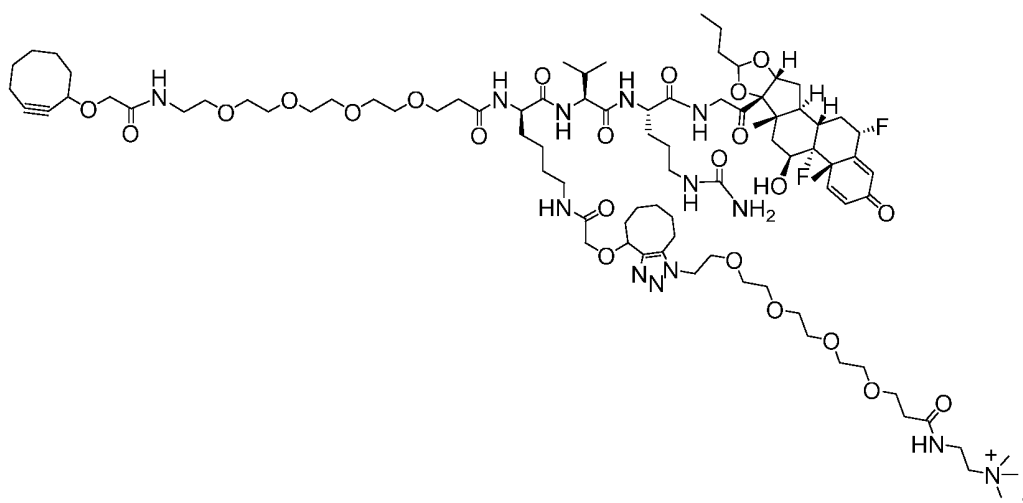
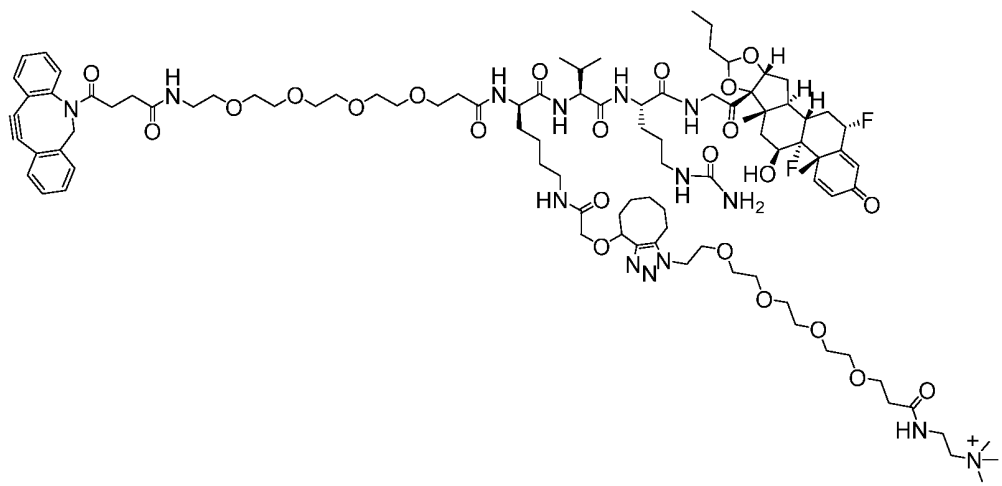




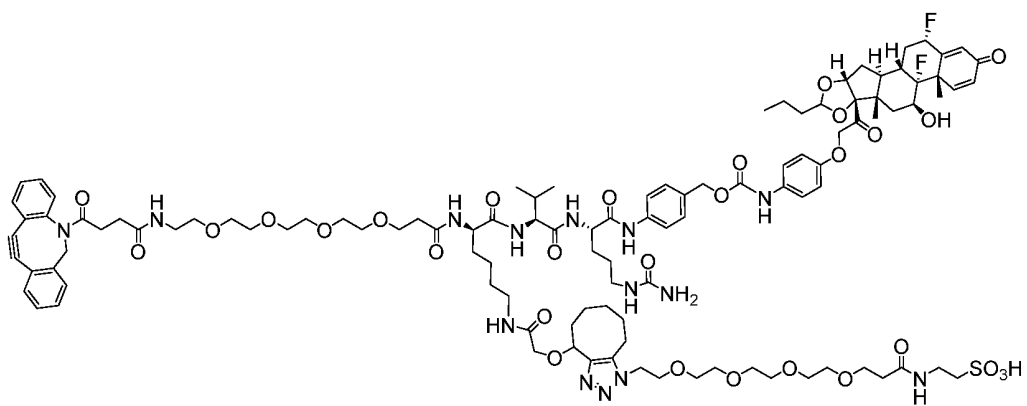
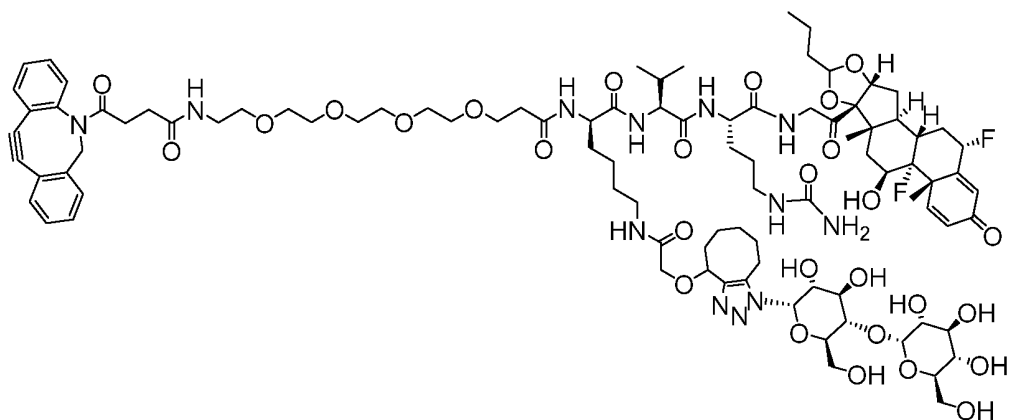
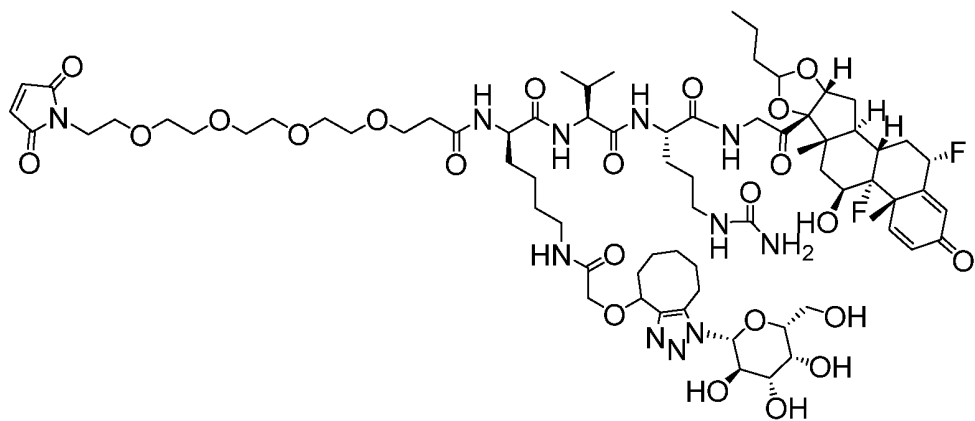
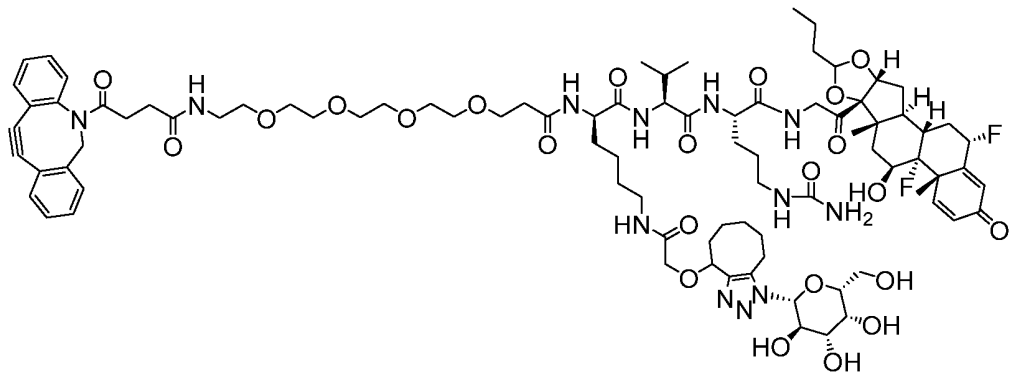


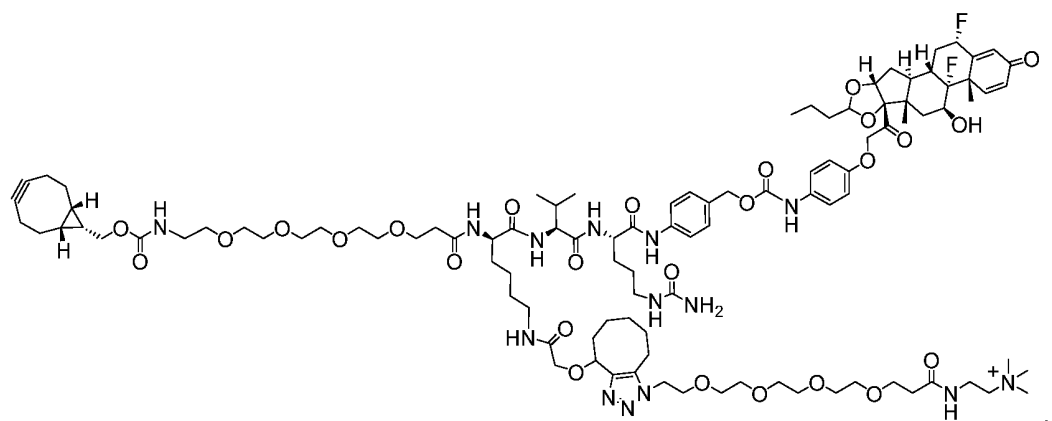
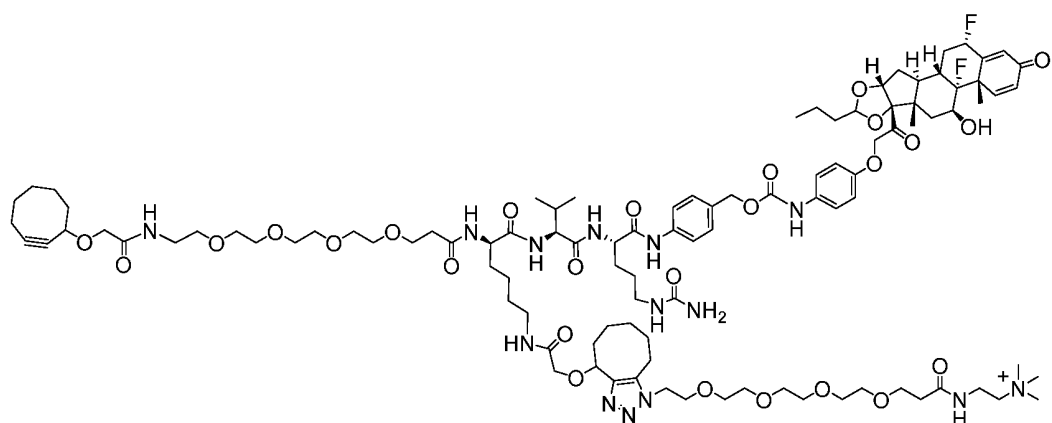
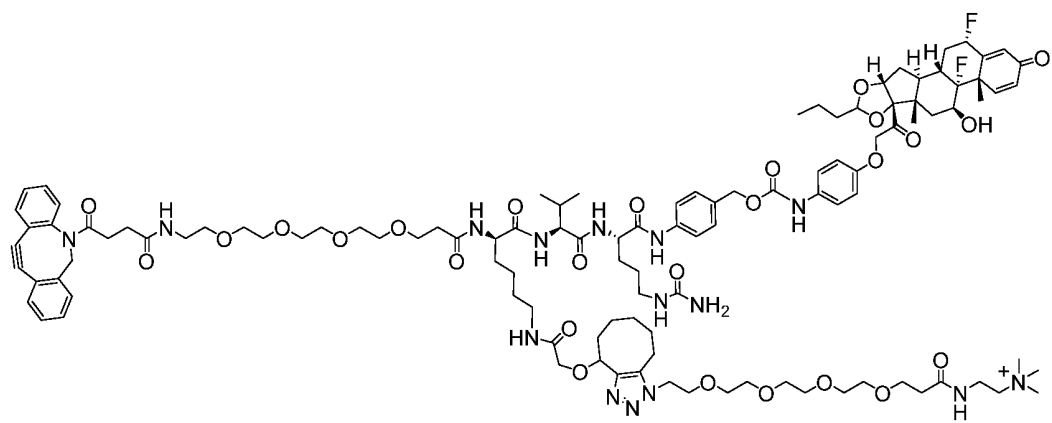
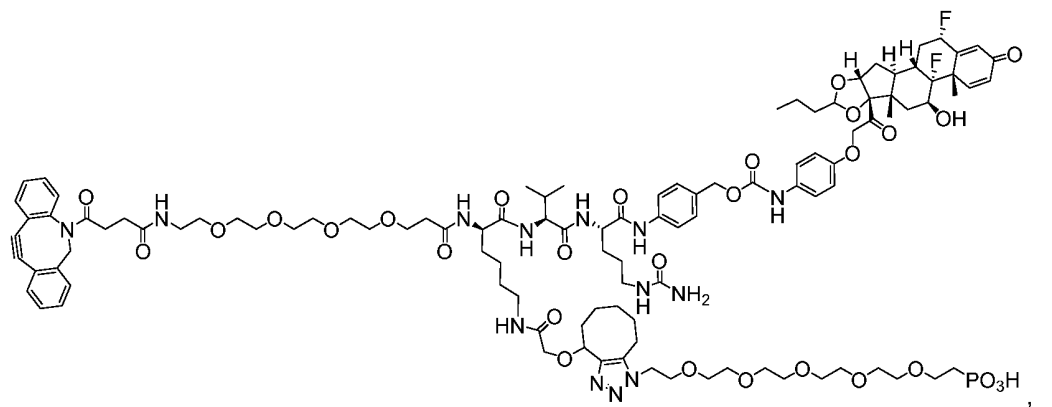




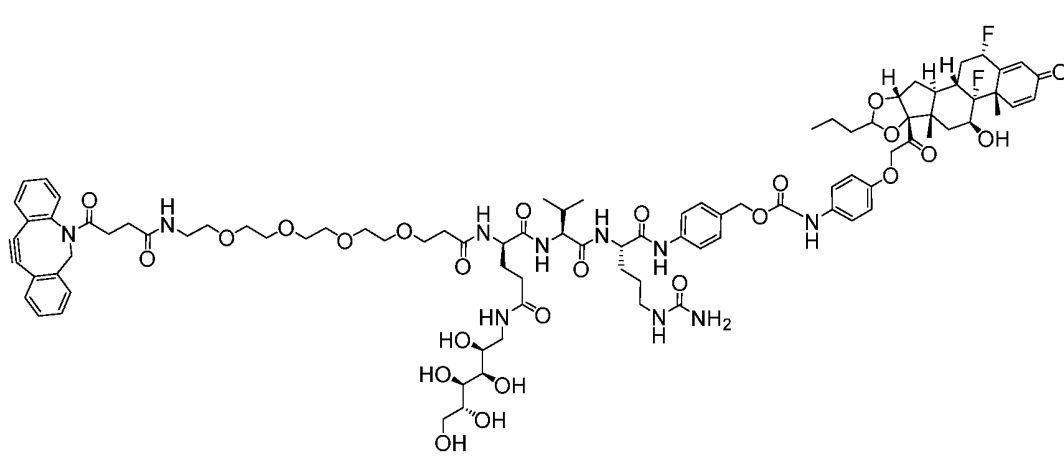
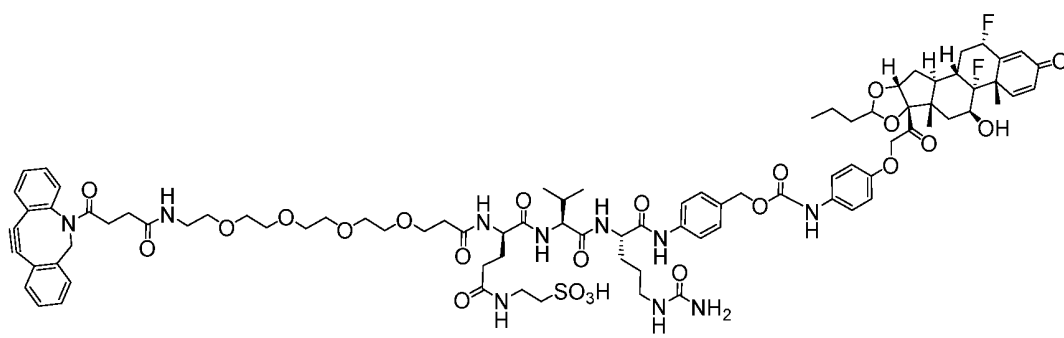
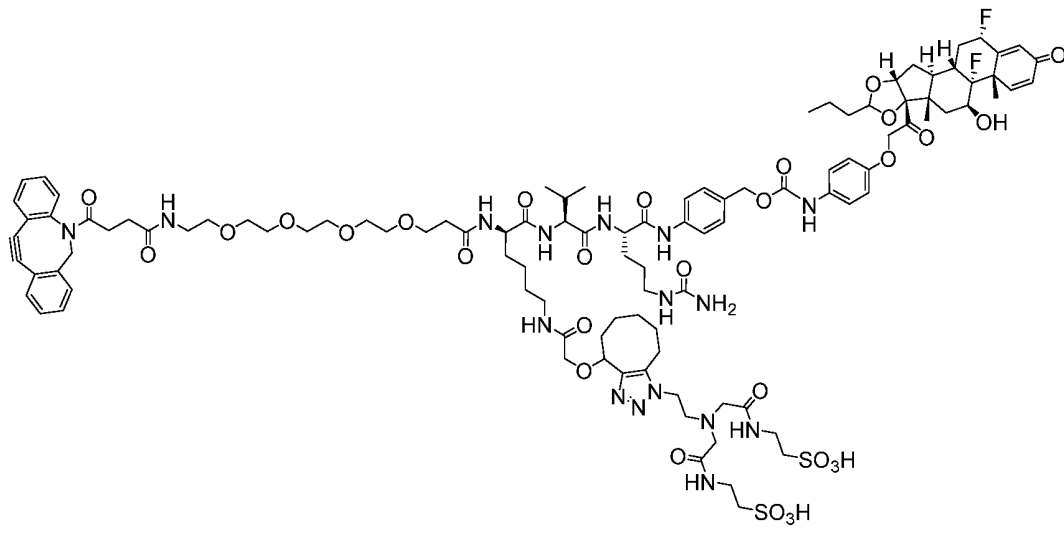


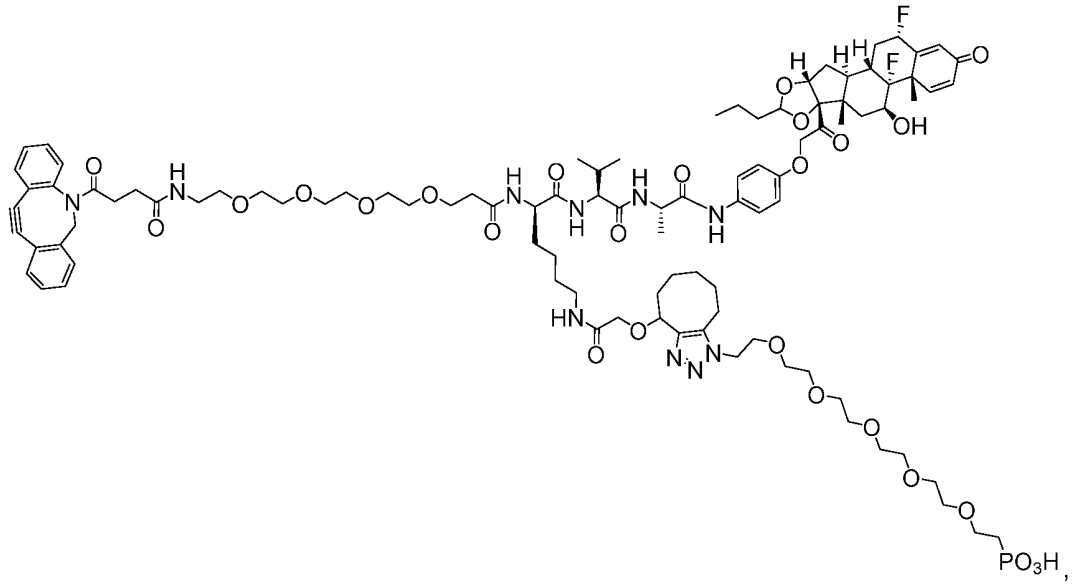
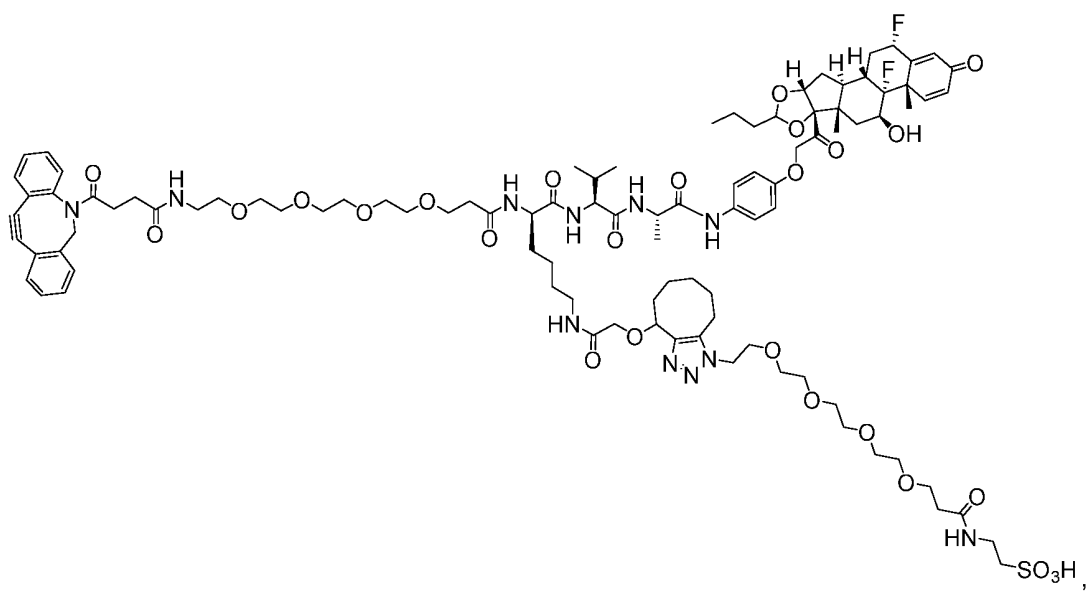
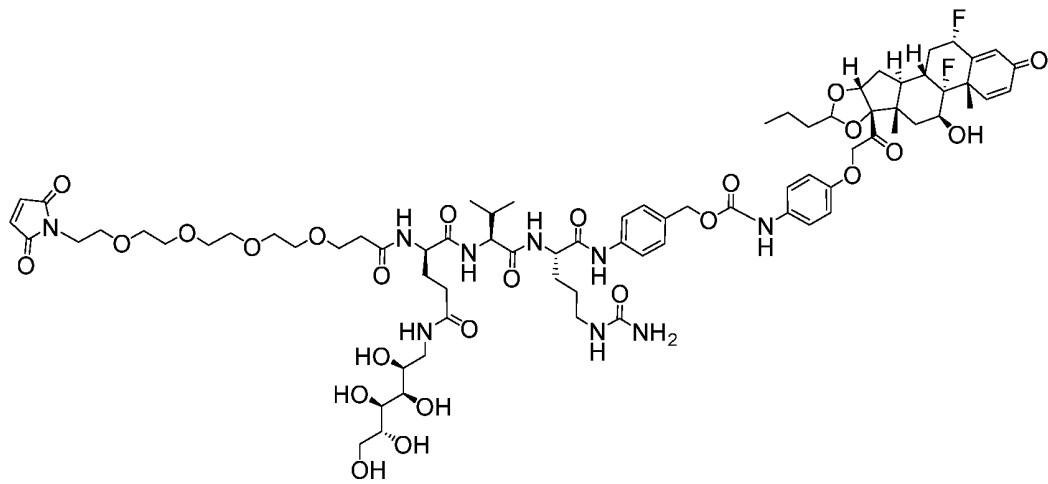


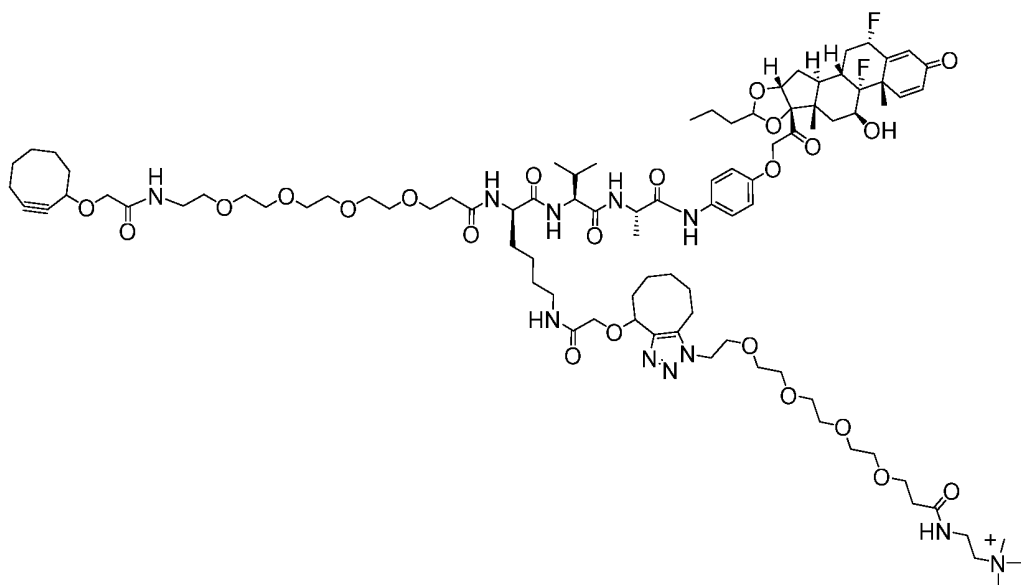
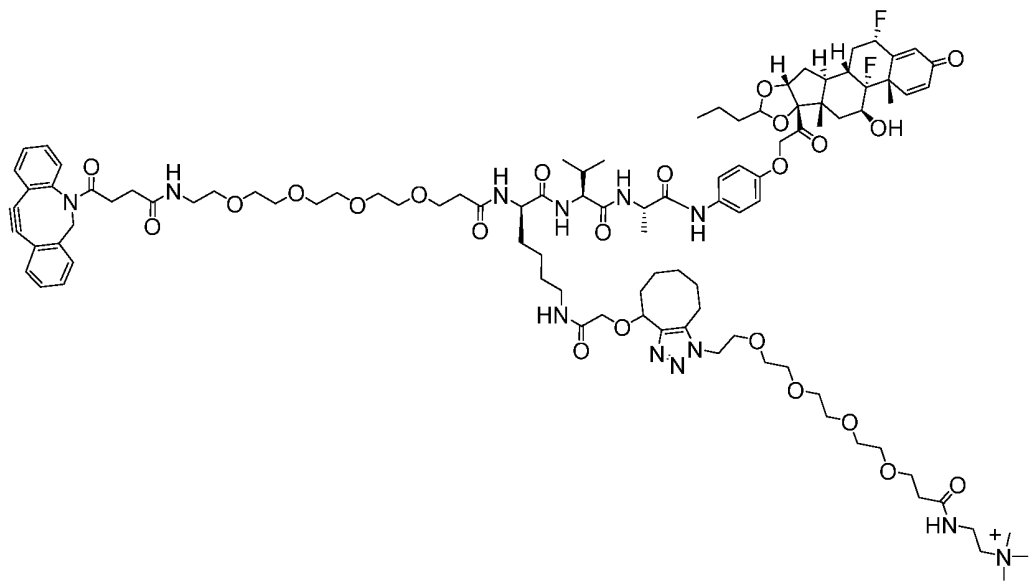


