

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291469** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.09.08

(51) Int. Cl. *A61K 47/68* (2017.01)
C07K 16/18 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.11.18

(54) **ТЕХНОЛОГИИ НАПРАВЛЕННОГО КОНЬЮГИРОВАНИЯ**

(31) **62/937,131; 63/063,902**

(32) **2019.11.18; 2020.08.10**

(33) **US**

(86) **PCT/US2020/061127**

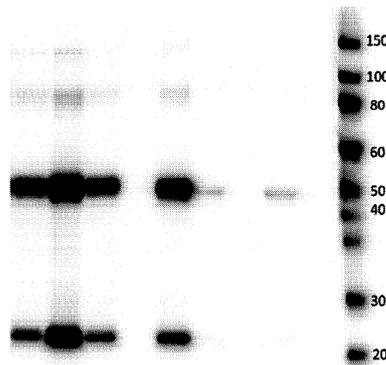
(87) **WO 2021/102052 2021.05.27**

(71) Заявитель:
**КЛЕО ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК.
(US)**

(72) Изобретатель:
**Растелли Лука, Шпигель Дэвид Адам,
Уэлш Мэттью Эрнест, Бербасова
Тетьяна, Цукан Майкл К., Ибен
Лоуренс Джеральд, Вэйл Ада
Маргарет, Бунин Анна, Видаль
Кристиан Марсель, Альварес Энрике
(US)**

(74) Представитель:
Гизатуллин Ш.Ф. (RU)

(57) Помимо прочего, в данном изобретении предлагаются технологии сайт-направленной конъюгации различных представляющих интерес фрагментов с целевыми агентами. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении используются фрагменты, связывающие цель, для обеспечения высокой эффективности и селективности конъюгации. В некоторых вариантах осуществления предложенные технологии являются пригодными для получения конъюгатов антител.



**202291469
A1**

**202291469
A1**

ТЕХНОЛОГИИ НАПРАВЛЕННОГО КОНЬЮГИРОВАНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Эта заявка испрашивает приоритет по предварительным заявкам США №№ 62/937 131, поданной 18 ноября 2019 г., и 63/063 902, поданной 10 августа 2020 г., каждая из которых полностью включена в данный документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Конъюгаты, например, белковые конъюгаты, такие как конъюгаты антитело-лекарственное средство, применимы для различных целей, например, в качестве диагностических реагентов, терапевтических средств (например, терапевтических средств, нацеленных на антиген) и т.д.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Среди прочего, данное изобретение включает в себя признание того, что существующие технологии конъюгации могут иметь различные недостатки. Например, реакции конъюгации представляющих интерес фрагментов (например, фрагментов детекции, фрагментов лекарственного средства и т. д.) с целевыми молекулами (например, антителами для конъюгатов антитело-лекарственное средство) могут иметь низкую эффективность и/или низкую селективность (например, конъюгация в различных местах расположения (например, различные аминокислотные остатки антител) целевых молекул), а композиции конъюгатов продукта часто являются весьма гетерогенными, включая ряд отдельных типов конъюгатов, каждый из которых независимо имеет свое собственное число копий представляющих интерес фрагментов, мест конъюгации (например, разные аминокислотные остатки белков) и т. д. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения изготовление конъюгатов предусматривает несколько стадий и включает различные реакции, такие как восстановление, окисление, гидролиз и т. д., и такие реакции могут вызывать нежелательные превращения, например, в одном или большем количестве мест расположения фрагментов целевого агента (например, в одном или большем количестве остатков и/или в одной или большем количестве модификаций (например, гликаны) фрагментов антитела). Такие нежелательные превращения могут дополнительно снижать эффективность и/или повышать гетерогенность композиций конъюгатов продуктов, усложнять характеризацию, процессы оценки

и/или очистки и повышать стоимость продукта.

[0004] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются технологии конъюгации для конъюгирования различных представляющих интерес фрагментов с целевыми агентами (например, белками). В некоторых вариантах осуществления предлагаемые технологии обеспечивают направленную конъюгацию, при которой представляющие интерес фрагменты селективно конъюгируются в определенных местах целевых агентов (например, белков, таких как антитела). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаемые технологии используют меньшее количество этапов. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаемые технологии используют мягкие условия реакции. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаемые технологии не включают условий реакции, таких как восстановление, окисление и/или гидролиз. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаемые технологии по существу не включают отщепления от молекул конъюгата, содержащих фрагменты целевого агента и представляющие интерес фрагменты (например, отсутствие отщепления группы от фрагментов целевого агента, представляющих интерес фрагментов и/или линкерных фрагментов). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представляющие интерес фрагменты представляют собой обнаруживаемые фрагменты (например, FITC). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представляющие интерес фрагменты представляют собой фрагменты лекарственного средства (например, различные фрагменты лекарственного средства, применяемые в конъюгатах антитело-лекарственное средство). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представляющие интерес фрагменты представляют собой белковые фрагменты (например, антительные агенты, конъюгированные с другими антительными агентами (в качестве фрагментов целевых агентов)). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представляющие интерес фрагменты представляют собой или содержат реакционные группы. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представляющие интерес фрагменты представляют собой или содержат реакционные группы, так что другие представляющие интерес фрагменты могут быть дополнительно включены посредством реакций в реакционных группах.

[0005] Технологии по данному изобретению могут обеспечивать различные преимущества. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения обеспечивается повышенная эффективность и/или селективность, снижение уровней гетерогенности и/или уменьшение нежелательных превращений (например, за счет меньшего количества стадий реакций (в некоторых вариантах осуществления – только одна), исключения определенных условий реакции (например, восстановление, окисление, гидролиз и др.).

[0006] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются агенты, содержащие представляющие интерес фрагменты, конъюгированные в определенных местах фрагментов целевого агента. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются композиции с повышенной гомогенностью по сравнению с композициями из эталонной технологии (например, технологии без применения фрагментов, связывающих цель (например, LG), как описано в предложенных способах).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0007] Фигура 1. Данные вестерн-блоттинга демонстрируют, что предлагаемые технологии могут обеспечивать различные преимущества (например, повышенную эффективность, улучшенную селективность и т. д. без дополнительных стадий реакции). Реакции ставили с даратумумабом, применяя 10 М экв указанного реагента в бикарбонатном буфере с pH 8,3, в течение 2 часов при 37 °C. Партнеры по реакции: 1: I-1; 2: I-2; 3: I-3; 4: I-4; 5: I-9; 6: I-10; 7: I-11; 8: I-15; 9: I-14.

[0008] Фигура 2. Данные вестерн-блоттинга демонстрируют, что предлагаемые технологии могут обеспечивать различные преимущества (например, повышенную эффективность, улучшенную селективность и т. д. без дополнительных стадий реакции). Реакции ставили с даратумумабом, применяя 30 М экв указанного реагента в боратном буфере с pH 8,3, в течение 20 часов при 37 °C. 1: даратумумаб. Партнеры по реакции для дорожек 2-9: 2: I-10; 3: I-11; 4: I-46; 5: I-24; 6: I-25; 7: I-35; 8: I-36; и 9: I-37.

[0009] Фигура 3. Данные вестерн-блоттинга демонстрируют, что предлагаемые технологии могут обеспечивать различные преимущества (например, повышенную эффективность, улучшенную селективность и т. д. без дополнительных стадий реакции). Реакции ставили с даратумумабом, применяя 5 М экв указанного реагента в бикарбонатном буфере с pH 8,3, в течение 20 часов при 37 °C. 1: даратумумаб. Партнеры по реакции для дорожек 2-10: 2: I-6; 3: I-5; 4: I-13; 5: I-17; 6: I-7; 7: I-8; 8: I-12; 9: I-16; и 10: I-35.

[0010] Фигура 4. Данные вестерн-блоттинга демонстрируют, что предлагаемые технологии могут обеспечивать различные преимущества (например, повышенную эффективность, улучшенную селективность и т. д. без дополнительных стадий реакции). Реакции ставили с даратумумабом, применяя 2,5 М экв указанного реагента в фосфатно-солевом буфере pH 7,4 в течение 4 ч при 25 °C. 1 и 2: даратумумаб. Партнеры по реакции для дорожек 3-14: 3: I-38; 4: I-39; 5: I-40; 6: I-47; 7: I-48; 8: I-49; 9: I-18; 10: I-50; 11: I-51; 12: I-52; 13: I-9; и 14: I-45.

[0011] Фигура 5. Данные вестерн-блоттинга демонстрируют, что предлагаемые технологии

могут обеспечивать различные преимущества (например, повышенную эффективность, улучшенную селективность и т. д. без дополнительных стадий реакции). Реакции были такими, как описано в Таблице 30-8. 1: даратумумаб; 2: I-45, 2,5 экв., 1 мг/мл; 3: I-45, 3,0 экв., 1 мг/мл; 4: I-45, 3,5 экв., 1 мг/мл; 5: I-9, 2,5 экв., 1 мг/мл; 6: I-9, 3,0 экв., 1 мг/мл; 7: I-9, 3,5 экв., 1 мг/мл; 8: I-45, 2,5 экв., 4 мг/мл; 9: I-45, 3,0 экв., 4 мг/мл; 10: I-45, 3,5 экв., 4 мг/мл; 11: I-9, 2,5 экв., 4 мг/мл; 12: I-9, 3,0 экв., 4 мг/мл; 13: I-9, 3,5 экв., 4 мг/мл.

[0012] Фигура 6. Данные вестерн-блоттинга демонстрируют, что предлагаемые технологии могут обеспечивать различные преимущества (например, повышенную эффективность, улучшенную селективность и т. д. без дополнительных стадий реакции). Определенные реакции были такими, как описано в Таблице 30-10. 1: даратумумаб; 2: I-10, PBS, pH 8,2, 25 °C; 3: I-44, PBS, pH 8,2, 25 °C; 4: I-10, PBS, pH 8,0, 25 °C; 5: I-44, PBS, pH 8,0, 25 °C; 6: I-10, PBS, pH 7,8, 25 °C; 7: I-44, PBS, pH 7,8, 25 °C; 8: I-10, PBS, pH 7,4, 30 °C; 9: I-44, PBS, pH 7,4, 30 °C; 10: I-10, PBS, pH 7,4, 37 °C; и 11: I-44, PBS, pH 7,4, 37 °C.

[0013] Фигура 7. Конъюгаты антител сохраняют свойства/активности антител. Реакции ставили с даратумумабом, применяя 30 М экв указанного реагента в боратном буфере с pH 8,3, в течение 20 часов при 37 °C. Слева направо: даратумумаб; конъюгаты с применением I-46; I-24; I-25, I-35, 8: I-36 и I-37; без антитела.

[0014] Фигура 8. Конъюгаты антител сохраняют свойства/активности антител. Реакции ставили с даратумумабом, применяя 5 М экв указанного реагента в бикарбонатном буфере с pH 8,3, в течение 20 часов при 37 °C. Слева направо: даратумумаб; конъюгаты с применением I-6, I-5, I-13, I-17, I-7, I-8, I-12, I-16 и I-35; без антитела.

[0015] Фигура 9. Конъюгаты антител сохраняют свойства/активности антител. Реакции ставили с даратумумабом, применяя 2,5 М экв указанного реагента в фосфатно-солевом буфере pH 7,4 в течение 4 ч при 25 °C. Слева направо: даратумумаб; конъюгаты с применением I-38, I-39, I-40, I-47, I-49, I-48, I-18, I-50, I-51, I-52, I-9, I-45; без антитела.

[0016] Фигура 10. Конъюгаты антител сохраняют свойства/активности антител. Реакции были такими, как описано в Таблице 30-10. 1: даратумумаб; 2: I-10, PBS, pH 8,2, 25 °C; 3: I-44, PBS, pH 8,2, 25 °C; 4: I-10, PBS, pH 8,0, 25 °C; 5: I-44, PBS, pH 8,0, 25 °C; 6: I-10, PBS, pH 7,8, 25 °C; 7: I-44, PBS, pH 7,8, 25 °C; 8: I-10, PBS, pH 7,4, 30 °C; 9: I-44, PBS, pH 7,4, 30 °C; 10: I-10, PBS, pH 7,4, 37 °C; и 11: I-44, PBS, pH 7,4, 37 °C.

[0017] Фигура 11. Определенные данные интактной массы даратумумаба (DAR = 0) в качестве примеров.

[0018] Фигура 12. Определенные данные интактной массы даратумумаба, конъюгированного с I-45, в качестве примера. (a) FITC DAR составляет 0,43. (b) FITC DAR составляет

1,09. (c) FITC DAR составляет 0,90.

[0019] Фигура 13. Определенные данные картирования пептидов даратумумаба, конъюгированного с I-45, в качестве примеров. (a) FITC DAR составляет 0,43. (b) FITC DAR составляет 1,09. (c) FITC DAR составляет 0,90.

[0020] Фигура 14. Определенные данные интактной массы даратумумаба, конъюгированного с I-9, в качестве примеров.

[0021] Фигура 15. Определенные данные картирования пептидов даратумумаба, конъюгированного с I-9 (не содержащего фрагмента, связывающего антитело, которое связывается с даратумумабом), в качестве примеров. FITC DAR составляет 0,44.

[0022] Фигура 16. Определенные данные интактной массы даратумумаба, конъюгированного с I-44, в качестве примеров. (a) Фосфатно-солевой буфер, pH 8,2, 25 °C, 20 ч, 2,5 М экв. I-44, FITC DAR 1,14. (b) Фосфатно-солевой буфер, pH 7,4, 30 °C, 20 ч, 2,5 М экв. I-44. FITC DAR 1,15. (b) Фосфатно-солевой буфер, pH 7,4, 37 °C, 20 ч, 2,5 М экв. I-44. FITC DAR 1,66. (d) Боратный буфер, pH 8,2, 25°C, 20 ч, 2,5 М экв. I-44. FITC DAR 1,42. (e) Боратный буфер, pH 8,2, 25°C, 20 ч, 2,5 М экв. I-44. FITC DAR 0,21.

[0023] Фигура 17. SDS-PAGE химически конъюгированного продукта III-1 (CD20 x CD3), восстановленного и невосстановленного.

[0024] Фигура 18. Предлагаемые агенты, содержащие фрагменты множества антительных агентов, сохраняют свойства и/или активности фрагментов индивидуальных антительных агентов. Например, III-1 (CD20 x CD3) может связываться с CD20 с высокой аффинностью. В качестве примеров приведены данные анализа Octet. $K_d = 1,06$ нМ. $R^2 = 0,9983$.

[0025] Фигура 19. Предлагаемые агенты, содержащие фрагменты множества антительных агентов, могут обеспечивать дополнительные свойства и/или активности по сравнению с фрагментами индивидуальных антительных агентов. Например, III-1 (CD20 x CD3) может связываться с CD3, который может быть компонентом рецепторного комплекса Т-клеток. Помимо прочего, включение CD3 может обеспечивать функцию антител, ответственную за рекрутирование и активность Т-клеток. Приведены некоторые данные анализа ELISA.

[0026] Фигура 20. Предлагаемые агенты, содержащие фрагменты множества антительных агентов, сохраняют свойства и/или активности фрагментов индивидуальных антительных агентов. Например, III-1 (CD20 x CD3) сохраняет свое связывание с CD16 Fc рецептором (CD16a-V158) и свою функцию, отвечающую за рекрутирование NK-клеток. Приведены данные анализа ELISA.

[0027] Фигура 21. Предлагаемые агенты, содержащие фрагменты множества антительных агентов, сохраняют или улучшают свойства и/или активности фрагментов индивидуальных

антительных агентов. Например, III-1 (CD20 x CD3) сохраняет или даже улучшает свое связывание с рецептором FcRn Fc, указывая на то, что механизм рециркуляции антител сохраняется.

[0028] Фигура 22. Предлагаемые технологии могут обеспечить селективную конъюгацию в определенных сайтах. Как продемонстрировано, I-44 может избирательно обеспечивать конъюгацию в сайтах 246 или 248 тяжелых цепей (A) по сравнению с эталонным соединением, например, I-10 (B).

[0029] Фигура 23. Предлагаемые технологии могут эффективно удалять из реакций агенты, содержащие высвобожденные фрагменты, связывающие цель. Продемонстрировано удаление определенного фрагмента, связывающего цель, путем обработки кислыми растворами.

[0030] Фигура 24. Предлагаемые технологии могут обеспечить получение конъюгатов «антитело-антитело». Проиллюстрированы некоторые данные для биспецифических антител «трастузумаб (TRA)-цетуксимаб (CTX)».

[0031] Фигура 25. Предлагаемые конъюгаты «антитело-антитело» связываются с мишенями каждого антитела. Например, некоторые данные анализов связывания ELISA подтверждают, что конъюгат «трастузумаб (TRA)-цетуксимаб (CTX)» связывается как с HER2, так и с EGFR.

[0032] Фигура 26. Предлагаемые конъюгаты «антитело-антитело» связываются с Fc-рецепторами. Например, некоторые данные анализов связывания ELISA подтверждают, что конъюгат «трастузумаб (TRA)-цетуксимаб (CTX)» поддерживает связывание с Fc-рецепторами FcRn и FcRIII на уровне, аналогичном контрольному IgG1.

[0033] Фигура 27. Предлагаемые технологии могут обеспечить высокоэффективную и/или селективную конъюгацию для различных типов антительных агентов. Как продемонстрировано в данном документе, предлагаемые технологии (например, I-44), среди прочего, могут обеспечивать специфическую конъюгацию деносумаба с антителом IgG2.

[0034] Фигура 28. Предлагаемые технологии могут обеспечить высокоэффективную и/или селективную конъюгацию для различных типов антительных агентов. Как продемонстрировано в данном документе, предлагаемые технологии (например, I-44), среди прочего, могут обеспечивать эффективную и специфическую конъюгацию ниволумаба с антителом IgG4.

[0035] Фигура 29. Предлагаемые технологии могут обеспечивать получение конъюгатов «scFv-антитело» с высокой активностью. Например, конъюгат «CD3(scFv)-ритуксимаб» может активировать Т-клетки (A) с минимальным повышением IL6 (B) и может быть до 10 раз более эффективным при деплетировании В-клеток (C).

[0036] Фигура 30. Предлагаемые технологии могут активировать различные эффекторные клетки. В некоторых вариантах осуществления, как продемонстрировано на Фигуре 30, III-1 может активировать эффекторные клетки РВМС. (A): В некоторых вариантах осуществления для измерения

вовлечения Т-клеточного рецептора (TCR)/CD3 и активации Т-клеток применяли эффекторные клетки Jurkat, стабильно экспрессирующие NFAT-RE, вышерасположенные от люциферазы. Активацию измеряли по люминесценции. Для эффиктора + мишени, показатель EC50 составляет 0,10 нМ для III-1 и 0,56 нМ для Fc-молчащего III-1. Только для эффиктора, показатель EC50 составляет >10 нМ как для III-1, так и для Fc-молчащего III-1. (B): В некоторых вариантах осуществления PBMC окрашивали флуоресцентно мечеными античеловеческими антителами, специфичными в отношении CD2, CD56, CD14 и CD19, и субпопуляции PBMC анализировали на маркер активации CD69 с помощью проточной цитометрии.

[0037] Фигура 31. Предлагаемые технологии могут эффективно уничтожать клетки-мишени, такие как раковые клетки. (A): В-лимфобластные клетки Дауди (CD20⁺) были сконструированы для стабильной экспрессии репортерного фрагмента beta-gal с применением ретрочастиц KILR (Eurofins DiscoverX). Клетки-мишени обрабатывали III-1, ритуксимабом и соответствующими контролями в различных концентрациях. Эффекторные клетки из нефракционированных и деплетированных по NK-клеткам PBMC получали из свежеразмороженных или предварительно стимулированных РНА + IL-2 (5 дней) PBMC. Клетки культивировали при соотношении «эффиктор:мишень» 15:1 и инкубировали в течение 18 часов. Сигнал люминесценции получали с помощью люминометра для отображения гибели клеток-мишеней. (B): Клетки эпидермоидной карциномы A-431 (EGFR⁺) обрабатывали различными концентрациями цетуксимаба (CTX)-CD3 MATE, контрольных mAb или scFv. Гибель клеток-мишеней измеряли с применением реагента CytoTox-Glo (Promega).

[0038] Фигура 32. Определенные композиции могут индуцировать активирующие и воспалительные цитокины *in vitro* в зависимости от клетки-мишени. Свежеразмороженные нефракционированные PBMC культивировали с (соотношение «эффиктор:мишень» 20:1) или без клеток-мишеней Дауди и обрабатывали различными концентрациями III-1, ритуксимаба или контрольного scFv (не продемонстрировано) в течение 18 часов. Супернатанты собирали и оценивали с помощью панели цитокинов человека для мультиплексного иммуноанализа (Invitrogen, ProcartaPlex).

[0039] Фигура 33. Предлагаемые технологии могут обеспечивать функции с минимальным повышением уровня провоспалительных цитокинов/хемокинов *in vivo*. (A): Т-клетки идентифицировали как CD45⁺CD3⁺, а активацию определяли посредством CD69 и CD44. (B): В-клетки были идентифицированы как CD45⁺CD3⁻CD14⁻NKG2A⁻HLADR⁺. Отслеживали абсолютное количество и частоту субпопуляций иммунных клеток. Для сравнения, PBMC человека обрабатывали *in vitro* в течение 18 часов и идентифицировали как CD19⁺, после чего рассчитывали процент PBMC. (C): Выбранные уровни цитокинов/хемокинов.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ОПРЕДЕЛЕННЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

1. Определения

[0040] Соединения по данному изобретению включают те, которые в целом описаны в данном документе, и дополнительно проиллюстрированы классами, подклассами и видами, описанными в данном документе. При использовании в данном документе применяются следующие определения, если не указано иное. В целях этого изобретения химические элементы определены в соответствии с Периодической таблицей элементов, версия CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed. Кроме того, общие принципы органической химии описаны в публикациях "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, и "March's Advanced Organic Chemistry", 5th Ed., Ed.: Smith, M.B. и March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001.

[0041] В данном документе, если иное не ясно из контекста, (i) термин в единственном числе можно понимать как означающий «по меньшей мере один»; (ii) термин «или» можно понимать как означающий «и/или»; (iii) термины «содержащий», «содержать», «включающий» (независимо от того, применяется ли он с «не ограничиваясь» или нет) и «включает» (независимо от того, применяется ли он с «не ограничиваясь» или нет) можно понимать как охватывающие детализированные компоненты или этапы, представленные сами по себе или вместе с одним или большим количеством дополнительных компонентов или этапов; (iv) термин «другой» можно понимать как означающий по меньшей мере дополнительный/второй один или большее количество; (v) термины «около» и «приблизительно» можно понимать как допускающие стандартные вариации, как их понимают специалисты в данной области техники; и (vi) в случае приведения диапазонов, в них включены конечные точки. Если не указано иное, соединения, описанные в данном документе, могут поставляться и/или применяться в форме соли, в частности, в форме фармацевтически приемлемой соли.

[0042] *Агент:* В общем, термин «агент», в контексте данного документа, может применяться для обозначения соединения или объекта любого химического класса, включая, например, полипептид, нуклеиновую кислоту, сахарид, липид, низкомолекулярное вещества, металл или комбинацию или их комплекс. В соответствующих обстоятельствах, как будет понятно специалистам в данной области техники из контекста, этот термин может применяться для обозначения объекта, который представляет собой или содержит клетку или организм, или их фракцию, экстракт или компонент. В альтернативном или дополнительном варианте, как будет понятно из контекста, этот термин может применяться для обозначения натурального продукта в том смысле, что он находится в естественной среде и/или получен из нее. В некоторых случаях, опять же, как будет понятно из

контекста, этот термин может применяться для обозначения одного или большего количества объектов, созданных человеком, в том смысле, что они спроектированы, разработаны и/или произведены с помощью рук человека и/или не встречаются в природе. В некоторых вариантах осуществления агент можно использовать в выделенной или чистой форме; в некоторых вариантах осуществления агент можно использовать в неочищенной форме. В некоторых вариантах осуществления потенциальные агенты могут быть представлены в виде коллекций или библиотек, например, которые могут быть подвергнуты скринингу для идентификации или характеристики активных агентов в них. В некоторых случаях термин «агент» может относиться к соединению или объекту, который представляет собой или содержит полимер; в некоторых случаях этот термин может относиться к соединению или объекту, который содержит один или большее количество полимерных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления термин «агент» может относиться к соединению или объекту, который не является полимером и/или по существу не содержит какого-либо полимера и/или одного или большего количества конкретных полимерных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления указанный термин может относиться к соединению или объекту, в котором отсутствует или по существу отсутствует какой-либо полимерный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления указанный агент представляет собой соединение (например, низкомолекулярное вещество, белок, нуклеиновую кислоту и т. д.). В некоторых вариантах осуществления указанный агент представляет собой моно-, би- или поливалентный фрагмент соединения (например, путем удаления одного (для одновалентного фрагмента) или большего количества (для би- или поливалентного фрагмента) атомов водорода и/или других одновалентных групп из соединения).

[0043] *Алифатический*: В контексте данного документа термин «алифатический» означает линейную (т.е. неразветвленную) или разветвленную, замещенную или незамещенную углеводородную цепь, которая является полностью насыщенной или содержит одну или большее количество единиц ненасыщенности, или замещенное или незамещенное моноциклическое, бициклическое или полициклическое углеводородное кольцо, которое является полностью насыщенным или содержит одну или большее количество единиц ненасыщенности (но не ароматических) или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-50 алифатических атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-20 алифатических атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-20 алифатических атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-9 алифатических атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-8 алифатических атомов

углерода. В некоторых вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-7 алифатических атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-6 алифатических атомов углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-5 алифатических атомов углерода, а в еще других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1, 2, 3 или 4 алифатических атома углерода. Пригодные алифатические группы включают, помимо прочего, линейные или разветвленные, замещенные или незамещенные алкильные, алкенильные, алкинильные группы и их гибриды, такие как (циклоалкил)алкил, (циклоалкенил)алкил или (циклоалкил)алкенил.

[0044] *Алкенил:* В контексте данного документа термин «алкенил» относится к алифатической группе, как определено в данном документе, имеющей одну или большее количество двойных связей.

[0045] *Алкил:* В контексте данного документа термин «алкил» имеет свое обычное значение в данной области техники и может включать насыщенные алифатические группы, включая алкильные группы с линейной цепью, алкильные группы с разветвленной цепью, циклоалкильные (алициклические) группы, алкилзамещенные циклоалкильные группы и циклоалкилзамещенные алкильные группы. В некоторых вариантах осуществления алкил имеет 1-100 атомов углерода. В определенных вариантах осуществления алкил с линейной или разветвленной цепью имеет около 1-20 атомов углерода в своем остове (*например*, C₁-C₂₀ для линейной цепи, C₂-C₂₀ для разветвленной цепи), и в альтернативном варианте, около 1-10. В некоторых вариантах осуществления циклоалкильные кольца имеют около 3-10 атомов углерода в своей кольцевой структуре, при этом такие кольца являются моноциклическими, бициклическими или полициклическими, и, в альтернативном варианте, около 5, 6 или 7 атомов углерода в кольцевой структуре. В некоторых вариантах осуществления алкильная группа может представлять собой низшую алкильную группу, при этом низшая алкильная группа содержит 1-4 атома углерода (*например*, C₁-C₄ для низших алкилов с линейной цепью).

[0046] *Алкинил:* В контексте данного документа термин «алкинил» относится к алифатической группе, как определено в данном документе, имеющей одну или большее количество тройных связей.

[0047] *Арил:* В контексте данного документа термин «арил», применяемый отдельно или как часть большего фрагмента, такого как «аралкил», «аралокси» или «арилоксиалкил», относится к моноциклическим, бициклическим или полициклическим кольцевым системам, имеющим в общей сложности от пяти до тридцати членов в кольце, при этом по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим. В некоторых вариантах осуществления арильная группа представляет собой

моноциклическую, бициклическую или полициклическую систему колец, содержащую в общей сложности от пяти до четырнадцати членов в кольце, при этом по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим, и при этом каждое кольцо в системе содержит от 3 до 7 членов в кольце. В некоторых вариантах осуществления арильная группа представляет собой биарильную группу. Термин «арил» может применяться взаимозаменяемо с термином «арильное кольцо». В определенных вариантах осуществления данного изобретения «арил» относится к системе ароматических колец, которая включает, помимо прочего, фенил, бифенил, нафтил, бинафтил, антрацил и т.п., которые могут иметь один или большее количество заместителей. Также в объем термина «арил», как он применяется в данном документе, входит группа, в которой ароматическое кольцо конденсировано с одним или большим количеством неароматических колец, например, инданил, фталимидил, нафтимидил, фенантридинил или тетрагидронафтил, и тому подобное.

[0048] *Антитело:* В контексте данного документа термин «антитело» относится к полипептиду, который включает элементы канонической последовательности иммуноглобулина, достаточные для обеспечения специфического связывания с конкретным антигеном-мишенью. Как известно в данной области техники, интактные антитела, полученные в природе, представляют собой тетрамерные агенты с молекулярной массой приблизительно 150 кДа, состоящие из двух идентичных полипептидов тяжелой цепи (около 50 кДа каждый) и двух идентичных полипептидов легкой цепи (около 25 кДа каждый), которые связываются друг с другом в то, что обычно называют «Y-образной» структурой. Каждая тяжелая цепь состоит по меньшей мере из четырех доменов (каждый длиной около 110 аминокислот) – аминоконцевого переменного (VH) домена (расположенного на концах Y-структуры), за которым следуют три константных домена: CH1, CH2 и карбоксиконцевой CH3 (расположенный у основания стебля Y). Короткая область, известная как «переключатель», соединяет переменную и константную области тяжелой цепи. «Шарнир» соединяет домены CH2 и CH3 с остальной частью антитела. Две дисульфидные связи в этой шарнирной области соединяют два полипептида тяжелой цепи друг с другом в интактном антителе. Каждая легкая цепь состоит из двух доменов: аминоконцевого переменного (VL) домена, за которым следует карбоксиконцевой константный (CL) домен, отделенные друг от друга другим «переключателем». Интактные тетрамеры антител состоят из двух димеров тяжелой и легкой цепей, в которых тяжелая и легкая цепи связаны друг с другом одинарной дисульфидной связью; две другие дисульфидные связи соединяют шарнирные области тяжелой цепи друг с другом, так что димеры соединяются друг с другом и образуется тетрамер. Природные антитела также являются гликозилированными, обычно в домене CH2. Каждый домен в природном антителе имеет структуру, характеризующуюся «иммуноглобулиновой складкой», образованной из двух бета-листов (например, 3-, 4- или 5-

цепочечных листов), упакованных друг против друга в сжатом антипараллельном бета-цилиндре. Каждый вариабельный домен содержит три гипервариабельные петли, известные как «области, определяющие комплементарность» (CDR1, CDR2 и CDR3), и четыре в некоторой степени инвариантных «каркасных» области (FR1, FR2, FR3 и FR4). Когда природные антитела складываются, FR-области образуют бета-листы, которые обеспечивают структурный каркас для доменов, а области петель CDR как тяжелой, так и легкой цепей объединяются в трехмерном пространстве, так что они создают единую гипервариабельный антигенсвязывающий сайт, расположенный на вершине Y-структуры. Fc-область встречающихся в природе антител связывается с элементами системы комплемента, а также с рецепторами на эффекторных клетках, включая, например, эффекторные клетки, которые опосредуют цитотоксичность. Как известно в данной области техники, аффинность и/или другие атрибуты связывания Fc-областей с Fc-рецепторами можно модулировать посредством гликозилирования или другой модификации. В некоторых вариантах осуществления антитела, полученные и/или применяемые в соответствии с данным изобретением, включают гликозилированные домены Fc, включая домены Fc с модифицированным или сконструированным таким гликозилированием. Для целей данного изобретения, в некоторых вариантах осуществления любой полипептид или комплекс полипептидов, который включает достаточное количество последовательностей домена иммуноглобулина, обнаруженных в природных антителах, может называться и/или применяться как «антитело», независимо от того, произведен ли такой полипептид естественным путем (например, сгенерированный организмом, реагирующим на антиген), или полученный с помощью рекомбинантной инженерии, химического синтеза или другой искусственной системы или методологии. В некоторых вариантах осуществления антитело является поликлональным; в некоторых вариантах осуществления антитело является моноклональным. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет последовательности константной области, характерные для антител мыши, кролика, примата или человека. В некоторых вариантах осуществления элементы последовательности антител являются гуманизированными, приматизированными, химерными и т. д., как известно в данной области техники. Кроме того, термин «антитело», в контексте данного документа, может относиться в соответствующих вариантах осуществления (если не указано иное или не ясно из контекста) к любой из известных в данной области техники или разработанных конструкций или форматов для использования структурных и функциональных особенностей антитела в альтернативном представлении. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело, применяемое в соответствии с данным изобретением, находится в формате, выбранном, помимо прочего, из интактных антител IgA, IgG, IgE или IgM; би- или мультиспецифических антител (например, Zybodies[®], дополнительных би- или мультиспецифических

антител, описанных в публикации Ulrich Brinkmann & Roland E. Kontermann (2017) The making of bispecific antibodies, mAbs, 9:2, 182-212, doi: 10.1080/19420862.2016.1268307, etc.); фрагментов антител, таких как Fab-фрагменты, Fab'-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, Fd'-фрагменты, Fd-фрагменты и выделенные CDR или их наборы; одноцепочечных FVS; слияний «полипептид-Fc»; однодоменных антител (например, однодоменные антитела акулы, такие как IgNAR или их фрагменты); верблюжьих антител; маскированных антител (например, Probodyes®); Small Modular ImmunoPharmaceuticals («SMIPs™»); одноцепочечных или тандемных диател (TandAb®); VHH; антикалинов (Anticalins®); нанотел (Nanobodies®); минител; BiTE®; белков анкириновых повторов или дапринов (DARPINs®); авимеров (Avimers®); DART; TCR-подобных антител; аднектинов (Adnectins®); афилинов (Affilins®); транс-тел (Trans-bodies®); аффител (Affibodies®); TrimerX®; микропротеинов; финомеров (Fynomers®); центринов (Centyrins®); калбиторов (KALBITOR®); CovX-тел; и CrossMab. В некоторых вариантах осуществления антитела могут иметь усиленные Fc-домены. В некоторых вариантах осуществления антитела могут содержать один или большее количество неприродных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления антитело может не иметь ковалентную модификацию (например, присоединение гликана), которую оно имел бы, если бы было получено естественным образом. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой афукозилированное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгировано с другим объектом. В некоторых вариантах осуществления антитело может содержать ковалентную модификацию (например, присоединение гликана, полезную нагрузку [например, обнаруживаемый фрагмент, терапевтический фрагмент, каталитический фрагмент и т. д.] или другую боковую группу [например, полиэтиленгликоль и т. д.]).

[0049] *Сопоставимый*: В контексте данного документа термин «сопоставимый» относится к двум или большему количеству агентов, объектов, ситуаций, наборов условий и т. д., которые могут не быть идентичными друг другу, но являются достаточно сходными, чтобы можно было провести сравнение между ними, так что специалисту в данной области техники будет понятно, что выводы могут быть обоснованно сделаны на основе наблюдаемых различий или сходств. В некоторых вариантах осуществления сопоставимые наборы условий, обстоятельств, индивидуумов или популяций характеризуются множеством по существу идентичных признаков и одним или небольшим количеством различных признаков. Специалисты в данной области техники поймут в контексте, какая степень идентичности требуется в любом данном случае, чтобы два или большее количество таких агентов, объектов, ситуаций, наборов условий и т.д. считались сопоставимыми. Например, специалистам в данной области техники будет понятно, что группы обстоятельств, индивидуумов или популяций являются сопоставимыми друг с другом, если они характеризуются

достаточным количеством и типом по существу идентичных признаков, чтобы гарантировать разумный вывод о том, что различия в полученных результатах или явлениях, наблюдаемые при различных обстоятельствах, у отдельных индивидуумов или популяций, вызваны или указывают на различия в тех признаках, которые различаются.

[0050] *Циклоалифатический*: Термины «циклоалифатический», «карбоцикл», «карбоциклил», «карбоциклический радикал» и «карбоциклическое кольцо» применяются взаимозаменяемо и в данном документе относятся к насыщенным или частично ненасыщенным, но неароматическим циклическим алифатическим моноциклическим, бициклическим или полициклическим кольцевым системам, как описано в данном документе, имеющие, если не указано иное, от 3 до 30 кольцевых членов. Циклоалифатические группы включают, помимо прочего, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентенил, циклогексил, циклогексенил, циклогептил, циклогептенил, циклооктил, циклооктенил, норборнил, адамантил и циклооктадиенил. В некоторых вариантах осуществления циклоалифатическая группа имеет 3–6 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления циклоалифатическая группа является насыщенной и представляет собой циклоалкил. Термин «циклоалифатический» может также включать алифатические кольца, конденсированные с одним или большим количеством ароматических или неароматических колец, таких как декагидронафтил или тетрагидронафтил. В некоторых вариантах осуществления циклоалифатическая группа является бициклической. В некоторых вариантах осуществления циклоалифатическая группа является трициклической. В некоторых вариантах осуществления циклоалифатическая группа является полициклической. В некоторых вариантах осуществления «циклоалифатический» относится к C_3 - C_6 моноциклическому углеводороду или C_8 - C_{10} бициклическому или полициклическому углеводороду, который является полностью насыщенным или содержит одну или большее количество единиц ненасыщенности, но который не является ароматическим, и имеет единственную точку присоединения к остальной части молекулы, или C_9 - C_{16} полициклический углеводород, который является полностью насыщенным или содержит одну или большее количество единиц ненасыщенности, но который не является ароматическим, и имеет единственную точку присоединения к остальной части молекулы.

[0051] *Гетероалифатический*: В контексте данного документа термин «гетероалифатический» имеет свое обычное значение в данной области техники и относится к алифатическим группам, как описано в данном документе, в которых один или большее количество атомов углерода независимо заменены одним или большим количеством гетероатомов (например, кислород, азот, сера, кремний, фосфор и др.). В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество единиц, выбранных из C, CH, CH_2 и CH_3 , независимо заменены одним или

большим количеством гетероатомов (включая их окисленные и/или замещенные формы). В некоторых вариантах осуществления гетероолифатическая группа представляет собой гетероалкил. В некоторых вариантах осуществления гетероолифатическая группа представляет собой гетероалкенил.

[0052] *Гетероалкил:* В контексте данного документа термин «гетероалкил» имеет свое обычное значение в данной области техники и относится к алкильным группам, как описано в данном документе, в которых один или большее количество атомов углерода независимо заменены одним или большим количеством гетероатомов (например, кислород, азот, сера, кремний, фосфор и др.). Примеры гетероалкильных групп включают, помимо прочего, алкокси, поли(этиленгликоль)-, алкилзамещенную аминогруппу, тетрагидрофуранил, пиперидинил, морфолинил и т.д.

[0053] *Гетероарил:* В контексте данного документа термины «гетероарил» и «гетероар-», применяемые отдельно или как часть большего фрагмента, *например*, «гетероаралкил» или «гетероаралкокси», относятся к моноциклическим, бициклическим или полициклическим кольцевым системам, имеющим в общей сложности от пяти до тридцати членов кольца, при этом по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим и по меньшей мере один атом ароматического кольца представляет собой гетероатом. В некоторых вариантах осуществления гетероарильная группа представляет собой группу, имеющую от 5 до 10 атомов в кольце (т.е. моноциклическую, бициклическую или полициклическую), в некоторых вариантах осуществления – 5, 6, 9 или 10 атомов в кольце. В некоторых вариантах осуществления гетероарильная группа имеет 6, 10 или 14 π -электронов, общих в циклическом массиве; и имеет помимо атомов углерода от одного до пяти гетероатомов. Гетероарильные группы включают, помимо прочего, тиенил, фуранил, пирролил, имидазолил, пиразолил, триазолил, тетразолил, оксазолил, изоксазолил, оксадиазолил, тиазолил, изотиазолил, тиадиазолил, пиридил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, индолизинил, пуринил, нафтиридинил и птеридинил. В некоторых вариантах осуществления гетероарил представляет собой гетеробиарильную группу, такую как бипиридил и т.п. В контексте данного документа термины «гетероарил» и «гетероар-» также включают группы, в которых гетероароматическое кольцо конденсировано с одним или большим количеством арильных, циклоалифатических или гетероциклических колец, при этом радикал или место присоединения находится на гетероароматическом кольце. Неограничивающие примеры включают индолил, изоиндолил, бензотиенил, бензофуранил, дибензофуранил, индазолил, бензимидазолил, бензтиазазол, хинолил, изохинолил, циннолинил, фталазинил, хиназолинил, хиноксалинил, 4Н-хинолизинил, карбазолил, акридинил, феназинил, фенотиазинил, феноксазинил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил и пиридо[2,3-*b*]-1,4-оксазин-3(4Н)-он. Гетероарильная группа может быть моноциклической, бициклической или полициклической. Термин «гетероарил» может применяться

взаимозаменяемо с терминами «гетероарильное кольцо», «гетероарильная группа» или «гетероароматическая группа», любой из которых включает кольца, которые являются необязательно замещенными. Термин «гетероаралкил» относится к алкильной группе, замещенной гетероарильной группой, при этом алкильная и гетероарильная части независимо являются необязательно замещенными.

[0054] *Гетероатом:* В контексте данного документа термин «гетероатом» означает атом, который не является углеродом или водородом. В некоторых вариантах осуществления гетероатом представляет собой бор, кислород, серу, азот, фосфор или кремний (включая различные формы таких атомов, такие как окисленные формы (например, азота, серы, фосфора или кремния), кватернизованную форму основного азота или замещаемого азота гетероциклического кольца (например, N, как в 3,4-дигидро-2H-пирролиле), NH (как в пирролидиниле) или NR⁺ (как в N-замещенном пирролидиниле) и т.д.). В некоторых вариантах осуществления гетероатом представляет собой кислород, серу или азот.

[0055] *Гетероцикл:* В контексте данного документа термины «гетероцикл», «гетероциклил», «гетероциклический радикал» и «гетероциклическое кольцо» применяются взаимозаменяемо и относятся к моноциклическому, бициклическому или полициклическому кольцевому фрагменту (например, 3-30-членному), который является насыщенным или частично ненасыщенным и имеет один или большее количество кольцевых атомов гетероатома. В некоторых вариантах осуществления гетероциклильная группа представляет собой стабильный 5-7-членный моноциклический или 7-10-членный бициклический гетероциклический фрагмент, который является либо насыщенным, либо частично ненасыщенным и содержит, помимо атомов углерода, один или большее количество, предпочтительно от одного до четырех гетероатомов, как определено выше. При применении в отношении кольцевого атома гетероцикла термин «азот» включает замещенный азот. Например, в насыщенном или частично ненасыщенном кольце, имеющем 0–3 гетероатома, выбранных из кислорода, серы и азота, азот может быть N (как в 3,4-дигидро-2H-пирролиле), NH (как в пирролидиниле), или ⁺NR (как в N-замещенном пирролидиниле). Гетероциклическое кольцо может быть присоединено к соседней группе через любой гетероатом или атом углерода с образованием стабильной структуры, и любой из атомов в кольце может быть необязательно замещен. Примеры таких насыщенных или частично ненасыщенных гетероциклических радикалов включают, помимо прочего, тетрагидрофуранил, тетрагидротиенил, пирролидинил, пиперидинил, пирролинил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил, декагидрохинолинил, оксазолидинил, пиперазинил, диоксанил, диоксоланил, диазепинил, оксазепинил, тиазепинил, морфолинил и хинуклидинил. В контексте данного документа термины «гетероцикл», «гетероциклил», «гетероциклильное кольцо»,

«гетероциклическая группа», «гетероциклический фрагмент» и «гетероциклический радикал» применяются взаимозаменяемо и также включают группы, в которых гетероциклическое кольцо конденсировано с одним или большим количеством арильных, гетероарильных или циклоалифатических колец, таких как индолил, 3*H*-индолил, хроманил, фенантридинил или тетрагидрохинолинил. Гетероциклическая группа может быть моноциклической, бициклической или полициклической. Термин «гетероциклический алкил» относится к алкильной группе, замещенной гетероциклическим, при этом алкильная и гетероциклическая части независимо являются необязательно замещенными.

[0056] *Низший алкил:* Термин «низший алкил» относится к C₁₋₄ линейной или разветвленной алкильной группе. Примерами низших алкильных групп являются метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил и трет-бутил.

[0057] *Низший галогеналкил:* Термин «низший галогеналкил» относится к C₁₋₄ линейной или разветвленной алкильной группе, которая замещена одним или большим количеством атомов галогена.

[0058] *Необязательно замещенный:* В соответствии с описанием в данном документе, соединения по данному изобретению могут содержать необязательно замещенные и/или замещенные фрагменты. В общем случае термин «замещенный», которому предшествует или не предшествует термин «необязательно», означает, что один или большее количество атомов обозначенного фрагмента замещены пригодным заместителем. Если не указано иное, «необязательно замещенная» группа может иметь пригодный заместитель в каждом замещаемом положении группы, а когда существует возможность замещения более одного положения в любой данной структуре более чем одним заместителем, выбранным из указанной группы, заместители могут быть одинаковыми или разными в каждого положения. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенная группа является незамещенной. Комбинации заместителей, предусмотренных в этом изобретении, предпочтительно представляют собой соединения, которые приводят к образованию стабильных или химически возможных соединений. В контексте данного документа термин «стабильный» относится к соединениям, которые по существу не изменяются при воздействии условий, обеспечивающих их получение, выявление и, в определенных вариантах осуществления, их выделение, очистку и применение для одной или большего количества целей, описанных в данном документе. Определенные заместители описаны ниже.

[0059] Пригодные одновалентные заместители на замещаемом атоме, например, пригодный атом углерода, независимо представляют собой галоген; $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$; $-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$, $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, который может быть замещен на R[°]; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-$

$_1\text{Ph}$, который может быть замещен на R° ; $-\text{CH}=\text{CHPh}$, который может быть замещен на R° ; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}$ -пиридил, который может быть замещен R° ; $-\text{NO}_2$; $-\text{CN}$; $-\text{N}_3$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{S})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{S})\text{NR}^\circ_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{S})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OSiR}^\circ_3$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SR}^\circ$, $-\text{SC}(\text{S})\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SC}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{S})\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{NOR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SSR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OS}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{NH})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{Si}(\text{R}^\circ)_3$; $-\text{OSi}(\text{R}^\circ)_3$; $-\text{B}(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{OB}(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{OB}(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{P}(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{P}(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{P}(\text{R}^\circ)(\text{OR}^\circ)$; $-\text{OP}(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{OP}(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{OP}(\text{R}^\circ)(\text{OR}^\circ)$; $-\text{P}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{OP}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^\circ)(\text{SR}^\circ)$; $-\text{SP}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{SP}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{P}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{P}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{P}(\text{R}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$; $-\text{P}(\text{OR}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$; $-\text{OP}(\text{R}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$; $-\text{OP}(\text{OR}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$; $-(\text{C}_{1-4}$ линейный или разветвленный алкилен) $\text{O}-\text{N}(\text{R}^\circ)_2$; или $-(\text{C}_{1-4}$ линейный или разветвленный алкилен) $\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{N}(\text{R}^\circ)_2$, где каждый R° может быть замещен, как определено в данном документе, и независимо представляет собой водород, C_{1-20} алифатическую группу, C_{1-20} гетероалифатическую группу, содержащую 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфора, $-\text{CH}_2-(\text{C}_{6-14}$ арил), $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}(\text{C}_{6-14}$ арил), $-\text{CH}_2-(5-14\text{-членное гетероарильное кольцо})$, $5-20\text{-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое, насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, имеющее 0-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфора, или, несмотря на приведенное выше определение, два независимых случая } \text{R}^\circ$, вместе с промежуточным атомом (атомами) образуют $5-20\text{-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое, насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфор, которые могут быть замещены, как определено ниже.}$

[0060] Пригодные одновалентные заместители на R° (или кольце, образованном двумя независимыми случаями R° вместе с их промежуточными атомами) независимо представляют собой галоген, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{R}^\bullet$, $-(\text{галор}^\bullet)$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{CH}(\text{OR}^\bullet)_2$; $-\text{O}(\text{галор}^\bullet)$, $-\text{CN}$, $-\text{N}_3$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{R}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SH}$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NHR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NR}^\bullet_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SiR}^\bullet_3$, $-\text{OSiR}^\bullet_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{SR}^\bullet$, $-(\text{C}_{1-4}$ линейный или разветвленный алкилен) $\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$, или $-\text{SSR}^\bullet$ где каждый R является незамещенным или, в случае, если ему предшествует «галоген», замещенным только одним или большим количеством галогенов, и независимо выбран из C_{1-4} алифатического фрагмента, $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, и $5-6\text{-членного насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, имеющего 0-4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.}$ Пригодные двухвалентные заместители на насыщенном атоме углерода R°

включают =O и =S.

[0061] Пригодными двухвалентными заместителями, *например*, на пригодном атоме углерода, независимо являются следующие: =O, =S, =NNR^{*}, =NNHC(O)R^{*}, =NNHC(O)OR^{*}, =NNHS(O)₂R^{*}, =NR^{*}, =NOR^{*}, -O(C(R^{*})₂₋₃O)- или -S(C(R^{*})₂₋₃S)-, где каждый независимый случай R^{*} выбран из водорода, C₁₋₆ алифатического фрагмента, который может быть замещен в соответствии с определением ниже, и незамещенного 5-6-членного насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, имеющего 0-4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. Пригодные двухвалентные заместители, которые связаны с вицинальными замещаемыми углеродами «необязательно замещенной» группы включают: -O(CR^{*})₂₋₃O-, где каждый независимый случай R^{*} выбран из водорода, C₁₋₆ алифатического фрагмента, который может быть замещен в соответствии с определением ниже, и незамещенного 5-6-членного насыщенного, частично ненасыщенного и арильного кольца, имеющего 0-4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0062] Пригодные заместители на алифатической группе R^{*} независимо представляют собой галоген, -R[•], -(галор[•]), -OH, -OR[•], -O(галор[•]), -CN, -C(O)OH, -C(O)OR[•], -NH₂, -NHR[•], -NR[•]₂ или -NO₂, где каждый R[•] является незамещенным или, в случае, если ему предшествует «галоген», замещенным только одним или большим количеством галогенов и независимо выбран из C₁₋₄ алифатического фрагмента, -CH₂Ph, -O(CH₂)₀₋₁Ph или 5-6-членного насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, имеющего 0-4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0063] В некоторых вариантах осуществления пригодные заместители на замещаемом атоме азота «необязательно замещенной» группы включают -R[†], -NR[†]₂, -C(O)R[†], -C(O)OR[†], -C(O)C(O)R[†], -C(O)CH₂C(O)R[†], -S(O)₂R[†], -S(O)₂NR[†]₂, -C(S)NR[†]₂, -C(NH)NR[†]₂ или -N(R[†])S(O)₂R[†]; где каждый R[†] независимо представляет собой водород, C₁₋₆ алифатический фрагмент, который может быть замещен в соответствии с определением ниже, незамещенный -OPh или незамещенное 5-6-членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, имеющее 0-4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, или, как исключение из вышеприведенного определения, два независимых случая R[†], вместе со своим (-ими) промежуточным (-ыми) атомом (-ами) образуют 3-12-членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное моно- или бициклическое кольцо, имеющее 0-4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0064] Пригодные заместители на алифатической группе R[†] независимо представляют собой галоген, -R[•], -(галор[•]), -OH, -OR[•], -O(галор[•]), -CN, -C(O)OH, -C(O)OR[•], -NH₂, -NHR[•], -NR[•]₂ или -NO₂, где каждый R[•] является незамещенным или, в случае, если ему предшествует «галоген»,

замещенным только одним или большим количеством галогенов и независимо выбран из C₁₋₄ алифатического фрагмента, -CH₂Ph, -O(CH₂)₀₋₁Ph или 5-6-членного насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, имеющего 0-4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0065] *Частично ненасыщенный*: В контексте данного документа термин «частично ненасыщенный» относится к кольцевому фрагменту, который включает по меньшей мере одну двойную или тройную связь. Термин «частично ненасыщенный» предназначен для охвата колец, имеющих множество участков ненасыщенности, но не предназначен для включения арильных или гетероарильных фрагментов, как определено в данном документе.

[0066] *Фармацевтическая композиция*: В контексте данного документа термин «фармацевтическая композиция» относится к активному агенту, составленному вместе с одним или большим количеством фармацевтически приемлемых носителей. В некоторых вариантах осуществления активный агент присутствует в количестве стандартной дозы, подходящем для введения в терапевтической схеме, которая демонстрирует статистически значимую вероятность достижения заданного терапевтического эффекта при введении соответствующей совокупности организмов. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции могут быть специально составлены для введения в твердой или жидкой форме, включая те, которые адаптированы для следующего: пероральное введение, например, жидкие лекарственные формы для перорального введения (водные или неводные растворы или суспензии), таблетки, например, предназначенные для для трансбуккальной, сублингвальной и системной абсорбции, болюсы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык; парентеральное введение, например, путем подкожной, внутримышечной, внутривенной или эпидуральной инъекции в форме, например, стерильного раствора или суспензии, или состава с замедленным высвобождением; местное применение, например, в форме крема, мази, пластыря или спрея с контролируемым высвобождением, наносимых на кожу, вводимых в легкие или в полость рта; интравагинального или интаректального введения, например, в форме pessaria, крема или пены; сублингвального применения; глазного; трансдермального; или введения через нос, легкие и другие поверхности слизистых оболочек.

[0067] *Фармацевтически приемлемый*: В контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый» относится к тем соединениям, материалам, композициям и/или дозированным формам, которые с медицинской точки зрения являются пригодными для применения в контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, в соответствии с разумным соотношением

«польза/риск».

[0068] *Фармацевтически приемлемый носитель*: В контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый носитель» означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или среду, например, жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество или растворитель, инкапсулирующий материал, участвующий в переносе или транспортировке рассматриваемого соединения от одного органа или части тела к другому органу или части тела. Каждый носитель должен быть «приемлемым» в смысле совместимости с другими ингредиентами препарата и не причинять вреда пациенту. Некоторые примеры материалов, которые могут служить фармацевтически приемлемыми носителями, включают: сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; вспомогательные вещества, такие как масло какао и воски для суппозитория; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновую кислоту; апирогенную воду; изотонический физиологический раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; pH-буферные растворы; сложные полиэфиры, поликарбонаты и/или полиангидриды; и другие нетоксичные совместимые вещества, применяемые в фармацевтических составах.

[0069] *Фармацевтически приемлемая соль*: В контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к солям таких соединений, которые подходят для применения в фармацевтике, т.е. которые в рамках рационального медицинского суждения являются пригодными для применения в контакте с тканями людей и низших животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергического ответа и тому подобного и являются соразмерными с разумным соотношением «польза/риск». Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области техники. Например, S.M.Berge, et al. подробно описывает фармацевтически приемлемые соли в публикации J. Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977). В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли включают, помимо прочего, соли присоединения нетоксичных кислот, представляющих собой соли аминогруппы, образованные с неорганическими кислотами, такими как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и перхлорная кислота, или с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая

кислота или образованные с помощью других способов, применяемых в данной области техники, таких как ионный обмен. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли включают, помимо прочего, адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, формиат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, глюконат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталенсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, п-толуолсульфонат, ундеканоат, валерат и т. д. В некоторых вариантах осуществления предлагаемое соединение содержит одну или большее количество кислотных групп, а фармацевтически приемлемая соль представляет собой щелочной, щелочноземельный металл или аммониевую соль (например, аммониевая соль $N(R)_3$, при этом каждый R независимо определен и описан в данном документе). Типовые соли щелочных или щелочноземельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция, магния и тому подобные. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой натриевую соль. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой калиевую соль. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой кальциевую соль. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли включают, в соответствующих случаях, нетоксичные катионы аммония, четвертичного аммония и аминов, образуемые с участием противоионов, такие как галид, гидроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нитрат, алкил с 1–6 атомами углерода, сульфонат и арилсульфонат. В некоторых вариантах осуществления предлагаемое соединение содержит более одной кислотной группы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль или, как правило, соль такого соединения содержит два или большее количество катионов, которые могут быть одинаковыми или разными. В некоторых вариантах осуществления в фармацевтически приемлемой соли (или, как правило, в соли) весь ионизируемый водород (например, в водном растворе с pK_a не более чем около 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2; в некоторых вариантах осуществления не более чем около 7; в некоторых вариантах осуществления не более чем около 6; в некоторых вариантах осуществления не более чем около 5; в некоторых вариантах осуществления не более чем около 4; в некоторых вариантах осуществления не более чем около 3) в кислотных группах замещен катионами.

[0070] *Защитная группа:* Применяемый в контексте данного документа термин «защитные группы» хорошо известный в данной области техники и включает группы, подробно описанные в

публикации *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene и P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999, включенной в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Также включены защитные группы, специально адаптированные для химии нуклеозидов и нуклеотидов, описанные в публикации *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*, edited by Serge L. Beaucage *et al.* 06/2012, вся глава 2 которой включена в данный документ посредством ссылки. Пригодные аминозащитные группы включают метилкарбамат, этилкарбамат, 9-флуоренилметилкарбамат (Fmoc), 9-(2-сульфо)флуоренилметилкарбамат, 9-(2,7-дибром)фторенилметилкарбамат, 2,7-ди-*t*-бутил-[9-(10,10-диоксо-10,10,10,10-тетрагидротиоксантил)]метилкарбамат (DBD-Fmoc), 4-метоксифенацилкарбамат (Phenoc), 2,2,2-трихлорэтилкарбамат (Troc), 2-триметилсилилэтилкарбамат (Teoc), 2-фенилэтилкарбамат (hZ), 1-(1-адамантил)-1-метилэтилкарбамат (Adpoc), 1,1-диметил-2-галогенэтилкарбамат, 1,1-диметил-2,2-дибромэтилкарбамат (DB-*t*-BOC), 1,1-диметил-2,2,2-трихлорэтилкарбамат (TCBOC), 1-метил-1-(4-бифенилил)этилкарбамат (Bpoc), 1-(3,5-ди-*t*-бутилфенил)-1-метилэтилкарбамат (*t*-Bumeoc), 2-(2'- и 4'- пиридил)этилкарбамат (Pyoc), 2-(*N,N*-дициклогексилкарбоксамидо)этилкарбамат, *t*-бутилкарбамат (BOC), 1-адамантилкарбамат (Adoc), винилкарбамат (Voc), аллилкарбамат (Alloc), 1-изопропилаллилкарбамат (Ipaoc), коричный карбамат (Coc), 4-нитроциннамилкарбамат (Noc), 8-хинолилкарбамат, *N*-гидроксипиперидинилкарбамат, алкилдитиокарбамат, бензилкарбамат (Cbz), *p*-метоксибензилкарбамат (Moz), *p*-нитобензилкарбамат, *p*-бромбензилкарбамат, *p*-хлорбензилкарбамат, 2,4-дихлорбензилкарбамат, 4-метилсульфинилбензилкарбамат (MsZ), 9-антриметилкарбамат, дифенилметилкарбамат, 2-метилтиоэтилкарбамат, 2-метилсульфонилэтилкарбамат, 2-(*p*-толуолсульфонил)этилкарбамат, [2-(1,3-дистианил)]метилкарбамат (Dmoc), 4-метилтиофенилкарбамат (Mtpc), 2,4-диметилтиофенилкарбамат (Bmpc), 2-фосфониоэтилкарбамат (Pcoc), 2-трифенилфосфониоизопропилкарбамат (Ppoc), 1,1-диметил-2-цианоэтилкарбамат, *m*-хлор-*p*-ацилоксибензилкарбамат, *p*-(дигидроксиборил)бензилкарбамат, 5-бензизоксазолметилкарбамат, 2-(трифторметил)-6-хромонилметилкарбамат (Tscoc), *m*-нитрофенилкарбамат, 3,5-диметоксибензилкарбамат, *o*-нитробензилкарбамат, 3,4-диметокси-6-нитробензилкарбамат, фенил(*o*-нитрофенил)метилкарбамат, фенотиазинил-(10)-карбонильное производное, *N'*-*p*-толуолсульфониламинокарбонильное производное, *N'*-фениламинотиокарбонильное производное, *t*-амилкарбамат, 5-бензилтиокарбамат, *p*-цианобензилкарбамат, циклобутилкарбамат, циклогексилкарбамат, циклопентилкарбамат, циклопропилметилкарбамат, *p*-децилоксибензилкарбамат, 2,2-диметоксикарбонилвинилкарбамат, *o*-(*N,N*-диметилкарбоксамидо)бензилкарбамат, 1,1-диметил-3-(*N,N*-диметилкарбоксамидо)пропилкарбамат, 1,1-диметилпропинилкарбамат, ди(2-пиридил)метилкарбамат, 2-фуранилметилкарбамат, 2-йодоэтилкарбамат, изоборинилкарбамат,

изобутилкарбамат, изоникотинилкарбамат, *p*-(*p'*-метоксифенилазо)бензилкарбамат, 1-метилциклобутилкарбамат, 1-метилциклогексилкарбамат, 1-метил-1-циклопропилметилкарбамат, 1-метил-1-(3,5-диметоксифенил)этилкарбамат, 1-метил-1-(*p*-фенилазофенил)этилкарбамат, 1-метил-1-фенилэтилкарбамат, 1-метил-1-(4-пиридил)этилкарбамат, фенилкарбамат, *p*-(фенилазо)бензилкарбамат, 2,4,6-три-*t*-бутилфенилкарбамат, 4-(триметиламмоний)бензилкарбамат, 2,4,6-триметилбензилкарбамат, формаид, ацетаид, хлорацетаид, трихлорацетаид, трифторацетаид, фенилацетаид, 3-фенилпропанаид, пиколинаид, 3-пиридилкарбоксамид, *N*-бензоилфенилаланильное производное, бензамид, *p*-фенилбензамид, *o*-нитофенилацетаид, *o*-нитрофеноксиацетаид, ацетоацетаид, (*N'*-дитиобензилоксикарбониламино)ацетаид, 3-(*p*-гидроксифенил)пропанаид, 3-(*o*-нитрофенил)пропанаид, 2-метил-2-(*o*-нитрофенокси)пропанаид, 2-метил-2-(*o*-фенилазофенокси)пропанаид, 4-хлорбутанаид, 3-метил-3-нитробутанаид, *o*-нитроциннаид, производное *N*-ацетилметионина, *o*-нитробензамид, *o*-(бензоилоксиметил)бензамид, 4,5-дифенил-3-оксазолин-2-он, *N*-фталимид, *N*-дитиасукцинимид (Dts), *N*-2,3-дифенилмалеимид, *N*-2,5-диметилпиррол, *N*-1,1,4,4-тетраметилдисилазациклопентановый аддукт (STABASE), 5-замещенный 1,3-диметил-1,3,5-триазациклогексан-2-он, 5-замещенный 1,3-добензил-1,3,5-триазациклогексан-2-он, 1-замещенный 3,5-динитро-4-пиридон, *N*-метиламин, *N*-аллиламин, *N*-[2-(триметилсилил)этокси]метиламин (SEM), *N*-3-ацетоксипропиламин, *N*-(1-изопропил-4-нитро-2-оксо-3-пироллин-3-ил)амин, четвертичные аммониевые соли, *N*-бензиламин, *N*-ди(4-метоксифенил)метиламин, *N*-5-добензосубериламин, *N*-трифенилметиламин (Tr), *N*-[(4-метоксифенил)дифенилметил]амин (MMTr), *N*-9-фенилфлуорениламин (PhF), *N*-2,7-дихлор-9-флуоренилметиленамин, *N*-ферроценилметиламино (Fcm), *N*-2-пиколиламино *N'*-оксид, *N*-1,1-диметилтиометиленамин, *N*-бензилиденамин, *N*-*p*-метоксибензилиденамин, *N*-дифенилметиленамин, *N*-[(2-пиридил)мезитил]метиленамин, *N*-(*N'*,*N'*-диметиламинометиленамин), *N,N'*-изопропилидендиамин, *N*-*p*-нитробензилиденамин, *N*-салицилиденамин, *N*-5-хлорсалицилиденамин, *N*-(5-хлор-2-гидроксифенил)фенилметиленамин, *N*-циклогексилденамин, *N*-(5,5-диметил-3-оксо-1-циклогексенил) амин, производное *N*-борана, производное *N*-дифенилбориновой кислоты, *N*-[фенил(пентакарбонилхром- или вольфрам)карбонил]амин, *N*-хелат меди, *N*-хелат цинка, *N*-нитроамин, *N*-нитрозоамин, *N*-оксид амина, дифенилфосфинаид (Dpp), диметилтиофосфинаид (Mpt), дифенилтиофосфинаид (Ppt), диалкилфосфорамидады, дибензилфосфорамидад, дифенилфосфорамидад, бензолсульфенаид, *o*-нитробензолсульфенаид (Nps), 2,4-динитробензолсульфенаид, пентахлорбензолсульфенаид, 2-нитро-4-метоксибензолсульфенаид, трифенилметилсульфенаид, 3-нитропиридинсульфенаид (Npys), *p*-толуолсульфонаид (Ts), бензолсульфонаид, 2,3,6,-триметил-4-

метоксибензолсульфонамид (Mtr), 2,4,6-триметоксибензолсульфонамид (Mtb), 2,6-диметил-4-метоксибензолсульфонамид (Pme), 2,3,5,6-тетраметил-4-метоксибензолсульфонамид (Mte), 4-метоксибензолсульфонамид (Mbs), 2,4,6-триметилбензолсульфонамид (Mts), 2, 6-диметокси-4-метилбензолсульфонамид (iMds), 2,6-диметокси-4-метилбензолсульфонамид (iMds), 2,2,5,7,8-пентаметилхроман-6-сульфонамид (Pmc), метансульфонамид (Ms), β -триметилсилилэтансульфонамид (SES), 9-антраценсульфонамид, 4-(4',8'-диметоксинафтилметил)бензолсульфонамид (DNMBS), бензилсульфонамид, трифторметилсульфонамид и фенацилсульфонамид.

[0071] Пригодные защищенные карбоновые кислоты дополнительно включают, помимо прочего, силил-, алкил-, алкенил-, арил- и арилалкил-защищенные карбоновые кислоты. Примеры пригодных силильных групп включают триметилсилил, триэтилсилил, *t*-бутилдиметилсилил, *t*-бутилдифенилсилил, триизопропилсилил и т.п. Примеры пригодных алкильных групп включают метил, бензил, *p*-метоксибензил, 3,4-диметоксибензил, тритил, *t*-бутил, тетрагидропиран-2-ил. Примеры пригодных алкенильных групп включают аллил. Примеры пригодных арильных групп включают необязательно замещенный фенил, бифенил или нафтил. Примеры пригодных арилалкильных групп включают необязательно замещенный бензил (например, *p*-метоксибензил (MPM), 3,4-диметоксибензил, *O*-нитробензил, *p*-нитробензил, *p*-галогенбензил, 2,6-дихлорбензил, *p*-цианобензил) и 2- и 4-пиколил.

[0072] Пригодные гидроксильные защитные группы включают метил, метоксилметил (MOM), метилтиометил (MTM), *m*-бутилтиометил, (фенилдиметилсилил)метоксиметил (SMOM), бензилоксиметил (BOM), *p*-метоксибензилоксиметил (PMBM), (4-метоксифеноксид)метил (*p*-AOM), гваяколметил (GUM), *m*-бутоксиметил, 4-пентенилоксиметил (POM), силоксиметил, 2-метоксиэтоксиметил (MEM), 2,2,2-трихлорэтоксиметил, бис(2-хлорэтоксид)метил, 2-(триметилсилил)этоксиметил (SEMOR), тетрагидропиранил (THP), 3-бромтетрагидропиранил, тетрагидропиранил, 1-метоксициклогексил, 4-метокситетрагидропиранил (MTHP), 4-метокситетрагидротипиранил, 4-метокситетрагидротипиранила *S,S*-диоксид, 1-[(2-хлор-4-метил)фенил]-4-метоксипиперидин-4-ил (CTMP), 1,4-диоксан-2-ил, тетрагидрофуранил, тетрагидротифуранил, 2,3,3а, 4,5,6,7,7а-октагидро-7,8,8-триметил-4,7-метанобензофуран-2-ил, 1-этоксиэтил, 1-(2-хлорэтоксид)этил, 1-метил-1-метоксиэтил, 1-метил-1-бензилоксиэтил, 1-метил-1-бензилокси-2-фторэтил, 2,2,2-трихлорэтил, 2-триметилсилилэтил, 2-(фенилселенил)этил, *m*-бутил, аллил, *p*-хлорфенил, *p*-метоксифенил, 2,4-динитрофенил, бензил, *p*-метоксибензил, 3,4-диметоксибензил, *o*-нитробензил, *p*-нитробензил, *p*-галогенбензил, 2,6-дихлорбензил, *p*-цианобензил, *p*-фенилбензил, 2-пиколил, 4-пиколил, 3-метил-2-пиколил *N*-оксида, дифенилметил,

p,p'-динитробензгидрил, 5-добензосуберил, трифенилметил, α -нафтилдифенилметил, *p*-метоксифенилдифенилметил, ди(*p*-метоксифенил)фенилметил, три(*p*-метоксифенил)метил, 4-(4'-бромфенацилоксифенил)дифенилметил, 4,4',4''-трис(4,5-дихлорфталимидофенил)метил, 4,4',4''-трис(левулиноилоксифенил)метил, 4,4',4''-трис(бензоилоксифенил)метил, 3-(имидазол-1-ил)бис(4',4''-диметоксифенил)метил, 1,1-бис(4-метоксифенил)-1'-пиренилметил, 9-антрил, 9-(9-фенил)ксантенил, 9-(9-фенил-10-оксо)антрил, 1,3-бензодитиолан-2-ил, бензизотиазолил *S,S*-диоксидо, триметилсилил (TMS), триэтилсилил (TES), триизопропилсилил (TIPS), диметилизопропилсилил (IPDMS), диэтилизопропилсилил (DEIPS), диметилтрексилсилил, *m*-бутилдиметилсилил (TBDMS), *m*-бутилдифенилсилил (TBDPS), трибензилсилил, три-*p*-ксилилсилил, трифенилсилил, дифенилметилсилил (DPMS), *t*-бутилметоксифенилсилил (TBMPS), формиат, бензоилформиат, ацетат, хлорацетат, дихлорацетат, трихлорацетат, трифторацетат, метоксиацетат, трифенилметоксиацетат, феноксиацетат, *p*-хлорфеноксиацетат, 3-фенилпропионат, 4-оксопентаноат (левулинат), 4,4-(этилендитио)пентаноат (левулиноилдитиоацеталь), пивалоат, адамантоат, кротонат, 4-метоксикротонат, бензоат, *p*-фенилбензоат, 2,4,6-триметилбензоат (мезитоат), алкилметилкарбонат, 9-флуоренилметилкарбонат (Fmoc), алкилэтилкарбонат, алкил 2,2,2-трихлорэтилкарбонат (Troc), 2-(триметилсилил)этилкарбонат (TMSEC), 2-(фенилсульфонил)этилкарбонат (Psec), 2-(трифенилфосфонат)этилкарбонат (Peoc), алкилизобутилкарбонат, алкилвинилкарбонат, алкилаллилкарбонат, алкил *p*-нитрофенилкарбонат, алкилбензилкарбонат, алкил *p*-метоксибензилкарбонат, алкил 3,4-диметоксибензилкарбонат, алкило-нитробензилкарбонат, алкил-*p*-нитробензилкарбонат, алкил *S*-бензилтиокарбонат, 4-этокси-1-нафтилкарбонат, метил-дитиокарбонат, 2-иодбензоат, 4-азидобутират, 4-нитро-4-метилпентаноат, *o*-(дибромметил)бензоат, 2-формилбензолсульфонат, 2-(метилтиометокси)этил, 4-(метилтиометокси)бутират, 2-(метилтиометоксиметил)бензоат, 2,6-дихлор-4-метилфеноксиацетат, 2,6-дихлор-4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)феноксиацетат, 2,4-бис(1,1-диметилпропил)феноксиацетат, хлордифенилацетат, изобутират, моносукциноат, (*E*)-2-метил-2-бутеноат, *o*-(метоксикарбонил)бензоат, α -нафтоат, нитрат, алкил *N,N,N',N'*-тетраметилфосфородиамидат, алкил *N*-фенилкарбамат, борат, диметилфосфинотиоил, алкил-2,4-динитрофенилсульфенат, сульфат, метансульфонат (мезилат), бензилсульфонат и тозилат (Ts). Для защиты 1,2- или 1,3-диолюв, защитные группы включают метиленацеталь, этилиденацеталь, 1-*t*-бутилэтилиденкеталь, 1-фенилэтилиденкеталь, (4-метоксифенил)этилиденацеталь, 2,2,2-трихлорэтилиден. ацеталь, ацетонид, циклопентилиденкеталь, циклогексилиденкеталь, циклогептилиденкеталь, бензилиденацеталь, *p*-метоксибензилиденацеталь, 2,4-диметоксибензилиденкеталь, 3,4-диметоксибензилиденацеталь, 2-нитробензилиденацеталь, метоксиметиленацеталь, этоксиметиленацеталь, диметоксиметиленортоэфир, 1-

метоксиэтилиденортоэфир, 1-этоксиэтилиденортоэфир, 1,2-диметоксиэтилиденортоэфир, α -метоксибензилиденортоэфир, 1-производное (*N,N*-диметиламино)этилидена, производное α -(*N,N'*-диметиламино)бензилидена, 2-оксациклопентилиденортоэфир, ди-*t*-бутилсилиленовую группу (DTBS), производное 1,3-(1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанилидена) (TIPDS), производное тетра-*t*-бутоксидисилоксан-1,3-дилидена (TBDS), циклические карбонаты, циклические боронаты, этилборонат и фенилборонат.

[0073] В некоторых вариантах осуществления гидроксильная защитная группа представляет собой ацетил, *t*-бутил, *t*-бутоксиметил, метоксиметил, тетрагидропиранил, 1-этоксиэтил, 1-(2-хлорэтокси)этил, 2-триметилсилилэтил, *p*-хлорфенил, 2,4-динитрофенил, бензил, бензоил, *p*-фенилбензоил, 2,6-дихлорбензил, дифенилметил, *p*-нитробензил, трифенилметил (тритил), 4,4'-диметокситритил, триметилсилил, триэтилсилил, трет-бутилдиметилсилил, *t*-бутилдифенилсилил, трифенилсилил, триизопропилсилил, бензоилформиат, хлорацетил, трихлорацетил, трифторацетил, пивалоил, 9-флуоренилметилкарбонат, мезилат, тозилат, трифлат, тритил, монометокситритил (MMTr), 4,4'-диметокситритил (DMTr) и 4,4',4''-триметокситритил (TMTr), 2-цианоэтил (CE или Cne), 2-(триметилсилил)этил (TSE), 2-(2-нитрофенил)этил, 2-(4-цианофенил)этил, 2-(4-нитрофенил)этил (NPE), 2-(4-нитрофенилсульфонил)этил, 3,5-дихлорфенил, 2,4-диметилфенил, 2-нитрофенил, 4-нитрофенил, 2,4,6-триметилфенил, 2-(2-нитрофенил)этил, бутилтиокарбонил, 4,4',4''-трис(бензоилокси)тритил, дифенилкарбамоил, левулинил, 2-(дибромметил)бензоил (Dbmb), 2-(изопропилтиометоксиметил)бензоил (Ptmt), 9-фенилксантен-9-ил (пиксил) или 9-(*p*-метоксифенил)ксантин-9-ил (MOX). В некоторых вариантах осуществления каждая из гидроксильных защитных групп независимо выбрана из ацетила, бензила, *t*-бутилдиметилсилила, *t*-бутилдифенилсилила и 4,4'-диметокситритила. В некоторых вариантах осуществления гидроксильная защитная группа выбрана из группы, состоящей из тритильной, монометокситритильной и 4,4'-диметокситритильной групп. В некоторых вариантах осуществления защитная группа фосфорной связи представляет собой группу, присоединенную к фосфорной связи (например, межнуклеотидной связи) в ходе всего синтеза олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления защитная группа присоединена к атому серы фосфоротиоатной группы. В некоторых вариантах осуществления защитная группа присоединена к атому кислорода межнуклеотидной фосфоротиоатной связи. В некоторых вариантах осуществления защитная группа присоединена к атому кислорода межнуклеотидной фосфатной связи. В некоторых вариантах осуществления защитная группа представляет собой 2-цианоэтил (CE или Cne), 2-триметилсилилэтил, 2-нитроэтил, 2-сульфонилэтил, метил, бензил, *o*-нитробензил, 2-(*p*-нитрофенил)этил (NPE или Npe), 2-фенилэтил, 3-(*N*-трет-бутилкарбоксамидо)-1-пропил, 4-оксопентил, 4-метилтио-1-бутил, 2-циано-1,1-диметилэтил, 4-*N*-

метиламинобутил, 3-(2-пиридил)-1-пропил, 2-[N-метил-N-(2-пиридил)]аминоэтил, 2-(N-формил,N-метил)аминоэтил или 4-[N-метил-N-(2,2,2-трифторацетил)амино]бутил.

[0074] *Субъект:* В контексте данного документа термин «субъект» относится к любому организму, которому вводят соединение или композицию в соответствии с данным изобретением, например, в экспериментальных, диагностических, профилактических и/или терапевтических целях. Типовые субъекты включают животных (например, млекопитающих, таких как мыши, крысы, кролики, приматы, не относящиеся к человеку, и люди, насекомые, черви и т.д.), а также растения. В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек. В некоторых вариантах осуществления субъект может страдать и/или предрасположен к заболеванию, нарушению и/или патологическому состоянию.

[0075] *По существу:* В контексте данного документа термин «по существу» относится к качественному состоянию, демонстрирующему общую или почти полную степень, или степень представляющей интерес характеристики или свойства. Квалифицированный специалист в данной области техники поймет, что биологические и химические явления редко, если вообще когда-либо, доходят до завершения и/или переходят к завершению, достигают или исключают абсолютный результат. Таким образом, термин «по существу» применяется в данном документе для обозначения потенциального недостатка полноты, присущей многим биологическим и/или химическим явлениям.

[0076] *Терапевтический агент:* В контексте данного документа термин «терапевтический агент» в целом относится к любому агенту, который вызывает желаемый эффект (например, желаемый биологический, клинический или фармакологический эффект) при введении субъекту. В некоторых вариантах осуществления агент считается терапевтическим, если он демонстрирует статистически значимый эффект в соответствующей совокупности субъектов. В некоторых вариантах осуществления соответствующая совокупность представляет собой совокупность субъектов, страдающих и/или предрасположенных к заболеванию, нарушению или патологическому состоянию. В некоторых вариантах осуществления соответствующая совокупность может представлять собой совокупность модельных организмов. В некоторых вариантах осуществления соответствующая совокупность может быть определена по одному или большему количеству критериев, таким как возрастная группа, пол, генетический фон, ранее существовавшие патологические состояния, предшествующее воздействию терапии. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой вещество, которое облегчает, улучшает, ослабляет, ингибирует, предотвращает, задерживает начало, уменьшает тяжесть и/или снижает частоту возникновения одного или большего количества симптомов или признаков заболевания, нарушения и/или патологического состояния у субъекта при введении указанному субъекту в эффективном количестве.

В некоторых вариантах осуществления «терапевтический агент» представляет собой агент, который был одобрен или должен быть одобрен правительственным агентством, прежде чем он может быть выведен на рынок для введения людям. В некоторых вариантах осуществления «терапевтический агент» представляет собой агент, для введения которого человеку требуется назначение врача. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой соединение, описанное в данном документе.

[0077] *Терапевтически эффективное количество:* В контексте данного документа термин «терапевтически эффективное количество» означает количество вещества (например, терапевтического агента, композиции и/или состава), которое вызывает желаемый биологический ответ при введении в рамках терапевтической схемы. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество вещества представляет собой количество, которое является достаточным при введении субъекту, страдающему или подверженному заболеванию, нарушению и/или патологическому состоянию, для лечения, диагностики, предотвращения и/или задержки проявления заболевания, нарушения и/или патологического состояния. Как будет понятно специалистам в данной области техники, эффективное количество вещества может варьироваться в зависимости от таких факторов, как желаемый биологический конечный результат, доставляемое вещество, клетка или ткань-мишень и т. д. Например, эффективное количество соединения в составе для лечения заболевания, нарушения и/или патологического состояния представляет собой количество, которое облегчает, ослабляет, улучшает, ингибирует, предотвращает, задерживает начало, уменьшает тяжесть и/или снижает частоту возникновения одного или большего количества симптомов или признаков заболевания, нарушения и/или патологического состояния. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество вводят в виде однократной дозы; в некоторых вариантах осуществления требуется множество стандартных доз для доставки терапевтически эффективного количества.

[0078] *Лечение:* В контексте данного документа термин «лечить», «лечение» или «процесс лечения» относится к любому способу, применяемому для частичного или полного облегчения, ослабления, улучшения, ингибирования, предотвращения, задержки начала, уменьшения тяжести и/или уменьшения частоты возникновения одного или большего количества симптомов или признаков конкретного заболевания, нарушения и/или патологического состояния. Лечение может быть назначено субъекту, у которого нет признаков заболевания, нарушения и/или патологического состояния. В некоторых вариантах осуществления лечение может быть назначено субъекту, у которого проявляются только ранние признаки заболевания, нарушения и/или патологического состояния, например, с целью снижения риска развития патологии, ассоциированной с

заболеванием, нарушением и/или патологическим состоянием.

[0079] *Ненасыщенный*: В контексте данного документа термин «ненасыщенный» означает, что фрагмент имеет одно или более звеньев или одну или большее количество единиц ненасыщенности.

[0080] Если не указано иное, структуры, описанные в данном документе, также включают все изомерные (например, энантиомерные, диастереомерные и геометрические (или конформационные)) формы структуры; например, конфигурации R и S для каждого асимметричного центра, изомеры двойной связи Z и E и конформационные изомеры Z и E. Следовательно, одиночные стереохимические изомеры, а также энантиомерные, диастереомерные и геометрические (или конформационные) смеси представленных соединений входят в объем данного изобретения. Аналогично, если не указано иное, все таутомерные формы соединений входят в объем данного изобретения. Кроме того, если не указано иное, структуры, описанные в данном документе, также включают соединения, которые отличаются только наличием одного или большего количества изотопно обогащенных атомов. Например, соединения, имеющие данные структуры, включая замену водорода на дейтерий или тритий или замену углерода на ^{13}C - или ^{14}C -обогащенный углерод, входят в объем данного изобретения. Такие соединения являются пригодными, например, в качестве аналитических инструментов, в качестве зондов в методах биологического анализа или в качестве терапевтических агентов в соответствии с данным изобретением.

2. Описание вариантов осуществления:

[0081] Как описано в данном документе, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются технологии, которые могут конъюгировать представляющие интерес фрагменты с мишенями с высокой эффективностью, высокой селективностью и/или уменьшенными побочными превращениями (например, благодаря количеству химических реакций и/или условиям/типам химических реакций). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются пригодные реагенты и способы конъюгации, а также предлагаются композиции продуктов с повышенной гомогенностью (например, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, или 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более раз, увеличение модификации /конъюгации в одном или большем количестве желаемых сайтов агентов-мишеней и/или 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более раз, уменьшение модификации/конъюгации в одном или большем количестве нежелательных сайтов целевых агентов), чистоту и/или уменьшение количества нежелательных модификаций (например, определенных белковых остатков в результате побочных

реакций). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается соединение формулы R-I или его соли, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы R-I или его соль можно применять для введения представляющего интерес фрагмента в мишень на одной стадии реакции. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается агенты формулы P-I или P-II или их соли. В некоторых вариантах осуществления композиция продукта включает множество агентов, имеющих структуру формулы P-I или P-II, или их соли, при этом композиция продукта имеет более высокий уровень гомогенности указанных агентов по сравнению с эталонной композицией продукта (например, композиция продукта из способа, в котором соединение формулы R-I или его соль заменено соединением, которое имеет ту же структуру, что и соединение формулы R-I или его соль, за исключением того, что каждый фрагмент, связывающий цель, заменен на -H).

[0082] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается способ, включающий следующие этапы:

1) приведение в контакт целевого агента с партнером по реакции, включающее:

первую группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом,

реакционную группу;

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно один или большее количество линкерных фрагментов;

2) формирование агента, содержащего:

фрагмент целевого агента;

фрагмент, представляющий интерес; а также

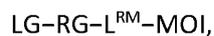
необязательно один или большее количество линкерных фрагментов.

[0083] В некоторых вариантах осуществления реакционная группа расположена между первой группой и представляющим интерес фрагментом и связана с первой группой и представляющим интерес фрагментом независимо и необязательно через линкерный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения партнер по реакции представляет собой соединение формулы R-I или его соль. В некоторых вариантах осуществления первая группа представляет собой или содержит группу LG, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления первая группа представляет собой или содержит группу LG, как описано в

данном документе.

[0084] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается способ, включающий следующие этапы:

1) приведение в контакт целевого агента с партнером по реакции, имеющим структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

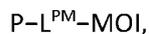
LG представляет собой группу, включающую домен, связывающий цель, который связывается с целевым агентом,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес; а также

2) формирование агента, имеющего структуру формулы P-I:



(P-I)

или его соль, где

P представляет собой фрагмент целевого агента;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

[0085] В некоторых вариантах осуществления целевым агентом является белковый агент. В некоторых вариантах осуществления целевой агент. В некоторых вариантах осуществления целевым агентом является антитело. В некоторых вариантах осуществления целевым агентом является антитело IgG. В некоторых вариантах осуществления целью является белок, и представляющий интерес фрагмент конъюгирован на одном или большем количестве остатков лизина. В некоторых вариантах осуществления агент формулы P-I или его соль представляет собой агент формулы P-II или его соль.

[0086] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается способ изготовления агента, имеющего структуру P-II:



(P-II)

где:

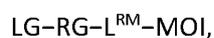
P-N представляет собой фрагмент белкового агента, содержащий остаток лизина;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес;

способ, включающий:

приведение в контакт P-N с партнером по реакции, имеющим структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой группу, содержащую белок-связывающий домен, который связывается с P-N,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

[0087] В некоторых вариантах осуществления, приведенных в данном документе в качестве примера, приведение в контакт осуществляется в условиях и в течение времени, достаточных для того, чтобы остаток лизина N прореагировал и образовал связь с атомом RG и высвободил LG.

Цели

[0088] Специалисты в данной области техники после прочтения данного документа оценят, что предложенные в данном изобретении технологии являются пригодными для конъюгации различных целевых агентов со многими типами представляющих интерес фрагментов. В некоторых вариантах осуществления предложенные технологии являются особенно пригодными для

конъюгации белковых агентов с различными представляющими интерес фрагментами. В некоторых вариантах осуществления целевые агенты представляют собой или содержат нуклеиновые кислоты.

[0089] В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой или содержит белковый агент. В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой белковый агент. В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой природный белок в клетке, ткани, органе или организме. В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой эндогенный белок. В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой экзогенный белок. В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой искусственный белок, например, белок, полученный с применением различных биотехнологий. В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой антительный агент. В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой антитело, применимое в качестве терапевтического средства. Различные такие антитела известны в данной области техники и могут применяться в качестве целевых агентов. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой поликлональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой IVIG (в некоторых вариантах осуществления антитело получено от здоровых доноров). В некоторых вариантах осуществления белок содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну тяжелую цепь или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит две тяжелые цепи или их фрагменты. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело человека. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой гуманизованное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело мыши.

[0090] В некоторых вариантах осуществления при характеристике агентов поликлональных антител или агентов IVIG до, во время или после конъюгации проводят расщепление, например, ферментативное расщепление с применением IdeZ, IdeS и т. д., чтобы удалить определенные области антител (например, Fab) для получения композиций с улучшенной гомогенностью для характеристики (например, с помощью MS).

[0091] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой терапевтическое антитело, например, антитело, одобренное FDA для терапевтического применения. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое антитело является пригодным для лечения рака. В

некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой адалимумаб, алемтузумаб, атезолизумаб, авелумаб, ипилимумаб, цетуксимаб, даратумумаб, динутуксимаб, элотузумаб, ибритумомаб тиуксетан, имгатузумаб, инфликсимаб, ипилимумаб, нецитумумаб, обинутузумаб, офатумумаб, пертузумаб, реслизумаб, реслизумаб, AMP-224, FS-102, GSK-2857916, ARGX-111, ARGX-110, AFM-13, APN-301, BI-836826, BI-836858, эноблитузумаб, отлртузумаб, вельтузумаб, КНК-4083, BIW-8962, ALT-803, каротуксимаб, эпратузумаб, инебилизумаб, изатуксимаб, маргетуксимаб, MOR-208, окаратузумаб, талакотузумаб, тремелимумаб, бенрализумаб, люмиликсимаб, MOR-208, ифибатузумаб, GSK2831781, SEA-CD40, КНК-2823 или BI836858. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой ритуксимаб, базиликсимаб, инфликсимаб, цетуксимаб, силтуксимаб, динутуксимаб, альтертоксимаб, даклизумаб, паливизумаб, трастузумаб, алемтузумаб, омализумаб, эфализумаб, бевацизумаб, натализумаб, тоцилизумаб, экулизумаб, могамулизумаб, пертузумаб, обинутузумаб, ведолизумаб, пембролизумаб, меполизумаб, элотузумаб, даратумумаб, иксекизумаб, реслизумаб и атезолизумаб, адалимумаб, панитумумаб, голимумаб, устекинумаб, канакинумаб, офатумумаб, деносуаb, ипилимумаб, белимумаб, раксибакумаб, рамуцирумаб, ниволумаб, секукинумаб, эволокумаб, алирокумаб, нецитумумаб, бродалумаб или оларатумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой даратумумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления предлагаемое соединение или агент, содержащий фрагмент антительного агента, является пригодным для лечения патологического состояния, нарушения или заболевания, которое можно лечить с помощью антительного агента.

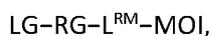
[0092] Антитела могут быть получены с помощью ряда технологий в соответствии с данным изобретением. В некоторых вариантах осуществления антитела могут иметь модифицированную структуру по сравнению с природными иммуноглобулинами. В некоторых вариантах осуществления антитела могут содержать определенные метки для очистки, идентификации, оценки и т. д. В некоторых вариантах осуществления антитела могут содержать фрагменты (например, CDR и/или Fc и т. д.), а не полные иммуноглобулины. Специалистам в данной области будет понятно, что, когда в данном описании упоминается сайт антитела (например, K246, K248, K288, K290, K317 и т. д.; если не указано иное, человеческое антитело согласно нумерации EU), аминокислотный остаток может находиться не в точно пронумерованном сайте, но может находиться в сайте, который соответствует этому пронумерованному сайту, например, согласно нумерации ЕС и/или гомологии последовательностей (например, гомологи одного и того же или разных видов).

[0093] Как будет понятно специалистам в данной области техники, предлагаемые технологии, среди прочего, могут обеспечить направленную конъюгацию с нативными мишенями,

например, нативными антителами. В некоторых вариантах осуществления целевые агенты представляют собой или содержат агенты нативного антитела. В некоторых вариантах осуществления целевые агенты представляют собой или содержат агенты сконструированного антитела. В некоторых вариантах осуществления целевые агенты, например, антитела, не содержат сконструированных неприродных аминокислотных остатков.

Соединения-партнеры

[0094] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются соединения, каждое из которых независимо содержит первую группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом, реакционную группу, представляющий интерес фрагмент и, необязательно, один или большее количество линкерных фрагментов, связывающих такие группы/фрагменты. В некоторых вариантах осуществления такое соединение можно применять в качестве партнера по реакции для конъюгации представляющих интерес фрагментов с целевыми элементами. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются соединения для конъюгации представляющих интерес фрагментов с целевыми элементами (например, разными белками). В некоторых вариантах осуществления каждое предлагаемое соединение содержит представляющий интерес фрагмент, реакционную группу, фрагмент, связывающий цель, и, необязательно, один или большее количество линкерных фрагментов (линкеров), связывающих такие фрагменты. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, является частью уходящей группы, которая высвобождается при контакте такого соединения с целью и взаимодействии реакционной группы соединения с реакционной группой цели (например, $-NH_2$ остатка Lys целевого белка). Как продемонстрировано в данном документе, предлагаемые соединения, среди прочего, могут обеспечивать повышенную эффективность конъюгации, высокую селективность и меньшее количество стадий (в некоторых случаях – одну стадию) для продуктов конъюгации. В некоторых вариантах осуществления предлагаемое соединение имеет структуру формулы R-I или его соль:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

[0095] В некоторых вариантах осуществления первая группа представляет собой LG.

[0096] В некоторых вариантах осуществления LG представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, который может связываться с целевым агентом, и необязательно линкерный фрагмент.

[0097] В контексте данного документа, фрагмент обычно относится к части молекулы, например, в сложном эфире RCOOR' спиртовым фрагментом является RO-. В некоторых вариантах осуществления фрагмент соединения (например, целевой агент, белковый агент, антительный агент и т. д.) сохраняет одну или большее количество или все желаемые структурные особенности, свойства, функции и/или активности соединения. Например, в некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, может связываться с целью, необязательно сопоставимым образом, как и соответствующее ей соединение, связывающееся с целью; в некоторых вариантах осуществления фрагмент целевого агента сохраняет один или большее количество желаемых структурных признаков, свойств, функций и/или свойств, сопоставимых с соответствующим соединением целевого агента; в некоторых вариантах осуществления фрагмент антительного агента сохраняет одну или большее количество желаемых структурных характеристик, свойств, функций и/или свойств (например, трехмерную структуру, антигенную специфичность, антигенсвязывающую способность и/или иммунологические функции и т. д.), сопоставимых с соответствующим соединением антительного агента. В некоторых вариантах осуществления фрагмент соединения, например, фрагмент целевого агента, фрагмент белкового агента, фрагмент антительного агента и т. д., является моновалентным (для моновалентного фрагмента), двухвалентным (для двухвалентного фрагмента) или поливалентным (для поливалентного фрагмента) радикалом соединения, например, соединение целевого агента (для фрагмента целевого агента), соединение белкового агента (для фрагмента белкового агента), соединение антительного агента (для фрагмента антительного агента) и т. д. В некоторых вариантах осуществления одновалентный радикал образуется путем удаления из соединения одновалентной части (например, водорода, галогена, другой одновалентной группы, такой как алкил, арил и т. д.). В некоторых вариантах осуществления двухвалентный или поливалентный радикал образуется путем удаления одной или большего количества одновалентных (например, водорода, галогена, одновалентных групп, таких как алкильные, арильные и т. д.), двухвалентных и/или поливалентных частей из соединения. В некоторых вариантах осуществления радикалы образуются путем удаления атомов водорода. В некоторых вариантах осуществления фрагмент является одновалентным. В некоторых вариантах осуществления фрагмент является

двухвалентным. В некоторых вариантах осуществления фрагмент является поливалентным.

[0098] В некоторых вариантах осуществления LG представляет собой или содержит $R^{LG}-L^{LG}-$, где R^{LG} представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, а L^{LG} представляет собой L^{LG1} , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{LG} представляет собой $-L^{LG1}-L^{LG2}-$, где каждый из L^{LG1} и L^{LG2} независимо представляет собой описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{LG} представляет собой $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-$, где каждый из L^{LG1} , L^{LG2} и L^{LG3} независимо представляет собой описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{LG} представляет собой $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-$, где каждый из L^{LG1} , L^{LG2} , L^{LG3} и L^{LG4} независимо представляет собой описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} связан с R^{LG} . В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} связан с представляющим интерес фрагментом. В некоторых вариантах осуществления L^{LG} представляет собой $-L^{LG1}-$, а реакционная группа содержит L^{LG2} , L^{LG3} и L^{LG4} . В некоторых вариантах осуществления L^{LG} представляет собой $-L^{LG1}-L^{LG2}-$, а реакционная группа содержит L^{LG3} и L^{LG4} . В некоторых вариантах осуществления L^{LG} представляет собой $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-$, а реакционная группа содержит L^{LG4} .

[0099] В некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие цель, первые группы и/или LG высвобождаются после реакций, например, после взаимодействия соединений-партнеров с целевыми агентами. В некоторых вариантах осуществления первая группа высвобождается после реакции. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, высвобождается после реакции. В некоторых вариантах осуществления LG высвобождается после реакции. В некоторых вариантах осуществления первая группа высвобождается как часть соединения, имеющего структуру LG-H, или его соли. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, высвобождается как часть соединения, имеющего структуру LG-H, или его соли. В некоторых вариантах осуществления LG высвобождается как часть соединения, имеющего структуру LG-H, или его соли. В некоторых вариантах осуществления первая группа высвобождается как часть соединения, имеющего структуру $R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H$, или его соли. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, высвобождается как часть соединения, имеющего структуру $R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H$, или его соли. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, высвобождается как часть соединения, имеющего структуру $R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H$, или его соли, где R^{LG} представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель. В некоторых вариантах осуществления LG высвобождается как часть соединения, имеющего структуру $R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H$, или его соли, где LG представляет собой $R^{LG}-L^{LG}$, а L^{LG} представляет собой $-L^{LG1}-$, $-L^{LG1}-L^{LG2}-$, $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-$, или $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-$. В некоторых вариантах осуществления LG высвобождается как часть соединения, имеющего структуру

$R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H$, или его соли, где LG представляет собой $R^{LG}-L^{LG1}-$. В некоторых вариантах осуществления LG высвобождается как часть соединения, имеющего структуру $R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H$, или его соли, где LG представляет собой $R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}$. В некоторых вариантах осуществления LG высвобождается как часть соединения, имеющего структуру $R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H$, или его соли, где LG представляет собой $R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}$. В некоторых вариантах осуществления LG высвобождается как часть соединения, имеющего структуру $R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H$, или его соли, где LG представляет собой $R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}$.

[0100] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу C_{1-100} , содержащую один или большее количество алифатических фрагментов, арильных фрагментов, гетероалифатических фрагментов, каждый из которых независимо содержит 1-20 гетероатомов, гетероароматических фрагментов, каждый из которых независимо содержит 1-20 гетероатомов, или любых комбинаций любого одного или большего количества таких фрагментов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на C_{1-6} алкилен, C_{1-6} алкенилен, двухвалентную C_{1-6} гетероалифатическую группу, имеющую 1-5 гетероатомов, $-C\equiv C-$, $-C_2-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, аминокислотный остаток или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2)_n]-$, где n представляет собой 1-20. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или двухвалентную необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_{1-100} алифатическую или гетероалифатическую группу с 1-20 гетероатомами, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C\equiv C-$, $-C_2-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2)_n]-$, где n представляет собой 1-20. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или двухвалентную необязательно замещенную, линейную или разветвленную $C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_{10}, C_{15}, C_{20}, C_{25}, C_{30}, C_{40}, C_{50}, C_{60}, C_{1-2}, C_{1-5}, C_{1-10}, C_{1-15}, C_{1-20}, C_{1-30}, C_{1-40}, C_{1-50}, C_{1-60}, C_{1-70}, C_{1-80}$, или C_{1-90} алифатическую или гетероалифатическую группу 1-10 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C\equiv C-$, $-C_2-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$,

$-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$,
 $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, аминокислотные остатки или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$, где n представляет собой 1-20. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 , C_{10} , C_{15} , C_{20} , C_{25} , C_{30} , C_{40} , C_{50} , C_{60} , C_{1-2} , C_{1-5} , C_{1-10} , C_{1-15} , C_{1-20} , C_{1-30} , C_{1-40} , C_{1-50} , C_{1-60} , C_{1-70} , C_{1-80} , или C_{1-90} алифатическую или гетероалифатическую группу из 1-10 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C\equiv C-$, $-C\equiv N-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, аминокислотные остатки или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$, где n представляет собой 1-10. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 , C_{10} , C_{15} , C_{20} , C_{25} , C_{30} , C_{40} , C_{50} , C_{60} , C_{1-2} , C_{1-5} , C_{1-10} , C_{1-15} , C_{1-20} , C_{1-30} , C_{1-40} , C_{1-50} , C_{1-60} , C_{1-70} , C_{1-80} , или C_{1-90} алифатическую группу, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-O-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, аминокислотные остатки или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$, где n представляет собой 1-10. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 , C_{10} , C_{15} , C_{20} , C_{25} , C_{30} , C_{40} , C_{50} , C_{60} , C_{1-2} , C_{1-5} , C_{1-10} , C_{1-15} , C_{1-20} , C_{1-30} , C_{1-40} , C_{1-50} , C_{1-60} , C_{1-70} , C_{1-80} , или C_{1-90} алифатическую группу, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-O-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$, где n представляет собой 1-10. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_{1-10} алифатическую группу, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-O-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C\equiv N-$, или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$, где n представляет собой 1-10. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_{1-10} алифатическую группу, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-O-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$, где n представляет собой 1-10. В некоторых вариантах осуществления L не содержит $-C(O)O-$. В некоторых вариантах осуществления L не содержит $-C(O)N(R')-$. В некоторых

вариантах осуществления L не содержит $-S-$. В некоторых вариантах осуществления L не содержит $-S-Cu-$. В некоторых вариантах осуществления L не содержит $-S-S-$. В некоторых вариантах осуществления L не содержит одного или большего количества из $-C(O)O-$, $-C(O)-N(R')$, $-S-$ и $-S-S-$. В некоторых вариантах осуществления L не содержит одного или большего количества из $-C(O)O-$, $-C(O)-N(R')$, $-S-Cu-$ и $-S-S-$. В некоторых вариантах осуществления L не содержит одного или большего количества из $-C(O)O-$, $-S-$ и $-S-S-$. В некоторых вариантах осуществления L не содержит одного или большего количества из $-C(O)O-$, $-S-Cu-$ и $-S-S-$. В некоторых вариантах осуществления L не содержит ни одного из $-C(O)O-$, $-S-$ и $-S-S-$. В некоторых вариантах осуществления L не содержит ни одного из $-C(O)O-$, $-S-Cu-$ и $-S-S-$. В некоторых вариантах осуществления L не содержит ни одного из $-C(O)O-$ и $-S-S-$.

[0101] В некоторых вариантах осуществления каждый аминокислотный остаток независимо представляет собой остаток аминокислоты, имеющей структуру формулы A-I, или ее соли. В некоторых вариантах осуществления каждый аминокислотный остаток независимо имеет структуру $-N(R^{a1})-L^{a1}-C(R^{a2})(R^{a3})-L^{a2}-CO-$ или форму его соли. В некоторых вариантах осуществления каждый аминокислотный остаток независимо имеет структуру $-N(R^{a1})-C(R^{a2})(R^{a3})-CO-$ или форму его соли.

[0102] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L не представляет собой ковалентную связь.

[0103] В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} не представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой или содержит $-(CH_2CH_2O)_n-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой или содержит $-(CH_2)_n-O-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_n-$, где каждый n независимо является таким, как описано в данном документе, и каждый $-CH_2-$ независимо необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой $-(CH_2)_n-O-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_n-$, где каждый n независимо является таким, как описано в данном документе, и каждый $-CH_2-$ независимо необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой $-(CH_2)_2-O-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_2-$, где n является таким, как описано в данном документе, и каждый $-CH_2-$ независимо необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой $-(CH_2)_2-O-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_2-$, где n является таким, как описано в данном документе.

[0104] В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой $-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой $-(CH_2)_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой $-(CH_2)_2-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой $-(CH_2)_2-C(O)-NH-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой $-(CH_2)_3-$. В

замещенным. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-(CH_2)_n-OC(O)N(R')-$, где $-(CH_2)_n-$ является необязательно замещенным. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-(CH_2)_n-OC(O)NH-$, где $-(CH_2)_n-$ является необязательно замещенным. В некоторых вариантах осуществления n равно 1-10, например, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления n равно 1. В некоторых вариантах осуществления n равно 2. В некоторых вариантах осуществления n равно 3. В некоторых вариантах осуществления $-(CH_2)_n-$ является замещенным. В некоторых вариантах осуществления $-(CH_2)_n-$ является незамещенным. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-CH_2N(CH_2CH_2CH_2S(O)_2OH)-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-C(O)-NHCH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-C(O)-NHCH_2CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-C(O)O-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-NH-C(O)O-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления $-C(O)-$ связан с L^{LG3} . В некоторых вариантах осуществления $-N(R')$, $-NH-$, или необязательно замещенная единица $-CH_2-$ (необязательно замещенная $-(CH_2)_n-$) связана с L^{LG3} .

[0113] В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-N(R')$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-N(R)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-NH-$.

[0114] В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой необязательно замещенную двухвалентную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-CH_2NH-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-CH_2NH-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой $-CH_2NH-C(O)-CH_2-$.

[0115] В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой или содержит необязательно замещенное арильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой или содержит необязательно замещенное фенильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой фенильное кольцо, замещенное одной или большим количеством электроноакцепторных групп. Как будет понятно специалистам в данной области техники, в данной области техники известны различные электроноакцепторные группы, которые можно применять в соответствии с данным изобретением. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой галоген. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-F$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-Cl$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-Br$. В некоторых вариантах

осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-I$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа содержит двойную связь $X=Y$, где X связан с группой, заместителем которой является электроноакцепторная группа, и по меньшей мере один из X и Y представляет собой гетероатом. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой гетероатом. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой гетероатом. В некоторых вариантах осуществления каждый из X и Y независимо представляет собой гетероатом. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой O . В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой S . В некоторых вариантах осуществления X представляет собой C . В некоторых вариантах осуществления X представляет собой N . В некоторых вариантах осуществления X представляет собой P . В некоторых вариантах осуществления X is S . В некоторых вариантах осуществления $X=Y$ представляет собой $C=O$. В некоторых вариантах осуществления $X=Y$ представляет собой $N=O$. В некоторых вариантах осуществления $X=Y$ представляет собой $S=O$. В некоторых вариантах осуществления $X=Y$ представляет собой $P=O$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-C(O)-L-R'$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-C(O)-R'$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-NO_2$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-S(O)-L-R'$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-S(O)-R'$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-S(O)_2-L-R'$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-S(O)_2-L-R'$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-S(O)_2-N(R')_2$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-P(O)(-L-R')_2$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-P(O)(R')_2$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-P(O)(OR')_2$. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа представляет собой $-P(O)(OR')_2$.

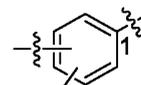
[0116] В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой $-L^{LG3a}-L^{LG3b}-$, где L^{LG3a} представляет собой ковалентную связь, или $-C(O)O-CH_2-$, где $-CH_2-$ является необязательно замещенным, а L^{LG3b} представляет собой необязательно замещенное арильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления L^{LG3a} связан с L^{LG2} , а L^{LG3b} связан с L^{LG4} .

[0117] В некоторых вариантах осуществления связан представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{LG3a} представляет собой $-C(O)O-CH_2-$, где $-CH_2-$ является необязательно замещенным. В некоторых вариантах осуществления L^{LG3a} представляет собой $-CH_2-$, где $-CH_2-$ является замещенным. В некоторых вариантах осуществления L^{LG3a} представляет собой

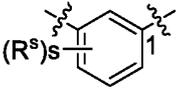
-C(O)O-CH₂-, где -CH₂- является незамещенным.

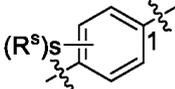
[0118] В некоторых вариантах осуществления первая группа, фрагмент, связывающий цепь, LG высвобождается как часть соединения, имеющего структуру R^{LG}-L^{LG1}-L^{LG2}-H, или его соли.

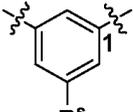
[0119] В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой необязательно замещенное фенильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один заместитель представляет собой электроноакцепторную группу, как описано в данном документе.

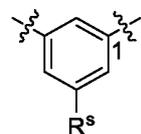


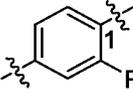
[0120] В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой (R^s)_s, где s равно 0-4, каждый R^s независимо представляет собой галоген, -NO₂, -L-R', -C(O)-L-R', -S(O)-L-R', -S(O)₂-L-R', или -P(O)(-L-R')₂. В некоторых вариантах осуществления C1 связан с L^{LG4}. В некоторых

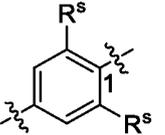
вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой . В некоторых вариантах

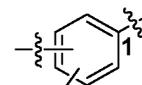
осуществления L^{LG3} представляет собой . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3}

представляет собой . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой

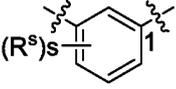


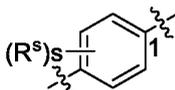
. В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой . В

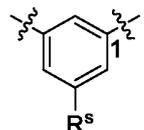
некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой .

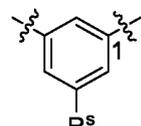
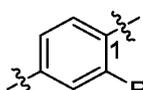


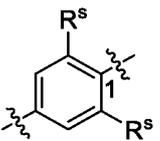
[0121] В некоторых вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой (R^s)_s, где s равно 0-4, каждый R^s независимо представляет собой галоген, -NO₂, -L-R', -C(O)-L-R', -S(O)-L-R', -S(O)₂-L-R', или -P(O)(-L-R')₂. В некоторых вариантах осуществления C1 связан с L^{LG4}. В некоторых

вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой . В некоторых вариантах

осуществления L^{LG3b} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3b}

представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой

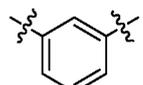
 . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой  . В

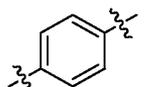
некоторых вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой  .

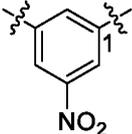
[0122] В некоторых вариантах осуществления s равно 0. В некоторых вариантах осуществления s равно 1-4. В некоторых вариантах осуществления s равно 1. В некоторых вариантах осуществления s равен 2. В некоторых вариантах осуществления s равно 3. В некоторых вариантах осуществления s равно 4.

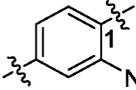
[0123] В некоторых вариантах осуществления s равно 1-4, и по меньшей мере один R^s представляет собой электроноакцепторную группу, например, электроноакцепторную группу, описанную выше. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один R^s представляет собой $-\text{NO}_2$. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один R^s представляет собой $-\text{F}$. В некоторых вариантах осуществления каждый R^s независимо представляет собой электроноакцепторную группу. В некоторых вариантах осуществления каждый R^s представляет собой $-\text{NO}_2$. В некоторых вариантах осуществления каждый R^s представляет собой $-\text{F}$.

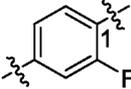
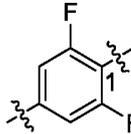
[0124] В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа или R^s находится в положении C2. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа или R^s находится в положении C3. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа или R^s находится в положении C4. В некоторых вариантах осуществления электроноакцепторная группа или R^s находится в положении C2 и C5.

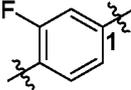
[0125] В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой  . В

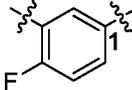
некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой  . В некоторых вариантах

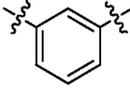
осуществления L^{LG3} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3}

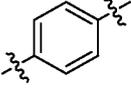
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой

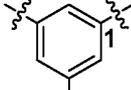
 . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой  . В

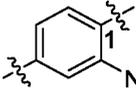
некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой  . В некоторых вариантах

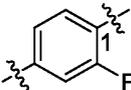
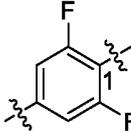
осуществления L^{LG3} представляет собой  .

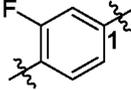
[0126] В некоторых вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой  . В

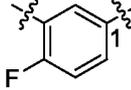
некоторых вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой  . В некоторых вариантах

осуществления L^{LG3b} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3b}

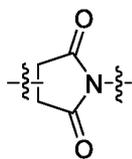
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой

 . В некоторых вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой  . В

некоторых вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой  . В некоторых вариантах

осуществления L^{LG3b} представляет собой  .

[0127] В некоторых вариантах осуществления L^{LG3b} представляет собой необязательно



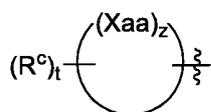
замещенный . В некоторых вариантах осуществления атом азота связан с L^{LG4} , который представляет собой $-O-$. В некоторых вариантах осуществления атом азота связан с L^{LG4} , который представляет собой $-O-$, и $-L^{RG1}-L^{RG2}-$ представляет собой $-C(O)-$.

[0128] В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ представляет собой $-O-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ представляет собой $-S-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ представляет собой $-S-C(O)-$.

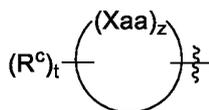
[0129] В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} не представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} представляет собой $-O-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} представляет собой $-N(R')$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} представляет собой $-NH-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} представляет собой $-N(CH_3)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} представляет собой $-N(R')$, и L^{LG3} представляет собой $-O-$. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} представляет собой $-S-$.

[0130] Как описано в данном документе, в некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой или содержит фрагмент, связывающий белок. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой или содержит фрагмент, связывающий антитело. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой фрагмент, связывающий цель. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой фрагмент, связывающий белок. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой фрагмент, связывающий антитело.

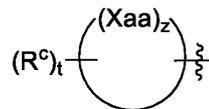
[0131] В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой или содержит



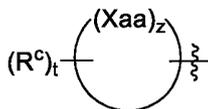
, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой или содержит $R^c-(Xaa)_z-$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой или содержит низкомолекулярный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой или содержит пептидный агент. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой или содержит агент нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой или содержит аптамерный агент. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или



содержит , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления



фрагмент, связывающий белок, представляет собой или содержит , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело,



представляет собой или содержит , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит $R^c-(Xaa)_z-$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий белок, представляет собой или содержит $R^c-(Xaa)_z-$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, представляет собой или содержит $R^c-(Xaa)_z-$, как описано в данном документе.

Фрагменты, связывающие цель

[0132] Как будет понятно специалистам в данной области техники, известны различные фрагменты, связывающие цель, которые можно применять в соответствии с данным изобретением. В данной области техники также доступны различные технологии для разработки и оценки фрагментов, связывающих цель, и их можно применять в соответствии с данным изобретением.

[0133] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит низкомолекулярный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит полимерный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит нуклеиновую кислоту или ее фрагменты. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит пептидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит полипептидный фрагмент.

[0134] В некоторых вариантах осуществления предлагаемые технологии содержат один и не более одного фрагмента, связывающего цель. В некоторых вариантах осуществления предлагаемые технологии содержат два или большее количество фрагментов, связывающих цель. Например, в некоторых вариантах осуществления предлагаемые соединения могут содержать два или большее количество фрагментов, связывающих цель, которые могут связываться с целевыми антительными

агентами.

а. Низкомолекулярные вещества

[0135] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит низкомолекулярное вещество, которое может избирательно связываться с целевым агентом. Низкомолекулярные вещества, связывающие целевые агенты, включая различные белковые агенты, широко известны в данной области техники и могут применяться в соответствии с данным изобретением. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный связующий агент представляет собой или является фрагментом терапевтического агента, например, лекарственного средства, конъюгата «антитело-лекарственное средство» и т. д.

[0136] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой низкомолекулярный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 8000, 7000, 6000, 5000, 4000, 3000, 2000, 1500, 1000, 900, 800, 700 или 600. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 8000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 7000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 6000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 5000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 4000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 3000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 2000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 1500. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 1000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 900.

б. Пептидные агенты

[0137] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит пептидный агент. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой пептидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент может быть либо линейным, либо циклическим. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит циклический пептидный фрагмент. В данной области техники известны различные пептидные фрагменты, связывающие цель, и их можно применять в соответствии с данным изобретением.

[0138] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит пептидный аптамерный агент.

с. Аптамерные агенты

[0139] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит агент нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит олигонуклеотидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит аптамерный агент. Различные аптамерные агенты известны в данной области техники или могут быть легко разработаны с помощью общепринятых технологий и могут применяться в предложенных технологиях в соответствии с данным изобретением.

[0140] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой фрагмент, связывающий антитело. Такие фрагменты, связывающие цель, предназначены, среди прочего, для конъюгирования представляющих интерес фрагментов с антительными агентами.

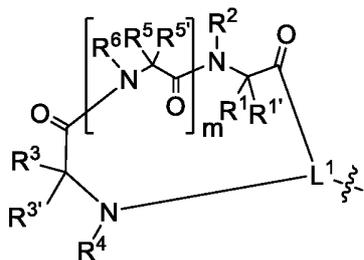
Фрагменты, связывающие антитела

[0141] В некоторых вариантах осуществления целевыми агентами являются антительные агенты. В некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитела. В некоторых вариантах осуществления предлагаемые соединения и/или агенты содержат фрагменты, связывающие антитела. В соответствии с данным изобретением можно применять различные фрагменты, связывающие антитела. В некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие антитела, представляют собой универсальные фрагменты, связывающие антитела, которые могут связываться с антителами, имеющими разные Fab-области и различную специфичность. Среди прочего, соединения, содержащие такие фрагменты, связывающие антитела, могут применяться для конъюгации с антителами, имеющими другую специфичность. В некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие антитела, по данному изобретению, например, универсальные фрагменты, связывающие антитела, связываются с Fc-областями. В некоторых вариантах осуществления связывание фрагментов, связывающих антитела, с Fc-областями может происходить одновременно со связыванием Fc-рецепторов, например, CD16a, с теми же Fc-областями (например, в разных местах/аминокислотных остатках одних и тех же Fc-областей). В некоторых вариантах осуществления при связывании фрагментов, связывающих антитела, например, в предлагаемых агентах, соединениях, способах и т. д., Fc-область все еще может взаимодействовать с Fc рецепторами и выполнять одну или большее количество или

все свои иммунные активности, включая рекрутирование иммунных клеток (например, эффекторных клетки, такие как NK-клетки), и/или инициирование, генерирование, активацию и/или усиление активности иммунной системы в отношении целевых клеток, тканей, объектов и/или агентов, например, антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (ADCC) и/или ADCP.

[0142] В соответствии с данным изобретением можно применять различные фрагменты, связывающие антитела, включая универсальные фрагменты, связывающие антитела. Определенные фрагменты, связывающие антитела, и технологии для идентификации и/или оценки фрагментов, связывающих антитела, описаны в WO/2019/023501 и WO/2019/136442 и включены в данный документ посредством ссылки. Специалистам в данной области техники будет понятно, что дополнительные технологии в данной области техники могут быть пригодными для идентификации и/или оценки фрагментов, связывающих антитела, в соответствии с данным изобретением. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, содержит один или большее количество аминокислотных остатков, каждый из которых независимо является природным или неприродным.

[0143] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий белок (например, фрагмент, связывающий антитело (например, универсальный фрагмент, связывающий антитело)), имеет структуру



или форму его соли, где:

каждый из R^1 , R^3 и R^5 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, содержащего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического

гетероароматического кольца, содержащего 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или:

R^1 и $R^{1'}$, необязательно взятые вместе с промежуточным атомом углерода, образуют 3-8-членное необязательно замещенное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо или 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

R^3 и $R^{3'}$, необязательно взятые вместе с промежуточным атомом углерода, образуют 3-8-членное необязательно замещенное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо или 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

группа R^5 и группа $R^{5'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взятые вместе с промежуточным атомом углерода, образуют 3-8-членное необязательно замещенное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо или 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

две группы R^5 необязательно вместе со своими промежуточными атомами образуют C_{1-10} необязательно замещенную двухвалентную прямую или разветвленную насыщенную или ненасыщенную углеводородную цепь, в которой 1-3 метиленовых единицы цепи независимо и необязательно замещены на $-S-$, $-SS-$, $-N(R)-$, $-O-$, $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-C(O)N(R)-$, $-N(R)C(O)-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, или $-Cy^1-$, где каждый $-Cy^1-$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

каждый из $R^{1'}$, $R^{3'}$ и $R^{5'}$ независимо представляет собой водород или необязательно замещенную C_{1-3} алифатическую группу;

каждый из R^2 , R^4 и R^6 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную C_{1-4} алифатическую группу;

R^2 и R^1 необязательно вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное, необязательно замещенное, насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое

гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

R⁴ и R³ необязательно вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное, необязательно замещенное, насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

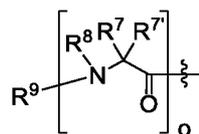
группа R⁶ и смежная с ней группа R⁵ необязательно вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное, необязательно замещенное, насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

L¹ представляет собой трехвалентный линкерный фрагмент; а также

каждый из m и n независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20.

[0144] В некоторых вариантах осуществления L¹ представляет собой необязательно замещенную трехвалентную группу, выбранную из C₁-C₂₀ алифатической или C₁-C₂₀гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на -C(R')₂-, -Сy-, -O-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -C(O)S- или -C(O)O-.

[0145] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цепь, например, фрагмент, связывающий белок (например, фрагмент, связывающий антитело (например,



универсальный фрагмент, связывающий антитело)), имеет структуру соли, где:

каждый из R⁷ независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C₁₋₆ алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, содержащего 1-4 гетероатома, независимо

выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, содержащего 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или:

группа R^7 и группа $R^{7'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взятые вместе с промежуточным атомом углерода, образуют 3-8-членное необязательно замещенное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо или 3-8-членное необязательно замещенное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

каждый $R^{7'}$ независимо представляет собой водород или необязательно замещенную C_{1-3} алифатическую группу;

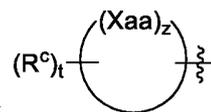
каждый R^8 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную C_{1-4} алифатическую группу; или:

группа R^8 и смежная с ней группа R^7 необязательно вместе со своим промежуточным атомом образуют 4-8-членное, необязательно замещенное, насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; и

R^9 представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-3} алифатической группой, или $-C(O)-$.

[0146] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, например, универсальный фрагмент, связывающий антитело, представляет собой или содержит пептидный фрагмент, например, фрагмент, имеющий структуру $R^c-(Xaa)_z-$, или форму его соли, где каждый из R^c , z и Xaa независимо представляет собой элемент, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество Xaa независимо представляют собой неприродный аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления боковые цепи из двух или большего количества аминокислотных остатков могут быть связаны друг с другом с образованием мостиков. Например, в некоторых вариантах осуществления боковые цепи двух остатков цистеина могут образовывать дисульфидный мостик, включающий $-S-S-$ (который, как и во многих белках, может быть образован двумя группами $-SH$).

[0147] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий белок (например, фрагмент, связывающий антитело (например, универсальный фрагмент, связывающий антитело)), представляет собой или содержит фрагмент



циклического пептида, например, фрагмент, имеющий структуру или форму его соли, где:

каждый Xaa независимо представляет собой остаток аминокислоты или аналог аминокислоты;

t равно 0-50;

z равно 1-50;

L представляет собой линкерный фрагмент;

каждый R^c независимо представляет собой $-L^a-R'$;

каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C(R')_2-$, $-C_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$;

каждый $-C_2-$ независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную моноциклическую, бициклическую или полициклическую группу, при этом каждое моноциклическое кольцо независимо выбрано из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклического кольца, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой $-R$, $-C(O)R$, $-CO_2R$ или $-SO_2R$;

каждый R независимо представляет собой $-H$ или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической, C_{1-30} гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арильной, C_{6-30} арилалифатической, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30 членного гетероциклила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из

кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

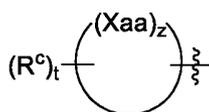
две группы R, необязательно и независимо вместе взятые, образуют ковалентную связь, или:

две или большее количество групп R у одного и того же атома, необязательно и независимо взятые вместе с атомом, образуют необязательно замещенное, 3-30-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо атома, 0-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

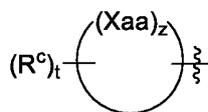
две или большее количество групп R на двух или большем количестве атомов, необязательно и независимо взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют необязательно замещенное 3-30-членное моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-10 гетероатомов .

[0148] В некоторых вариантах осуществления гетероатом независимо выбран из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

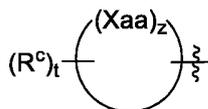
[0149] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит $R^c-(Xaa)_z$ -или форму его соли, при этом каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий белок, представляет собой или содержит $R^c-(Xaa)_z$ -или форму его соли, при этом каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, например, универсальный фрагмент, связывающий антитело, представляет собой или содержит $R^c-(Xaa)_z$ - или форму его соли, при этом каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель,



представляет собой или содержит $R^c-(Xaa)_z$ или форму его соли, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фрагмент,

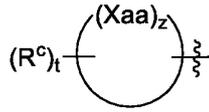


связывающий белок, представляет собой или содержит $R^c-(Xaa)_z$ или форму его соли, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, например, универсальный фрагмент, связывающий



антитело, представляет собой или содержит $R^c-(Xaa)_z$ или форму его соли, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления

фрагмент, связывающий антитело, например, универсальный фрагмент, связывающий антитело,



представляет собой $R^c-(Xaa)_z-$ или $(R^c)_t$, или форму его соли, и представляет собой или содержит пептидную единицу. В некоторых вариантах осуществления $-(Xaa)_z-$ представляет собой или содержит пептидную единицу. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные остатки могут образовывать мостики, например соединения, образованные боковыми цепями, необязательно через линкерные фрагменты (например, L); например, как и во многих полипептидах, остатки цистеина могут образовывать дисульфидные мостики. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит аминокислотный остаток (например, при физиологическом pH около 7,4, «положительно заряженный аминокислотный остаток», Xaa^P), например, остаток аминокислоты формулы **A-I**, которая имеет положительно заряженную боковую цепь. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит R. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один Xaa представляет собой R. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит APAR. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит RAPA. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит аминокислотный остаток, например, остаток аминокислоты формулы **A-I**, которая имеет боковую цепь, содержащую ароматическую группу («ароматический аминокислотный остаток», Xaa^A). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит положительно заряженный аминокислотный остаток и ароматический аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит W. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит положительно заряженный аминокислотный остаток и ароматический аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит $Xaa^AXaa^PXaa^P$. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит $Xaa^PXaa^PXaa^AXaa^A$. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит $Xaa^PXaa^AXaa^P$. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит два или большее количество $Xaa^PXaa^AXaa^P$. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит $Xaa^PXaa^AXaa^PXaa^P$. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит $Xaa^PXaa^PXaa^AXaa^A$. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит два или большее количество $Xaa^AXaa^AXaa^P$. В некоторых вариантах осуществления пептидный остаток содержит один или большее количество остатков пролина. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица

представляет собой или содержит HWRGWA. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит WGRR. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит RRGW. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит NKFRGKYK. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит NRFRGKYK. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит NARKFYK. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит NARKFYKG. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит HWRGWV. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит KHFRNKD. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит положительно заряженный остаток аминокислоты, остаток ароматической аминокислоты и остаток аминокислоты, например, остаток аминокислоты формулы **A-I**, который имеет отрицательно заряженную боковую цепь (например, при физиологическом pH около 7,4, «отрицательно заряженный остаток аминокислоты», Хаа^N). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит RHRFNKD. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой RHRFNKD. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит TY. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой TY. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит TYK. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой TYK. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит RTY. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой RTY. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит RTYK. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой RTYK. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из PAM. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит WHL. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой WHL. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит WXL, где X представляет собой аминокислотный остаток, как описано в данном документе, например, пригодный для соединения с другим фрагментом (например, аминокислотным остатком, содержащим -COOH, или его соль, или активированную форму, такую как D, E и др.). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит WDL. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой WDL. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит ELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой ELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит GELVW. В

некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой GELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из AWHLGELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит AWHLGELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из AWDLGELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит AWDLGELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит AWXLGELVW, где X представляет собой аминокислотный остаток, как описано в данном документе, например, пригодный для соединения с другим фрагментом (например, аминокислотным остатком, содержащим –COOH, или его соль, или активированную форму, такую как как D, E и др.). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из DCAWHLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит DCAWHLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из DCAWXLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках, и X представляет собой аминокислотный остаток, как описано в данном документе, например, пригодный для соединения с другим фрагментом (например, аминокислотным остатком, содержащим –COOH, или его соль, или активированную форму, такую как как D, E и др.). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит DCAWXLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках, и X представляет собой аминокислотный остаток, как описано в данном документе, например, пригодный для соединения с другим фрагментом (например, аминокислотным остатком, содержащим –COOH, или его соль, или активированную форму, такую как как D, E и др.). В некоторых вариантах осуществления X содержит –COOH или его соль или активированную форму в своей боковой цепи. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из DCAWDLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит DCAWDLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность,

выбранную из Fc-III. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит Fc-III. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из DpLpAWXLGELVW, где X представляет собой аминокислотный остаток, как описано в данном документе, например, пригодный для соединения с другим фрагментом (например, аминокислотным остатком, содержащим –COOH, или его соль, или активированную форму, такую как как D, E и др.). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит DpLpAWXLGELVW, где X представляет собой аминокислотный остаток, как описано в данном документе, например, пригодный для соединения с другим фрагментом (например, аминокислотным остатком, содержащим –COOH, или его соль, или активированную форму, такую как как D, E и др.). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из DpLpAWDLGELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит DpLpAWDLGELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из DpLpAWHLGELVW, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит DpLpAWHLGELVW (например, FcBP-1), при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из FcBP-1. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из DpLpDCAWXLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках, и X представляет собой аминокислотный остаток, как описано в данном документе, например, пригодный для соединения с другим фрагментом (например, аминокислотным остатком, содержащим –COOH, или его соль, или активированную форму, такую как как D, E и др.). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит DpLpDCAWXLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках, и X представляет собой аминокислотный остаток, как описано в данном документе, например, пригодный для соединения с другим фрагментом (например, аминокислотным остатком, содержащим –COOH, или его соль, или активированную форму, такую как как D, E и др.). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из DpLpDCAWHLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица

представляет собой или содержит DpLpDCAWHLGELVWCT (например, FcBP-2), при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из DpLpDCAWDLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит DpLpDCAWDLGELVWCT, при этом два остатка цистеина могут образовывать дисульфидную связь, обнаруженную в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из FcBP-2. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из CDCAWXLGELVWCTC, где первый и последний цистеины, а также два цистеина в середине последовательности могут каждый независимо образовывать дисульфидную связь, как в природных белках, и X представляет собой аминокислотный остаток, как описано в данном документе, например, пригодный для соединения с другим фрагментом (например, аминокислотным остатком, содержащим –COOH, или его соль, или активированную форму, такую как как D, E и др.). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит CDCAWXLGELVWCTC, где первый и последний цистеины, а также два цистеина в середине последовательности могут каждый независимо образовывать дисульфидную связь, как в природных белках, и X представляет собой аминокислотный остаток, как описано в данном документе, например, пригодный для соединения с другим фрагментом (например, аминокислотным остатком, содержащим –COOH, или его соль, или активированную форму, такую как как D, E и др.). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из CDCAWHLGELVWCTC, где первый и последний цистеины и два цистеина в середине последовательности могут каждый независимо образовывать дисульфидную связь, как в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит CDCAWHLGELVWCTC, где первый и последний цистеины и два цистеина в середине последовательности могут каждый независимо образовывать дисульфидную связь, как в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из CDCAWDLGELVWCTC, где первый и последний цистеины и два цистеина в середине последовательности могут каждый независимо образовывать дисульфидную связь, как в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит CDCAWDLGELVWCTC, где первый и последний цистеины и два цистеина в середине последовательности могут каждый независимо образовывать дисульфидную связь, как в природных

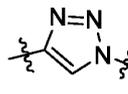
белках. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из Fc-III-4с. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит последовательность, выбранную из FcRM. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица представляет собой или содержит циклическую пептидную единицу. В некоторых вариантах осуществления циклическая пептидная единица содержит амидную группу, образованную аминогруппой боковой цепи и С-концом –COOH. Специалистам в данной области техники будет понятно, что в различных вариантах осуществления, когда пептидная единица соединена с другим фрагментом, аминокислотный остаток пептидной единицы может быть соединен в различных положениях, например, в его основе, его боковой цепи и т. д. В некоторых вариантах аминокислотный остаток является модифицированным для соединения. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток заменен другим пригодным остатком для соединения при сохранении одного или большего количества свойств и/или активности пептидной единицы (например, связывание с антителом, как описано в данном документе). Например, в некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток заменен аминокислотным остатком с боковой цепью, содержащей –COOH, или ее соль, или активированную форму (например, боковой цепью, представляющей собой –CH₂–COOH, или ее соль, или активированную форму). Как продемонстрировано в данном документе, в различных последовательностях Н может быть заменен на D (например, в различных пептидных единицах, содержащих WHL). В некоторых вариантах осуществления пептидная единица связана с другим фрагментом через –COOH или его соль или активированную форму, например, посредством образования, например, –CON(R')–. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой –H. В некоторых вариантах осуществления –COOH находится в боковой цепи аминокислотного остатка. В некоторых вариантах осуществления в последовательности, описанной в данном документе (например, DCAWHLGELVWCT), 1-5 (например, 1, 2, 3, 4 или 5) аминокислотных остатков могут быть независимо и необязательно заменены другим аминокислотным остатком, 1-5 (например, 1, 2, 3, 4 или 5) аминокислотных остатков могут быть независимо и необязательно удалены, и/или 1-5 (например, 1, 2, 3, 4 или 5) аминокислотных остатков могут быть независимо и необязательно вставлены. В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент соединен с остальной частью молекулы через N-конец. В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент соединен с остальной частью молекулы через C-конец. В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент соединен с остальной частью молекулы через боковую цепь аминокислотного остатка (например, различных остатков X, как описано в данном документе). В некоторых вариантах осуществления два остатка цистеина могут независимо и необязательно образовывать дисульфидную связь. В некоторых вариантах осуществления общее

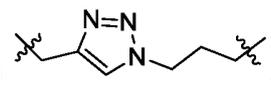
количество замен, делеций и вставок составляет не более 10 (например, 0 или не более 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10). В некоторых вариантах осуществления общее количество равно 0. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 1. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 2. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 3. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 4. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 5. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 6. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 7. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 8. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 9. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 10. В некоторых вариантах осуществления вставки отсутствуют. В некоторых вариантах осуществления делеции отсутствуют.

[0150] В некоторых вариантах осуществления $-(Xaa)_z-$ представляет собой или содержит $[X^1]_{p1}[X^2]_{p2}-X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-[X^{13}]_{p13}-[X^{14}]_{p14}[X^{15}]_{p15}[X^{16}]_{p16}$, где каждый из $X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12}$ и X^{13} независимо представляет собой аминокислотный остаток, например, аминокислоты формулы **A-I**, и каждый из $p1, p2, p13, p14, p15$ и $p16$ независимо представляет собой 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления каждый из $X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12}$ и X^{13} независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I**. В некоторых вариантах осуществления каждый из $X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12}$ и X^{13} независимо представляет собой природный аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество из $X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12}$ и X^{13} независимо представляют собой неприродный аминокислотный остаток, как описано в данном документе.

[0151] В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит функциональную группу в остатке аминокислоты, которая может реагировать с функциональной группой остатка другой аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит аминокислотный остаток с боковой цепью, которая содержит функциональную группу, которая может реагировать с другой функциональной группой боковой цепи другого аминокислотного остатка с образованием связи (например, см. фрагменты, описанные в Таблице A-1, Таблице 1 и др.). В некоторых вариантах осуществления одна функциональная группа одного аминокислотного остатка соединена с функциональной группой другого аминокислотного остатка с образованием связи (или мостика). Связи связаны с атомами основной цепи пептидных единиц и не содержат атомов остова. В некоторых вариантах осуществления пептидная единица содержит связь, образованную двумя

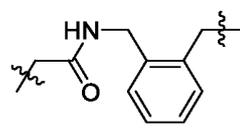
боковыми цепями несмежных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления связь связана с двумя атомами остова двух несмежных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления оба атома остова, связанные со связью, представляют собой атомы углерода. В некоторых вариантах осуществления связь имеет структуру L^b , где L^b представляет собой L^a , как описано в данном документе, при этом L^a не представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^a содержит $-Cu-$. В некоторых вариантах осуществления L^a содержит $-Cu-$, при этом $-Cu-$ представляет собой необязательно замещенный гетероарил. В

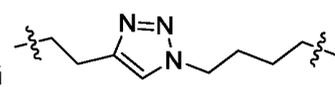
некоторых вариантах осуществления $-Cu-$ представляет собой . В некоторых вариантах

осуществления L^a представляет собой . В некоторых вариантах осуществления

такой L^a может быть образован $-N_3$ группой боковой цепи одного аминокислотного остатка и $-N_3$ боковой цепи другого аминокислотного остатка. В некоторых вариантах осуществления связь образуется путем соединения двух тиоловых групп, например, двух остатков цистеина. В некоторых вариантах осуществления L^a содержит $-S-S-$. В некоторых вариантах осуществления изобретения L^a представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления связь образуется путем соединения аминогруппы (например, $-NH_2$ в боковой цепи остатка лизина) и группы карбоновой кислоты (например, $-COOH$ в боковой цепи остатка аспарагиновой кислоты или глутаминовой кислоты). В некоторых вариантах осуществления L^a содержит $-C(O)-N(R')$. В некоторых вариантах осуществления L^a содержит $-C(O)-NH-$. В некоторых вариантах осуществления изобретения L^a представляет собой $-CH_2CONH-(CH_2)_3-$. В некоторых вариантах осуществления L^a содержит $-C(O)-N(R')$, где R' представляет собой R , и вместе с группой R на пептидном остове образует кольцо (например, в А-34). В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой

$-(CH_2)_2-N(R')-CO--(CH_2)_2-$. В некоторых вариантах осуществления $-Cu-$ представляет собой необязательно замещенный фенилен. В некоторых вариантах осуществления $-Cu-$ представляет собой необязательно замещенный 1,2-фенилен. В некоторых вариантах осуществления L^a

представляет собой . В некоторых вариантах осуществления L^a представляет

собой . В некоторых вариантах осуществления L^a необязательно замещен

двухвалентным C_{2-20} алифатическим соединением. В некоторых вариантах осуществления L^a необязательно замещен $-(CH_2)_9-CH=CH-(CH_2)_9-$. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой $-(CH_2)_3-CH=CH-(CH_2)_3-$.

[0152] В некоторых вариантах осуществления два аминокислотных остатка, связанных со связью, разделены 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более чем 15 аминокислотными остатками между ними (исключая два аминокислотных остатка, связанных со связью). В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 1. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 2. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 3. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 4. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 5. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 6. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 7. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 8. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 9. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 10. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 11. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 12. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 13. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 14. В некоторых вариантах осуществления это количество составляет 15.

[0153] В некоторых вариантах осуществления каждый из p_1 , p_2 , p_3 , p_4 , p_5 и p_6 равен 0. В некоторых вариантах осуществления $-(Xaa)_z-$ представляет собой или содержит $-X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, где

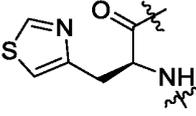
каждый из X^3 , X^4 , X^5 , X^6 , X^7 , X^8 , X^9 , X^{10} , X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

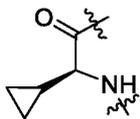
X^6 представляет собой Xaa^A или Xaa^P ;

X^9 представляет собой Xaa^N ; и

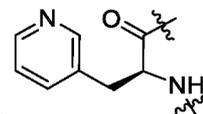
X^{12} представляет собой Xaa^A или Xaa^P .

В некоторых вариантах осуществления каждый из X^3 , X^4 , X^5 , X^6 , X^7 , X^8 , X^9 , X^{10} , X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I**, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^A или Xaa^P . В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^A . В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^P . В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого содержит необязательно замещенное насыщенное, частично насыщенное или ароматическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления X^5

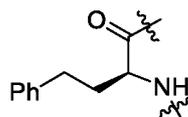
представляет собой . В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой



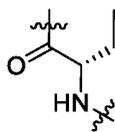
. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Хаа^A. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Хаа^P. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой His. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой Хаа^A. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой Хаа^P. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет



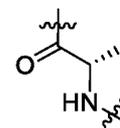
собой Glu. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой



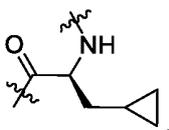
некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой . В некоторых вариантах осуществления каждый из X^7 , X^{10} и X^{11} независимо представляет собой аминокислотный остаток с гидрофобной боковой цепью («гидрофобный аминокислотный остаток», Хаа^H). В некоторых вариантах осуществления изобретения X^7 представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах



осуществления изобретения X^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления изобретения X^7 представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления изобретения X^{10} представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления изобретения X^{10} представляет собой



Met. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой . В некоторых вариантах осуществления изобретения X^{11} представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах



осуществления X^{11} представляет собой . В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления X^4 представляет собой Pro. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Lys. В некоторых вариантах осуществления $-COOH$ в X^{12} образует амидную связь с аминогруппой боковой цепи Lys (X^3), а другая аминогруппа Lys (X^3) соединяется с линкерным фрагментом, а затем с фрагментом, связывающим цель.

[0154] В некоторых вариантах осуществления $-(Хаа)_z-$ представляет собой или содержит

$-X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, где

каждый из $X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}$ и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

по меньшей мере два аминокислотных остатка соединены посредством одной или большего количества связей L^b ;

L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1 - C_{20} алифатической или C_1 - C_{20} гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C(R')_2-$, $-C\gamma-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, при этом L^b связан с атомом остова одного аминокислотного остатка и атомом остова другого аминокислотного остатка и не содержит атомов остова;

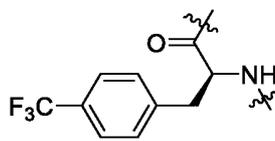
X^6 представляет собой $Хаа^A$ или $Хаа^P$;

X^9 представляет собой $Хаа^N$; и

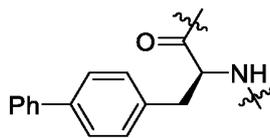
X^{12} представляет собой $Хаа^A$ или $Хаа^P$.

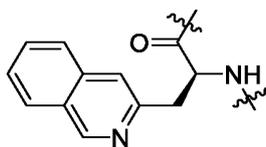
В некоторых вариантах осуществления каждый из $X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}$ и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I**, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления два несмежных аминокислотных остатка соединены посредством L^b . В некоторых вариантах осуществления X^5 и X^{10} соединены посредством L^b . В некоторых вариантах осуществления имеется одна связь L^b . В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой $Хаа^A$. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой $Хаа^P$. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой His. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой $Хаа^A$. В некоторых

вариантах осуществления X^{12} представляет собой

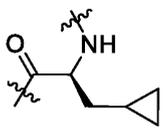


осуществления X^{12} представляет собой

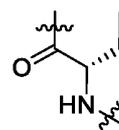




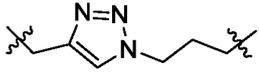
X^{12} представляет собой . В некоторых вариантах осуществления каждый из X^4 , X^7 и X^{11} независимо представляет собой Xaa^H . В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой Xaa^H . В некоторых вариантах осуществления X^4 представляет собой Ala. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой Xaa^H . В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет

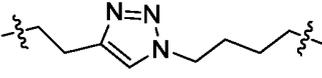


собой . В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой Xaa^H . В



некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой . В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Lys. В некоторых вариантах осуществления $-\text{COOH}$ в X^{12} образует амидную связь с аминогруппой боковой цепи Lys (X^3), а другая аминогруппа Lys (X^3) соединяется с линкерным фрагментом, а затем с фрагментом, связывающим цель. В некоторых вариантах осуществления L^b

представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^b представляет

собой  . В некоторых вариантах осуществления L^b соединяет два альфа-углеродных атома двух разных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления, как X^5 , так и X^{10} представляют собой Cys, и две группы $-\text{SH}$ их боковых цепей образуют $-\text{S}-\text{S}-$ (L^b представляет собой $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{S}-\text{CH}_2-$).

[0155] В некоторых вариантах осуществления $-(\text{Xaa})_z-$ представляет собой или содержит $-\text{X}^2\text{X}^3\text{X}^4\text{X}^5\text{X}^6\text{X}^7\text{X}^8\text{X}^9\text{X}^{10}\text{X}^{11}\text{X}^{12}-$, где

каждый из X^2 , X^3 , X^4 , X^5 , X^6 , X^7 , X^8 , X^9 , X^{10} , X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

по меньшей мере два аминокислотных остатка соединены посредством одной или большего количества связей L^b ;

L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1 - C_{20} алифатической или C_1 - C_{20} гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены

на $-C(R')_2-$, $-C\gamma-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, при этом L^b связан с атомом остова одного аминокислотного остатка и атомом остова другого аминокислотного остатка и не содержит атомов остова;

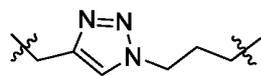
X^4 представляет собой $Хаа^A$;

X^5 представляет собой $Хаа^A$ или $Хаа^P$;

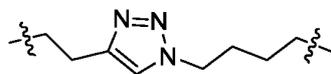
X^8 представляет собой $Хаа^N$; и

X^{11} представляет собой $Хаа^A$;

В некоторых вариантах осуществления каждый из X^2 , X^3 , X^4 , X^5 , X^6 , X^7 , X^8 , X^9 , X^{10} , X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I**, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления два несмежных аминокислотных остатка соединены посредством L^b . В некоторых вариантах осуществления имеется одна связь L^b . В некоторых вариантах осуществления X^2 и X^{12} соединены посредством L^b . В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой $-CH_2-S-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой $-CH_2-CH_2-S-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой

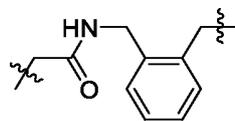


. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой

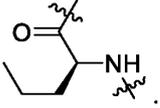
$-CH_2CH_2CO-N(R')-CH_2CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления R' взяты вместе с R группой на атоме остова, с которым связан $-N(R')-CH_2CH_2-$, с образованием кольца, например, как в A-34. В некоторых вариантах осуществления сформированное кольцо является 3-, 4-, 5-, 6-, 7- или 8-членным. В некоторых вариантах осуществления сформированное кольцо является моноциклическим. В некоторых вариантах осуществления сформированное кольцо является насыщенным. В некоторых



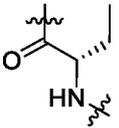
вариантах осуществления L^b представляет собой . В некоторых вариантах

осуществления L^b соединяет два альфа-углеродных атома двух разных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления X^4 представляет собой $Хаа^A$. В некоторых вариантах осуществления X^4 представляет собой $T\gamma\gamma$. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой $Хаа^A$. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой $Хаа^P$. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой His . В некоторых вариантах осуществления X^8

представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Glu. X^{11} представляет собой Tyr. В некоторых вариантах осуществления, как X^2 , так и X^{12} представляют собой Cys, и две группы -SH их боковых цепей образуют -S-S- (L^b представляет собой -CH₂-S-S-CH₂-). В некоторых вариантах осуществления каждый из X^3 , X^6 , X^9 и X^{10} независимо представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Ala. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Leu. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления X^9

представляет собой Leu. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой .

В некоторых вариантах осуществления изобретения X^{10} представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления изобретения X^{10} представляет собой Val. В некоторых вариантах

осуществления X^{10} представляет собой . В некоторых вариантах осуществления X^7

представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления p_1 равно 1. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления p_{13} равно 1. В некоторых вариантах осуществления p_{14} , p_{15} и p_{16} равны 0. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой аминокислотный остаток, содержащий полярную незаряженную боковую цепь (например, при физиологическом pH «полярный незаряженный аминокислотный остаток», Хаа^L). В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Thr. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления p_{13} равно 1. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой -NHCH₂CH(OH)CH₃. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой (R)-NHCH₂CH(OH)CH₃. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой (S)-NHCH₂CH(OH)CH₃.

[0156] В некоторых вариантах осуществления -(Хаа)_z- представляет собой или содержит - $X^2X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}$ -, где

каждый из X^2 , X^3 , X^4 , X^5 , X^6 , X^7 , X^8 , X^9 , X^{10} , X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

по меньшей мере два аминокислотных остатка соединены посредством одной или большего количества связей L^b ;

L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1 -

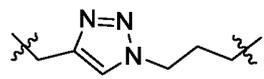
C₂₀ алифатической или C₁-C₂₀ гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на -C(R')₂-, -Cy-, -O-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -C(O)S- или -C(O)O-, при этом L^b связан с атомом остова одного аминокислотного остатка и атомом остова другого аминокислотного остатка и не содержит атомов остова;

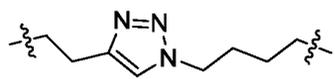
X⁵ представляет собой Хаа^A или Хаа^P;

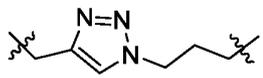
X⁸ представляет собой Хаа^N; и

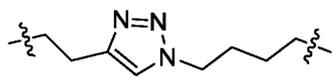
X¹¹ представляет собой Хаа^A;

В некоторых вариантах осуществления каждый из X², X³, X⁴, X⁵, X⁶, X⁷, X⁸, X⁹, X¹⁰, X¹¹ и X¹² независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I**, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления два несмежных аминокислотных остатка соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления имеется одна связь L^b. В некоторых вариантах осуществления имеются две или большее количество связей L^b. В некоторых вариантах осуществления имеются две связи L^b. В некоторых вариантах осуществления X² и X¹² соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления X⁴ и X⁹ соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления X⁴ и X¹⁰ соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой -CH₂-S-S-CH₂-. В некоторых вариантах осуществления L^b

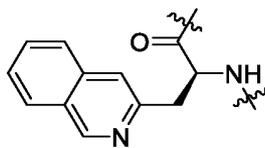
представляет собой . В некоторых вариантах осуществления L^b представляет

собой . В некоторых вариантах осуществления, как X², так и X¹² представляют собой Cys, и две группы -SH их боковых цепей образуют -S-S- (L^b представляет собой -CH₂-S-S-CH₂-). В некоторых вариантах осуществления, как X⁴, так и X¹⁰ представляют собой Cys, и две группы -SH их боковых цепей образуют -S-S- (L^b представляет собой -CH₂-S-S-CH₂-). В некоторых вариантах осуществления X⁴ и X⁹ соединены посредством L^b, при этом L^b представляет

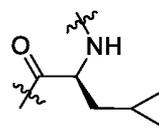
собой . В некоторых вариантах осуществления X⁴ и X⁹ соединены посредством

L^b, при этом L^b представляет собой . В некоторых вариантах осуществления X⁵ представляет собой Хаа^A. В некоторых вариантах осуществления X⁵ представляет собой Хаа^P. В некоторых вариантах осуществления X⁵ представляет собой His. В некоторых вариантах

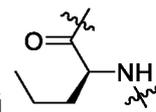
осуществления X^8 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой Tyr. В некоторых вариантах



осуществления X^{11} представляет собой . В некоторых вариантах осуществления X^2 и X^{12} соединены посредством L^b , при этом L^b представляет собой $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^b соединяет два альфа-углеродных атома двух разных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления каждый из X^3 , X^6 и X^9 независимо представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Ala. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Leu. В



некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет



собой Leu. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления изобретения X^{10} представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления изобретения X^{10} представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления p_1 равно 1. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Хаа^N. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления p_{13} равно 1. В некоторых вариантах осуществления p_{14} , p_{15} и p_{16} равны 0. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Хаа^L. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Thr. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Val.

[0157] В некоторых вариантах осуществления $-(\text{Хаа})_z-$ представляет собой или содержит $-\text{X}^2\text{X}^3\text{X}^4\text{X}^5\text{X}^6\text{X}^7\text{X}^8\text{X}^9\text{X}^{10}\text{X}^{11}\text{X}^{12}\text{X}^{13}\text{X}^{14}\text{X}^{15}\text{X}^{16}-$, где:

Каждый из X^2 , X^3 , X^4 , X^5 , X^6 , X^7 , X^8 , X^9 , X^{10} , X^{11} , X^{12} , X^{13} , X^{14} , X^{15} и X^{16} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

по меньшей мере два аминокислотных остатка соединены посредством связи L^b ;

L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1 - C_{20} алифатической или C_1 - C_{20} гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C(R')_2-$, $-C\gamma-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, при этом L^b связан с атомом остова одного аминокислотного остатка и атомом остова другого аминокислотного остатка и не содержит атомов остова;

X^3 представляет собой $Хаа^N$;

X^6 представляет собой $Хаа^A$;

X^7 представляет собой $Хаа^A$ или $Хаа^P$;

X^9 представляет собой $Хаа^N$; и

X^{13} представляет собой $Хаа^A$.

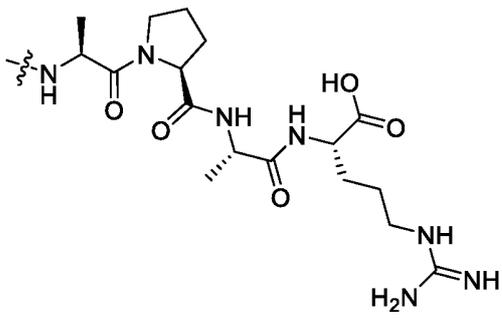
В некоторых вариантах осуществления каждый из X^2 , X^3 , X^4 , X^5 , X^6 , X^7 , X^8 , X^9 , X^{10} , X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I**, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления два несмежных аминокислотных остатка соединены посредством L^b . В некоторых вариантах осуществления имеется одна связь L^b . В некоторых вариантах осуществления имеются две или большее количество связей L^b . В некоторых вариантах осуществления имеются две связи L^b . В некоторых вариантах осуществления X^2 соединен с X^{16} посредством L^b . В некоторых вариантах осуществления X^4 соединен с X^{14} посредством L^b . В некоторых вариантах осуществления, как X^2 , так и X^{16} представляют собой Cys, и две группы $-SH$ их боковых цепей образуют $-S-S-$ (L^b представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$). В некоторых вариантах осуществления, как X^4 , так и X^{14} представляют собой Cys, и две группы $-SH$ их боковых цепей образуют $-S-S-$ (L^b представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$). В некоторых вариантах осуществления L^b соединяет два альфа-углеродных атома двух разных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой $Хаа^H$. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Ala. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой $Хаа^A$. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Tyr. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой $Хаа^A$. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой $Хаа^P$. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой His. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой $Хаа^H$. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет

собой Ala. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой Leu. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Хаа^A. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Tyr. В некоторых вариантах осуществления X^{15} представляет собой Хаа^L. В некоторых вариантах осуществления X^{15} представляет собой Thr. В некоторых вариантах осуществления X^{15} представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления p_1 равно 1. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Хаа^N. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Glu.

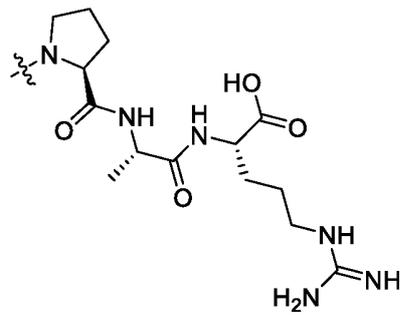
[0158] Как будет понятно специалистам в данной области техники, аминокислотный остаток может быть заменен другим аминокислотным остатком, обладающим сходными свойствами, например, один Хаа^H (например, Val, Leu и т. д.) может быть заменен другим Хаа^H (например, Leu, Ile, Ala и т. д.), один Хаа^A может быть заменен другим Хаа^A, один Хаа^P может быть заменен другим Хаа^P, один Хаа^N может быть заменен другим Хаа^N, один Хаа^L может быть заменен другим Хаа^L и т. д.