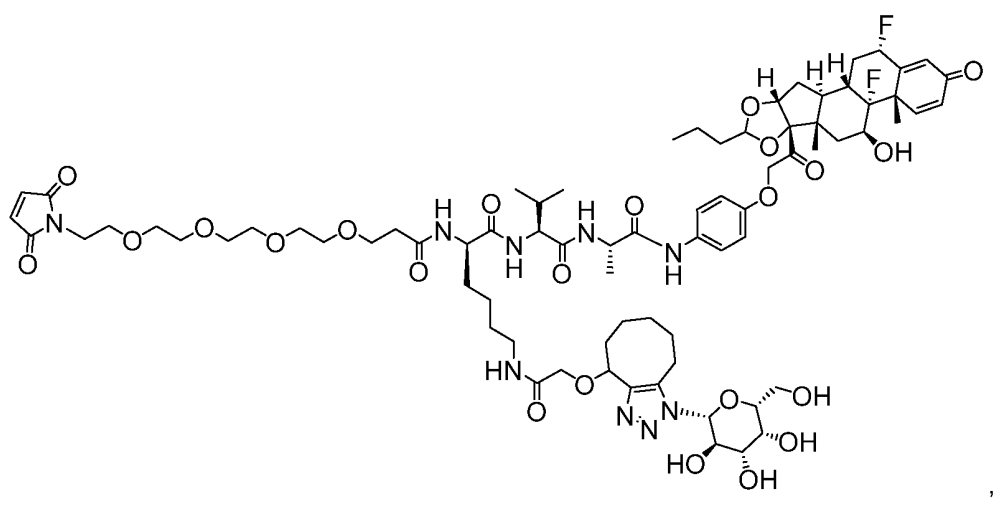
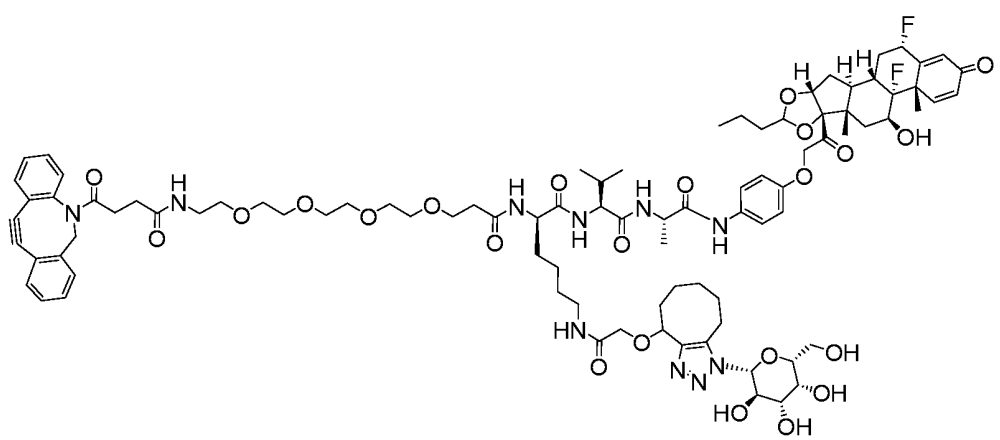
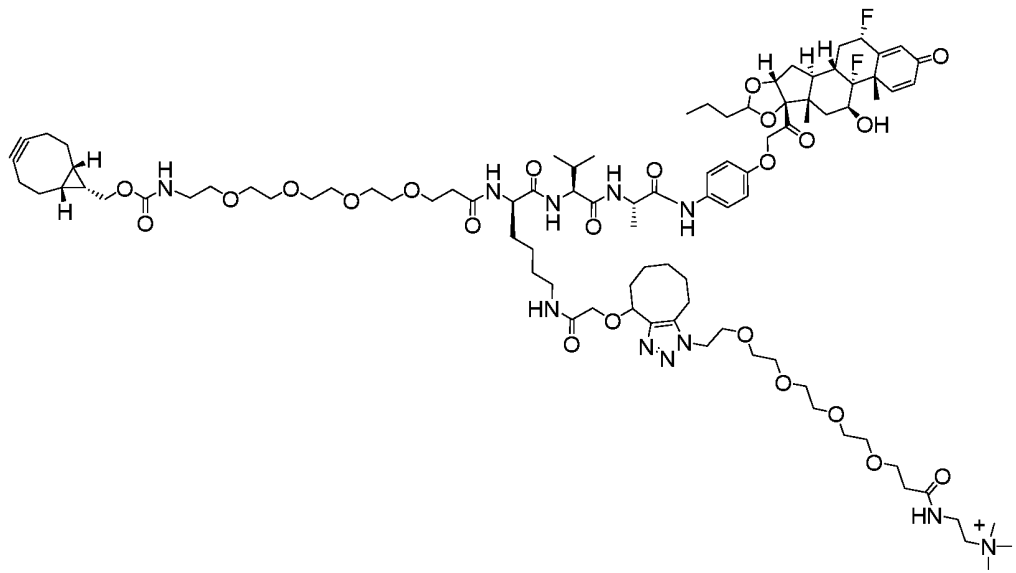


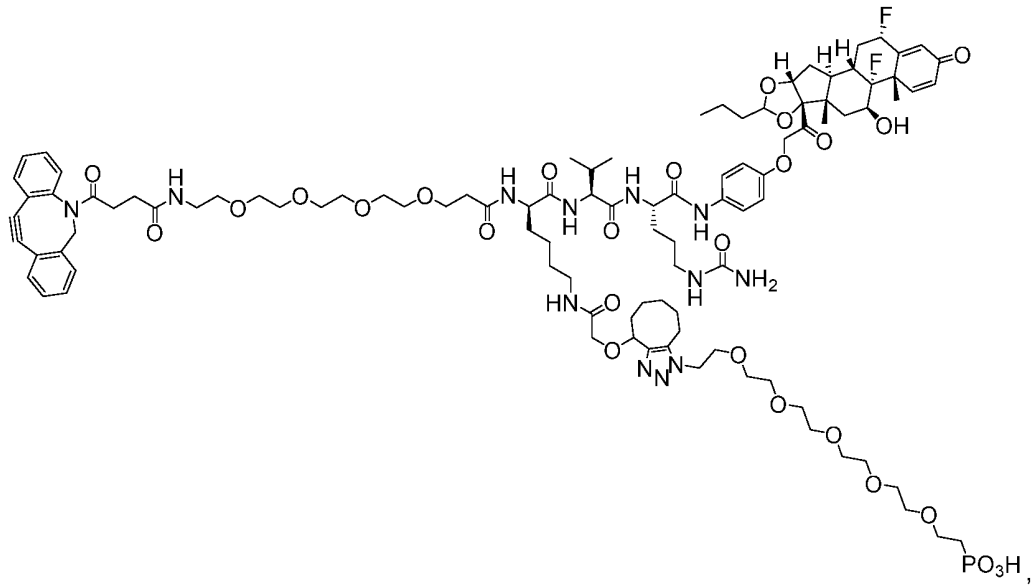
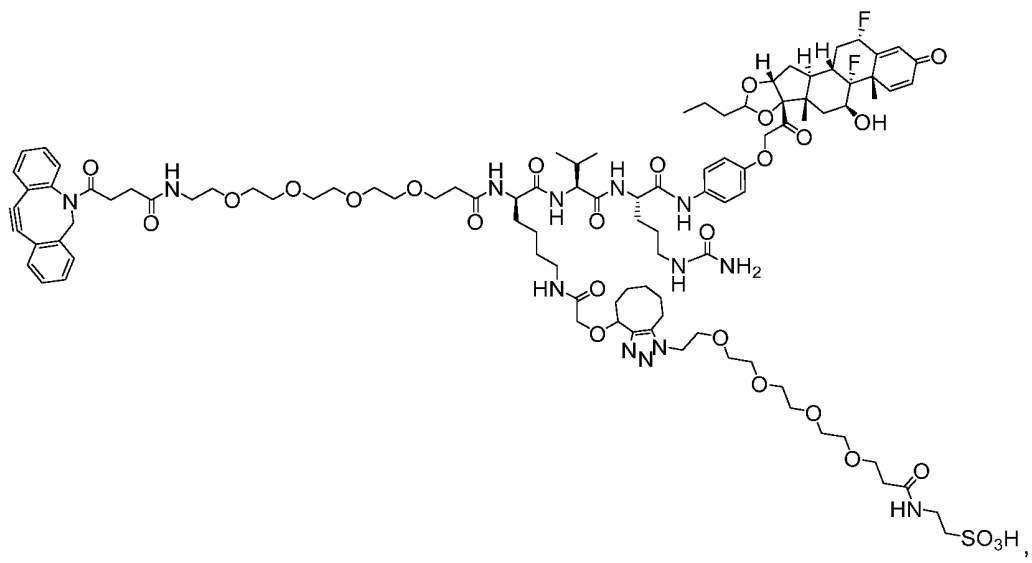
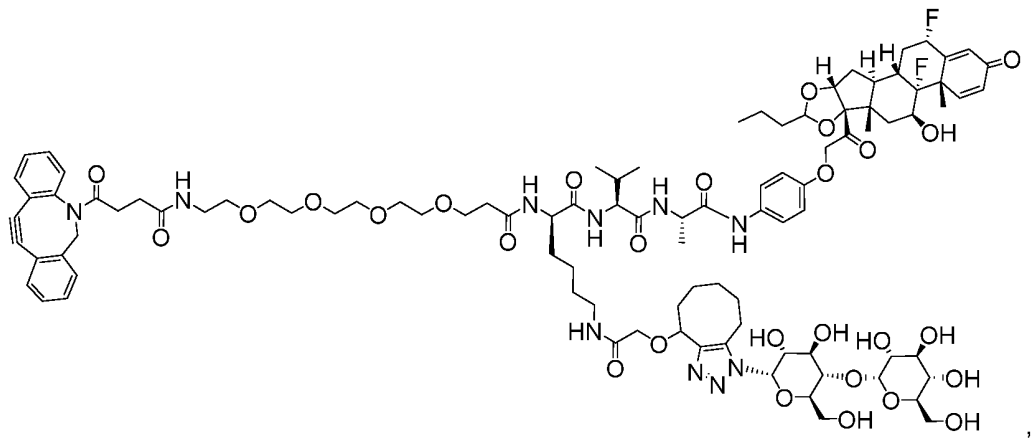




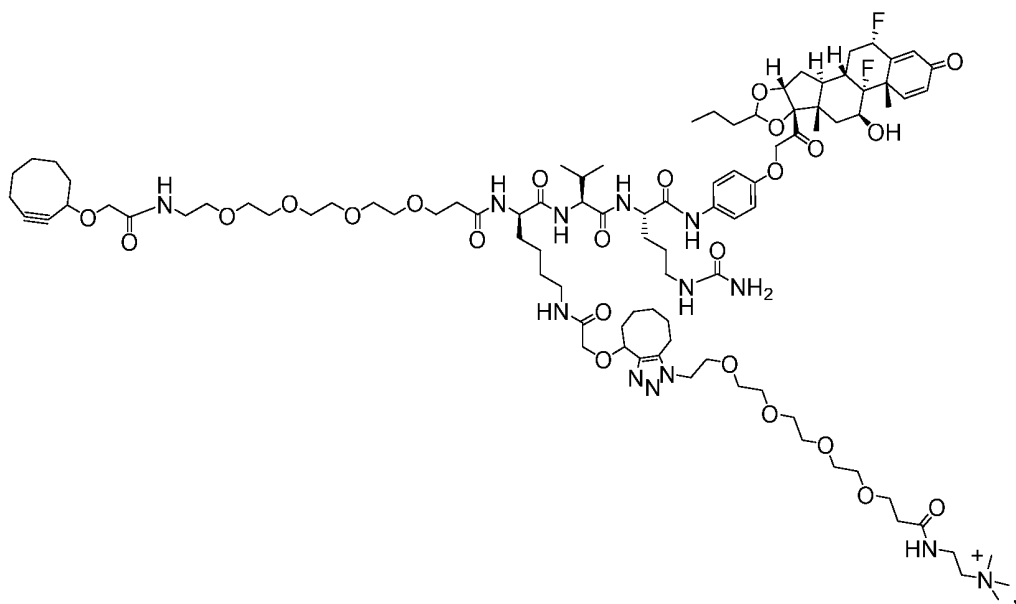
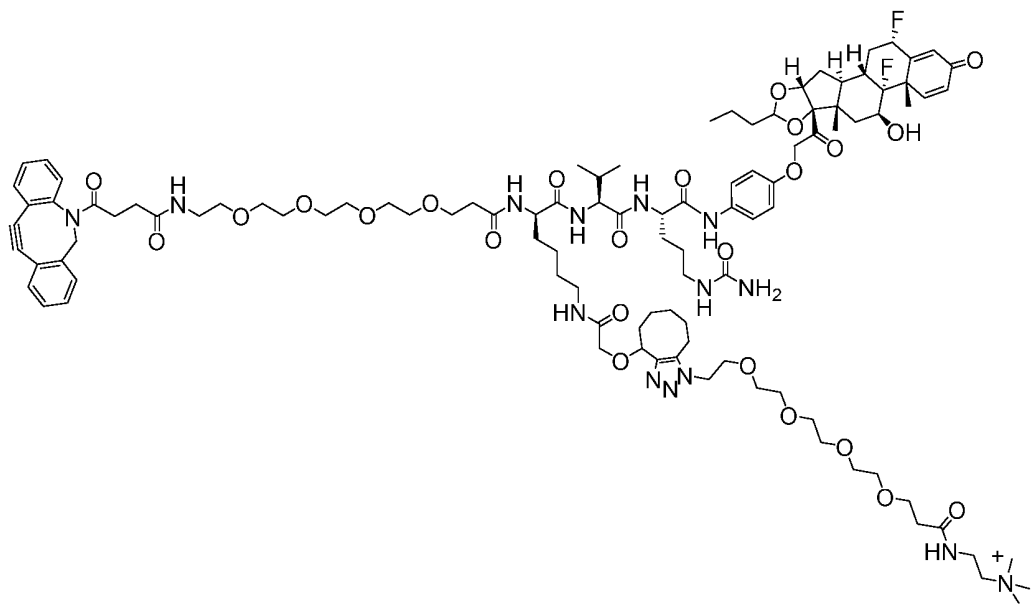


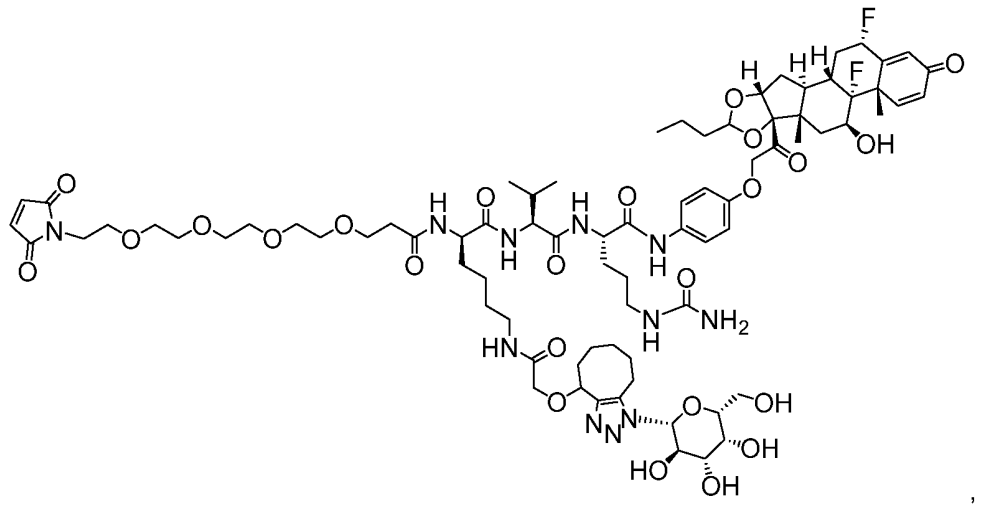
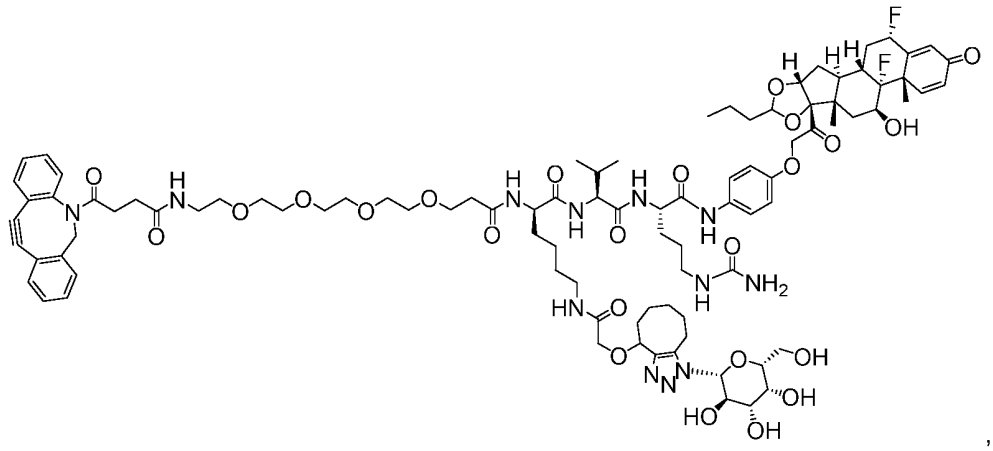
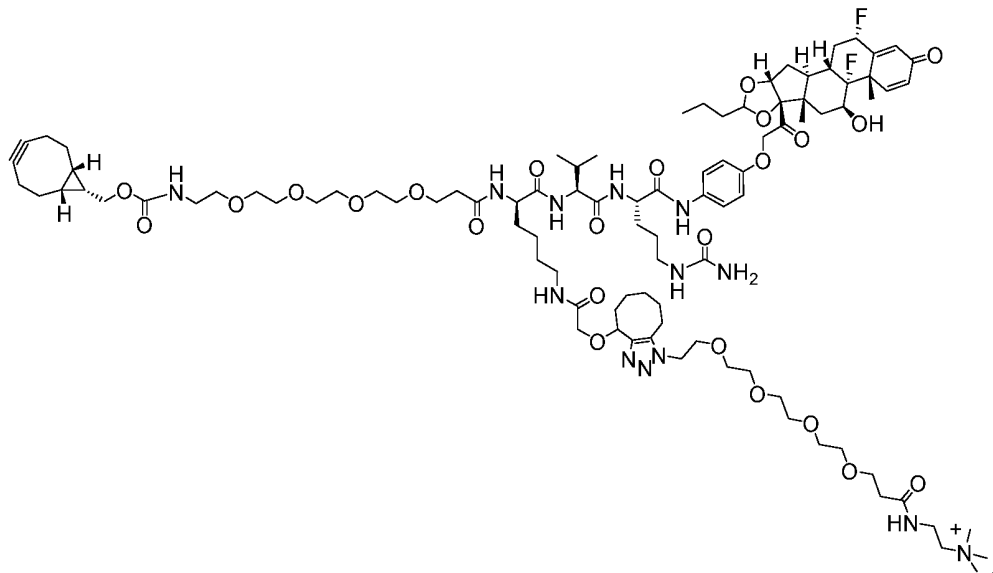


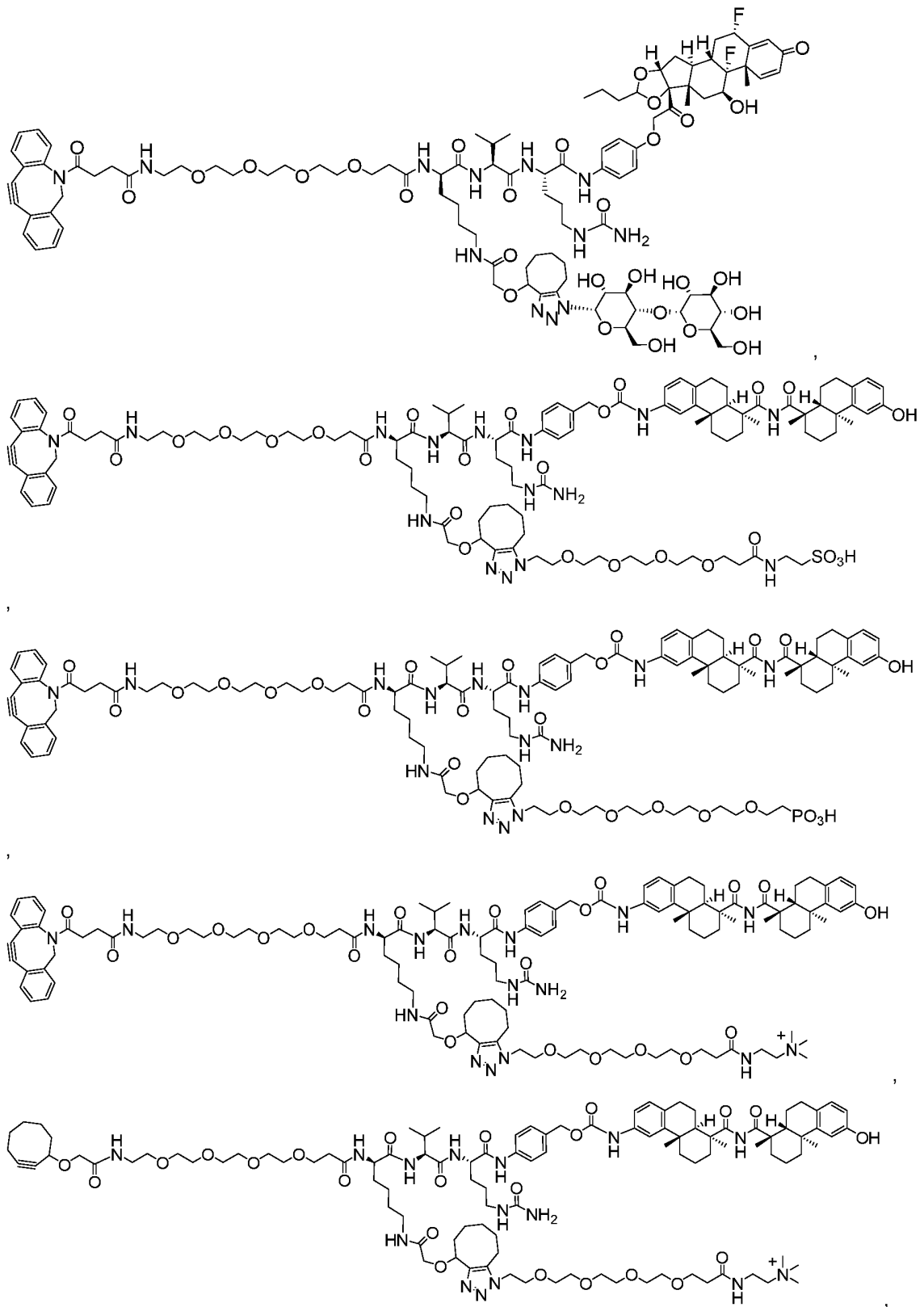


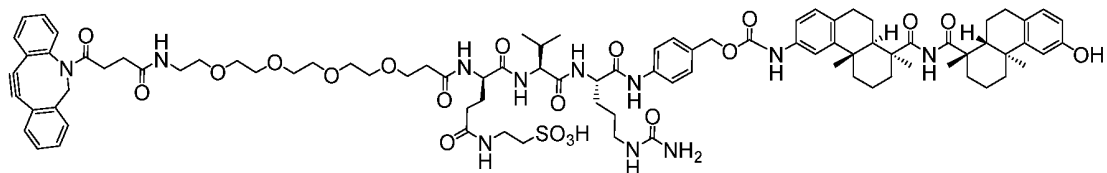
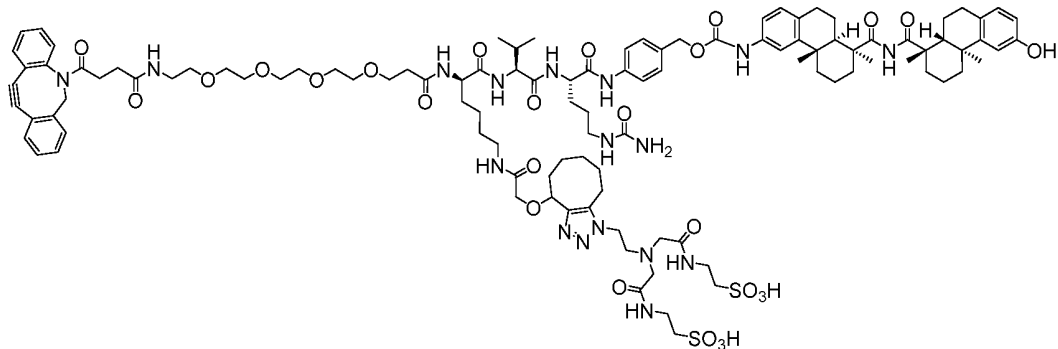
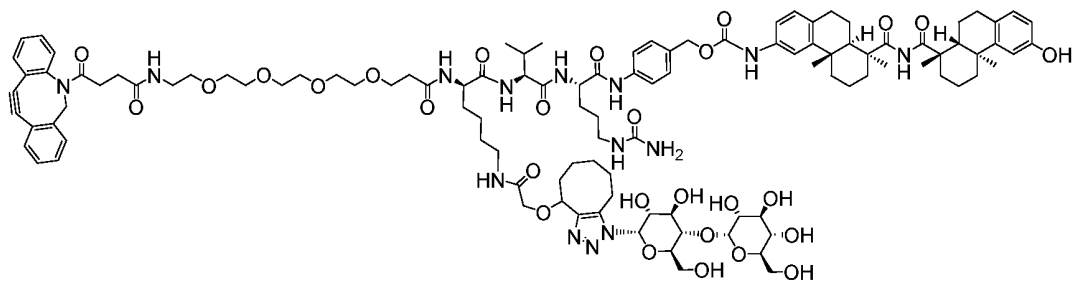
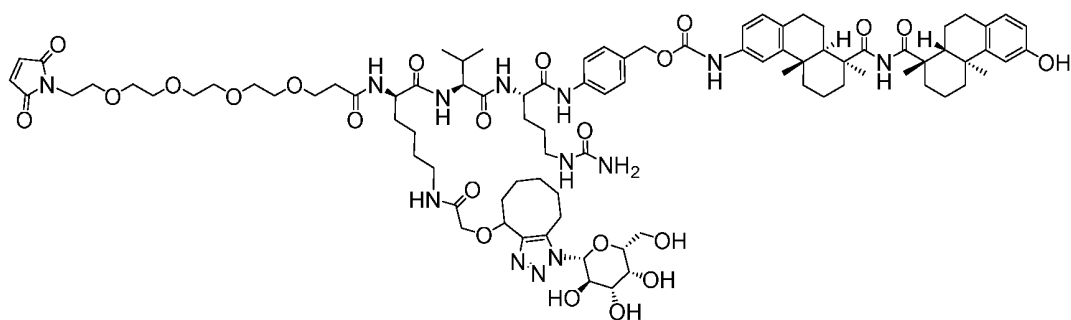
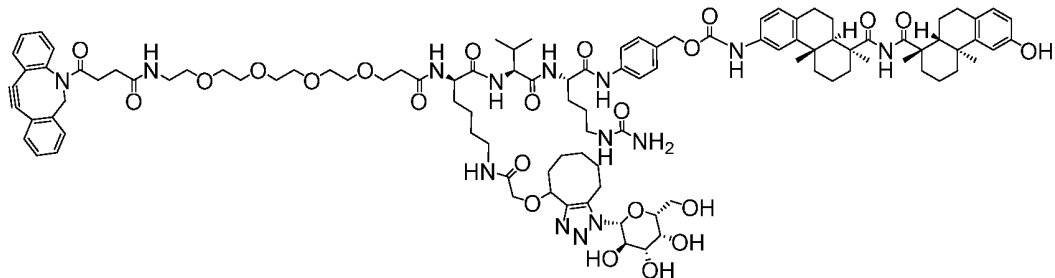
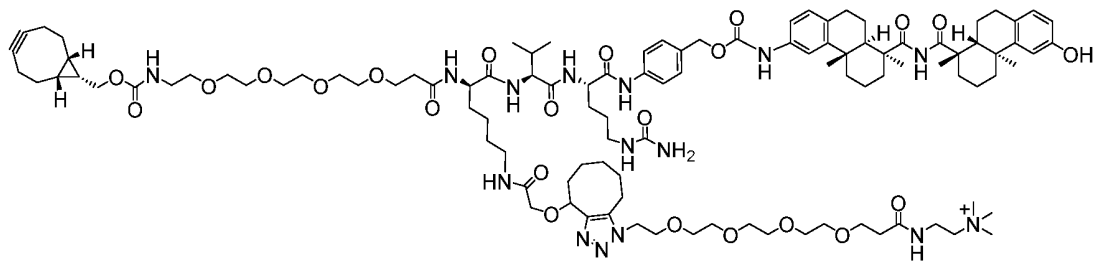