[0159] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно замещенный фрагмент согласно Таблицы А-1. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий белок, представляет собой или содержит необязательно замещенный фрагмент согласно Таблицы А-1. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, например, универсальный фрагмент, связывающий антитело, представляет собой или содержит необязательно замещенный фрагмент согласно Таблицы А-1. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, выбирают из Таблицы А-1. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий белок, выбирают из Таблицы А-1. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, например, универсальный фрагмент, связывающий антитело, выбирают из Таблицы А-1. В некоторых вариантах осуществления С-конец и/или N-конец необязательно кэпированы (например, для С-конца путем превращения $-COOH$ в $-C(O)N(R')_2$ подобно $-C(O)NH_2$; для N-конца путем добавления $R'C(O)-$ подобно $CH_3C(O)-$ к аминогруппе).

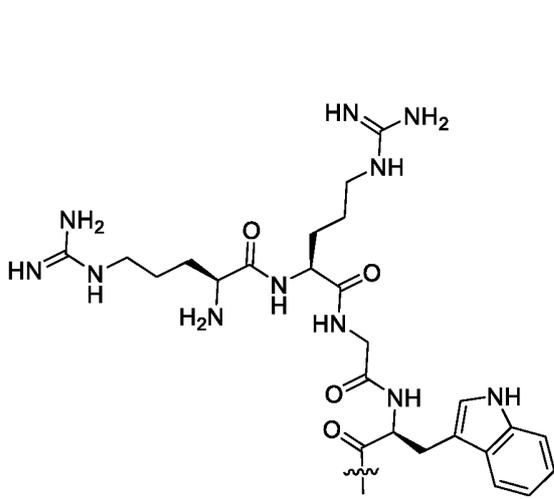
[0160] Таблица А-1. Типовые фрагменты, связывающие антитела.



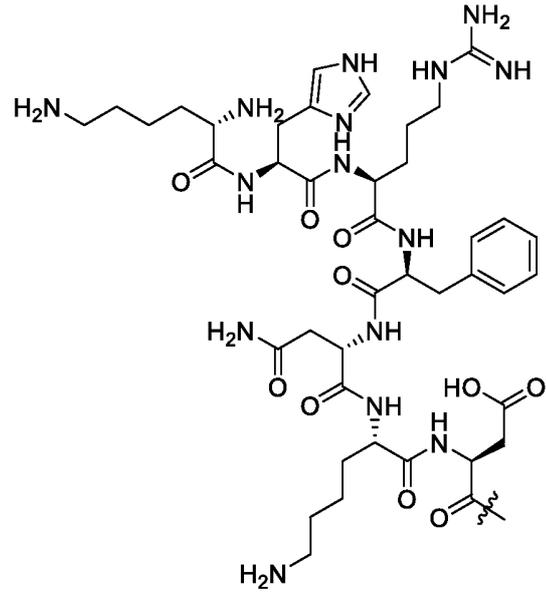
A-1



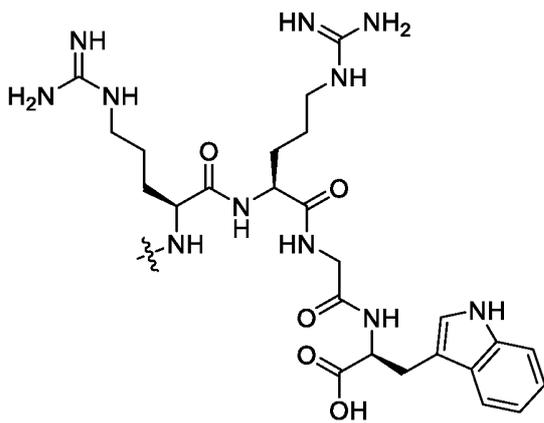
A-2



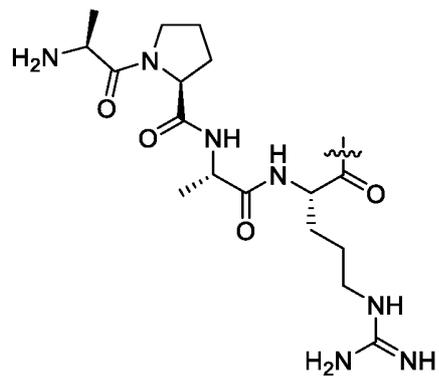
A-3



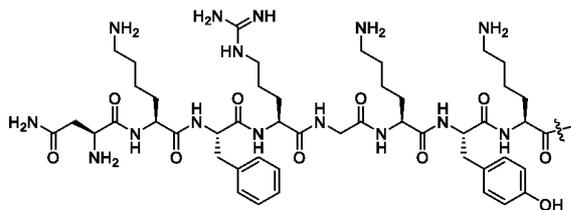
A-4



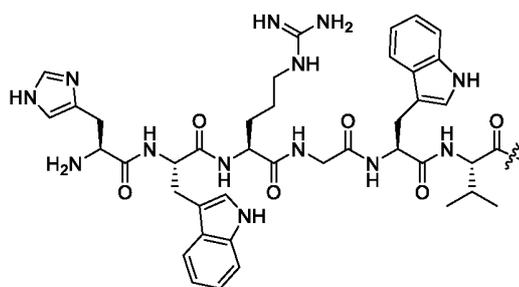
A-5



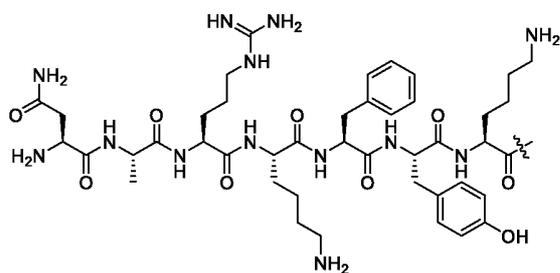
A-6



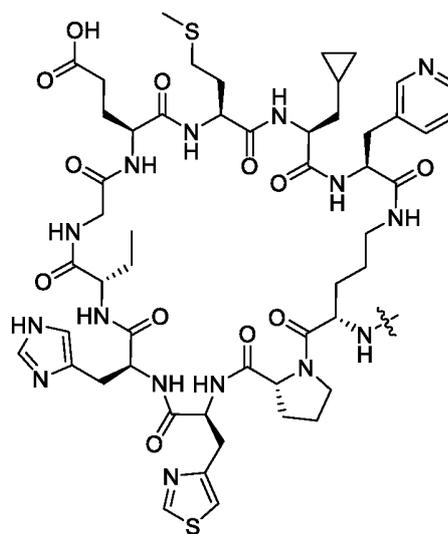
A-7



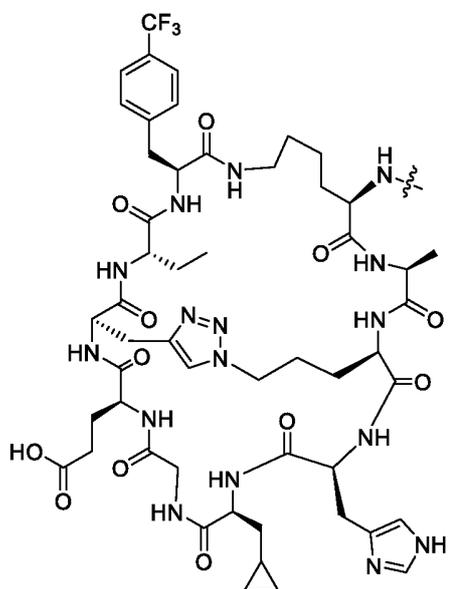
A-8



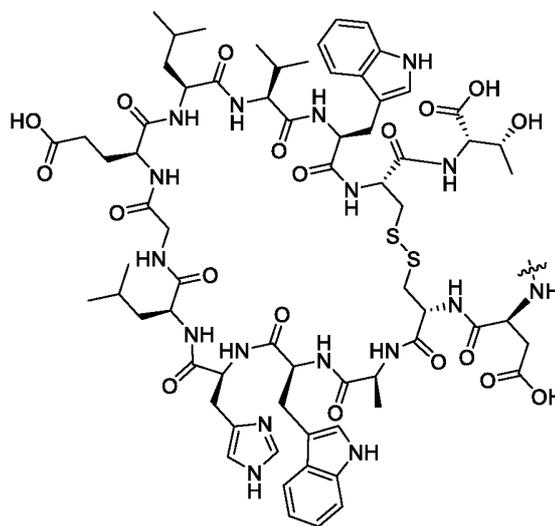
A-9



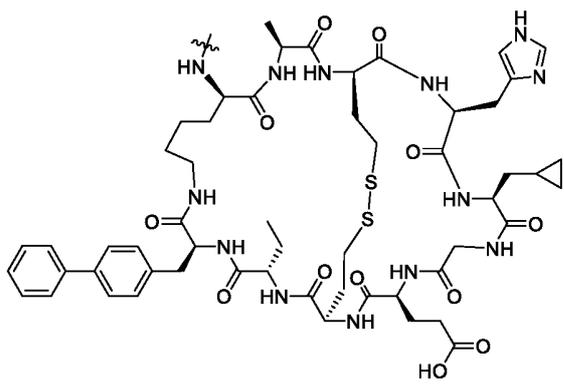
A-10



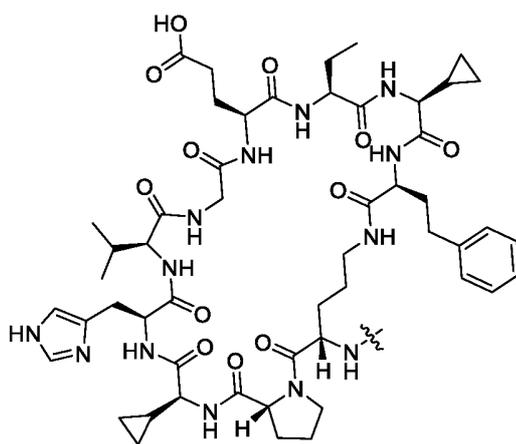
A-11



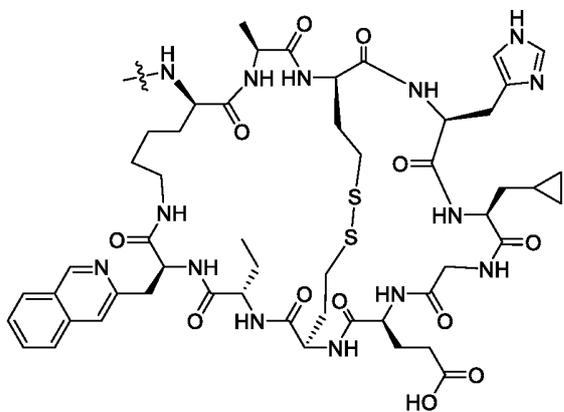
A-12



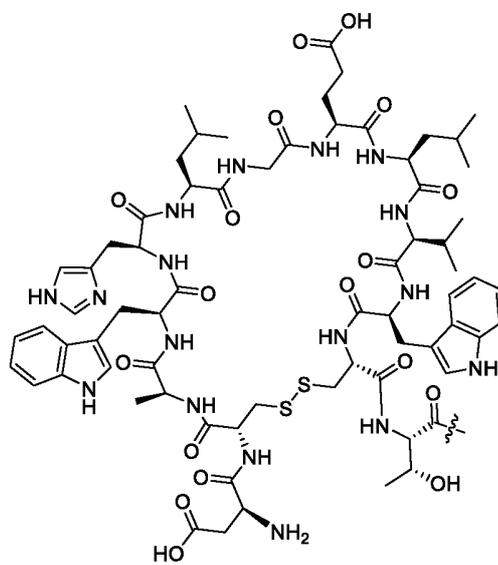
A-13



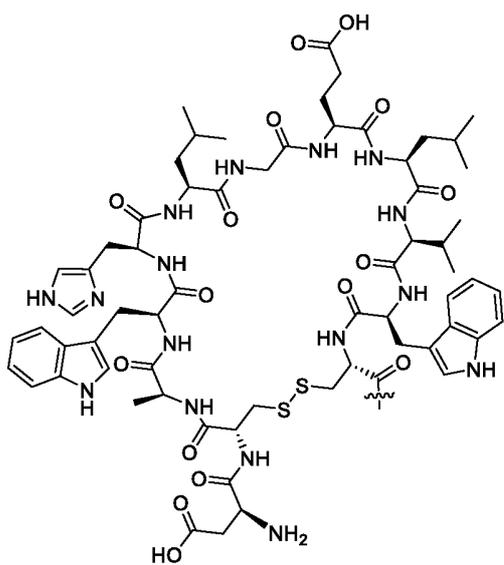
A-14



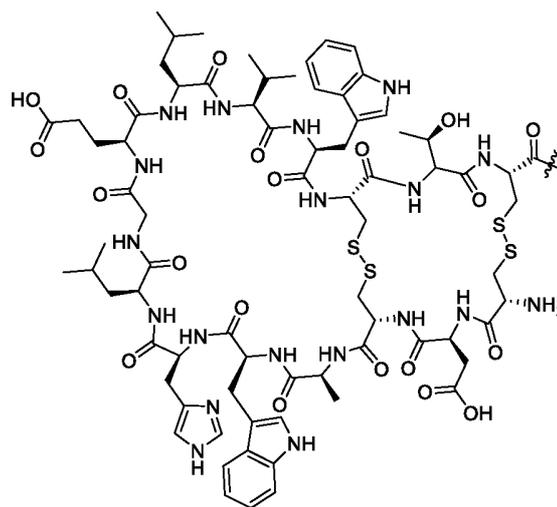
A-15



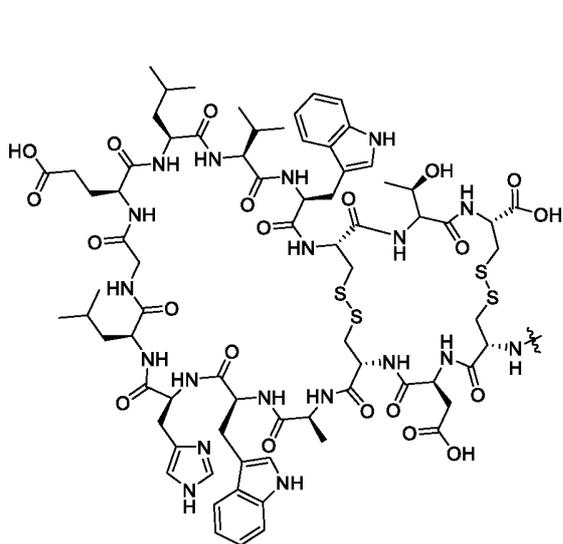
A-16



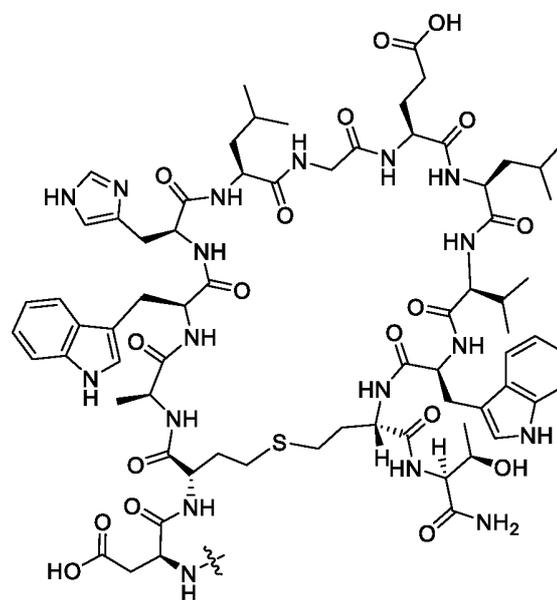
A-17



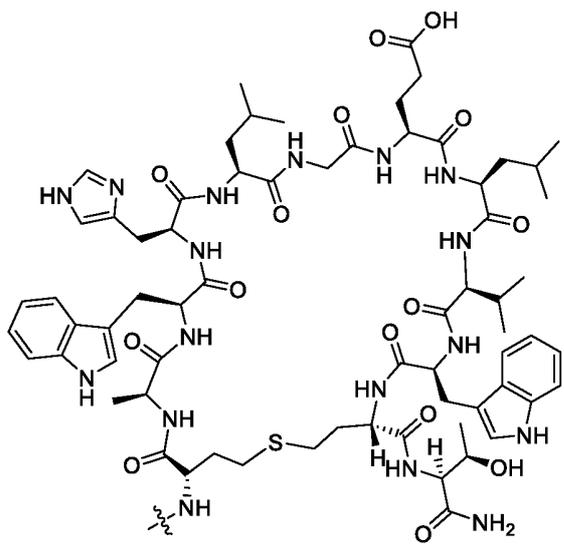
A-18



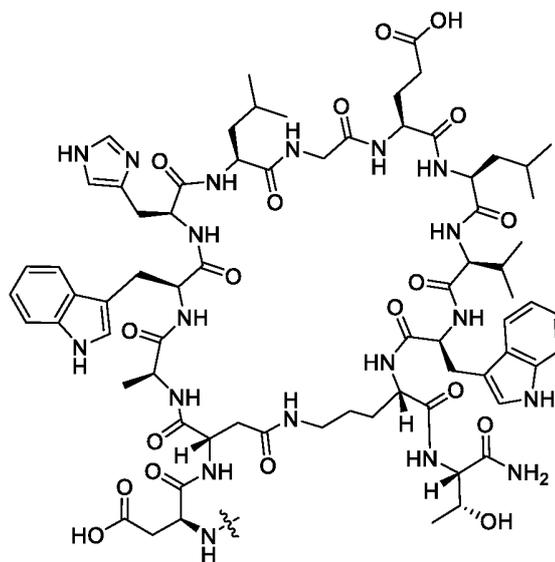
A-19



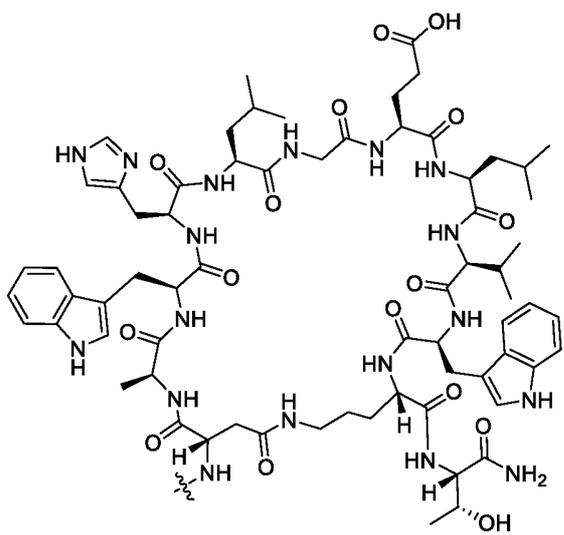
A-20



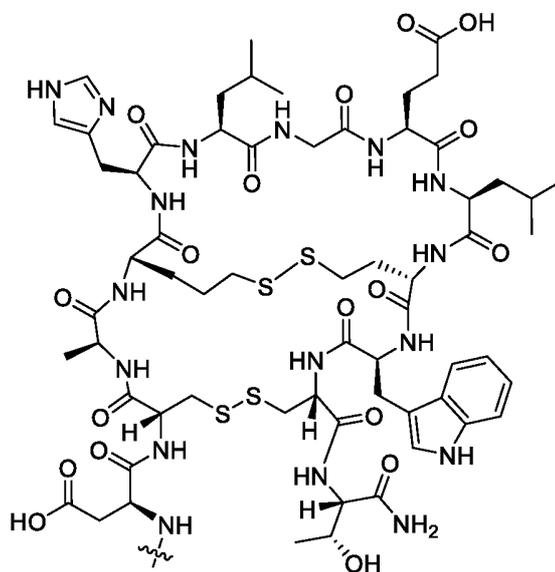
A-21



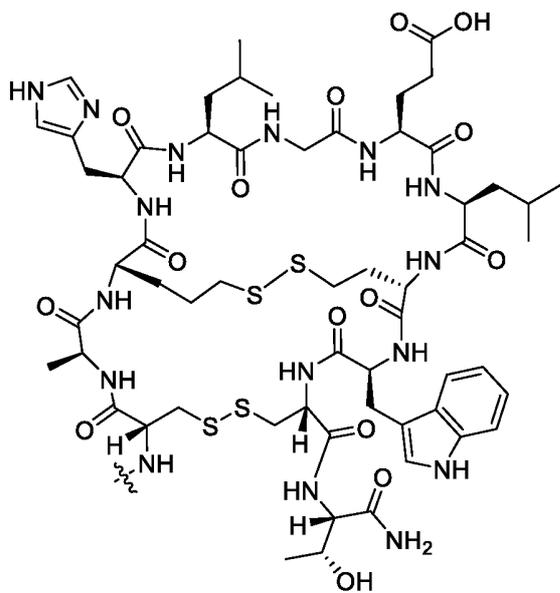
A-22



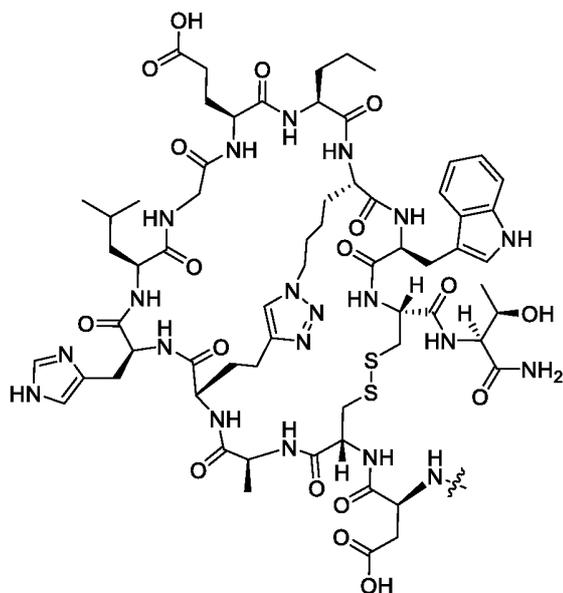
A-23



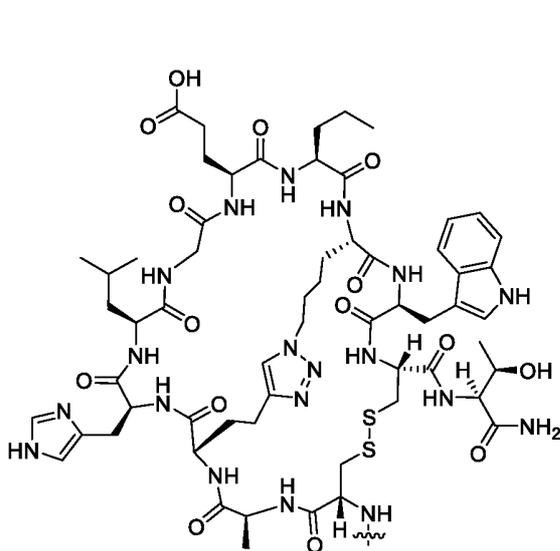
A-24



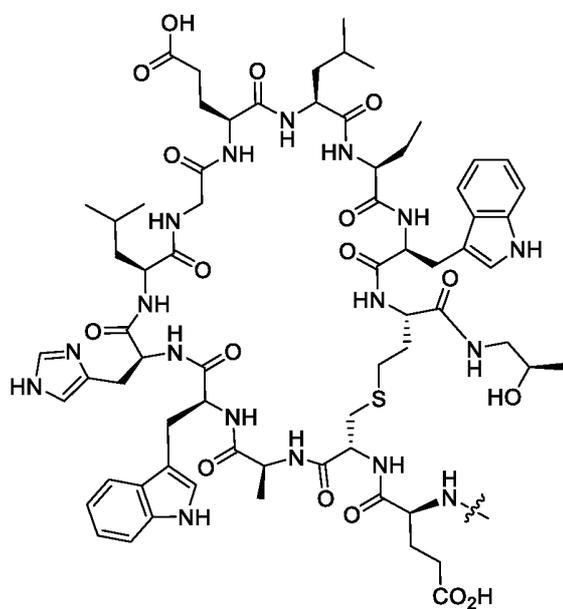
A-25



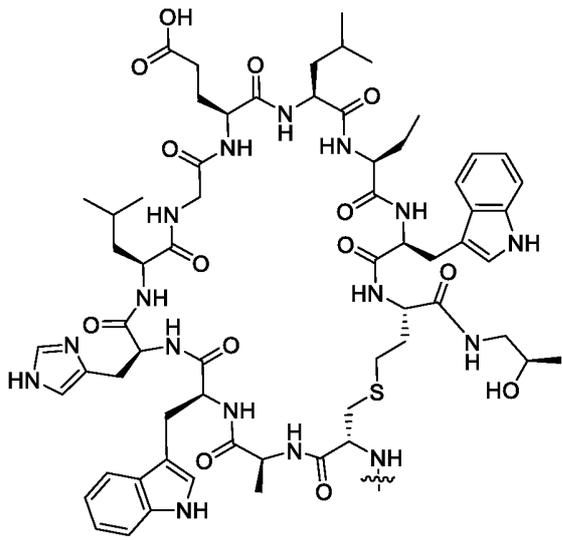
A-26



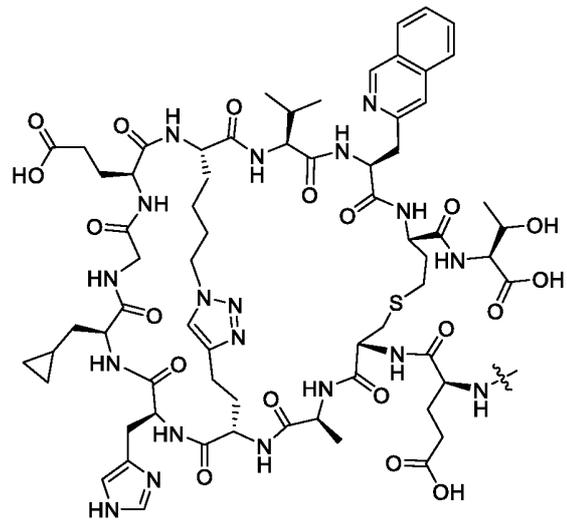
A-27



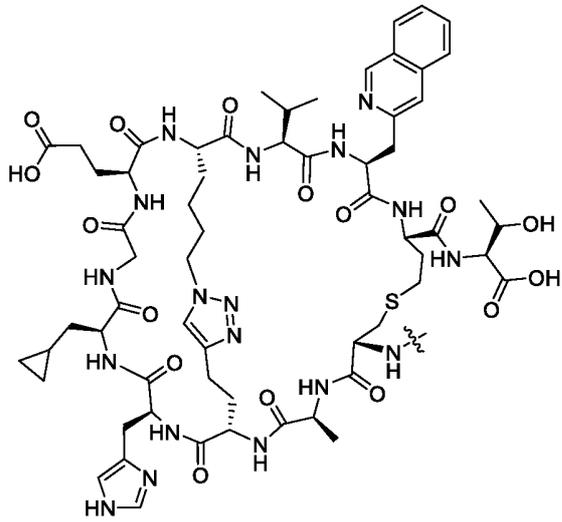
A-28



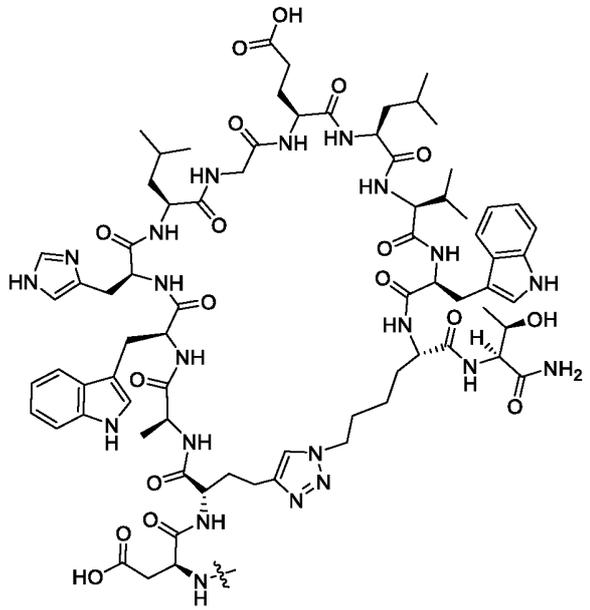
A-29



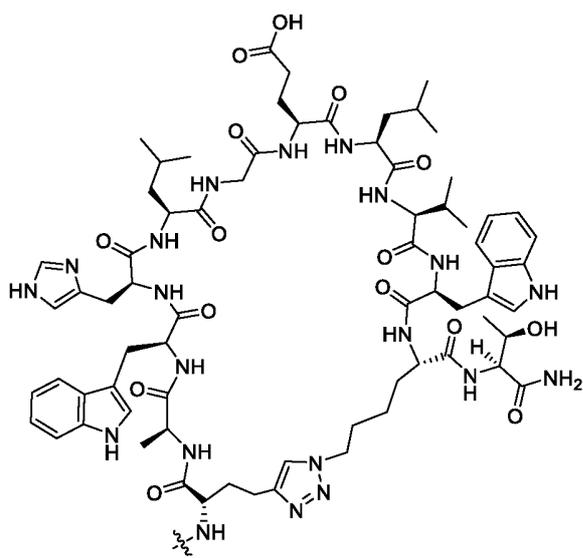
A-30



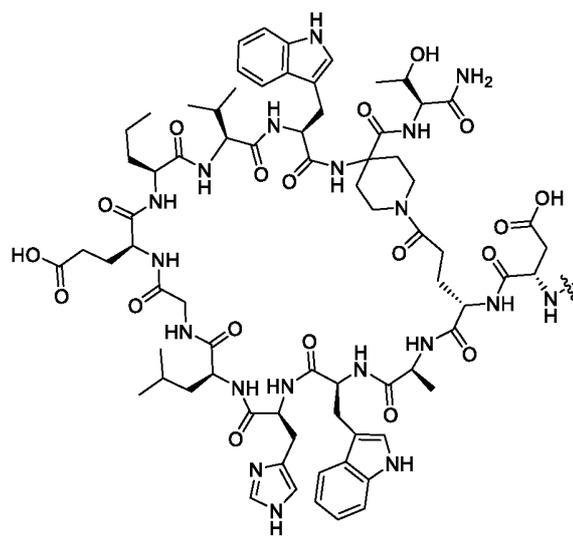
A-31



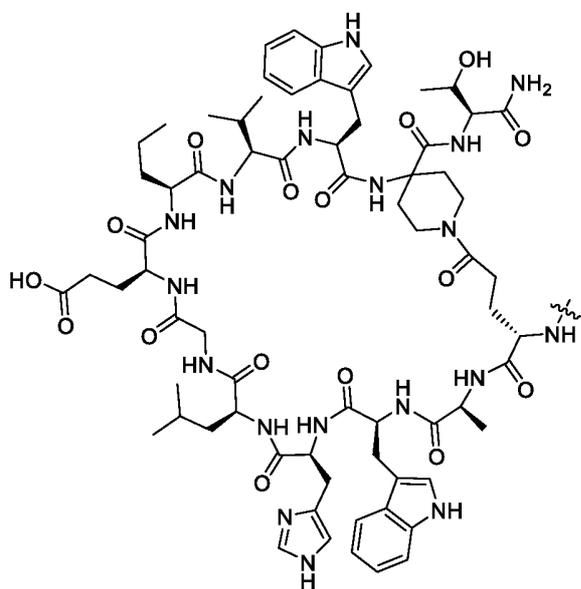
A-32



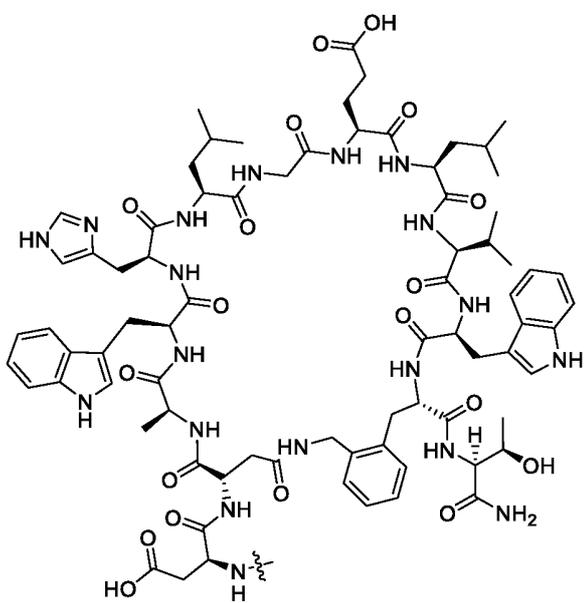
A-33



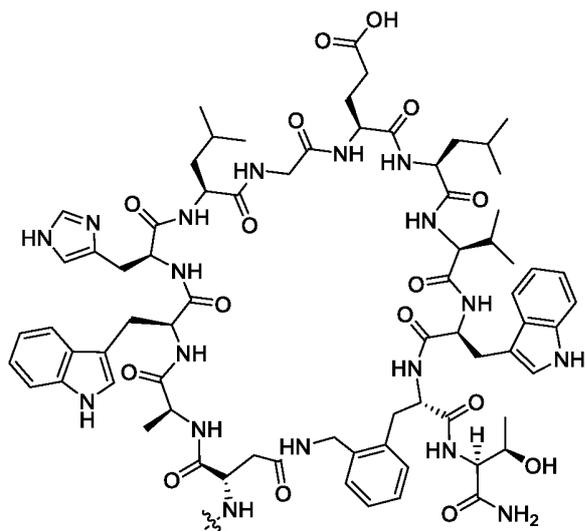
A-34



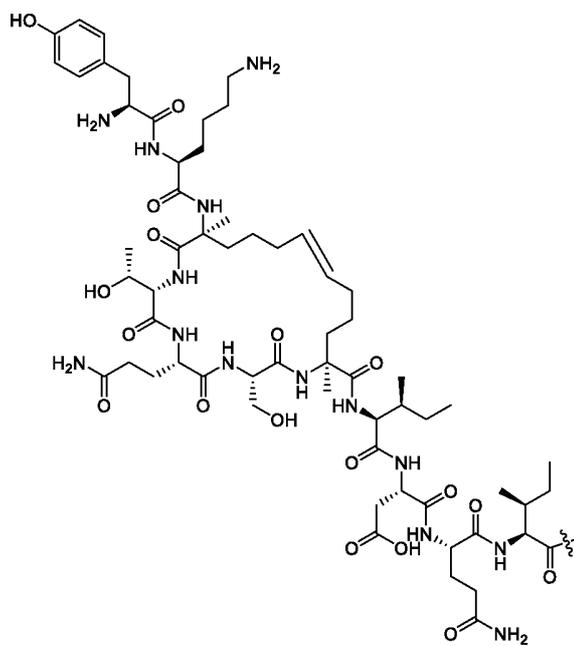
A-35



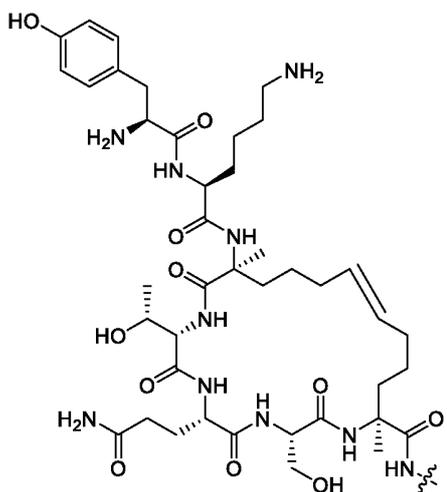
A-36



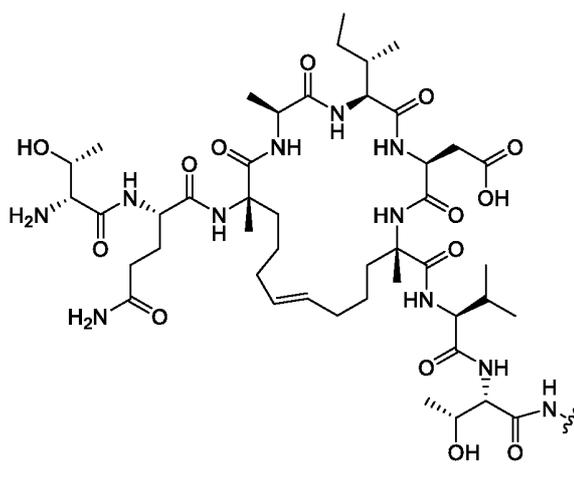
A-37



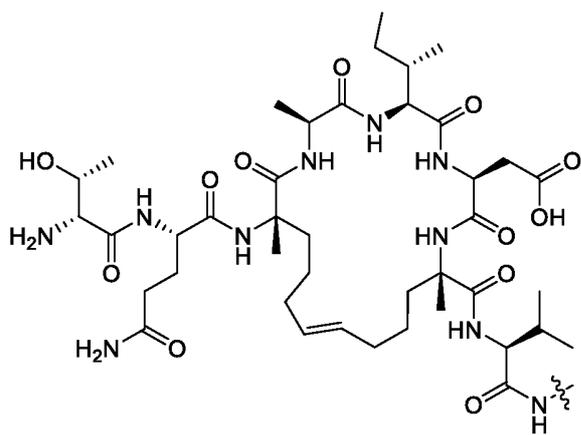
A-38



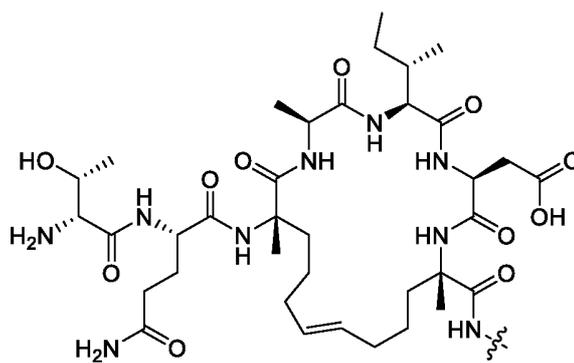
A-39



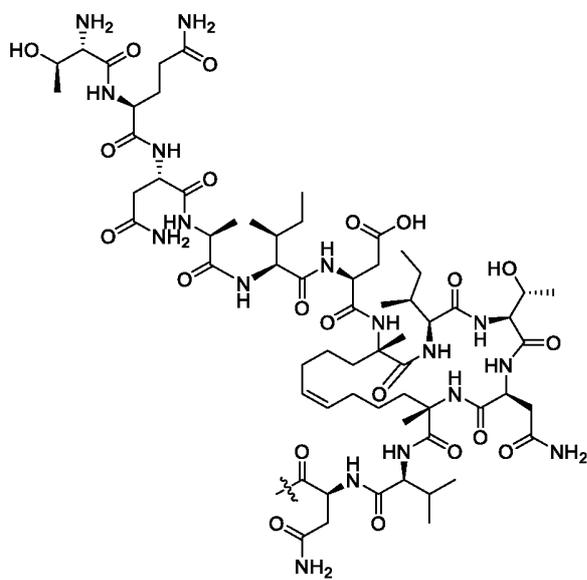
A-40



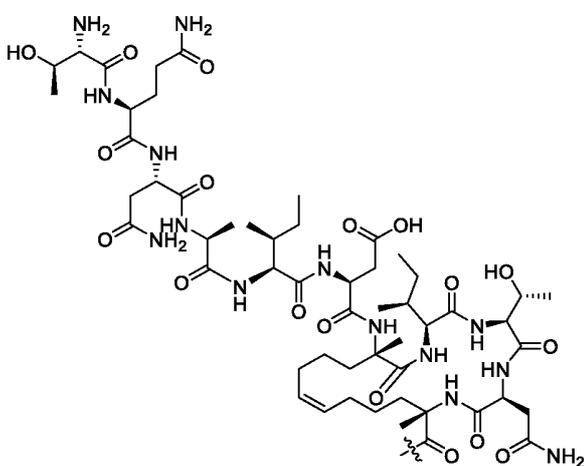
A-41



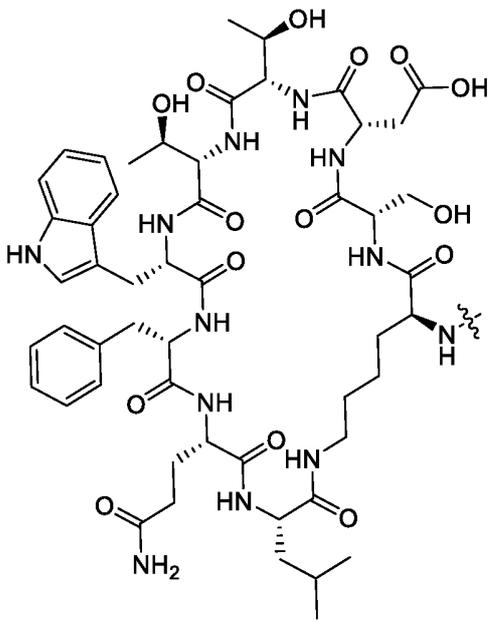
A-42



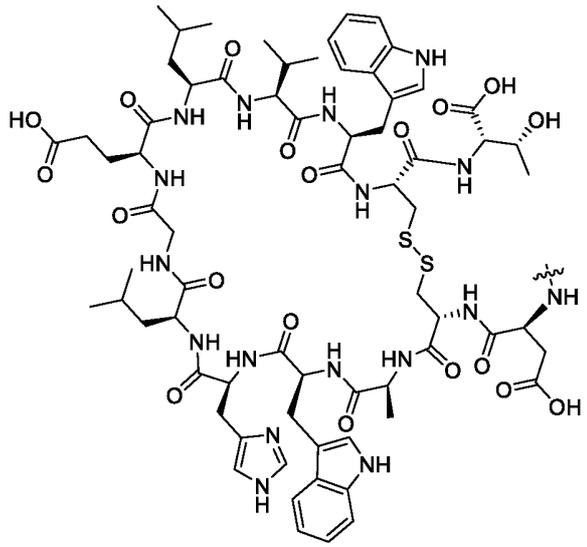
A-43



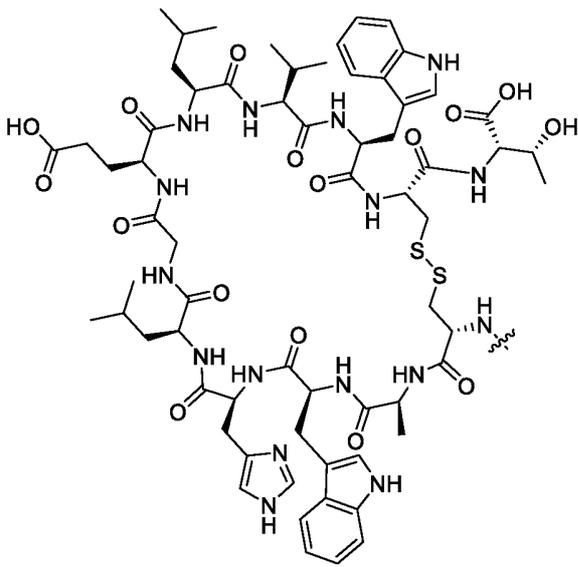
A-44



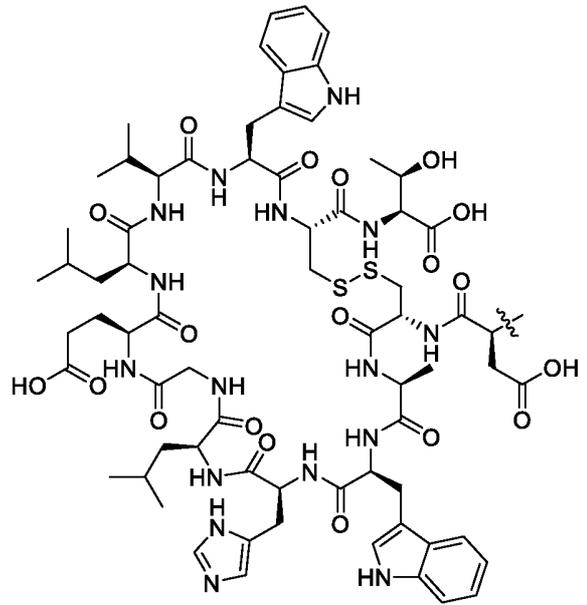
A-45



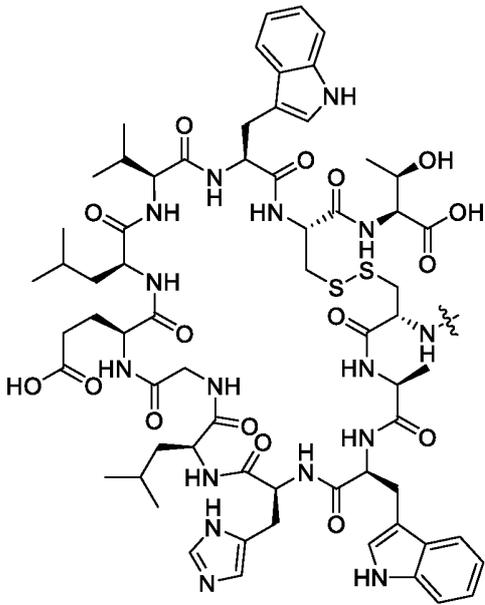
A-46



A-47



A-48



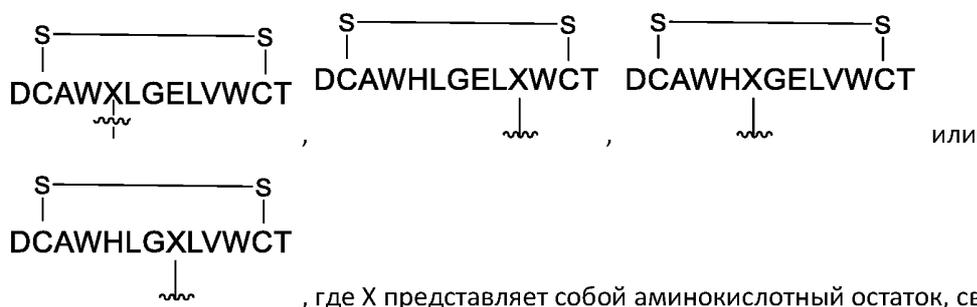
A-49

[0161] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой фрагмент, связывающий антитело, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий белок, представляет собой фрагмент, связывающий антитело, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-COOH$ и/или аминогруппы аминокислотных остатков, например, на С-конце или N-конце, являются необязательно эквивалентными. Например, в некоторых вариантах осуществления группа $-COOH$ (например, С-конец $-COOH$) является амидированной (например, превращается в $-CON(R')_2$, например, $-C(O)NHR$ (например, $-C(O)NH_2$)), и в некоторых вариантах осуществления аминогруппа, например $-NH_2$ (например, N-конец $-NH_2$) является эквивалентной R' - или $R'C(O)-$ (например, в некоторых вариантах осуществления путем превращения $-NH_2$ в $-NHR'$ (например, $-NHC(O)R$, (например, $-NHC(O)CH_3$))).

[0162] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно замещенный А-1. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно замещенный А-2. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно замещенный А-3. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно замещенный А-4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно

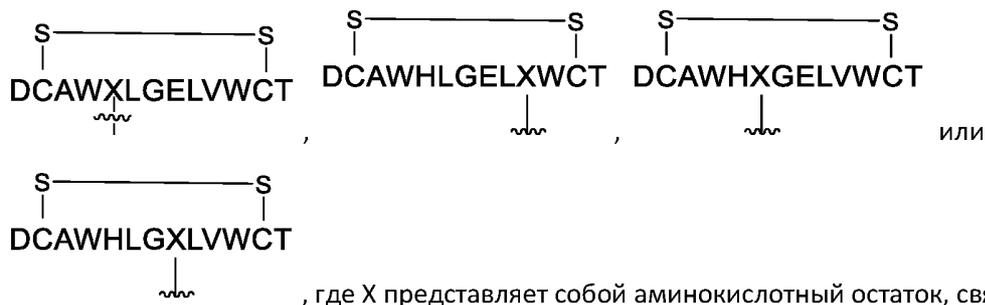
фрагментом, связывающим цель, необязательно через линкерный фрагмент через N-конец пептидной единицы. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий белок (например, фрагмент, связывающий антитело (например, универсальный фрагмент, связывающий антитело)), содержит пептидную единицу и соединен с фрагментом, связывающим цель, необязательно через линкерный фрагмент через боковую цепь пептидной единицы.

[0165] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит (DCAWHLGELVWCT)–, при этом 1-5 (например, 1, 2, 3, 4 или 5) аминокислотных остатков могут быть независимо и необязательно заменены другим аминокислотным остатком, 1-5 (например, 1, 2, 3, 4 или 5) аминокислотных остатков могут быть независимо и необязательно удалены, и/или 1-5 (например, 1, 2, 3, 4 или 5) аминокислотных остатков могут быть независимо и необязательно вставлены. В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент соединен с остальной частью молекулы через N-конец. В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент соединен с остальной частью молекулы через C-конец. В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент соединен с остальной частью молекулы через боковую цепь аминокислотного остатка (например, различных остатков X, как описано в данном документе). В некоторых вариантах осуществления два остатка цистеина образуют дисульфидную связь. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит



, где X представляет собой аминокислотный остаток, связанный с остальной частью соединения или агента, и при этом 1-5 (например, 1, 2, 3, 4 или 5) аминокислотных остатков могут быть независимо и необязательно заменены другим аминокислотным остатком, 1-5 (например, 1, 2, 3, 4 или 5) аминокислотных остатков могут быть независимо и необязательно удалены, и/или 1-5 (например, 1, 2, 3, 4 или 5) аминокислотных остатков могут быть независимо и необязательно вставлены. В некоторых вариантах осуществления общее количество замен, делеций и вставок составляет не более 10 (например, 0 или не более 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10). В некоторых вариантах осуществления общее количество равно 0. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 1. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 2. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 93

3. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 4. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 5. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 6. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 7. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 8. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 9. В некоторых вариантах осуществления общее количество составляет не более 10. В некоторых вариантах осуществления вставки отсутствуют. В некоторых вариантах осуществления делеции отсутствуют. В некоторых вариантах осуществления замены отсутствуют. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит



частью соединения или агента. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-\text{N}(\text{R}')-\text{CH}(-)-\text{C}(\text{O})-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-\text{N}(\text{R}')-\text{CH}(-\text{L}^{\text{LG1}})-\text{C}(\text{O})-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-\text{N}(\text{R}')-\text{CH}(-\text{L}^{\text{LG1}}-\text{L}^{\text{LG2}})-\text{C}(\text{O})-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-\text{N}(\text{R}')-\text{CH}(-\text{L}^{\text{LG1}}-\text{L}^{\text{LG2}}-\text{L}^{\text{LG3}})-\text{C}(\text{O})-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-\text{N}(\text{R}')-\text{CH}(-\text{L}^{\text{LG1}}-\text{L}^{\text{LG2}}-\text{L}^{\text{LG3}}-\text{L}^{\text{LG4}})-\text{C}(\text{O})-$. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий

цель, представляет собой или содержит

$$\begin{array}{c}
 \text{S} \text{-----} \text{S} \\
 | \qquad \qquad | \\
 \text{DCAWXLGELVWCT} \\
 \text{~~~~~}
 \end{array}$$

. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит



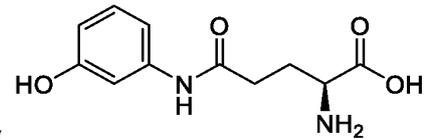
представляет собой или содержит

$$\begin{array}{c}
 \text{S} \text{-----} \text{S} \\
 | \qquad \qquad | \\
 \text{DCAWHXGELVWCT} \\
 \text{~~~~~}
 \end{array}$$

. В некоторых вариантах осуществления

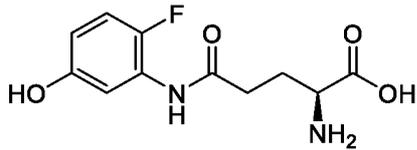


фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит

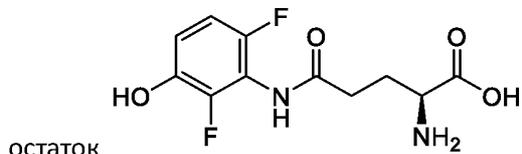


некоторых вариантах осуществления X представляет собой остаток

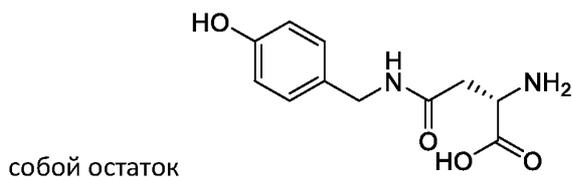
В некоторых вариантах осуществления X представляет собой остаток



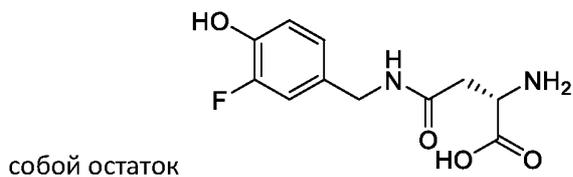
. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления X представляет



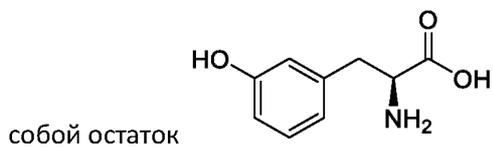
. В некоторых вариантах осуществления X представляет



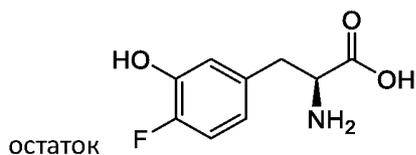
. В некоторых вариантах осуществления X представляет



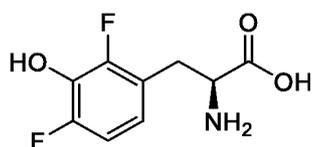
. В некоторых вариантах осуществления X представляет



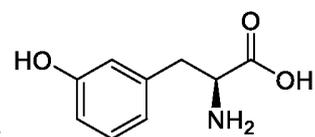
. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой



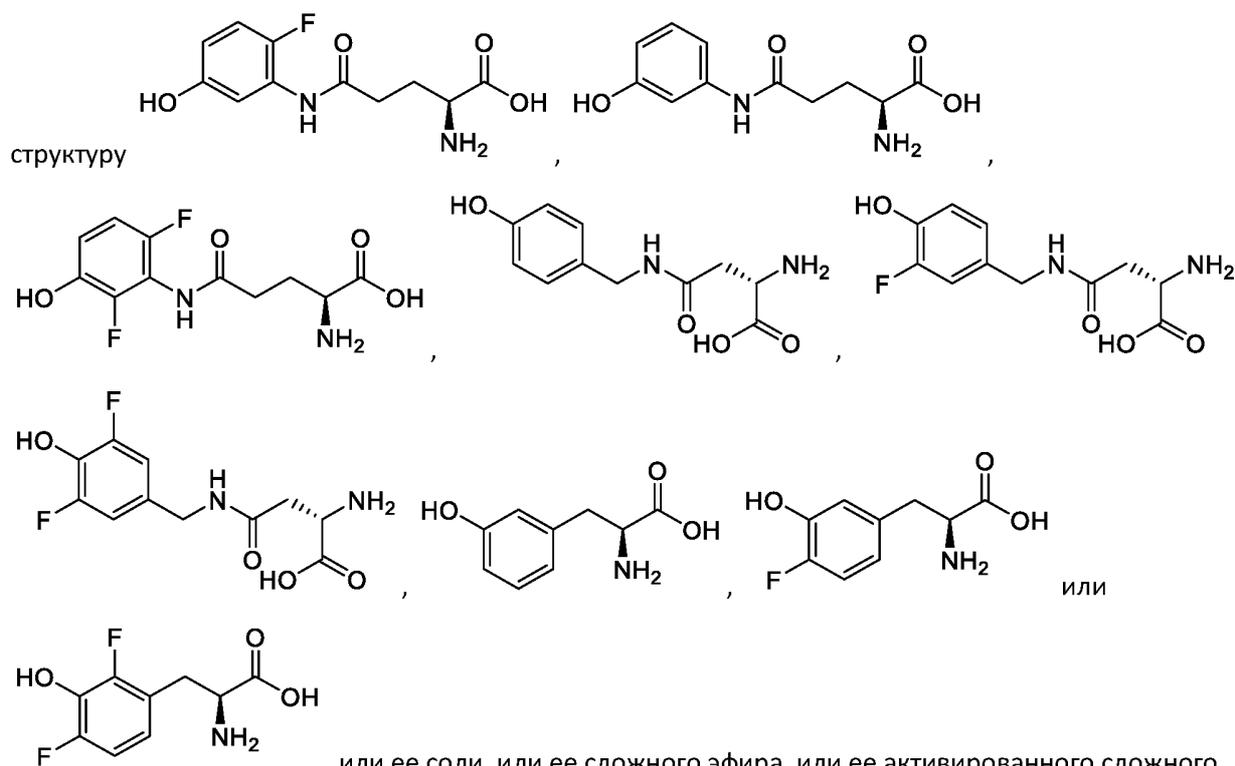
. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой



остаток . В некоторых вариантах осуществления X представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой D. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой остаток Dab. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой E. В



некоторых вариантах осуществления X представляет собой остаток . В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предлагается аминокислота, имеющая

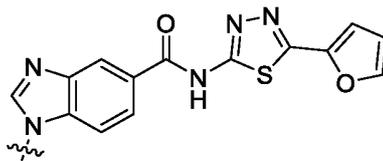


, или ее соли, или ее сложного эфира, или ее активированного сложного эфира, или ее стереоизомера, или сложного эфира или активированного сложного эфира стереоизомера. В некоторых вариантах осуществления такие фрагменты, связывающие цепь, представляют собой фрагменты, связывающие антитело.

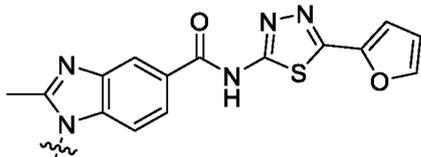
[0166] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, например, универсальный фрагмент, связывающий антитело, представляет собой или содержит низкомолекулярную единицу с молекулярной массой, например, менее 10000, 9000, 8000, 7000, 6000, 5000, 4000, 3000, , 2000, 1500, 1000 и т. д. Пригодные такие фрагменты, связывающие антитело, включают низкомолекулярные фрагменты, связывающие Fc, например те, которые описаны в US 9 745 339, US 201/30131321 и т. д. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий

антитело, имеет такую структуру, что его соответствующее соединение представляет собой соединение, описанное в US 9 745 339 или US 2013/0131321, соединения каждого из которых независимо включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления связывающий антитело фрагмент АВТ имеет такую структуру, что Н-АВТ представляет собой соединение, описанное в US 9 745 339 или US 2013/0131321, соединения каждого из которых независимо включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления такое соединение может связываться с антителом. В некоторых вариантах осуществления такое соединение может связываться с Fc-областью антитела.

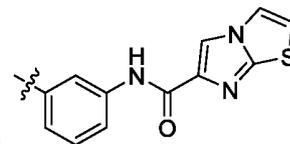
[0167] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет



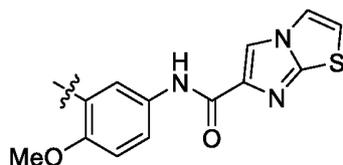
собой или содержит необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит



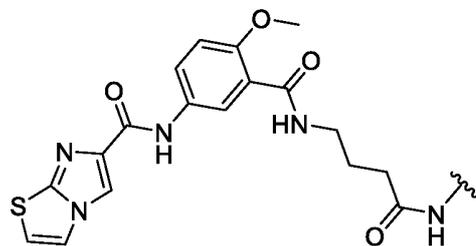
. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий



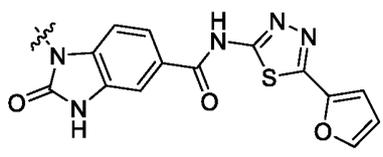
цель, представляет собой или содержит необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит

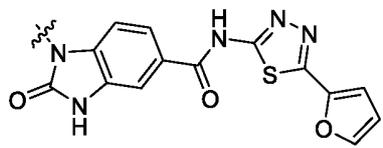


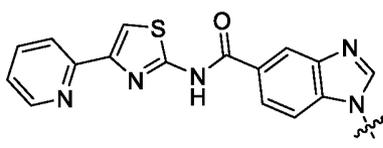
. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель,

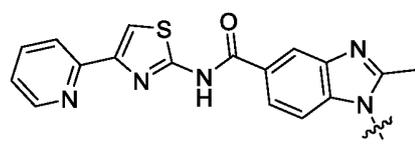


представляет собой или содержит . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно

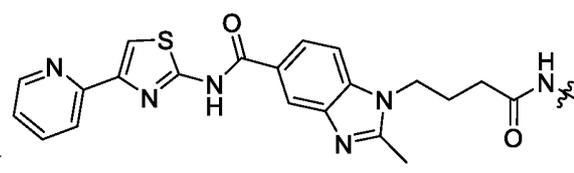
замещенный  . В некоторых вариантах осуществления фрагмент,

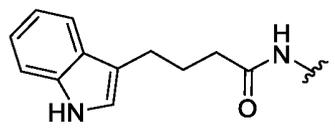
связывающий цель, представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит

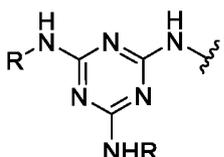
необязательно замещенный  . В некоторых вариантах осуществления

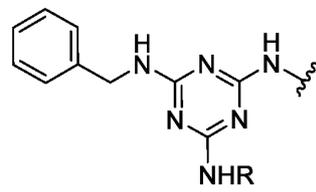
фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит  .

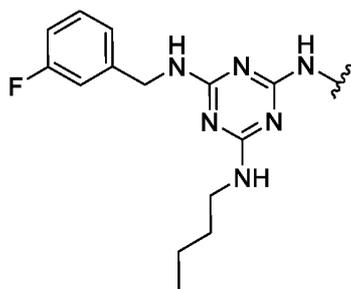
В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или

содержит  . В некоторых вариантах осуществления

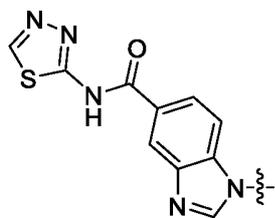
фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит

необязательно замещенный  . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно замещенный

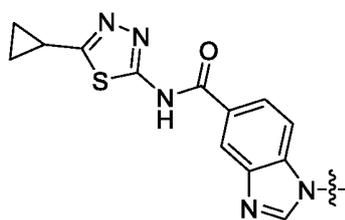
 . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель,



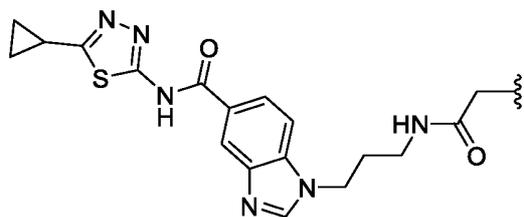
представляет собой или содержит . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно



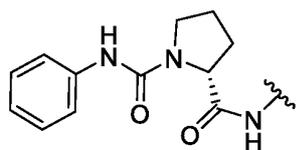
замещенный . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий



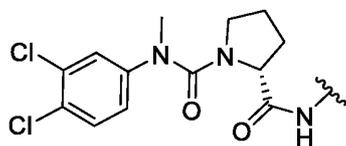
цель, представляет собой или содержит . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит



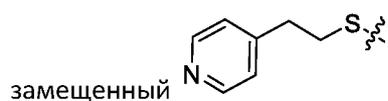
. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно замещенный



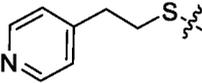
. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель,



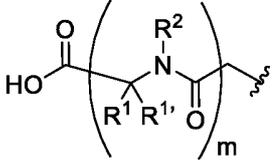
представляет собой или содержит . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит необязательно

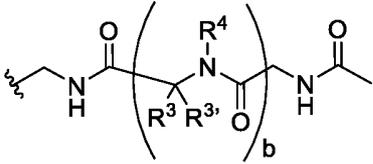


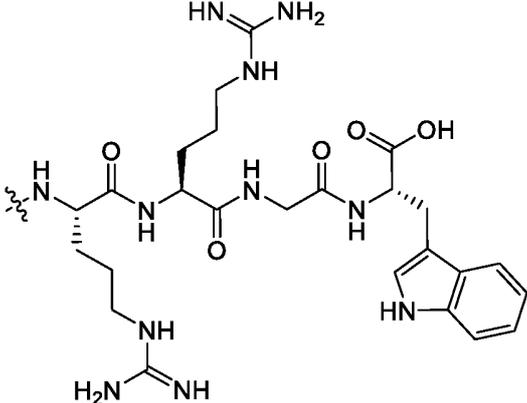
замещенный . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель,

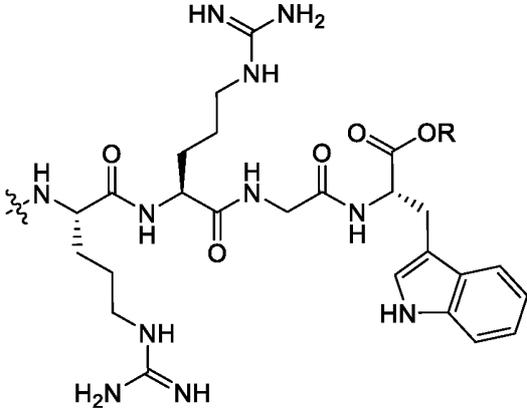
представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах осуществления такие фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитело.

[0168] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет

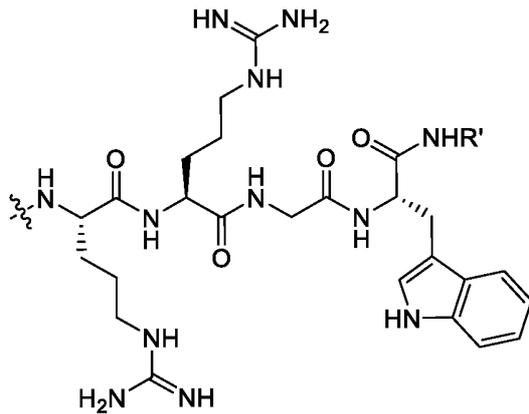
собой или содержит , где каждая переменная является независимо такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления m составляет от 4 до 13. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой или содержит

, где b равно 1-20, и каждая другая переменная является независимо такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления b составляет от 4 до 13. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$,

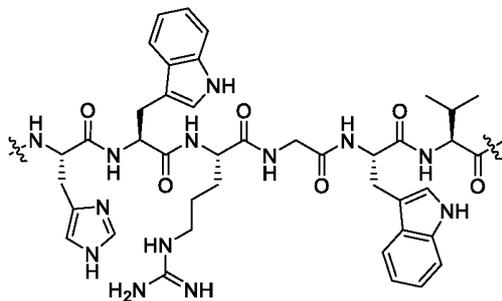
представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой

или содержит  . В некоторых вариантах осуществления

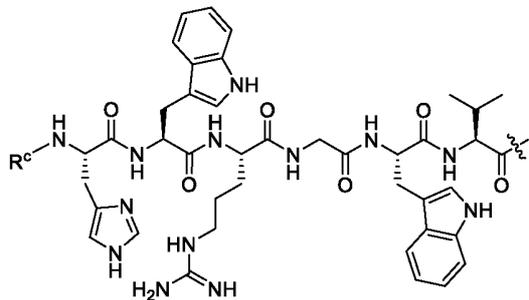
фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит



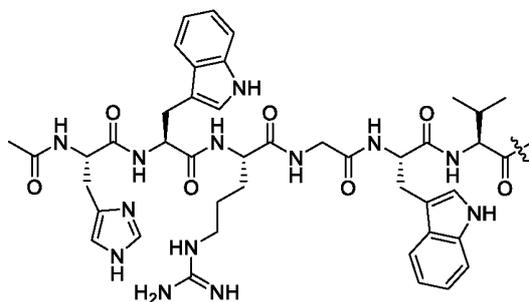
. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит



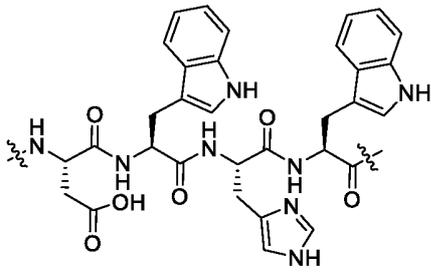
. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит



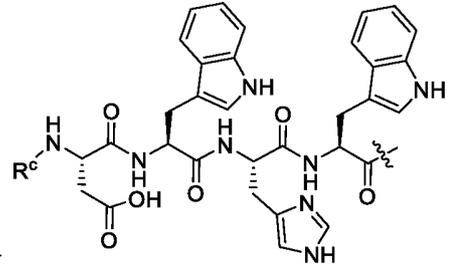
. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит



. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит



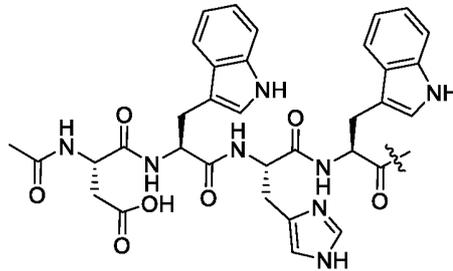
. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий



цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

в некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$,

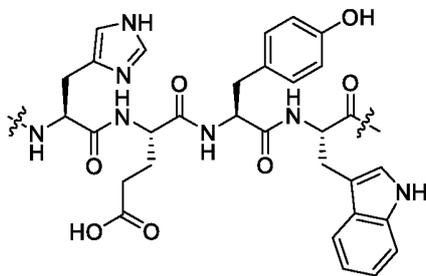
. В



представляет собой или содержит

в некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или

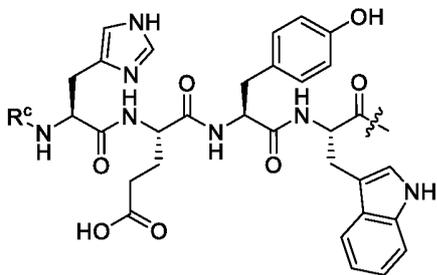
. В некоторых вариантах



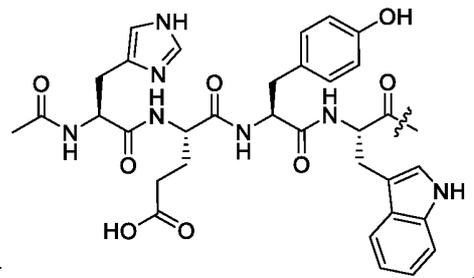
содержит

в некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

. В некоторых вариантах осуществления фрагмент,

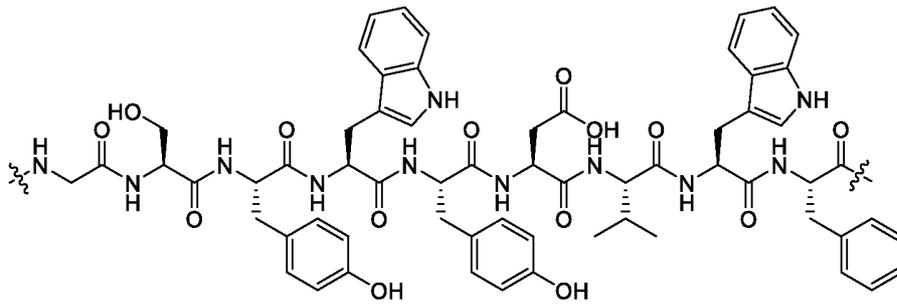


. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий



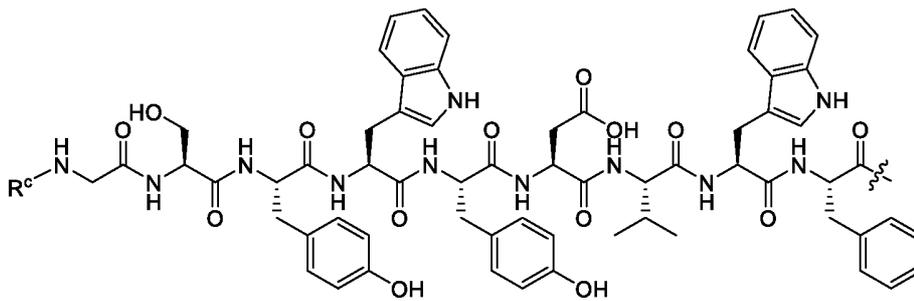
цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит



. В некоторых вариантах

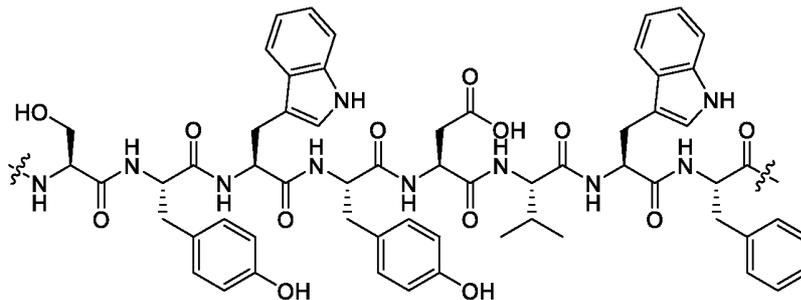
осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или



содержит

. В некоторых

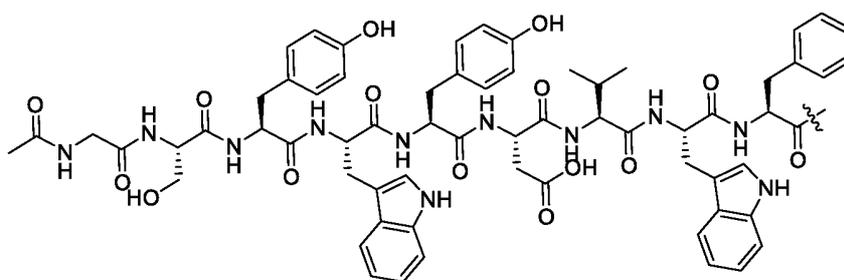
вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой



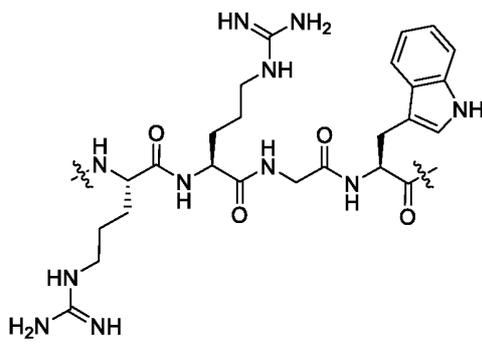
или содержит

. В некоторых

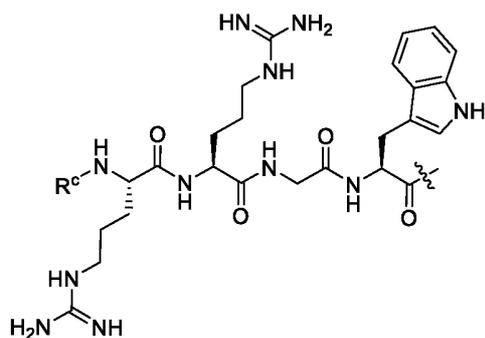
вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой



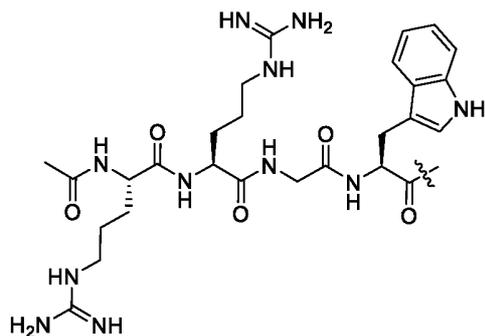
или содержит . В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой



или содержит $H_2N-C(=NH)-NH-$. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

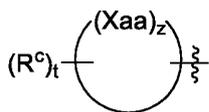


. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

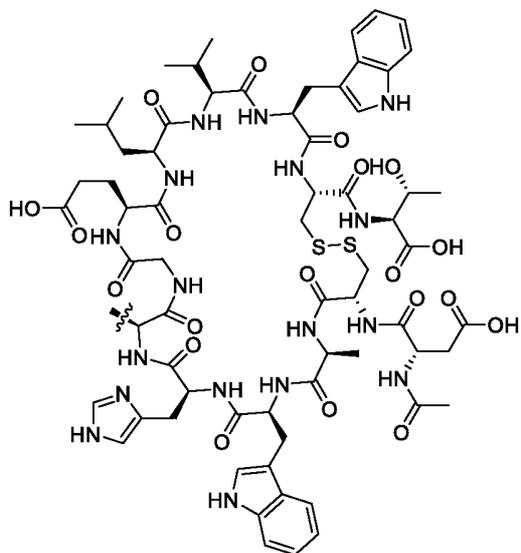


. В некоторых вариантах осуществления $-NH-$ связан с группой R^c . В некоторых вариантах осуществления, R^c представляет собой $R-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления, R^c представляет собой $CH_3C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления такие фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитело.

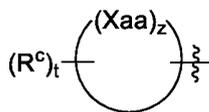
[0169] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например,



или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

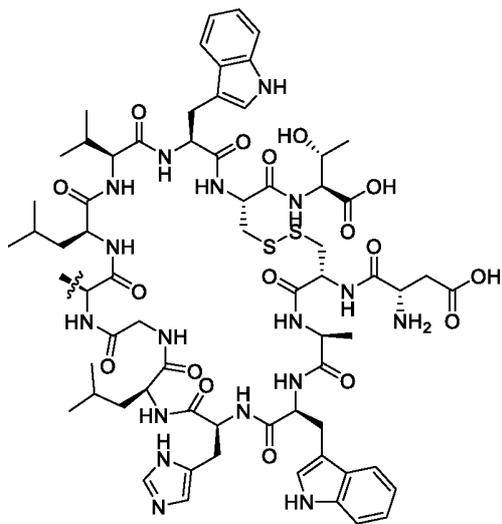


. В некоторых вариантах осуществления фрагмент,

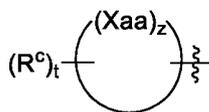


связывающий цель, например,

или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

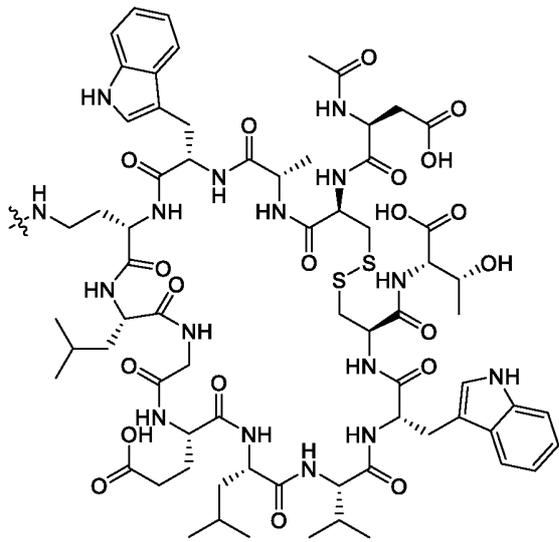


. В некоторых вариантах осуществления фрагмент,

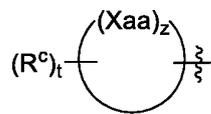


связывающий цель, например,

или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

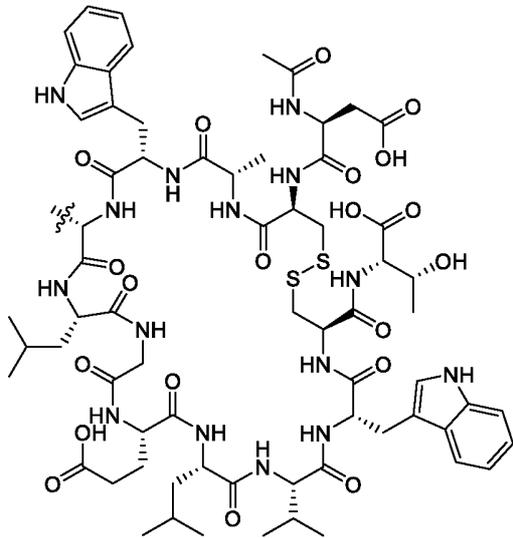


. В некоторых вариантах осуществления фрагмент,

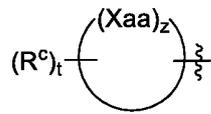


связывающий цель, например,

или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

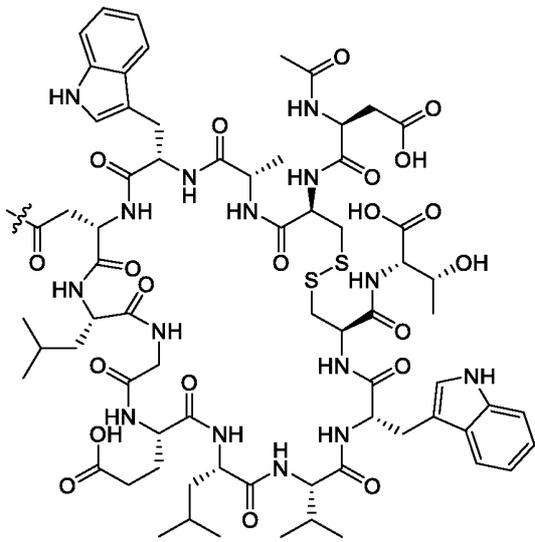


. В некоторых вариантах осуществления фрагмент,

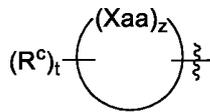


связывающий цель, например,

или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

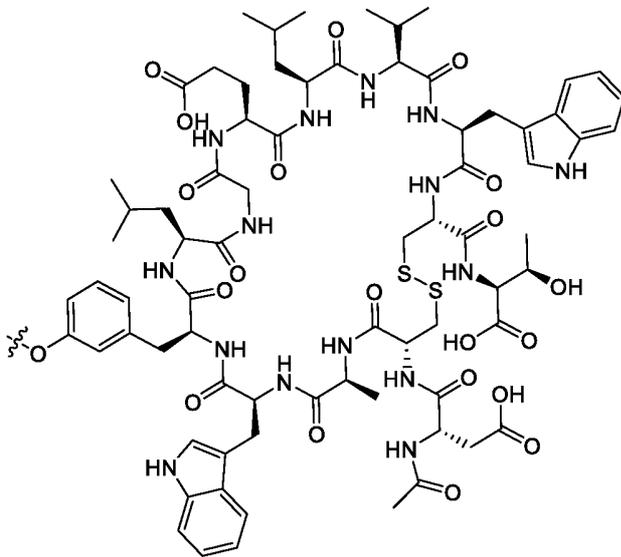


. В некоторых вариантах осуществления фрагмент,

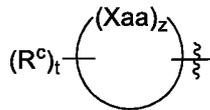


связывающий цель, например,

или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит

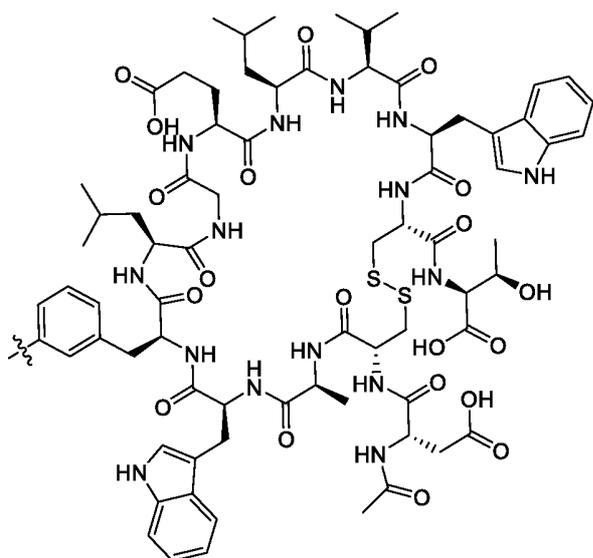


. В некоторых вариантах осуществления фрагмент,



связывающий цель, например,

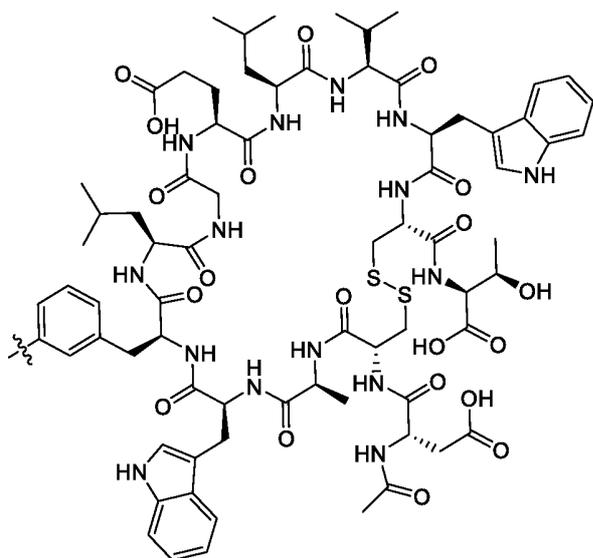
или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит



. В некоторых вариантах осуществления фрагмент,



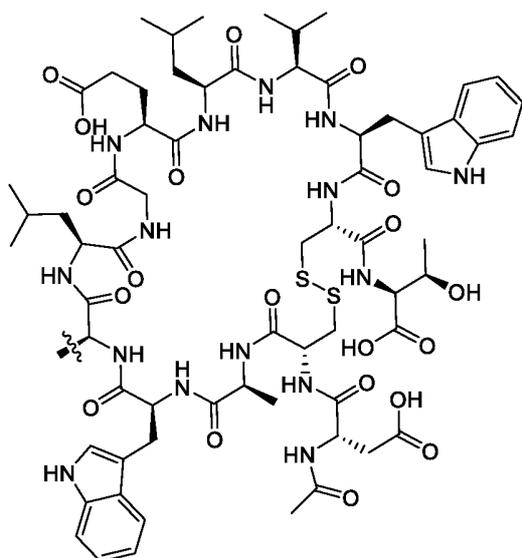
или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит



. В некоторых вариантах осуществления фрагмент,

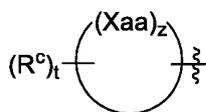


или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит



. В некоторых вариантах осуществления такие фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитело.

[0170] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит пептидный фрагмент Z33. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит $-FNMQQRRFYALHDPNLNEEQRNAKIKSIRDD-NH_2$ или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит $FNMQCQRRFYALHDPNLNEEQRNAKIKSIRDDC$ или его фрагмент. В некоторых вариантах



осуществления фрагмент, связывающий цель, например,

или $R^c-(Xaa)_z-$,

представляет собой или содержит пептидный фрагмент, такой как

FNMQCQRRFYALHDPNLNEEQRNAKIKSIRDDC, RGNCAYHRGQLVWCTYH, RGNCAYHKGQLVWCTYH, RGNCYHRGQLVWCTYH, RGNCAWHRGKLVWCTYH, RGNCCKWHRGELVWCTYH, RGNCCKWHRGQLVWCTYH, RGNCYHLGELVWCTYH, RGNCYHLGQLVWCTYH, DCKWHLGELVWCT, DCKYHLGELVWCT, DCKWHRGELVWCT, DCKWHLGQLVWCT, DCKYHRGELVWCT, DCKYHLGQLVWCT, DCKWHRGQLVWCT, DCKYHRGQLVWCT, FNKQCQRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCQRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCQRRFYALHDPNLNKEQRNARIRSIRDDC, FNMQCQRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, RGNCAWHLGQLVWCKYH, RGNCAWHLGELVWCKYH, RGNCAYHLGQLVWCTKH, RGNCAYHLGQLVWCTYK, RGNCAYHRGQLVWCTKH, KNMQCQRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCQKRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCQRRFYAKHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCQRRFYALHDPNLNEEQRKARIRSIRDDC, FNMQCQRRFYALHDPNLNKEQRNARIRSIRDDC, FNMQCQRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNKQCQRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC,

FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRKDC, Fc-III, FcBP-2,

Fc-III-4C, Ac-GPDCAYHXGELVWCTFH-NH₂ (X = K или R) и т.д., при этом два остатка

цистеина могут необязательно образовывать дисульфидную связь. В некоторых вариантах осуществления, в пептиде, описанном в данном документе, два остатка цистеина образуют дисульфидную связь. В некоторых вариантах осуществления пептид, такой как Z33,

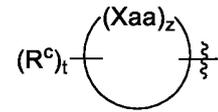
FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNAKIKSIRDDC, RGNCAYHRGQLVWCTYH, RGNCYHRGQLVWCTYH, RGNCAYHKGQLVWCTYH, RGNCAWHRGKLVWCTYH, RGNCWHRGQLVWCTYH, RGNCWHRGELVWCTYH, RGNCYHLGELVWCTYH, RGNCYHLGQLVWCTYH, DCKWHLGELVWCT, DCKYHLGELVWCT, DCKWHRGELVWCT, DCKWHLGQLVWCT, DCKYHRGELVWCT, DCKYHLGQLVWCT, DCKWHRGQLVWCT, DCKYHRGQLVWCT, FNKQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARISIKDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNKEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, RGNCAWHLGQLVWCKYH, RGNCAWHLGELVWCKYH, RGNCAYHLGQLVWCTKH, RGNCAYHLGQLVWCTYK, RGNCAYHRGQLVWCTKH, KNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCQRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYAKHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRKARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNKEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARISIKDDC, FNKQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRKDC, Fc-III, FcBP-2,

Fc-III-4C, Ac-GPDCAYHXGELVWCTFH-NH₂ (X = K или R) и т.д., соединен через свой N-

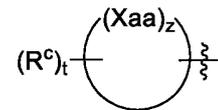
конец, C-конец или боковую цепь (например, K (например, подчеркнутые остатки K в RGNCAYHKGQLVWCTYH, RGNCKYHRGQLVWCTYH, RGNCAWHRGKLVWCTYH, RGNCKWHRGELVWCTYH, RGNCKWHRGQLVWCTYH, RGNCKYHLGELVWCTYH, RGNCKYHLGQLVWCTYH, DCKWHLGELVWCT, DCKYHLGELVWCT, DCKWHRGELVWCT, DCKWHLGQLVWCT, DCKYHRGELVWCT, DCKYHLGQLVWCT, DCKWHRGQLVWCT, DCKYHRGQLVWCT, RGNCAWHLGQLVWCKYH,

FNKQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARISIKDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNKEQRNARIRSIRDDC, RGNCAWHLGELVWCKYH, RGNCAYHLGQLVWCTKH, RGNCAYHLGQLVWCTK, RGNCAYHRGQLVWCTKH, KNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCQRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYEAKHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNKEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNKEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNSIKDDC, FNKQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRDDC, FNMQCRRFYALHDPNLNEEQRNARIRSIRKDC и т.д.)). В некоторых вариантах осуществления один или большее количество аминокислотных остатков последовательности могут быть независимо и необязательно заменены (например, 1-5),

делетированы (например, 1-5) и/или вставлены (например, 1-5), как описано в данном документе. В

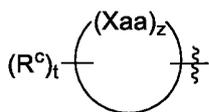


некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит $-CX_1YHXXXLVWC-$, $-XCX_1YHXXXLVWC-$, $-CX_1YHXXXLVWCX-$, $-X_{0-3}CX_1YHXXXLVWCX_{0-3}-$, $-XCX_1YHXXXLVWCXXX--XXXCX_1YHXXXLVWCXXX-$, где каждый X независимо представляет собой аминокислотный остаток, а два остатка C необязательно образуют дисульфидную связь. В некоторых вариантах осуществления X^8 (X после H) представляет собой Orn. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Dab. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Lys(Ac). В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Orn(Ac). В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Dab(Ac). В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Arg. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Ile. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Nva. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Thr. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Leu. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Ala(tBu). В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Cha. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Phe. В



некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит DCAWHLGELVWCT. В некоторых вариантах осуществления С-конец и/или N-конец фрагмента белкового агента/пептидного агента являются независимо кэпированными (например, $RC(O)-$, такой как $CH_3C(O)-$ для N-конца, $-N(R')_2$, такой как $-NH$ для С-конца и т. д.). В некоторых вариантах осуществления такие фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитело. В некоторых вариантах осуществления, как описано в данном документе, остаток может быть модифицирован или заменен для соединения с другим фрагментом, например, в некоторых вариантах осуществления H может быть заменен аминокислотным остатком, содержащим боковую цепь, которая содержит $-COOH$, или его солевую или активированную форму (например, D).

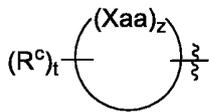
[0171] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например,



или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит $(X_{1-3})-C-(X_2)-H-(Xaa1)-G-(Xaa2)-L-V-W-C-(X_{1-3})$, где каждый из X и Xaa независимо представляет собой аминокислотный остаток и

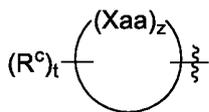
необязательно не является остатком цистеина. В некоторых вариантах осуществления Хаа1 представляет собой R, L, D, E, остаток 2-аминосубериновой кислоты или остаток диаминопропионовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления Хаа2 представляет собой L, D, E, N или Q. В некоторых вариантах осуществления Хаа1 представляет собой остаток лизина, остаток цистеина, остаток аспарагиновой кислоты, остаток глутаминовой кислоты, остаток 2-аминосубериновой кислоты или остаток диаминопропионовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления Хаа2 представляет собой остаток глутаминовой кислоты или остаток аспарагиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления Хаа1 представляет собой остаток аргинина или остаток лейцина. В некоторых вариантах осуществления Хаа2 представляет собой остаток лизина, остаток глутамин или остаток аспарагиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления такие фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитело.

[0172] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например,



или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит (X1-3)-C-(Xaa3)-(Xaa4)-H-(Xaa1)-G-(Xaa2)-L-V-W-C-(Xaa5)-(Xaa6)-(Xaa7), где каждый из X и Хаа независимо представляет собой аминокислотный остаток и необязательно не является остатком цистеина. В некоторых вариантах осуществления Хаа3 представляет собой остаток аланина или остаток лизина. В некоторых вариантах осуществления Хаа4 представляет собой остаток триптофана или остаток тирозина. В некоторых вариантах осуществления Хаа1 представляет собой остаток аргинина, остаток лейцина, остаток лизина, остаток аспарагиновой кислоты, остаток глутаминовой кислоты, остаток 2-аминосубериновой кислоты или остаток диаминопропионовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления Хаа2 представляет собой остаток лизина, остаток глутамин, остаток глутаминовой кислоты, остаток аспарагина или остаток аспарагиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления Хаа5 представляет собой остаток треонина или остаток лизина. В некоторых вариантах осуществления Хаа6 представляет собой остаток тирозина, остаток лизина или отсутствует. В некоторых вариантах осуществления Хаа7 представляет собой остаток гистидина, остаток лизина или отсутствует. В некоторых вариантах осуществления такие фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитело.

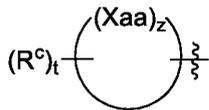
[0173] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например,



или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит D-C-(Xaa3)-(Xaa4)-H-(Xaa1)-G-(Xaa2)-L-V-W-C-(Xaa5)-(Xaa6)-(Xaa7), где каждый из X и Хаа независимо представляет собой

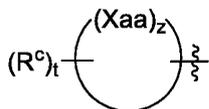
аминокислотный остаток и необязательно не является остатком цистеина. В некоторых вариантах осуществления Хаа3 представляет собой остаток аланина или остаток лизина. В некоторых вариантах осуществления Хаа4 представляет собой остаток триптофана или остаток тирозина. В некоторых вариантах осуществления Хаа1 представляет собой остаток аргинина, остаток лейцина, остаток лизина, остаток аспарагиновой кислоты, остаток глутаминовой кислоты, остаток 2-аминосубериновой кислоты или остаток диаминопропионовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления Хаа2 представляет собой остаток лизина, остаток глутамин, остаток глутаминовой кислоты, остаток аспарагина или остаток аспарагиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления Хаа5 представляет собой остаток треонина или остаток лизина. В некоторых вариантах осуществления Хаа6 представляет собой остаток тирозина, остаток лизина или отсутствует. В некоторых вариантах осуществления Хаа7 представляет собой остаток гистидина, остаток лизина или отсутствует. В некоторых вариантах осуществления такие фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитело.

[0174] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например,



или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит D-C-(Хаа3)-(Хаа4)-H-(Хаа1)-G-(Хаа2)-L-V-W-C-T, где каждый из X и Хаа независимо представляет собой аминокислотный остаток и необязательно не является остатком цистеина. В некоторых вариантах осуществления Хаа3 представляет собой остаток аланина или остаток лизина. В некоторых вариантах осуществления Хаа4 представляет собой остаток триптофана или остаток тирозина. В некоторых вариантах осуществления Хаа1 представляет собой остаток аргинина, остаток лейцина, остаток лизина, остаток аспарагиновой кислоты, остаток глутаминовой кислоты, остаток 2-аминосубериновой кислоты или остаток диаминопропионовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления Хаа2 представляет собой остаток лизина, остаток глутамин, остаток глутаминовой кислоты, остаток аспарагина или остаток аспарагиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления такие фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитело.

[0175] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например,



или $R^c-(Xaa)_z-$, представляет собой или содержит R-G-N-C-(Хаа3)-(Хаа4)-H-(Хаа1)-G-(Хаа2)-L-V-W-C-(Хаа5)-(Хаа6)-(Хаа7), где каждый из X и Хаа независимо представляет собой аминокислотный остаток и необязательно не является остатком цистеина. В некоторых вариантах осуществления Хаа3 представляет собой остаток аланина или остаток лизина. В некоторых вариантах

осуществления Хаа4 представляет собой остаток триптофана или остаток тирозина. В некоторых вариантах осуществления Хаа1 представляет собой остаток аргинина, остаток лейцина, остаток лизина, остаток аспарагиновой кислоты, остаток глутаминовой кислоты, остаток 2-аминосубериновой кислоты или остаток диаминопропионовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления Хаа2 представляет собой остаток лизина, остаток глутамин, остаток глутаминовой кислоты, остаток аспарагина или остаток аспарагиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления Хаа5 представляет собой остаток треонина или остаток лизина. В некоторых вариантах осуществления Хаа6 представляет собой остаток тирозина, остаток лизина или отсутствует. В некоторых вариантах осуществления Хаа7 представляет собой остаток гистидина, остаток лизина или отсутствует. В некоторых вариантах осуществления такие фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитело.

[0176] В некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие цель, например, различные фрагменты, связывающие цель, описанные выше, представляют собой фрагменты, связывающие белок. В некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие цель, представляют собой фрагменты, связывающие антитело. В некоторых вариантах осуществления LG представляет собой или содержит такой фрагмент, связывающий цель. В некоторых вариантах осуществления RLG представляет собой или содержит фрагмент, связывающий белок. В некоторых вариантах осуществления LG представляет собой или содержит фрагмент, связывающий антитело.

[0177] В некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие цель, например, фрагменты, связывающие антитело, и пригодные технологии для разработки и/или оценки таких фрагментов описаны, например, в публикациях Alves, Langmuir 2012, 28, 9640–9648; Choe et al., Materials 2016, 9, 994; doi:10.3390/ma9120994; Gupta et al., Nature Biomedical Engineering, vol. 3, 2019, 917–929; Muguruma, et al., ACS Omega 2019, 4, 14390–14397, doi: 10.1021/acsomega.9b01104; Yamada, et al., Angew Chem Int Ed Engl. 2019 Apr 16;58(17):5592-5597, doi: 10.1002/anie.201814215; Kruljec, et al., Bioconjug Chem. 2017, 28(8): 2009-2030, doi: 10.1021/Acs.bioconjchem.7b00335 (например, Фабсорбент (Fabsorbent), триазины и т.д.); Kruljec, et al., Bioconjugate Chem. 2018, 29, 8, 2763-2775, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.8b00395; WO2012017021A2, и т.д., при этом все упомянутые связывающие фрагменты (например, фрагменты, связывающие антитела) включены в данный документ посредством ссылки.

[0178] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий белок (например, фрагмент, связывающий антитело), представляет собой аффинное вещество, описанное в AU 2018259856 или WO 2018199337, при этом все упомянутые аффинные вещества включены в данный документ посредством ссылки.

[0179] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, представляет собой или содержит агент адаптерного белка, например, как описано в публикации Hui, et al., *Bioconjugate Chem.* 2015, 26, 1456–1460, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00275. В некоторых вариантах осуществления при применении в соответствии с данным изобретением адаптерные белки не требуют реакционных остатков (например, ВРА) для достижения одного или большего количества или всех преимуществ.

[0180] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, представляет собой или содержит триазиновый фрагмент, например, описанный в US 2009/0286693. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, имеет такую структуру, что соответствующее ему соединение представляет собой соединение, описанное в US 2009/0286693, соединения которого независимо включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, представляет собой АВТ. В некоторых вариантах осуществления АВТ имеет такую структуру, что Н-АВТ представляет собой соединение, описанное в US 2009/0286693, соединения которого независимо включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления такое соединение может связываться с антителом. В некоторых вариантах осуществления такое соединение может связываться с Fc-областью антитела.

[0181] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, представляет собой или содержит триазиновый фрагмент, например, описанный в публикации Teng, et al., *A Strategy for Generation of biomimetic ligands for affinity chromatography. Combinatorial synthesis and biological evaluation of an IgG binding ligand, J. Mol. Recognit.* 1999;**12**:67–75 (“Teng”). В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, имеет такую структуру, что соответствующее ему соединение представляет собой соединение, описанное в публикации Teng, соединения которого независимо включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, АВТ имеет такую структуру, что Н-АВТ представляет собой соединение, описанное в публикации Teng, соединения которого независимо включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления такое соединение может связываться с антителом. В некоторых вариантах осуществления такое соединение может связываться с Fc-областью антитела.

[0182] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, представляет собой триазиновый фрагмент, например, описанный

в публикации Uttamchandani, et al., Microarrays of Tagged Combinatorial Triazine Libraries in the Discovery of Small-Molecule Ligands of Human IgG, *J Comb Chem.* 2004 Nov-Dec;6(6):862-8 (“Uttamchandani”). В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, имеет такую структуру, что соответствующее ему соединение представляет собой соединение, описанное в публикации Uttamchandani, соединения которого независимо включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, АВТ имеет такую структуру, что Н-АВТ представляет собой соединение, описанное в публикации Uttamchandani, соединения которого независимо включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления такое соединение может связываться с антителом. В некоторых вариантах осуществления такое соединение может связываться с Fc-областью антитела.

[0183] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, связывается с одним или большим количеством сайтов связывания белка А. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, связывается с одним или большим количеством сайтов связывания белка G. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, связывается с одним или большим количеством сайтов связывания белка L. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, связывается с одним или большим количеством сайтов связывания белка Z. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, связывается с одним или большим количеством сайтов связывания белка LG. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, связывается с одним или большим количеством сайтов связывания белка LA. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, связывается с одним или большим количеством сайтов связывания белка AG. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, описан в публикации Choe, W., Durgannavar, T. A., & Chung, S. J. (2016). Fc-binding ligands of immunoglobulin G: An overview of high affinity proteins and peptides. *Materials*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/ma9120994>.

[0184] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, может связываться с сайтом связывания нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, представляет собой низкомолекулярный фрагмент, который может связываться с сайтом связывания нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярным веществом является молекула триптамина. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, АВТ имеет такую структуру, что Н-АВТ представляет собой триптамин. Некоторые пригодные технологии

были описаны в публикации Mustafaoglu, et al., Antibody Purification via Affinity Membrane Chromatography Method Utilizing Nucleotide Binding Site Targeting With A Small Molecule, Analyst. 2016 November 28; 141(24): 6571–6582.

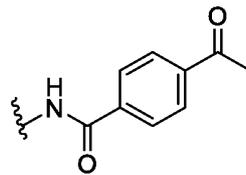
[0185] Доступными являются многие технологии для идентификации и/или оценки и/или характеристики фрагментов, связывающих цель, в том числе фрагментов, связывающих белок (например, фрагментов, связывающих антитела, таких как универсальные фрагменты, связывающих антитела), и/или их применение в предлагаемых технологиях, например, тех, которые описаны в WO/2019/023501, технологии которой включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, представляет собой фрагмент (например, низкомолекулярный фрагмент, пептидный фрагмент, фрагмент нуклеиновой кислоты и т. д.), который может избирательно связываться с IgG и при применении в предлагаемых технологиях, может обеспечивать и/или стимулировать ADCC и/или ADCP. В некоторых вариантах осуществления для идентификации фрагментов, связывающих антитела, можно применять технологии пептидного дисплея (например, фазовый дисплей, неклоточный дисплей и т. д.). В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий антитело, представляет собой фрагмент (например, низкомолекулярный фрагмент, пептидный фрагмент, фрагмент нуклеиновой кислоты и т. д.), который может связываться с IgG и необязательно может конкурировать с известными агентами, связывающими антитела, например, белком А, белком G, белком L и т. д.

[0186] Как будет понятно специалистам в данной области техники, антитела с различными свойствами и активностью (например, антитела, распознающие разные антигены, имеющие необязательные модификации и т. д.) могут быть нацелены фрагментами, связывающими антитела, и описанными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие антитела включают антитела, вводимые субъекту, например, в терапевтических целях. В некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие антитела, описанные в данном документе, могут связывать антитела с различными антигенами и могут применяться для конъюгирования представляющих интерес фрагментов с различными антителами.

[0187] В некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие антитела, описанные в данном документе, могут связывать антитела с различными антигенами и могут применяться для конъюгирования представляющих интерес фрагментов с различными антителами. В некоторых вариантах осуществления медитопный агент описан, например, в US 2019/0111149.

[0188] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, может связываться с человеческим IgG. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, может

связываться с кроличьим IgG. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, связывается с IgG1. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, связывается с IgG2. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, связывается с IgG3. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, связывается с IgG4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, связывается с IgG1, IgG2 и/или IgG4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, например, фрагмент, связывающий антитело, связывается с IgG1, IgG2 и IgG4.



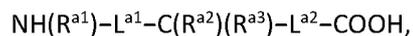
[0189] В некоторых вариантах осуществления применяется в эталонной технологии в качестве фрагмента, связывающего элемент, не являющийся целью. В некоторых вариантах осуществления CH_3- применяется в эталонной технологии в качестве фрагмента, связывающего элемент, не являющийся целью. В некоторых вариантах осуществления $\text{CH}_3\text{C(O)}-$ применяется в эталонной технологии в качестве фрагмента, связывающего элемент, не являющийся целью. В некоторых вариантах осуществления $\text{CH}_3\text{C(O)NH}-$ применяется в эталонной технологии в качестве фрагмента, связывающего элемент, не являющийся целью. В некоторых вариантах осуществления $\text{CH}_3\text{C(O)NHCH}_2-$ применяется в эталонной технологии в качестве фрагмента, связывающего элемент, не являющийся целью. В некоторых вариантах осуществления CH_3CH_2- применяется в эталонной технологии в качестве фрагмента, связывающего элемент, не являющийся целью. В некоторых вариантах осуществления $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NH}-$ применяется в эталонной технологии в качестве фрагмента, связывающего элемент, не являющийся целью. В некоторых вариантах осуществления $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NHC(O)}-$ применяется в эталонной технологии в качестве фрагмента, связывающего элемент, не являющийся целью.

[0190] В некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие цель (например, фрагменты, связывающие антитело), связываются с целями (например, антительные агенты для фрагментов, связывающих антитело) со значением K_d , который составляет около 1 мМ-1 пМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления K_d составляет около 1 мМ, 0,5 мМ, 0,2 мМ, 0,1 мМ, 0,05 мМ, 0,02 мМ, 0,01 мМ, 0,005 мМ, 0,002 мМ, 0,001 мМ, 500 нМ, 200 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 20 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 2 нМ, 1 нМ, 0,5 нМ, 0,2 нМ, 0,1 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления K_d

составляет около 1 мМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 0,5 мМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 0,1 мМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 0,05 мМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 0,01 мМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 0,005 мМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 0,001 мМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 500 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 200 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 100 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 50 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 20 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 10 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 5 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 2 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления Kd составляет около 1 нМ или меньше. Например, в некоторых вариантах осуществления фрагменты, связывающие антитела, связываются с антительными агентами IgG с Kd, описанным в данном документе.

Аминокислоты

[0191] В некоторых вариантах осуществления предлагаемые соединения и агенты могут содержать один или большее количество аминокислотных фрагментов, например, в фрагментах, связывающих антитела, линкерных фрагментах и т. д. Аминокислотные фрагменты могут быть либо природными аминокислотами, либо не природными аминокислотами. В некоторых вариантах осуществления аминокислота имеет структуру формулы **A-I**:



A-I

или его соль, где

каждый из $\text{R}^{\text{a}1}$, $\text{R}^{\text{a}2}$ и $\text{R}^{\text{a}3}$ независимо представляет собой $-\text{L}^{\text{a}}-\text{R}'$ или боковую цепь аминокислоты;

каждый из $\text{L}^{\text{a}1}$ и $\text{L}^{\text{a}2}$ независимо представляет собой L^{a} ;

каждый L^{a} независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1 - C_{20} алифатической или C_1 - C_{20} гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество

метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C\gamma-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)2-$, $-S(O)2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$;

каждый $-C\gamma-$ независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную моноциклическую, бициклическую или полициклическую группу, при этом каждое моноциклическое кольцо независимо выбрано из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклического кольца, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой $-R$, $-C(O)R$, $-CO_2R$ или $-SO_2R$;

каждый R независимо представляет собой $-H$ или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической, C_{1-30} гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арильной, C_{6-30} арилалифатической, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30 членного гетероцикла, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R , необязательно и независимо вместе взятые, образуют ковалентную связь, или:

две или большее количество групп R у одного и того же атома, необязательно и независимо взятые вместе с атомом, образуют необязательно замещенное, 3-30-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо атома, 0-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

две или большее количество R групп на двух или большем количестве атомов, необязательно и независимо взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют необязательно замещенное, 3-30-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток, например, аминокислоты, имеющей структуру формулы **A-I**, имеет структуру $-N(R^{a1})-L^{a1}-C(R^{a2})(R^{a3})-L^{a2}-CO-$. В некоторых вариантах

осуществления каждый аминокислотный остаток в пептиде независимо имеет структуру $-N(R^{a1})-L^{a1}-C(R^{a2})(R^{a3})-L^{a2}-CO-$.

[0192] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается производное аминокислоты формулы **A-I** или его соль. В некоторых вариантах осуществления производное представляет собой сложный эфир. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается соединение формулы $NH(R^{a1})-L^{a1}-C(R^{a2})(R^{a3})-L^{a2}-COOR^{CT}$ или его соли, где R^{CT} представляет собой R' , а каждая другая переменная является независимо такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{CT} представляет собой R . В некоторых вариантах осуществления R^{CT} представляет собой необязательно замещенную алифатическую группу. В некоторых вариантах реализации R^{CT} представляет собой t -бутил.

[0193] В некоторых вариантах осуществления L^{a1} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **A-I** имеет структуру $NH(R^{a1})-C(R^{a2})(R^{a3})-L^{a2}-COOH$. В некоторых вариантах осуществления L^{a2} представляет собой $-CH_2SCH_2-$.

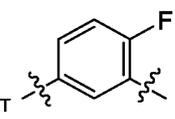
[0194] В некоторых вариантах осуществления L^{a2} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **A-I** имеет структуру $NH(R^{a1})-L^{a1}-C(R^{a2})(R^{a3})-COOH$. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток имеет структуру $-N(R^{a1})-L^{a1}-C(R^{a2})(R^{a3})-CO-$. В некоторых вариантах осуществления L^{a1} представляет собой $-CH_2CH_2S-$. В некоторых вариантах осуществления L^{a1} представляет собой $-CH_2CH_2S-$, где CH_2 связан с $NH(R^{a1})$.

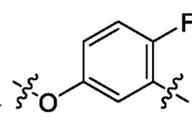
[0195] В некоторых вариантах осуществления L^{a1} представляет собой ковалентную связь, и L^{a2} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **A-I** имеет структуру $NH(R^{a1})-C(R^{a2})(R^{a3})-COOH$. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **A-I** имеет структуру $NH(R^{a1})-CH(R^{a2})-COOH$. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **A-I** имеет структуру $NH(R^{a1})-CH(R^{a3})-COOH$. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **A-I** имеет структуру $NH(R^{a1})-CH(R^{a3})-COOH$. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **A-I** имеет структуру $NH_2-CH(R^{a3})-COOH$. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток имеет структуру $-N(R^{a1})-C(R^{a2})(R^{a3})-CO-$. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток имеет структуру $-N(R^{a1})-CH(R^{a2})-CO-$. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток имеет структуру $-N(R^{a1})-CH(R^{a3})-CO-$. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток имеет структуру $-NH-CH(R^{a2})-CO-$. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток имеет структуру $-NH-CH(R^{a3})-CO-$.

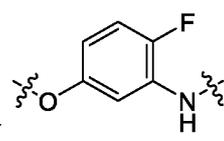
[0196] В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой ковалентную связь. В

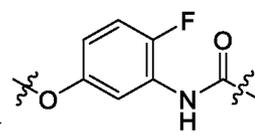
некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкилен. В некоторых вариантах осуществления изобретения L^a представляет собой $-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой $-CH_2CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой $-CH_2CH_2CH_2-$.

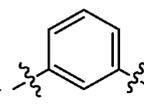
[0197] В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой двухвалентную необязательно замещенную C_{1-20} алифатическую группу, в которой одна или большее количество метиленовых единиц независимо заменены на $-C(O)-$, $-N(R')$, $-C\equiv$ и/или $-O-$. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой двухвалентную необязательно замещенную C_{1-20} алифатическую группу, в которой одна или большее количество метиленовых единиц независимо заменены на $-C(O)-$, $-N(R')$, $-C\equiv$ и/или $-O-$. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой двухвалентную необязательно замещенную C_{1-20} алифатическую группу, в которой две или большее количество метиленовых единиц независимо заменены на $-C(O)N(R)-$ и $-C\equiv$ в дополнение к другим необязательным заменам. В некоторых вариантах осуществления $-C\equiv$ является необязательно замещенным. В некоторых вариантах осуществления $-C\equiv$ необязательно замещен электроноакцепторной группой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-C\equiv$ замещен одним или большим количеством $-F$. В некоторых вариантах осуществления $-C\equiv$ представляет собой необязательно замещенный 1,3-фенилен. В некоторых вариантах осуществления $-C\equiv$ представляет собой необязательно замещенный 1,4-фенилен. В

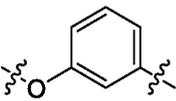
некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой или содержит . В некоторых

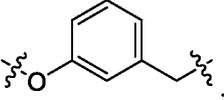
вариантах осуществления L^a представляет собой или содержит . В некоторых

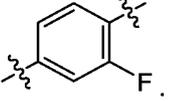
вариантах осуществления L^a представляет собой или содержит . В некоторых

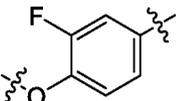
вариантах осуществления L^a представляет собой или содержит . В некоторых

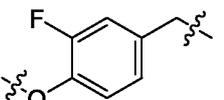
вариантах осуществления L^a представляет собой или содержит . В некоторых вариантах

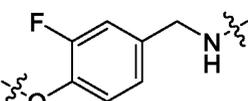
осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

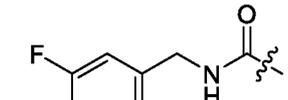
осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

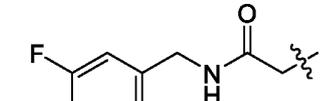
осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

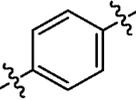
осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

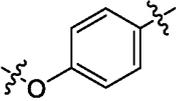
осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

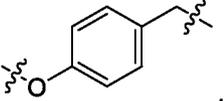
осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

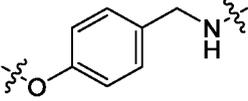
осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

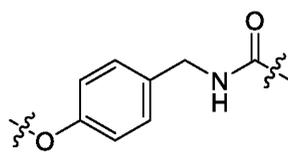
осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых

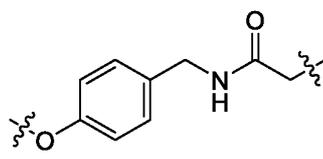
вариантах осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

осуществления L^a представляет собой или содержит  . В некоторых вариантах

осуществления L^a представляет собой или содержит  .

[0198] В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R . В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой R , при этом R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой R , при этом R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R , при этом R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R , при этом R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{a1} , R^{a2} и R^{a3} независимо представляет собой R , при этом R является таким, как описано в данном документе.

[0199] В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой защитную группу. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой $-Fmoc$. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой $-Dde$.

[0200] В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{a1} , R^{a2} и R^{a3} независимо представляет собой $-L^a-R'$.

[0201] В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой водород, и по меньшей мере один из R^{a2} и R^{a3} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой водород, один из R^{a2} и R^{a3} представляет собой водород, а другой не является водородом. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $-L^a-R$ и R^{a3} представляет собой $-H$. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $-L^a-R$ и R^{a2} представляет собой $-H$. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $-CH_2-R$ и R^{a3} представляет собой $-H$. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $-CH_2-R$ и R^{a2} представляет собой $-H$. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R и R^{a3} представляет собой $-H$. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R и R^{a2} представляет собой $-H$.

[0202] В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $-L^a-R$, где R является

таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $-L^a-R$, где R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{3-30} циклоалифатической группы, C_{5-30} арила, 5-30-членного гетероарила, имеющего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния и 3-30-членного гетероциклила, имеющего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $-L^a-R$, где R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{6-30} арила и 5-30-членного гетероарила, имеющего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой боковую цепь аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой боковую цепь стандартной аминокислоты.

[0203] В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $-L^a-R$, при этом R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $-L^a-R$, где R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{3-30} циклоалифатической группы, C_{5-30} арила, 5-30-членного гетероарила, имеющего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния и 3-30-членного гетероциклила, имеющего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $-L^a-R$, где R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{6-30} арила и 5-30-членного гетероарила, имеющего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой боковую цепь аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой боковую цепь стандартной аминокислоты.

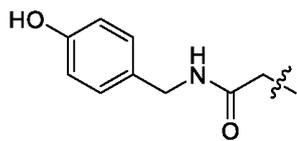
[0204] В некоторых вариантах осуществления один или R^{a2} и R^{a3} представляет собой $-H$. В некоторых вариантах осуществления один или R^{a2} и R^{a3} представляет собой $-L^a-R$, где L^a является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^a не представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество метиленовых единиц L^a независимо и необязательно заменены, как описано в данном документе, например, на $-C(O)-$, $-N(R')-$, $-O-$, $-C(O)-N(R')-$ и/или $-C(=O)-$, и т.д. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой содержит $-C(O)N(R')-$ и $-C(=O)-$. В некоторых вариантах осуществления, как описано в данном документе, $-C(=O)-$ является замещенным, и один или большее количество заместителей независимо представляют собой электроноакцепторную группу.

[0205] В некоторых вариантах осуществления боковая цепь аминокислоты представляет

собой R^{a2} или R^{a3} . В некоторых вариантах осуществления боковая цепь аминокислоты представляет собой или содержит $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H$. В некоторых вариантах осуществления боковая цепь аминокислоты представляет собой или содержит $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H$. В некоторых вариантах осуществления боковая цепь аминокислоты представляет собой или содержит $-L^{LG3}-L^{LG4}-H$. В некоторых вариантах осуществления боковая цепь аминокислоты представляет собой или содержит $-L^{LG4}-H$. В некоторых вариантах осуществления боковая цепь аминокислоты представляет собой

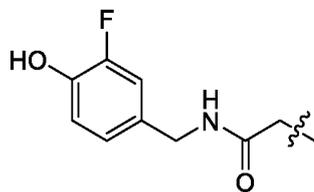


. В некоторых вариантах осуществления такая боковая цепь представляет



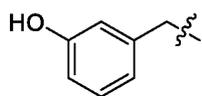
собой

. В некоторых вариантах осуществления такая боковая цепь



представляет собой

. В некоторых вариантах осуществления такая боковая



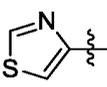
цепь представляет собой

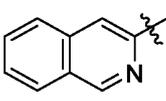
[0206] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-CH_3$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой n-пентил.

[0207] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{3-30} циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклопропил.

[0208] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную ароматическую группу, а аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I** представляет собой Xaa^A . В некоторых вариантах осуществления R^{a2} или R^{a3} представляет собой $-CH_2-R$, где R представляет собой необязательно замещенную арильную или гетероарильную группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой фенил. В некоторых вариантах

осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 4-трифторметилфенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 4-фенилфенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-30-членный гетероарил, содержащий 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-14-членный гетероарил, содержащий 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах

осуществления R представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пиридинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 1-пиридинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 2-пиридинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-пиридинил. В некоторых

вариантах осуществления R представляет собой .

[0209] В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой –COOH. В некоторых вариантах осуществления соединение и аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I** представляет собой Хаа^N.

[0210] В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой –NH₂. В некоторых вариантах осуществления соединение аминокислотного остатка аминокислоты формулы **A-I** представляет собой Хаа^P.

[0211] В некоторых вариантах осуществления R^{a2} или R^{a3} представляет собой R, при этом R представляет собой C₁₋₂₀ алифатическую группу, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления соединение аминокислотного остатка аминокислоты формулы **A-I** представляет собой Хаа^H. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой –CH₃. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой n-пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой n-бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой пентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой n-пентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклопропил.

[0212] В некоторых вариантах осуществления два или большее количество из R^{a1}, R^{a2} и R^{a3} представляют собой R и вместе взятые образуют необязательно замещенное кольцо, как описано в данном документе.

[0213] В некоторых вариантах осуществления R^{a1} и один из R^{a2} и R^{a3} представляют собой R и вместе взятые образуют необязательно замещенное 3-6-членное кольцо, не имеющее дополнительного кольцевого гетероатома, кроме атома азота, с которым связан R^{a1} . В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой 5-членное кольцо, как в пролине.

[0214] В некоторых вариантах осуществления R^{a2} и R^{a3} представляют собой R и вместе взятые образуют необязательно замещенное 3-6-членное кольцо, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} и R^{a3} представляют собой R и вместе взятые образуют необязательно замещенное 3-6-членное кольцо, имеющее один или большее количество атомов азота в кольце. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} и R^{a3} представляют собой R и вместе взятые образуют необязательно замещенное 3-6-членное кольцо, имеющее один и не более одного кольцевого гетероатома, который представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления кольцо является насыщенным кольцом.

[0215] В некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой природную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой неприродную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой альфа-аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой бета-аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **A-I** представляет собой природную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **A-I** представляет собой неприродную аминокислоту.

[0216] В некоторых вариантах осуществления аминокислота содержит гидрофобную боковую цепь. В некоторых вариантах осуществления аминокислота с гидрофобной боковой цепью представляет собой A, V, I, L, M, F, Y или W. В некоторых вариантах осуществления аминокислота с гидрофобной боковой цепью представляет собой A, V, I, L, M или F. В некоторых вариантах осуществления аминокислота с гидрофобной боковой цепью представляет собой A, V, I, L или M. В некоторых вариантах осуществления аминокислота с гидрофобной боковой цепью представляет собой A, V, I или L. В некоторых вариантах осуществления гидрофобная боковая цепь представляет собой R, при этом R представляет собой C_{1-10} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой C_{1-10} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой пентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой n-пентил. В некоторых вариантах осуществления аминокислота с гидрофобной боковой цепью представляет собой

$\text{NH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{COOH}$. В некоторых вариантах осуществления аминокислота с гидрофобной боковой цепью представляет собой (*S*)- $\text{NH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{COOH}$. В некоторых вариантах осуществления аминокислота с гидрофобной боковой цепью представляет собой (*R*)- $\text{NH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{COOH}$. В некоторых вариантах осуществления гидрофобная боковая цепь представляет собой $-\text{CH}_2\text{R}$, где R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой фенил, необязательно замещенный одним или большим количеством углеводородных групп. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 4-фенилфенил. В некоторых вариантах осуществления аминокислота с гидрофобной боковой цепью представляет собой $\text{NH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{-4-фенилфенил})\text{COOH}$. В некоторых вариантах осуществления аминокислота с гидрофобной боковой цепью представляет собой (*S*)- $\text{NH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{-4-фенилфенил})\text{COOH}$. В некоторых вариантах осуществления аминокислота с гидрофобной боковой цепью представляет собой (*R*)- $\text{NH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{-4-фенилфенил})\text{COOH}$.

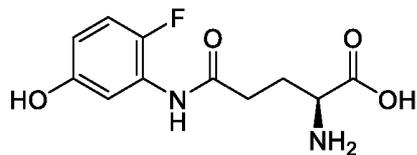
[0217] В некоторых вариантах осуществления аминокислота содержит положительно заряженную боковую цепь (например, при физиологическом pH), как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такая аминокислота содержит основной азот в своей боковой цепи. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является Arg, His или Lys. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является Arg. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является His. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является Lys.

[0218] В некоторых вариантах осуществления аминокислота содержит отрицательно заряженную боковую цепь (например, при физиологическом pH), как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такая аминокислота содержит $-\text{COOH}$ в своей боковой цепи. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является Asp. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является Glu.

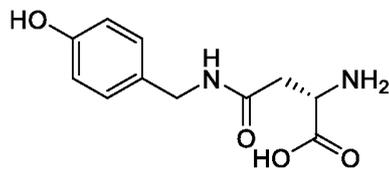
[0219] В некоторых вариантах осуществления аминокислота содержит боковую цепь, содержащую ароматическую группу, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является Phe, Tyr, Trp или His. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является Phe. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является Tyr. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является Trp. В некоторых вариантах осуществления такой аминокислотой является His. В некоторых вариантах осуществления такая аминокислота представляет собой $\text{NH}_2\text{-CH}(\text{CH}_2\text{-4-фенилфенил})\text{-COOH}$. В некоторых вариантах осуществления такая аминокислота представляет собой

(S)-NH₂-CH(CH₂-4-фенилфенил)-COOH. В некоторых вариантах осуществления такая аминокислота представляет собой (R)-NH₂-CH(CH₂-4-фенилфенил)-COOH.

[0220] В некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой



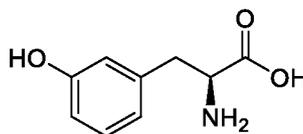
или его соль. В некоторых вариантах осуществления аминокислота



представляет собой

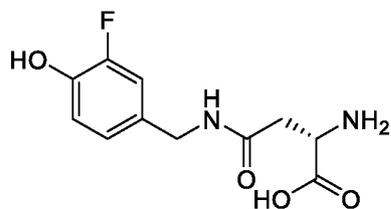
или его соль. В некоторых вариантах

осуществления аминокислота представляет собой



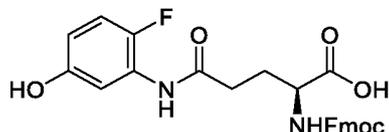
или его соль. В

некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой



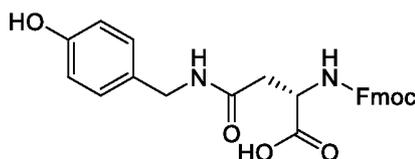
или его соль. В некоторых вариантах осуществления аминокислота

представляет собой



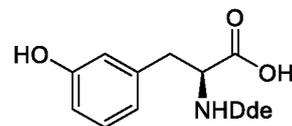
или его соль. В некоторых вариантах

осуществления аминокислота представляет собой



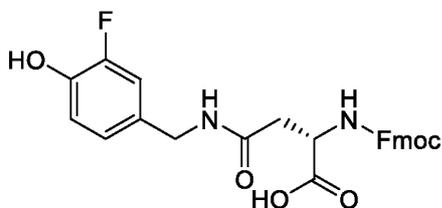
или его соль. В

некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой

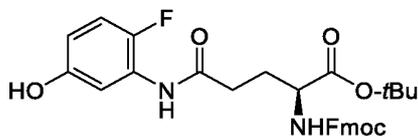


или

его соль. В некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой



или его соль. В некоторых вариантах осуществления описанное



соединение представляет собой

. В некоторых вариантах

осуществления, данное изобретение относится к полипептидным агентам, содержащим один или большее количество аминокислотных остатков, описанных в данном документе.

Реакционная группа

[0221] В некоторых вариантах осуществления предлагаемые соединения, например те, которые можно применять в качестве партнеров по реакции, содержат реакционные группы (например, RG). Как продемонстрировано в данном документе в качестве примера, во многих вариантах осуществления в предлагаемых соединениях реакционные группы (например, RG) расположены между первыми группами (например, LG) и представляющими интерес фрагментами (например, MOI) и необязательно и независимо связаны с первыми группами и представляющими интерес фрагментами через линкеры. В некоторых вариантах осуществления RG представляет собой реакционную группу, как описано в данном документе.

[0222] В некоторых вариантах осуществления, как продемонстрировано в данном документе, реакционные группы при применении в соединениях, которые не содержат фрагментов, связывающих цель, реагируют медленно и обеспечивают низкий уровень, а в некоторых вариантах осуществления по существу имеет место полное отсутствие конъюгации представляющих интерес фрагментов с целевыми агентами. Как продемонстрировано в данном документе, комбинация реакционных групп с фрагментами, связывающими цель, в тех же соединениях, например, что и в соединениях формулы R-I или их солях, может, среди прочего, способствовать реакциям между реакционными группами и целевыми агентами, повышать эффективность реакции, снижать побочные эффекты. реакции и/или повышать селективность реакции (например, с точки зрения целевых сайтов, в которых происходит конъюгация представляющих интерес фрагментов с целевыми агентами).

[0223] Реакционные группы в предлагаемых соединениях могут реагировать с различными типами групп в целевых агентах. В некоторых вариантах осуществления реакционные группы в

предлагаемых соединениях избирательно реагируют с аминокруппами целевых агентов, например, группами $-NH_2$ на боковых цепях лизиновых остатков белков. В некоторых вариантах осуществления реакционные группы при применении в предлагаемых соединениях, например, группы формулы R-I или их соли, селективно реагируют с определенными сайтами целевых агентов, например, как продемонстрировано в примерах в данном документе, одним или большим количеством из K246, K248, K288, K290, K317 и т.д. для IgG1, K251, K253 и т.д. для IgG2, K239, K241 для IgG4 и т.д. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K246 или K248 тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления сайты представляют собой K246 и/или K248 тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K246 тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K248 тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K288 или K290 тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K288 или K290 тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K290 тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K317. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K414 тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K185 легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K187 легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления сайты представляют собой K251 и/или K253 тяжелой цепи IgG2. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K251 тяжелой цепи IgG2. В некоторых вариантах осуществления сайты представляют собой K239 и/или K241 тяжелой цепи IgG4. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K239 тяжелой цепи IgG4. В некоторых вариантах осуществления сайт представляет собой K241 тяжелой цепи IgG4. В некоторых вариантах осуществления конъюгация избирательно происходит в одном или большем количестве сайтах тяжелой цепи по сравнению с сайтами легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления, для технологий без фрагментов, связывающих цель, конъюгация происходит в сайтах легкой цепи чаще, чем в сайтах тяжелой цепи (например, см. Фигуру 15).

[0224] В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, например, RG, представляет собой или содержит сложноэфирную группу. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, например, RG, представляет собой или содержит электрофильную группу, например, акцептор Михаэля.

[0225] В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, например, RG, представляет собой или содержит $-L^{RG1}-L^{RG2}-$, где каждый из L^{LG1} и L^{LG2} независимо представляет

собой L, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, например, RG, представляет собой или содержит $-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, например, RG, представляет собой или содержит $-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, например, RG, представляет собой или содержит $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, например, RG, представляет собой или содержит $-L^{LG4}-L^{RG2}-$, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, например, RG, представляет собой или содержит $-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG2}-$, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, например, RG, представляет собой или содержит $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG2}-$, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе.

[0226] В некоторых вариантах осуществления, как описано в данном документе, L^{LG4} представляет собой $-O-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} представляет собой $-N(R)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} представляет собой $-NH-$.

[0227] В некоторых вариантах осуществления, как описано в данном документе, L^{LG3} представляет собой или содержит необязательно замещенное арильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой или содержит фенильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления арильное или фенильное кольцо является замещенным. В некоторых вариантах осуществления заместитель представляет собой электроноакцепторную группу, как описано в данном документе, например, $-NO_2$, $-F$ и т. д.

[0228] В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} не представляет собой ковалентную связь. В определенных вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-S(O)_2-$.

[0229] В некоторых вариантах осуществления L^{RG2} представляет собой $-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, представляет собой или содержит $-L^{LG4}-C(O)-$, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, представляет собой или содержит $-L^{LG3}-L^{LG4}-C(O)-$, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа, представляет собой или содержит $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-C(O)-$, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе.

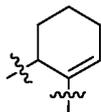
[0230] В некоторых вариантах осуществления L^{RG2} представляет собой $-L^{RG3}-C(=CR^{RG1}R^{RG2})-CR^{RG3}R^{RG4}-$, где каждый из R^{RG1} , R^{RG2} , R^{RG3} и R^{RG4} независимо представляет собой $-L-R'$, и L^{RG3} представляет собой $-C(O)-$, $-C(O)O-$, $-C(O)N(R')-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, или $-P(O)(N(R')_2)-$. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{RG1} , R^{RG2} , R^{RG3} и R^{RG4} независимо представляет собой R' . В некоторых вариантах осуществления один или большее количество R^{RG1} , R^{RG2} , R^{RG3} и R^{RG4} независимо представляет собой $-H$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG3} представляет собой $-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG3} представляет собой $-C(O)O-$. В некоторых вариантах осуществления $-O-$, $-N(R')-$ и т.д. из L^{RG3} связан с L^{PM} .

[0231] В некоторых вариантах осуществления R^{RG1} представляет собой $-H$. В некоторых вариантах осуществления R^{RG3} представляет собой $-H$.

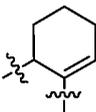
[0232] В некоторых вариантах осуществления L^{RG2} необязательно замещен $-L^{RG3}-C(=CHR^{RG2})-CHR^{RG4}-$, где каждая переменная является такой, как описано в данном документе.

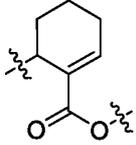
[0233] В некоторых вариантах осуществления R^{RG2} и R^{RG4} вместе с промежуточными атомами образуют необязательно замещенное кольцо, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой необязательно замещенное 3-10-членное моноциклическое или бициклическое кольцо, содержащее 0-5 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой необязательно замещенное 3-10-членное циклоалифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой необязательно замещенное 3-8-членное циклоалифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой необязательно замещенное 5-8-членное циклоалифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой необязательно замещенное 5-членное циклоалифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой необязательно замещенное 6-членное циклоалифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой необязательно замещенное 7-членное циклоалифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является замещенным. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является незамещенным. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо не содержит дополнительной ненасыщенности в дополнение к двойной связи в $C(=CHR^{RG2})$ или $C(=CR^{RG1}R^{RG2})$.

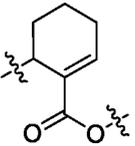
[0234] В некоторых вариантах осуществления $-C(=CHR^{RG2})-CHR^{RG4}$ или $-C(=CR^{RG1}R^{RG2})-CR^{RG3}R^{RG4}$

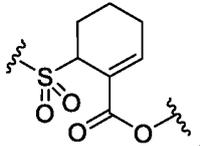


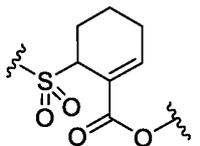
представляет собой необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления

$-C(=CHR^{RG2})-CHR^{RG4}$ или $-C(=CR^{RG1}R^{RG2})-CR^{RG3}R^{RG4}$ представляет собой . В некоторых вариантах осуществления $-C(=CHR^{RG2})-CHR^{RG4}-L^{RG3}$ или $-C(=CR^{RG1}R^{RG2})-CR^{RG3}R^{RG4}-L^{RG3}$ представляет собой

необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления

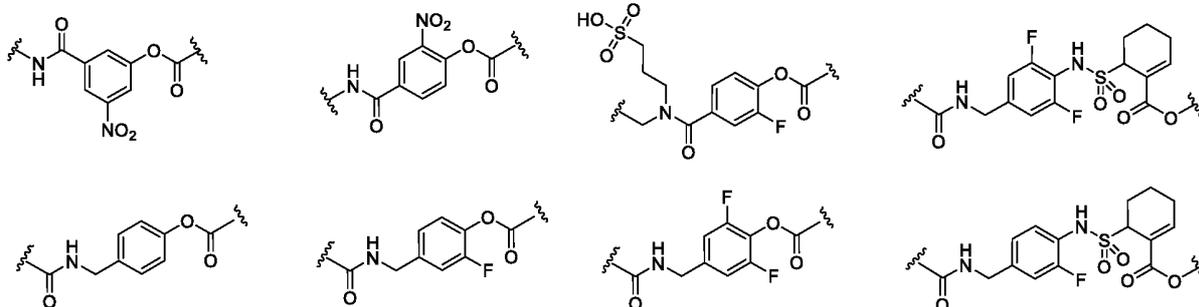
$-C(=CHR^{RG2})-CHR^{RG4}-L^{RG3}$ или $-C(=CR^{RG1}R^{RG2})-CR^{RG3}R^{RG4}-L^{RG3}$ представляет собой . В некоторых вариантах осуществления $-L^{RG1}-C(=CHR^{RG2})-CHR^{RG4}-L^{RG3}$ или

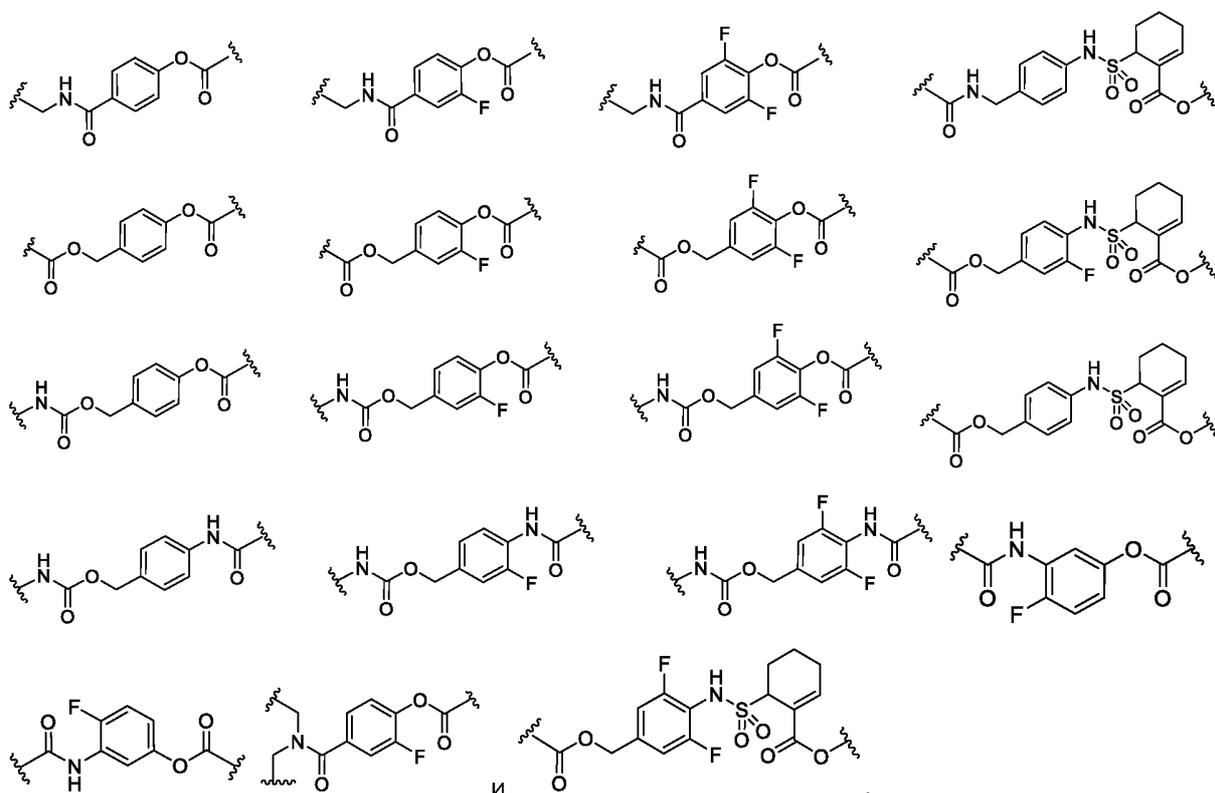
$-L^{RG1}-C(=CR^{RG1}R^{RG2})-CR^{RG3}R^{RG4}-L^{RG3}$ представляет собой необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления $-L^{RG1}-C(=CHR^{RG2})-CHR^{RG4}-L^{RG3}$ или

$-L^{RG1}-C(=CR^{RG1}R^{RG2})-CR^{RG3}R^{RG4}-L^{RG3}$ представляет собой необязательно замещенный 

[0235] В некоторых вариантах осуществления реакционная группа представляет собой структуру, выбранную из Таблицы ниже. В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}$ представляет собой структуру, выбранную из Таблицы ниже. В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-RG$ представляет собой структуру, выбранную из Таблицы ниже.

Таблица RG-1. Некоторые структуры в качестве примера.





[0236] В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG4}-L^{RG2}-$ представляет собой $-O-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG4}-L^{RG2}-$ представляет собой $-S-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ представляет собой $-S-C(O)-$.

[0237] В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG4}-L^{RG2}-$ представляет собой $-N(-)-C(O)-$, где N представляет собой кольцевой атом необязательно замещенного гетероарильного кольца. В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG4}-L^{RG2}-$ представляет собой $-N(-)-C(O)-$, где N представляет собой кольцевой атом L^{LG4} , который представляет собой или содержит необязательно замещенное гетероарильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления $-L^{LG4}-L^{RG2}-$ is $-N(-)-C(O)-O-$, где N представляет собой кольцевой атом L^{LG4} , который представляет собой или содержит необязательно замещенное гетероарильное кольцо.

[0238] В некоторых вариантах осуществления L^{RG2} представляет собой необязательно замещенный $-CH_2-C(O)-$, где $-CH_2-$ связан с электроноакцепторной группой, содержащей или связанной с фрагментом, связывающим цель. В некоторых вариантах осуществления L^{RG2} представляет собой необязательно замещенный $-CH_2-$, связанный с электроноакцепторной группой, содержащей или связанной с фрагментом, связывающим цель. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой электроноакцепторную группу. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-S(O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-S(O)_2-$. В

некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-P(O(OR))-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-P(O(SR))-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-P(O(N(R)_2))-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-OP(O(OR))-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-OP(O(SR))-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-OP(O(N(R)_2))-$.

[0239] В некоторых вариантах осуществления L^{RG2} представляет собой необязательно замещенный $-CH_2-C(O)-$, где $-CH_2-$ связан с уходящей группой, содержащей или связанной с фрагментом, связывающим цель. В некоторых вариантах осуществления L^{RG2} представляет собой необязательно замещенный $-CH_2-$, связанный с уходящей группой, содержащей или связанной с фрагментом, связывающим цель. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-O-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-OS(O)_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-OP(O(OR))-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-OP(O(SR))-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG1} представляет собой $-OP(O(N(R)_2))-$.

[0240] В некоторых вариантах осуществления реакционная группа реагирует с аминогруппой целевого агента. В некоторых вариантах осуществления аминогруппа представляет собой $-NH_2$ боковой цепи остатка лизина.

[0241] В некоторых вариантах осуществления целевым агентом является белковый агент. В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой антительный агент. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа реагирует с аминокислотным остатком такого белка или антительного агента. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток представляет собой остаток лизина. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа реагирует с $-NH_2$ боковой цепи остатка лизина. В некоторых вариантах осуществления реакционная группа представляет собой или содержит $-C(O)-O-$, она реагирует с $-NH_2$ (например, боковой цепи остатка лизина) и образует амидную группу $-C(O)-O-$ с $-NH_2$.

Линкерные фрагменты

[0242] В некоторых вариантах осуществления фрагменты необязательно связаны друг с другом через линкерные фрагменты. Например, в некоторых вариантах осуществления реакционная группа, например, RG , связана с представляющим интерес фрагментом, например, MOI , через линкер, например, L^{RM} . Например, в некоторых вариантах осуществления фрагмент, например, LG , также может содержать один или большее количество линкеров, например, L^{LG1} , L^{LG2} , L^{LG3} , L^{LG4} и т. д., для связывания различных частей. В некоторых вариантах осуществления R^{LG} представляет собой

линкерный фрагмент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{LG1} представляет собой линкерный фрагмент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{LG2} представляет собой линкерный фрагмент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{LG3} представляет собой линкерный фрагмент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{LG4} представляет собой линкерный фрагмент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{RM} представляет собой линкерный фрагмент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой L, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой линкерный фрагмент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой L, как описано в данном документе.

[0243] Линкерные фрагменты различных типов и/или для различных целей, например, применяемые в конъюгатах «антитело-лекарственное средство» и т. д., могут быть применяться в соответствии с данным изобретением.

[0244] Линкерные фрагменты могут быть двухвалентными или поливалентными в зависимости от того, как они применяются. В некоторых вариантах осуществления фрагмент линкерный фрагмент является двухвалентным. В некоторых вариантах осуществления линкер является поливалентным и соединяет более двух фрагментов.

[0245] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L^z (где z представляет собой текст верхнего индекса; например, L^{PM} , L^{RM} , L^{LG} , L^{LG1} и т. д.), представляет собой или содержит L.

[0246] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или двухвалентную, или поливалентную необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу C_{1-100} , содержащую один или большее количество алифатических, арильных, гетероалифатических фрагментов, содержащих 1-20 гетероатомов, гетероароматических фрагментов, содержащих 1-20 гетероатомов, или любых их комбинаций, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо заменены C_{1-6} алкиленом, C_{1-6} алкениленом, двухвалентной C_{1-6} гетероалифатической группой, имеющей 1- 5 гетероатомов, $-C\equiv C-$, $-C_2-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, аминокислотный остаток или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2)_n]-$, где n представляет собой 1-20. В некоторых вариантах осуществления каждый аминокислотный остаток независимо представляет собой остаток аминокислоты, имеющей структуру формулы A-I, или ее соли. В

некоторых вариантах осуществления каждый аминокислотный остаток независимо имеет структуру $-N(R^{a1})-L^{a1}-C(R^{a2})(R^{a3})-L^{a2}-CO-$ или форму его соли.

[0247] В некоторых вариантах осуществления L является двухвалентным. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь.

[0248] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную или необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу, выбранную из C_{1-100} алифатической группы и C_{1-100} гетероалифатической группы, содержащей 1-50 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на C_{1-6} алкилен, C_{1-6} алкенилен, двухвалентную C_{1-6} гетероалифатическую группу, имеющую 1-5 гетероатомов, $-C\equiv C-$, $-C_2-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, аминокислотный остаток или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2)_n]-$.

[0249] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную или необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу, выбранную из C_{1-20} алифатической группы и C_{1-20} гетероалифатической группы, содержащей 1-50 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на C_{1-6} алкилен, C_{1-6} алкенилен, двухвалентную C_{1-6} гетероалифатическую группу, имеющую 1-5 гетероатомов, $-C\equiv C-$, $-C_2-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, аминокислотный остаток или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2)_n]-$.

[0250] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную или необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу, выбранную из C_{1-20} алифатической группы, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C\equiv C-$, $-C_2-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, аминокислотный остаток или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2)_n]-$.

[0251] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную или необязательно замещенную линейную или разветвленную группу, выбранную из C_{1-20} алифатической группы, при этом одна или большее количество метиленовых единиц необязательно и независимо замещены на $-C\equiv C-$, $-C_2-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$,

$-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$,
аминокислотный остаток или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$.

[0252] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную или необязательно замещенную линейную или разветвленную группу, выбранную из C_{1-20} алифатической группы, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C\equiv C-$, $-Cy-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, аминокислотный остаток или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$.

[0253] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L, L^{PM} , L^{RM} и т. д., содержит кислотную группу, например, $-S(O)_2OH$.

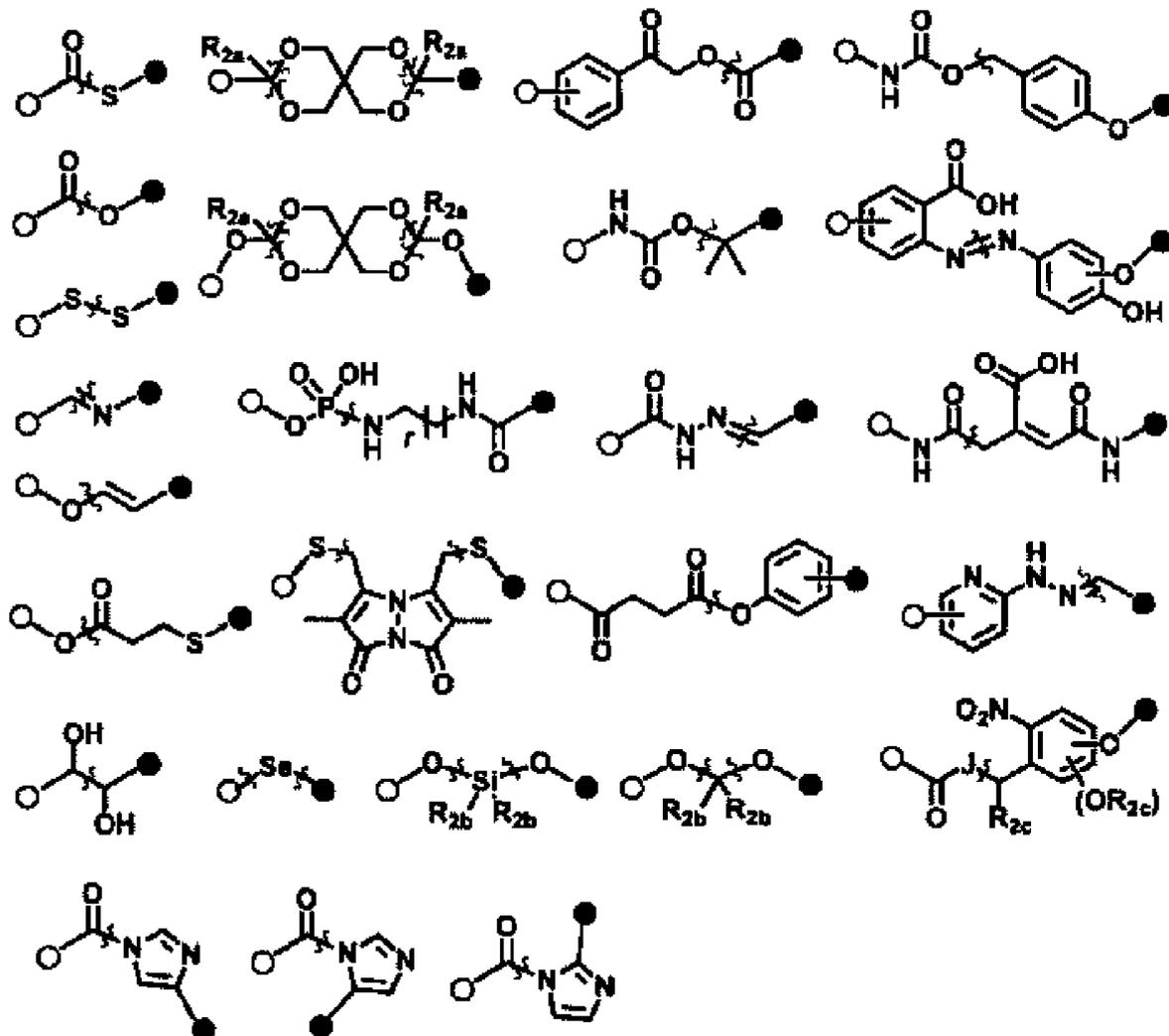
[0254] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой или содержит $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой или содержит $-[(-O-CH_2-CH_2-)_n]-$. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой $-[(-CH_2-CH_2-O)_6]-CH_2-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой $-[(-CH_2-CH_2-O)_8]-CH_2-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления $-CH_2-CH_2-O-$ связан с фрагментом, связывающим цель, на $-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления $-CH_2-CH_2-O-$ связан с фрагментом, представляющим интерес, на $-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой такой L, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{RM} представляет собой такой L, как описано в данном документе.

[0255] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент является трехвалентным или поливалентным.. Например, в некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент представляет собой L, как описано в данном документе, и L является трехвалентным или поливалентным. В некоторых вариантах осуществления L является трехвалентным. Например, в некоторых вариантах осуществления L представляет собой $-CH_2-N(-CH_2-)-C(O)-$.