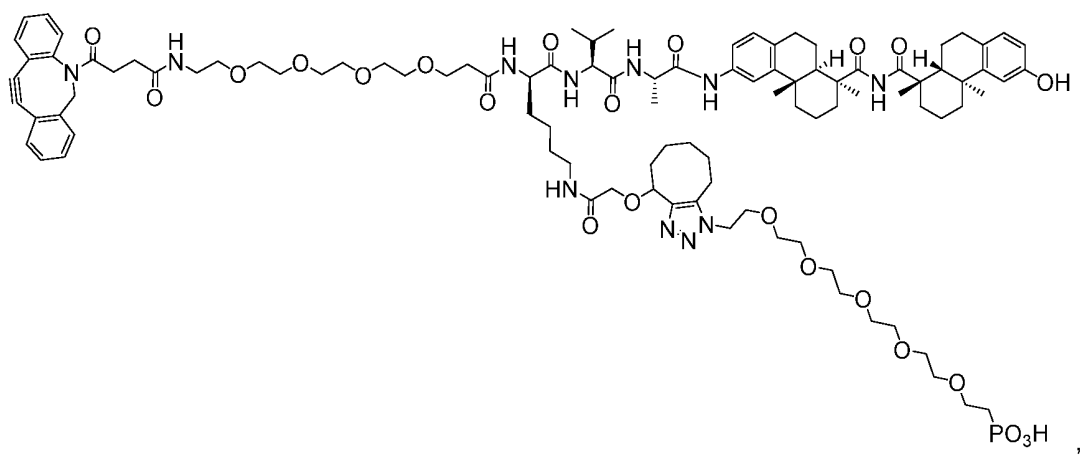
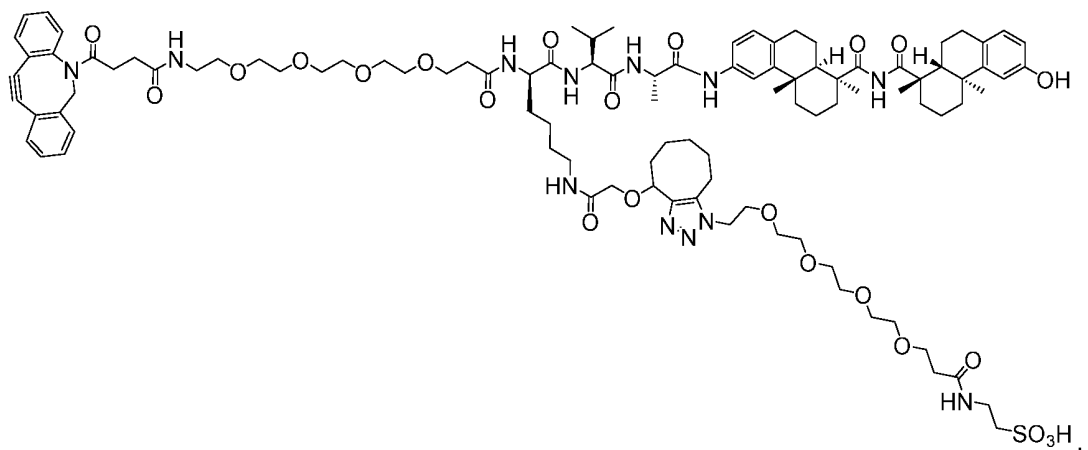
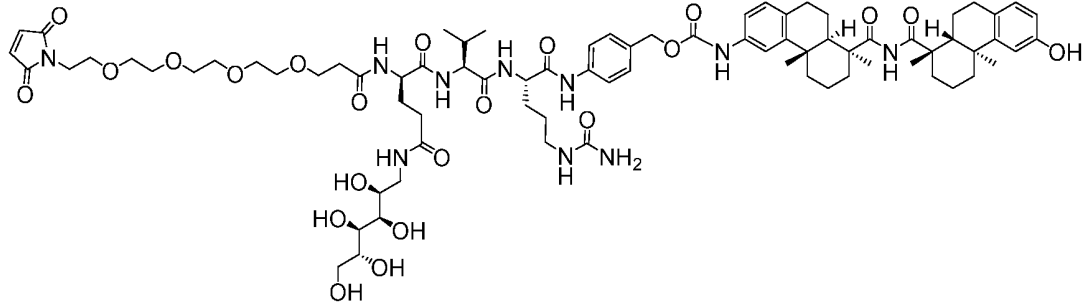
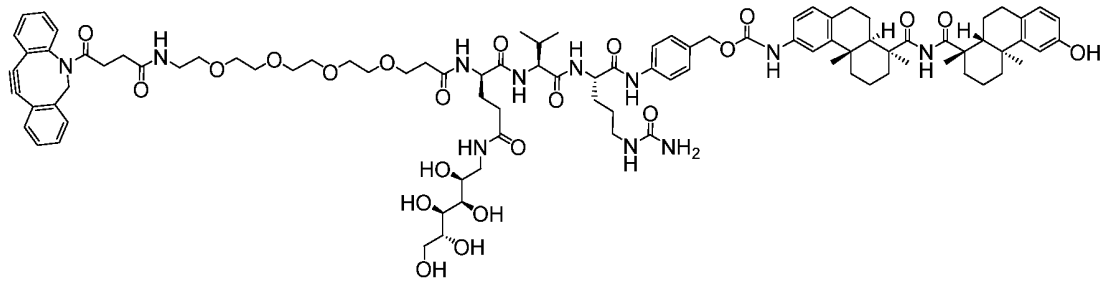


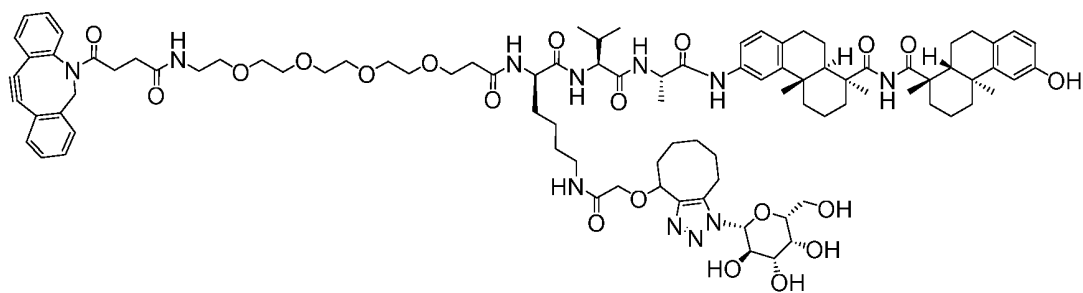
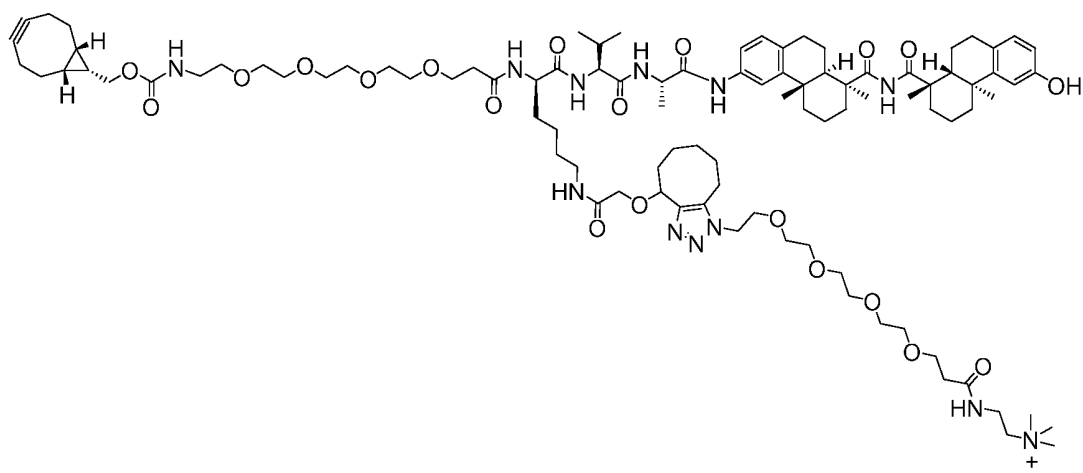
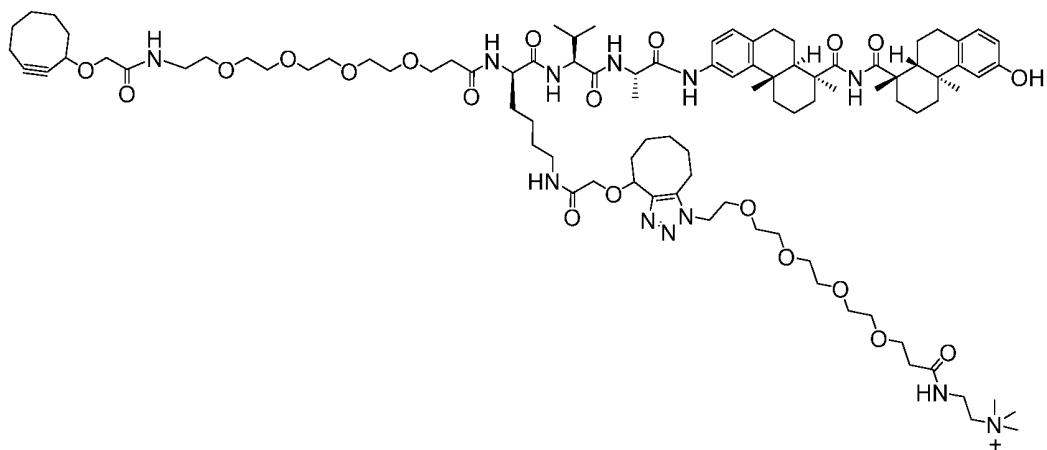
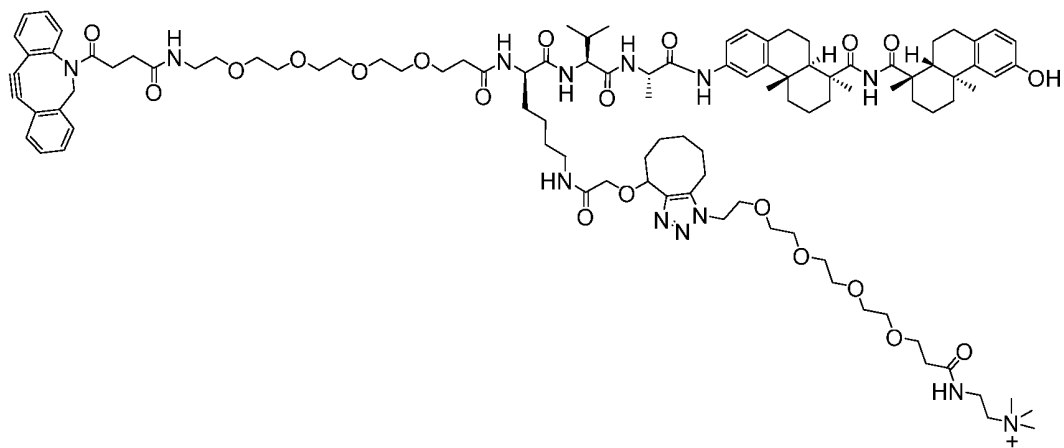


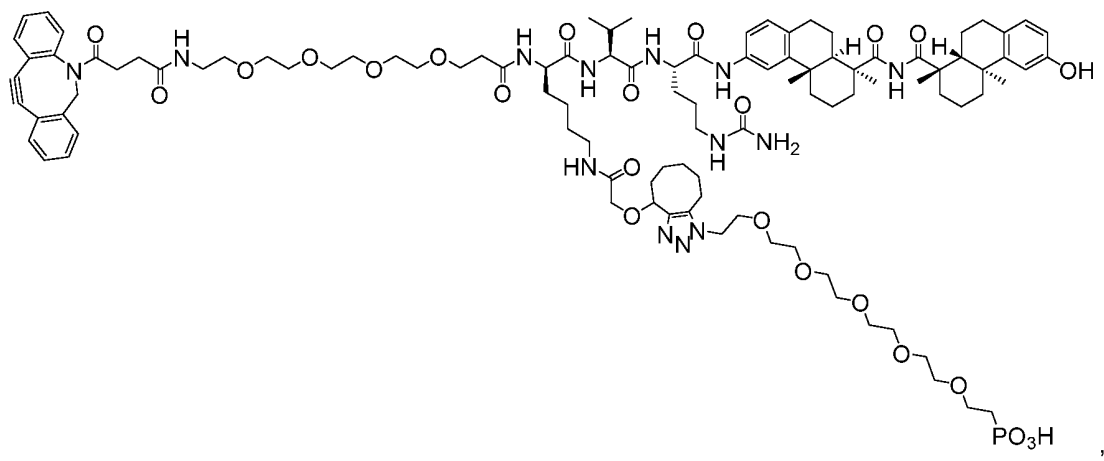
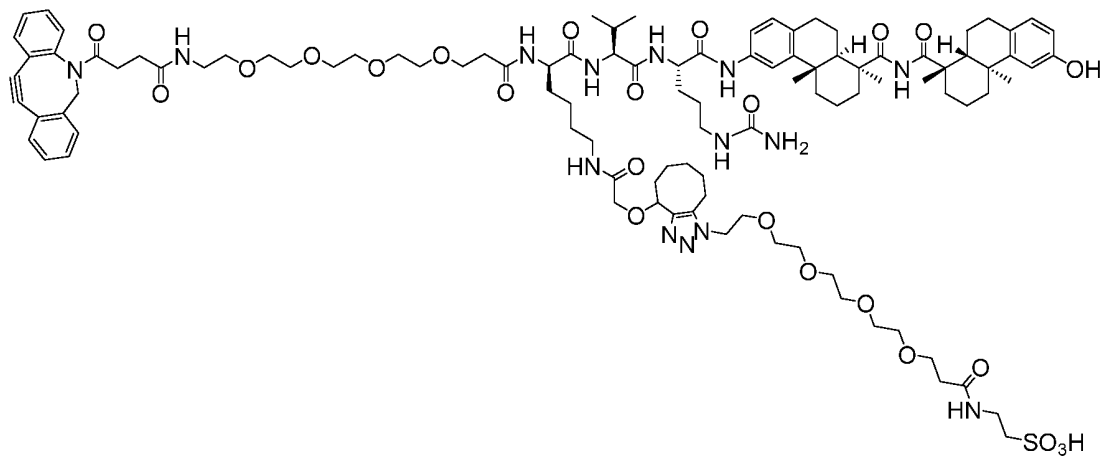
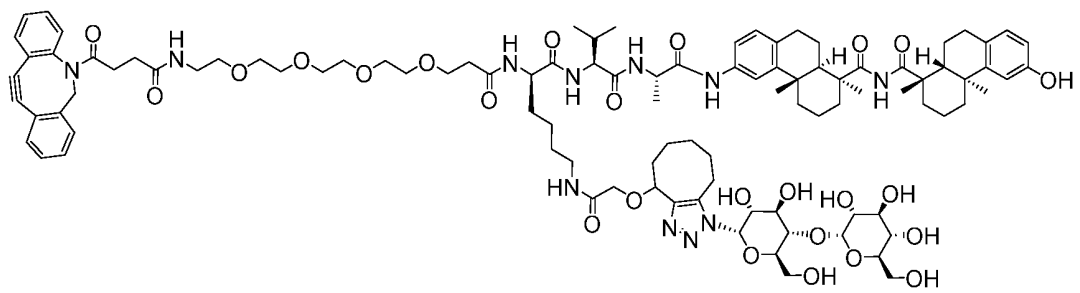
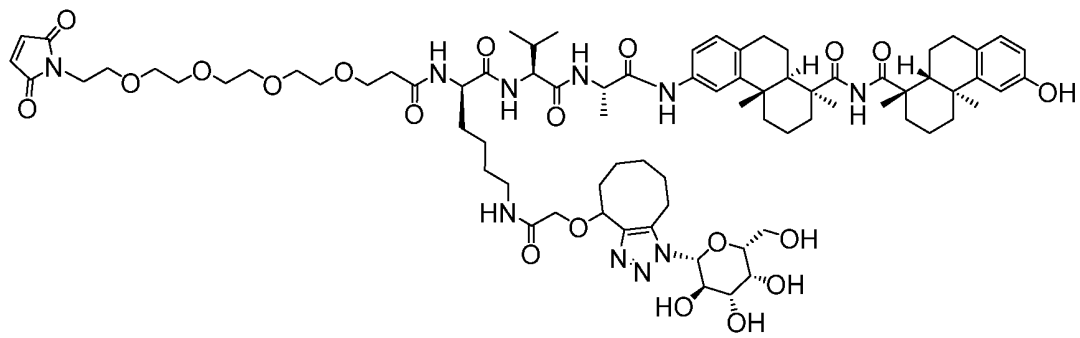


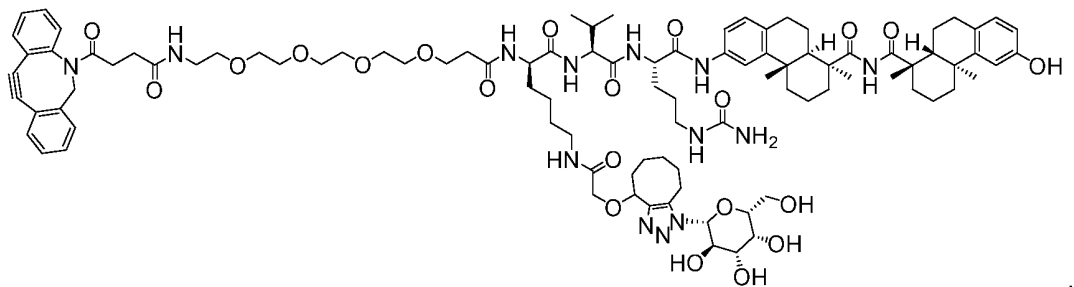
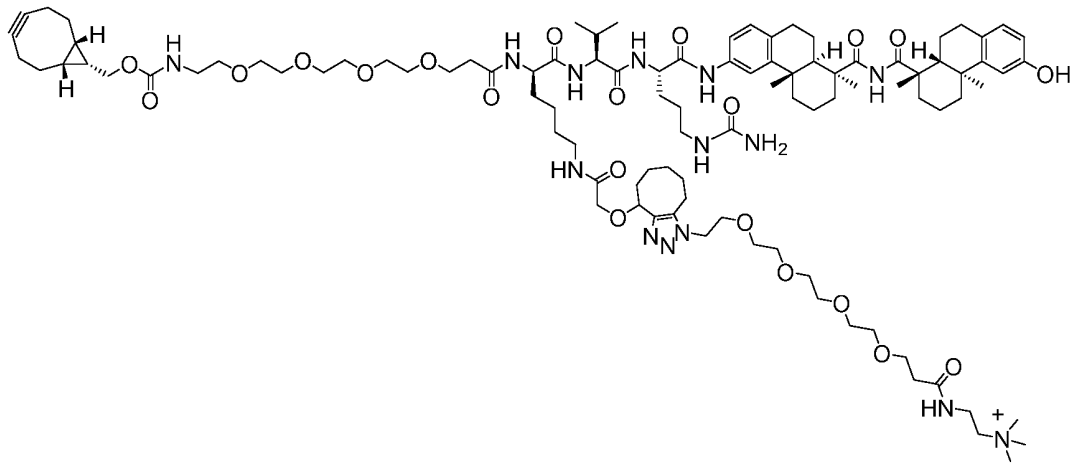
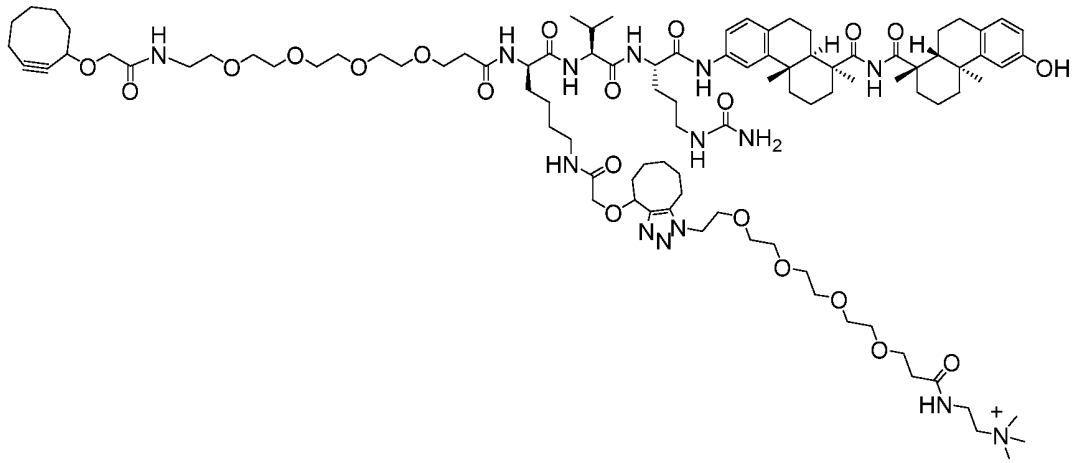
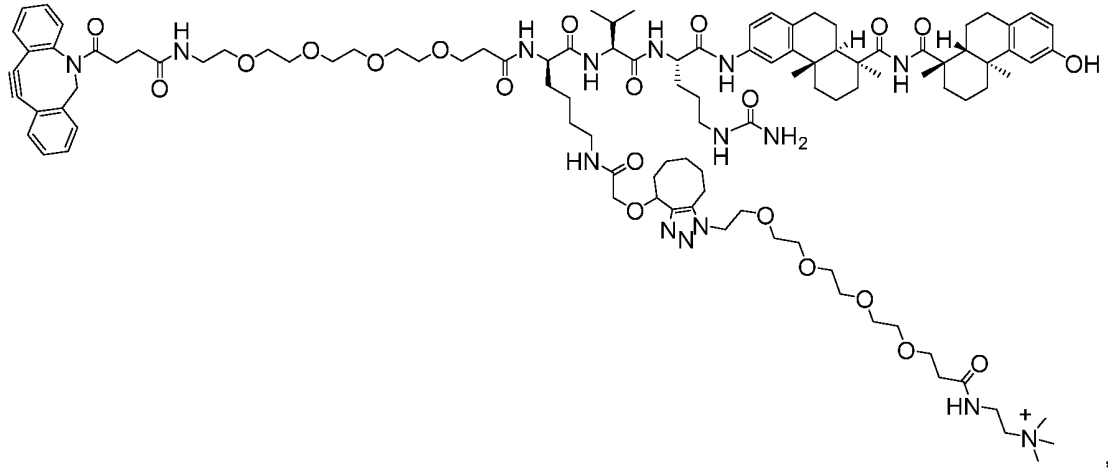




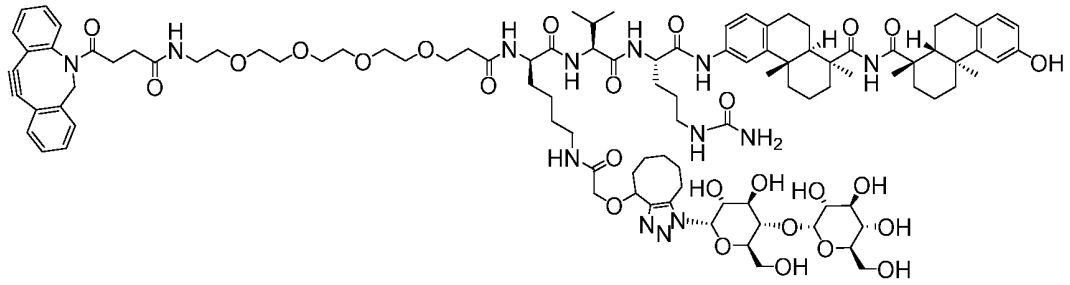
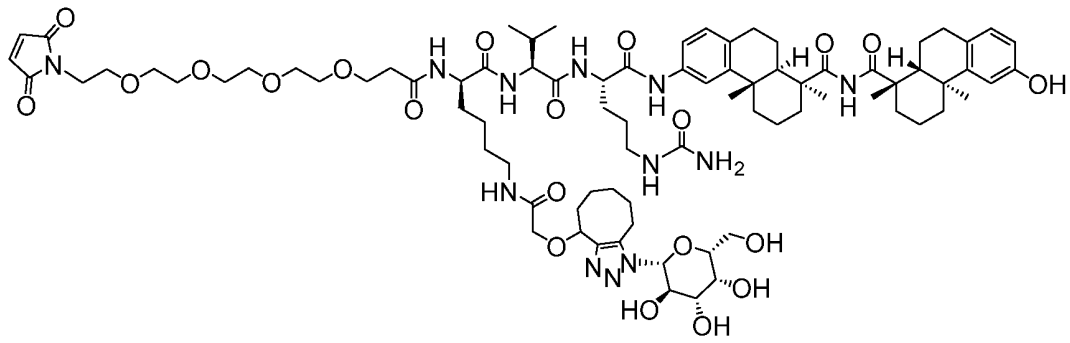