[0256] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой или содержит фрагмент продукта биоортогональной или ферментативной реакции. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой или содержит необязательно замещенный триазольный фрагмент (который необязательно является частью би- или полициклической кольцевой системы). В некоторых вариантах осуществления L представляет собой или содержит LPXTG. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой или содержит LPETG. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой или содержит LPXT(G)_n, где n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой или содержит LPET(G)_n, где n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

[0257] В некоторых вариантах осуществления предлагаемые соединения/агенты (например, партнеры по реакции, агенты (например, продукты предлагаемых способов и/или их этапов) не содержат расщепляемых групп (за исключением одной или большего количества реакционных групп и/или их фрагментов), которые могли бы быть расщеплены в условиях, которые по существу не повреждают или не трансформируют целевые агенты и/или агенты, содержащие фрагменты целевого агента (например, продукты конъюгации, содержащие фрагменты целевого агента). В некоторых вариантах осуществления предлагаемые соединения/агенты (например, партнеры по реакции, агенты (например, продукты предлагаемых способов и/или их этапов) не содержат расщепляемых групп (за исключением одной или большего количества реакционных групп и/или их фрагментов), которые могли бы быть расщеплены в условиях, при которых целевые агенты и/или агенты, содержащие фрагменты целевого агента (например, продукты конъюгации, содержащие фрагменты целевого агента) не будут предназначены для одного или большего количества применений (например, для применения в качестве диагностических агентов, терапевтических агентов и т. д.). В некоторых вариантах осуществления предлагаемые соединения/агенты (например, партнеры по реакции, агенты (например, продукты предлагаемых способов и/или их этапов) не содержат расщепляемых групп, которые могут быть расщеплены в биоортогональных условиях. В некоторых вариантах осуществления предлагаемые соединения/агенты (например, партнеры по реакции, агенты (например, продукты предлагаемых способов и/или их этапов) не содержат расщепляемых групп, которые могут быть расщеплены без существенного повреждения и/или трансформации белков. В некоторых вариантах осуществления расщепляемая группа представляет собой или содержит $-S-$, $-S-S-$, $-S-Cu-$, $-C(O)-O-$, $-C(O)-S-$, ацетальный фрагмент, $-N=N-$, иминный фрагмент, $-CH=N-$, $-P(O)(OR)O-$ фрагмент, $-P(O)(OR)-N(R)-$ фрагмент, $--C(O)-CH_2-C(COOH)=CHC(O)-$ фрагмент, $-CHOH-CHOH-$ фрагмент, $-Se-$ фрагмент, Si связан с двумя атомами кислорода, $-C(O)-CH_2-$, где $-CH_2-$ связан с бензильным углеродом, при этом фенильное кольцо бензильной группы замещено $-NO_2-$, $-C(O)-CH_2-$ где $-CH_2-$ связан с бензильным углеродом, при этом фенильное кольцо бензильной группы замещено $-NO_2-$ в *o*-положении, или фрагмент $-C(O)-N(-)-$, где N представляет собой кольцевой атом гетероарильного кольца. В некоторых вариантах осуществления расщепляемая группа представляет собой или содержит $-S-S-$, $-S-CH_2-Cu-$, $-S-Cu-$, $-C(O)-O-$, $-C(O)-S-$, ацетальный фрагмент, $-N=N-$, иминный фрагмент, $-CH=N-$, $-P(O)(OR)O-$ фрагмент, $-P(O)(OR)-N(R)-$ фрагмент, $--C(O)-CH_2-C(COOH)=CHC(O)-$ фрагмент, $-CHOH-CHOH-$ фрагмент, $-Se-$ фрагмент, Si связан с двумя атомами кислорода, $-C(O)-CH_2-$, где $-CH_2-$ связан с бензильным углеродом, при этом фенильное кольцо бензильной группы замещено $-NO_2-$, $-C(O)-CH_2-$ где $-CH_2-$ связан с бензильным углеродом, при этом фенильное кольцо бензильной группы замещено $-NO_2-$ в *o*-положении, или фрагмент

-C(O)-N(-)-, где N представляет собой кольцевой атом гетероарильного кольца. В некоторых вариантах осуществления расщепляемая группа представляет собой расщепляемый линкер или расщепляемую часть, описанные в WO 2018199337A1 или AU 2018259856, расщепляемые линкеры и расщепляемые части каждого из которых включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления расщепляемая группа представляет собой:



где:

волнистая линия, ортогональная связи, указывает на потенциальное место расщепления,

R^{2a} , R^{2b} и R^{2c} являются одинаковыми или разными, и каждый независимо представляет собой:

- (i) атом водорода или атом галогена;
- (ii) одновалентную углеводородную группу;
- (iii) алкил;
- (iv) одновалентную гетероциклическую группу;
- (v) R_c-O- , $R_c-C(O)-$, $R_c-O-C(O)-$, или $R_c-C(O)-O-$, где R_c представляет собой водород или

одновалентную углеводородную группу;

(vi) $-NR_dR_e$, $-NR_dR_e-C(O)-$, $-NR_dR_e-C(O)O-$, $-NR_d-C(O)-$, $-NR_d-C(O)O-$, или $R_d-C(O)-NR_e-$, где R_d и R_e являются одинаковыми или разными, и каждый представляет собой атом водорода или одновалентную углеводородную группу; или

(vii) выбран из группы, состоящей из нитрогруппы, серноокислотной группы, сульфокислотной группы, цианогруппы и карбоксильной группы;

J представляет собой $-CH_2-$, $-O-$, или $-S-$;

г представляет собой любое целое число от 1 до 4;

белый кружок и черный кружок независимо друг от друга представляют собой связь, соединяющую другие фрагменты;

[0258] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит расщепляемую группу, указанную выше. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит одного или большего количества или любого из следующих фрагментов: $-S-$, $-S-S-$, $-S-CH_2-Cy-$, $-S-Cy-$, $-C(O)-O-$, $-C(O)-S-$, ацетальный фрагмент, $-N=N-$, иминный фрагмент, $-CH=N-$, $-P(O)(OR)O-$ фрагмент, $-P(O)(OR)-N(R)-$ фрагмент, $--C(O)-CH_2-C(COOH)=CHC(O)-$ фрагмент, $-CHOH-CHOH-$ фрагмент, $-Se-$ фрагмент, Si связан с двумя атомами кислорода, $-C(O)-CH_2-$, где $-CH_2-$ связан с бензильным углеродом, при этом фенильное кольцо бензильной группы замещено $-NO_2-$, $-C(O)-CH_2-$ где $-CH_2-$ связан с бензильным углеродом, при этом фенильное кольцо бензильной группы замещено $-NO_2-$ в *o*-положении, или фрагмент $-C(O)-N(-)$, где N представляет собой кольцевой атом гетероарильного кольца. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит одного или большего количества или любого из следующих фрагментов: $-S-S-$, $-S-CH_2-Cy-$, $-S-Cy-$, $-C(O)-O-$, $-C(O)-S-$, ацетальный фрагмент, $-N=N-$, иминный фрагмент, $-CH=N-$, $-P(O)(OR)O-$ фрагмент, $-P(O)(OR)-N(R)-$ фрагмент, $--C(O)-CH_2-C(COOH)=CHC(O)-$ фрагмент, $-CHOH-CHOH-$ фрагмент, $-Se-$ фрагмент, Si связан с двумя атомами кислорода, $-C(O)-CH_2-$, где $-CH_2-$ связан с бензильным углеродом, при этом фенильное кольцо бензильной группы замещено $-NO_2-$, $-C(O)-CH_2-$ где $-CH_2-$ связан с бензильным углеродом, в котором фенильное кольцо бензильной группы замещено $-NO_2-$ в *o*-положении, или фрагмент $-C(O)-N(-)$, где N представляет собой кольцевой атом гетероарильного кольца. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-S-$. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-S-S-$ (необязательно за исключением дисульфидного фрагмента, образованного двумя аминокислотными остатками, в некоторых вариантах осуществления, необязательно за исключением дисульфидного фрагмента, образованного двумя цистеиновыми остатками). В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-S-Cy-$. В некоторых вариантах осуществления

линкерный фрагмент не содержит $-S-CH_2-Cy-$. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-C(O)-O-$. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-C(O)-S-$. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит ацетального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-N=N-$. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит иминного фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-CH=N-$ (необязательно за исключением кольца, в некоторых вариантах осуществления, необязательно за исключением гетероарильного кольца). В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-P(O)(OR)O-$ фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-P(O)(OR)-N(R)-$ фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $--C(O)-CH_2-C(COOH)=CHC(O)-$ фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-CHOH-CHOH-$ фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-Se-$ фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит Si, связанного с двумя атомами кислорода. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-C(O)-CH_2-$, где $-CH_2-$ связан с бензильным углеродом, в котором фенильное кольцо бензильной группы замещено $-NO_2-$. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-C(O)-CH_2-$, где $-CH_2-$ связан с бензильным углеродом, в котором фенильное кольцо бензильной группы замещено $-NO_2-$ в *o*-положении. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит $-C(O)-N(-)-$ фрагмента, где N представляет собой кольцевой атом гетероарильного кольца. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент не содержит ни одной из этих групп. В некоторых вариантах осуществления L^{RM} представляет собой такой линкерный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой такой линкерный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления L^{LG} представляет собой такой линкерный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления агент по данному изобретению не содержит одного или большего количества или всех таких фрагментов.

[0259] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_{1-100} алифатическую группу, в которой одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо заменены. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_{1-100} ариалифатическую группу, в которой одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо заменены. В некоторых

вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_{5-100} гетероаралифатическую группу, содержащую 1-20 гетероатомов, в которой одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо заменены. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_{5-100} гетероалифатическую группу, содержащую 1-20 гетероатомов, в которой одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо заменены.

[0260] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент (например, L) представляет собой или содержит один или большее количество (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более) единиц полиэтиленгликоля. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент представляет собой или содержит $-(CH_2CH_2O)_n-$, где n имеет значение, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество метиленовых единиц L независимо заменены на $-(CH_2CH_2O)_n-$.

[0261] Как описано в данном документе, в некоторых вариантах осуществления n равно 1. В некоторых вариантах осуществления n равно 2. В некоторых вариантах осуществления n равно 3. В некоторых вариантах осуществления n равно 4. В некоторых вариантах осуществления n равно 5. В некоторых вариантах осуществления n равно 6. В некоторых вариантах осуществления n равно 7. В некоторых вариантах осуществления n равно 8. В некоторых вариантах осуществления n равно 9. В некоторых вариантах осуществления n равно 10. В некоторых вариантах осуществления n равно 11. В некоторых вариантах осуществления n равно 12. В некоторых вариантах осуществления n равно 13. В некоторых вариантах осуществления n равно 14. В некоторых вариантах осуществления n равно 15. В некоторых вариантах осуществления n равно 16. В некоторых вариантах осуществления n равно 17. В некоторых вариантах осуществления n равно 18. В некоторых вариантах осуществления n равно 19. В некоторых вариантах осуществления n равно 20.

[0262] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент (например, L) представляет собой или содержит один или большее количество (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более) аминокислотных остатков. В контексте данного документа «один или большее количество» может иметь значение 1-100, 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10, 1-5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 или более. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество метиленовых единиц L независимо заменены аминокислотным остатком. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество метиленовых единиц L независимо заменены аминокислотным остатком, при этом аминокислотный остаток представляет собой аминокислоту формулы A-I или ее соль. В некоторых вариантах

осуществления одна или большее количество метиленовых единиц L независимо заменены аминокислотным остатком, при этом каждый аминокислотный остаток независимо имеет структуру $-N(R^{a1})-L^{a1}-C(R^{a2})(R^{a3})-L^{a2}-CO-$ или форму его соли.

[0263] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент содержит один или большее количество фрагментов, например, амино, карбонил и т. д., которые можно применять для соединения с другими фрагментами. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент содержит один или большее количество $-NR'$ -, где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-NR'$ - улучшает растворимость. В некоторых вариантах осуществления $-NR'$ - служит точками соединения с другим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой -H. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество метиленовых единиц L независимо заменены на $-NR'$ -, где R' является таким, как описано в данном документе.

[0264] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L содержит группу $-C(O)-$, которую можно применять для соединений с фрагментом. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество метиленовых единиц L независимо заменены на $-C(O)-$.

[0265] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L содержит группу $-NR'$ -, которую можно применять для соединений с фрагментом. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество метиленовых единиц L независимо заменены на $-N(R')$ -.

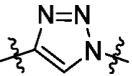
[0266] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L содержит группу $-C(O)NR'$ -, которую можно применять для соединений с фрагментом. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество метиленовых единиц L независимо заменены на $-C(O)N(R')$ -.

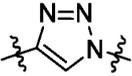
[0267] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L, содержит группу $-C(R')_2-$. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество метиленовых единиц L независимо заменены на $-C(R')_2-$. В некоторых вариантах осуществления $-C(R')_2-$ представляет собой $-CHR'$ -. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-(CH_2)_2C(O)NH(CH_2)_{11}COOH$. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-(CH_2)_2COOH$. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-COOH$.

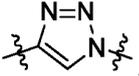
[0268] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент представляет собой или содержит один или большее количество кольцевых фрагментов, например, одна или большее количество метиленовых единиц L заменены на $-Su-$. В некоторых вариантах осуществления

линкерный фрагмент, например, L содержит арильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L содержит гетероарильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L содержит алифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L содержит гетероциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L содержит полициклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления кольцо в линкерном фрагменте, например, L является 3-20-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 5-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 6-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо в линкере является продуктом реакции циклоприсоединения (например, клик-химия и ее варианты), применяемой для связывания вместе различных фрагментов.

[0269] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент (например, L)

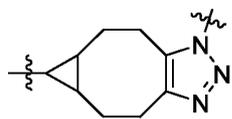
представляет собой или содержит . В некоторых вариантах осуществления метиленовая

единица L заменена на . В некоторых вариантах осуществления метиленовая единица L

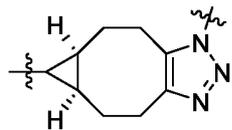
заменена на -Су-. В некоторых вариантах осуществления -Су- представляет собой .

[0270] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент (например, L)

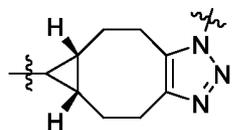
представляет собой или содержит -Су-. В некоторых вариантах осуществления метиленовая единица L заменена на -Су-. В некоторых вариантах осуществления -Су- представляет собой



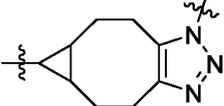
. В некоторых вариантах осуществления -Су- представляет собой

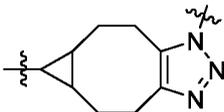
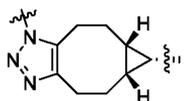
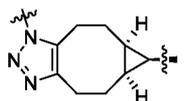


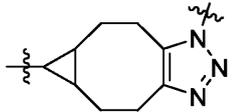
. В некоторых вариантах осуществления -Су- представляет собой

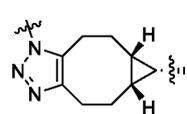


[0271] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L, в

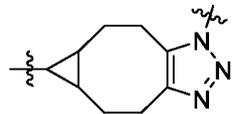
предлагаемом агенте, например, соединении в Таблице 1, содержит . В некоторых

вариантах осуществления  представляет собой  или  в

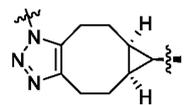
структуре. В некоторых вариантах осуществления  представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления



представляет собой



[0272] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент соответствует описанию в Таблице 1. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой L¹, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой L^b, как описано в данном документе.

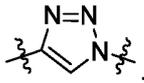
[0273] В некоторых вариантах осуществления L^{RM} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{RM} не представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{RM} представляет собой или содержит $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RM} представляет собой или содержит $-(\text{CH}_2)_n\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-(\text{CH}_2)_n-$, где каждый n независимо является таким, как описано в данном документе, и каждый $-\text{CH}_2-$ независимо необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления L^{RM} представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-(\text{CH}_2)_n-$, где каждый n независимо является таким, как описано в данном документе, и каждый $-\text{CH}_2-$ независимо необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления L^{RM} представляет собой $-(\text{CH}_2)_2\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-(\text{CH}_2)_2-$, где n является таким, как описано в данном документе, и каждый $-\text{CH}_2-$ независимо необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления L^{RM} представляет собой $-(\text{CH}_2)_2\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-(\text{CH}_2)_2-$, где n является таким, как описано в данном документе.

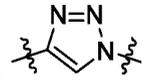
[0274] В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} не представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой или содержит $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой или содержит $-(\text{CH}_2)_n\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-(\text{CH}_2)_n-$, где каждый n независимо является таким, как описано в данном документе, и каждый $-\text{CH}_2-$ независимо необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-(\text{CH}_2)_n-$, где каждый n независимо является таким, как описано в данном

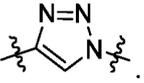
документе, и каждый $-\text{CH}_2-$ независимо необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-(\text{CH}_2)_2-$, где n является таким, как описано в данном документе, и каждый $-\text{CH}_2-$ независимо необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-(\text{CH}_2)_2-$, где n является таким, как описано в данном документе.

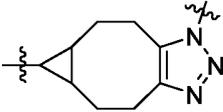
[0275] В некоторых вариантах осуществления L^{PM} (например, в продукте первого и второго агентов) представляет собой или содержит фрагмент продукта реакции, образованный первым реакционным фрагментом и вторым реакционным фрагментом.

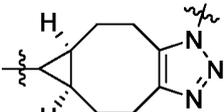
[0276] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент (например, L^{PM} в продукте

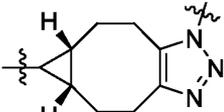
первого и второго агентов) представляет собой или содержит . В некоторых вариантах осуществления метиленовая единица линкерного фрагмента, например, L или линкерного фрагмента, который может представлять собой L (например, L^{RM} , L^{PM} и т. д.), заменена на $-\text{C}_y-$. В некоторых

вариантах осуществления $-\text{C}_y-$ представляет собой необязательно замещенный . В

некоторых вариантах осуществления $-\text{C}_y-$ представляет собой . В некоторых вариантах

осуществления $-\text{C}_y-$ представляет собой . В некоторых вариантах осуществления

$-\text{C}_y-$ представляет собой . В некоторых вариантах осуществления $-\text{C}_y-$

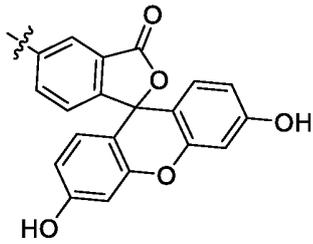
представляет собой .

Фрагменты, представляющие интерес

[0277] Специалистам в данной области техники, читающим данный документ, будет понятно, что различные типы представляющих интерес фрагментов могут применяться для различных целей в соответствии с данным изобретением.

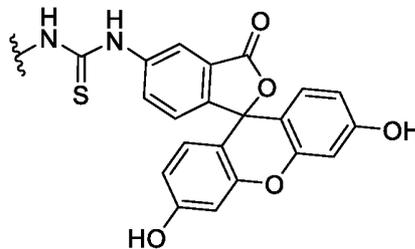
[0278] Например, в некоторых вариантах осуществления представляющие интерес

фрагменты представляют собой или включают обнаруживаемые фрагменты. Среди прочего, такие фрагменты могут быть пригодны для обнаружения, количественного определения, диагностики, лечения и т. д. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит радиоактивную метку. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит метку, которую можно обнаружить с помощью спектроскопии. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит флуорофор, такой как фрагмент FITC. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или



содержит

. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес



фрагмент представляет собой или содержит

. В некоторых

вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент фермента, например, пероксидазы, щелочной фосфатазы, люциферазы, b-галактозидазы и т. д. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит аффинное вещество, например, стрептавидин, биотин и др.

[0279] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представляющие интерес фрагменты представляют собой или содержат фрагменты терапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представляющий интерес фрагмент представляют собой фрагмент лекарственного средства, например, фрагмент лекарственного средства в конъюгате «антитело-лекарственное средство». В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит токсический агент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит цитотоксический агент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит противораковый агент. В некоторых вариантах осуществления противораковый агент представляет собой химиотерапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления противораковый агент выбирают из агентов, повреждающих ДНК, антиметаболитов,

ингибиторов ферментов, агентов, интеркалирующих ДНК, агентов, расщепляющих ДНК, ингибиторов топоизомеразы, ингибиторов связывания ДНК, ингибиторов связывания тубулина, цитотоксических нуклеозидов и соединений платины. В некоторых вариантах осуществления противораковый агент выбирают из токсинов, которые включают бактериотоксины (например, дифтерийный токсин) и фитотоксины (например, рицин). В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой антимиотический агент. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой майтансиноидный агент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит агент DM1. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит агент DM4. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой ауристатиновый агент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит монометилауристин-Е. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит монометилауристин-F. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой эксатекан или его производное (например, DXd). В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой агент, взаимодействующий с ДНК. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит калихеамициновый агент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит агент CC-1065 или его аналог. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит дуокармициновый агент. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой агент-ингибитор транскрипции. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит аматоксиновый агент. Как будет понятно специалистам в данной области техники, в соответствии с данным изобретением можно применять различные терапевтические агенты, например, противораковые агенты, включая многие лекарственные средства, одобренные FDA, EMA и т. д. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой низкомолекулярное вещество. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой или содержит пептид. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой или содержит белок. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой или содержит агент на основе нуклеиновой кислоты (например, олигонуклеотид, терапевтическое средство, содержащее РНК, и т. д.). В некоторых вариантах осуществления фрагмент, представляющий интерес, представляет собой или содержит низкомолекулярный фрагмент. В некоторых вариантах

осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит полипептидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит олигонуклеотидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит углеводный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит липидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления предлагаемое соединение или агент, содержащий фрагмент терапевтического агента, является пригодным для лечения патологического состояния, нарушения или заболевания, которое можно лечить с помощью терапевтического агента.

[0280] В некоторых вариантах осуществления представляющие интерес фрагменты представляют собой или содержат фрагменты, которые могут взаимодействовать и/или привлекать другие агенты, такие как белки, нуклеиновые кислоты, клетки и т. д. В некоторых вариантах осуществления представляющие интерес фрагменты взаимодействуют с белками, экспрессируемыми определенными типами клеток, например, иммунными клетками, патологическими клетками и т.д. В некоторых вариантах осуществления представляющие интерес фрагменты представляют собой вещества, связывающие иммунные клетки. В некоторых вариантах осуществления представляющие интерес фрагменты рекрутируют иммунные клетки. В некоторых вариантах осуществления представляющие интерес фрагменты иницируют, стимулируют и/или усиливают одну или большее количество иммунных активностей, например, для удаления, уничтожения и/или ингибирования желаемых целей (например, раковых клеток, антигенов и т. д.). В некоторых вариантах осуществления представляющие интерес фрагменты взаимодействуют, рекрутируют и/или связываются с патологическими клетками и иницируют, стимулируют и/или усиливают удаление, уничтожение и/или ингибирование патологических клеток.

[0281] В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой низкомолекулярный агент или содержит его (например, он может специфически связываться с его целевыми белками, целевыми клетками и т. д.). В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит пептидный или белковый агент (например, scFv, пептид, связывающийся со специфической целью, и т. д.). В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит агент на основе нуклеиновой кислоты (например, олигонуклеотид, мРНК и т. д.). В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит углеводный агент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес

фрагмент представляет собой или содержит липидный агент.

[0282] В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит белковый комплекс (например, Fab) В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит флуорофор. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит низкомолекулярный цитотоксический агент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит цитотоксический пептидный агент.

[0283] В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой адъювант. Специалисты в данной области техники смогут оценить различные адъюванты, которые можно применять в качестве представляющих интерес фрагментов в соответствии с данным изобретением. В некоторых вариантах осуществления адъювант описан в US 20190015516. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент стимулирует иммунную систему.

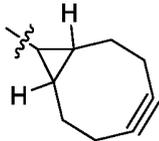
[0284] В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит частицу. В некоторых вариантах осуществления частица представляет собой или содержит наночастицу. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит наночастицу. В некоторых вариантах осуществления частица представляет собой или содержит наночастицу золота. В некоторых вариантах осуществления частица представляет собой или содержит наночастицы суперпарамагнитного оксида железа (SPIO). В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит тераностический агент, который содержит одну или большее количество наночастиц золота и суперпарамагнитного оксида железа.

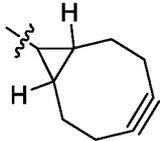
[0285] В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит олигонуклеотид. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит аптамер. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит ДНК- и/или РНК-аптамеры. В некоторых вариантах осуществления аптамер представляет собой или содержит последовательность двухцепочечной или одноцепочечной ДНК или последовательность РНК. В некоторых вариантах осуществления такие последовательности являются частично или полностью определенными. В некоторых вариантах осуществления аптамер представляет собой или содержит пегаптаниб. В

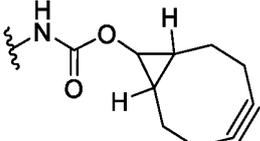
некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается агент, имеющий структуру I-66, I-67, I-68 или I-69, или его соль.

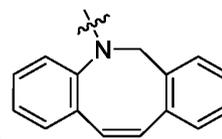
[0286] В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой антительный агент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой фрагмент антительного агента, который не содержит области, с которой связывается фрагмент, связывающий цель. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой антительный агент, который не содержит Fc-области. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит scFv. В некоторых вариантах осуществления scFv предназначен для антигена, отличного от антительного целевого агента.

[0287] В некоторых вариантах осуществления представляющие интерес фрагменты представляют собой или содержат реакционные фрагменты, в частности, партнеры по реакции для биоортогональных реакций. Пригодные реакционные фрагменты, в том числе фрагменты для биоортогональных реакций, широко известны в данной области техники и могут применяться в данном изобретении. В некоторых вариантах осуществления биоортогональная реакция представляет собой реакцию циклоприсоединения, например, клик-химию. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит $-N_3$. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит алкин. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит алкин, пригодный для безметалловой клик-химии. Например, в некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или

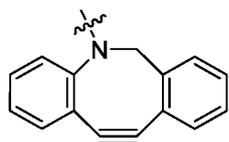
содержит необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления

представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит . В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит

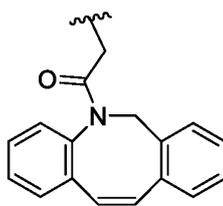
. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент



представляет собой или содержит необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит



. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент



представляет собой или содержит . В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит альдегидный, кетоновый, алкоксиаминовый или гидразидный фрагмент.

[0288] В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент улучшает одно или большее количество свойств и/или активностей целевого агента. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит усилитель стабильности. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент улучшает одно или большее количество фармакодинамических и/или фармакокинетических свойств целевого агента.

[0289] В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит пептидную метку, например, для обнаружения, трансформации и т. д. В некоторых вариантах осуществления пептидная метка представляет собой или содержит GGGGG и может служить субстратом для опосредованной сортазой А реакции, например, с LPETG-меченым белком. В некоторых вариантах осуществления пептидная метка представляет собой или содержит LPXTG. В некоторых вариантах осуществления пептидная метка представляет собой или содержит LPETG. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит (G)_n, где n равно 1-10. В некоторых вариантах осуществления первый G представляет собой N-концевой остаток. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит LPXTG, где X представляет собой аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит LPETG. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит LPXTG-(X)_n, где каждый X

представляет собой аминокислотный остаток и n равно 1-10. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит LPETG-(X) n , где каждый X представляет собой аминокислотный остаток и n равно 1-10. В некоторых вариантах осуществления n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления n равно 2. В некоторых вариантах осуществления n равно 3. В некоторых вариантах осуществления n равно 4. В некоторых вариантах осуществления n равно 5. В некоторых вариантах осуществления n равно 2-10. В некоторых вариантах осуществления n равно 2-5. В некоторых вариантах осуществления n равно 3-10. В некоторых вариантах осуществления n равно 3-5.

[0290] Как будет понятно специалистам в данной области техники, доступны различные пептидные метки, которые можно применять в соответствии с данным изобретением.

[0291] В некоторых вариантах осуществления предложенный способ дополнительно включает:

взаимодействие первого агента, содержащего первый реакционный фрагмент, например, в представляющем интерес первом фрагменте, со вторым агентом, содержащим второй реакционный фрагмент. В различных вариантах осуществления первый реакционный фрагмент находится в представляющем интерес первом фрагменте, например, который может быть включен посредством способа, описанного в данном документе (например, посредством контакта с соединением, имеющим структуру формулы R-I, или его солью).

[0292] В некоторых вариантах осуществления первый представляющий интерес фрагмент находится в соединении, которое не содержит фрагментов, связывающихся с целью. В некоторых вариантах осуществления первый представляющий интерес фрагмент представляет собой соединение формулы P-I или P-II или его соль. В некоторых вариантах осуществления первый представляющий интерес фрагмент представляет собой соединение формулы R-I или его соль. В некоторых вариантах осуществления первый агент имеет структуру соединения формулы P-I или P-II или его соли.

[0293] В некоторых вариантах осуществления второй агент содержит пептидный фрагмент, который связан со вторым реакционным фрагментом необязательно через линкер. В некоторых вариантах осуществления второй агент содержит пептидный фрагмент, который связан со вторым реакционным фрагментом необязательно через линкер. В некоторых вариантах осуществления второй агент содержит фрагмент антительного агента, который связан со вторым реакционным фрагментом необязательно через линкер.

[0294] В некоторых вариантах осуществления второй представляющий интерес фрагмент находится в соединении, которое не содержит фрагментов, связывающихся с целью. В некоторых

вариантах осуществления второй представляющий интерес фрагмент представляет собой соединение формулы P-I или P-II или его соль. В некоторых вариантах осуществления второй представляющий интерес фрагмент представляет собой соединение формулы R-I или его соль. В некоторых вариантах осуществления второй агент имеет структуру соединения формулы P-I или P-II или его соли. В некоторых вариантах осуществления второй реакционный фрагмент представляет собой или содержит представляющий интерес фрагмент второго агента. В некоторых вариантах осуществления второй агент содержит фрагмент целевого агента, как описано в данном документе. Например, в некоторых вариантах осуществления фрагмент целевого агента во втором агенте представляет собой или содержит пептидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления фрагмент целевого агента во втором агенте представляет собой или содержит фрагмент антительного агента, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления указанный фрагмент содержит фрагмент scFv. В некоторых вариантах осуществления фрагмент целевого агента во втором агенте обеспечивает другую специфичность по сравнению со специфичностью первого агента. В некоторых вариантах осуществления такие первый и второй агенты реагируют друг с другом с получением различных агентов-продуктов, содержащих фрагменты, обладающие различной специфичностью, как описано в данном документе.

[0295] В некоторых вариантах осуществления реакция между первым реакционным фрагментом и вторым реакционным фрагментом представляет собой биоортогональную реакцию. В некоторых вариантах осуществления реакция представляет собой реакцию циклоприсоединения. В некоторых вариантах осуществления реакция представляет собой [3+2] реакцию. Подходящие такие реакции и соответствующие первый и второй реакционные фрагменты широко известны в данной области техники и могут применяться в соответствии с данным изобретением. В некоторых вариантах осуществления первый реакционный фрагмент представляет собой или содержит $-N_3$, а второй реакционный фрагмент представляет собой или содержит $-\equiv-$ (например, алкиновый фрагмент, пригодный для клик-химии, включая фрагменты, пригодные для безметалловой клик-химии). В некоторых вариантах осуществления второй реакционный фрагмент представляет собой или содержит $-N_3$, а первый реакционный фрагмент представляет собой или содержит $-\equiv-$ (например, алкиновый фрагмент, пригодный для клик-химии, включая фрагменты, пригодные для безметалловой клик-химии).

[0296] Как описано в данном документе, в некоторых вариантах осуществления реакция между первым реакционным фрагментом и вторым реакционным фрагментом представляет собой ферментативную реакцию. В некоторых вариантах осуществления реакция представляет собой реакцию, опосредованную сортазой. В некоторых вариантах осуществления каждый из первого и

второго реакционных фрагментов независимо представляет собой или содержит субстратный фрагмент для реакции, например, ферментативной реакции. Например, в некоторых вариантах осуществления, для конъюгации, опосредованной сортазой, реакционный фрагмент представляет собой или содержит (G)_n (например, n равно 3, 4, 5 и т. д.), а реакционный фрагмент представляет собой или содержит LPXTG (например, LPETG). В некоторых вариантах осуществления реакционный фрагмент представляет собой или содержит LPXTG-(X)_n (например, LPETG-(X)_n, LPETG-XX и т. д.). Специалистам в данной области техники, читающим данный документ, будет понятно, что в соответствии с данным изобретением для конъюгации можно применять различные реакционные фрагменты, либо ферментативным, либо неферментативным путем. В некоторых вариантах осуществления соединение, содержащее первый реакционный фрагмент, представляет собой I-53, I-54, I-55, I-56, I-57 или I-58 или его соль. В некоторых вариантах осуществления соединения, содержащее второй реакционный фрагмент, представляет собой или содержит

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFTNYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYA
TYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTQVTVSSGGGGSGGGSGGG
GSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTS
GAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSEKLISEEDLGSGGGSLPETGGSHHHHHH (SEQ ID NO: 1) или его
фрагмент, или последовательность, которая разделяет 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%,
95%, 96%, 97%, 98% или 99% гомологии с SEQ ID NO: 1, или его фрагментом, или его солью. В
некоторых вариантах осуществления соединения, содержащее второй реакционный фрагмент,
представляет собой II-I:

[0297] В некоторых вариантах осуществления второй агент представляет собой или содержит второй представляющий интерес фрагмент, который представляет собой представляющий интерес фрагмент, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления второй реакционный фрагмент и второй представляющий интерес фрагмент соединены через линкер (например, линкер, как описано в данном документе (например, L^{PM}, L и т. д., как описано в данном документе). В некоторых вариантах осуществления второй представляющий интерес фрагмент является таким, как описано в данном документе (например, представляющий интерес фрагмент, терапевтический фрагмент, представляющий интерес фрагмент, который может взаимодействовать,

распознавать и/или связывать белки, нуклеиновые кислоты, иммунные клетки, патологические клетки и т. д.). В некоторых вариантах осуществления второй представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит антительный агент. В некоторых вариантах осуществления второй представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит агент антитела scFv. В некоторых вариантах осуществления такой антительный агент имеет другую специфичность по сравнению с исходным целевым антительным агентом. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются агенты биспецифических антител, композиции и способы их применения. В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой или содержит агент первого антитела, и конъюгирован с представляющим интерес фрагментом, содержащим первый реакционный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления агент, содержащий агент первого антитела и первый реакционный фрагмент, подвергают взаимодействию со вторым агентом, содержащим второй реакционный фрагмент и второй представляющий интерес фрагмент, который представляет собой второе антитело или содержит агент второго антитела, с получением агента, содержащего агенты первого и второго антитела. В некоторых вариантах осуществления агенты первого и второго антитела являются разными. В некоторых вариантах осуществления они являются одинаковыми.

[0298] В некоторых вариантах осуществления агент содержит два или большее количество фрагментов антительного агента. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента в одной молекуле агента имеют различную специфичность к цели. В некоторых вариантах осуществления некоторые или все фрагменты антительного агента в одной молекуле агента имеют одинаковую специфичность к цели. В некоторых вариантах осуществления агент, описанный в данном документе, представляет собой фрагменты, обладающие различной специфичностью к цели, или содержат их (например, фрагменты антитела, имеющие различную специфичность к цели). В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой агент биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления агент содержит первый фрагмент (например, фрагмент первого антитела) и второй фрагмент (например, фрагмент второго антитела). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент (например, фрагмент первого антитела) представляет собой или содержит IgG или его часть. В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент (например, фрагмент первого антитела) представляет собой или содержит фрагмент антительного агента или его часть (например, Fc-область или ее часть), с которой может связываться фрагмент, связывающийся с целью. В некоторых вариантах осуществления второй фрагмент (например, фрагмент второго антитела) представляет собой или содержит IgG или его часть. В некоторых вариантах осуществления второй фрагмент (например, фрагмент второго антитела)) представляет собой или содержит

фрагмент антительного агента или его часть (например, Fc-область или ее часть), с которой может связываться фрагмент, связывающийся с целью. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антительного агента, например, фрагмент второго антитела, не содержит фрагмента, с которым может связываться фрагмент, связывающийся с целью. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антительного агента, например, фрагмент второго антитела, не содержит Fc-фрагмента, с которым может связываться фрагмент, связывающийся с целью. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антительного агента, например, фрагмент второго антитела, представляет собой или содержит scFv. В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент представляет собой или содержит фрагмент первого агента. В некоторых вариантах осуществления второй фрагмент представляет собой или содержит представляющий интерес фрагмент второго агента. В некоторых вариантах осуществления первый агент, например, содержащий фрагмент первого антитела, контактирует со вторым агентом, например, содержащим фрагмент второго антитела, с получением агента, содержащего два или большее количество фрагментов, обладающих специфичностью к цели (например, фрагменты антительного агента).

[0299] В некоторых вариантах осуществления фрагмент, например, первый фрагмент, представляет собой или содержит фрагмент антительного агента, который связывается с целью (например, белком, липидом, углеводом, объектом и т. д.), ассоциированной с патологическим состоянием, нарушением или заболеванием (например, раком). В некоторых вариантах осуществления фрагмент, например, первый фрагмент, представляет собой или содержит фрагмент антительного агента, пригодный для профилактики или лечения патологического состояния, нарушения или заболевания, например, рака. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, например, первый фрагмент, представляет собой или содержит фрагмент антительного агента, который нацелен на раковые клетки, ткани, органы и т. д. Например, в некоторых вариантах осуществления первый фрагмент представляет собой или содержит фрагмент антитела анти-CD20 или его часть. В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент представляет собой или содержит ритуксимаб или его часть. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, например, второй фрагмент, представляет собой второй представляющий интерес фрагмент. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, например, второй фрагмент, представляет собой или содержит фрагмент антительного агента, который может рекрутировать и/или активировать иммунную активность, например, одной или большего количества иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, например, второй фрагмент, представляет собой или содержит фрагмент антительного агента, который может рекрутировать и/или активировать Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, например, второй фрагмент, представляет собой или содержит фрагмент

антитела анти-CD3 или его часть. В некоторых вариантах осуществления антитело анти-CD3 представляет собой CD3-направленный scFv. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, например, первый фрагмент, представляет собой фрагмент целевого агента. В некоторых вариантах осуществления предлагаемый агент содержит фрагмент анти-CD20 и фрагмент анти-CD3. В некоторых вариантах осуществления предлагаемый агент содержит фрагмент анти-CD20 и фрагмент анти-CD3, при этом эти два фрагмента связаны линкером. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагменты, которые не являются аминокислотными остатками. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагменты, которые не являются природными протеиногенными аминокислотными остатками. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой линкерный фрагмент, как описано в данном документе. Специалистам в данной области техники будет понятно, что агенты, содержащие два или большее количество фрагментов, специфичных к цели (например, фрагменты антительного агента), могут быть получены с различными преимуществами и характеристиками в соответствии с данным изобретением, например, с высокой сайт-специфичностью, высокой гомогенностью, низким уровнем повреждения, низкими уровнями или по существу отсутствием снижения желаемых свойств и/или активности (например, связывание цели, рекрутирование и/или активация иммунной активности и т. д.) и т. д. Специалистам в данной области техники также будет понятно, что с помощью предлагаемых технологий можно легко конъюгировать антительные агенты, например, являющиеся легкодоступными (например, «готовые» терапевтические антитела), с другими фрагментами, например, в некоторых вариантах осуществления, с другими антительными агентами, например, для получения биспецифических агентов. В некоторых вариантах осуществления первый и второй фрагменты связаны линкером, как описано в данном документе.

[0300] В некоторых вариантах осуществления предлагаемый агент-продукт содержит линкерную часть, соединяющую часть целевого агента и второй представляющий интерес фрагмент (например, два фрагмента антительного агента). В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой или содержит один или большее количество из L^{RG2} , L^{PM} или их фрагментов и один или большее количество фрагментов, образованных первым и вторым реакционными фрагментами (например, для клик-химии, триазольный фрагмент). В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой или содержит продукт линкерного фрагмента, например, линкер, образованный реакцией между первым и вторым реакционными фрагментами. В некоторых вариантах осуществления продукт линкерного фрагмента представляет собой или содержит LPXTG. В некоторых вариантах осуществления продукт линкерного фрагмента представляет собой или содержит LPXT(G)_n, где n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления

продукт линкерного фрагмента представляет собой или содержит фрагмент продукта биортогональной реакции, например, фрагмент продукта реакции клик-химии его.

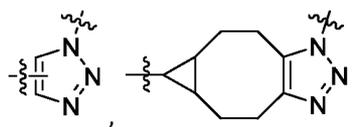
[0301] В некоторых вариантах осуществления агент, содержащий второй реакционный фрагмент и второй представляющий интерес фрагмент, получают с помощью технологии, предлагаемой в данном изобретении. В некоторых вариантах осуществления второй представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент белкового агента. В некоторых вариантах осуществления второй представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент антительного агента. В некоторых вариантах осуществления второй представляющий интерес фрагмент (например, белковый агент (например, антительный агент)) может служить в качестве целевого агента, а второй реакционный фрагмент может служить в качестве представляющего интерес фрагмента (например, MOI в соединении формулы R-I или его соли), для применения определенных предлагаемых способов (например, включающих взаимодействие целевых агентов (например, белковых агентов (например, антительных агентов и т. д.)) с партнерами по реакции, содержащими представляющие интерес фрагменты (например, те, которые представляют собой или содержат вторые реакционные фрагменты), реакционные группы и фрагменты, связывающие цель, которые могут связываться с целевыми агентами с образованием вторых агентов).

[0302] В некоторых вариантах осуществления каждый из первого агента и второго агента независимо и необязательно представляет собой агент формулы P-I или P-II или его соль. В некоторых вариантах осуществления каждый из первого агента и второго агента независимо представляет собой агент формулы P-I или P-II или его соль. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из первого агента и второго агента получают с помощью способа по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления один из первого агента и второго агента независимо получают с помощью способа по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления фрагмент целевого агента первого агента представляет собой антительный агент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент первого агента представляет собой или содержит первый реакционный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления фрагмент целевого агента второго агента представляет собой антительный агент. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент второго агента представляет собой или содержит второй реакционный фрагмент. Как описано в данном документе, во многих вариантах осуществления первый реакционный фрагмент и второй реакционный фрагмент могут реагировать друг с другом с получением агента-продукта. В некоторых вариантах осуществления реакция между первой и второй реакционными фрагментами представляет собой или содержит реакцию,

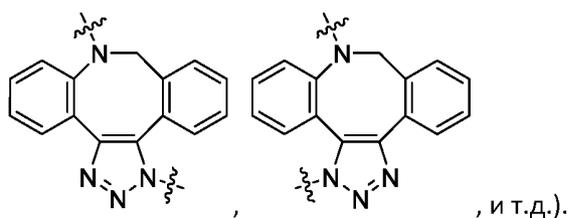
совместимую с целевыми агентами в первом и втором агентах, например, совместимую с белковыми агентами (например, антительными агентами). В некоторых вариантах осуществления такая реакция представляет собой биоортогональную реакцию. В некоторых вариантах осуществления такая реакция представляет собой реакцию циклоприсоединения. В некоторых вариантах осуществления такая реакция представляет собой клик-реакцию. В некоторых вариантах осуществления такая реакция представляет собой безметалловую клик-реакцию. В некоторых вариантах осуществления агент-продукт представляет собой соединение формулы P-I или P-II или его соли. В некоторых вариантах осуществления в агенте-продукте формулы P-I или P-II или его соли фрагмент целевого агента представляет собой белковый агент (например, антительный агент), а в некоторых вариантах осуществления – фрагмент целевого агента первого агента. В некоторых вариантах осуществления в агенте-продукте формулы P-I или P-II или его соли представляющий интерес фрагмент представляет собой белковый агент (например, антительный агент), а в некоторых вариантах осуществления – фрагмент целевого агента второго агента. В некоторых вариантах осуществления агент-продукт содержит два или большее количество антительных агентов. В некоторых вариантах осуществления два или большее количество антительных агентов имеют различную антигенную специфичность. В некоторых вариантах осуществления два или большее количество антительных агентов относятся к разным антигенам. В некоторых вариантах осуществления предложенный способ включает:

взаимодействие первого агента, имеющего структуру формулы P-I или P-II, или его соли, со вторым агентом, который имеет структуру формулы P-I или P-II, или его соли, с получением агента-продукта.

[0303] В некоторых вариантах осуществления, в которых первый агент представляет собой агент формулы P-I или P-II или его соль, первый агент и агент-продукт имеют один и тот же целевой агент (P или P-N), другой линкер LPM и разные MOI (например, в некоторых вариантах осуществления MOI первого агента представляет собой или содержит реакционную группу, при этом MOI агента-продукта первого и второго агентов представляет собой или содержит фрагмент целевого агента (например, фрагмент антительного агента) второго агента). В некоторых вариантах осуществления L^{PM} агента-продукта представляет собой или содержит фрагмент продукта первого реакционного фрагмента и второго реакционного фрагмента. Например, в некоторых вариантах осуществления, когда реакция представляет собой или содержит клик-реакцию, L^{PM} в агенте-продукте представляет



собой или содержит триазольный фрагмент (например,



Способы и продукты

[0304] В некоторых вариантах осуществления предлагаемые технологии включают приведение в контакт целевого агента (например, к которому должен быть присоединен представляющий интерес фрагмент) с партнером по реакции. В некоторых вариантах осуществления контакт осуществляется при таких условиях и в течение времени, чтобы целевой агент реагировал с партнером по реакции с образованием агента в качестве продукта. Многие условия реакции/время реакции в данной области техники могут быть оценены и применяться, если они пригодны для желаемых целей, в соответствии с данным изобретением; некоторые такие условия, время реакции, оценка и т.д. описаны в Примерах.

[0305] В некоторых вариантах осуществления образованный агент содержит фрагмент целевого агента, представляющий интерес фрагмент и, необязательно, линкерный фрагмент, соединяющий фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент. В некоторых вариантах осуществления часть целевого агента получают из целевого агента (например, путем удаления одного или большего количества -H из целевого агента). В некоторых вариантах осуществления фрагмент целевого агента сохраняет одну или большее количество, большинство или по существу все структурные особенности и/или биологические функции целевого агента. Например, в некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой антительный агент, а фрагмент целевого агента в образованном агенте представляет собой соответствующий фрагмент антительного агента и поддерживает основные функции антительного агента, например, взаимодействует с различными рецепторами (например, рецепторами Fc, такими как FcRn), специфично распознающими антиген, запускающими, стимулирующими и/или усиливающими иммунологическую активность в отношении пораженных клеток и т. д., в качестве антительного агента. В некоторых вариантах осуществления образованный агент обеспечивает одну или большее количество функций помимо функций целевого агента, например, за счет представляющего интерес фрагмента и/или сформированного агента в целом.

[0306] В некоторых вариантах осуществления образованный агент имеет структуру соединения формулы P-I или P-II или его соли. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес фрагмент в образованном агенте (например, MOI формулы P-I или P-II или

его соль) является таким же, как представляющий интерес фрагмент в партнере по реакции (например, MOI формулы R-I или его соли), применяемого для приготовления образованного агента. В некоторых вариантах осуществления Р представляет собой белковый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления Р представляет собой антительный фрагмент.

[0307] В некоторых вариантах осуществления линкерные фрагменты (или их части), связанные с представляющими интерес фрагментами, также могут быть перенесены от партнеров по реакции (например, L^{RM} формулы R-I или его соли). В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент в образованном агенте (например, L^{PM}) представляет собой или содержит линкерный фрагмент в партнере по реакции (например, один между реакционной группой и представляющим интерес фрагментом, например, L^{RM}). В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой или содержит L^{RM} . В некоторых вариантах осуществления L^{PM} представляет собой $-L^{RM}-L^{RG2}-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG2} представляет собой $-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^{RG2} представляет собой $-C(O)-$ и связан с $-NH-$ фрагмента целевого агента, например, $-NH-$ в боковой цепи остатка лизина белкового фрагмента, который в некоторых вариантах осуществления представляет собой антительный фрагмент.

[0308] Партнеры по реакции, например, соединения формулы R-I или их соли, как правило, не содержат фрагментов, которые могут реагировать с реакционными группами в условиях, при которых реакционные группы реагируют с целевыми агентами. В некоторых вариантах осуществления, в той мере, в какой некоторые фрагменты в партнерах по реакции могут реагировать с реакционными группами в условиях, при которых реакционные группы реагируют с целевыми агентами, реакции между такими фрагментами и реакционными группами происходят значительно медленнее и/или являются менее эффективными по сравнению с реакциями между реакционными группами и целевыми агентами. В некоторых вариантах осуществления реакции между такими фрагментами и реакционными группами значительно не снижаются (например, не более чем на около 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%), %, 80%, 90% и т. д. восстановления) по эффективности, выходу, скорости и/или конверсии и т. д. реакций между реакционными группами и целевыми агентами. В некоторых вариантах осуществления реакционные группы (например, сложноэфирные группы, производные активированной карбоновой кислоты и т. д.) реагируют с аминогруппами (например, группами $-NH_2$) целевых агентов (например, белковых агентов, таких как антительные агенты). В некоторых вариантах осуществления партнеры по реакции, например, соединения формулы R-I или их соли, не содержат аминогрупп. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы R-I или их соли (или их части, такие как R^{LG} , L^{LG} , L^{LG1} , L^{LG2} , L^{LG3} , L^{LG4} , L^{RG1} , L^{RG2} , L^{RM} и/или MOI) не содержат аминогрупп. В некоторых вариантах осуществления они не

содержат первичных аминогрупп ($-\text{NH}_2$). В некоторых вариантах осуществления они не содержат $-\text{CH}_2\text{NH}_2$. В некоторых вариантах осуществления они не содержат $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$. В некоторых вариантах осуществления они не содержат $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$. В некоторых вариантах осуществления они не содержат $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$. В некоторых вариантах осуществления аминогруппы, например, первичные аминогруппы, блокируются (например, путем введения ацильных групп (например, $\text{R}-\text{C}(\text{O})-$ (например, ацетил)) с образованием амидных групп) для предотвращения или уменьшения нежелательных реакций.

[0309] В некоторых вариантах осуществления реакции проводят в буферных системах. В некоторых вариантах осуществления буферные системы по данному изобретению сохраняют структуру и/или функции целевых агентов, представляющего интерес фрагмента и т. д. В некоторых вариантах осуществления буфер представляет собой фосфатный буфер. В некоторых вариантах осуществления буфер представляет собой буфер PBS. В некоторых вариантах осуществления буфер представляет собой боратный буфер. В некоторых вариантах осуществления буферы по данному изобретению обеспечивают и необязательно поддерживают определенное значение или диапазон pH. Например, в некоторых вариантах осуществления пригодное значение pH составляет около 7-9, например, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 9,0 и т. д. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 7,4. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 7,5. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 7,8. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 8,0. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 8,2. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 8,3.

[0310] Предлагаемые технологии могут обеспечить различные преимущества. Среди прочего, в некоторых вариантах осуществления соединение представляющего интерес фрагмента в предлагаемом партнере по реакции (например, соединение, содержащее реакционную группу, расположенную между первой группой и представляющим интерес фрагментом (например, соединение формулы $\text{R}-\text{I}$ или его соль))) с целевым агентом, и высвобождение фрагмента, связывающего цель в предлагаемом партнере по реакции может быть достигнуто в одной реакции и/или в одном сосуде. Таким образом, во многих вариантах осуществления не выполняются отдельные реакции/стадии для удаления фрагментов, связывающихся с целью. Как было оценено специалистами в данной области техники, путем осуществления соединения представляющего интерес фрагмента и высвобождения фрагмента, связывающего цель, в одной реакции/операции, предлагаемые технологии позволяют избежать отдельных стадий удаления фрагмента, связывающего цель, и могут повысить общую эффективность (например, за счет упрощения операции, увеличения общего выхода и т. д.), снижение производственных затрат, повышение

чистоты продукта (например, за счет исключения воздействия условий удаления фрагмента, связывающего цель, что обычно включает одно или большее количество из следующих условий: восстановление, окисление, гидролиз (например, сложноэфирных групп) и т.д., и могут повредить фрагменты целевого агента (например, для фрагментов белкового агента, белковых аминокислотных остатков, общих структур и/или посттрансляционных модификаций (например, гликанов антител). Действительно, как продемонстрировано в данном документе, предлагаемые технологии, среди прочего, могут обеспечивать повышенную эффективность (например, с точки зрения скоростей реакции и/или процентов конверсии), повышенный выход, повышенную чистоту/гомогенность и/или повышенную селективность, особенно по сравнению с эталонными технологиями, в которых используется партнер по реакции, не содержащий фрагментов, связывающих цель, без введения стадии(й) для удаления фрагмента, связывающего цель (например, удаление фрагмента, связывающего цель, осуществляется на той же стадии, что и конъюгация представляющего интерес фрагмента).

[0311] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются продукты предлагаемых способов, которые, среди прочего, характеризуются низким уровнем повреждения фрагментов целевого агента по сравнению со способами, включающими стадии, которые выполняются для удаления фрагмента, связывающего цель, но не для существенной конъюгации представляющего интерес фрагмента. В некоторых вариантах осуществления предлагаемые композиции продуктов обладают высокой гомогенностью по сравнению с эталонными композициями продуктов (например, композициями из технологий, не применяющих фрагменты, связывающие цель, или с применением дополнительных стадий(й) для удаления фрагментов, связывающих цель (например, без применения описанных в данном документе партнеров по реакции, которые включают реакционную группу, расположенную между фрагментом, связывающим цель, и представляющим интерес фрагментом).

[0312] В некоторых вариантах осуществления агент-продукт представляет собой агент, содержащий:

фрагмент целевого агента;

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно один или большее количество линкерных фрагментов.

[0313] В некоторых вариантах осуществления фрагмент целевого агента представляет собой фрагмент белкового агента. В некоторых вариантах осуществления фрагмент целевого агента представляет собой фрагмент антительного агента. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антительного агента содержит Fc-область IgG. В некоторых вариантах осуществления фрагмент

целевого агента связан с представляющей интерес фрагментом через аминокгруппу, необязательно через линкер. В некоторых вариантах осуществления это происходит через остаток лизина, при этом аминокгруппа боковой цепи соединена с представляющим интерес фрагментом, необязательно через линкер (например, образуя $-NH-C(O)-$ как часть амидной группы, карбаматной группы и т.д.).

[0314] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации используются выбранные местоположения целевых агентов. Например, в некоторых вариантах осуществления K246 или K248 антительного агента (нумерация ЕС или соответствующие остатки) являются местоположениями конъюгации. В некоторых вариантах осуществления местоположение конъюгации представляет собой K246 тяжелой цепи (если не указано иное, места в данном документе включают соответствующие остатки, например, в модифицированной последовательности (например, в более длинной, более короткой, перестроенной и т. д. последовательности)). В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K248 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K288 или K290 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K288 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K290 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K317.

[0315] В некоторых вариантах осуществления, когда целевые агенты представляют собой антительные агенты, тяжелые цепи селективно метят по отношению к легким цепям.

[0316] Помимо прочего, в данном изобретении могут быть предложены контролируемые соотношения представляющего интерес фрагмента/целевого агента (например, для конъюгатов «антитело-лекарственное средство», соотношения лекарственное средство/антитело (DAR)). В некоторых вариантах осуществления соотношение составляет около 0,5-6, например, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5 и т.д.). В некоторых вариантах осуществления соотношение составляет около 0,5-2,5. В некоторых вариантах осуществления соотношение составляет около 0,5-2. В некоторых вариантах осуществления соотношение составляет около 1-2. В некоторых вариантах осуществления соотношение составляет около 1,5-2. В некоторых вариантах осуществления указанное соотношение представляет собой соотношение представляющих интерес фрагментов, конъюгированных с фрагментами целевого агента, и фрагментов целевого агента, конъюгированных с представляющими интерес фрагментами. В некоторых вариантах осуществления указанное соотношение представляет собой соотношение представляющих интерес фрагментов, конъюгированных с фрагментами целевого агента, и всех фрагментов целевого агента в композиции.

[0317] В некоторых вариантах осуществления в предлагаемых агентах (например, агентах

формулы P-I или P-II или их солях) по существу все сайты конъюгации фрагментов целевого агента имеют одинаковые модификации (например, все имеют одинаковые представляющие интерес фрагменты, необязательно связанные через одинаковые линкерные фрагменты). В некоторых вариантах осуществления сайты конъюгации не содержат разных модификаций (например, разные представляющие интерес фрагменты и/или отсутствие представляющих интерес фрагментов и/или разные линкерные фрагменты).

[0318] В некоторых вариантах осуществления в предлагаемых композициях, содержащих множество предлагаемых агентов (например, агентов формулы P-I или P-II или их солей), по существу все сайты конъюгации фрагментов целевого агента имеют одинаковые модификации (например, все имеют одинаковые фрагменты представляющие интерес, необязательно связанные через одинаковые линкерные фрагменты). В некоторых вариантах осуществления сайты конъюгации не содержат разных модификаций (например, разные представляющие интерес фрагменты и/или отсутствие представляющих интерес фрагментов и/или разные линкерные фрагменты). В некоторых вариантах осуществления такие композиции не содержат агентов, которые имеют одинаковые (или по существу одинаковые) фрагменты целевого агента, но разные модификации (например, разные представляющие интерес фрагменты и/или отсутствие представляющих интерес фрагментов и/или разные линкерные фрагменты). В некоторых вариантах осуществления агенты, которые имеют одинаковые (или по существу одинаковые) фрагменты целевого агента, но разные модификации (например, разные представляющие интерес фрагменты и/или отсутствие представляющих интерес фрагментов и/или разные линкерные фрагменты), являются промежуточными продуктами многостадийного получения (например, включая стадии удаления фрагментов, связывающих цель, в дополнение к стадиям конъюгации представляющего интерес фрагмента) конечных агентов-продуктов.

[0319] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагается композиция, содержащая множество агентов, каждый из которых независимо содержит:

фрагмент целевого агента;

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент;

при этом агенты из множества имеют одинаковый или по существу одинаковый фрагмент целевого агента и общую модификацию независимо по меньшей мере в одном общем местоположении; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества.

[0320] В некоторых вариантах осуществления фрагмент целевого агента представляет собой или содержит белковый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления агенты из множества имеют общие модификации (например, конъюгации представляющих интерес фрагментов, необязательно через линкерные фрагменты) независимо друг от друга по меньшей мере одного аминокислотного остатка. В некоторых вариантах осуществления агенты из множества, каждый независимо, представляет собой соединение формулы P-I или P-II или его соль.

[0321] В некоторых вариантах осуществления предлагается композиция, содержащая множество агентов, каждый из которых независимо содержит:

фрагмент белкового агента;

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент белкового агента и представляющий интерес фрагмент;

при этом фрагменты белкового агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность, и агенты из множества независимо друг от друга имеют общую модификацию по меньшей мере одного общего аминокислотного остатка фрагментов белкового агента; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент белкового агента, который содержит общую аминокислотную последовательность, и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества.

[0322] В некоторых вариантах осуществления агенты из множества, каждый независимо, представляет собой соединение формулы P-I или P-II или его соль. В некоторых вариантах осуществления каждый фрагмент белкового агента независимо представляет собой фрагмент антительного агента.

[0323] В некоторых вариантах осуществления предлагается композиция, содержащая множество агентов, каждый из которых независимо содержит:

фрагмент антительного агента,

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент антительного агента и представляющий интерес фрагмент;

при этом фрагменты антительного агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность или могут связываться с общим антигеном, и агенты из множества независимо друг от друга имеют общую модификацию по меньшей мере одного общего аминокислотного остатка фрагментов белкового агента; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент антительного агента,

который содержит общую аминокислотную последовательность или может связываться с общим антигеном, и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества.

[0324] В некоторых вариантах осуществления агенты из множества, каждый независимо, представляет собой соединение формулы P-I или P-II или его соль. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность в Fc-области. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента из множества агентов содержат общую Fc-область. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента из множества агентов могут специфически связываться с общим антигеном. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента представляют собой фрагменты моноклонального антитела. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента представляют собой фрагменты поликлонального антитела. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента связываются с двумя или большим количеством различных антигенов. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента связываются с двумя или большим количеством различных белков. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента представляют собой фрагменты IVIG.

[0325] В контексте данного документа, в некоторых вариантах осуществления термин «по меньшей мере один» или «один или большее количество» означает 1-1000, 1-500, 1-200, 1-100, 1-90, 1-80, 1-70, 1-60, 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10, 1-5 или около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает один. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает два или больше. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает около 3. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает около 4. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает около 5. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает около 6. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает около 7. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает около 8. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает около 9. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает около 10. В некоторых вариантах осуществления этот термин означает около 10 или больше.

[0326] В некоторых вариантах осуществления общая аминокислотная последовательность содержит 1-1000, 1-500, 1-400, 1-300, 1-200, 1-100, 1-50, 10-1000, 10-500, 10-400, 10-300, 10-200, 10-100, 10-50, 20-1000, 20-500, 20-400, 20-300, 20-200, 20-100, 20-50, 50-1000, 50-500, 50-400, 50-300, 50-

200, 50-100, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600 или больше аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления длина составляет по меньшей мере 5 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления длина составляет по меньшей мере 10 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления длина составляет по меньшей мере 50 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления длина составляет по меньшей мере 100 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления длина составляет по меньшей мере 150 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления длина составляет по меньшей мере 200 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления длина составляет по меньшей мере 300 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления длина составляет по меньшей мере 400 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления длина составляет по меньшей мере 500 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления длина составляет по меньшей мере 600 аминокислотных остатков.

[0327] В некоторых вариантах осуществления общая аминокислотная последовательность составляет по меньшей мере 10%-100%, 50%-100%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% аминокислотной последовательности фрагмента целевого агента, фрагмента белкового агента, фрагмента антительного агента и т. д. В некоторых вариантах осуществления указанная последовательность составляет 100%.

[0328] В некоторых вариантах осуществления фрагменты белкового агента имеют высокий процент гомологии аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 50%-100%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 50%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 60%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 70%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 80%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 90%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 91%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 50%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 92%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 93%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 94%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 95%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 96%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 97%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 98%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 99%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 100%. В некоторых вариантах осуществления

указанный процент составляет по меньшей мере 50%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 60%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 70%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 80%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 90%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 91%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 50%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 92%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 93%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 94%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 95%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 96%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 97%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 98%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 99%.

[0329] В некоторых вариантах осуществления фрагмент белкового агента или фрагмент антительного агента представляет собой или содержит белковый комплекс. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна или каждая отдельная цепь имеет общую аминокислотную последовательность и/или имеет гомологию, как описано в данном документе.

[0330] В некоторых вариантах осуществления множество агентов имеют общую представляющую интерес группу. В некоторых вариантах осуществления каждый агент из множества независимо представляет собой агент формулы P-I или P-II или его соль. В некоторых вариантах осуществления каждый агент из множества независимо представляет собой агент формулы P-I или P-II или его соль, при этом MOI является одинаковым для каждого агента из множества. В некоторых вариантах осуществления агенты из множества являются продуктами способов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиции, содержащие агенты из множества, являются продуктами способов, описанных в данном документе.

[0331] В некоторых вариантах осуществления модификация представляет собой или содержит представляющий интерес фрагмент и, необязательно, линкер. В некоторых вариантах осуществления модификация представляет собой или содержит $-L^{PM}-MOI$.

[0332] В некоторых вариантах осуществления агенты из множества имеют общую модификацию независимо друг от друга по меньшей мере в одном местоположении. В некоторых вариантах осуществления модификация представляет собой или содержит представляющий интерес

фрагмент и, необязательно, линкер, соединяющий фрагмент, представляющий интерес. Как описано в данном документе, каждое местоположение независимо имеет свою общую модификацию. В некоторых вариантах осуществления общие модификации в двух или большем количестве или во всех местоположениях содержат общий фрагмент, представляющий интерес. В некоторых вариантах осуществления общие модификации являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления агенты из множества имеют общую модификацию в каждом местоположении, которое имеет модификацию, представляющую интерес, или содержащую представляющий интерес фрагмент, и, необязательно, линкер. В некоторых вариантах осуществления агенты из множества имеют общую модификацию в каждом местоположении, которое имеет модификацию, представляющую интерес, или содержащую $-L^{PM}-MOI$.

[0333] В некоторых вариантах осуществления белковые агенты (например, антительные агенты) имеют общую модификацию по меньшей мере одного аминокислотного остатка. В некоторых вариантах осуществления агенты из множества имеют общую модификацию в каждом местоположении, которое имеет модификацию, представляющую интерес, или содержащую представляющий интерес фрагмент и, необязательно, линкер. В некоторых вариантах осуществления агенты из множества имеют общую модификацию в каждом местоположении, которое имеет модификацию, представляющую интерес, или содержащую $-L^{PM}-MOI$.

[0334] В некоторых вариантах осуществления местоположение выбирают из K246, K248, K288, K290, K317 антительных агентов и соответствующих им местоположений. В некоторых вариантах осуществления местоположение выбирают из K246 и K248, и соответствующих им местоположений. В некоторых вариантах осуществления местоположение выбирают из K288 и K290, и соответствующих им местоположений. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K246 или соответствующее ему местоположение. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K248 или соответствующее ему местоположение. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K288 или соответствующее ему местоположение. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K290 или соответствующее ему местоположение. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K317 или соответствующее ему местоположение. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K185 легкой цепи или соответствующее ему местоположение. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K187 легкой цепи или соответствующее ему местоположение. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K133 тяжелой цепи или соответствующее ему местоположение. В некоторых вариантах осуществления местоположение

представляет собой K246 или K248 тяжелой цепи или соответствующее ему местоположение. В некоторых вариантах осуществления местоположение представляет собой K414 тяжелой цепи или соответствующее ему местоположение.

[0335] В некоторых вариантах осуществления около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества. В некоторых вариантах осуществления около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент белкового агента, который содержит общую аминокислотную последовательность, и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества. В некоторых вариантах осуществления около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент антительного агента, который содержит общую аминокислотную последовательность или может связываться с общим антигеном, и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества. В некоторых вариантах осуществления около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент целевого агента, представляют собой агенты из множества. В некоторых вариантах осуществления около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент белкового агента, который содержит общую аминокислотную последовательность, представляют собой агенты из множества. В некоторых вариантах осуществления около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент антительного агента, который содержит общую аминокислотную последовательность или может связываться с общим антигеном, представляют собой агенты из множества. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 50%-100%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 50%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 60%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 70%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 80%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 90%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 91%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 50%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 92%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 93%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 94%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 95%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 96%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 97%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 98%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 99%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет 100%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 50%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 60%. В некоторых вариантах осуществления

осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 91%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 50%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 92%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 93%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 94%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 95%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 96%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 97%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 98%. В некоторых вариантах осуществления указанный процент составляет по меньшей мере 99%.

[0337] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются композиции агентов-продуктов, содержащие агенты-продукты (например, агенты формулы P-I или P-II или их соли). В некоторых вариантах осуществления композиция агента-продукта (например, композиция агента, полученная с помощью определенных способов) содержит агент-продукт, содержащий фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент, и, необязательно, линкер (например, агент формулы P-I или P-II, или его соль), высвобожденный фрагмент, связывающий цель (например, соединение, содержащее $R^{LG}-(L^{LG1})_{0-1}-(L^{LG2})_{0-1}-(L^{LG3})_{0-1}-(L^{LG4})_{0-1}$), или соединение, содержащее высвобожденный фрагмент, связывающий цель (например, соединение, имеющее структуру $R^{LG}-(L^{LG1})_{0-1}-(L^{LG2})_{0-1}-(L^{LG3})_{0-1}-(L^{LG4})_{0-1}-H$ или соль его), и партнер по реакции (например, соединение формулы R-I или его соль). В некоторых вариантах осуществления высвобожденные фрагменты, связывающие цель, могут связываться с фрагментами целевого агента в целевом агенте и/или образованном агенте-продукте. Доступны различные технологии для отделения высвобождаемых фрагментов, связывающих цель, от фрагментов целевого агента в соответствии с данным изобретением, например, в некоторых вариантах осуществления приведение в контакт композиции с композицией, содержащей глицин, при определенном pH.

Определенные варианты осуществления переменных

[0338] В качестве примеров в данном документе описаны типовые варианты осуществления переменных. Как будет понятно специалистам в данной области техники, варианты осуществления для различных переменных могут необязательно комбинироваться.

[0339] В некоторых вариантах осуществления АВТ представляет собой фрагмент, связывающий антитело, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления АВТ представляет собой АВТ соединения, выбранного из соединений, представленных в Таблице 1. В

некоторых вариантах осуществления АВТ представляет собой фрагмент, выбранный из Таблицы А-1. В некоторых вариантах осуществления АВТ представляет собой фрагмент, описанный в Таблице 1.

[0340] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой линкерный фрагмент соединения, выбранного из соединений, представленных в Таблице 1.

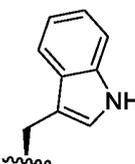
[0341] В некоторых вариантах осуществления каждый из R^1 , R^3 и R^5 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, содержащего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, содержащего 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или: R^1 и $R^{1'}$ необязательно вместе со своим промежуточным атомом углерода образуют 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо или 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; R^3 и $R^{3'}$, необязательно вместе со своим промежуточным атомом углерода образуют 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо или 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; группа R^5 и группа $R^{5'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно вместе со своим промежуточным атомом углерода, образуют 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо или 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или две группы R^5 необязательно вместе со своими промежуточными атомами образуют C_{1-10} двухвалентную прямую или разветвленную насыщенную или ненасыщенную углеводородную цепь, в которой 1-3 метиленовых единицы цепи независимо и необязательно заменены на $-S-$, $-SS-$, $-N(R)-$, $-O-$, $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-C(O)N(R)-$, $-N(R)C(O)-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, или $-Cy^1-$, где каждый $-Cy^1-$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы.

[0342] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из

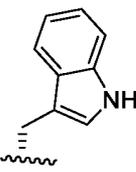
C₁₋₆ алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, содержащего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, содержащего 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой необязательно замещенную C₁₋₆ алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой необязательно замещенное 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое ароматическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой необязательно замещенное 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероароматическое кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероароматическое кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[0343]

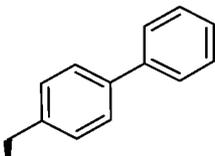
В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой  . В

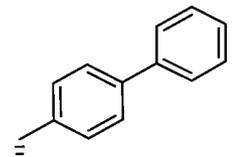


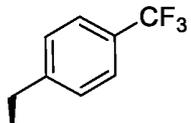
некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой  . В некоторых вариантах

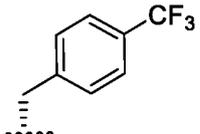
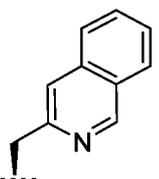


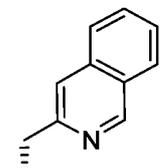
осуществления R¹ представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R¹

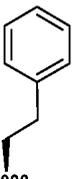


представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет

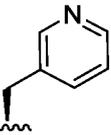
собой  . В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой

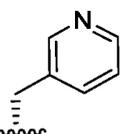
 . В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой  . В

некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой  . В некоторых вариантах

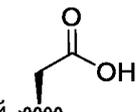
осуществления R¹ представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R¹

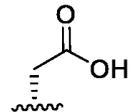
представляет собой  .

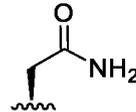
[0344] В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой  . В некоторых

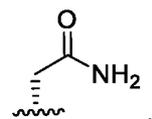
вариантах осуществления R¹ представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления

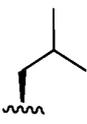
R¹ представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой 

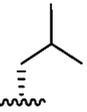
. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах

осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1

представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой



[0345] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых

вариантах осуществления R^1 представляет собой  .

[0346] В некоторых вариантах осуществления R^1 и $R^{1'}$, необязательно взятые вместе с промежуточным атомом углерода, образуют 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^1 and $R^{1'}$, необязательно взятые вместе с промежуточным атомом углерода, образуют 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[0347] В некоторых вариантах осуществления R^1 выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

[0348] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^1 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^1 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^1 , как описано в данном документе.

[0349] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного

моноциклического гетероциклического кольца, имеющего 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, содержащего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, содержащего 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенное 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое ароматическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенное 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероароматическое кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероароматическое кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

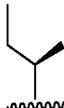
[0350] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой .

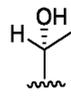
[0351] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой .

представляет собой , при этом сайт присоединения имеет (S) стереохимию. В некоторых

вариантах осуществления R^3 представляет собой , при этом сайт присоединения имеет (R)

стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой , при этом сайт присоединения имеет (*S*) стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой

, при этом сайт присоединения имеет (*R*) стереохимию.

[0352] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой , при этом сайт присоединения имеет (*S*) стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой

, при этом сайт присоединения имеет (*R*) стереохимию.

[0353] В некоторых вариантах осуществления R^3 и $R^{3'}$ необязательно вместе с промежуточным атомом углерода образуют 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^3 и $R^{3'}$ необязательно вместе с промежуточным атомом углерода образуют 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[0354] В некоторых вариантах осуществления R^3 выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

[0355] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^2 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^2 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^2 , как описано в данном документе.

[0356] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, содержащего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, содержащего 1-5 гетероатомов, независимо

выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой необязательно замещенную C₁₋₆ алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой необязательно замещенное 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое ароматическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой необязательно замещенное 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероароматическое кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероароматическое кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[0357] В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой метил. В некоторых

вариантах осуществления R⁵ представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R⁵

представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой . В

некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой . В некоторых вариантах

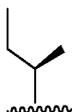
осуществления R⁵ представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет

собой . В некоторых вариантах осуществления R⁵ представляет собой . В некоторых

вариантах осуществления R⁵ представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R⁵

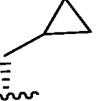
представляет собой , при этом сайт присоединения имеет (S) стереохимию. В некоторых

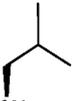
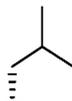
вариантах осуществления R⁵ представляет собой , при этом сайт присоединения имеет (R)

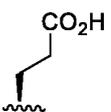
стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой , при этом сайт присоединения имеет (*S*) стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой , при этом сайт присоединения имеет (*R*) стереохимию. В некоторых вариантах осуществления

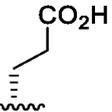
R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В

некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах

осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5

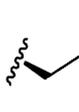
представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой .

[0358] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых

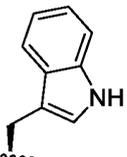
вариантах осуществления R^5 представляет собой .

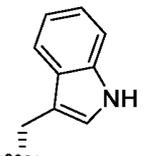
[0359] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В

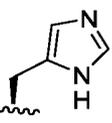
некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых

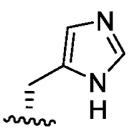
вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах

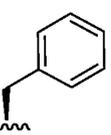
осуществления R^5 представляет собой .

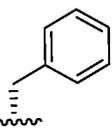
[0360] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В

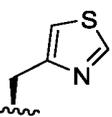
некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах

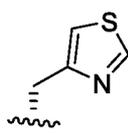
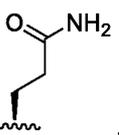
осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5

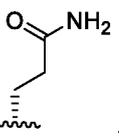
представляет собой  .

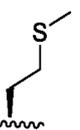
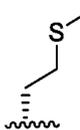
[0361] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых

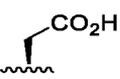
вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5

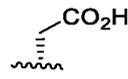
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой

 . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых

вариантах осуществления R^4 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5

представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В

некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах

осуществления R⁵ представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R⁴

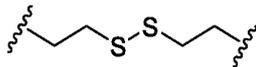
представляет собой  , при этом сайт присоединения имеет (S) стереохимию. В некоторых

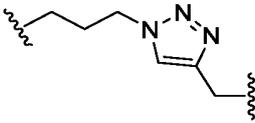
вариантах осуществления R⁴ представляет собой  , при этом сайт присоединения имеет (R) стереохимию.

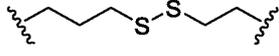
[0362] В некоторых вариантах осуществления R⁵ и группа R^{5'}, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно вместе с промежуточным атомом углерода образуют 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R⁵ и группа R^{5'}, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно вместе с промежуточным атомом углерода образуют 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

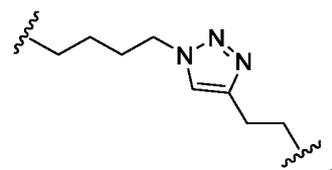
[0363] В некоторых вариантах осуществления две группы R⁵ взяты вместе со своими промежуточными атомами с образованием C₁₋₁₀ двухвалентной прямой или разветвленной насыщенной или ненасыщенной углеводородной цепи, в которой 1-3 метиленовых единицы цепи независимо и необязательно замещены на -S-, -SS-, -N(R)-, -O-, -C(O)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -C(O)N(R)-, -N(R)C(O)-, -S(O)-, -S(O)₂-, или -Cy¹-, где каждый -Cy¹- независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

[0364] В некоторых вариантах осуществления две группы R⁵ вместе с промежуточными

атомами образуют  . В некоторых вариантах осуществления две группы R⁵ вместе

с промежуточными атомами образуют  . В некоторых вариантах осуществления

две группы R⁵ вместе с промежуточными атомами образуют  . В некоторых вариантах осуществления две группы R⁵ вместе с промежуточными атомами образуют



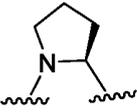
- [0365]** В некоторых вариантах осуществления R^5 выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.
- [0366]** В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^5 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^5 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^5 , как описано в данном документе.
- [0367]** В некоторых вариантах осуществления каждый из $R^{1'}$, $R^{3'}$ и $R^{5'}$ независимо представляет собой водород или C_{1-3} алифатическую группу.
- [0368]** В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой C_{1-3} алифатическую группу.
- [0369]** В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой n -пропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой циклопропил.
- [0370]** В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.
- [0371]** В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой C_{1-3} алифатическую группу.
- [0372]** В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой n -пропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой циклопропил.
- [0373]** В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.
- [0374]** В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой C_{1-3} алифатическую группу.
- [0375]** В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой n -пропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой циклопропил.
- [0376]** В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.
- [0377]** В некоторых вариантах осуществления каждый из R^2 , R^4 и R^6 независимо представляет

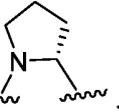
собой водород или C₁₋₄ алифатическую группу, или: R² и R¹ необязательно вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; R⁴ и R³ необязательно вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или группа R⁶ и примыкающая к ней группа R⁵ необязательно вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[0378] В некоторых вариантах осуществления R² представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R² представляет собой C₁₋₄ алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R² представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R² представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R² представляет собой n-пропил. В некоторых вариантах осуществления R² представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R² представляет собой n-бутил. В некоторых вариантах осуществления R² представляет собой изобутил. В некоторых вариантах осуществления R² представляет собой трет-бутил.

[0379] В некоторых вариантах осуществления R² и R¹ вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное, насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[0380] В некоторых вариантах осуществления R² и R¹ вместе со своими промежуточными

атомами образуют . В некоторых вариантах осуществления R² и R¹ вместе со своими

промежуточными атомами образуют .

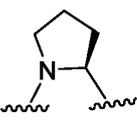
[0381] В некоторых вариантах осуществления R² выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

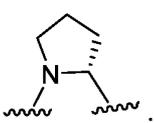
[0382] В некоторых вариантах осуществления R⁴ представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R⁴ представляет собой C₁₋₄ алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R⁴ представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R⁴ представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R⁴ представляет собой n-пропил. В некоторых

вариантах осуществления R^4 представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой *n*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой изобутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой трет-бутил.

[0383] В некоторых вариантах осуществления R^4 и R^3 вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное, насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[0384] В некоторых вариантах осуществления R^4 и R^3 вместе со своими промежуточными

атомами образуют . В некоторых вариантах осуществления R^4 и R^3 вместе со своими

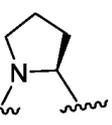
промежуточными атомами образуют .

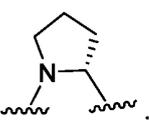
[0385] В некоторых вариантах осуществления R^4 выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

[0386] В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой C_{1-4} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой *n*-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой *n*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой изобутил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой трет-бутил.

[0387] В некоторых вариантах осуществления группа R^6 и примыкающая к ней группа R^5 вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное, насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

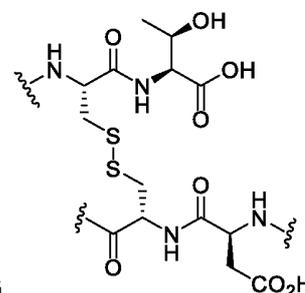
[0388] В некоторых вариантах осуществления группа R^6 и примыкающая к ней группа R^5

вместе со своими промежуточными атомами образуют . В некоторых вариантах осуществления группа R^6 и примыкающая к ней группа R^5 вместе со своими промежуточными

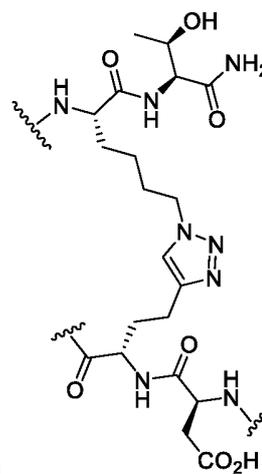
атомами образуют .

[0389] В некоторых вариантах осуществления R^6 выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

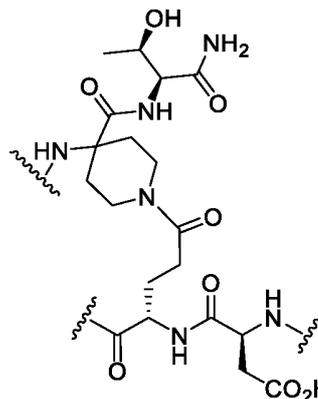
[0390] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $R^{1'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $R^{1'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $R^{1'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $R^{3'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $R^{3'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $R^{3'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^2 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^2 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^2 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^4 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^4 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^4 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^6 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^6 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^6 , как описано в данном документе.



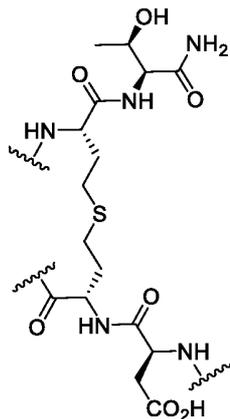
[0391] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой



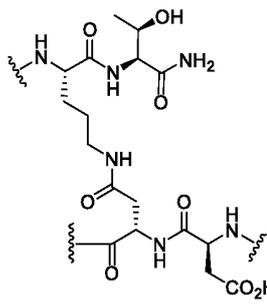
. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой . В некоторых



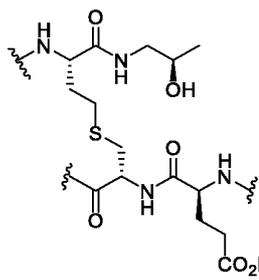
вариантах осуществления L^1 представляет собой . В некоторых вариантах



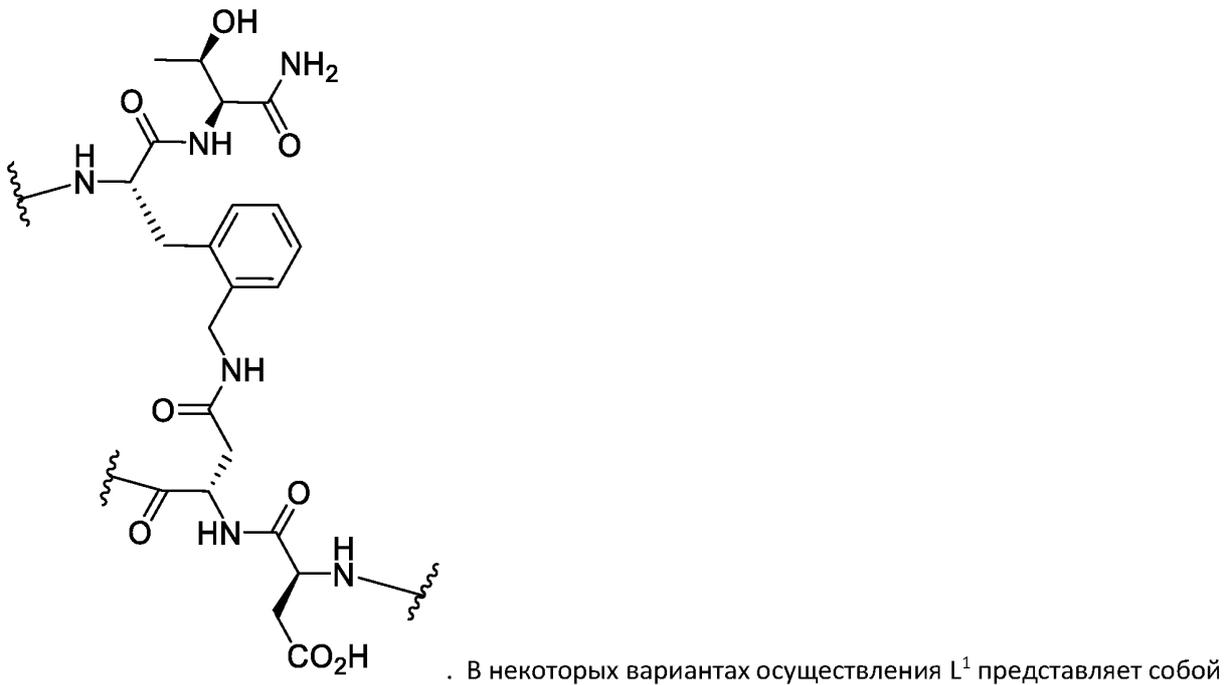
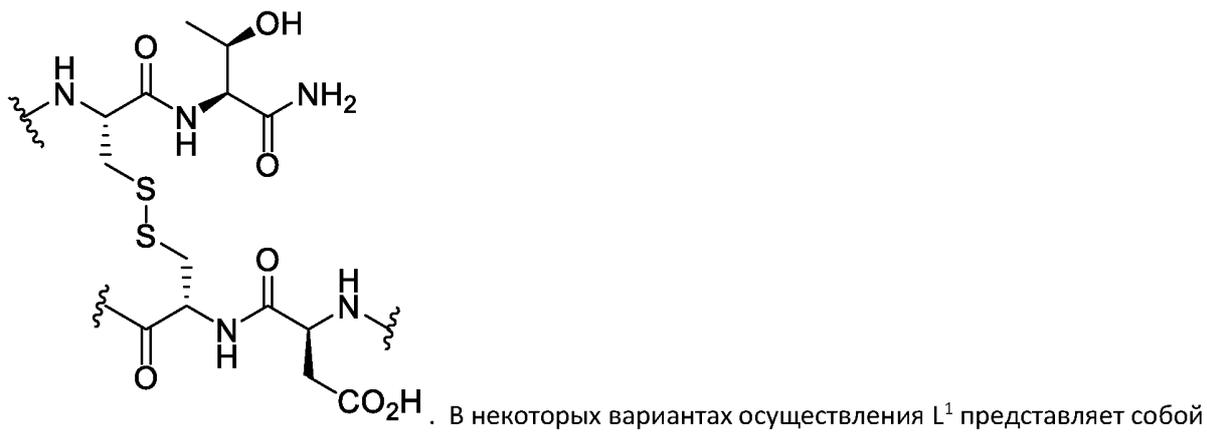
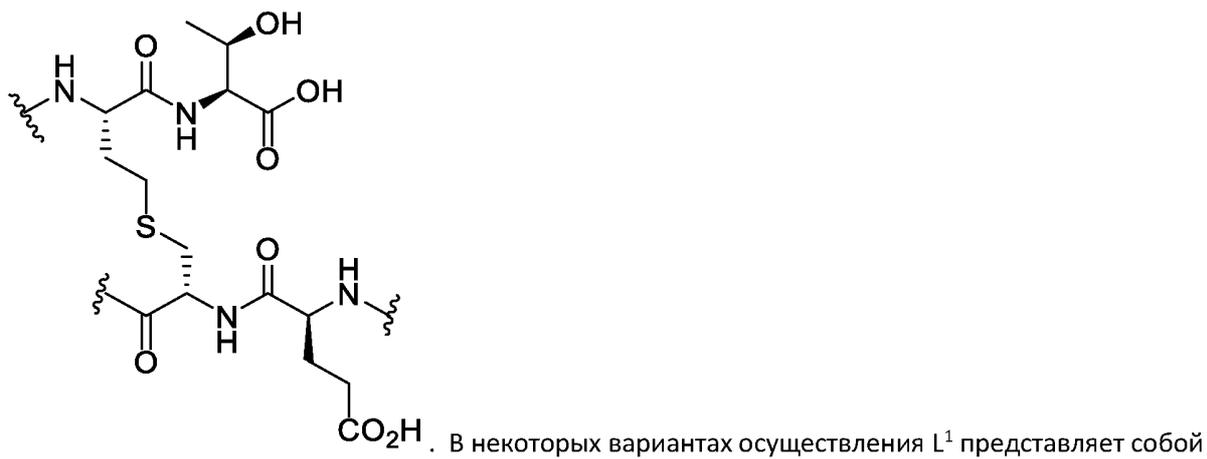
осуществления L^1 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления L^1

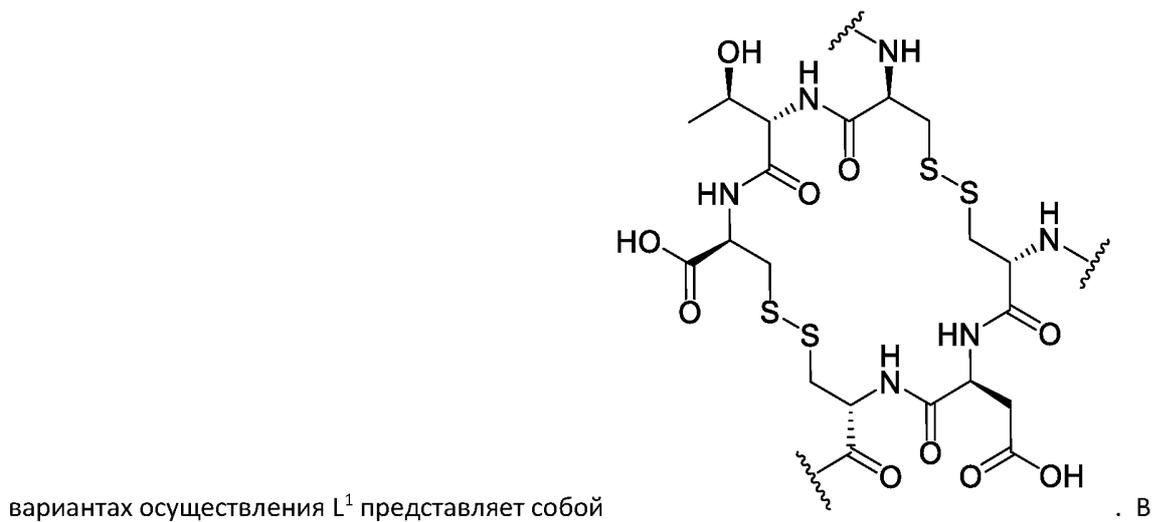
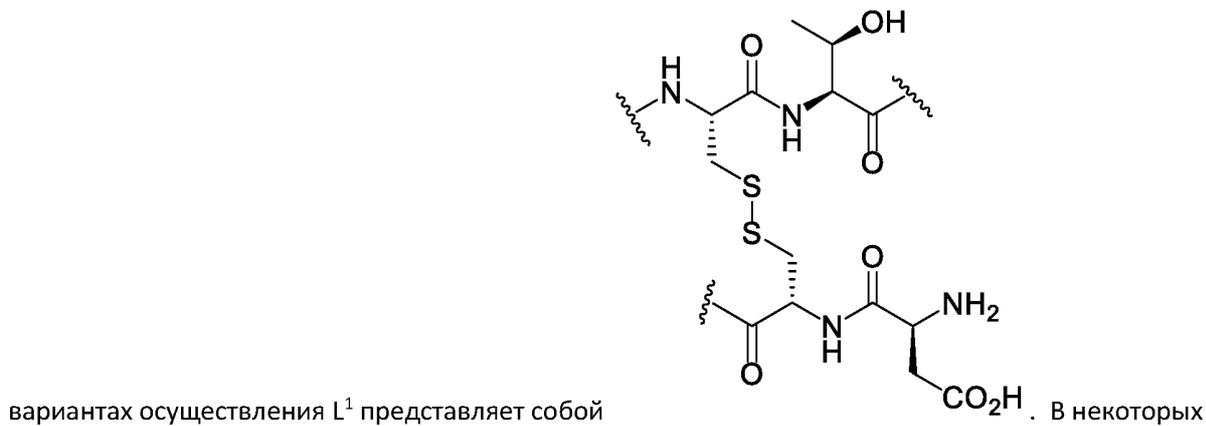
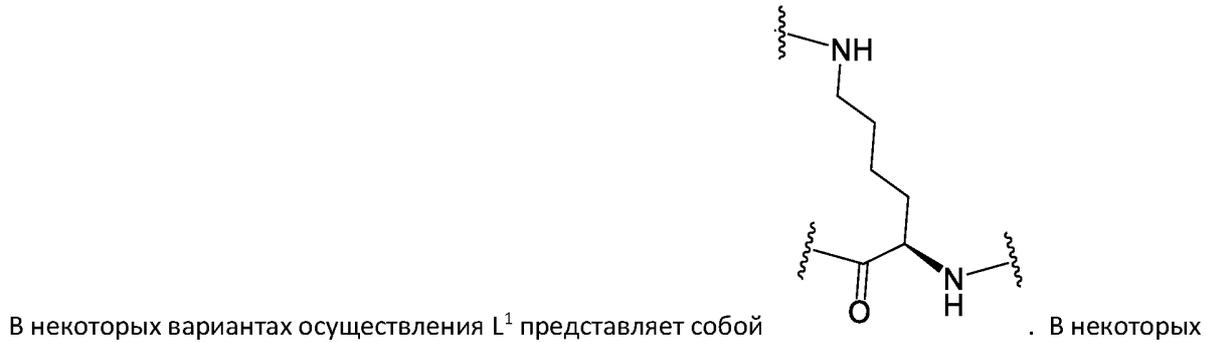
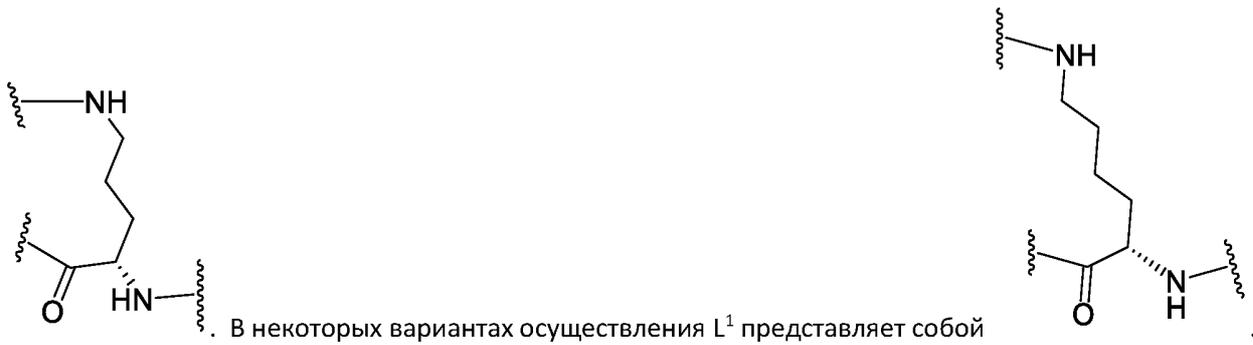


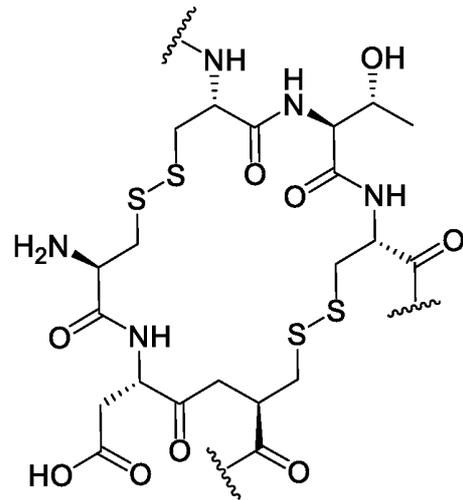
представляет собой . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет



собой . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой



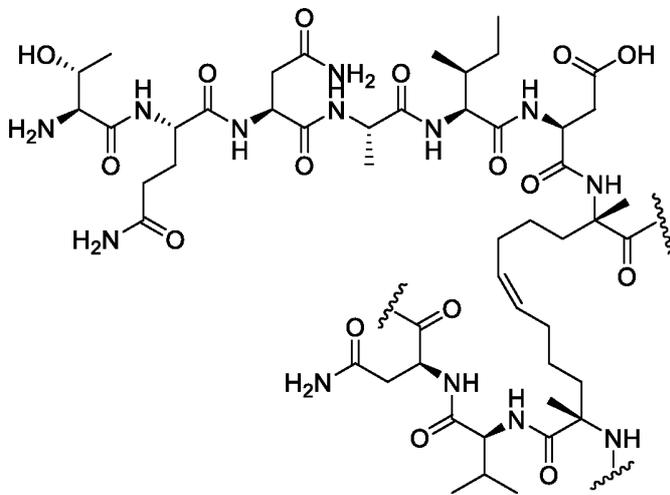




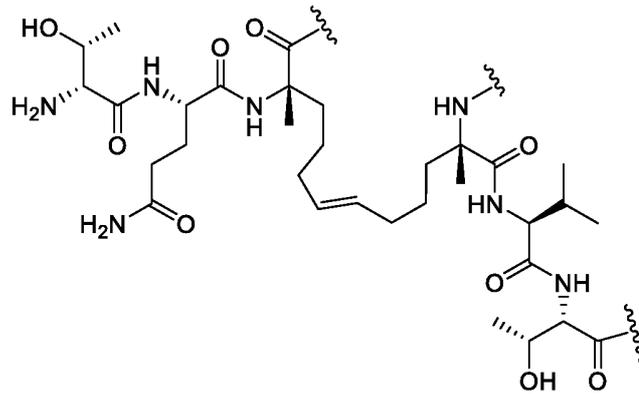
некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой

[0392]

В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой

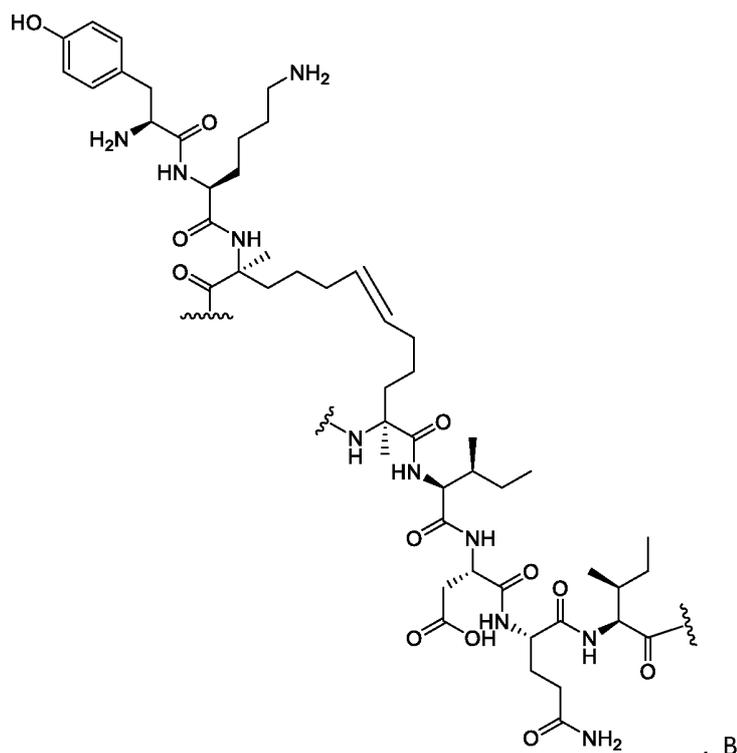


. В некоторых вариантах осуществления L^1

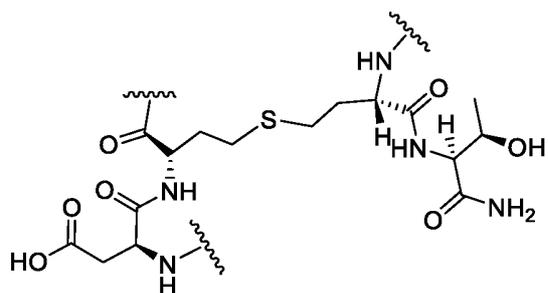


представляет собой

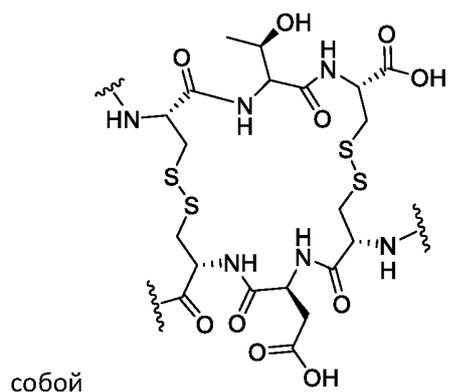
. В некоторых вариантах



осуществления L^1 представляет собой
 некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой

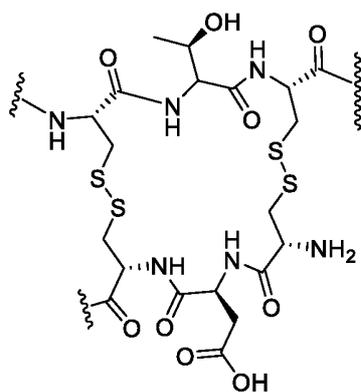


. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет

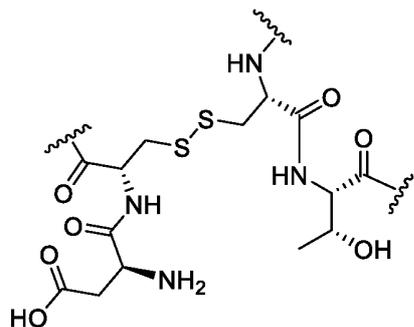


собой

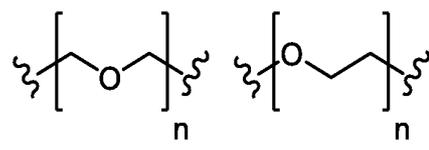
. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой



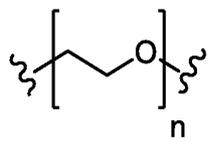
. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой



[0393] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или C_{1-10} двухвалентную прямую или разветвленную насыщенную или ненасыщенную углеводородную цепь, в которой 1-3 метиленовых звена цепи независимо и необязательно замещены на $-S-$, $-N(R)-$, $-O-$, $-$



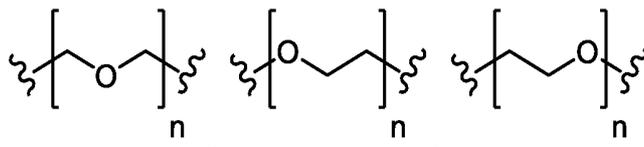
$C(O)-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-C(O)N(R)-$, $-N(R)C(O)-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$,



, или $-Cu^1-$, где каждый $-Cu^1-$ независимо представляет собой 5-6-членный

гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

[0394] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой C_{1-10} двухвалентную прямую или разветвленную насыщенную или ненасыщенную углеводородную цепь, в которой 1-3 метиленовых звена цепи независимо и необязательно замещены на $-S-$, $-N(R)-$, $-O-$, $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-$

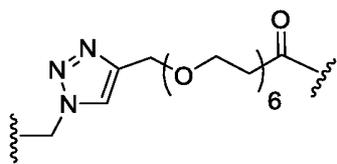


$C(O)N(R)-$, $-N(R)C(O)-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$,

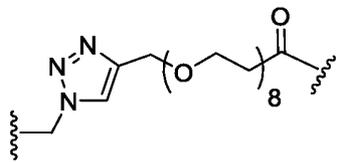
где каждый $-Cu^1-$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4

гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

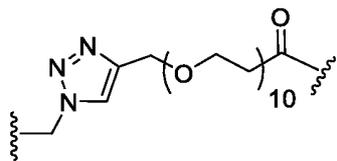
[0395] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой



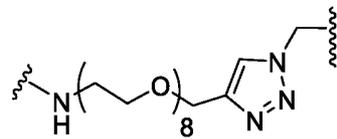
. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой



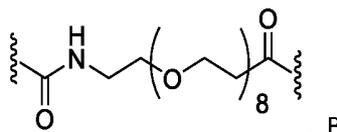
. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой



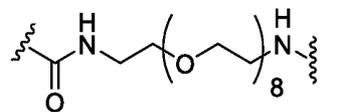
. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой



[0396] В некоторых вариантах осуществления каждый из m и n независимо равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

[0397] В некоторых вариантах осуществления m равно 1. В некоторых вариантах осуществления m равно 2. В некоторых вариантах осуществления m равно 3. В некоторых вариантах осуществления m равно 4. В некоторых вариантах осуществления m равно 5. В некоторых вариантах осуществления m равно 6. В некоторых вариантах осуществления m равно 7. В некоторых вариантах осуществления m равно 8. В некоторых вариантах осуществления m равно 9. В некоторых вариантах осуществления m равно 10.

[0398] В некоторых вариантах осуществления m выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

[0399] В некоторых вариантах осуществления n равно 1. В некоторых вариантах

осуществления n равно 2. В некоторых вариантах осуществления n равно 3. В некоторых вариантах осуществления n равно 4. В некоторых вариантах осуществления n равно 5. В некоторых вариантах осуществления n равно 6. В некоторых вариантах осуществления n равно 7. В некоторых вариантах осуществления n равно 8. В некоторых вариантах осуществления n равно 9. В некоторых вариантах осуществления n равно 10.

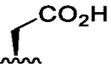
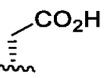
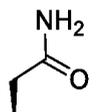
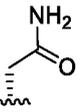
[0400] В некоторых вариантах осуществления n выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

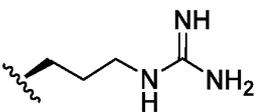
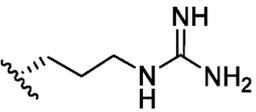
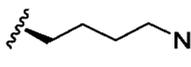
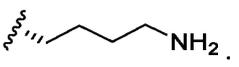
[0401] В некоторых вариантах осуществления каждый из R^7 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, содержащего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, содержащего 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или: группа R^7 и группа R^7 , присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно вместе со своим промежуточным атомом углерода, образуют 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо или 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

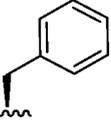
[0402] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, содержащего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, содержащего 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенное 3-8-членное насыщенное или частично

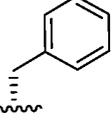
ненасыщенное моноциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое ароматическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенное 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероароматическое кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероароматическое кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

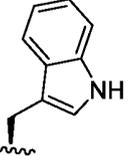
[0403] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой .

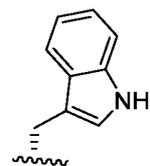
[0404] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой .

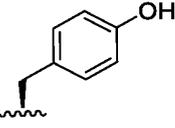
[0405] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой .

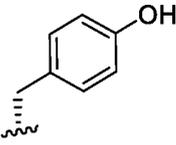
[0406] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых

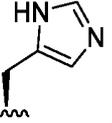
вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7

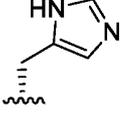
представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В

некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах

осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7

представляет собой .

[0407] В некоторых вариантах осуществления группа R^7 и группа $R^{7'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, вместе с своим промежуточным атомом углерода, образуют 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления группа R^7 и группа $R^{7'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, вместе с промежуточным атомом углерода образуют 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[0408] В некоторых вариантах осуществления R^7 выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

[0409] В некоторых вариантах осуществления каждый из $R^{7'}$ независимо представляет собой водород или C_{1-3} алифатическую группу.

[0410] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой n-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой изопропил.

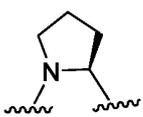
[0411] В некоторых вариантах осуществления R^7 выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

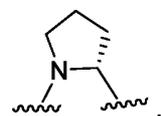
[0412] В некоторых вариантах осуществления каждый из независимо представляет собой водород, или C_{1-4} алифатическую группу, или: группа R^8 и примыкающая к ней группа R^7 необязательно вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное, насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[0413] В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой C_{1-4} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой n-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой n-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой изобутил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой трет-бутил.

[0414] В некоторых вариантах осуществления группа R^8 и примыкающая к ней группа R^7 вместе со своими промежуточными атомами образуют 4-8-членное, насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[0415] В некоторых вариантах осуществления группа и примыкающая к ней группа R^7 вместе

со своими промежуточными атомами образуют . В некоторых вариантах осуществления группа R^8 и примыкающая к ней группа R^7 вместе со своими промежуточными атомами образуют



[0416] В некоторых вариантах осуществления R^8 выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

[0417] В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой водород, алифатическую группу или $-C(O)C_{1-3}$ алифатическую группу.

[0418] В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой C_{1-3} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой $-C(O)C_{1-3}$ алифатическую группу.

[0419] В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой n-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой циклопропил.

[0420] В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой $-C(O)Me$. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой $-C(O)Et$. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой $-C(O)CH_2CH_2CH_3$. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой $-C(O)CH(CH_3)_2$. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой $-C(O)$ циклопропил.

[0421] В некоторых вариантах осуществления R^9 выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

[0422] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^7 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^7 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^7 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $R^{7'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $R^{7'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $R^{7'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^8 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^8 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^8 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $R^{8'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $R^{8'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $R^{8'}$, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^9 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^9 , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^9 , как описано в данном документе.

[0423] В некоторых вариантах осуществления o равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

[0424] В некоторых вариантах осуществления o равно 1. В некоторых вариантах осуществления o равно 2. В некоторых вариантах осуществления o равно 3. В некоторых вариантах осуществления o равно 4. В некоторых вариантах осуществления o равно 5. В некоторых вариантах

осуществления о равно 6. В некоторых вариантах осуществления о равно 7. В некоторых вариантах осуществления о равно 8. В некоторых вариантах осуществления о равно 9. В некоторых вариантах осуществления о равно 10.

[0425] В некоторых вариантах осуществления о выбирают из элементов, представленных в Таблице 1.

[0426] В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой R, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} необязательно замещен C_{1-4} алифатической группой. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} необязательно замещен C_{1-4} алкилом. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой метил.

[0427] В некоторых вариантах осуществления L^{a1} представляет собой L^a , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{a1} представляет собой ковалентную связь.

[0428] В некоторых вариантах осуществления L^{a2} представляет собой L^a , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^{a2} представляет собой ковалентную связь.

[0429] В некоторых вариантах осуществления L^T представляет собой L^a , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^T представляет собой L, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^T представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^T представляет собой $-CH_2-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^T связывает $-S-$ боковой цепи (например, через $-CH_2$) с аминогруппой аминокислотного остатка (например, через $-C(O)-$).

[0430] В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{10} алифатических или C_1-C_{10} гетероалифатических групп, содержащих 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C_y-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_5 алифатических или C_1-C_5 гетероалифатических групп, содержащих 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C(R')_2-$, $-C_y-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-$, $-C_y-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную C_1-C_5 алифатическую группу, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $-C_y-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$,

$-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)2-$, $-S(O)2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную C_1-C_5 алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную C_1-C_5 алифатическую группу, содержащую 1-3 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0431] В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой боковую цепь природной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой боковую цепь природной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления один из R^{a2} и R^{a3} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} и/или R^{a3} представляют собой R, где R представляет собой необязательно замещенную C_{1-8} алифатическую группу или арил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный линейный C_{2-8} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой линейный C_{2-8} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный разветвленный C_{2-8} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой разветвленный C_{2-8} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой n-пентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный $-CH_2-$ фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 4-фенилфенил- CH_2- .

[0432] В некоторых вариантах осуществления каждый $-Su-$ независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную моноциклическую, бициклическую или полициклическую группу, при этом каждое моноциклическое кольцо независимо выбрано из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклического кольца, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления каждый $-Su-$ независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклического кольца, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления $-Su-$ представляет собой необязательно замещенное кольцо, как описано в данном документе, например,

представляет собой или содержит необязательно замещенную двухвалентную, частично насыщенную C_{3-20} циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления $-C_{3-20}H$ представляет собой необязательно замещенную циклоалифатическую группу, как описано в данном документе, например, циклоалифатические варианты осуществления для R.

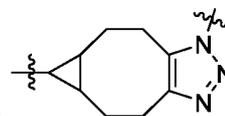
[0435] В некоторых вариантах осуществления $-C_{6-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенное C_{6-20} арильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления $-C_{6-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенный фенилен. В некоторых вариантах осуществления $-C_{6-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенный 1,2-фенилен. В некоторых вариантах осуществления $-C_{6-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенный 1,3-фенилен. В некоторых вариантах осуществления $-C_{6-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенный 1,4-фенилен. В некоторых вариантах осуществления $-C_{6-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное нафталиновое кольцо. В некоторых вариантах осуществления $-C_{6-20}H$ представляет собой необязательно замещенный арил, как описано в данном документе, например, арильные варианты осуществления для R.

[0436] В некоторых вариантах осуществления $-C_{5-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 5-20-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления $-C_{5-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 5-20-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления $-C_{5-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1-4 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы. В некоторых вариантах осуществления $-C_{5-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1-3 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы. В некоторых вариантах осуществления $-C_{5-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1-2 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы. В некоторых вариантах осуществления $-C_{5-20}$ представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероарильное кольцо, содержащее один гетероатом, независимо выбранный из кислорода, азота, серы. В некоторых вариантах осуществления $-C_{5-20}H$ представляет собой необязательно замещенный гетероарил, как описано в данном документе, например, гетероарильные варианты осуществления для R. В некоторых вариантах осуществления $-C_{5-20}$



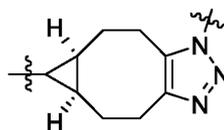
[0437] В некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 3-20-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 3-20-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 3-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-3 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы. В некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-3 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы. В некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-3 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы. В некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой или содержит необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, независимо выбранный из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой или содержит необязательно замещенную насыщенную двухвалентную гетероциклическую группу. В некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой или содержит необязательно замещенную частично ненасыщенную двухвалентную гетероциклическую группу. В некоторых вариантах осуществления –Су–Н представляет собой необязательно замещенный гетероциклический, как описано в данном документе, например, гетероциклические варианты осуществления для R.

[0438] В некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой

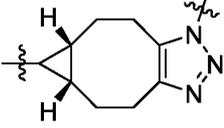


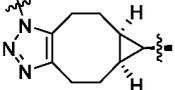
. В

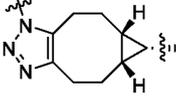
некоторых вариантах осуществления –Су– представляет собой



. В некоторых

вариантах осуществления –Су– представляет собой  . В некоторых вариантах

осуществления –Су– представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления –Су–

представляет собой  .

[0439] В некоторых вариантах осуществления каждый Хаа независимо представляет собой аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления каждый Хаа независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы A-I.

[0440] В некоторых вариантах осуществления t равно 0. В некоторых вариантах осуществления изобретения t равно 1-50. В некоторых вариантах осуществления $Ra3$ представляет собой t равно z , как описано в данном документе.

[0441] В некоторых вариантах осуществления y равно 1. В некоторых вариантах осуществления y равно 2. В некоторых вариантах осуществления y равно 3. В некоторых вариантах осуществления y равно 4. В некоторых вариантах осуществления y равно 5. В некоторых вариантах осуществления y равно 6. В некоторых вариантах осуществления y равно 7. В некоторых вариантах осуществления y равно 8. В некоторых вариантах осуществления y равно 9. В некоторых вариантах осуществления y равно 10. В некоторых вариантах осуществления y равно 11. В некоторых вариантах осуществления y равно 12. В некоторых вариантах осуществления y равно 13. В некоторых вариантах осуществления y равно 14. В некоторых вариантах осуществления y равно 15. В некоторых вариантах осуществления y равно 16. В некоторых вариантах осуществления y равно 17. В некоторых вариантах осуществления y равно 18. В некоторых вариантах осуществления y равно 19. В некоторых вариантах осуществления y равно 20. В некоторых вариантах осуществления y равно больше 20.

[0442] В некоторых вариантах осуществления z равно 1. В некоторых вариантах осуществления z равно 2. В некоторых вариантах осуществления z равно 3. В некоторых вариантах осуществления z равно 4. В некоторых вариантах осуществления z равно 5. В некоторых вариантах осуществления z равно 6. В некоторых вариантах осуществления z равно 7. В некоторых вариантах осуществления z равно 8. В некоторых вариантах осуществления z равно 9. В некоторых вариантах осуществления z равно 10. В некоторых вариантах осуществления z равно 11. В некоторых вариантах осуществления z равно 12. В некоторых вариантах осуществления z равно 13. В некоторых вариантах осуществления z равно 14. В некоторых вариантах осуществления z равно 15. В некоторых вариантах

осуществления z равно 16. В некоторых вариантах осуществления z равно 17. В некоторых вариантах осуществления z равно 18. В некоторых вариантах осуществления z равно 19. В некоторых вариантах осуществления z равно 20. В некоторых вариантах осуществления z равно больше 20.

[0443] В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой R' , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой R , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой $-N(R')$, где каждый R' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой $-NH_2$. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой $R-C(O)-$, где R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой $-H$.

[0444] В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой L^a , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L^b содержит $-Su-$. В некоторых вариантах осуществления L^b содержит двойную связь. В некоторых вариантах осуществления L^b содержит $-S-$. В некоторых вариантах осуществления L^b содержит $-S-S-$. В некоторых вариантах осуществления L^b содержит $-C(O)-N(R')-$.

[0445] В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-R$, $-C(O)R$, $-C(O)OR$, или $-S(O)_2R$, где R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , где R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-C(O)R$, где R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-C(O)OR$, где R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-C(O)OR$, где R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R' не представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , при этом R представляет собой необязательно замещенную C_{1-20} алифатическую группу, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , при этом R представляет собой необязательно замещенную C_{1-20} агетероалифатическую группу, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , при этом R представляет собой необязательно замещенный C_{6-20} арил, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , где R представляет собой необязательно замещенную C_{6-20} ариллалифатическую группу, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , где R представляет собой необязательно замещенную C_{6-20} арилгетероалифатическую группу, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , где R представляет собой необязательно замещенный 3-20-членный гетероарил, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , где R представляет собой необязательно замещенный 3-20-членный гетероциклил, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления два или большее количество из R' представляют собой R и, необязательно и независимо вместе взятые, образуют необязательно замещенное кольцо, как описано в данном документе.

[0446] В некоторых вариантах осуществления каждый R независимо представляет собой $-H$ или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилатифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо вместе взятые образуют ковалентную связь, или:

две или большее количество групп R у одного и того же атома, необязательно и независимо вместе взятые с атомом, образуют необязательно замещенное, 3-30-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо атома, 0-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

две или большее количество R групп на двух или большем количестве атомов, необязательно и независимо взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют необязательно замещенное, 3-30-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[0447] В некоторых вариантах осуществления каждый R независимо представляет собой $-H$ или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилатифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарила, содержащего 1-10

гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R, необязательно и независимо вместе взятые, образуют ковалентную связь, или:

две или большее количество групп R у одного и того же атома, необязательно и независимо взятые вместе с атомом, образуют необязательно замещенное, 3-30-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо атома, 0-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

две или большее количество R групп на двух или большем количестве атомов, необязательно и независимо взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют необязательно замещенное, 3-30-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[0448] В некоторых вариантах осуществления каждый R независимо представляет собой –H или необязательно замещенную группу, выбранную из C₁₋₂₀ алифатической группы, C₁₋₂₀ гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C₆₋₂₀ арила, C₆₋₂₀ арилатифатической группы, C₆₋₂₀ арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-20-членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R, необязательно и независимо вместе взятые, образуют ковалентную связь, или:

две или большее количество групп R у одного и того же атома, необязательно и независимо взятые вместе с атомом, образуют необязательно замещенное, 3-20-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо атома, 0-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

две или большее количество R групп на двух или большем количестве атомов, необязательно и независимо взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют необязательно замещенное, 3-20-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[0449] В некоторых вариантах осуществления каждый R независимо представляет собой –H или необязательно замещенную группу, выбранную из C₁₋₃₀ алифатической группы, C₁₋₃₀ гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C₁₋₃₀ арила, C₁₋₃₀ ариналифатической группы, C₁₋₃₀ арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[0450] В некоторых вариантах осуществления каждый R независимо представляет собой –H или необязательно замещенную группу, выбранную из C₁₋₂₀ алифатической группы, C₁₋₂₀ гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C₆₋₂₀ арила, C₆₋₂₀ ариналифатической группы, C₆₋₂₀ арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-20-членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклила, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[0451] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R не представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C₁₋₃₀ алифатической группы, C₁₋₃₀ гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C₆₋₃₀ арила, 5-30-членного гетероарильного кольца, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклического кольца, содержащего 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[0452] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C₁₋₂₀ алифатической группы, фенила, 3-7-членного насыщенного или частично ненасыщенного карбоциклического кольца, 8-10-членного бициклического насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, 5- 6-членного моноциклического гетероарильного кольца, содержащего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, 4-7-членного насыщенного или частично ненасыщенного гетероциклического кольца, содержащего 1-3 гетероатома, независимо выбранных из азота,

кислорода и серы, 7-10-членного бициклического насыщенного или частично ненасыщенного гетероциклического кольца, содержащего 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, или 8-10-членного бициклического гетероарильного кольца, содержащего 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0453] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₃₀ алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₂₀ алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₁₅ алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₁₀ алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₆ алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆ алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гексил, пентил, бутил, пропил, этил или метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гексил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой гексил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой пентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой *n*-пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой *трет*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой *сек*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой *n*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-(CH_2)_2CN$.

[0454] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₃₋₃₀ циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₃₋₂₀ циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₃₋₁₀ циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклогексил.

моноциклическую структуру. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой или содержит бициклическую структуру. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой или содержит полициклическую структуру.

[0457] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₃₀ гетероалифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₂₀ гетероалифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₂₀ гетероалифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора или кремния, необязательно включая одну или большее количество окисленных форм азота, серы, фосфора или селена. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₃₀ гетероалифатическую группу,

содержащую 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из $\text{—}\overset{\text{|}}{\text{N}}\text{—}$, —N= , $\equiv\text{N}$, —S— , —S(O)— , $\text{—S(O)}_2\text{—}$, —O— , =O , $\text{—}\overset{\text{|}}{\text{P}}\text{—}$, $\text{—}\overset{\text{|}}{\text{P}}\text{—}$ и $\text{—}\overset{\text{|}}{\text{Si}}\text{—}$.

[0458] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₆₋₃₀ арил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой замещенный фенил.

[0459] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое насыщенное кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое частично ненасыщенное кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое арильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный нафтил.

[0460] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-30-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-30-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-30-членное гетероарильное

кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-30-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы.

[0461] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой незамещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой незамещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, содержащее 1-3 гетероатома, независимо выбранных из азота, серы и кислорода. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой незамещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, содержащее 1-3 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой незамещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, содержащее 1-3 гетероатома, независимо выбранных из азота, серы и кислорода.

[0462] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0463] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пирролил, фуранил или тиенил.

[0464] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероарильное кольцо, содержащее два гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероарильное кольцо, содержащее один атом азота и дополнительный гетероатом, выбранный из серы или кислорода. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероарильное кольцо,

содержащее три гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероарильное кольцо, содержащее четыре гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0465] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1–4 атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1–3 атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1–2 атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, содержащее четыре атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, содержащее три атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, содержащее два атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, содержащее один атом азота.

[0466] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероарильное кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5,6-конденсированное гетероарильное кольцо, содержащее 1–4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6,6-конденсированное гетероарильное кольцо, содержащее 1–4 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0467] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-30-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-30-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-30-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-30-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы.

замещенное 3-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 4-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 7-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0470] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное частично ненасыщенное моноциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную тетрагидропиридиновую, дигидротиазолильную, дигидрооксазолильную или оксазолильную группу.

[0471] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 7-10-членное бициклическое насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный индолин. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный изоиндолин. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 1, 2, 3, 4-тетрагидрохинолин. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 1, 2, 3, 4-тетрагидроизохинолин. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный азабицикло[3.2.1]октан.

[0472] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероарильное кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5,6-конденсированное гетероарильное кольцо, содержащее 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[0473] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₆₋₃₀ арилалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₆₋₂₀ арилалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₆₋₁₀ арилалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления арильный фрагмент арилалифатической группы содержит 6, 10 или 14 арильных атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления арильный фрагмент арилалифатической группы содержит 6 арильных атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления арильный фрагмент арилалифатической группы содержит 10 арильных атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления арильный фрагмент арилалифатической группы содержит 14 арильных атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления арильный фрагмент представляет собой необязательно замещенный фенил.

[0474] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₆₋₃₀ арилгетероалифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₆₋₃₀ арилгетероалифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₆₋₂₀ арилгетероалифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₆₋₂₀ арилгетероалифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₆₋₁₀ арилгетероалифатическую группу, содержащую 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₆₋₁₀ арилгетероалифатическую группу, содержащую 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы.

[0475] В некоторых вариантах осуществления две группы R, необязательно и независимо взятые вместе, образуют ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления образуется –C=O. В некоторых вариантах осуществления образуется –C=C–. В некоторых вариантах осуществления образуется —C≡C—.

[0476] В некоторых вариантах осуществления две или большее количество групп R у одного и того же атома, необязательно и независимо взятые вместе с атомом, образуют необязательно замещенное, 3-30-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо атома, 0-5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы,

промежуточными атомами, образуют необязательно замещенное, 3-10-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или большее количество R групп на двух или большем количестве атомов необязательно и независимо взятые вместе с их промежуточными атомами образуют необязательно замещенное, 3-6-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-3 гетероатома, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или большее количество R групп на двух или большем количестве атомов необязательно и независимо взятые вместе с их промежуточными атомами образуют необязательно замещенное, 3-5-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-3 гетероатома, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[0478] В некоторых вариантах осуществления гетероатомы в группах R или в структурах, образованных двумя или большим количеством R групп, взятых вместе, выбирают из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20-членным. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является насыщенным. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является частично насыщенным. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является ароматическим. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо содержит насыщенный, частично насыщенный или ароматический кольцевой фрагмент. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо содержит 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 атомов ароматического кольца. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо содержит не более 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 атомов ароматического кольца. В некоторых вариантах осуществления атомы ароматического кольца выбирают из углерода, азота, кислорода и серы.

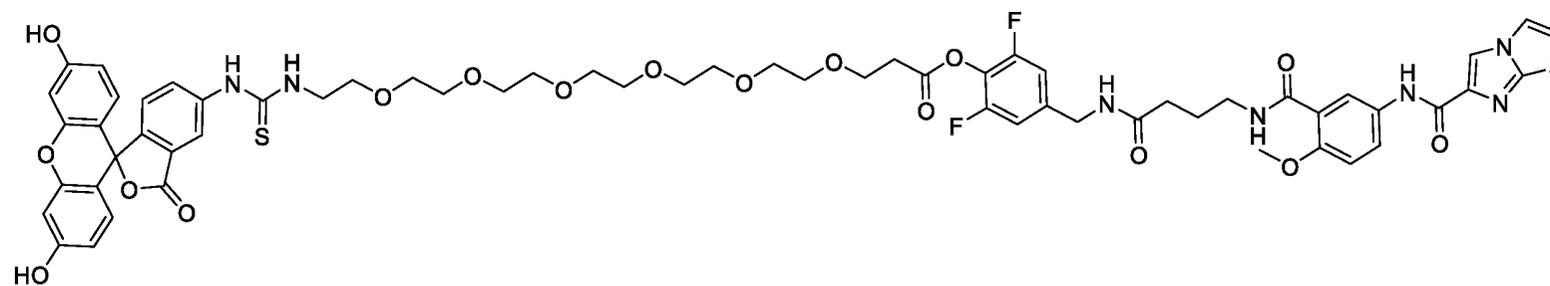
[0479] В некоторых вариантах осуществления кольцо, образованное двумя или большим количеством групп R (или двумя или большим количеством групп, выбранных из R и переменных, которые могут представлять собой R), взятыми вместе, представляет собой C₃₋₃₀ циклоалифатическую группу, C₆₋₃₀ арил, 5-30-членный гетероарил, содержащий 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или 3-30-членный гетероциклил, содержащий 1-10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, кольцо, как описано для R, но двухвалентное или многовалентное.

[0480]

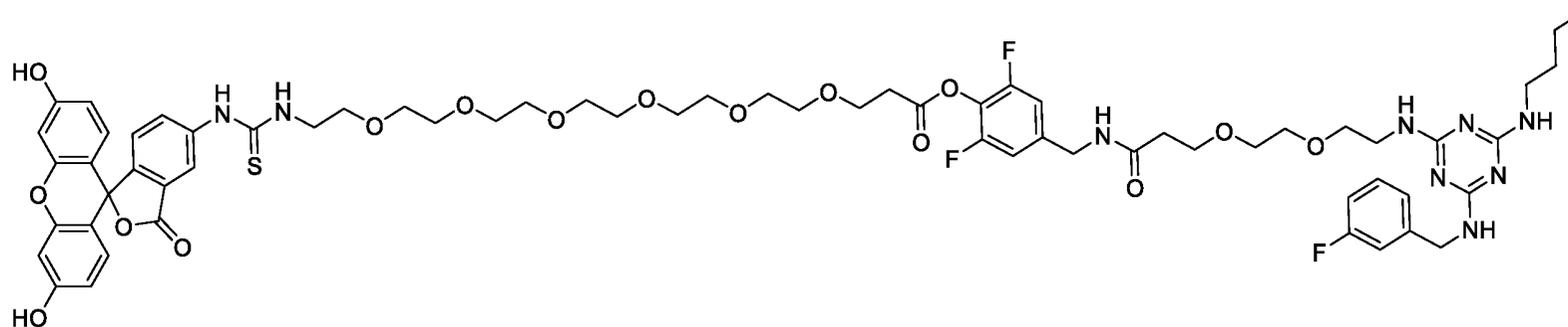
Примеры соединений представлены в **Таблице 1.**

Таблица 1. Определенные соединения/агенты в качестве примеров.