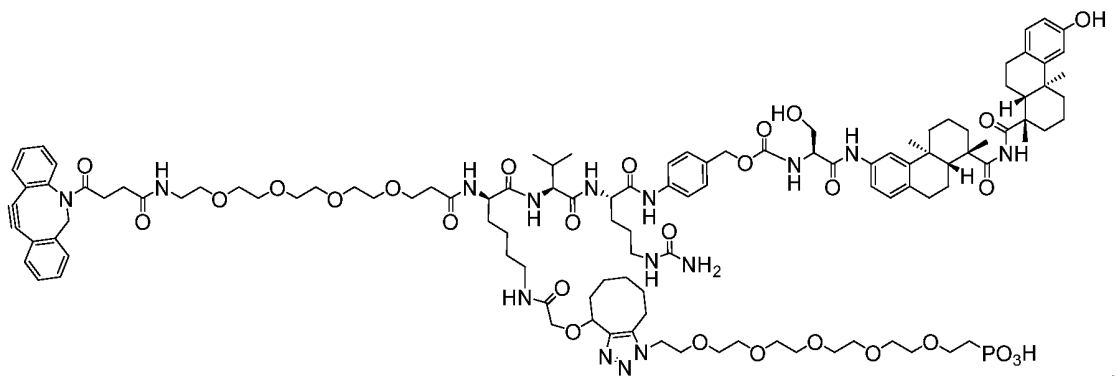
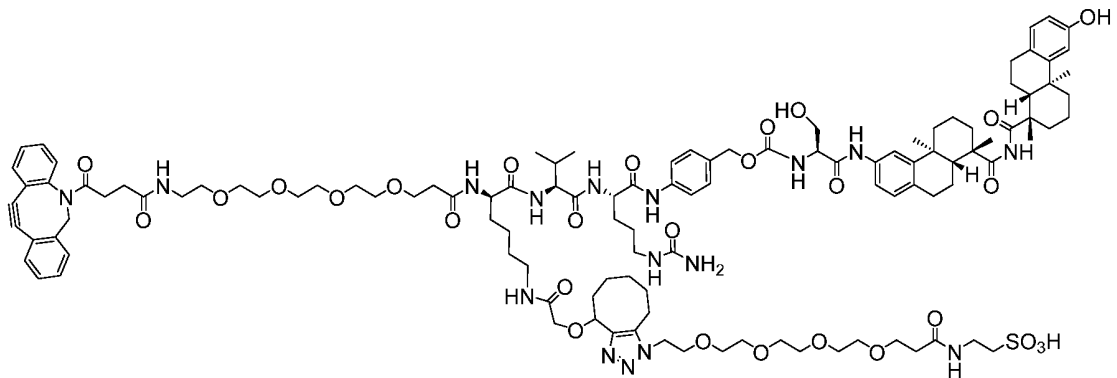


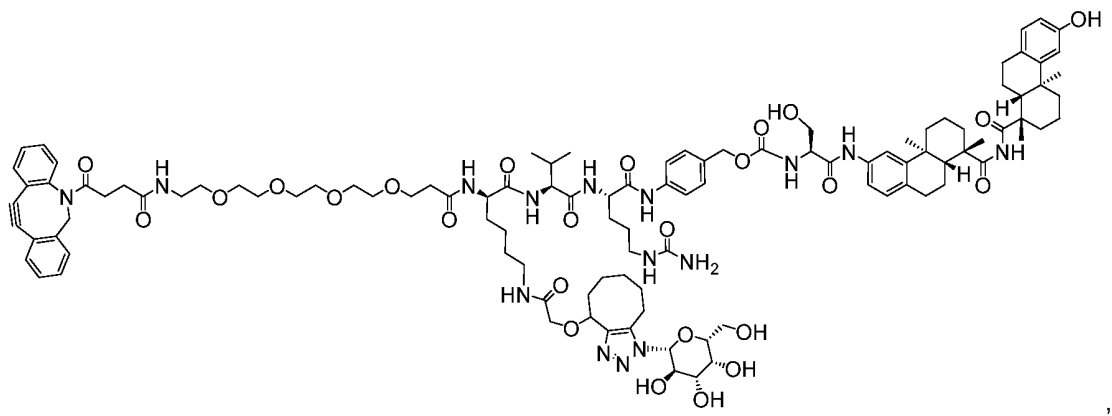
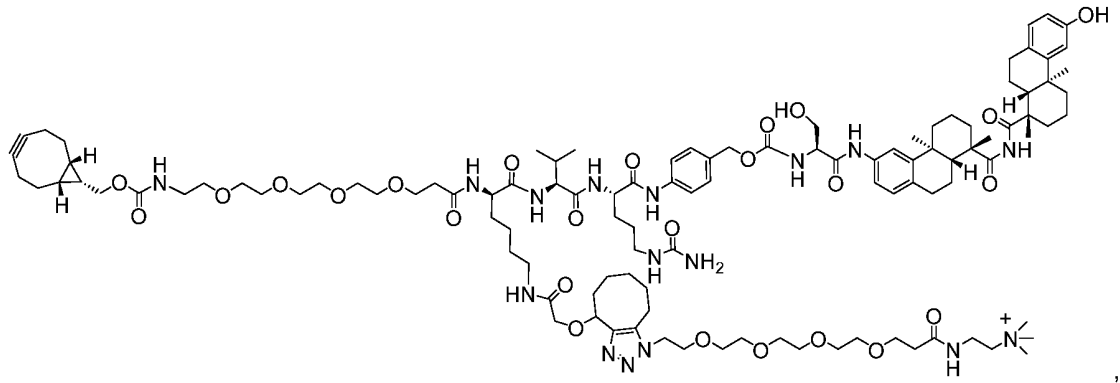
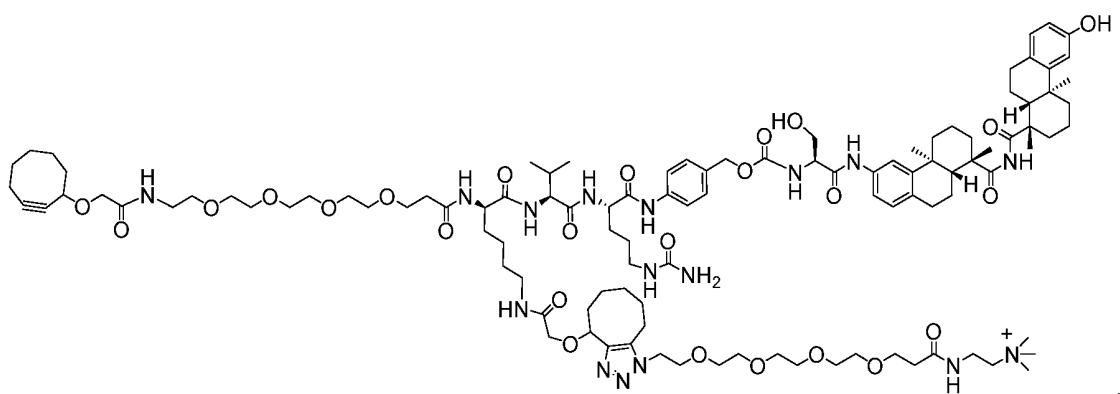
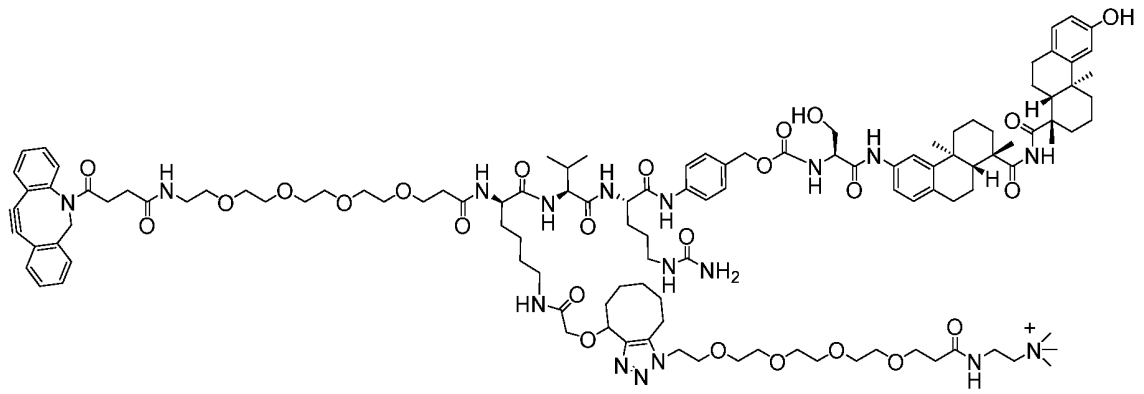


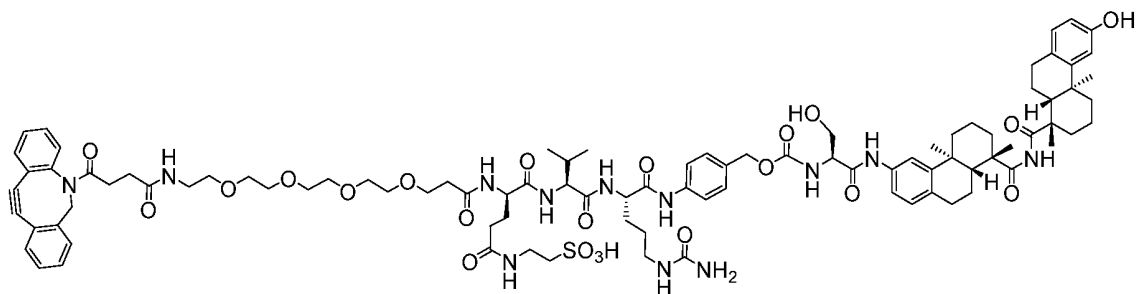
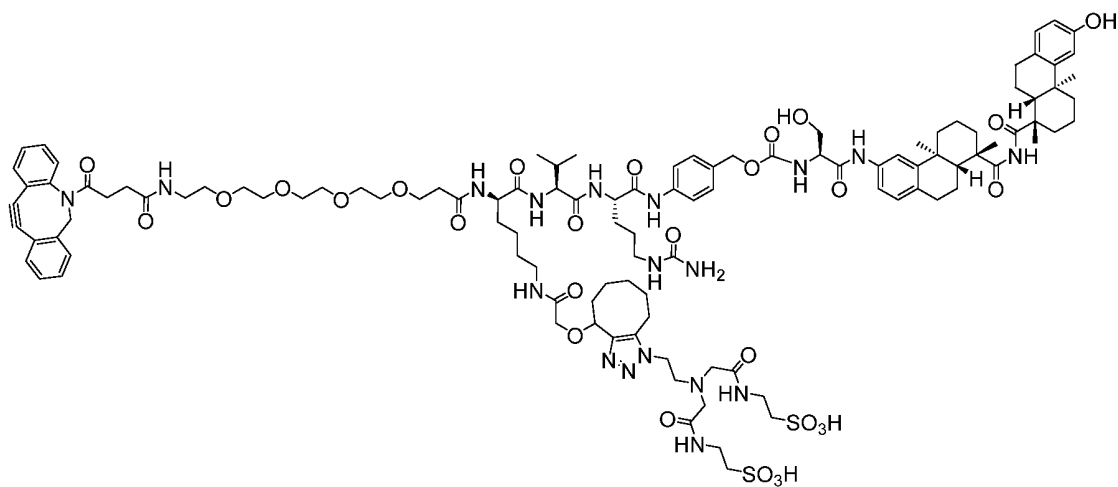
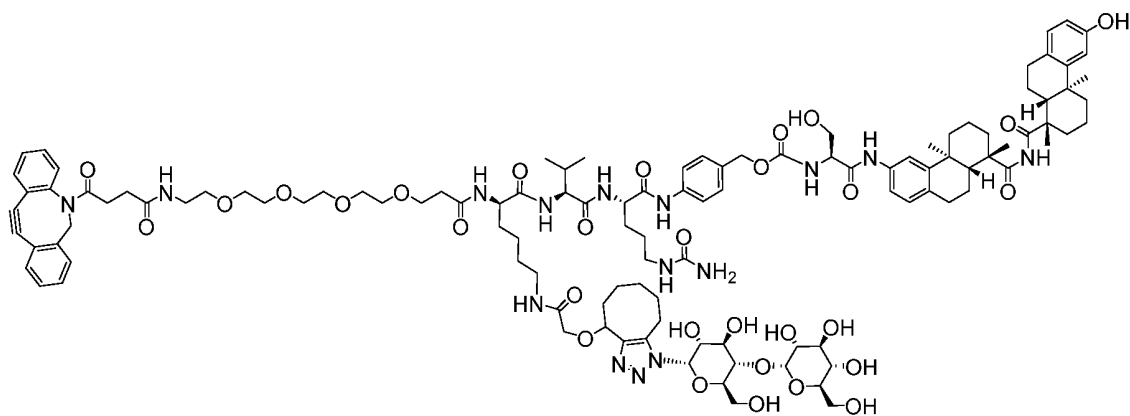
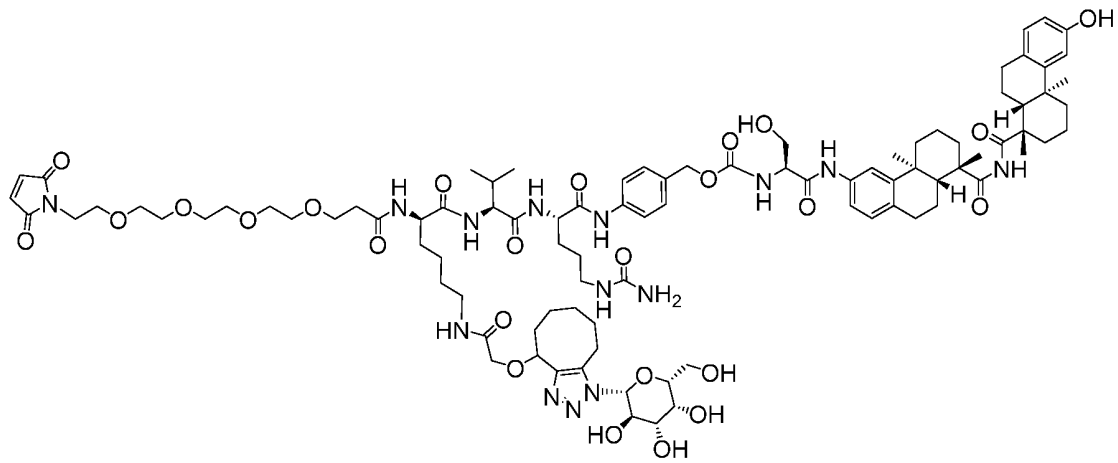


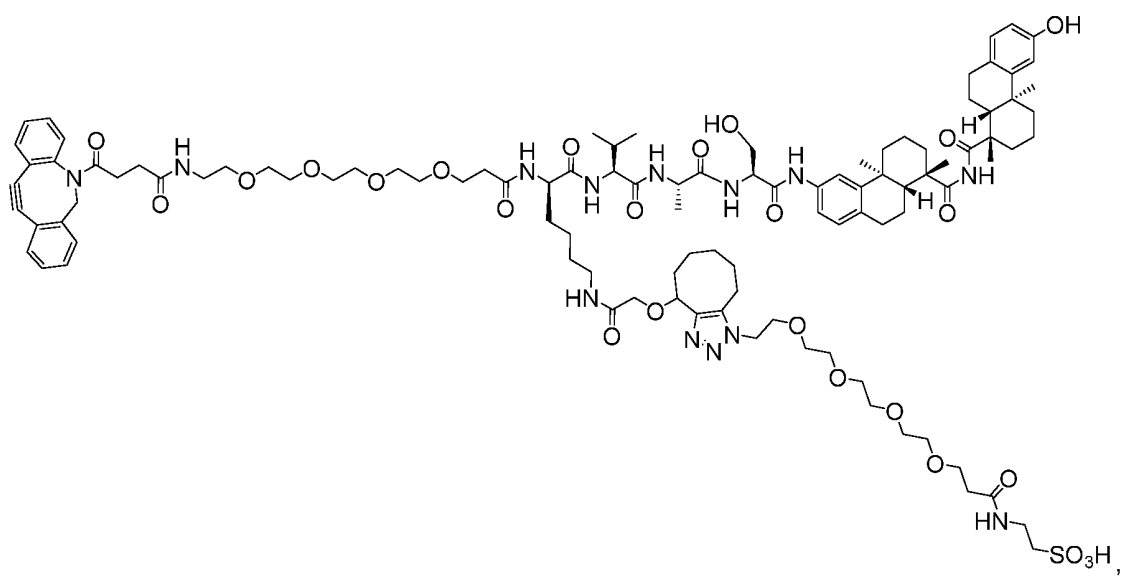
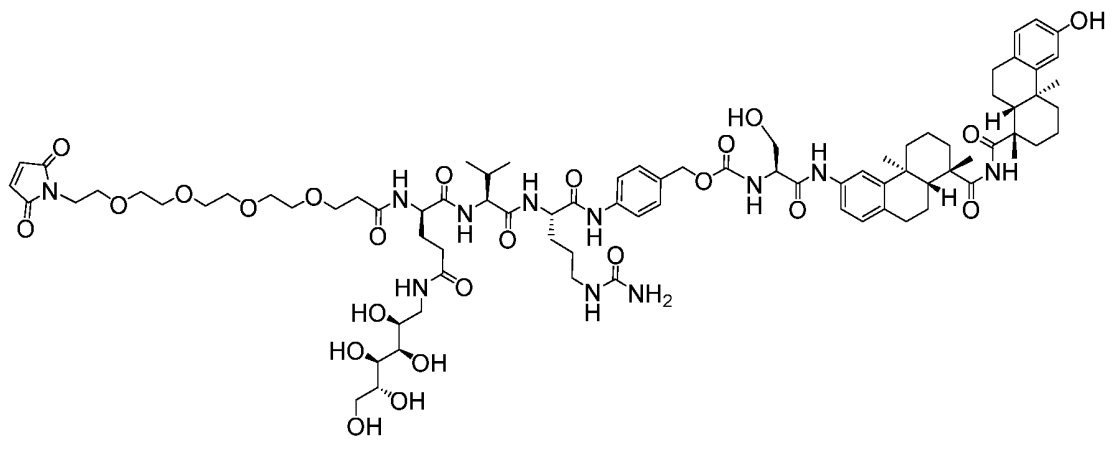
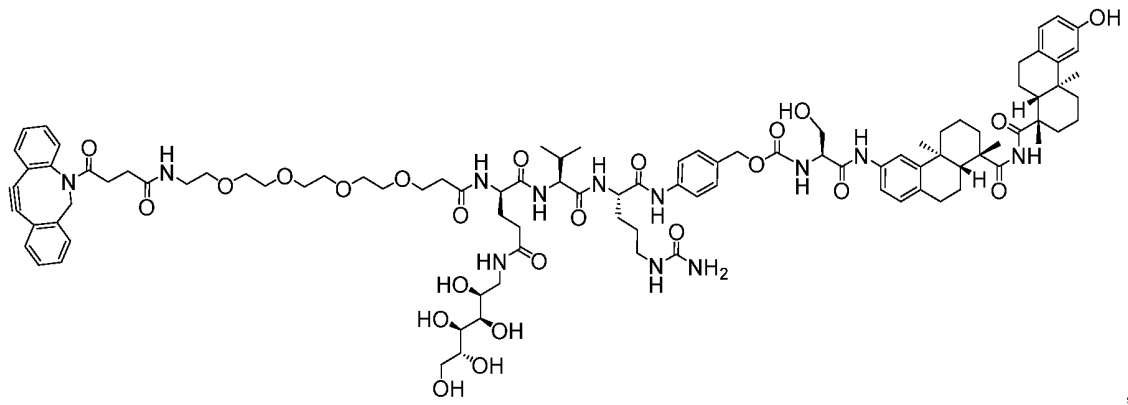


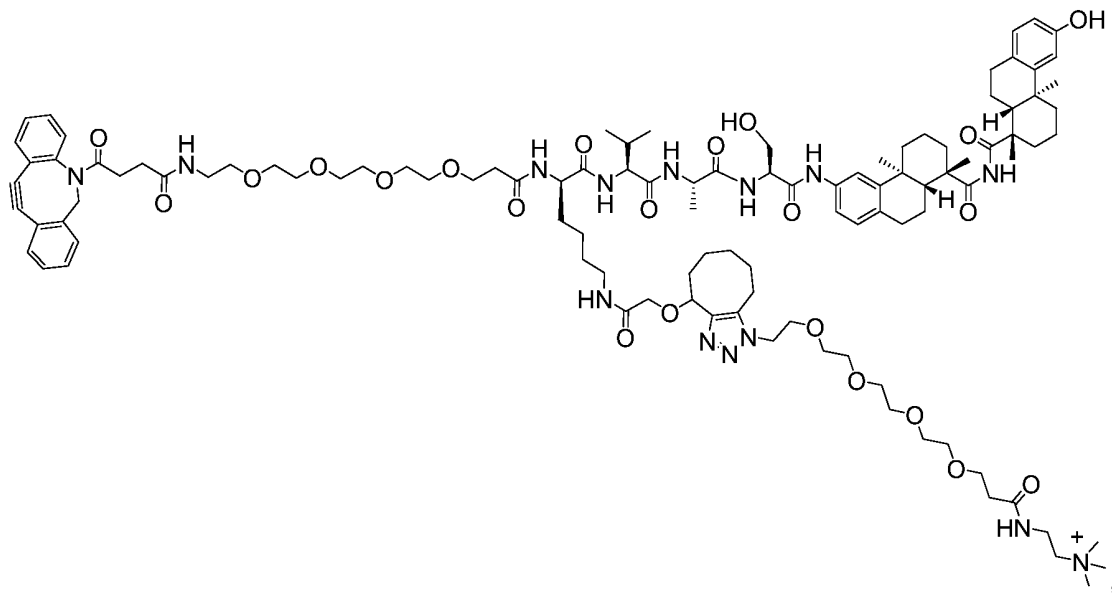
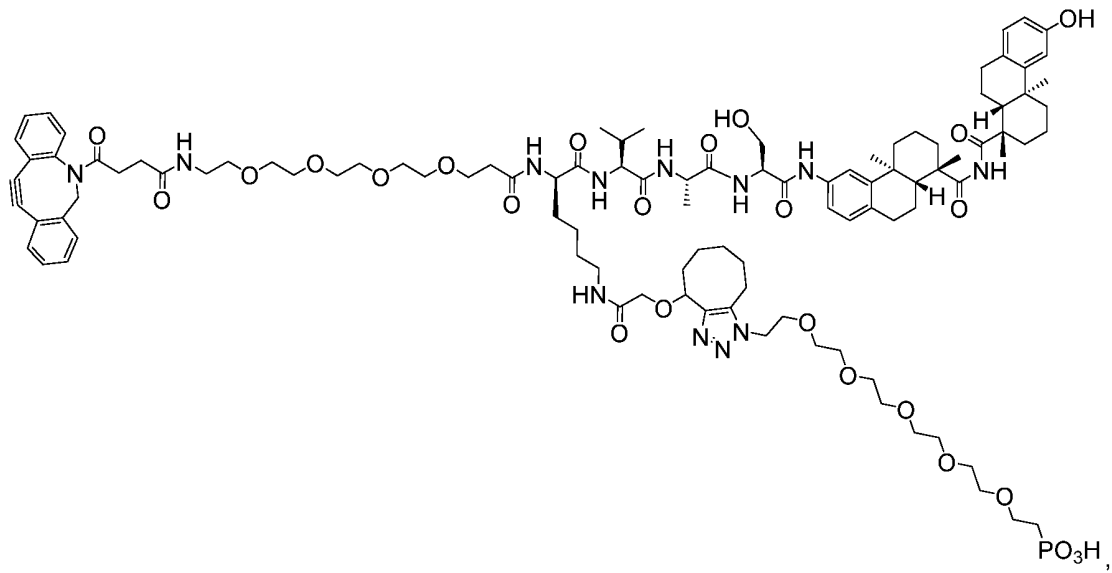
n,

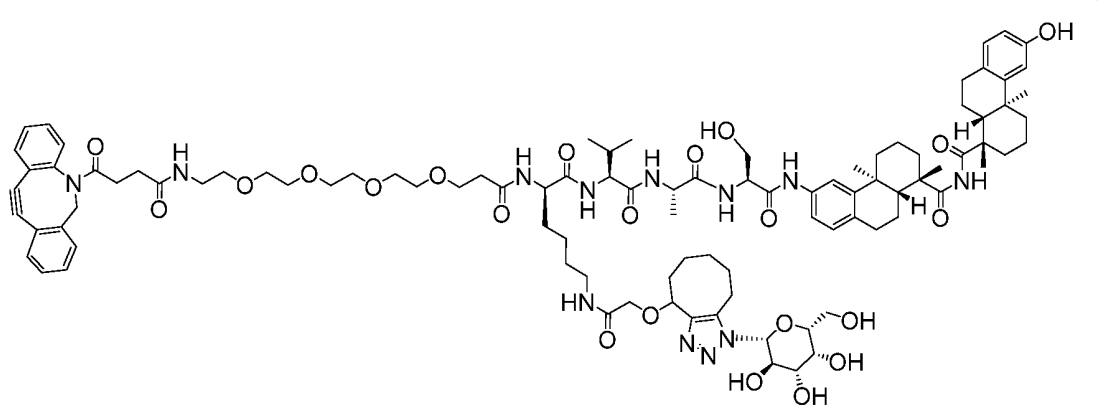
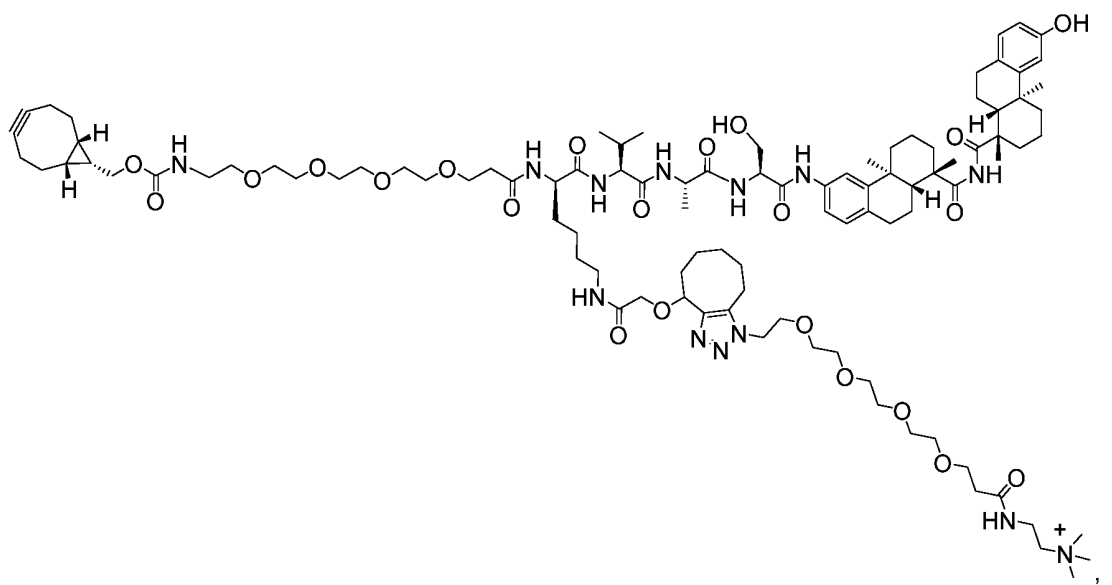
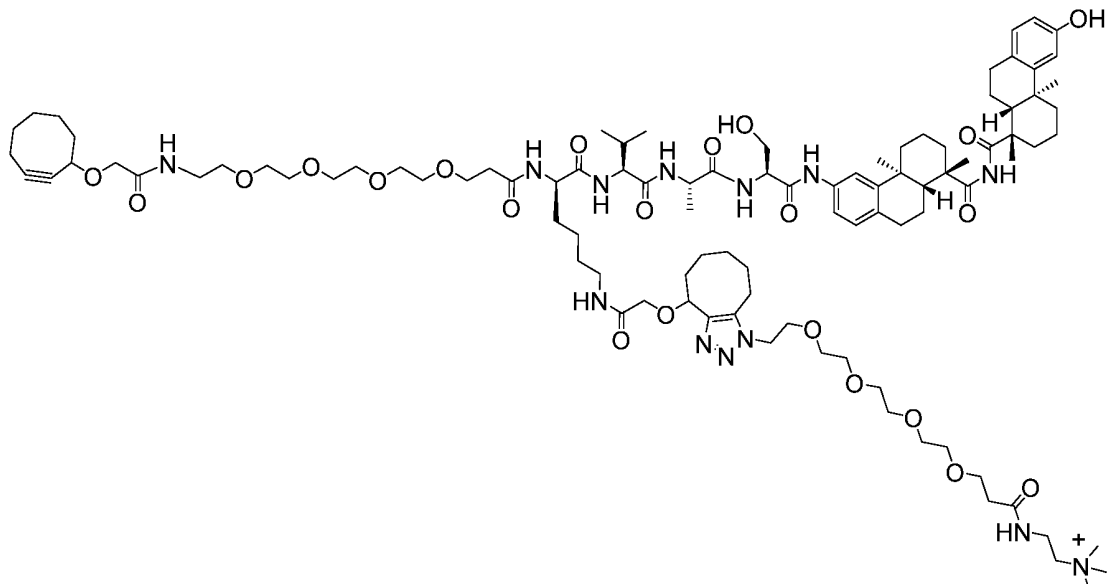