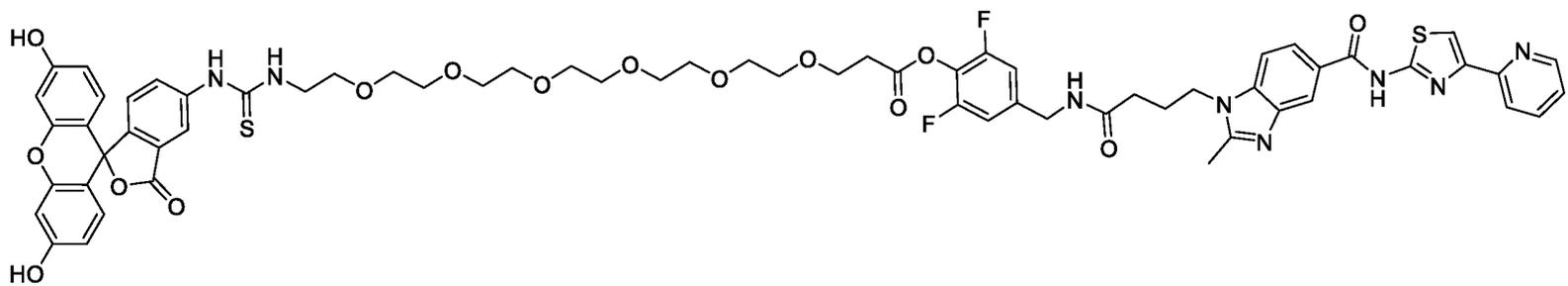
Таблица 1а



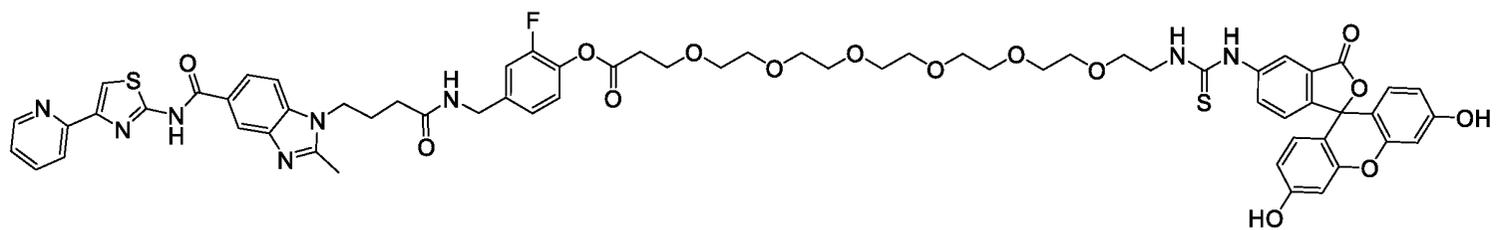
I-1



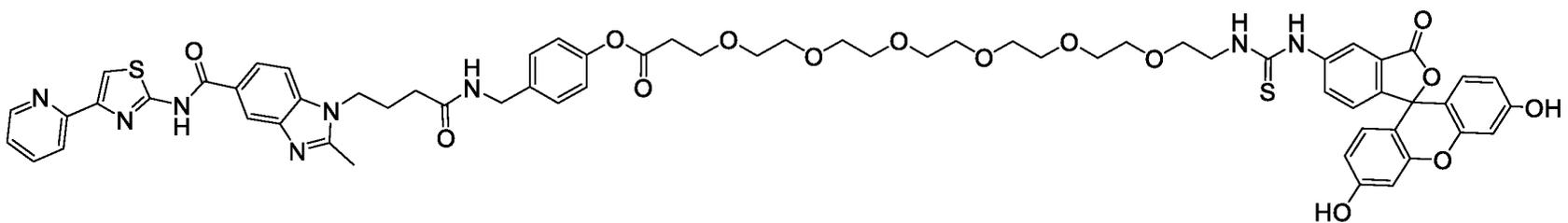
I-2



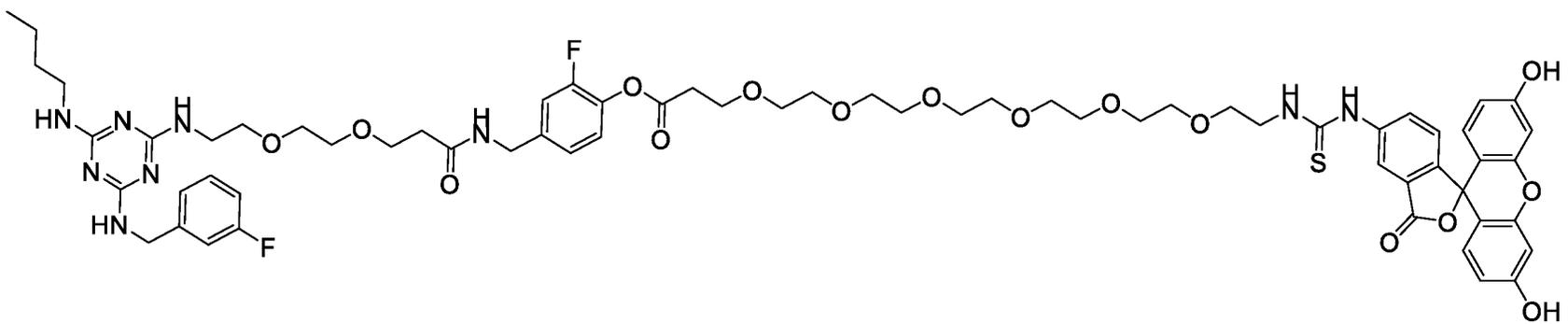
I-3



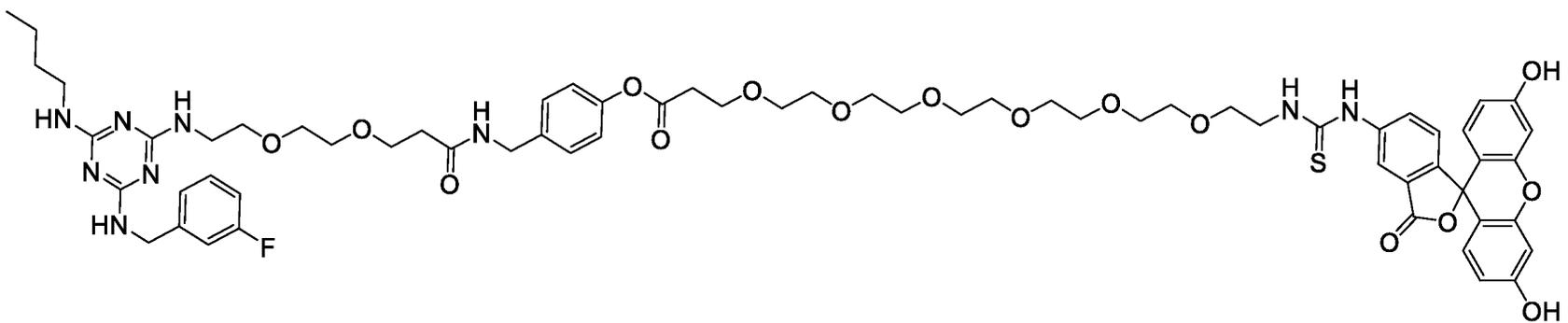
I-12



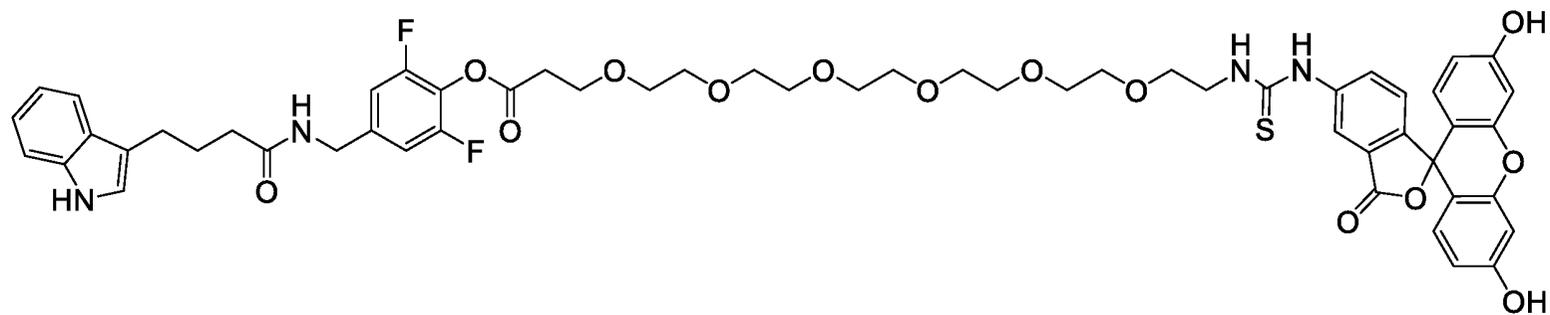
I-13



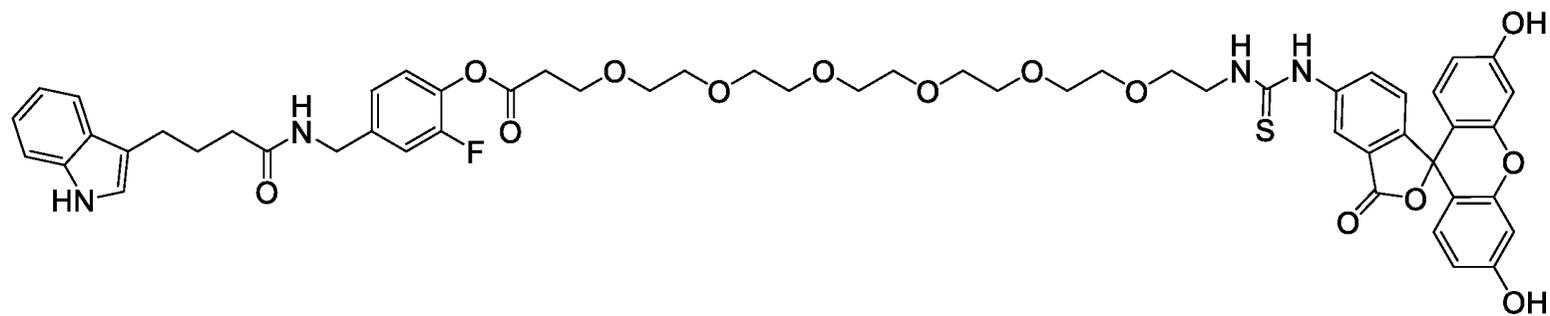
I-14



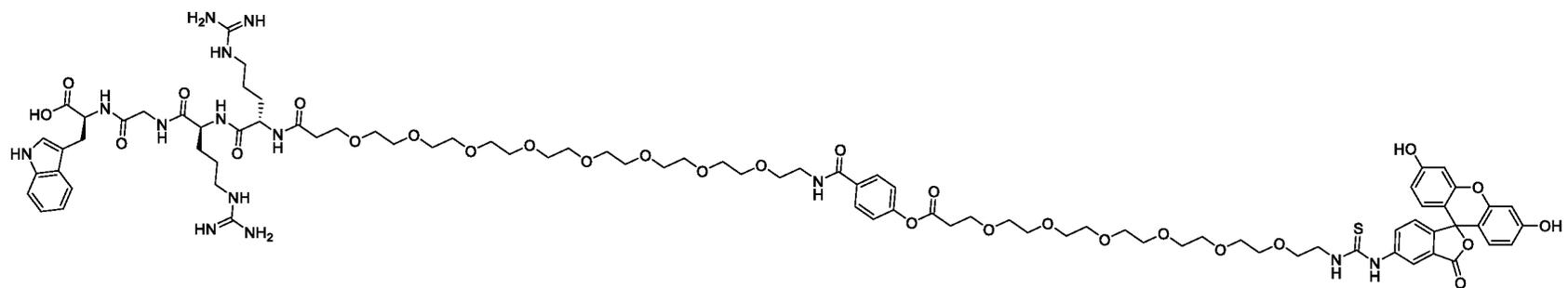
I-15



I-16

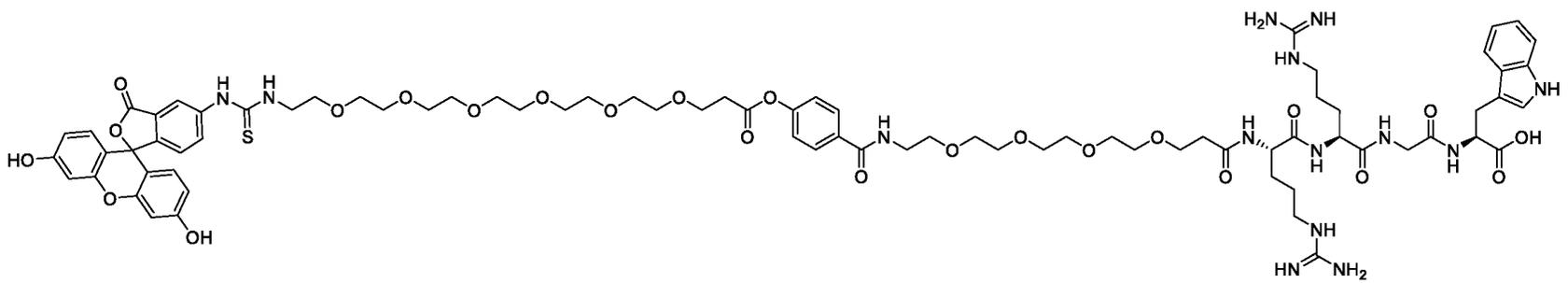


I-17

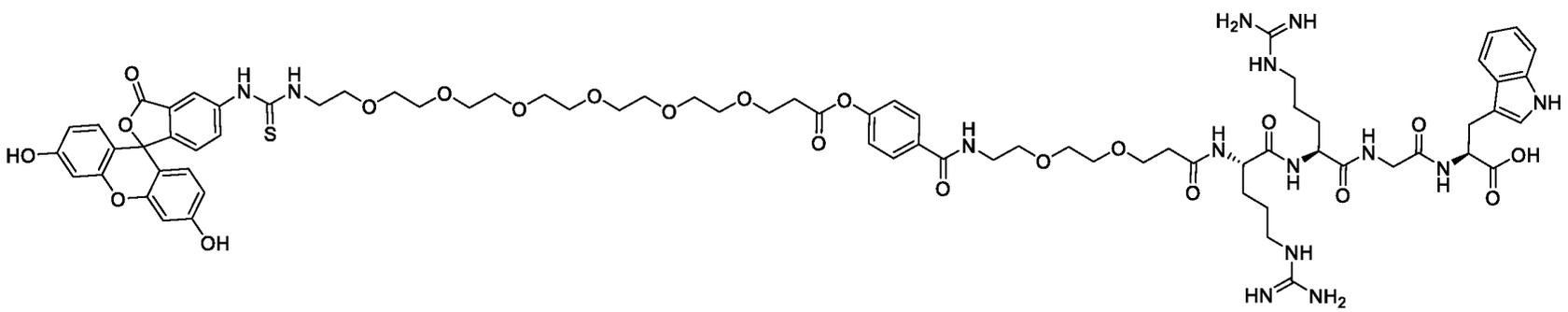


228

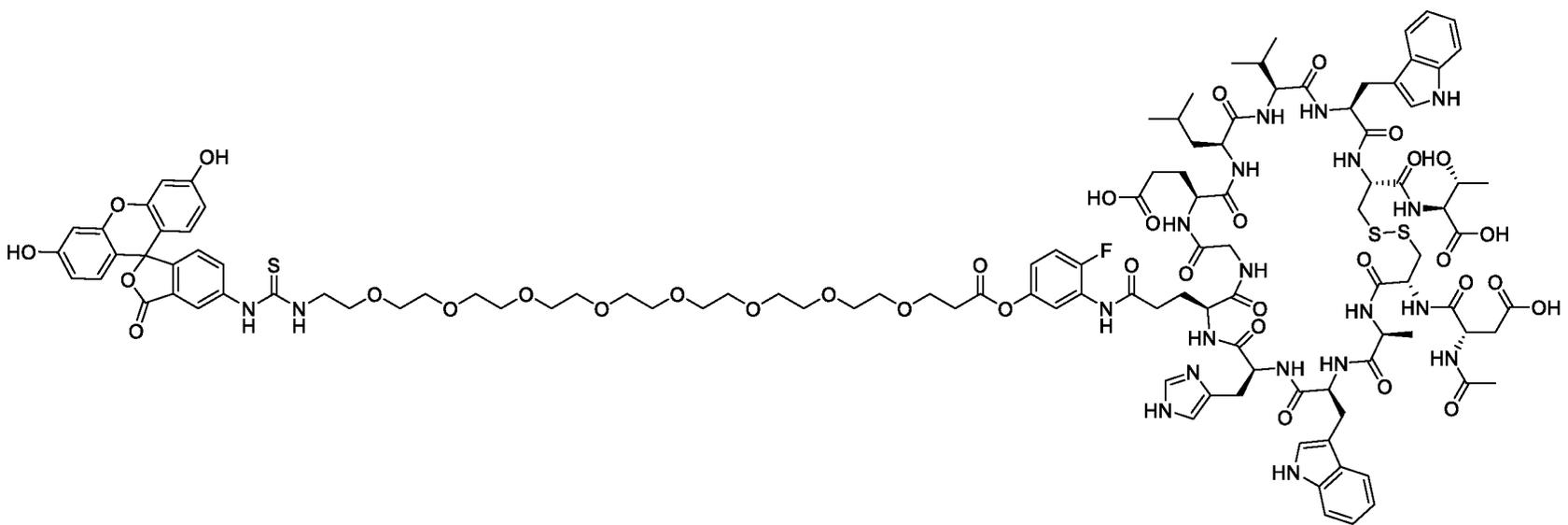
I-21



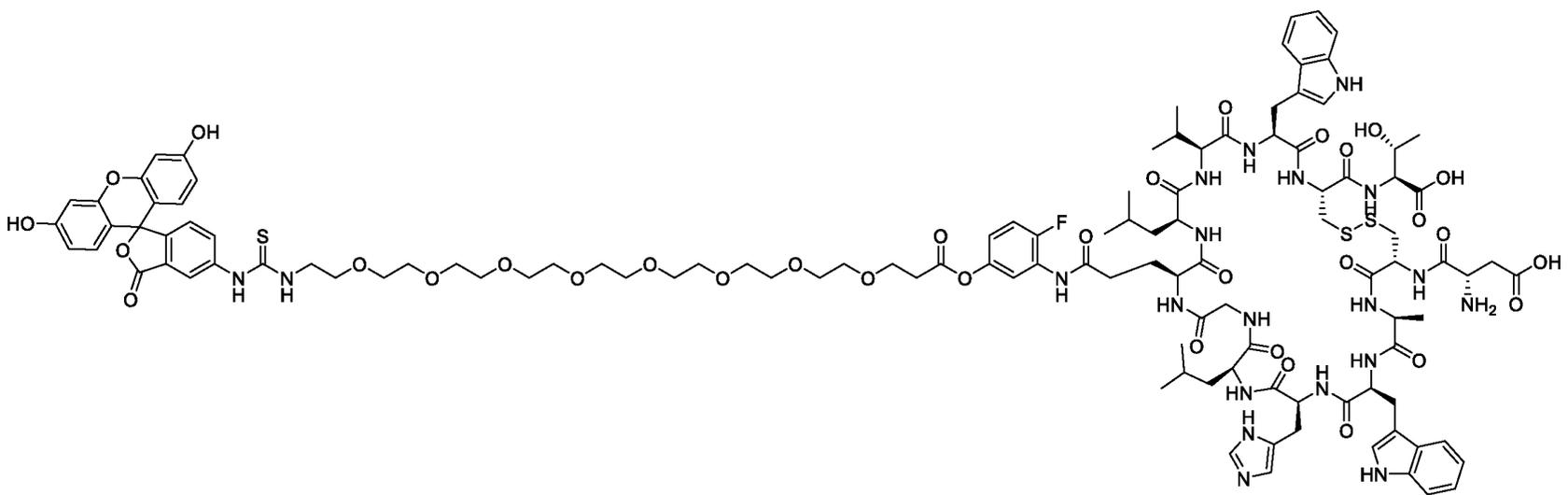
I-22



I-23

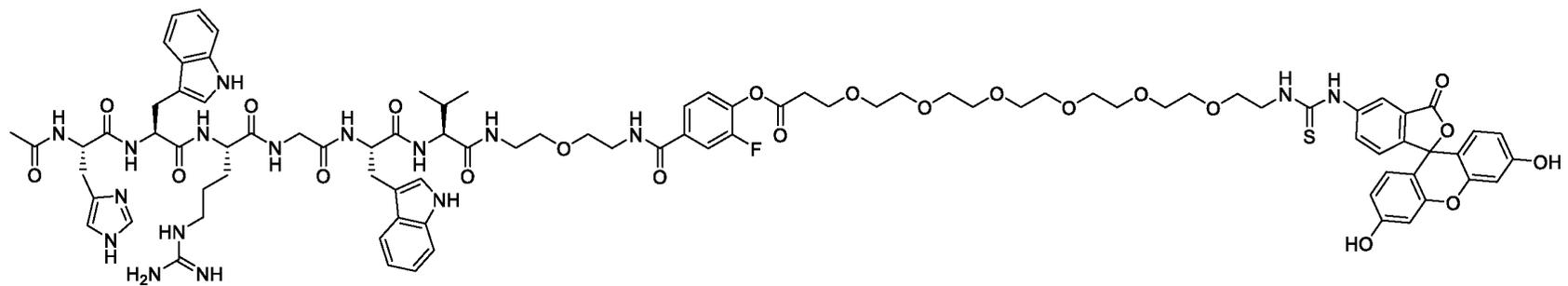


I-24

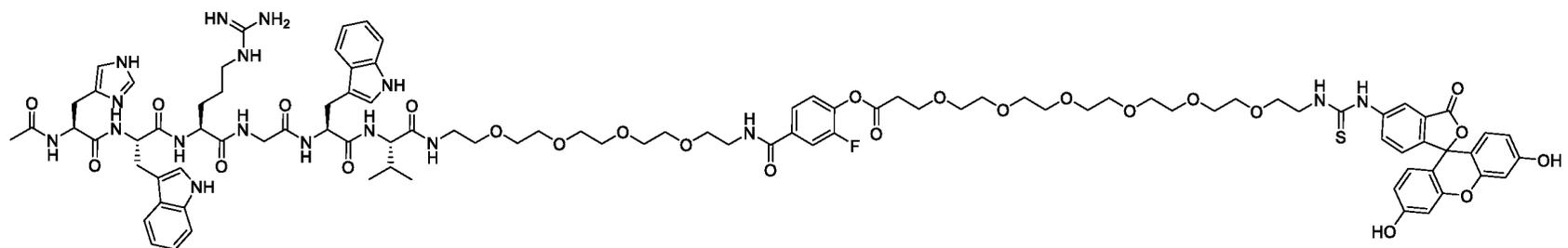


230

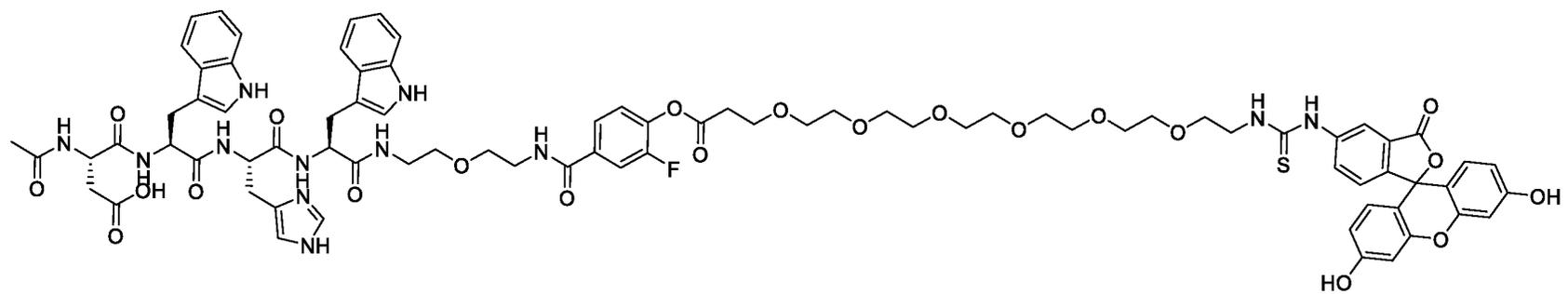
I-25



I-28

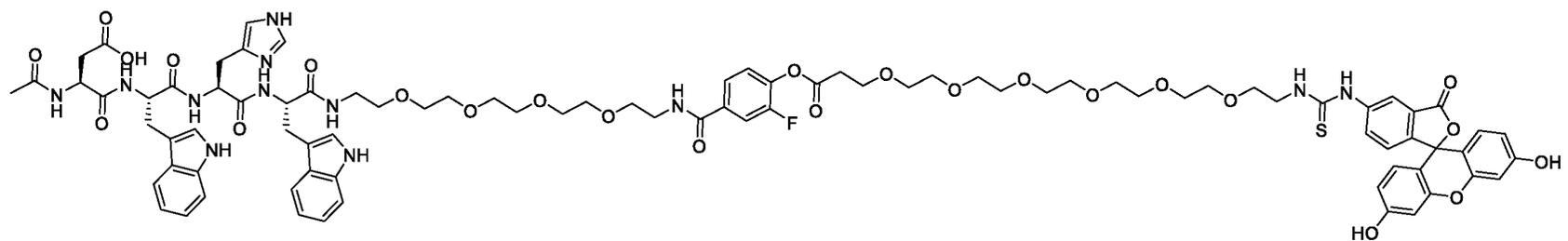


I-29

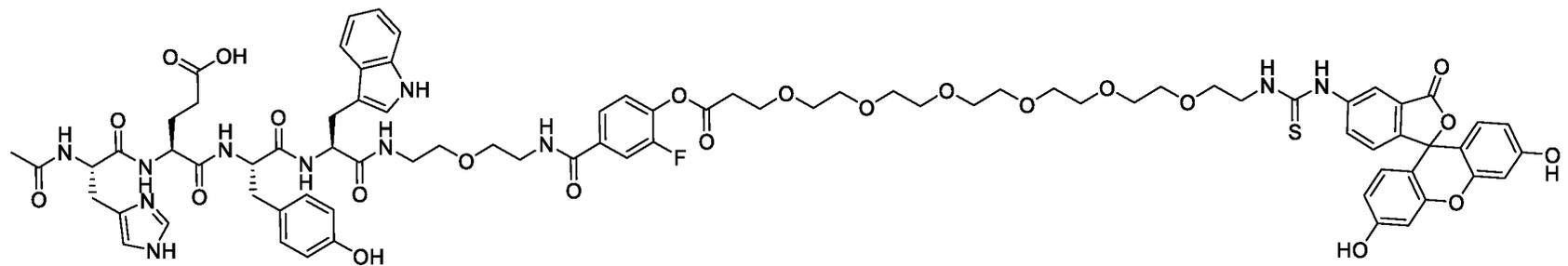


231

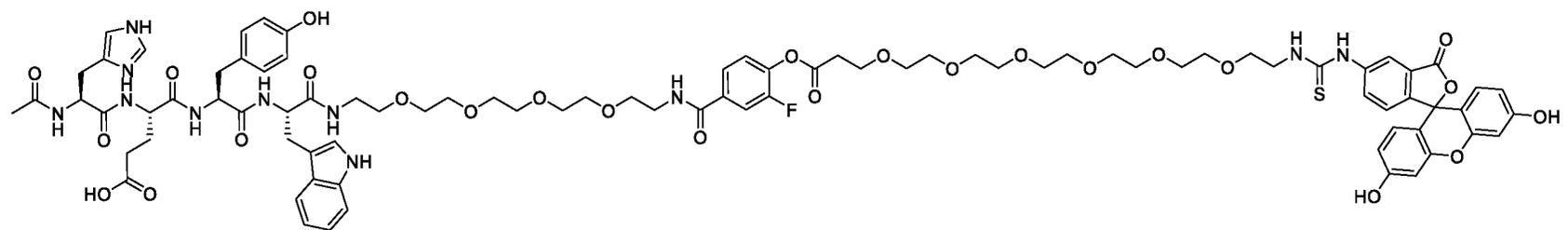
I-30



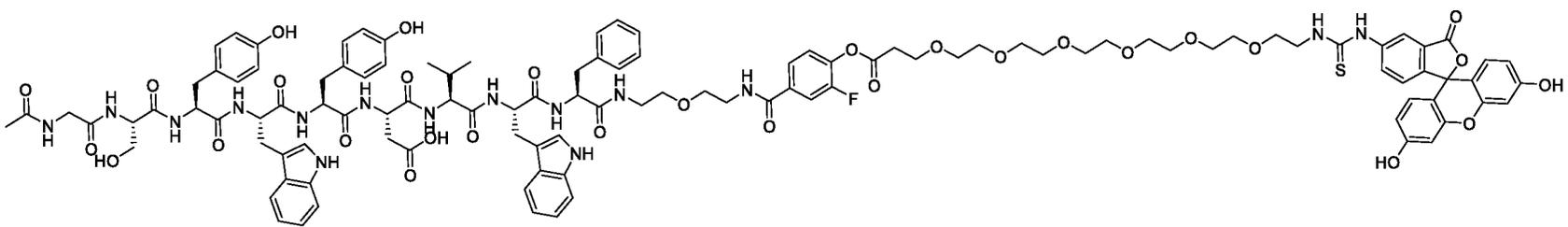
I-31



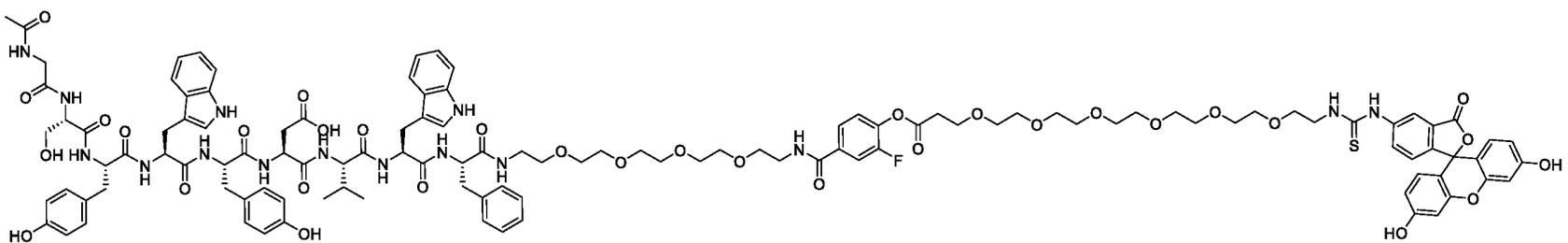
I-32



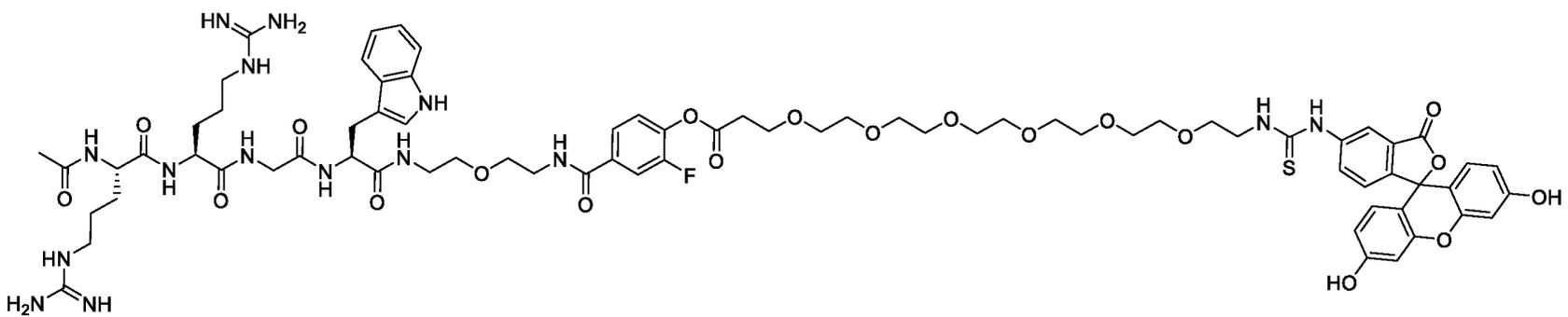
I-33



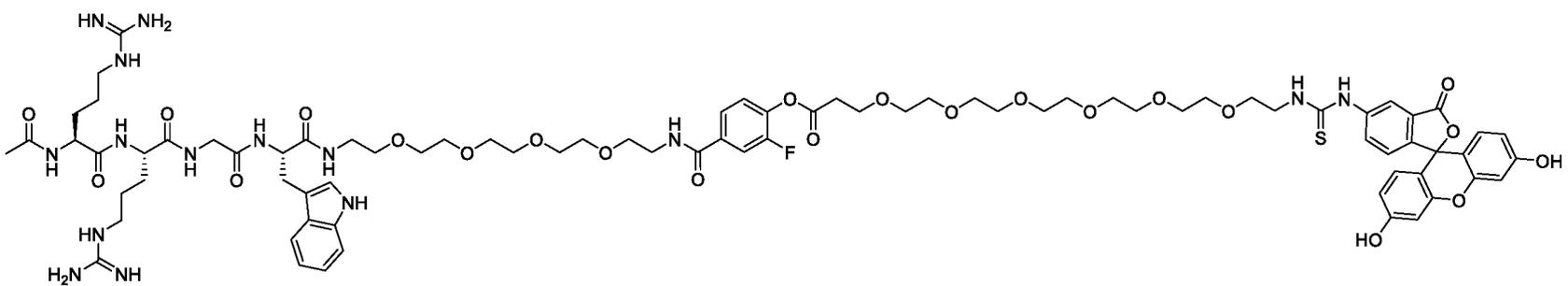
I-34



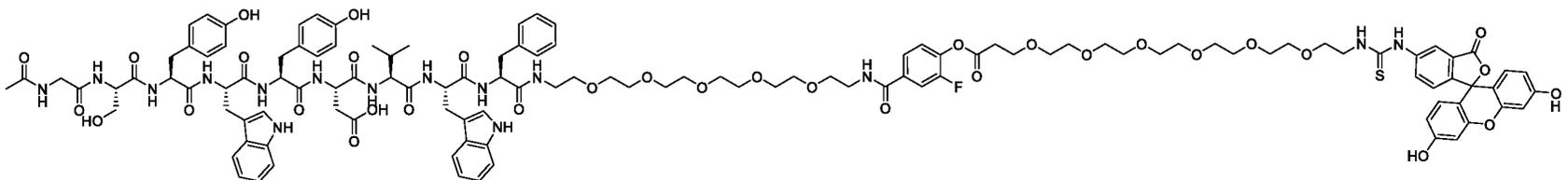
I-35



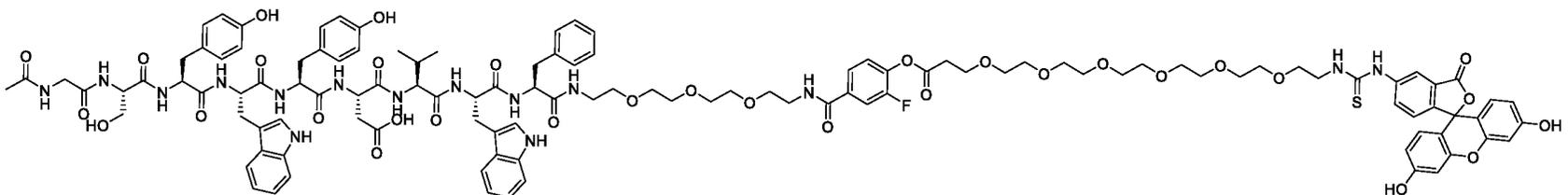
I-36



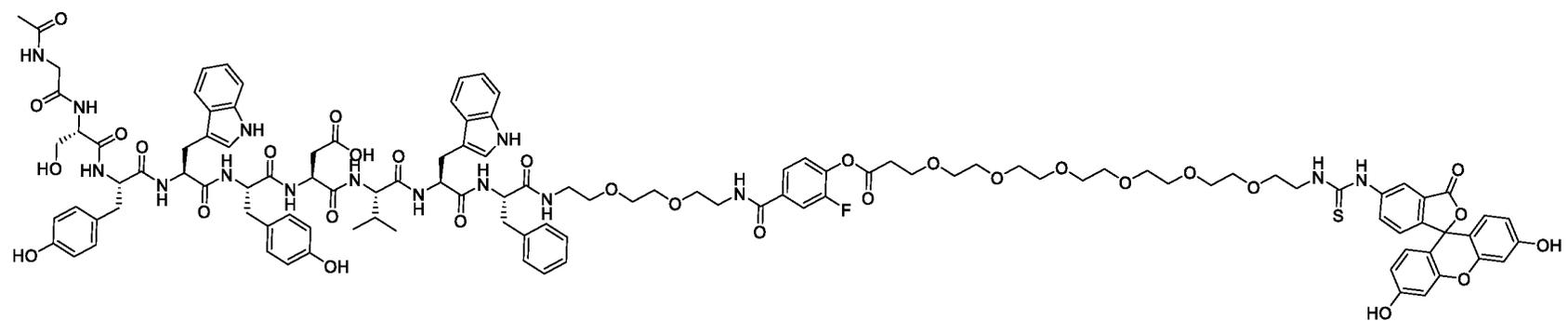
I-37



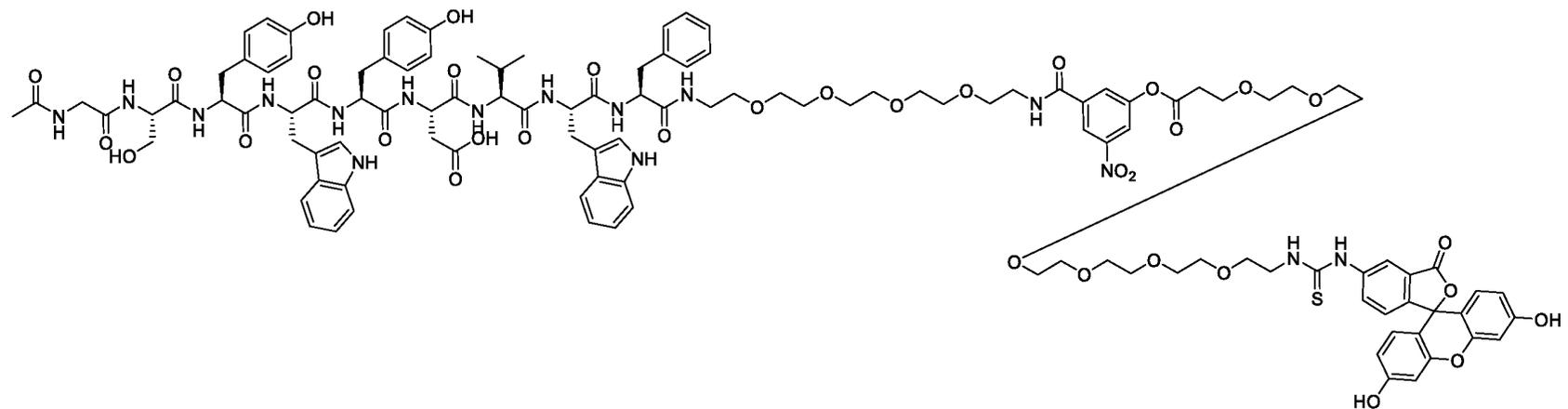
I-38



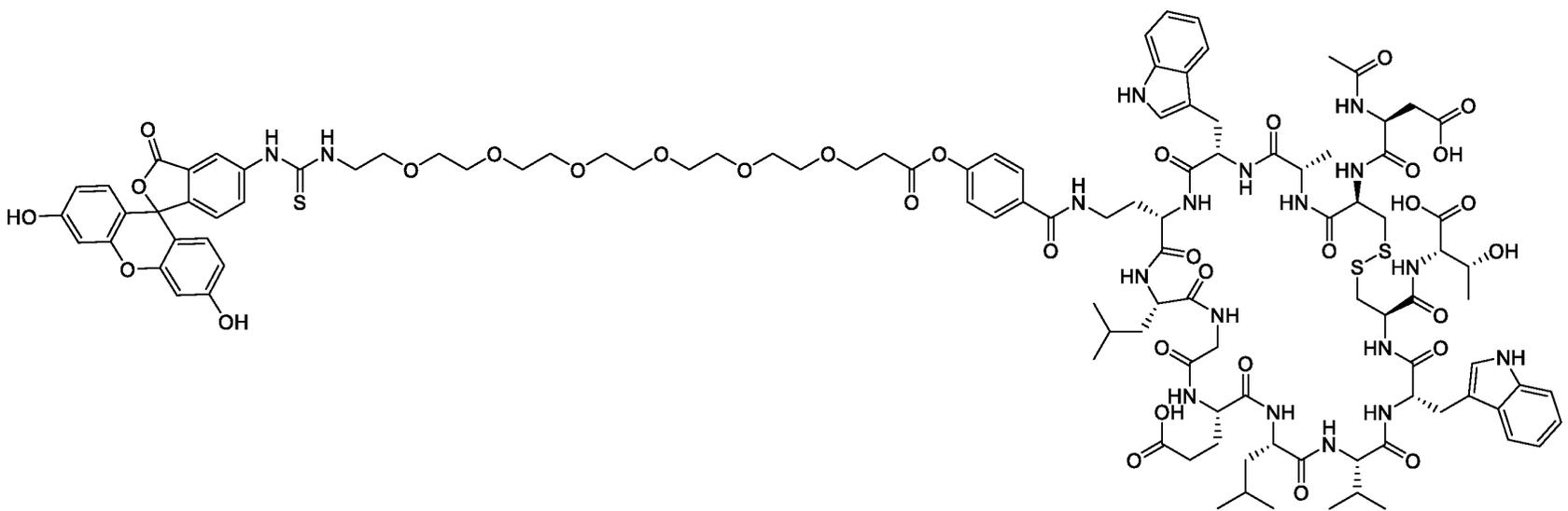
I-39



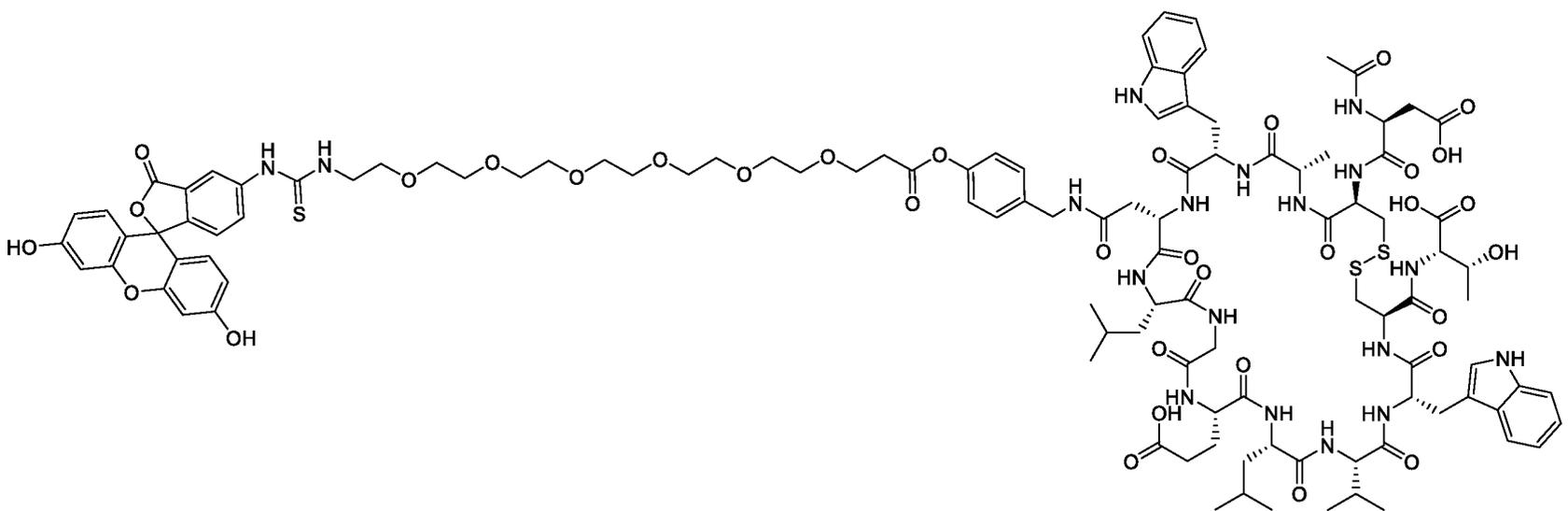
I-40



I-41

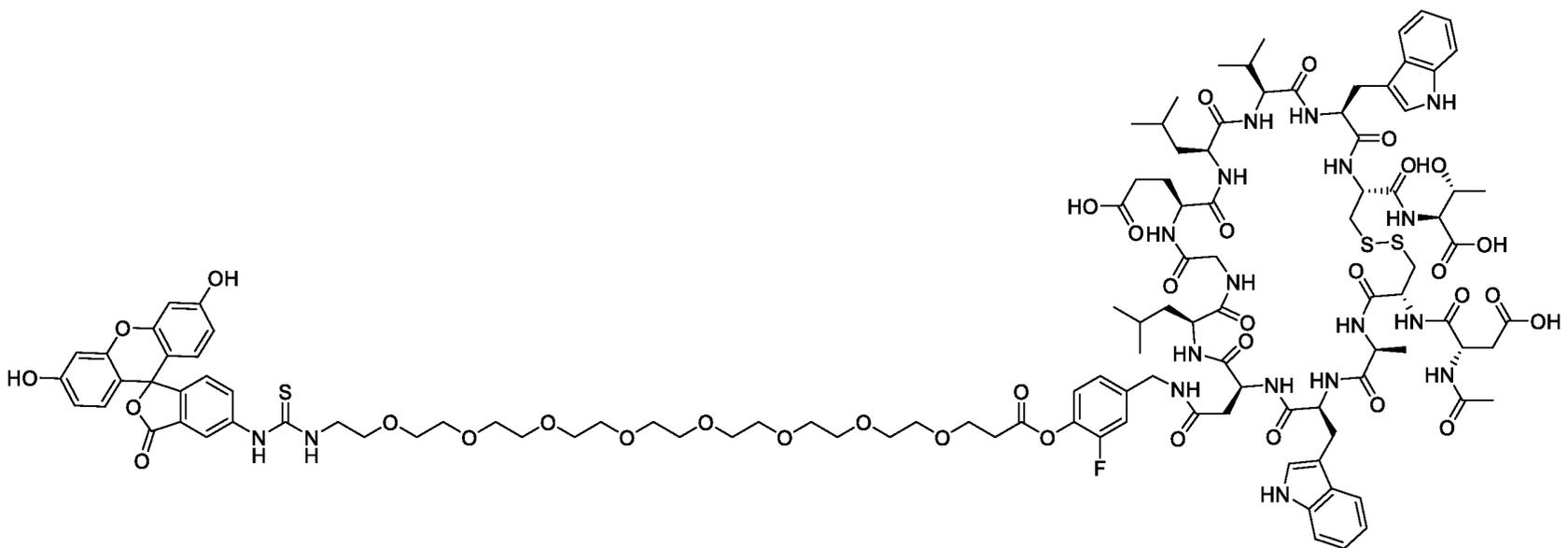


I-42

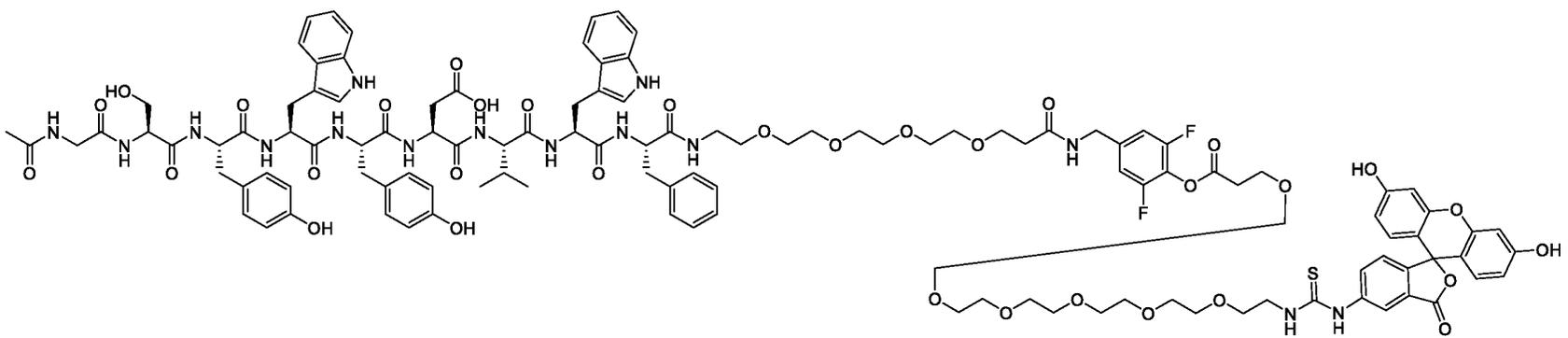


236

I-43

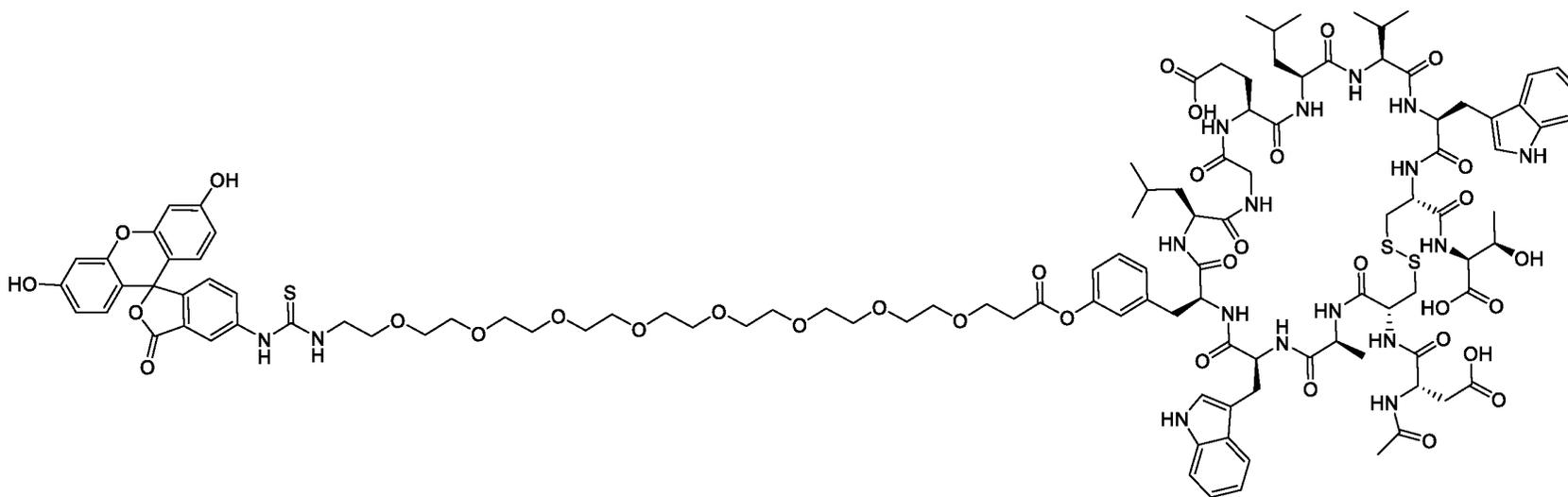


I-44

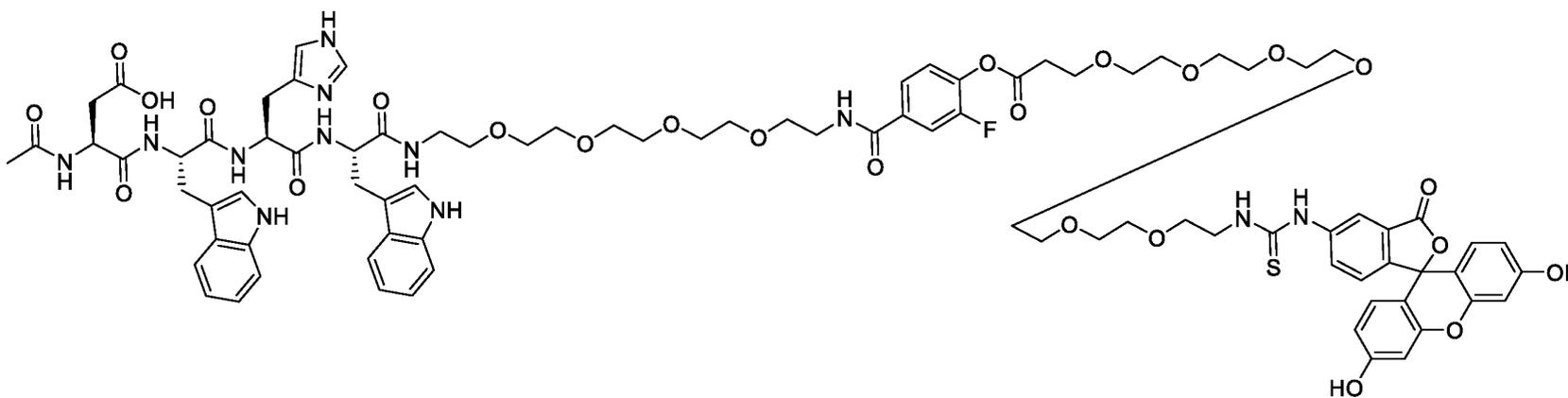


I-45

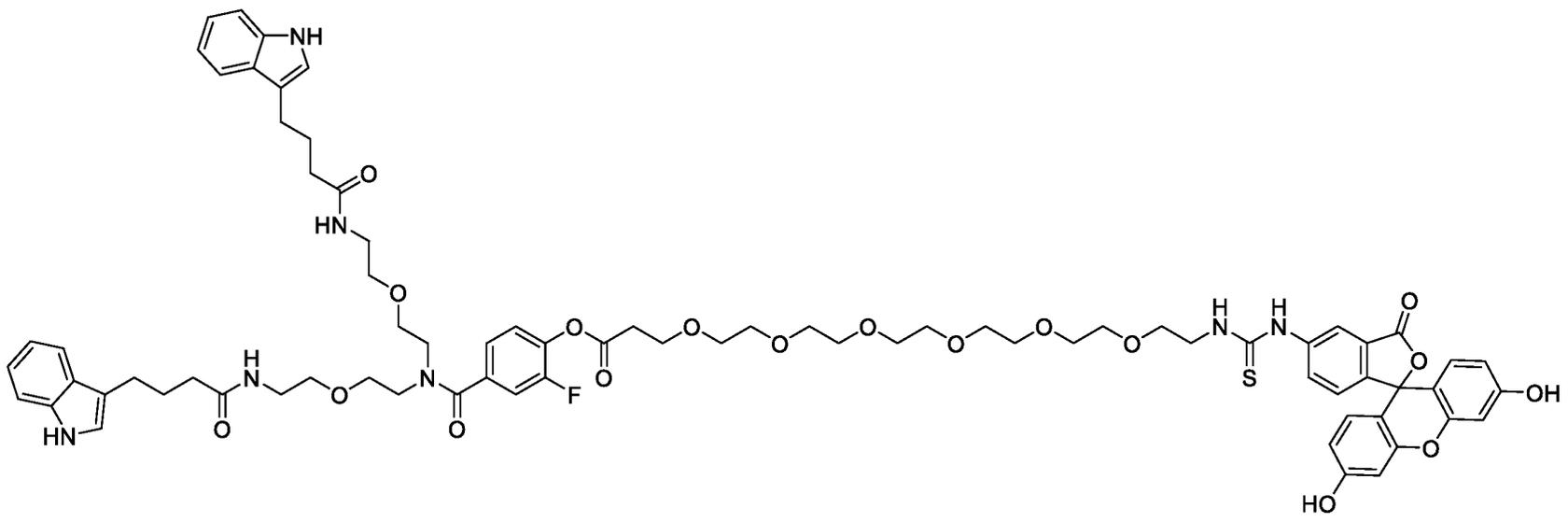
237



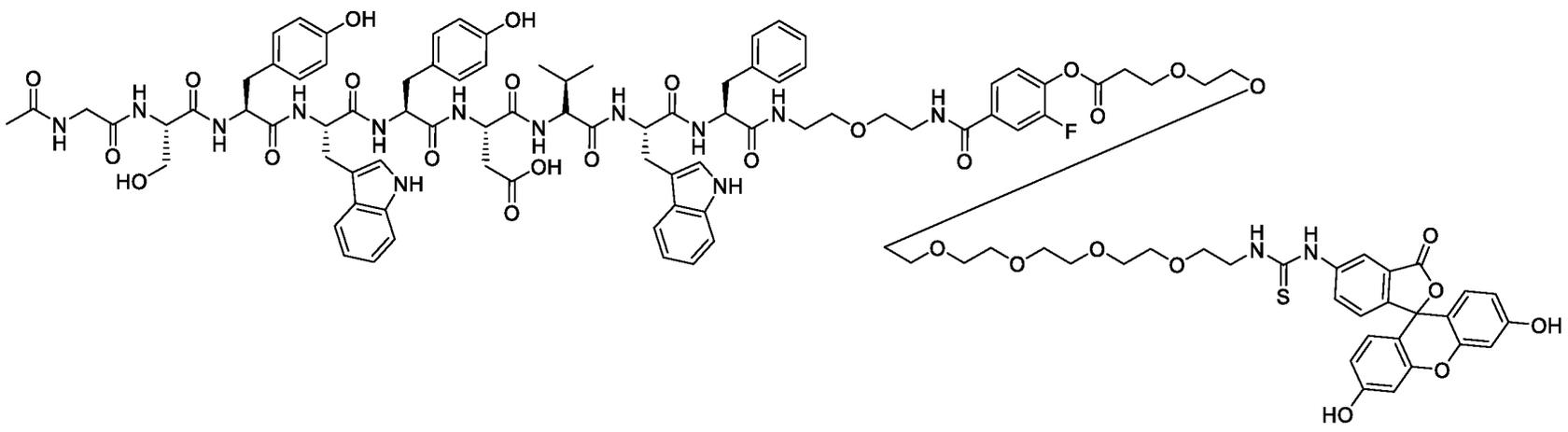
I-46



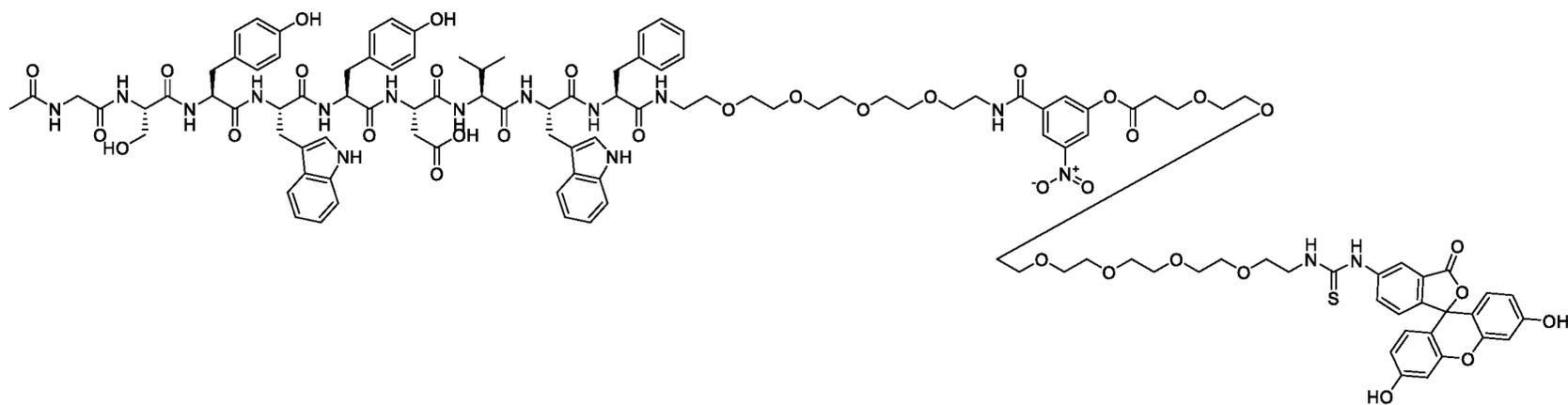
I-47



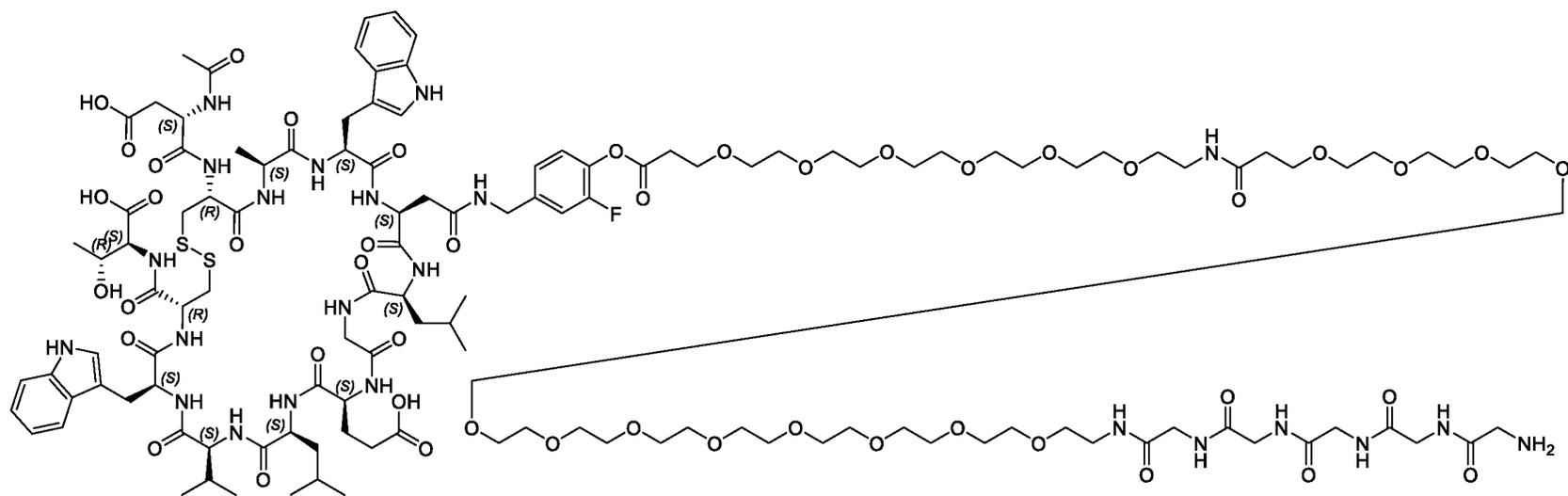
I-48



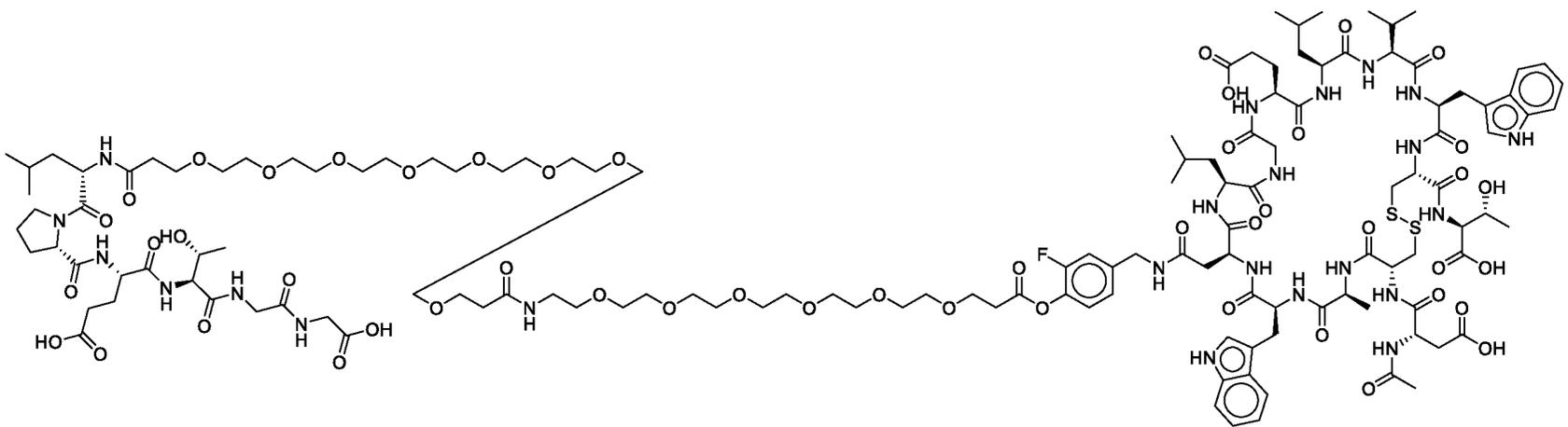
I-49



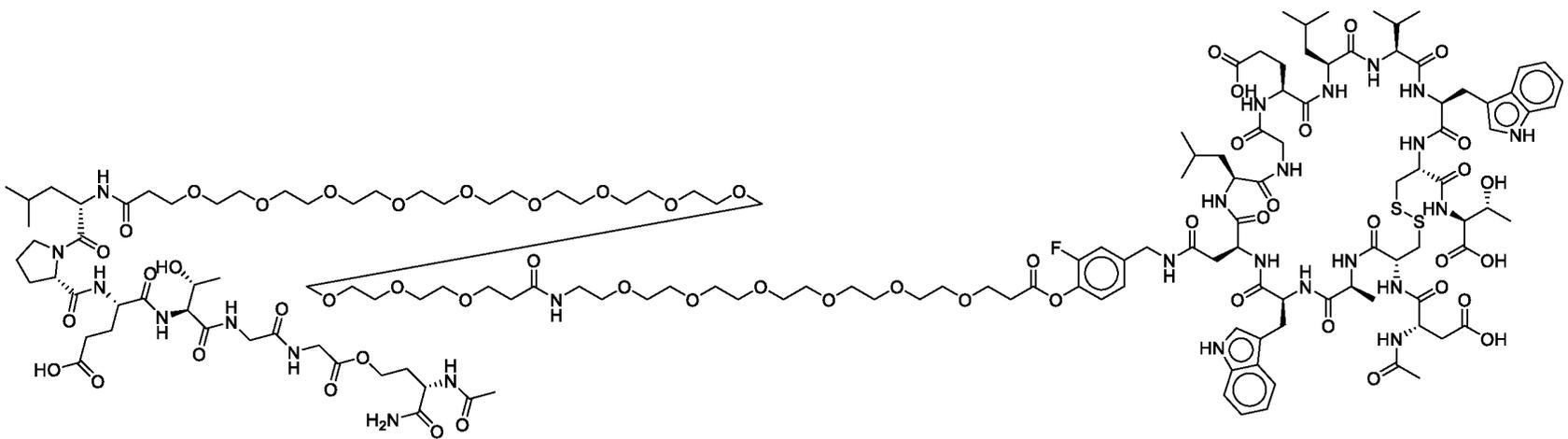
I-50



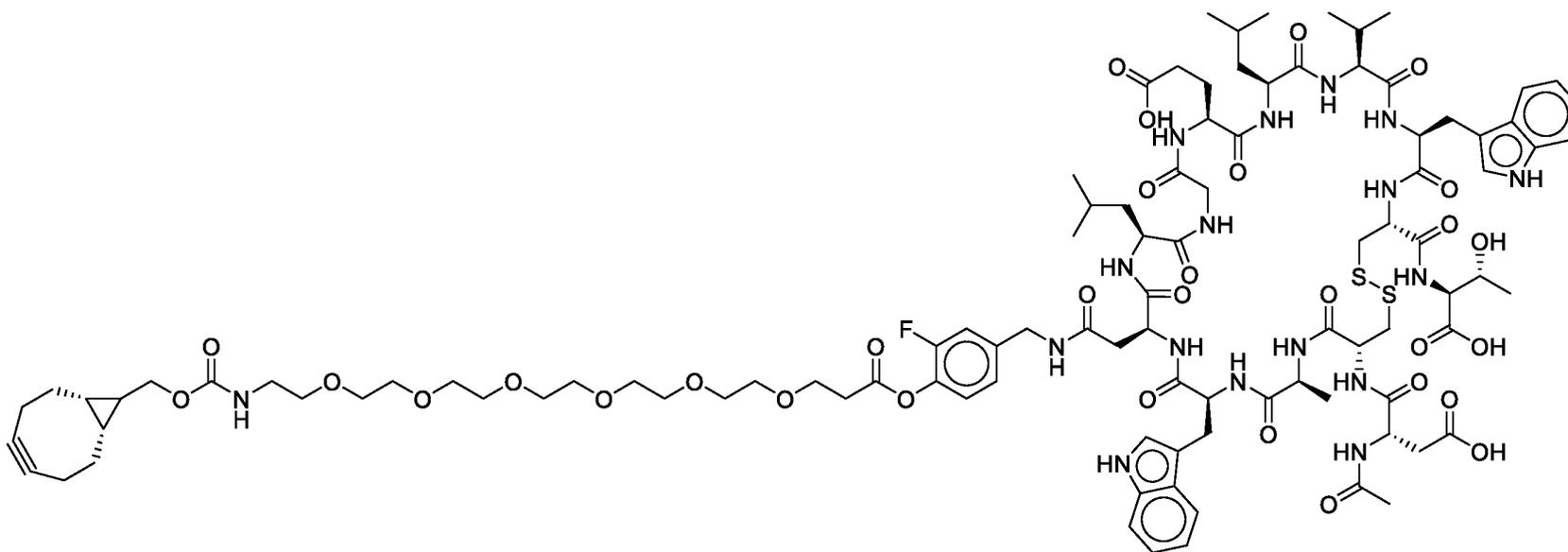
I-53



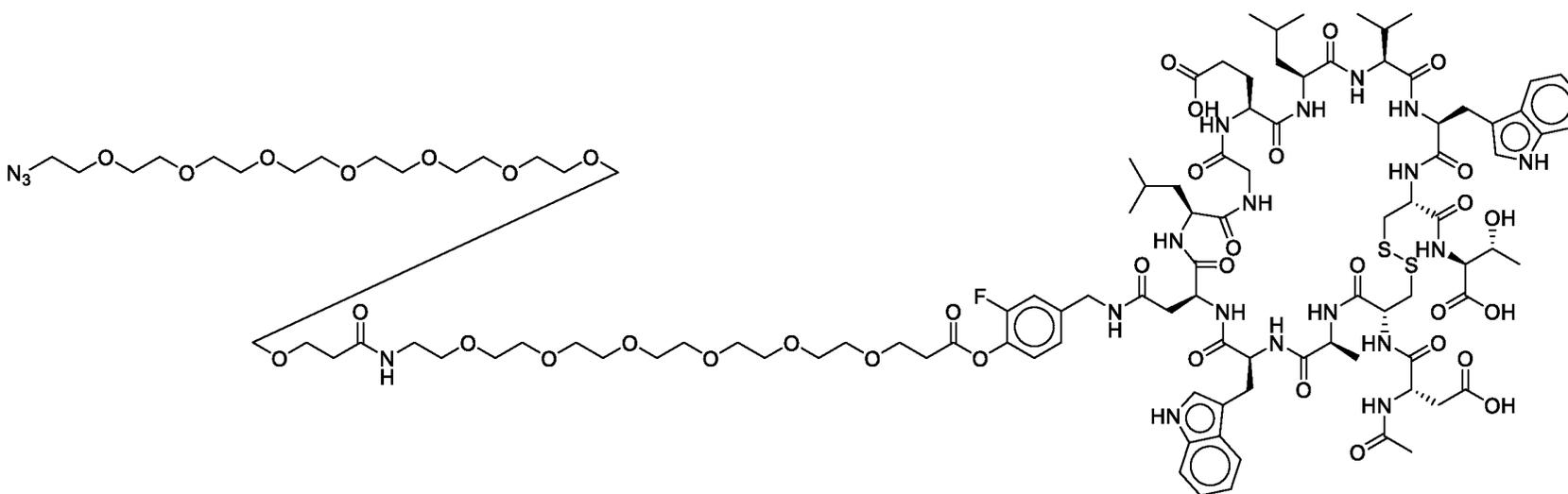
I-54



I-55

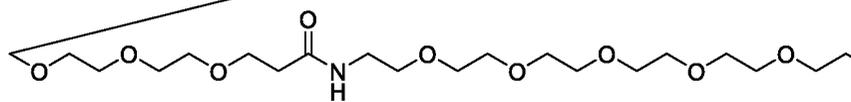
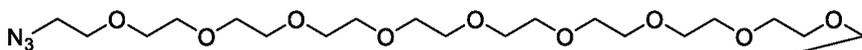


I-56

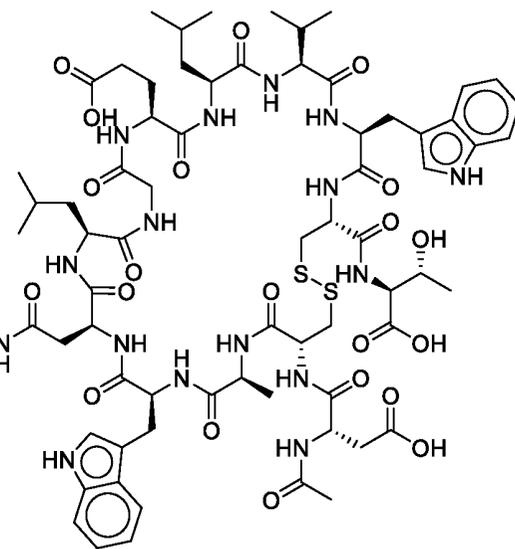


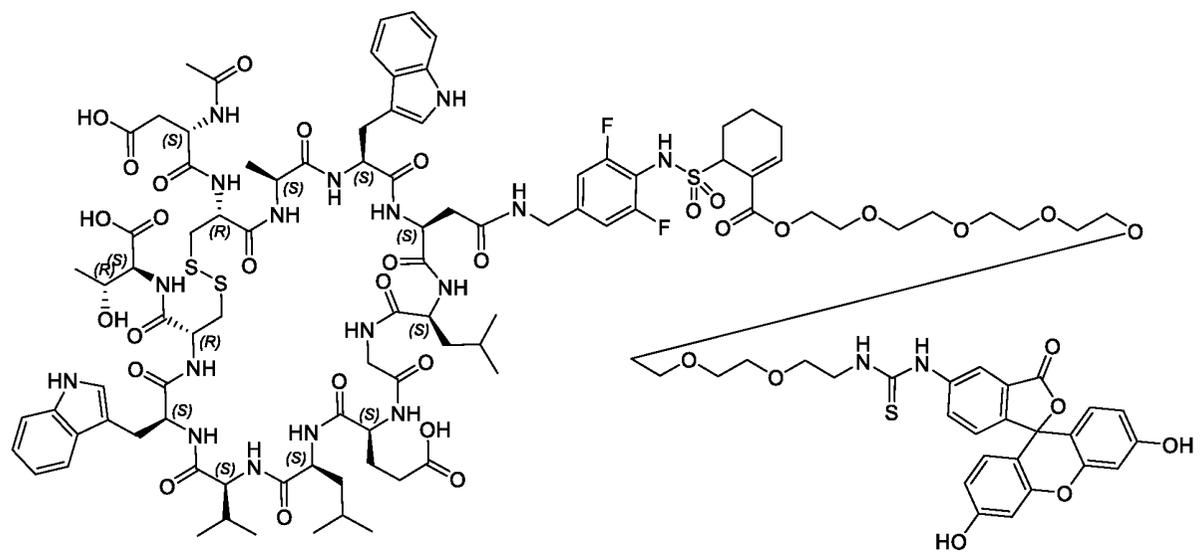
242

I-57

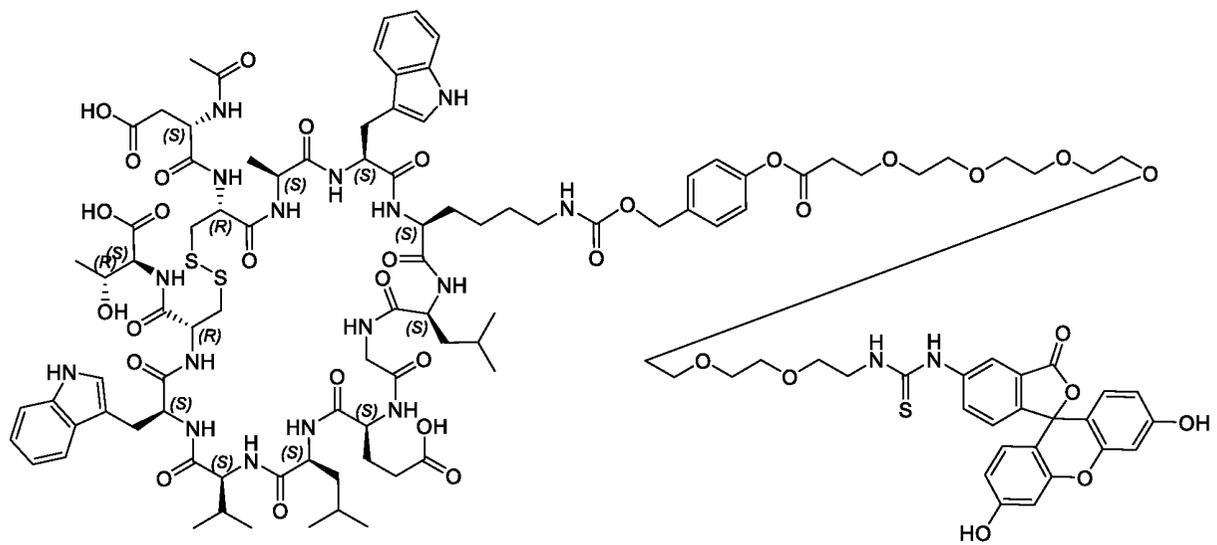


I-58



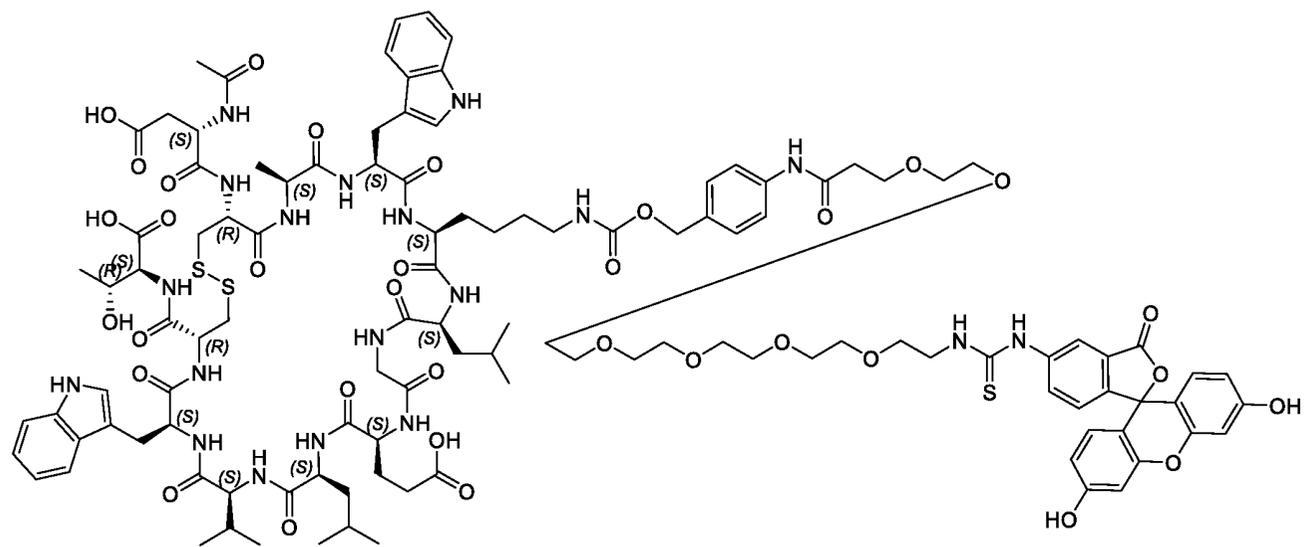


I-59

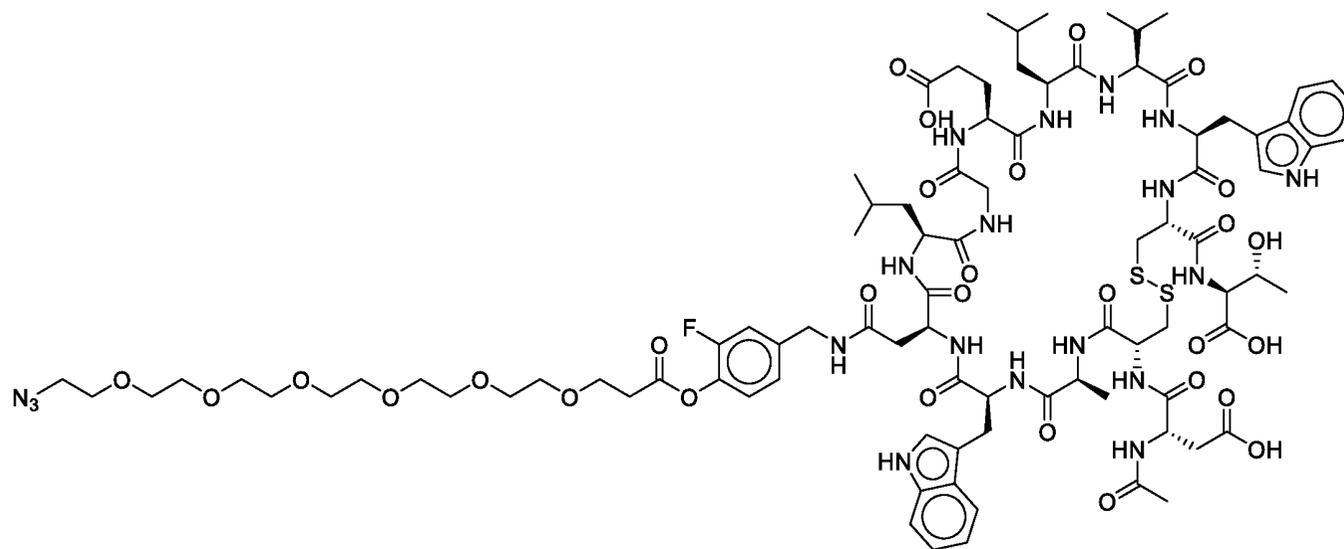


244

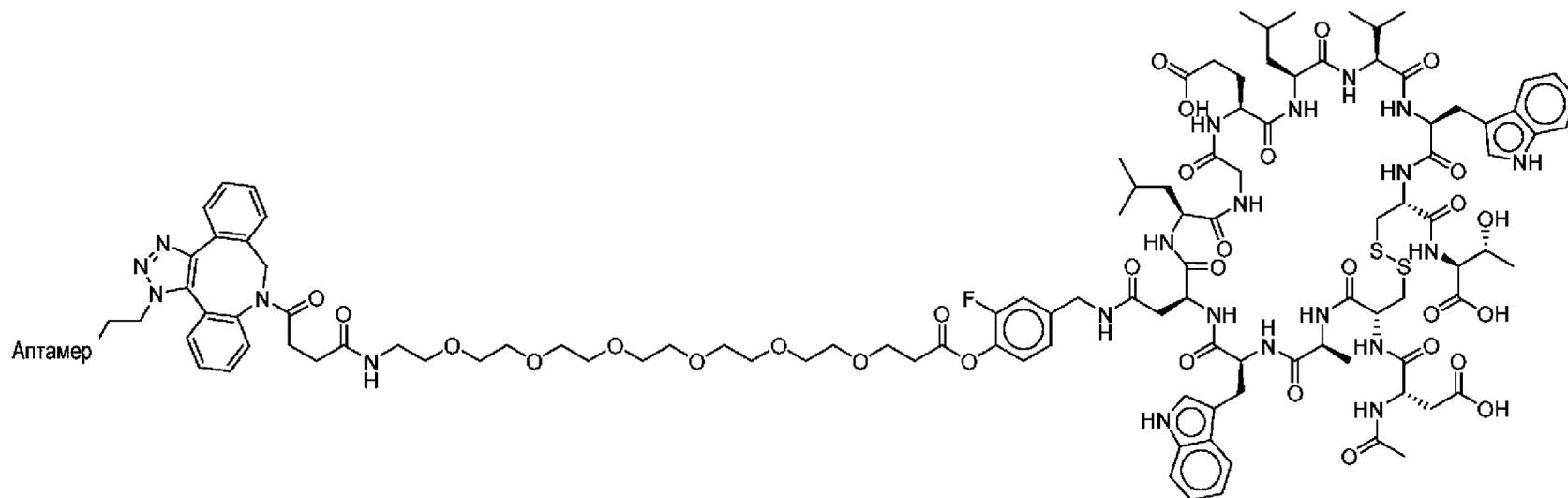
I-61



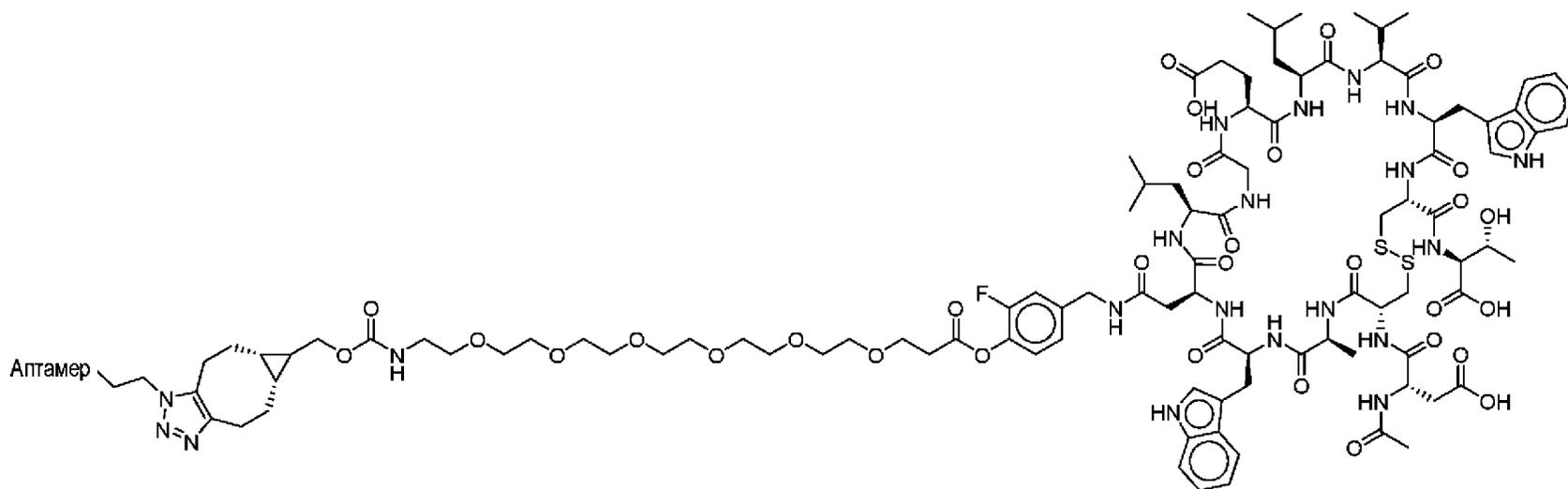
I-63



I-65



I-66



I-67

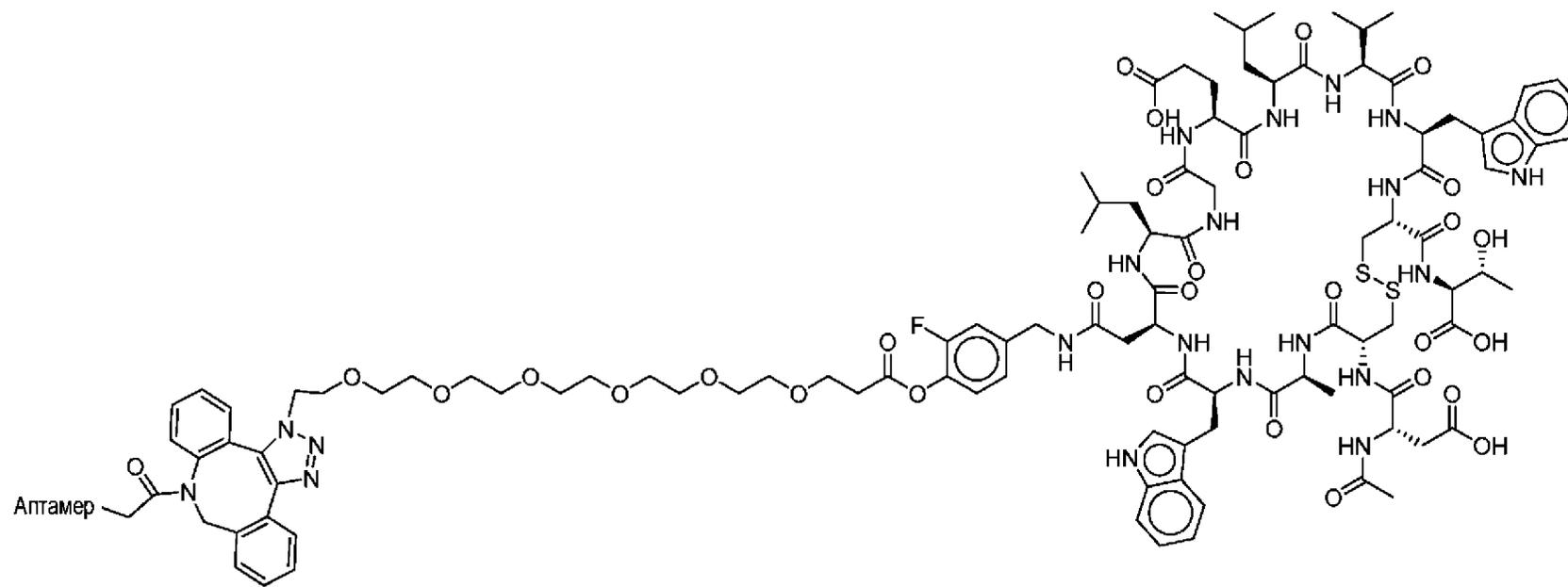
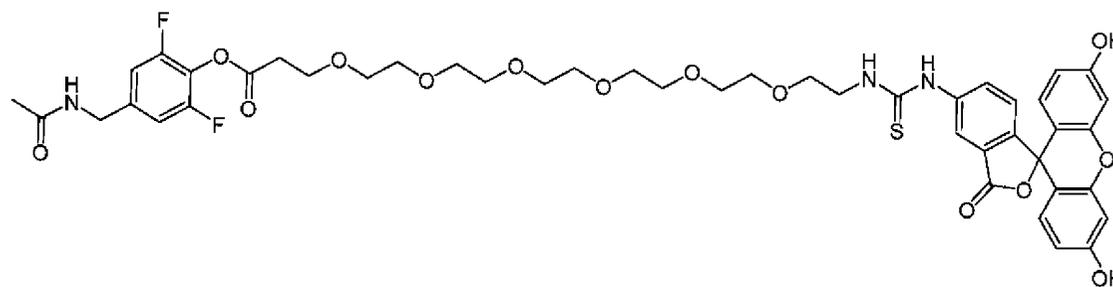
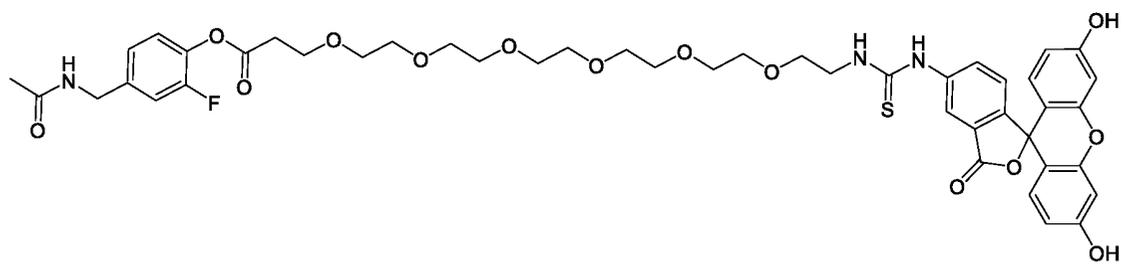
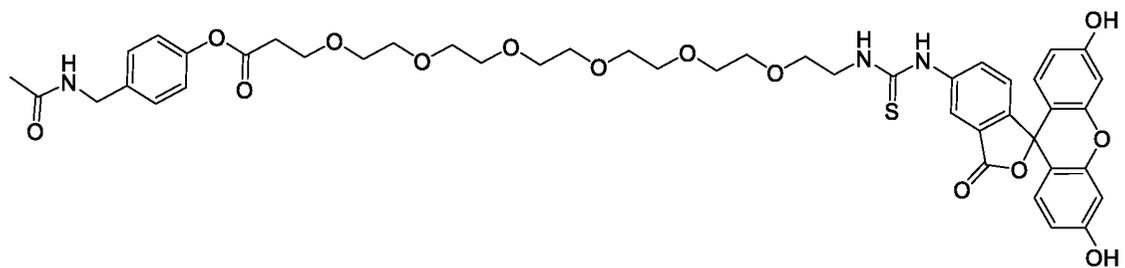


Таблица 1b

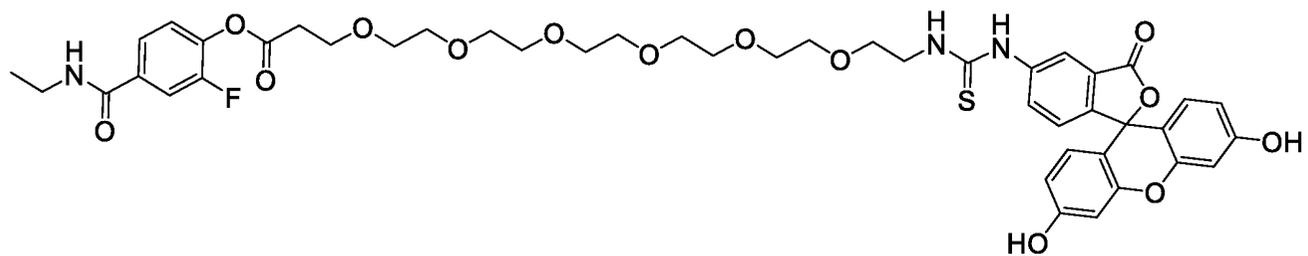




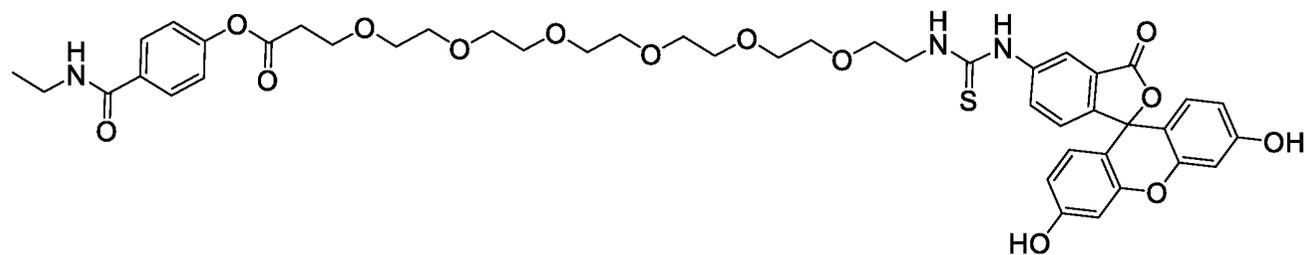
I-10



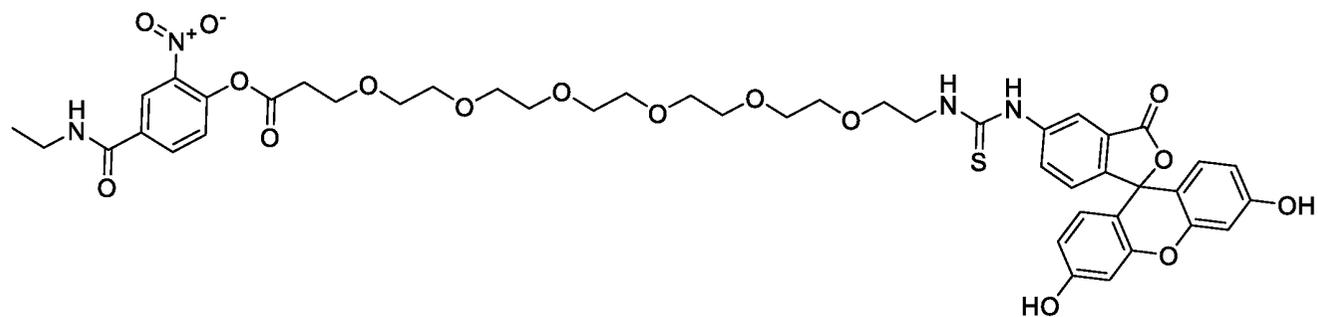
I-11



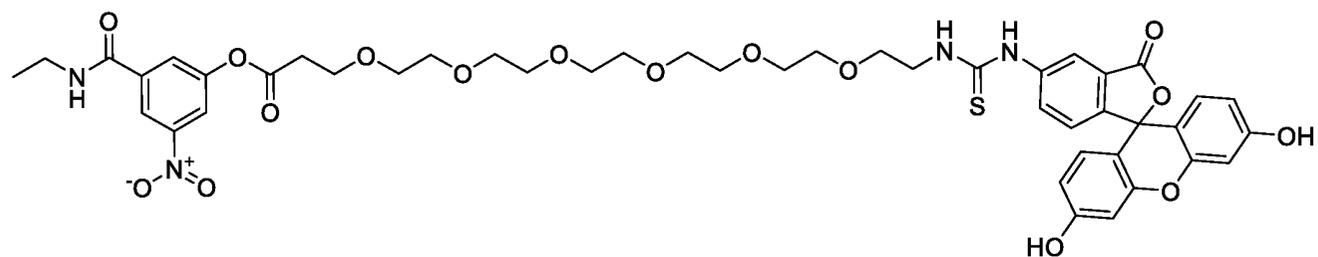
I-18



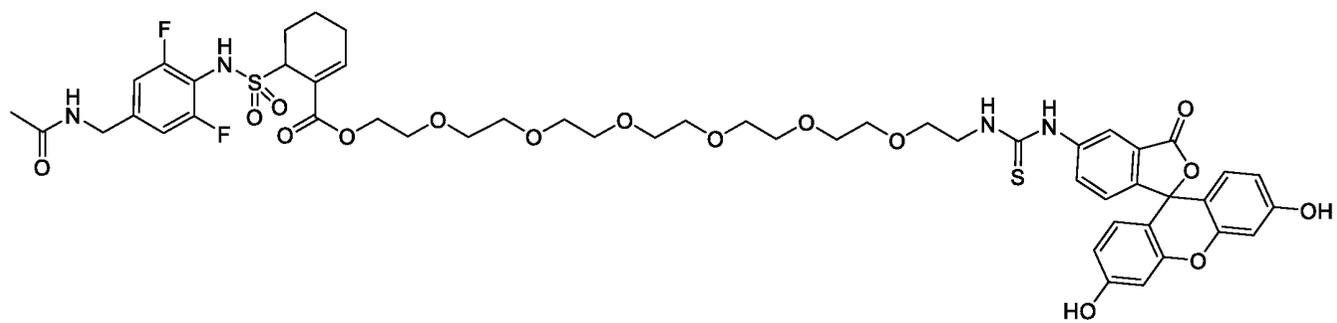
I-19



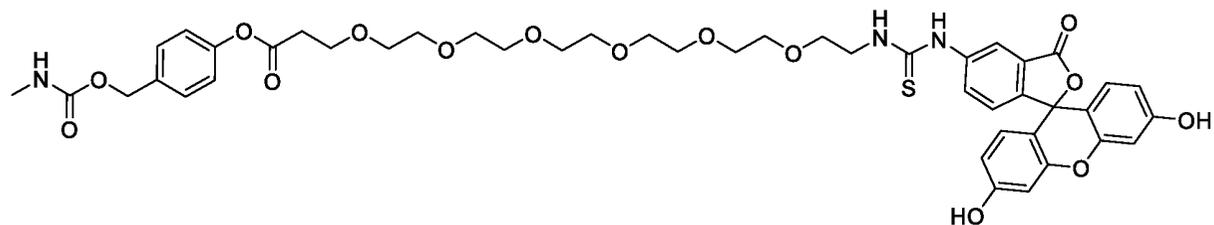
I-51



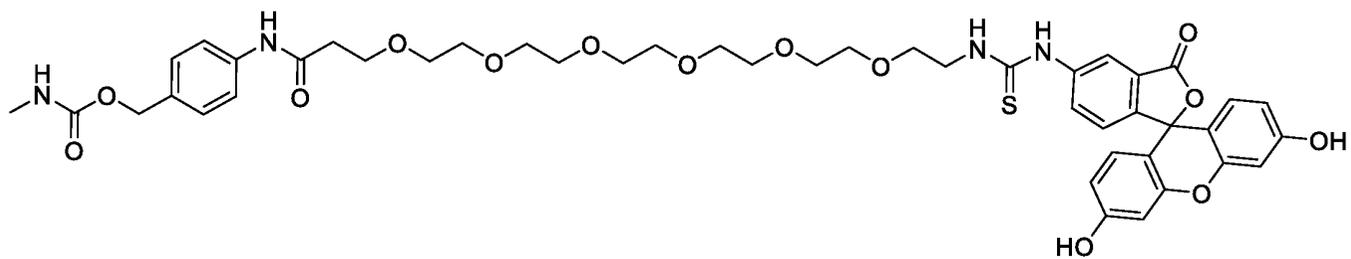
I-52



I-60

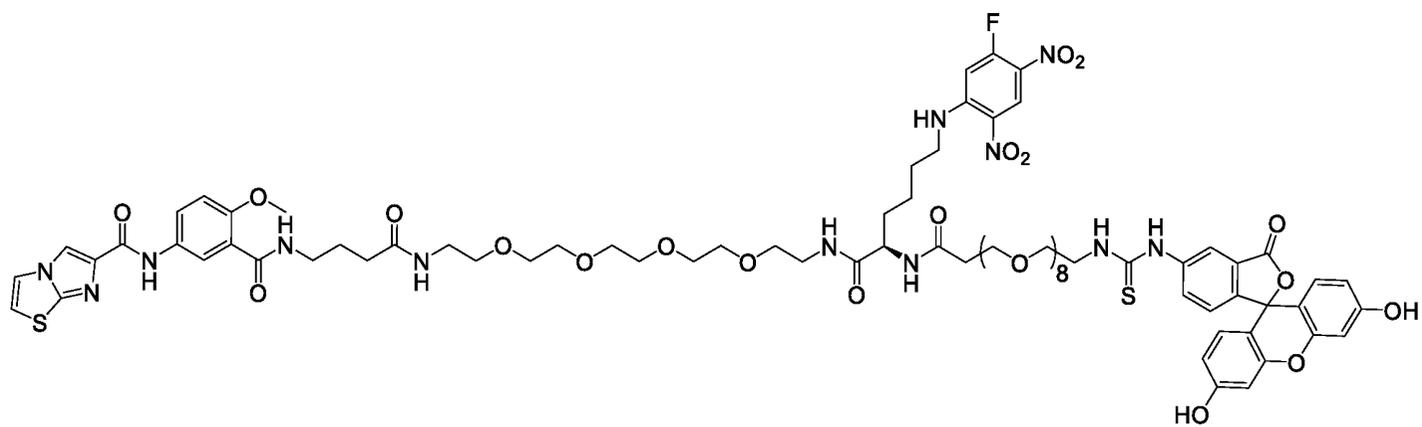


I-62

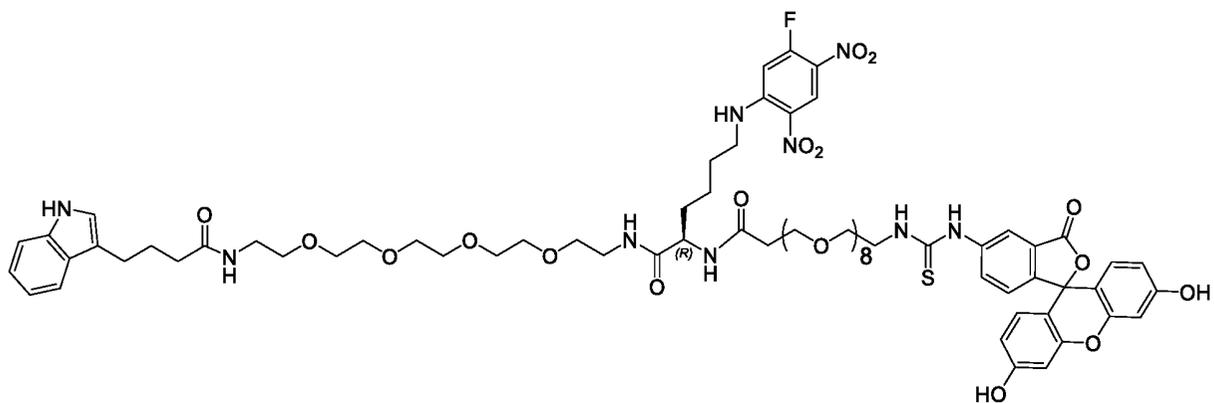


I-64

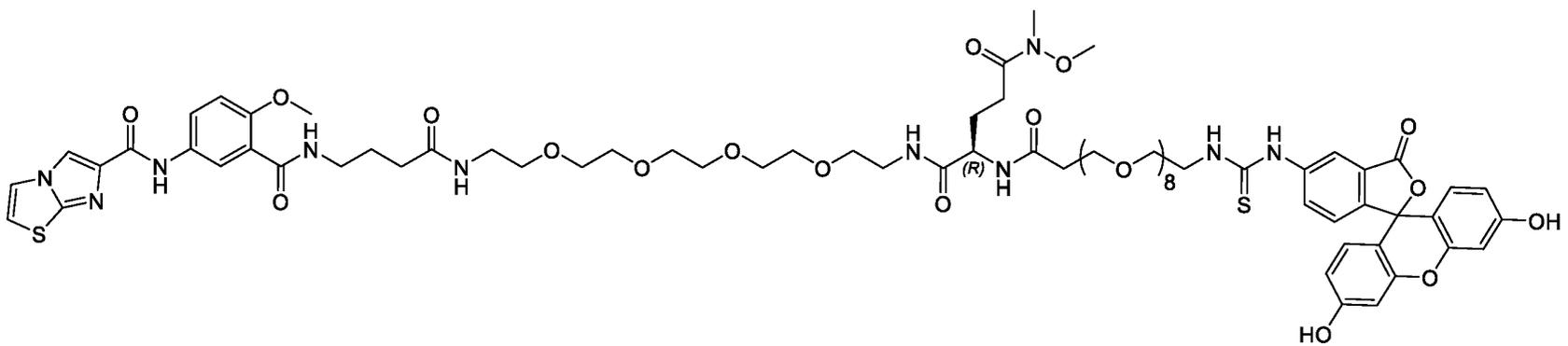
Таблица 1с.