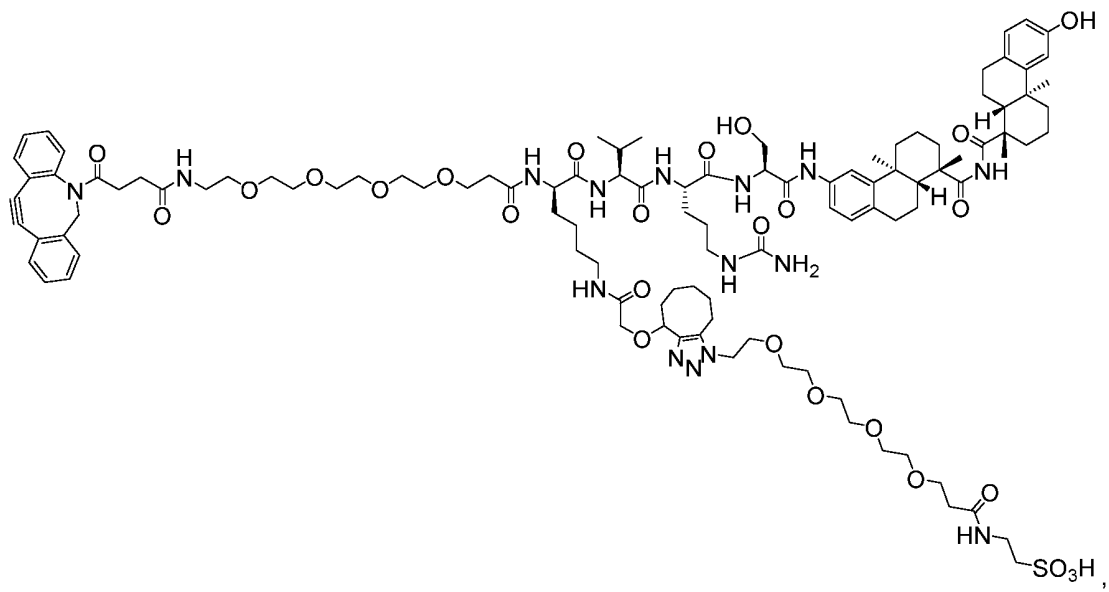
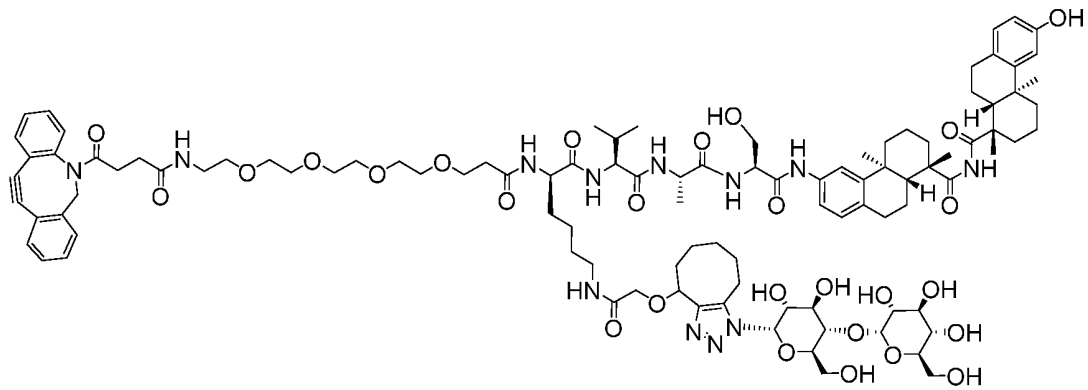
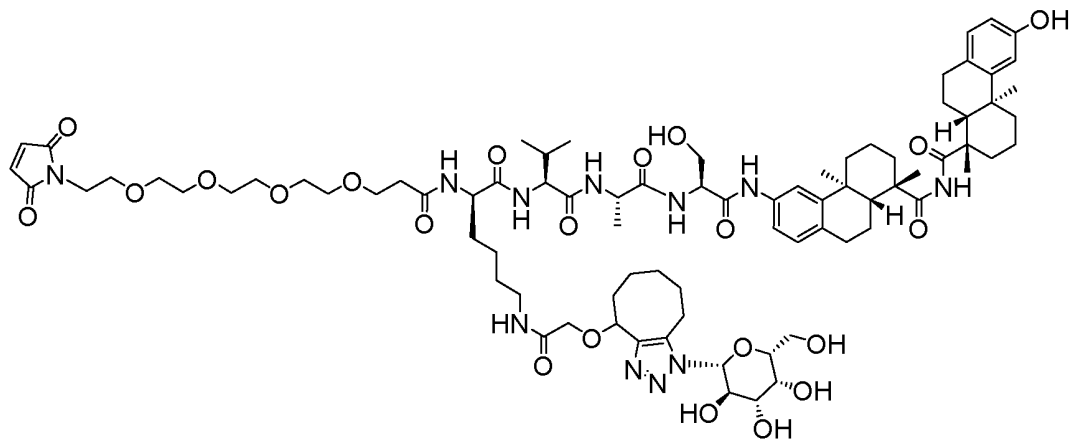






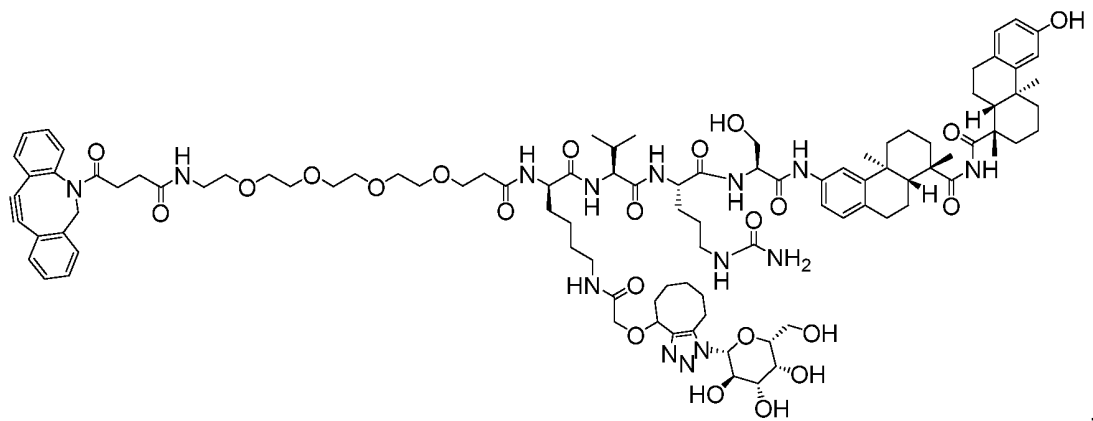
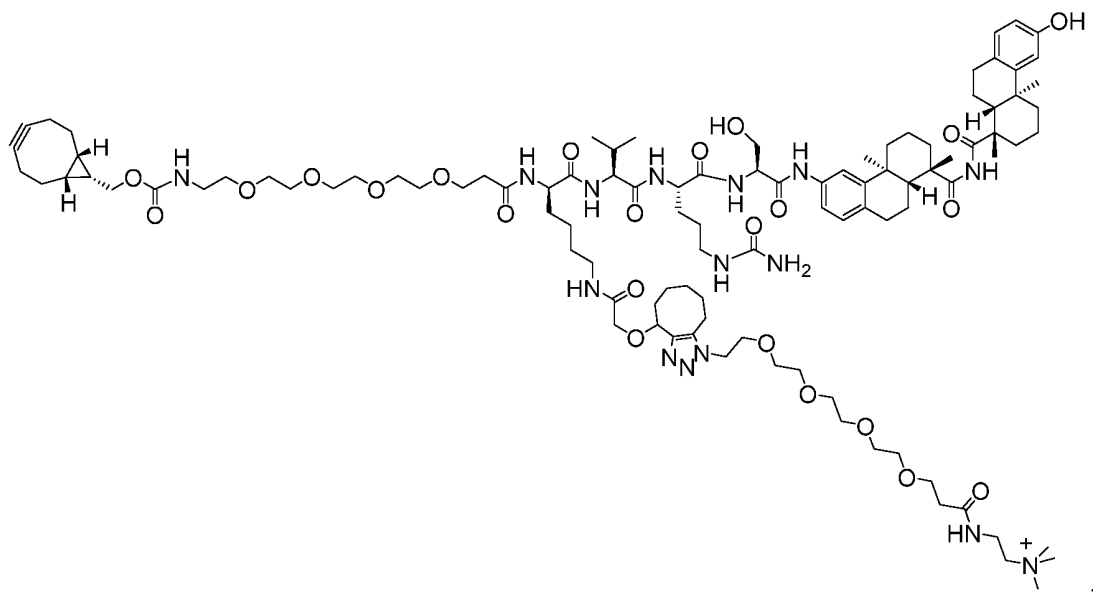
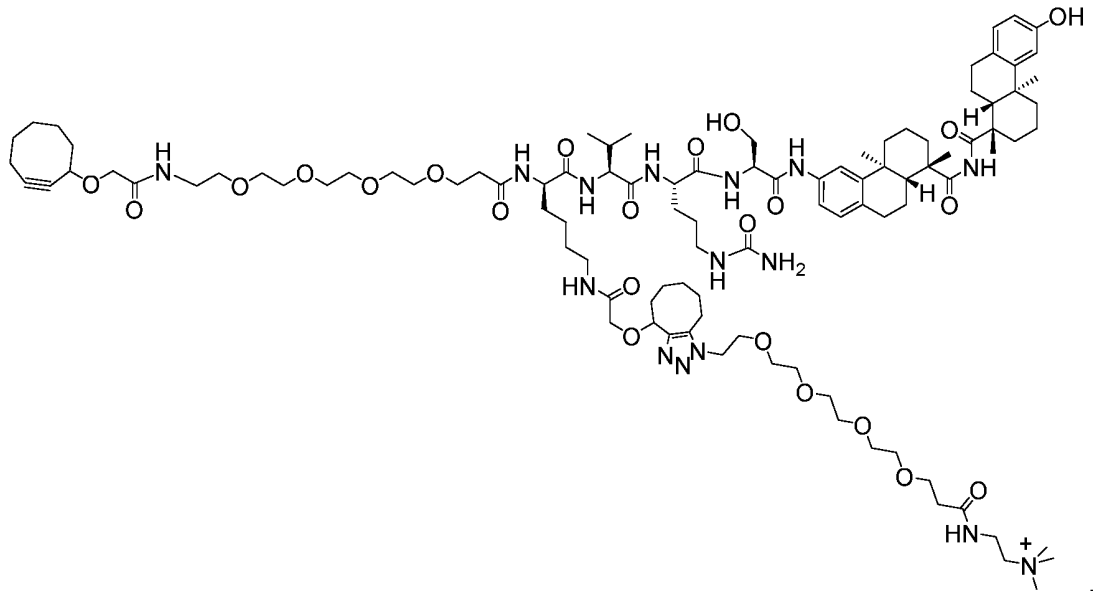


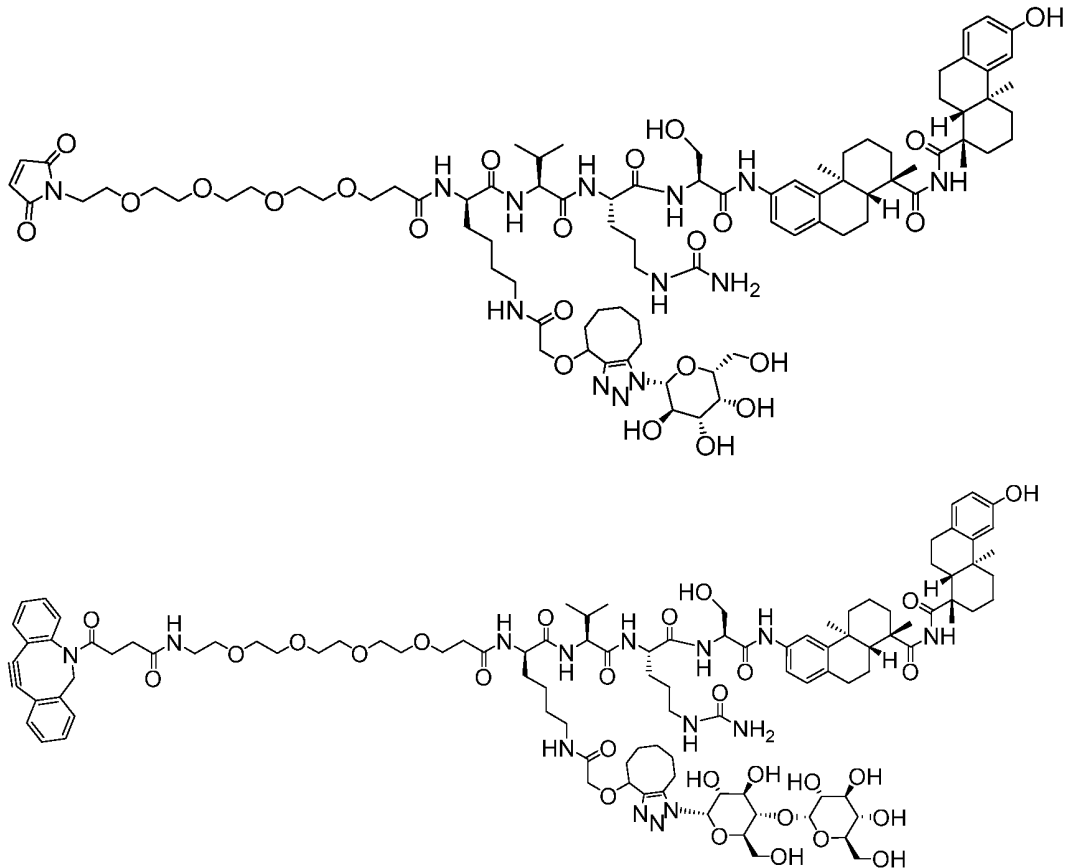








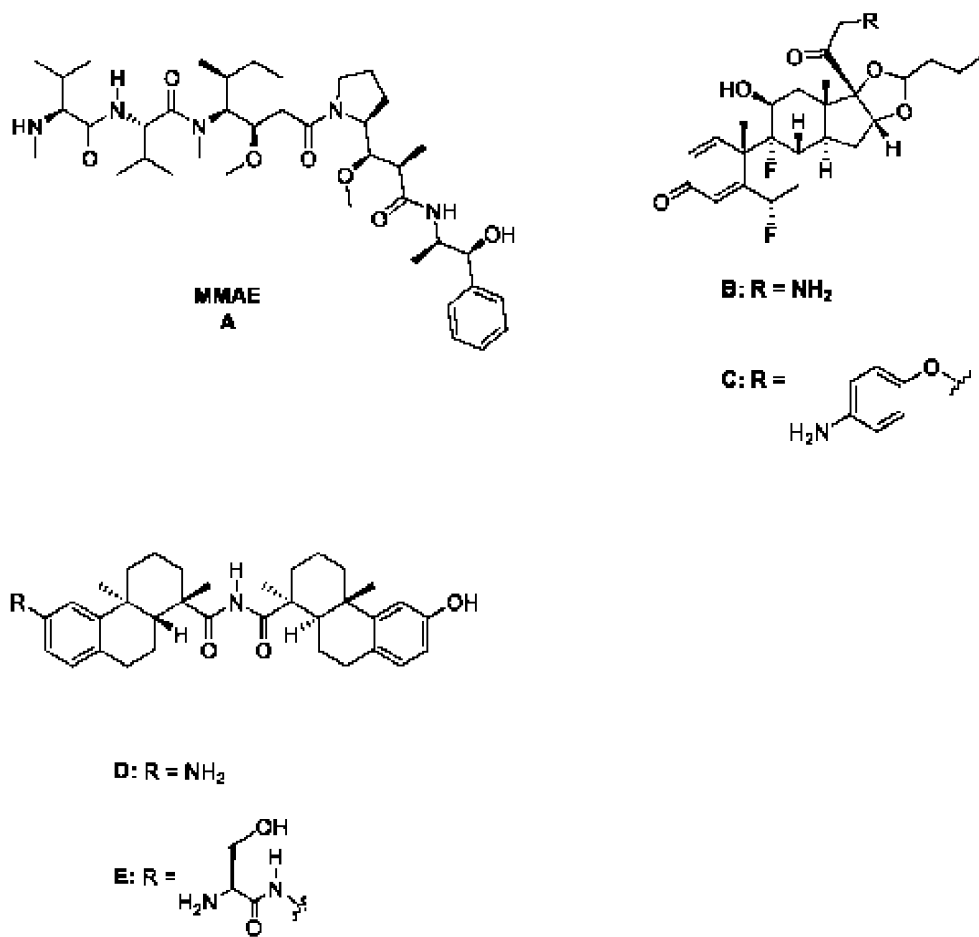




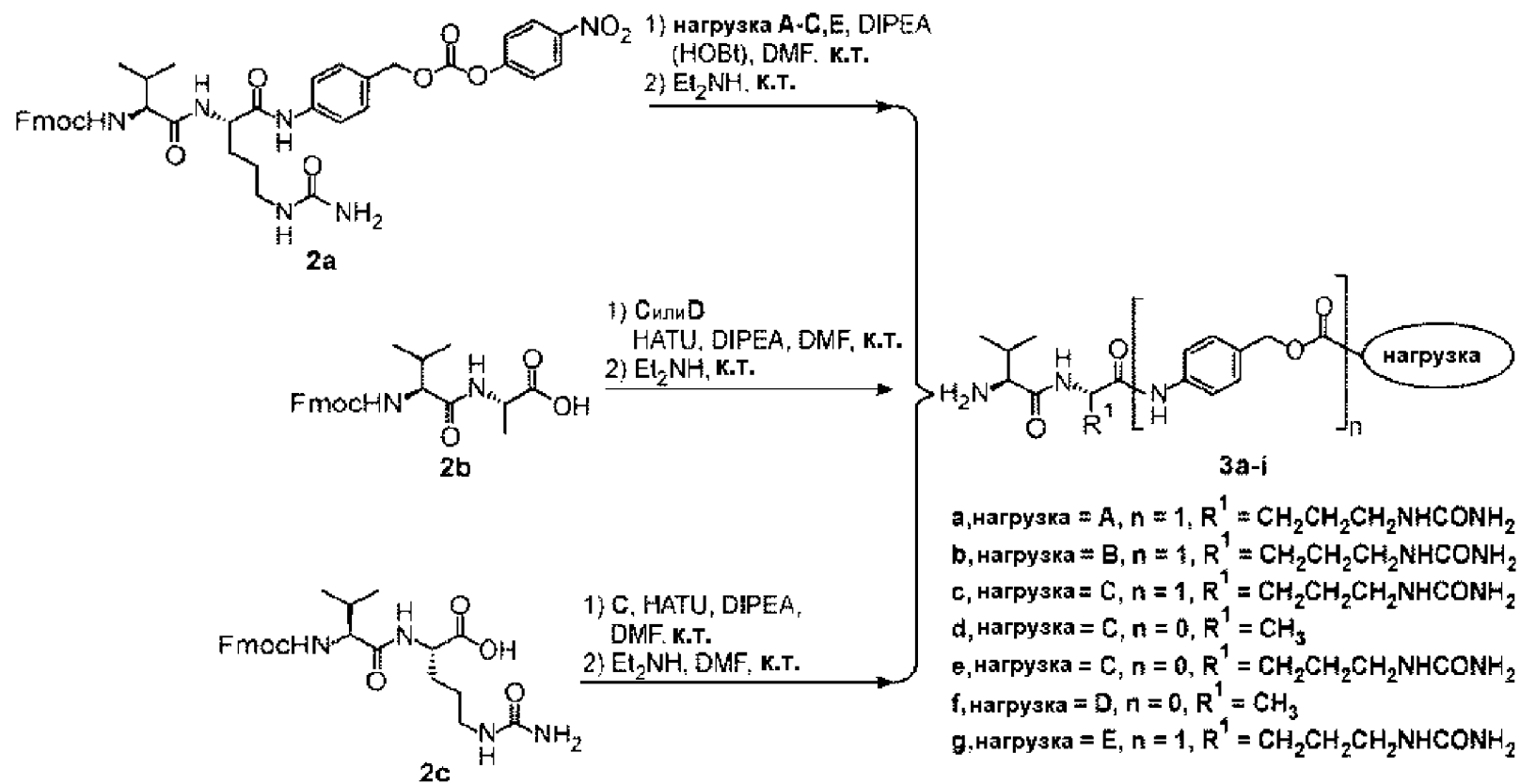
или его стереоизомерная форма, или региоизомер или смесь региоизомеров.

63. Способ получения соединения по п.1, включающий стадию приведения в контакт связующего агента и соединения по пп.37-62 в условиях, подходящих для образования связи между связующим агентом и соединением.
64. Способ по п.63, где связующий агент представляет собой модифицированный связующий агент, содержащий азидогруппу ( $\overset{\xi}{\text{C}}-\text{N}_3$ ), где  $\overset{\xi}{\text{C}}$  указывает на атом, через который азидогруппа соединена с соседними группами в формуле.
65. Линкер-полезная нагрузка, содержащий соединение по любому из пп.37-62, соединенное с линкером.
66. Линкер-полезная нагрузка, содержащий соединение по любому из пп.37-62, соединенное с кислородом или первичным или вторичным азотом полезной нагрузки.

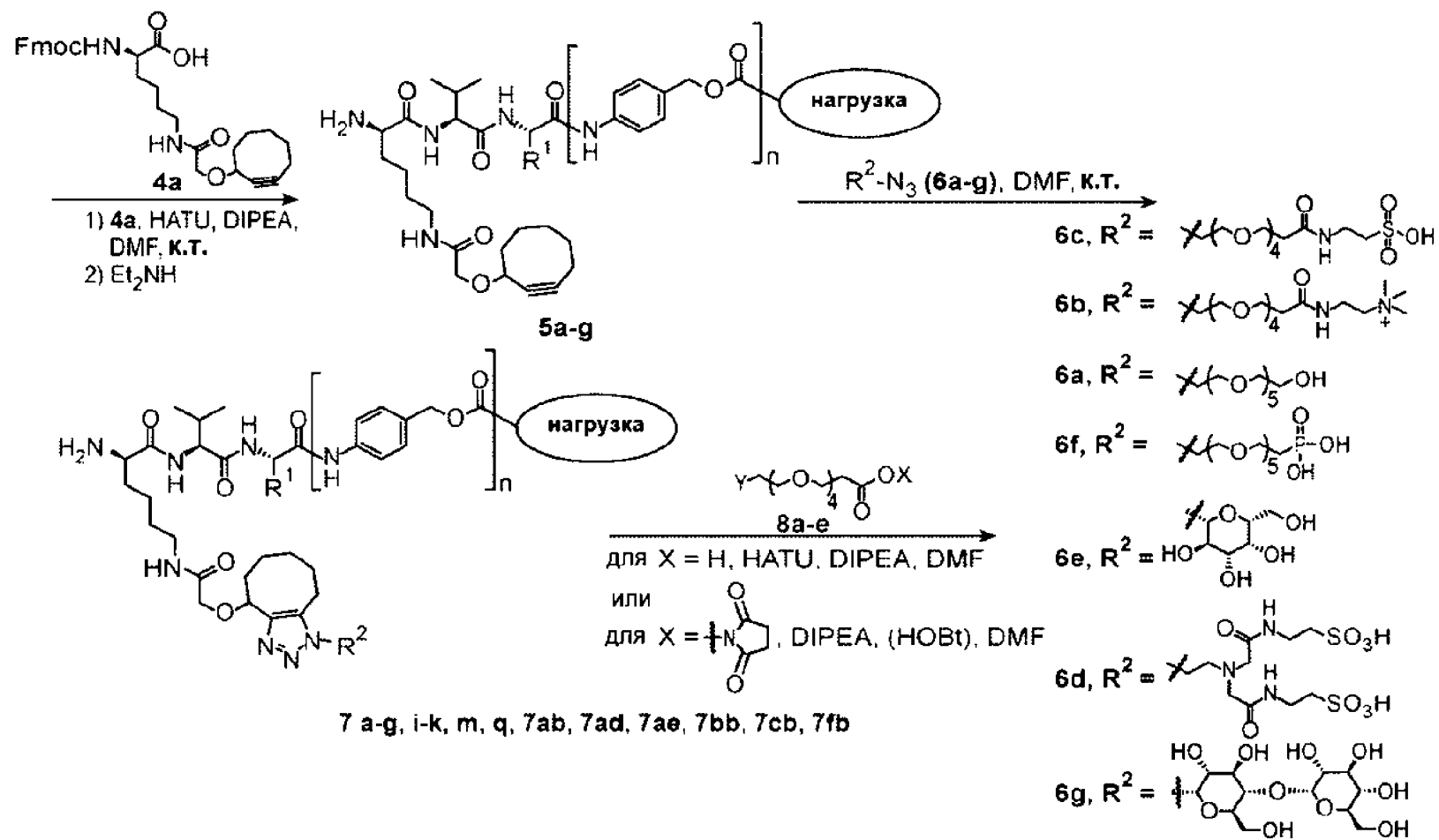
67. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий соединение или линкер-полезную нагрузку по любому из предыдущих пунктов формулы изобретения, соединенное с антителом или антиген-связывающим фрагментом.
68. Способ лечения пролиферативного заболевания, заболевания обмена веществ, воспаления или нейродегенеративного заболевания у субъекта, заключающийся во введении субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из пп.1-35.
69. Способ лечения заболевания, нарушения или состояния у субъекта, заключающийся во введении субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из пп.1-35.
70. Способ лечения пролиферативного заболевания у субъекта, заключающийся во введении субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из пп.1-35.
71. Способ лечения заболевания обмена веществ у субъекта, заключающийся во введении субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из пп.1-35.
72. Способ лечения воспаления у субъекта, заключающийся во введении субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из пп.1-35.
73. Способ лечения нейродегенеративного заболевания у субъекта, заключающийся во введении субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из пп.1-35.



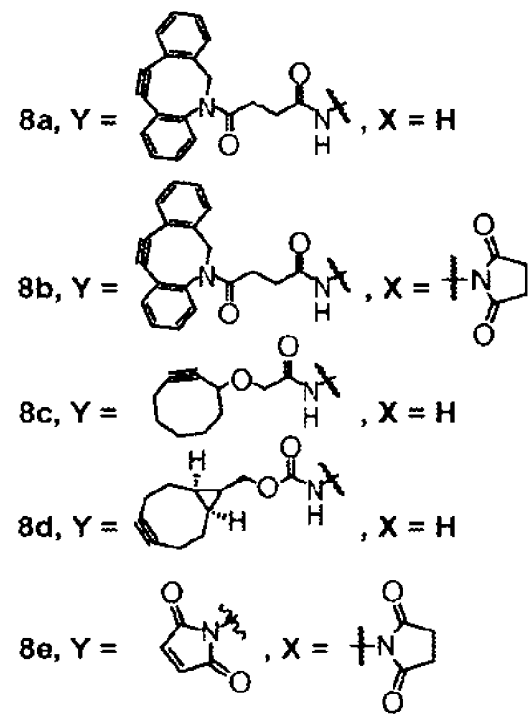
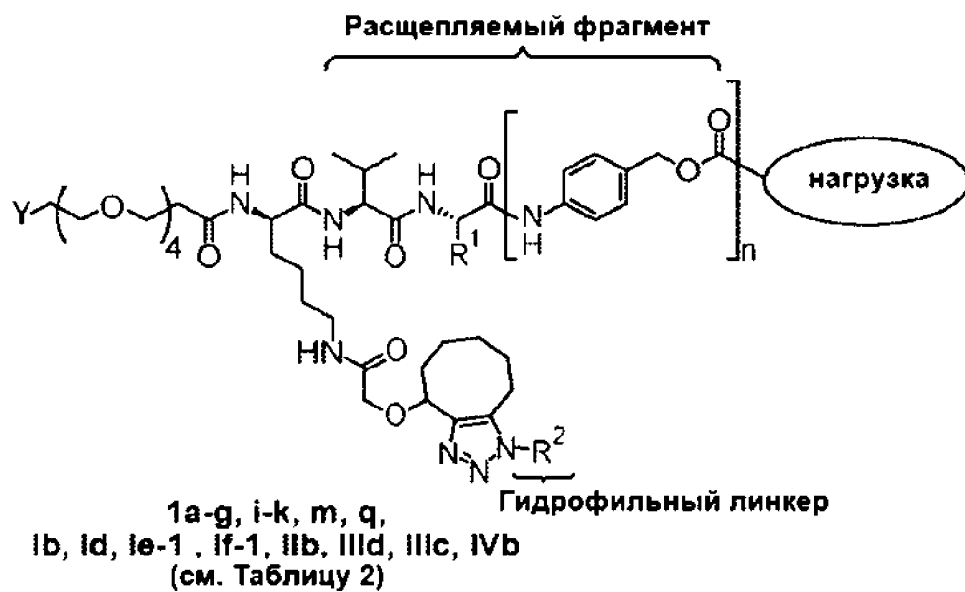
Фиг. 1



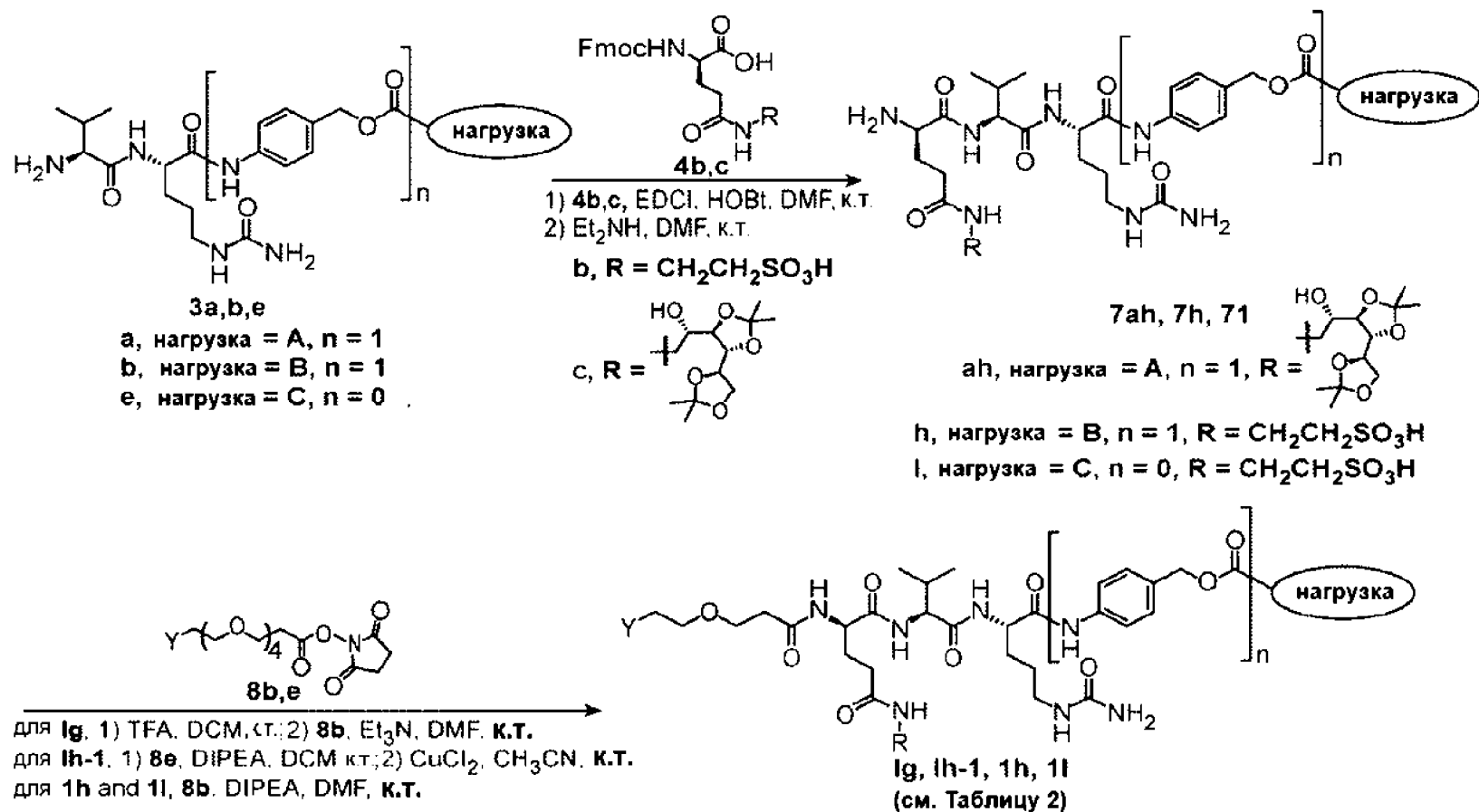
Фиг. 2



Фиг. 2 (Продолжение)

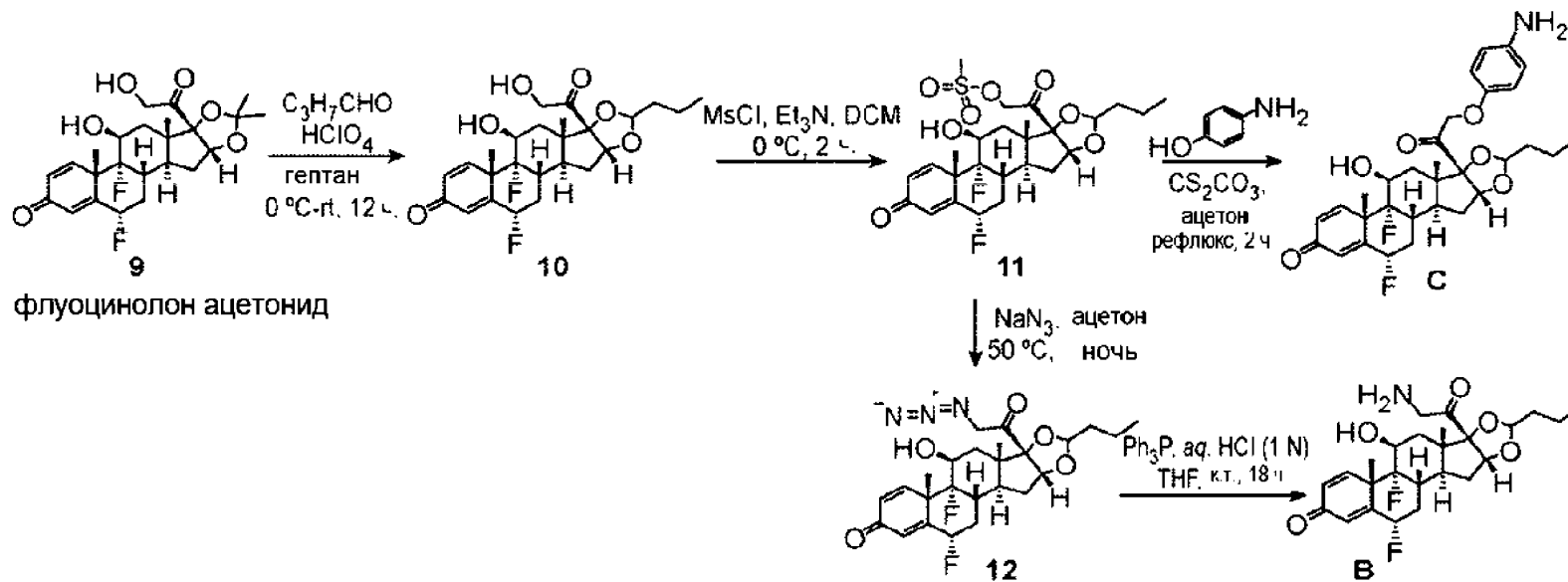


Фиг. 2 (Продолжение 1)

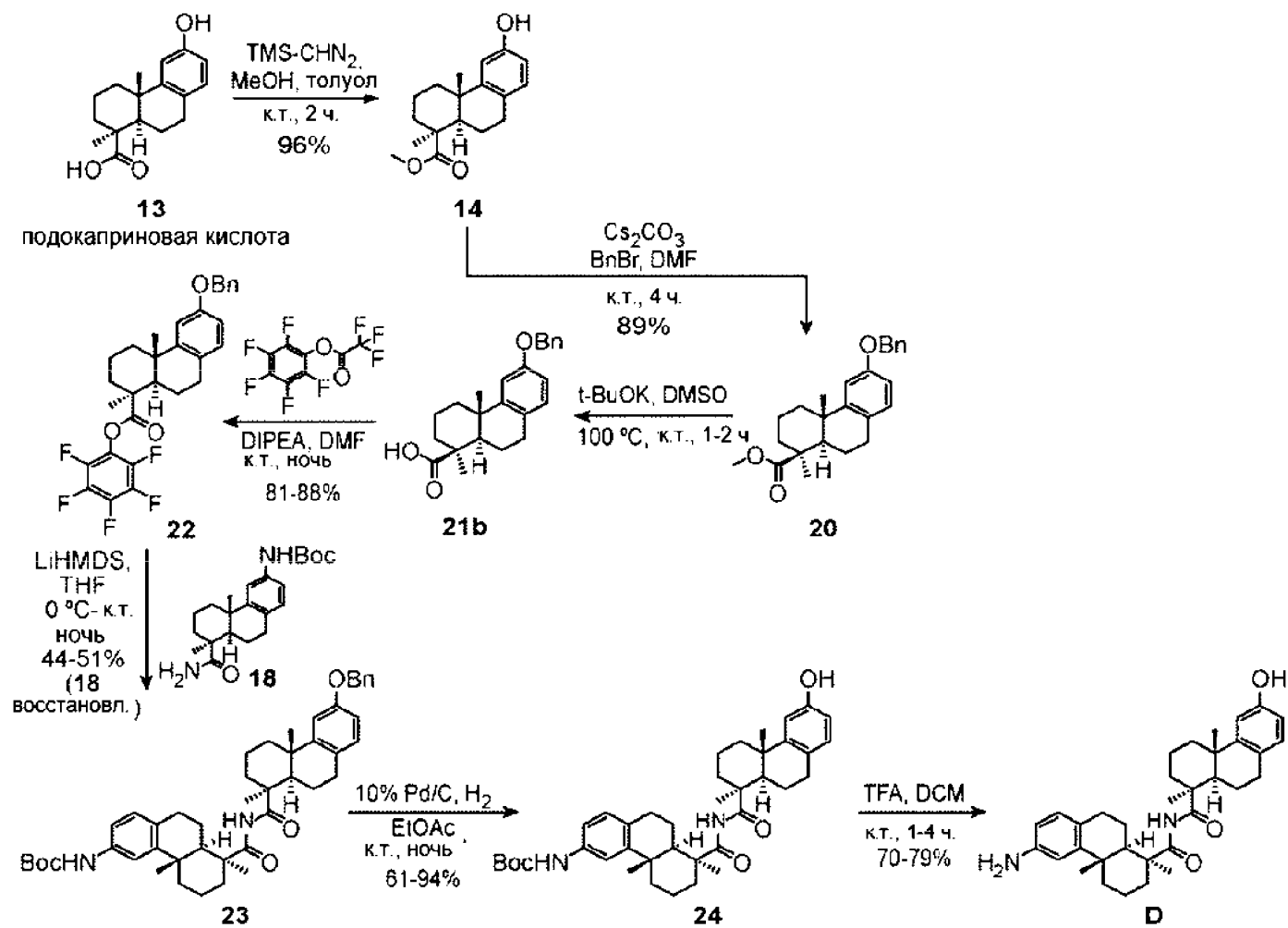


Фиг. 3

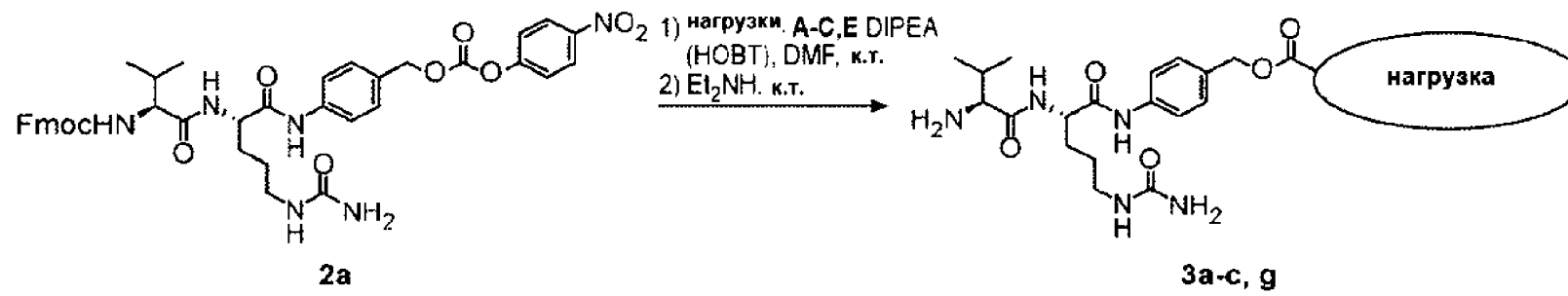




Фиг. 4



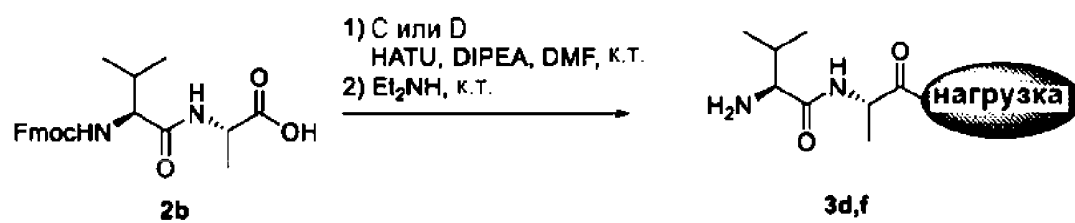
Фиг. 5



продукт	нагрузка
3a	A
3b	B
3c	C
3g	E

Фиг. 6

9/35



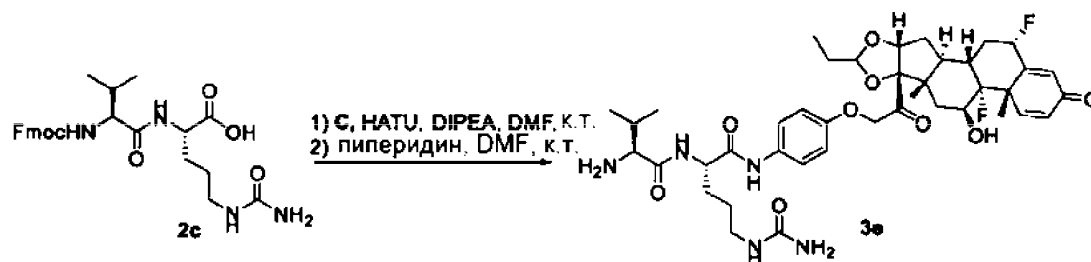
продукт	нагрузка
<b>3d</b>	<b>C</b>
<b>3f</b>	<b>D</b>

Фиг. 7

**10/35**

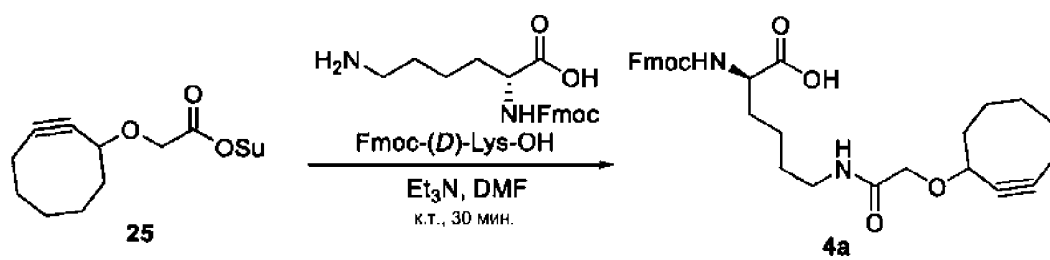
**Фиг. 8**

10/35



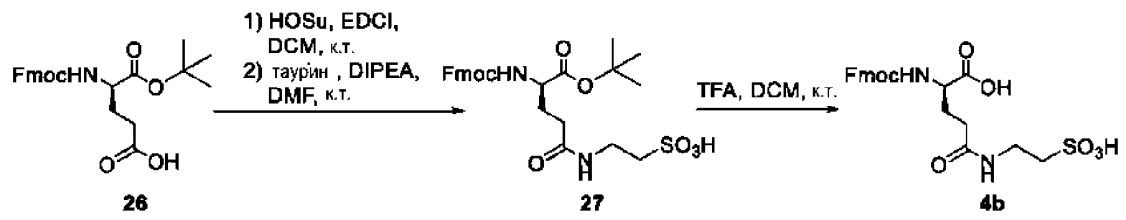
Фиг. 8

11/35



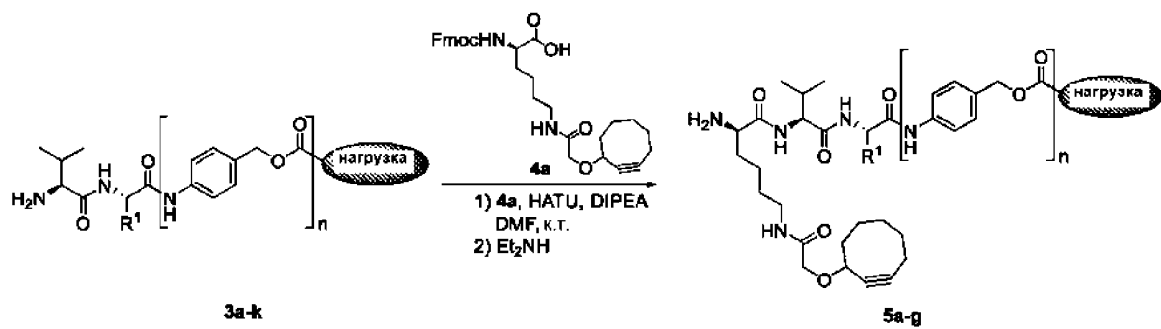
Фиг. 9

12/35



Фиг.10

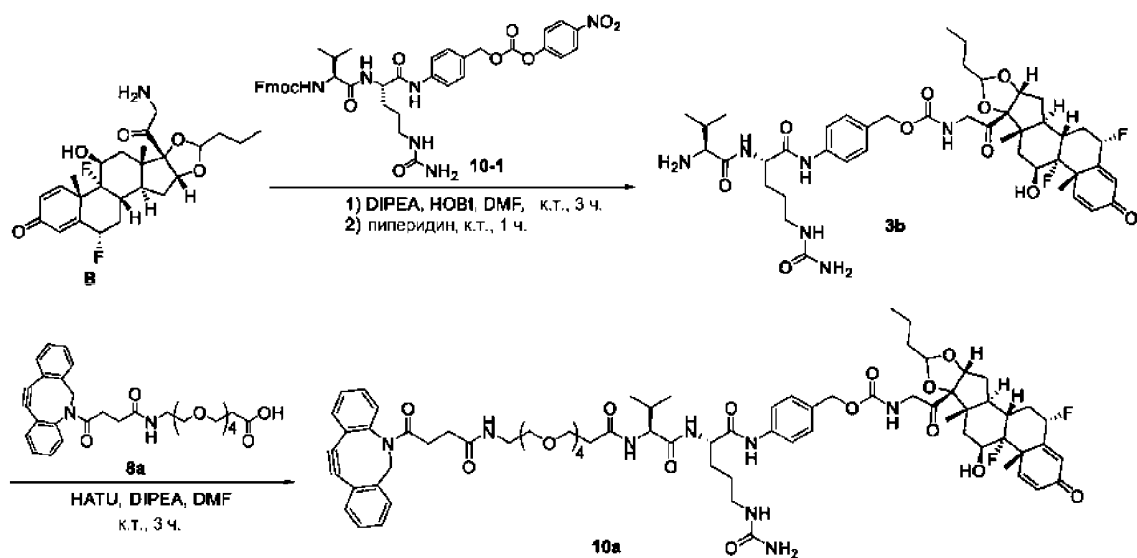




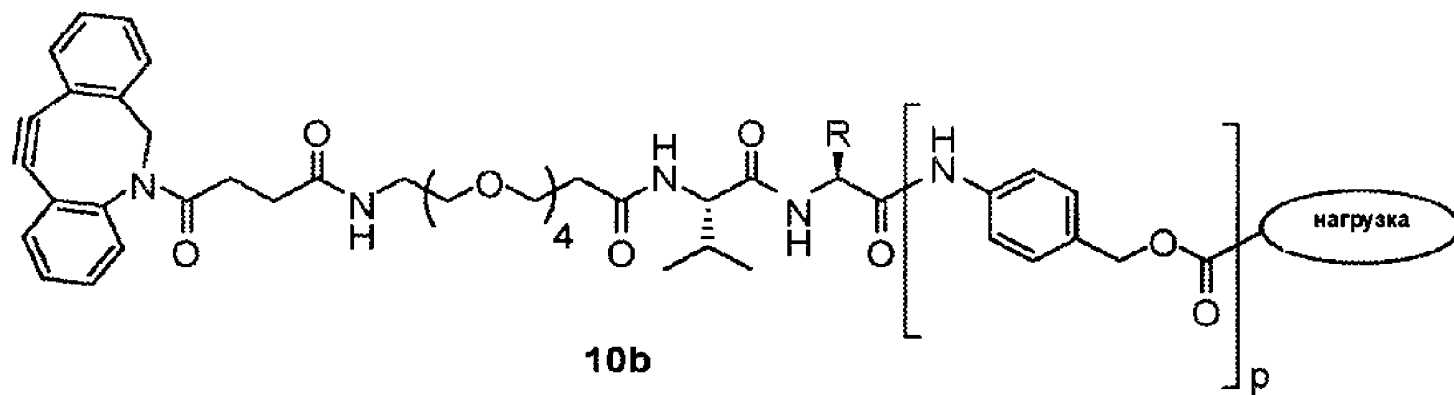
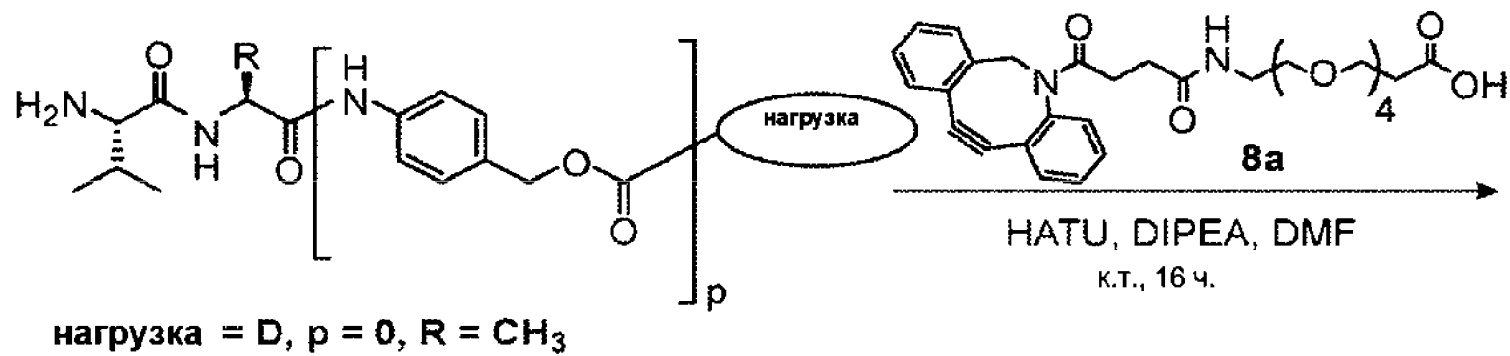
Амин 3	Продукт 5	нагрузка	n	R <sup>1</sup>
3a	5a	A	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>
3b	5b	B	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>
3c	5c	C	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>
3d	5d	C	0	CH <sub>3</sub>
3e	5e	C	0	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>
3f	5f	D	0	CH <sub>3</sub>
3g	5g	E	0	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>

Фиг.11

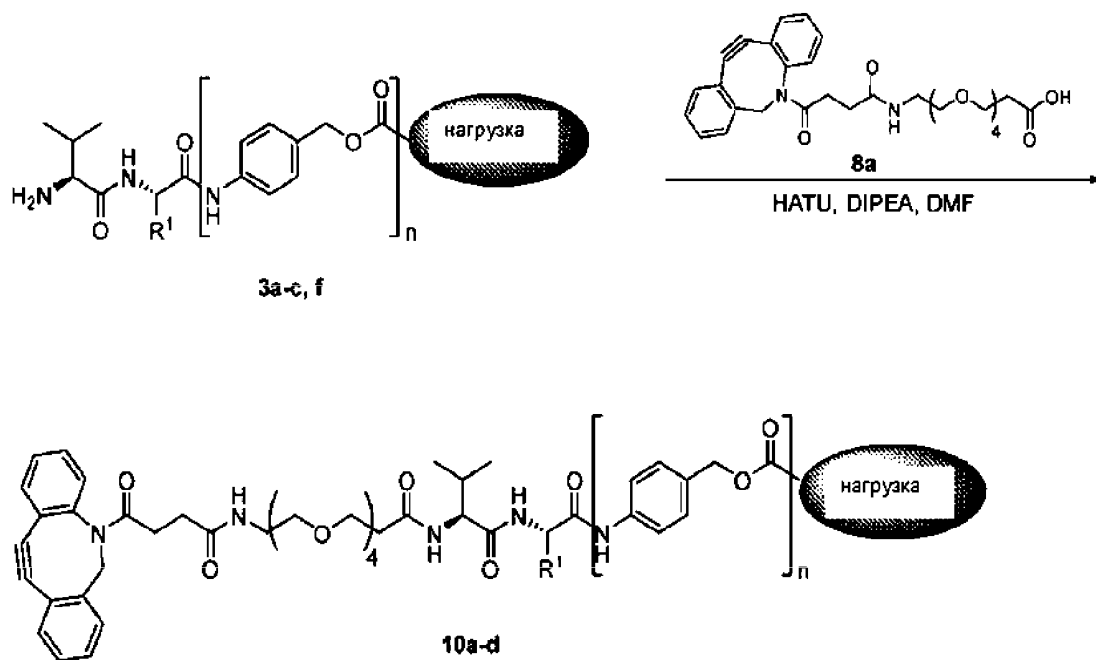
14/35



Фиг.11А



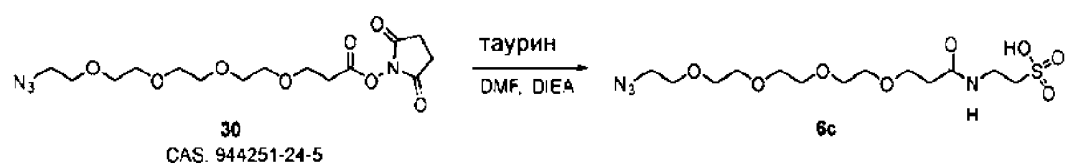
Фиг. 11В



Амин 3	Продукт 10	нагрузка	n	R <sup>1</sup>
3a	10d	A	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>
3b	10a	B	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>
3c	10c	C	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>
3f	10b	D	0	CH <sub>3</sub>

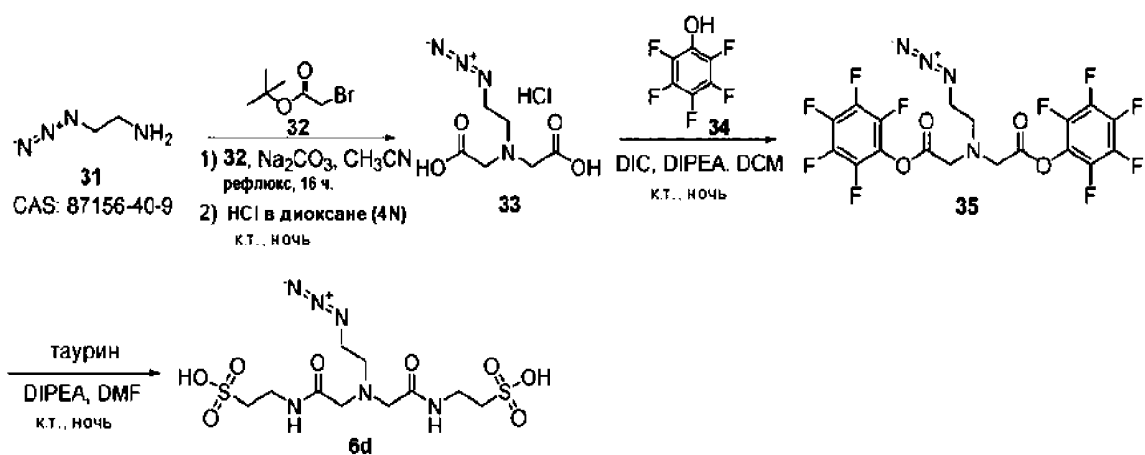
Фиг.11С

17/35

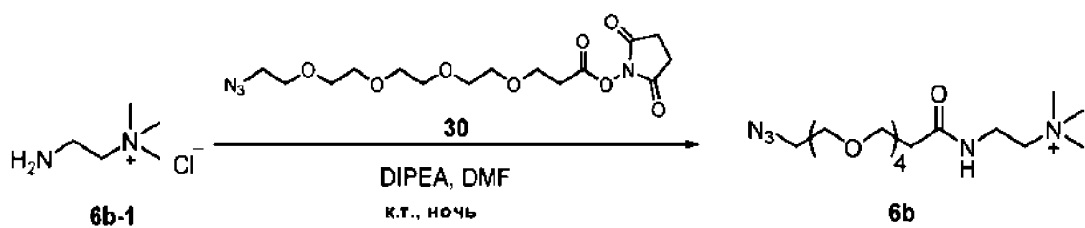


Фиг.12

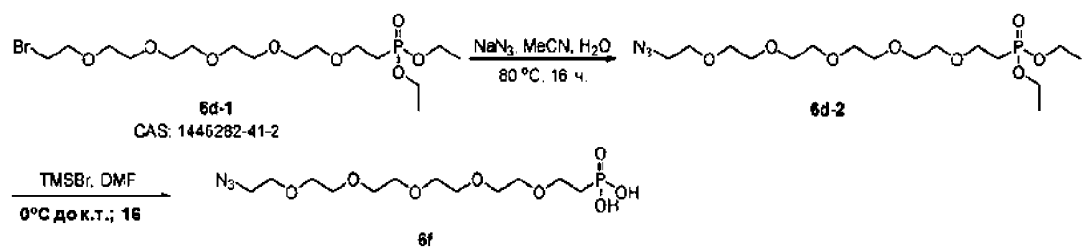
18/35



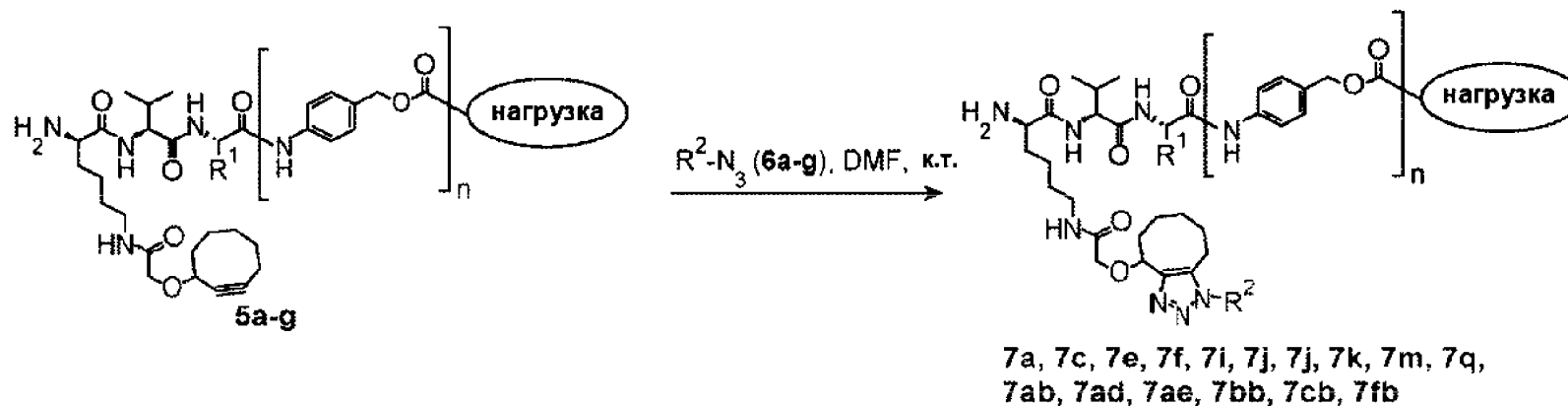
Фиг.13



Фиг.13А



Фиг.13В



СОТ 5	Азид 6	Продукт 7	нагрузка	n	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
5a	6a	7a	A	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	
5a	6c	7c	A	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	
5a	6b	7ab	A	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	
5a	6f	7ad	A	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	

Фиг.14

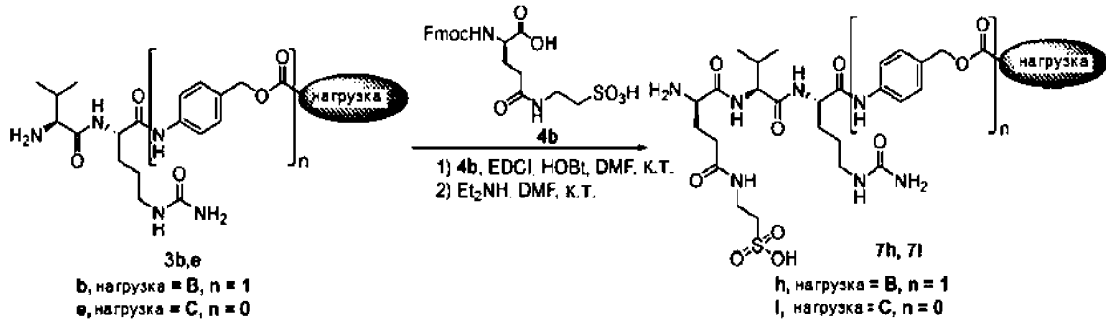
5a	6e	7ae	A	1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	
5b	6c	7ba	B	1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	
5b	6b	7bb	B	1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	
5b	6d	7f	B	1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	
5c	6c	7i	C	1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	
5d	6c	7j	C	0	$\text{CH}_3$	
5e	6c	7k	C	0	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	

Фиг.14 (Продолжение)



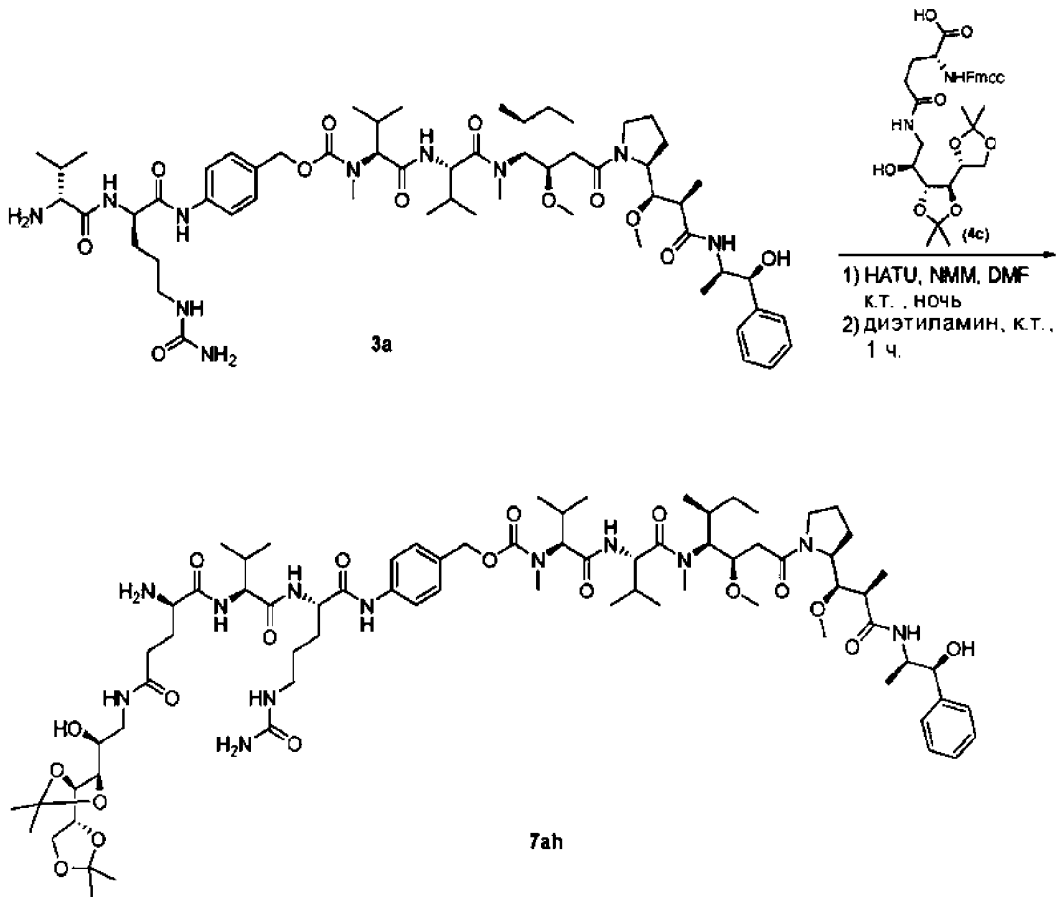
5c	6b	7cb	C	1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	
5f	6c	7m	D	0	$\text{CH}_3$	
5f	6b	7fb	D	0	$\text{CH}_3$	
5g	6c	7q	E	1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	

Фиг.14 (Продолжение 1)



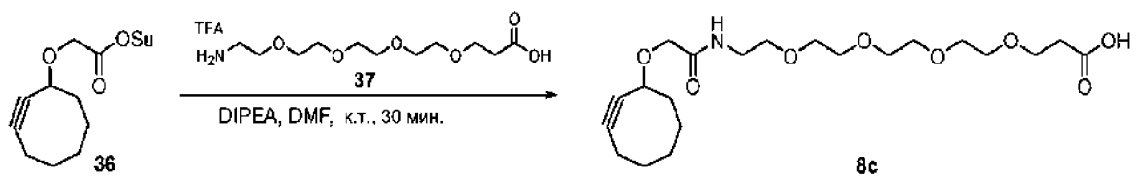
3	7	нагрузка	n
3b	7h	В	1
3e	7l	С	0

Фиг. 15

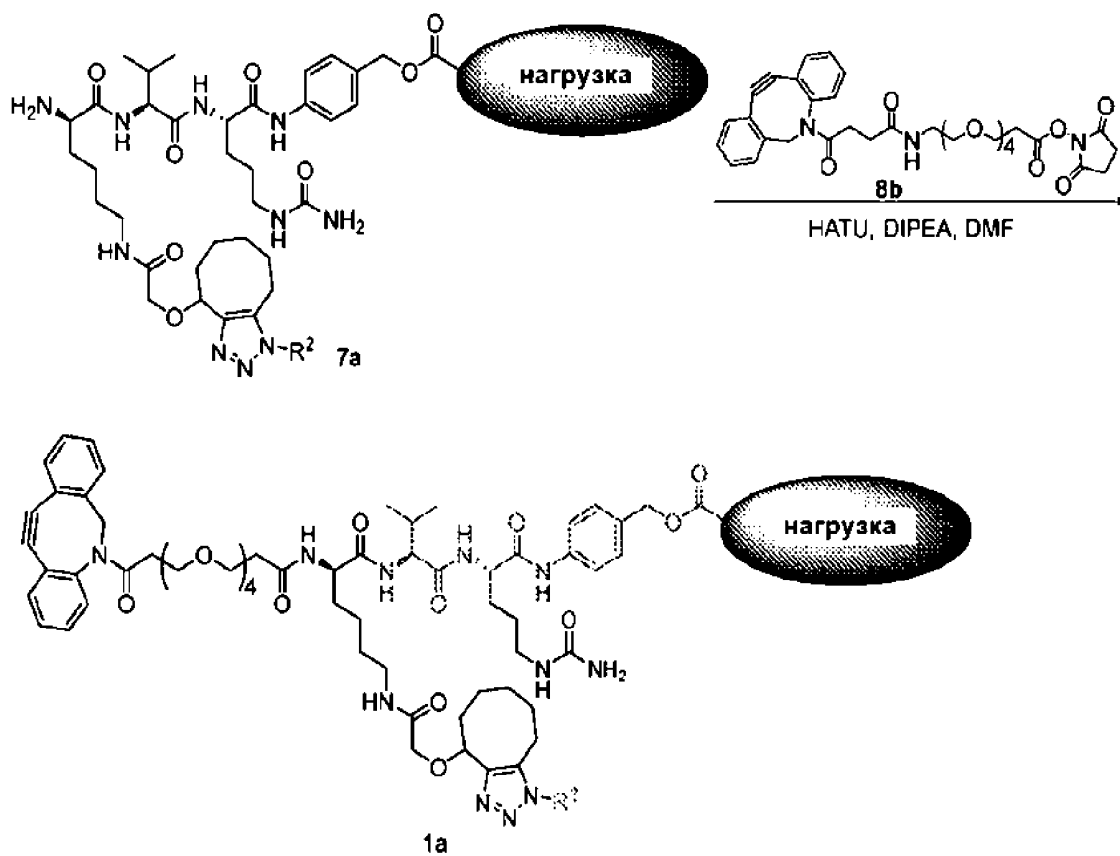


Фиг. 15А

23/35

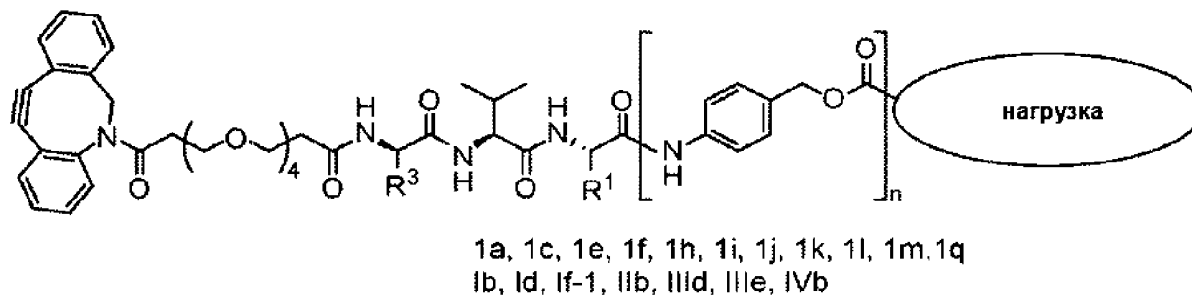
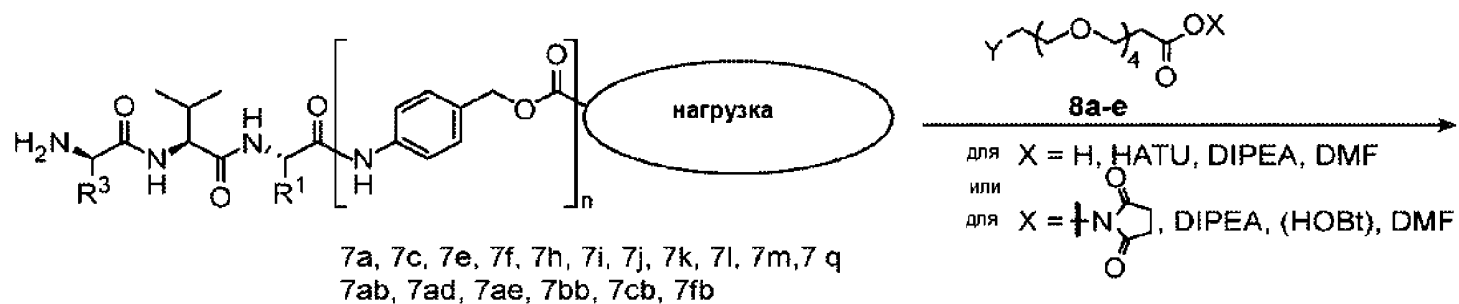


Фиг. 15В



Амин 7	Продукт 1	нагрузка	R <sup>2</sup>
7a	1a	A	

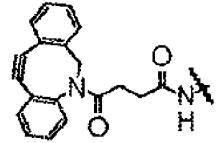
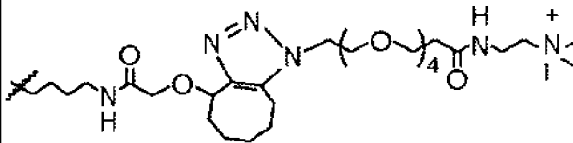
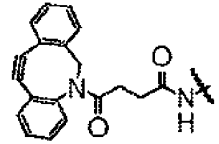
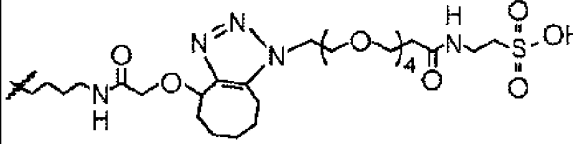
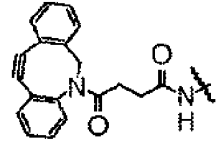
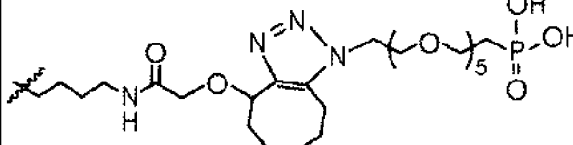
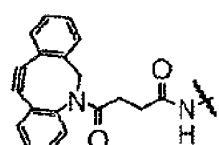
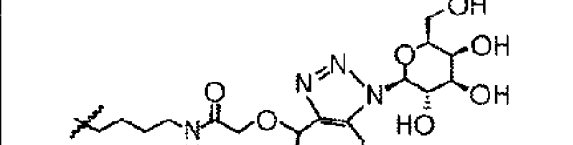
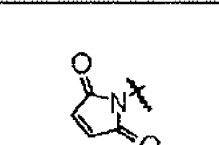
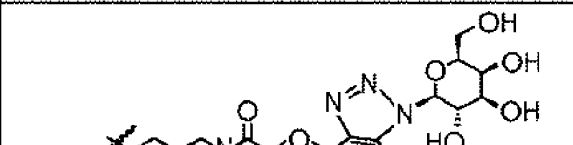
Фиг. 16



24/35

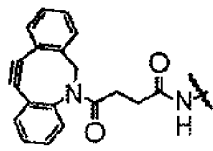
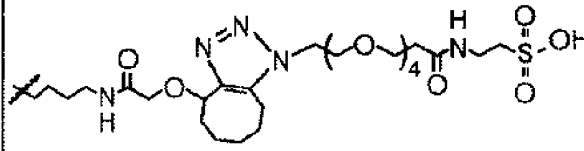
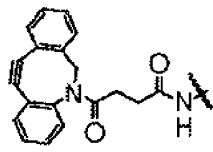
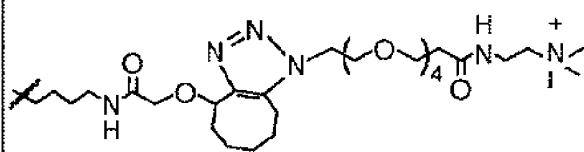
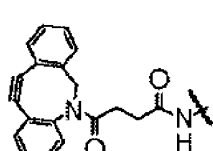
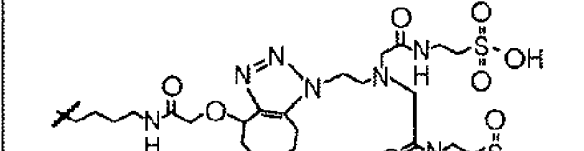
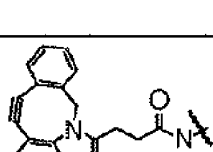
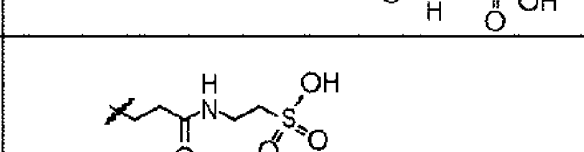
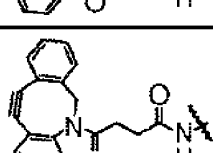
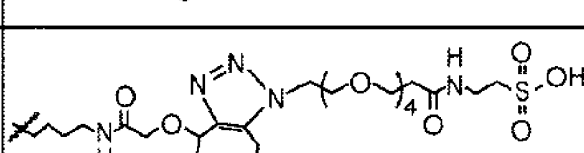
Амин 7	Продукт 1	нагрузка	Y	n	R <sup>1</sup>	R <sup>3</sup>
7a	1a	A		1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	

Фиг.17

7ab	1b	A		1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	
7c	1c	A		1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	
7ad	1d	A		1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	
7ae	1e-1	A		1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	
7ae	1f-1	A		1	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$	

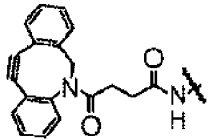
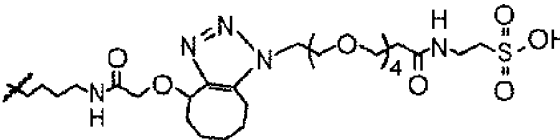
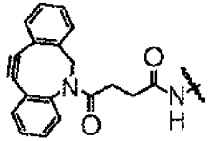
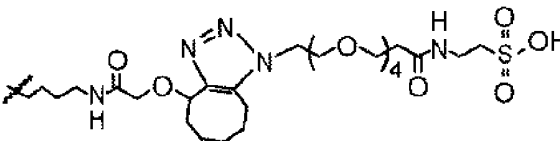
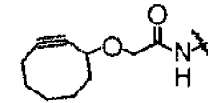
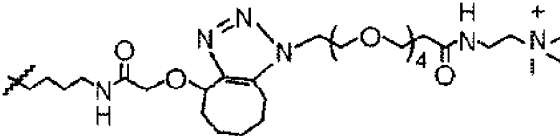
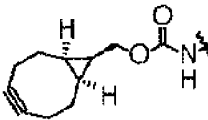
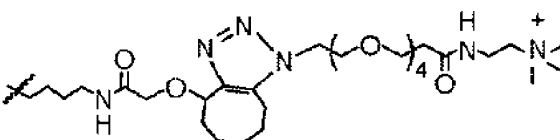
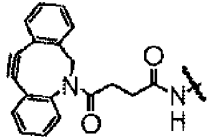
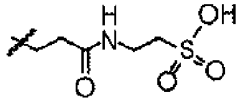
25/35

Фиг.17 (Продолжение 1)

Амин 7	Продукт 1	нагрузка	Y	n	R <sup>1</sup>	R <sup>3</sup>
7e	1e	B		1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	
7bb	11b	B		1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	
7f	1f	B		1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	
7h	1h	B		1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	
7l	1l	C		1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	

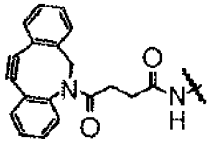
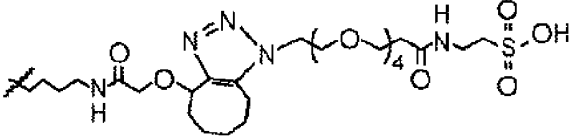
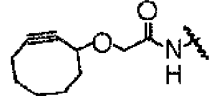
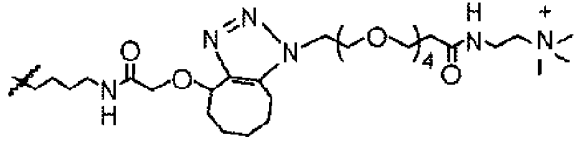
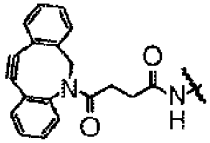
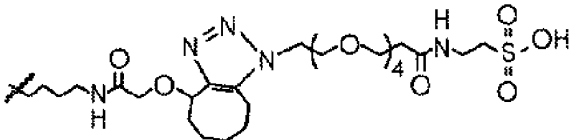
26/35

Фиг.17 (Продолжение 2)

7j	1j	C		0	CH <sub>3</sub>	
7k	1k	C		0	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	
7cb	III d	C		1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	
7cb	III e	C		1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	
7l	1l	C		0	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	

27/35

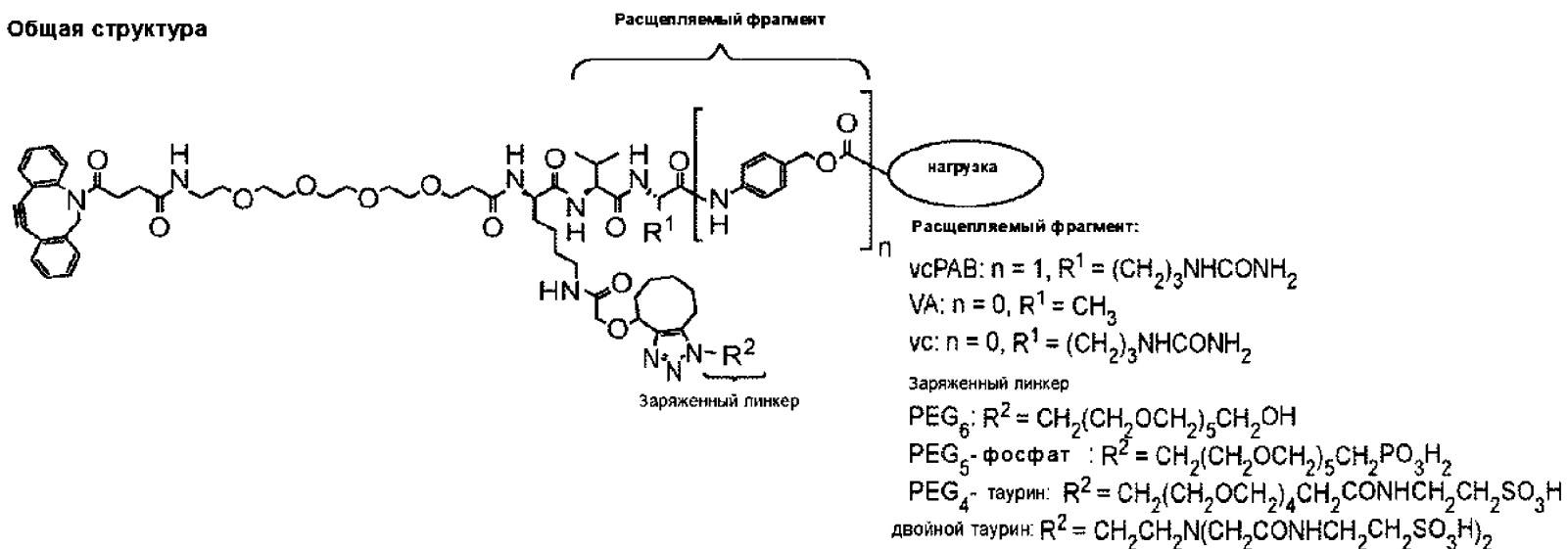
Фиг. 17 (Продолжение 3)

7m	1m	D		0	CH <sub>3</sub>	
7fb	IVb	D		0	CH <sub>3</sub>	
7q	1q	E		1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCONH <sub>2</sub>	

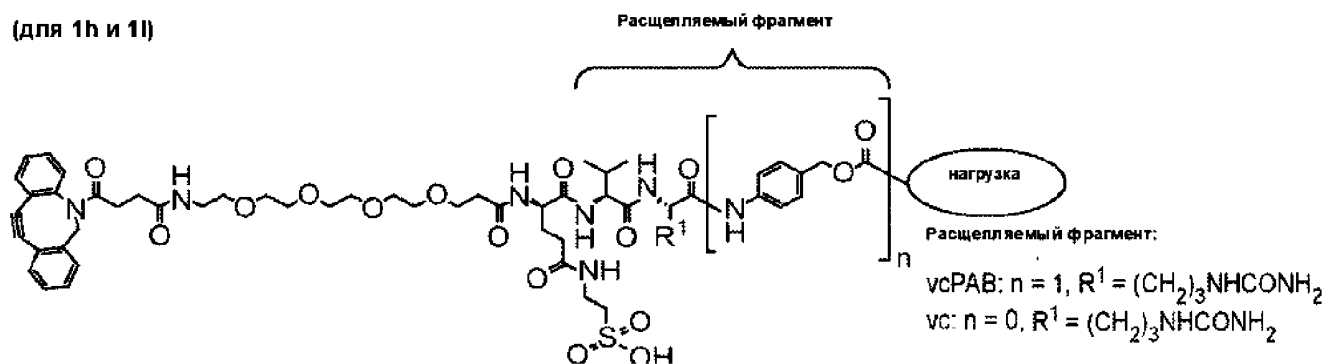
Фиг. 17 (Продолжение 4)



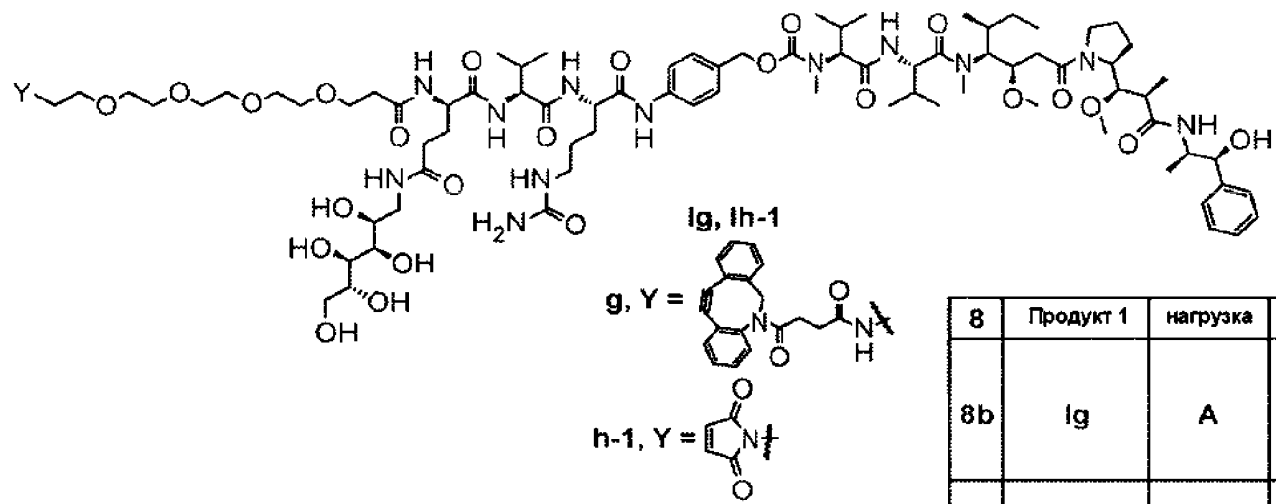
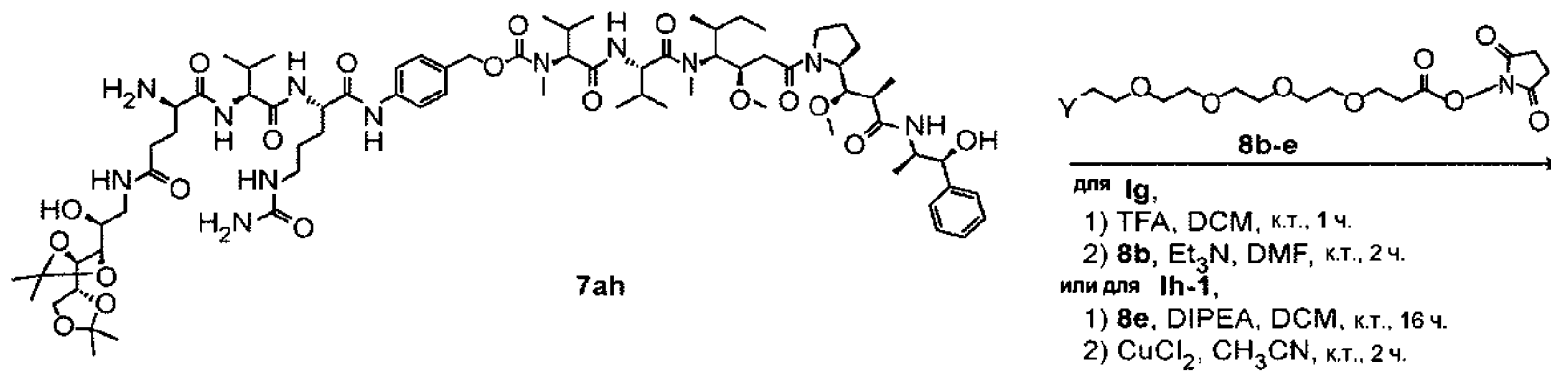
Общая структура



или  
(для 1h и 1l)



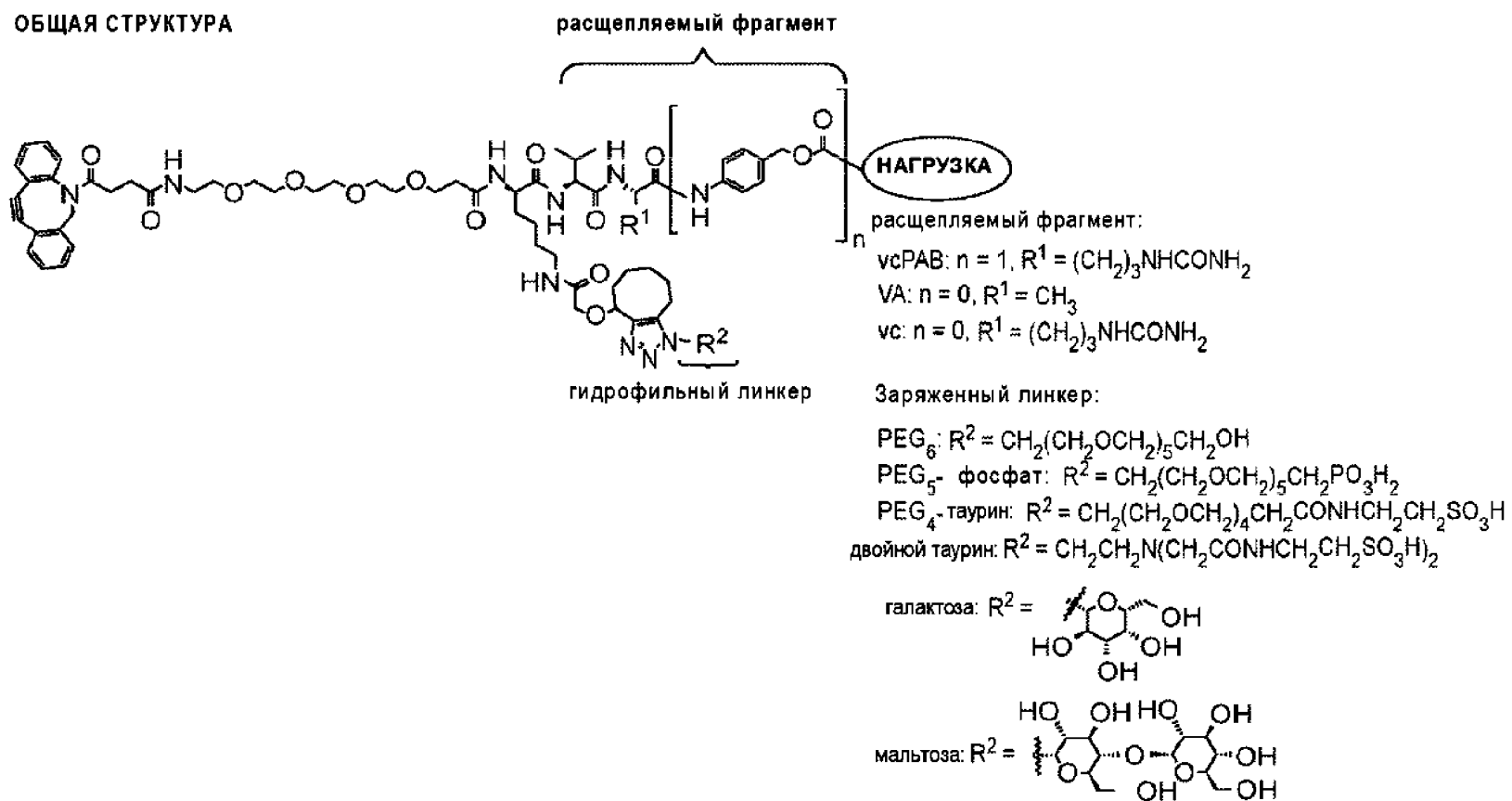
Фиг. 18



8	Продукт 1	нагрузка	Y
8b	Ig	A	
8e	Ih-1	A	

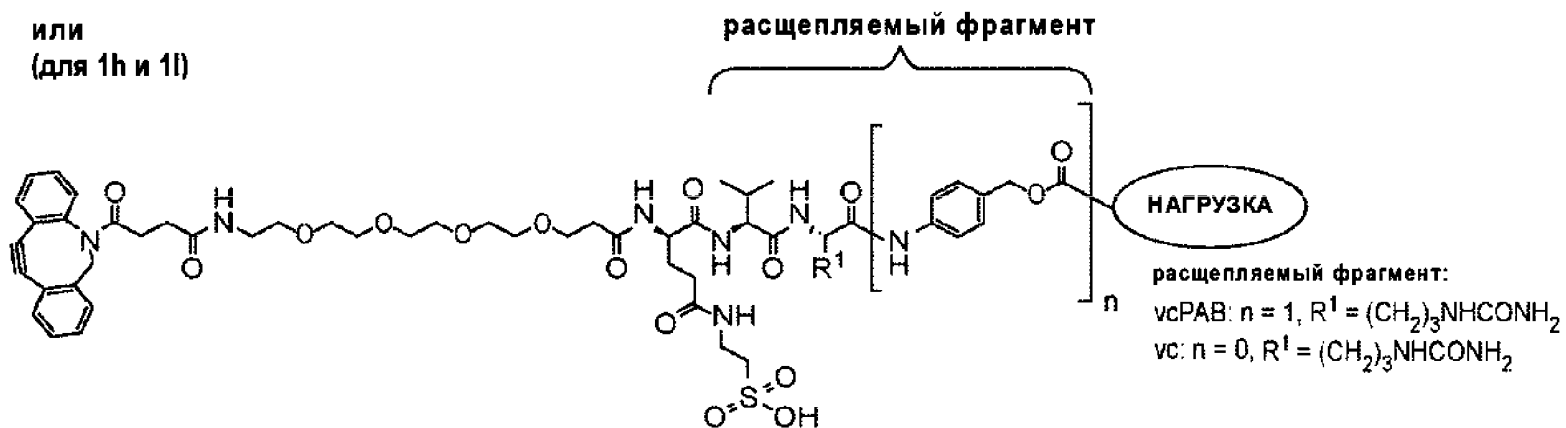
Фиг.18А

ОБЩАЯ СТРУКТУРА

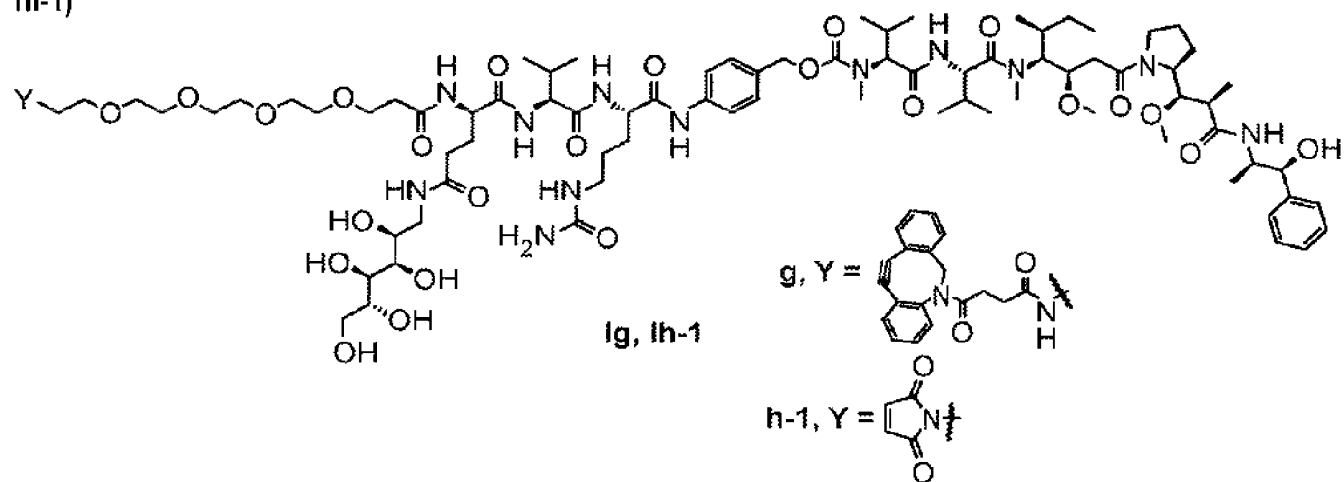


Фиг.18В

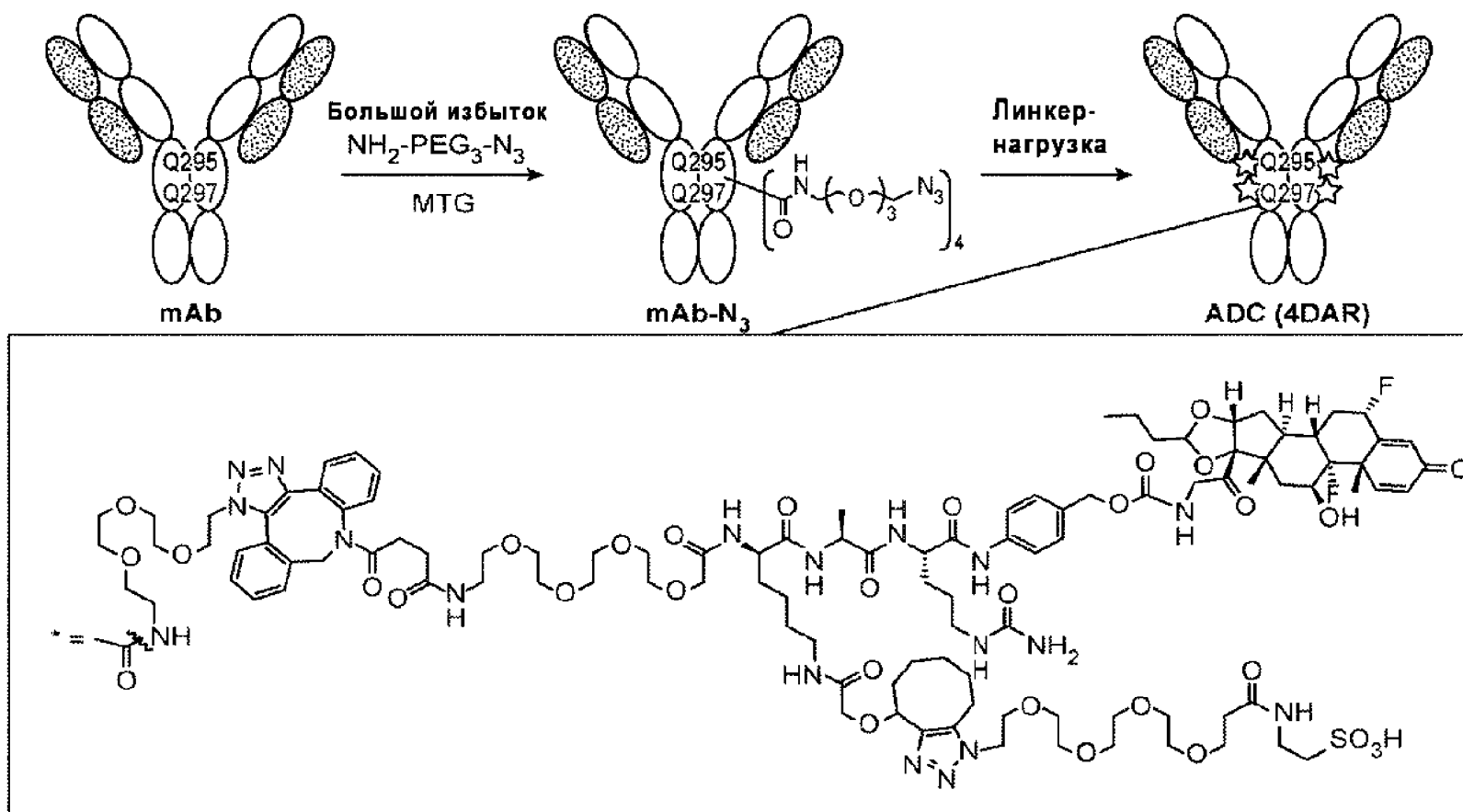
или  
(для 1h и 1l)



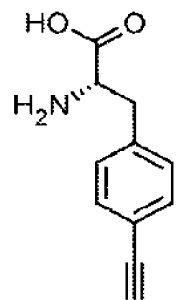
или  
(для 1g и 1h-1)



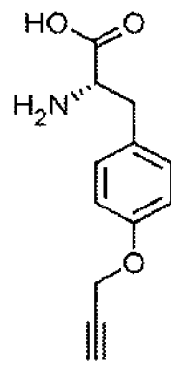
Фиг.18В (Продолжение)



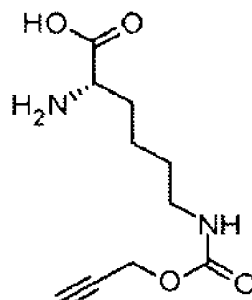
Фиг.19



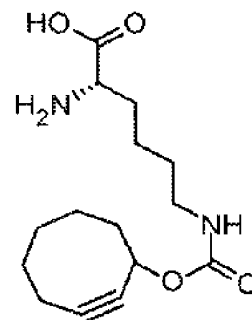
ETF



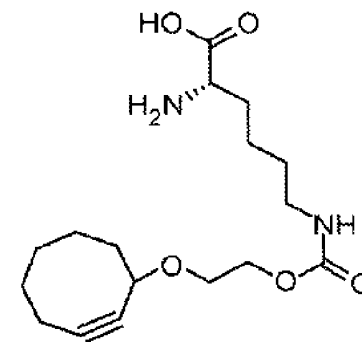
POF



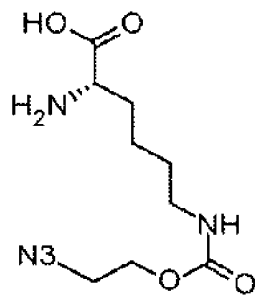
PCK



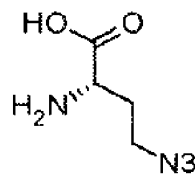
CCK



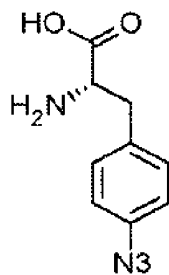
CEK



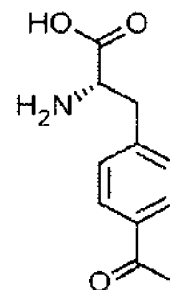
ACK



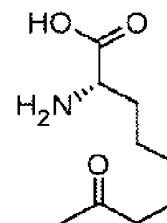
AHA



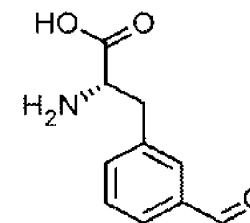
AZF



ACF

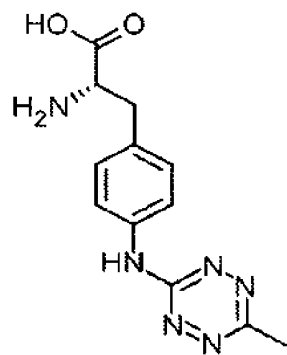


AON

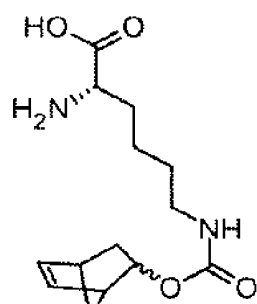


MFF

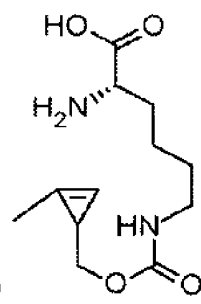
Фиг.20



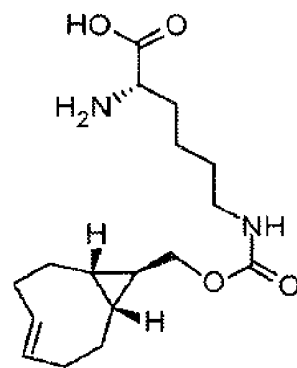
TEF



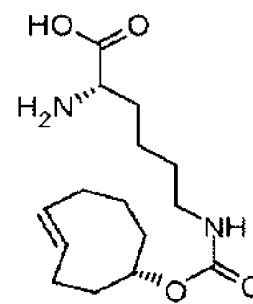
NOK



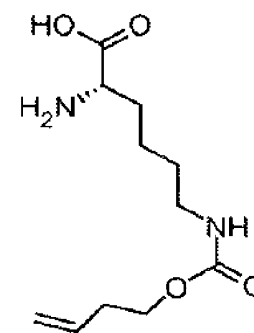
MCK



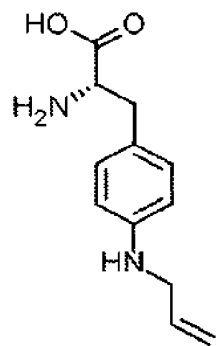
STCOK



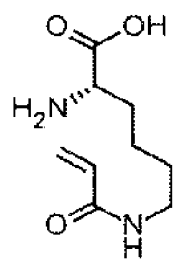
TCOK



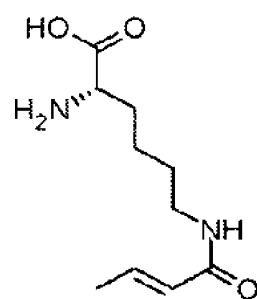
BlocLys



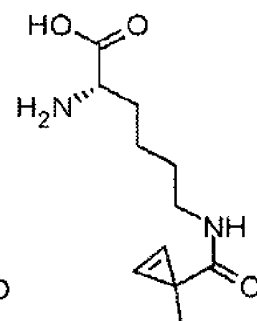
OAY



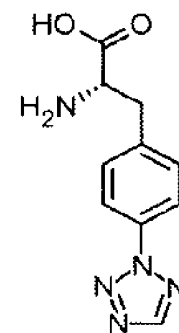
ACRK



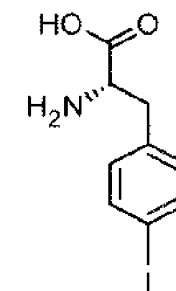
CRTK



CRK



TZF



pIF

35/35

Фиг.20 (Продолжение)