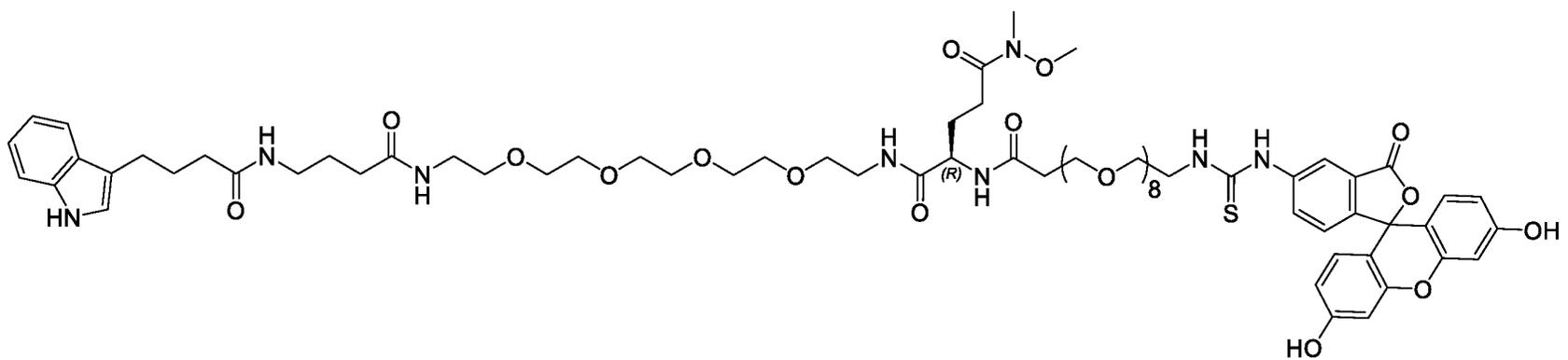
I-4



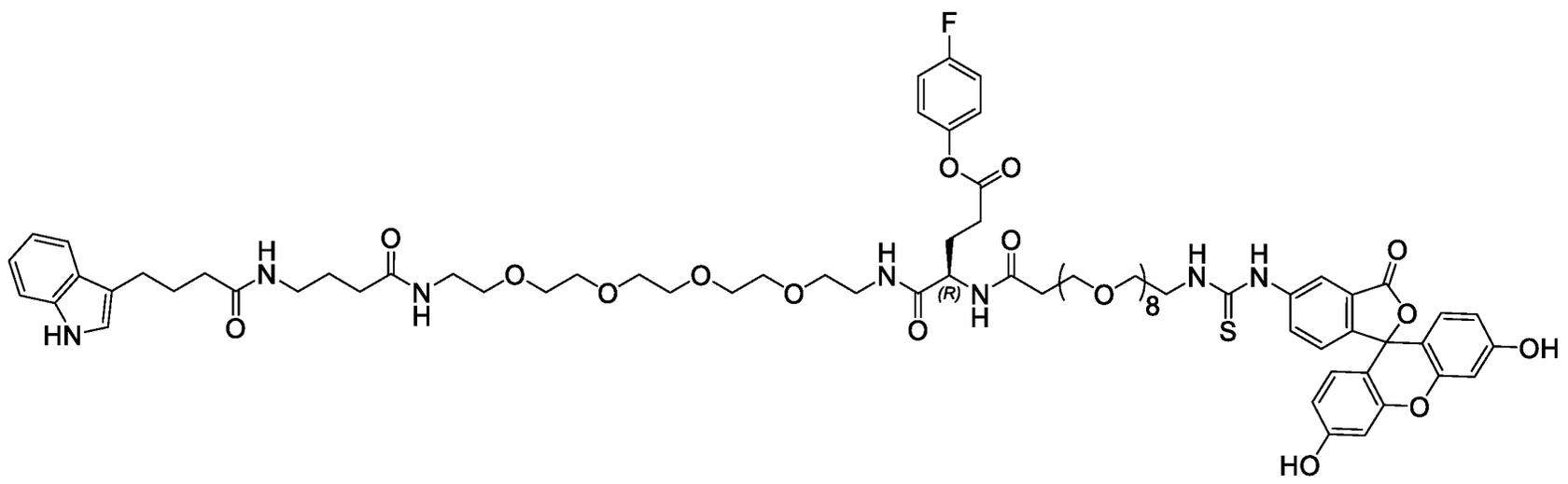
I-5



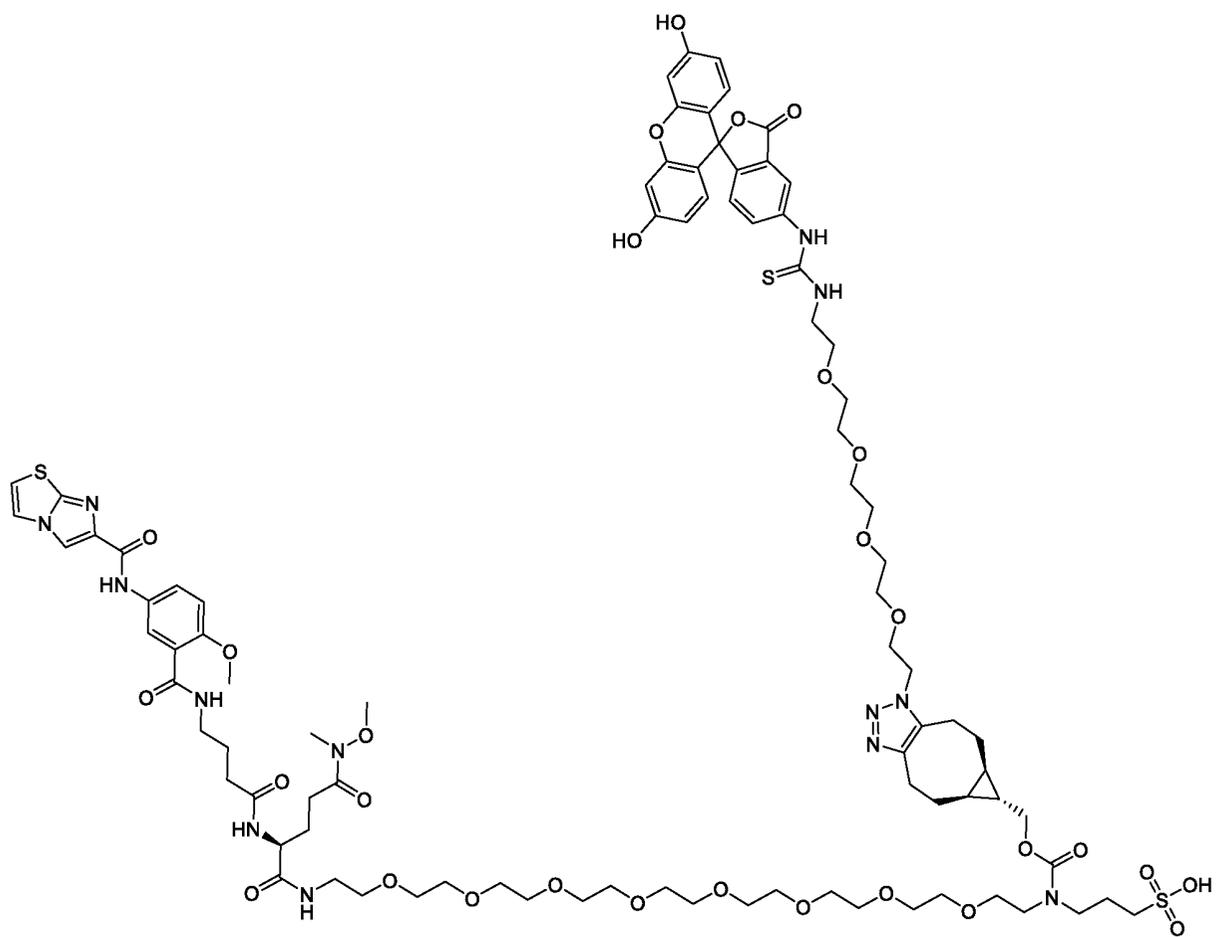
I-6



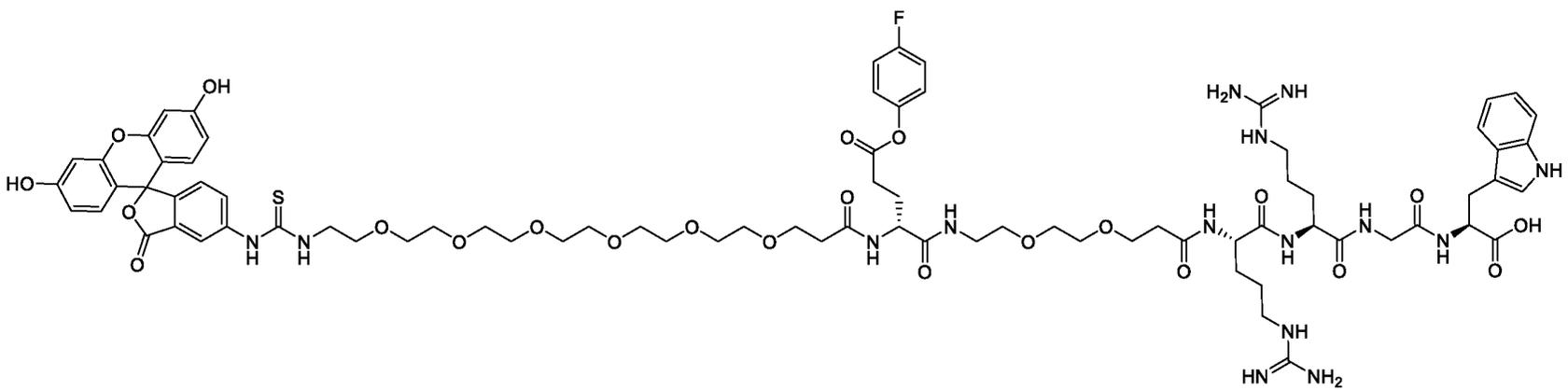
I-7



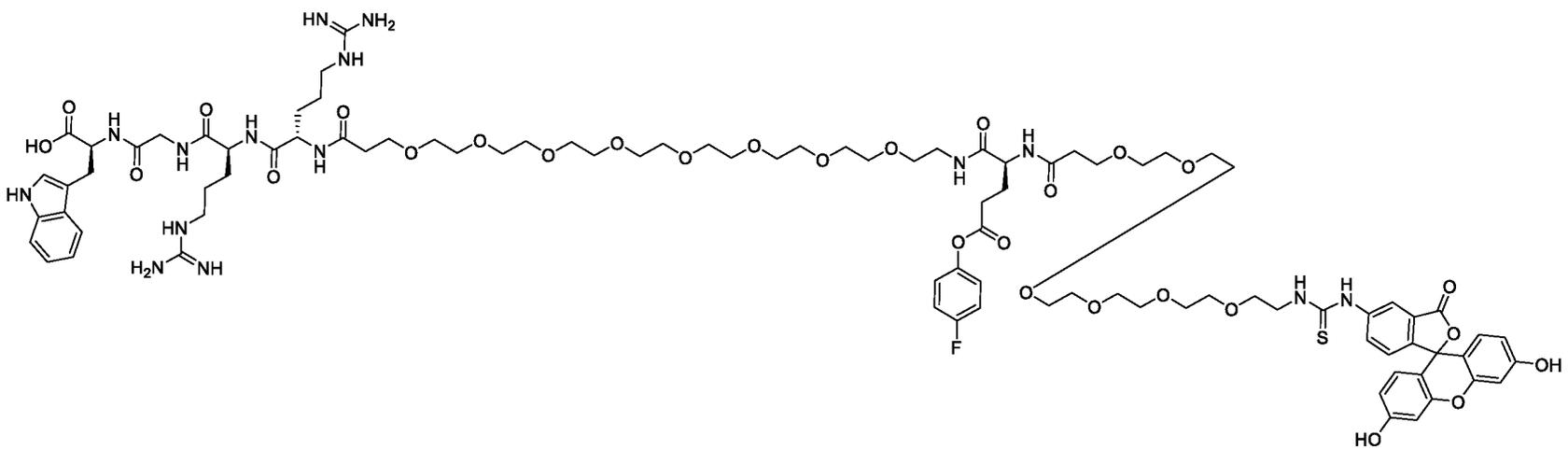
I-8



I-20

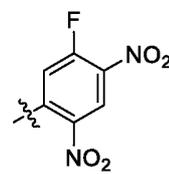


I-26

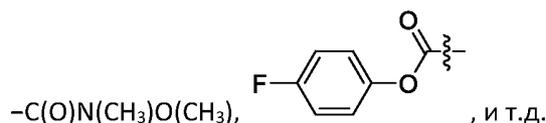


I-27

[0481] В некоторых вариантах осуществления партнером по реакции является соединение по Таблице 1a или Таблице 1b. В некоторых вариантах осуществления партнер по реакции, содержащий фрагмент, связывающую цель, и фрагмент, представляющий интерес, например, соединение формулы R-I или его соль, представляет собой соединение, указанное в Таблице 1a. В некоторых вариантах осуществления соединения, содержащее фрагмент, связывающий антитело, и фрагмент, представляющий интерес, представляет собой соединение по Таблице 1a. В некоторых вариантах осуществления соединения по Таблице 1b не содержит фрагмента, связывающего антитело, и его можно применять в качестве эталона для соответствующих соединений-партнеров по реакции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются технологии для оценки свойств и/или активностей реакционных групп. В некоторых вариантах осуществления соединения по Таблице 1c являются пригодными для



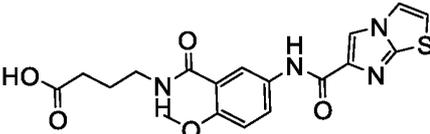
оценки свойств и/или активности их реакционных групп, например,



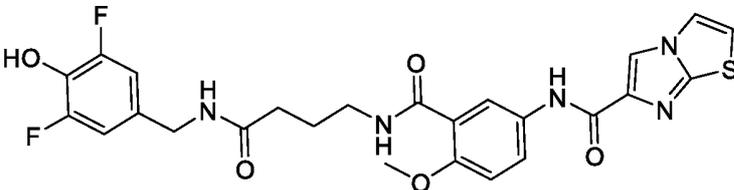
[0482] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагается соединение, указанное в **Таблице 1** выше, или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагается композиция, которая содержит или доставляет соединение, указанное в **Таблице 1** выше, или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагается конъюгат «антитело-антитело», как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагается конъюгат «антитело-антитело», содержащий линкер, как описано в данном документе (например, в линкере отсутствует $-\text{S}-\text{S}-$). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагается композиция, которая содержит предлагаемый конъюгат «антитело-антитело» или доставляет его. В некоторых вариантах осуществления предлагаемая композиция представляет собой фармацевтическую композицию.

[0483] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются технологии (например, соединения, способы и т. д.), применимые для получения соединений,

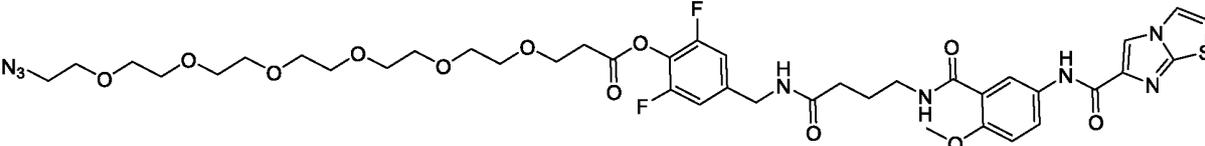
агентов, композиций и т. д., как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления предлагаемые соединения можно применять для получения соединений формулы R-I или их соли. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру LG-R^{LG}-H или его соли. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру LG-L^{LG1}-H или его соли. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру LG-L^{LG1}-H или его соли. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру LG-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-H или его соли. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру LG-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-H или его соли. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру LG-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-R^G-H или его соли. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру LG-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-H или его соли. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру LG-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-H или его соли. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру LG-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-L^{RM}-H или его соли. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру LG-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-L^{PM}-H или его соли. Например, в некоторых вариантах

осуществления соединения представляет собой  или его соль.

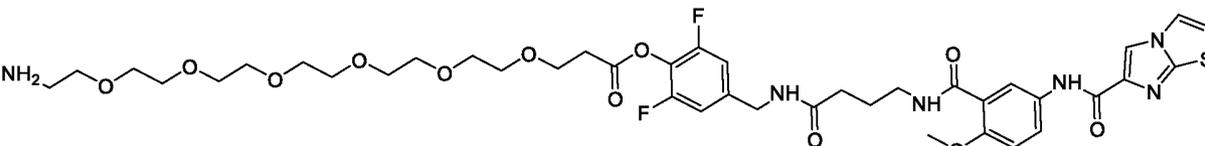
В некоторых вариантах осуществления соединения представляет собой

 или его соль. В некоторых вариантах

осуществления соединения представляет собой



или его соль. В некоторых вариантах осуществления соединения представляет собой



или его соль. В некоторых вариантах осуществления соединения представляет собой

соединение, описанное в примере, как описано в данном документе.

Общие способы, реагенты и условия

[0484] Для получения соединений и агентов в соответствии с настоящим изобретением можно применять различные технологии.

[0485] В некоторых вариантах осуществления, в которых изображена конкретная защитная группа («PG»), уходящая группа («LG») или условия трансформации, специалисту в данной области техники будет понятно, что другие защитные группы, уходящие группы и условия трансформации являются также пригодными и рассматриваются в данном документе. Такие группы и трансформации подробно описаны в публикациях *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, M. B. Smith и J. March, 5th Edition, John Wiley & Sons, 2001, *Comprehensive Organic Transformations*, R. C. Larock, 2nd Edition, John Wiley & Sons, 1999, и *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene и P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999, каждая из которых в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки.

[0486] В некоторых вариантах осуществления уходящие группы включают, помимо прочего, галогены (например, фторид, хлорид, бромид, йодид), сульфонаты (например, мезилат, тозилат, бензолсульфонат, брозилат, нозилат, трифлат), диазоний и т.п.

[0487] В некоторых вариантах осуществления кислородзащитная группа включает, например, карбонильные защитные группы, гидроксильные защитные группы и т. д. Гидроксильные защитные группы хорошо известны в данной области техники и включают группы, подробно описанные в публикации *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene и P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999, включенной в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Примеры пригодных гидроксильных защитных групп включают, помимо прочего, сложные эфиры, аллиловые эфиры, простые эфиры, силиловые эфиры, алкиловые эфиры, арилалкиловые эфиры и алкоксиалкиловые эфиры. Примеры таких сложных эфиров включают формиаты, ацетаты, карбонаты и сульфонаты. Конкретные примеры включают формиат, бензоилформиат, хлорацетат, трифторацетат, метоксиацетат, трифенилметоксиацетат, п-хлорфеноксиацетат, 3-фенилпропионат, 4-оксопентаноат, 4,4-(этилендитио)пентаноат, пивалоат (триметилацетил), кротонат, 4-метоксикротонат, бензоат, p-бенилбензоат, 2,4,6-триметилбензоат, карбонаты, такие как метил, 9-флуоренилметил, этил, 2,2,2-трихлорэтил, 2-(триметилсилил)этил, 2-(фенилсульфонил)этил, винил, аллил и p-нитробензил. Примеры таких силиловых эфиров

включают триметилсилил, триэтилсилил, t-бутилдиметилсилил, t-бутилдифенилсилил, триизопропилсилил и другие триалкилсилиловые эфиры. Алкиловые эфиры включают метиловые, бензиловые, p-метоксибензиловые, 3,4-диметоксибензиловые, тритиловые, t-бутиловые, аллиловые и аллилоксикарбонильные эфиры или их производные. Алкоксиалкиловые эфиры включают ацетали, такие как метоксиметиловый, метилтиометиловый, (2-метоксиэтокси)метиловый, бензилоксиметиловый, бета-(триметилсилил)этоксиметиловый и тетрагидропираниловый эфиры. Примеры арилалкиловых эфиров включают бензил, p-метоксибензил (МРМ), 3,4-диметоксибензил, O-нитробензил, p-нитробензил, p-галогенбензил, 2,6-дихлорбензил, p-цианобензил) и 2 – и 4–пиколил.

[0488] Аминозащитные группы хорошо известны в данной области техники и включают группы, подробно описанные в публикации *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Т. W. Greene и P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999, включенной в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Пригодные защитные группы для амина включают, помимо прочего, аралкиламины, карбаматы, циклические имиды, аллиламины, амиды и т.п. Примеры таких групп включают t-бутилоксикарбонил (BOC), этилоксикарбонил, метилоксикарбонил, трихлорэтилоксикарбонил, аллилоксикарбонил (Alloc), бензилоксокарбонил (CBZ), аллил, фталимид, бензил (Bn), флуоренилметилкарбонил (Fmoc), формил, ацетил, хлорацетил, дихлорацетил, трихлорацетил, фенилацетил, трифторацетил, бензоил и т.п.

[0489] Специалисту в данной области техники будет понятно, что соединения/агенты могут содержать один или большее количество стереоцентров и могут присутствовать в виде рацемической или диастереомерной смеси. Специалисту в данной области техники также будет понятно, что в данной области техники известно множество способов разделения изомеров для получения стереобогащенных или стереочистых изомеров этих соединений, включая, помимо прочего, HPLC, хиральную HPLC, фракционную кристаллизацию диастереомерных солей, кинетическую кристаллизацию, ферментативное расщепление (например, липазами или эстеразами грибкового, бактериального или животного происхождения) и образование ковалентных диастереомерных производных с применением энантиобогащенного реагента.

[0490] Специалисту в данной области техники будет понятно, что различные функциональные группы, присутствующие в соединениях по настоящему изобретению, такие как алифатические группы, спирты, карбоновые кислоты, сложные эфиры, амиды, альдегиды, галогены и нитрилы, могут быть взаимно преобразованы с помощью способов, хорошо известных в данной области техники, включая, помимо прочего, окисление, этерификацию, гидролиз,

частичное окисление, частичное восстановление, галогенирование, дегидратация, частичная гидратация и гидратация. "March's Advanced Organic Chemistry", 5th Ed., Ed.: Smith, M.B. и March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001, которая в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки. Для таких взаимных превращений может потребоваться одна или большее количество из вышеупомянутых методик, и некоторые способы синтеза соединений по настоящему изобретению описаны ниже в разделе «Примеры».

Применение, состав и введение

[0491] Соединения, агенты, композиции и т.д. по настоящему изобретению могут быть предоставлены в различных формах в зависимости от желаемого применения. В некоторых вариантах осуществления они представлены в виде фармацевтических композиций. Как будет понятно специалистам в данной области техники, во многих случаях фармацевтические композиции содержат контролируемые количества и изготавливаются для введения субъектам, таким как пациенты-люди. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагается композиция, содержащая соединение, агент, и/или композиция, описанная в данном документе, или их фармацевтически приемлемое производное и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагается фармацевтическая композиция, содержащая соединение, агент или композицию по данному изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагается фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения, агент или композицию по данному изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию упаковывают для хранения, транспортировки, введения и т.д. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция не содержит значительного количества органических растворителей (например, общее количество органических растворителей не более 50%, 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% от массы и/или объема фармацевтической композиции).

[0492] В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель представляет собой или содержит нетоксичный носитель, адъювант или несущую среду, которые не разрушают фармакологическую активность соединения, с которыми он составлен. Фармацевтически приемлемые носители, адъюванты или несущие среды могут включать, помимо прочего, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, белки сыворотки, такие

как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, воды, солей или электролитов, таких как протаминсульфат, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлоза натрия, полиакрилаты, воски, блок-полимеры полиэтилен-полиоксипропилен, полиэтиленгликоль и шерстяной жир.

[0493] В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемое производное представляет собой нетоксичную соль, сложный эфир, соль сложного эфира или другое производное соединения, которое при введении реципиенту способно прямо или косвенно обеспечивать соединение или его активный метаболит или остаток.

[0494] Композиции можно вводить перорально, парентерально, с помощью спрея для ингаляции, местно, ректально, назально, буккально, вагинально или через имплантированный резервуар. В некоторых вариантах осуществления парентеральное введение включает подкожные, внутривенные, внутримышечные, внутрисуставные, интрасиновиальные, интрастернальные, интратекальные, внутрипеченочные, внутриочаговые и внутричерепные способы инъекции или инфузии. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят перорально, внутрибрюшинно или внутривенно. Стерильные формы композиций для инъекций могут представлять собой водные или масляные суспензии. Эти суспензии могут быть составлены в соответствии со способами, известными в данной области, с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. Стерильный препарат для инъекций может находиться в виде стерильного раствора для инъекций или суспензии в нетоксичном парентерально-приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Среди приемлемых носителей и растворителей, которые можно применять, являются вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, стерильные, неподвижные масла обычно применяют в качестве растворителя или суспендирующей среды.

[0495] Для этой цели можно применять любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицеридные производные пригодны при приготовлении инъекционных растворов, также как и натуральные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или касторовое масло, особенно в форме их полиоксиэтилированных производных. Эти масляные растворы или

суспензии могут также содержать разбавитель или диспергирующее средство на основе длинноцепочечного спирта, такие как карбоксиметилцеллюлоза или аналогичные диспергирующие средства, которые обычно применяются в составлении фармацевтически приемлемых лекарственных форм, включая эмульсии и суспензии. Другие обычно применяемые поверхностно-активные вещества, такие как Tweens, Spans и другие эмульгаторы или усилители биодоступности, которые обычно применяются при изготовлении фармацевтически приемлемых твердых, жидких или других лекарственных форм, также можно применять для целей составления.

[0496] Фармацевтически приемлемые композиции можно вводить перорально в любой приемлемой для перорального применения лекарственной форме, включая, помимо прочего, капсулы, таблетки, водные суспензии или растворы. В случае таблеток для перорального применения обычно применяемые носители включают лактозу и кукурузный крахмал. Также обычно добавляют смазывающие агенты, такие как стеарат магния. Для перорального введения в форме капсулы пригодные разбавители включают лактозу и сушеный кукурузный крахмал. Когда водные суспензии необходимы для перорального применения, активный ингредиент объединяют с эмульгирующими и суспендирующими агентами. При желании могут быть добавлены некоторые подслащающие, ароматизирующие или красящие вещества.

[0497] В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые композиции можно вводить в виде суппозитория для ректального введения. В некоторых вариантах осуществления они могут быть получены путем смешивания данного агента с пригодным не раздражающим вспомогательным веществом, которое является твердым при комнатной температуре, но жидким при ректальной температуре и, следовательно, расплавится в прямой кишке, чтобы высвободить лекарственное средство. К таким материалам относятся масло какао, пчелиный воск и полиэтиленгликоли.

[0498] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции также могут вводиться местно, особенно когда мишень лечения включает области или органы, легко доступные посредством местного применения, включая заболевания глаз, кожи или нижнего отдела кишечного тракта. Пригодные местные составы легко готовят для каждой из этих областей или органов.

[0499] Местное применение для нижних отделов кишечного тракта может осуществляться в виде ректальных суппозитория (см. выше) или пригодных составов для клизмы. Также могут быть применены трансдермальные пластыри для местного применения.

[0500] Для местного применения фармацевтически приемлемые композиции могут быть составлены в пригодной мази, содержащей активный компонент, суспендированный или растворенный в одном или большем количестве носителей. Носители для местного введения соединений по данному изобретению включают, помимо прочего, минеральное масло, жидкий вазелин, белый вазелин, пропиленгликоль, полиоксиэтилен, соединение полиоксипропилена, воск неионный эмульгированный и воду. В ином случае, предлагаемые фармацевтически приемлемые композиции могут быть составлены в пригодном лосьоне или креме, содержащем активные компоненты, суспендированные или растворенные в одном или большем количестве фармацевтически приемлемых носителей. Пригодные носители включают, помимо прочего, минеральное масло, моностеарат сорбитана, полисорбат 60, воск цетиловых эфиров, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и воду.

[0501] Для офтальмологического применения фармацевтически приемлемые композиции могут быть составлены в виде микронизированных суспензий в изотоническом стерильном физиологическом растворе с отрегулированным рН или, предпочтительно, в виде растворов в изотоническом стерильном физиологическом растворе с отрегулированным рН, как с консервантом так и без него, таким как хлорид бензилалкония. В альтернативном варианте для офтальмологического применения фармацевтически приемлемые композиции могут быть приготовлены в виде мази, такой как вазелин.

[0502] Фармацевтически приемлемые композиции также можно вводить с помощью назального аэрозоля или путем ингаляции. Такие композиции получают в соответствии с методами, хорошо известными в области получения фармацевтического состава, и могут быть получены в виде растворов в физиологическом растворе с использованием бензилового спирта или других подходящих консервантов, промоторов абсорбции для повышения биодоступности, фторуглеродов и/или других принятых солюбилизующих или диспергирующих агентов.

[0503] В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые композиции составлены для перорального введения. Такие составы можно вводить с пищей или без нее. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые композиции вводят без пищи. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые композиции вводят с пищей.

[0504] Количества соединений, которые можно комбинировать с материалами-носителями для получения композиции в разовой лекарственной форме, будут варьироваться в зависимости от подвергаемого лечению хозяина и конкретного способа введения. В некоторых

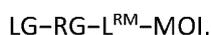
вариантах осуществления предлагаемые композиции составлены таким образом, что пациенту, получающему эти композиции, может вводиться доза соединения от 0,01 до 100 мг/кг массы тела/сутки.

[0505] Следует также понимать, что конкретная дозировка и схема лечения для любого конкретного пациента будут зависеть от множества факторов, включая активность конкретно применяемого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, диету, время введения, скорость выделения, комбинацию лекарственных средств и суждение лечащего врача и степень тяжести конкретного заболевания, которое подвергается лечению. Количество соединения по данному изобретению в композиции также будет зависеть от конкретного соединения в композиции.

[0506] Технологии (например, соединения, агенты, композиции) по данному изобретению можно применять для различных целей, например, для обнаружения, диагностики, терапии и т. д. В некоторых вариантах осуществления предлагаемые технологии являются пригодными для лечения патологических состояний, нарушений или заболеваний, например, различных раков. В некоторых вариантах осуществления предлагаемые технологии включают фрагменты, связывающие цель, например, фрагменты антительного агента, которые могут связывать антигены раковых клеток. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, связывающий цель, представляет собой фрагмент антительного агента. В некоторых вариантах осуществления антительный агент представляет собой терапевтический агент. Среди прочего, различные антительные агенты, в том числе многие из разработанных и/или одобренных (например, FDA, EMA и т. д.) в качестве терапевтических средств, могут применяться в соответствии с данным изобретением для обеспечения терапевтических средств против различных заболеваний.

[0507] Помимо прочего, в данном изобретении предлагаются следующие варианты осуществления:

1. Соединение, имеющее структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который

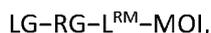
связывается с целевым агентом,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

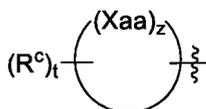
2. Соединение, имеющее структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой R^{LG}-L^{LG};



R^{LG} представляет собой , R^c-(Xaa)_z-, фрагмент нуклеиновой кислоты или низкомолекулярный фрагмент;

каждый Хаа независимо представляет собой остаток аминокислоты или аналог аминокислоты;

t равно 0-50;

z равно 1-50;

каждый R^c независимо представляет собой -L^a-R';

каждый из a и b независимо равен 1-200;

каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную и C₁-C₂₀ алифатических или C₁-C₂₀ гетероалифатических групп, содержащих 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на -Су-, -O-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -S(O)-, -S(O)2-, -S(O)2N(R')-, -C(O)S- или -C(O)O-;

каждый -Су- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную

моноциклическую, бициклическую или полициклическую группу, при этом каждое моноциклическое кольцо независимо выбрано из C₃₋₂₀ циклоалифатического кольца, C₆₋₂₀ арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, содержащего 1-10 гетероатомов, и 3-20-членного гетероциклического кольца, содержащего 1-10 гетероатомов;

L^{LG} представляет собой $-L^{LG1}-$, $-L^{LG1}-L^{LG2}-$, $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-$, или $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-$;

RG представляет собой $-L^{RG1}-L^{RG2}-$, $-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$, $-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$,
 $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$;

каждый из L^{LG1} , L^{LG2} , L^{LG3} , L^{LG4} , L^{RG1} , L^{RG2} и L^{RM} независимо представляет собой L;

каждый L независимо представляет собой ковалентную связь или двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу C₁₋₁₀₀, содержащую один или большее количество алифатических фрагментов, арильных фрагментов, гетероалифатических фрагментов, каждый из которых независимо содержит 1-20 гетероатомов, гетероароматических фрагментов, каждый из которых независимо содержит 1-20 гетероатомов, или любых комбинаций любого одного или большего количества таких фрагментов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на C₁₋₆ алкилен, C₁₋₆ алкенилен, двухвалентную C₁₋₆ гетероалифатическую группу, имеющую 1- 5 гетероатомов, $-C\equiv C-$, $-C_2-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, аминокислотный остаток или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2)_n]-$, где n представляет собой 1-20.

каждый R' независимо представляет собой $-R$, $-C(O)R$, $-CO_2R$ или $-SO_2R$;

каждый R независимо представляет собой $-H$ или необязательно замещенную группу, выбранную из C₁₋₃₀ алифатической группы, C₁₋₃₀ гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, C₆₋₃₀ арила, C₆₋₃₀ ариллифатической группы, C₆₋₃₀ арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, 5-30-членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, и 3-30-членного гетероцикла, содержащего 1-10 гетероатомов, или

две группы R, необязательно и независимо вместе взятые, образуют ковалентную связь, или:

две или большее количество групп R на одном и том же атоме, необязательно и независимо взятые вместе с атомом, образуют необязательно замещенное 3-30-членное моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо указанного атома, 0-10 гетероатомов; или

две или большее количество групп R на двух или большем количестве атомов, необязательно и независимо взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют необязательно замещенное 3-30-членное моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-10 гетероатомов; и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

3. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что LG представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом, при этом целевой агент представляет собой белковый агент.

4. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что LG представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом, при этом целевой агент представляет собой антительный агент.

5. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что LG представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, который связывается с Fc областью.

6. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что каждый L независимо представляет собой ковалентную связь или двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную алифатическую группу или гетероалифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на $\text{—C}\equiv\text{C—}$, —Cy— , $\text{—C(R')}_2\text{—}$, —O— , —S— , —S—S— , —N(R')— , —C(O)— , —C(S)— , —C(NR')— , —C(O)N(R')— , $\text{—C(O)C(R')}_2\text{N(R')—}$, —N(R')C(O)N(R')— , —N(R')C(O)O— , —S(O)— , $\text{—S(O)}_2\text{—}$, $\text{—S(O)}_2\text{N(R')—}$, —C(O)S— , —C(O)O— , —P(O)(OR')— , —P(O)(SR')— , —P(O)(R')— , —P(O)(NR')— , —P(S)(OR')— , —P(S)(SR')— , —P(S)(R')— , —P(S)(NR')— , —P(R')— , —P(OR')— , —P(SR')— , —P(NR')— , аминокислотный остаток или $\text{—[—O—C(R')}_2\text{—C(R')}_2\text{—}]_n\text{—}$, где n равно 1-20.

7. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что LG представляет собой $\text{R}^{\text{LG}}\text{—L}^{\text{LG}}\text{—}$, где R^{LG} представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, и где L^{LG} представляет собой L^{LG1} , где L^{LG1} представляет собой L.

8. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся

тем, что RG представляет собой или содержит $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$, где каждый из L^{LG2} , L^{LG3} , L^{LG4} , L^{RG1} , L^{RG2} независимо представляет собой L.

9. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что LG представляет собой $R^{LG}-L^{LG}-$, где R^{LG} представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, и где L^{LG} представляет собой $L^{LG1}-L^{LG2}-$.

10. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что RG представляет собой или содержит $-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$.

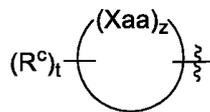
11. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что LG представляет собой $R^{LG}-L^{LG}-$, где R^{LG} представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, и где L^{LG} представляет собой $L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-$.

12. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что RG представляет собой или содержит $-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$.

13. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что LG представляет собой $R^{LG}-L^{LG}-$, где R^{LG} представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, и где L^{LG} представляет собой $L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-$.

14. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что RG представляет собой или содержит $-L^{RG1}-L^{RG2}-$.

15. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся



тем, что R^{LG} представляет собой $(R^c)_t$ или $R^c-(Xaa)_z-$.

16. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой или содержит WXL, где X представляет собой аминокислотный остаток.

17. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой или содержит AWWXLGELVW, где X представляет собой аминокислотный остаток.

18. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой или содержит DpLpAWXLGELVW, где X представляет собой аминокислотный остаток.

19. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой или содержит DCAWWXLGELVWCT, где два цистеиновых остатка

необязательно образуют дисульфидную связь, а X представляет собой аминокислотный остаток.

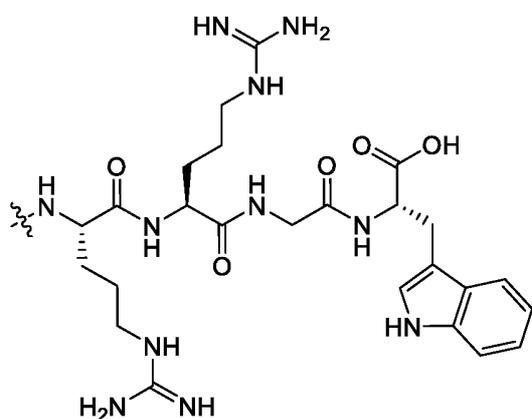
20. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой или содержит DpLpDCAWXLGELVWCT, где два цистеиновых остатка необязательно образуют дисульфидную связь, а X представляет собой аминокислотный остаток.

21. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой или содержит CDCAWXLGELVWCTC, где первый и последний цистеины, а также два цистеина в середине последовательности, каждый независимо и необязательно образуют дисульфидную связь, и X представляет собой аминокислотный остаток.

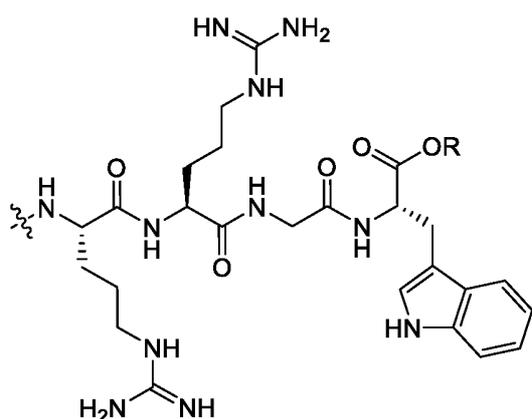
22. Соединение по любому из вариантов осуществления 16-21, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой или содержит WXL, где X представляет собой аминокислотный остаток.

23. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} выбирают из Таблицы А-1.

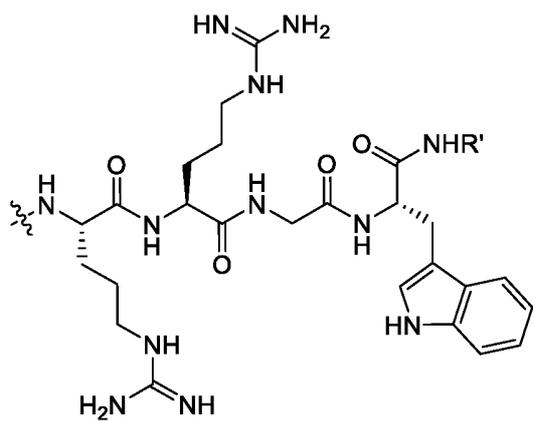
24. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



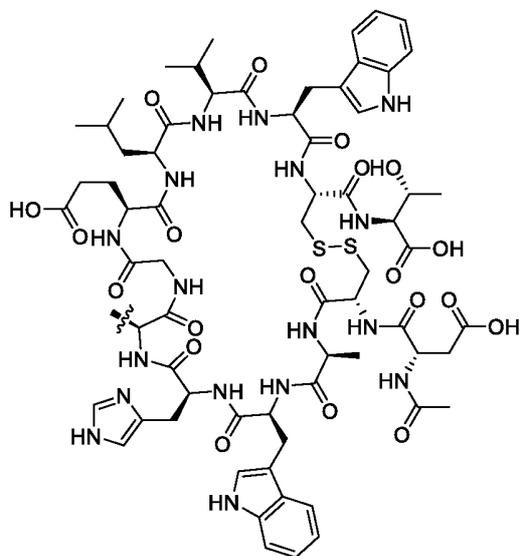
25. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



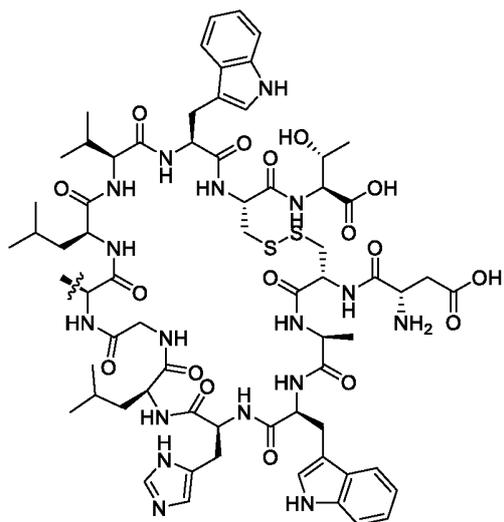
26. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



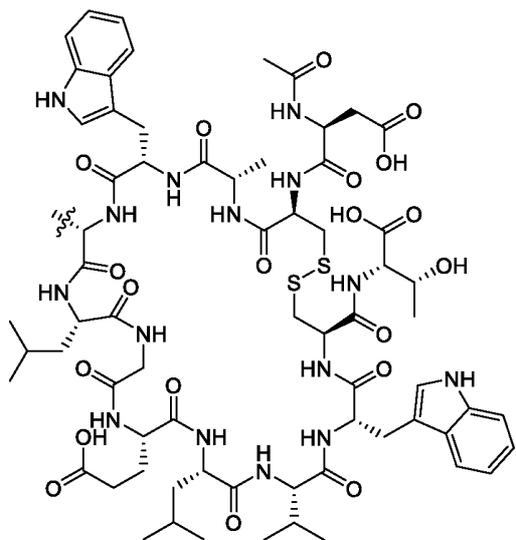
27. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



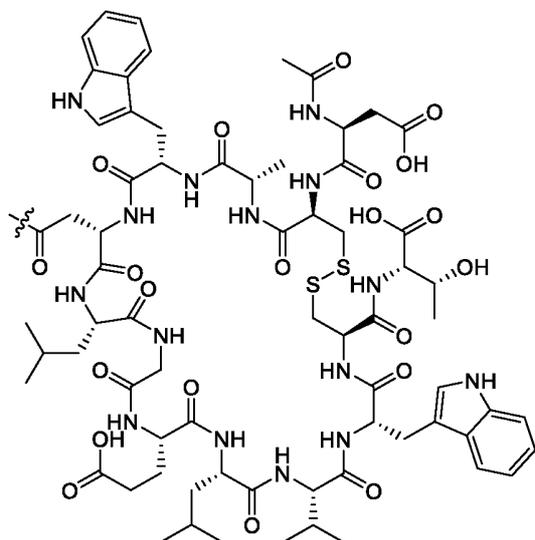
28. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



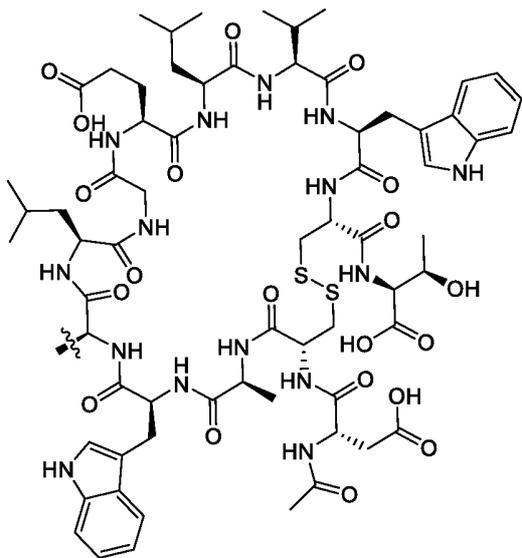
29. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



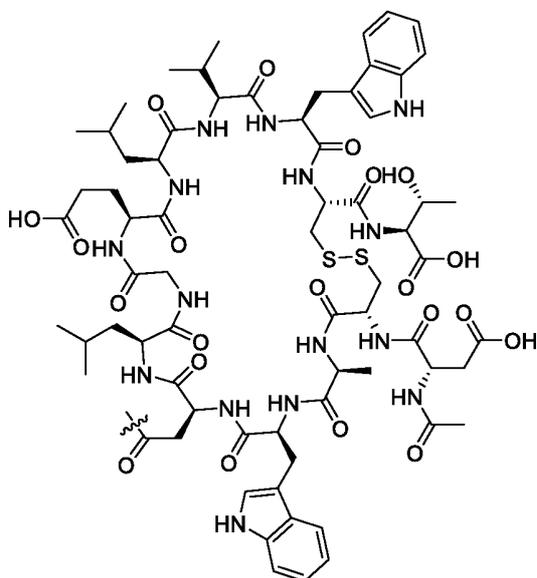
30. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



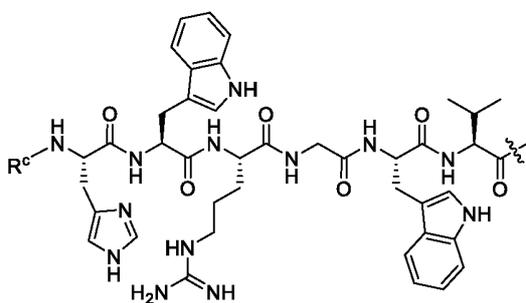
31. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



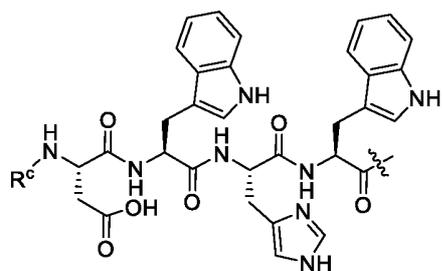
32. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



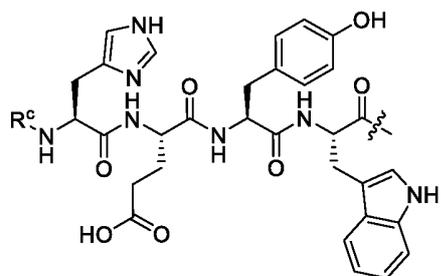
33. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



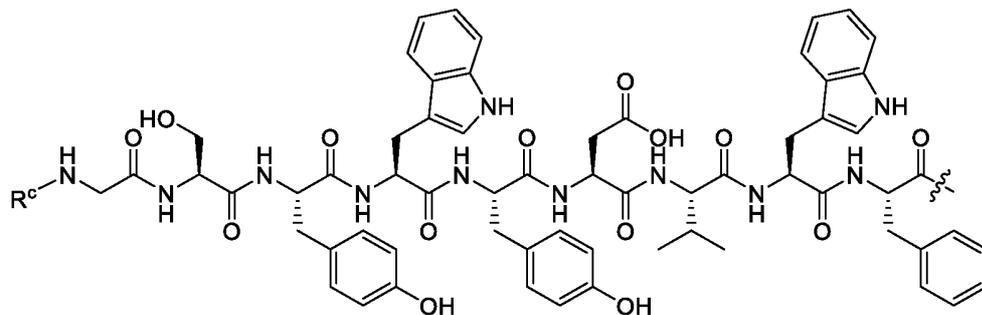
34. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



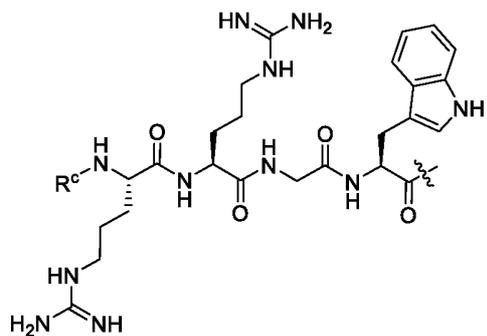
35. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



36. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



37. Соединение по варианту осуществления 15, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



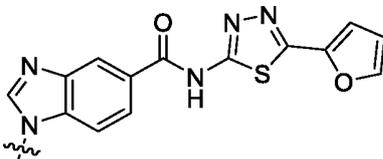
38. Соединение по любому из вариантов осуществления 33-37, отличающееся тем, что R^c представляет собой $R-C(O)-$, где R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу.

39. Соединение по любому из вариантов осуществления 33-37, отличающееся тем, что R^c

представляет собой $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})-$.

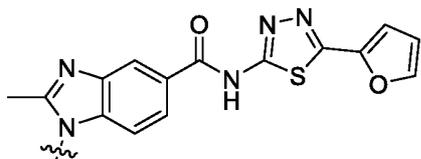
40. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-14, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой низкомолекулярный фрагмент

41. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

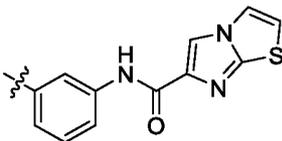


необязательно замещенный

42. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

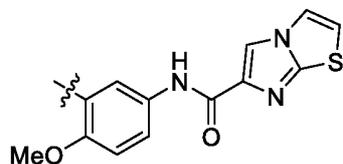


43. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

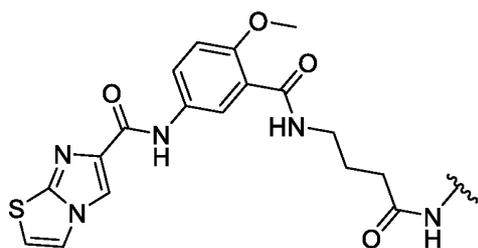


необязательно замещенный

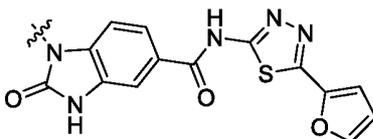
44. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



45. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

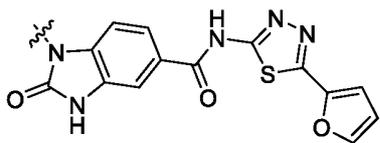


46. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

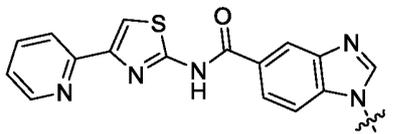


необязательно замещенный

47. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

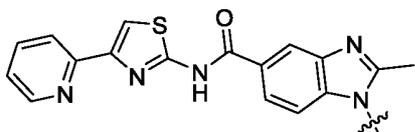


48. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

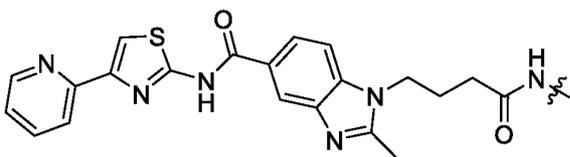


необязательно замещенный

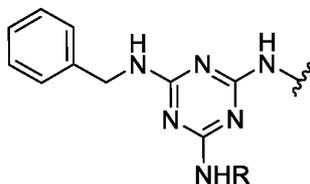
49. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



50. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

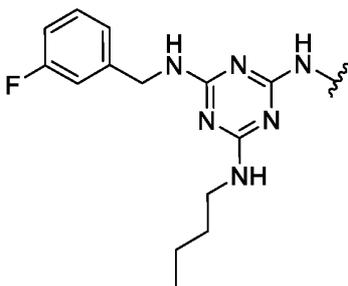


51. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

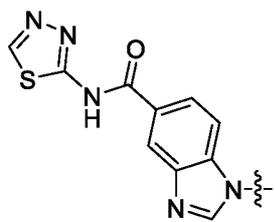


необязательно замещенный

52. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

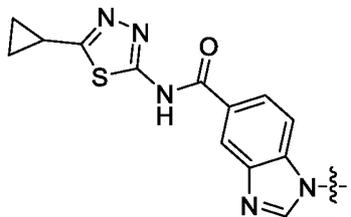


53. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

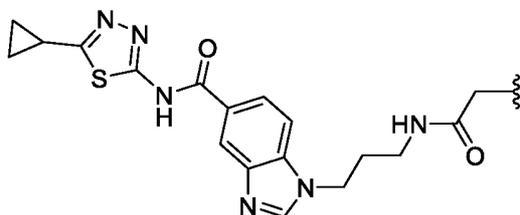


необязательно замещенный

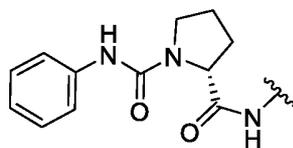
54. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



55. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой

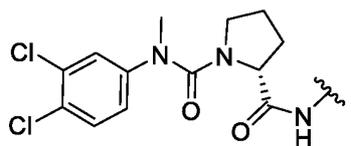


56. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



необязательно замещенный

57. Соединение по варианту осуществления 40, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой



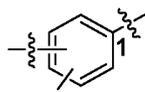
58. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{LG1} представляет собой ковалентную связь.

59. Соединение по любому из вариантов осуществления 1–14, отличающееся тем, что L^{LG1} представляет собой или содержит $-(CH_2CH_2O)_n-$.

60. Соединение по любому из вариантов осуществления 1–14, отличающееся тем, что L^{LG1} представляет собой или содержит $-(CH_2)_n-O-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_n-$, где каждый n независимо равен 1-10, и каждый $-CH_2-$ независимо необязательно замещен.

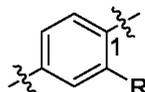
61. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{LG2} представляет собой или содержит $-NR'-$.
62. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{LG2} представляет собой или содержит $-C(O)-$.
63. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{LG2} представляет собой или содержит $-NR'C(O)-$.
64. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{LG2} представляет собой или содержит $-(CH_2)_n-OC(O)N(R')-$, где $-(CH_2)_n-$ является необязательно замещенным.
65. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-60, отличающееся тем, что L^{LG2} представляет собой ковалентную связь.
66. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-60, отличающееся тем, что L^{LG2} представляет собой $-CH_2N(CH_2CH_2CH_2S(O)_2OH)-C(O)-$.
67. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-60, отличающееся тем, что L^{LG2} представляет собой $-C(O)-NHCH_2-$.
68. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-60, отличающееся тем, что L^{LG2} представляет собой $-C(O)O-CH_2-$.
69. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-60, отличающееся тем, что L^{LG2} представляет собой $-NH-C(O)O-CH_2-$.
70. Соединение по любому из вариантов осуществления 62-63 и 66-69, отличающееся тем, что $-C(O)-$ связан с L^{LG3} .
71. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{LG3} представляет собой или содержит необязательно замещенное арильное кольцо.
72. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{LG3} представляет собой или содержит необязательно замещенное фенильное кольцо.
73. Соединение по любому из вариантов осуществления 71-72, отличающееся тем, что кольцо является замещенным, и один или большее количество заместителей независимо представляют собой электроноакцепторную группу.
74. Соединение по варианту осуществления 73, отличающееся тем, что заместитель представляет собой $-F$.
75. Соединение по варианту осуществления 73, отличающееся тем, что заместитель представляет собой $-NO_2$.

76. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-75, отличающееся тем, что L^{LG3}



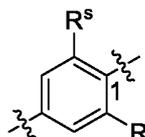
представляет собой $(R^s)_s$, где s равно 0-4, каждый R^s независимо представляет собой галоген, $-NO_2$, $-L-R'$, $-C(O)-L-R'$, $-S(O)-L-R'$, $-S(O)_2-L-R'$, или $-P(O)(-L-R')_2$.

77. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-75, отличающееся тем, что L^{LG3}



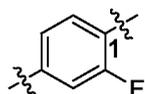
представляет собой R^s .

78. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-75, отличающееся тем, что L^{LG3}



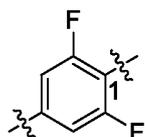
представляет собой R^s .

79. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-71, отличающееся тем, что L^{LG3}



представляет собой F .

80. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-71, отличающееся тем, что L^{LG3}



представляет собой F .

81. Соединение по любому из вариантов осуществления 76-80, отличающееся тем, что $C1$ связан с L^{LG4} .

82. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-70, отличающееся тем, что L^{LG3} представляет собой ковалентную связь.

83. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{LG4} представляет собой или содержит $-O-$.

84. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{LG4} представляет собой или содержит $-NR'-$.

85. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-83, отличающееся тем, что L^{LG4} представляет собой $-O-$.

86. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-83, отличающееся тем, что L^{LG4} представляет собой $-NH-$.

87. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-83, отличающееся тем, что L^{LG4} представляет собой ковалентную связь.

88. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{RG1} представляет собой ковалентную связь.

89. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-88, отличающееся тем, что L^{RG1} представляет собой или содержит $-S(O)_2-$.

90. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{RG2} представляет собой или содержит $-C(O)-$.

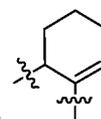
91. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{RG2} представляет собой или содержит $-L^{RG3}-C(=CR^{RG1}R^{RG2})-CR^{RG3}R^{RG4}-$, где каждый из R^{RG1} , R^{RG2} , R^{RG3} и R^{RG4} независимо представляет собой $-L-R'$, и L^{RG3} представляет собой $-C(O)-$, $-C(O)O-$, $-C(O)N(R')-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, или $-P(O)(N(R')_2)-$.

92. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{RG2} представляет собой или содержит необязательно замещенный $-L^{RG3}-C(=CHR^{RG2})-CHR^{RG4}-$.

93. Соединение по варианту осуществления 91 или 92, отличающееся тем, что L^{RG2} и R^{RG4} вместе с своими промежуточными атомами образуют необязательно замещенное 3-10-членное моноциклическое или бициклическое кольцо, содержащее 0-5 гетероатомов.

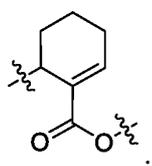
94. Соединение по варианту осуществления 91 или 92, отличающееся тем, что

$-C(=CHR^{RG2})-CHR^{RG4}$ или $-C(=CR^{RG1}R^{RG2})-CR^{RG3}R^{RG4}$ является необязательно замещенным



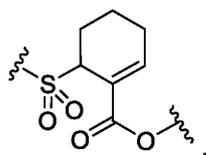
95. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-89, отличающееся тем, что L^{RG2} представляет собой $-C(O)-$.

96. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-89, отличающееся тем, что

L^{RG2} представляет собой 

97. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-89, отличающееся тем, что $-L^{LG1}-L^{RG2}-$ представляет собой $-C(O)-$.

98. Соединение по любому из вариантов осуществления 1-89, отличающееся тем, что



-L^{LG1}-L^{RG2}- представляет собой

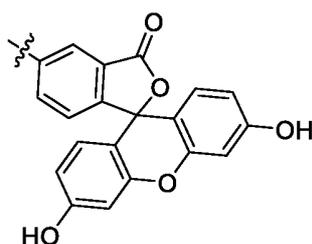
99. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{PM} представляет собой или содержит -(CH₂CH₂O)_n-.

100. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что L^{PM} представляет собой или содержит -(CH₂)_n-O-(CH₂CH₂O)_n-(CH₂)_n-, где каждый n независимо равен 1-10, и каждый -CH₂- независимо необязательно замещен.

101. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит обнаруживаемый фрагмент.

102. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит флуорофор.

103. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит



104. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит терапевтический агент.

105. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит цитотоксический агент.

106. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент, который может связываться с белком, нуклеиновой кислотой или клеткой.

107. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент,

который может связываться с иммунными клетками.

108. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит низкомолекулярный фрагмент.

109. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит пептидный фрагмент.

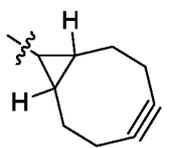
110. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит реакционный фрагмент.

111. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит реакционный фрагмент, пригодный для биоортогональной реакции.

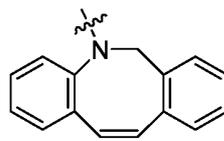
112. Соединение по любому из вариантов осуществления 110-111, отличающееся тем, что реакционный фрагмент представляет собой или содержит $-N_3$.

113. Соединение по любому из вариантов осуществления 110-111, отличающееся тем, что реакционный фрагмент представляет собой или содержит алкиновый фрагмент.

114. Соединение по любому из вариантов осуществления 110-111, отличающееся тем, что реакционный фрагмент представляет собой или содержит необязательно замещенный



115. Соединение по любому из вариантов осуществления 110-111, отличающееся тем, что



реакционный фрагмент представляет собой или содержит

116. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что соединение не содержит расщепляемых групп, расщепление которых может высвободить LG, за исключением одной или большего количества, необязательно в RG.

117. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что указанное соединение не содержит $-S-S-$, ацетальных или иминных групп, за

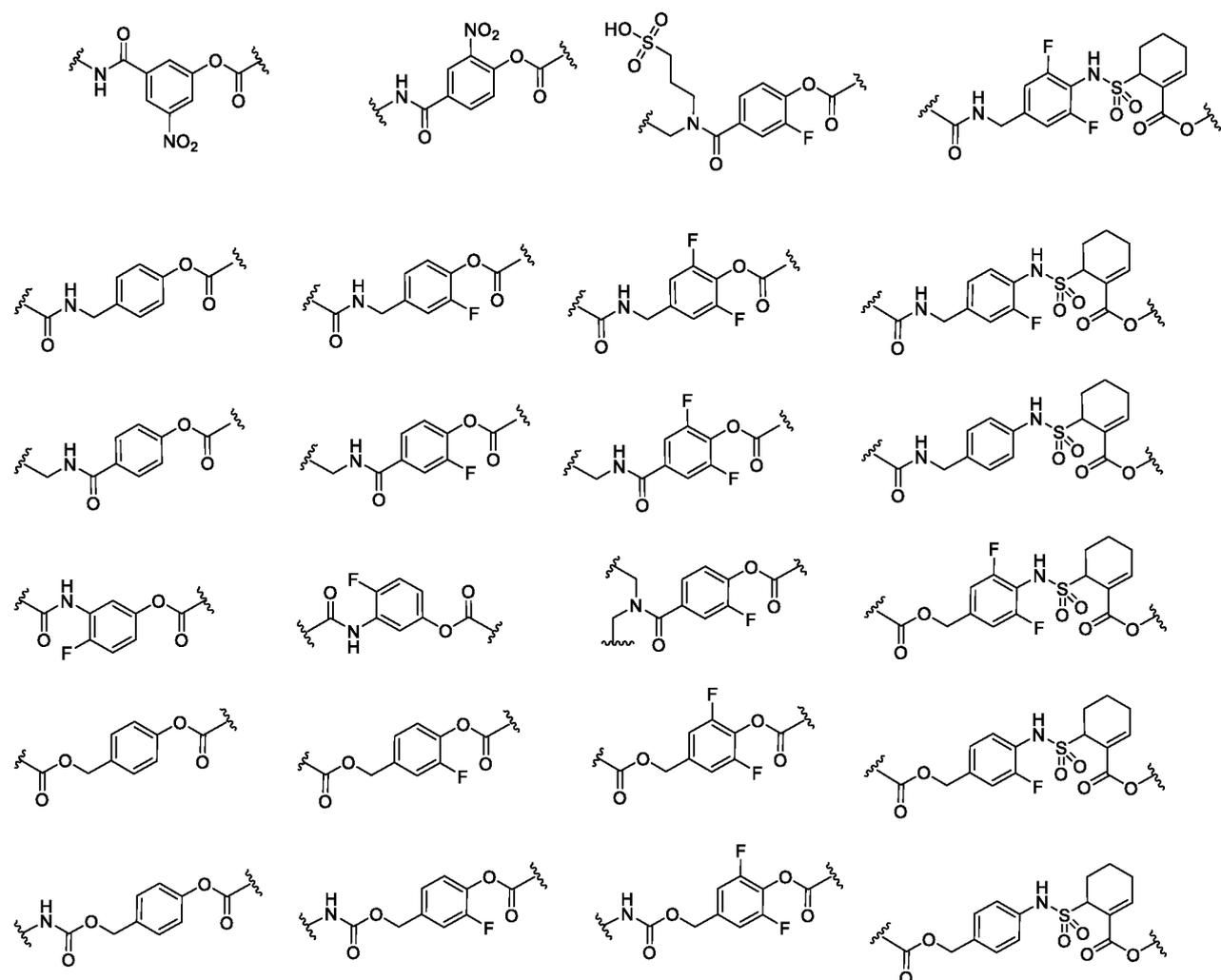
исключением групп RG или MOI.

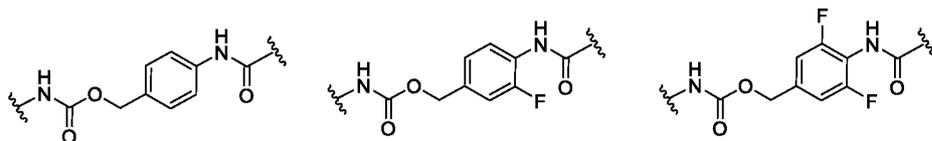
118. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что указанное соединение не содержит –S–S–, ацетальных или иминных групп, за исключением того, что соединение может иметь –S–S–, образованный двумя аминокислотными остатками.

119. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что указанное соединение не содержит –S–S–, ацетальных или иминных групп, за исключением того, что соединение может иметь –S–S–, образованный остатками цистеина.

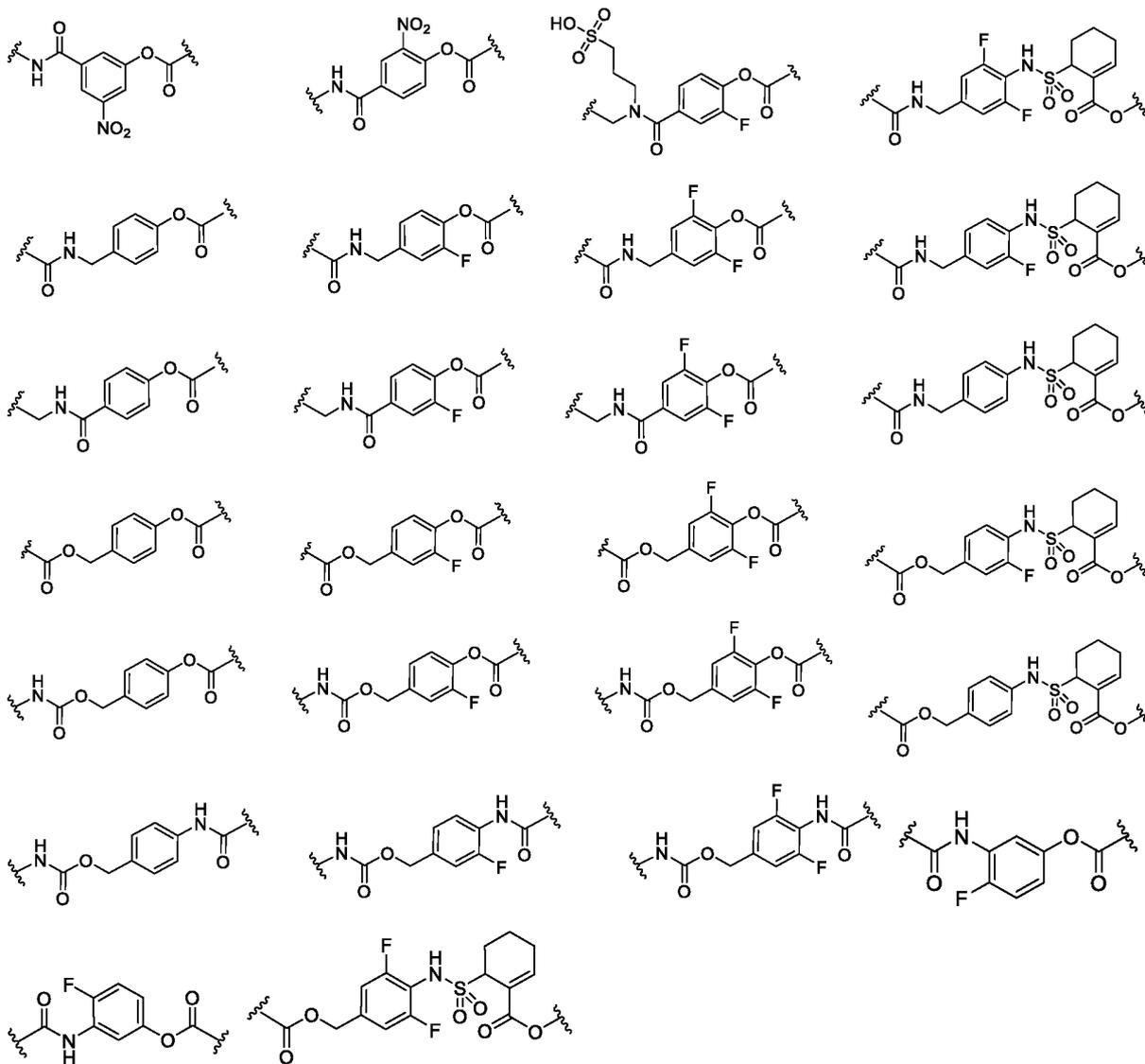
120. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что указанное соединение не содержит –S–S–, ацетальных или иминных групп.

121. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что указанное соединение содержит одну или большее количество групп, выбранных из:





122. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-RG-$ представляет собой структуру, выбранную из:



123. Соединение, выбранное из Таблицы 1а, или его соль.

124. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-10 или его соль.

125. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-12 или его

соль.

126. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-17 или его соль.

127. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-24 или его соль.

128. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-25 или его соль.

129. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-35 или его соль.

130. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-36 или его соль.

131. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-37 или его соль.

132. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-38 или его соль.

133. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-39 или его соль.

134. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-40 или его соль.

135. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-40 или его соль.

136. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-44 или его соль.

137. Соединение, при этом указанное соединение представляет собой соединение I-49 или его соль.

138. Соединение, выбранное из Таблицы 1b, или его соль.

139. Соединение, выбранное из Таблицы 1c, или его соль.

140. Соединение, содержащее:

первую группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом,

реакционную группу;

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно один или большее количество линкерных фрагментов;

при этом реакционная группа расположена между первой группой и представляющим интерес фрагментом и связана с первой группой и представляющим интерес фрагментом независимо и необязательно через линкерный фрагмент.

141. Соединение по варианту осуществления 140, отличающееся тем, что реакционная группа расположена между первой группой и представляющим интерес фрагментом и связана с первой группой и представляющим интерес фрагментом независимо и необязательно через линкерный фрагмент.

142. Соединение по любому из вариантов осуществления 140-141, отличающееся тем, что первая группа представляет собой LG в любом из вариантов осуществления 1-139.

143. Соединение по любому из вариантов осуществления 140-142, отличающееся тем, что реакционная группа представляет собой RG в любом из вариантов осуществления 1-139.

144. Соединение по любому из вариантов осуществления 140-143, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой представляющий интерес фрагмент в любом из вариантов осуществления 1-139.

145. Соединение по любому из вариантов осуществления 140-144, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой соединение по любому из вариантов осуществления 1-139.

146. Соединение по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающееся тем, что указанное соединение содержит два или большее количество фрагментов, связывающих цель.

147. Способ, включающий этапы:

1) приведение в контакт целевого агента с партнером по реакции, включающее:

первую группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом,

реакционную группу;

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно один или большее количество фрагментов;

2) формирование агента, содержащего:

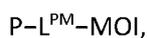
фрагмент целевого агента;

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно один или большее количество линкерных фрагментов.

148. Способ по варианту осуществления 147, отличающийся тем, что реакционная группа расположена между первой группой и представляющим интерес фрагментом и связана с первой группой и представляющим интерес фрагментом независимо и необязательно через линкерный фрагмент.

149. Способ приготовления агента, имеющего структуру P-I:



(P-I)

или его соль, где

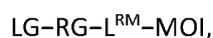
P представляет собой фрагмент целевого агента;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

включающий этапы:

1) приведение в контакт целевого агента с партнером по реакции, имеющим структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес; а также

2) образование агента, имеющего структуру формулы P-I:

150. Способ приготовления агента, имеющего структуру P-II:



(P-II)

где:

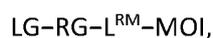
P-N представляет собой фрагмент белкового агента, содержащий остаток лизина;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес;

способ, включающий:

приведение в контакт P-N с партнером по реакции, имеющим структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой группу, содержащую белок-связывающий фрагмент, который связывается с P-N,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

151. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что целевой агент представляет собой или содержит белковый агент.

152. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что целевой агент представляет собой или содержит антительный агент.

153. Способ по варианту осуществления 152, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K246 или K248 или в соответствующем

местоположении.

154. Способ по варианту осуществления 152, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K288 или K290 или в соответствующем местоположении.

155. Способ по варианту осуществления 152, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K251 или K253 тяжелой цепи IgG2 или в соответствующем местоположении.

156. Способ по варианту осуществления 152, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K239 или K241 тяжелой цепи IgG4 или в соответствующем местоположении.

157. Способ по варианту осуществления 152, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K317 или в соответствующем местоположении.

158. Способ по варианту осуществления 152, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту на остатке(ах) тяжелой цепи над остатком(ами) легкой цепи.

159. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что целевой агент представляет собой или содержит антительный агент IgG.

160. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что целевой агент представляет собой или содержит Fc область.

161. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что партнером по реакции является соединение по любому из вариантов осуществления 1-146.

162. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что этапы приведения в контакт и образования выполняются в одном сосуде.

163. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что этапы приведения в контакт и образования выполняются за одну химическую реакцию.

164. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что указанный способ не включает реакции, направленные главным образом на расщепление функциональной группы в агенте, содержащем фрагмент целевого агента.

165. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что указанный способ не включает реакции, направленные главным образом на расщепление функциональной группы в L^{RM} или L^{PM}.

166. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что указанный способ не включает реакции, направленные главным образом на восстановление функциональной группы в агенте, содержащем фрагмент целевого агента.
167. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что указанный способ не включает реакции, направленные главным образом на восстановление функциональной группы в L^{RM} или L^{PM} .
168. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что указанный способ не включает реакции, направленные главным образом на окисление функциональной группы в агенте, содержащем фрагмент целевого агента.
169. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что указанный способ не включает реакции, направленные главным образом на окисление функциональной группы в L^{RM} или L^{PM} .
170. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что указанный способ не включает реакции, направленные главным образом на гидролиз функциональной группы в агенте, содержащем фрагмент целевого агента.
171. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что указанный способ не включает реакции, направленные главным образом на гидролиз функциональной группы в L^{RM} или L^{PM} .
172. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что указанный способ не включает реакции, направленные главным образом на гидролиз сложноэфирной группы в L^{RM} или L^{PM} .
173. Способ по любому из вариантов осуществления 164-172, отличающийся тем, что фрагмент целевого агента представляет собой фрагмент белкового агента.
174. Способ по любому из вариантов осуществления 164-172, отличающийся тем, что фрагмент целевого агента представляет собой фрагмент антительного агента.
175. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что приведение в контакт осуществляют в условиях и в течение времени, достаточных для того, чтобы лизиновый остаток целевого агента прореагировал с реакционной группой партнера по реакции.
176. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что приведение в контакт осуществляют в условиях и в течение времени, достаточных для того, чтобы лизиновый остаток целевого агента прореагировал и образовал связь с атомом RG и высвободил LG.

177. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что агент и партнер по реакции имеют один и тот же представляющий интерес фрагмент.

178. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит антительный агент.

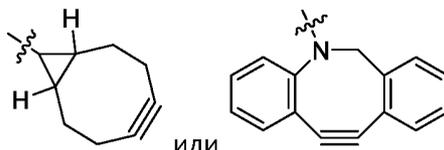
179. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит реакционный фрагмент.

180. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит азид.

181. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит алкин.

182. Способ по любому из вариантов осуществления 147-181, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит алкин.

183. Способ по варианту осуществления 182, отличающийся тем, что представляющий интерес



184. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, включающий взаимодействие первого агента, содержащего первый реакционный фрагмент, в представляющем интерес первом фрагменте, со вторым агентом, содержащим второй реакционный фрагмент.

185. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что второй агент содержит второй реакционный фрагмент и пептидный фрагмент.

186. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что второй агент содержит второй реакционный фрагмент и белковый фрагмент.

187. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающийся тем, что второй агент содержит второй реакционный фрагмент и фрагмент антительного агента.

188. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, включающий взаимодействие первого агента, содержащего первый реакционный фрагмент, в представляющем интерес первом фрагменте, со вторым агентом, содержащим второй реакционный фрагмент во втором представляющем интерес фрагменте.

189. Способ по любому из вариантов осуществления 184-188, отличающийся тем, что первый агент представляет собой продукт способа по любому из вариантов осуществления 147-183.

190. Способ по любому из вариантов осуществления 184-188, отличающийся тем, что второй

агент представляет собой продукт способа по любому из вариантов осуществления 147-183.

191. Способ по любому из вариантов осуществления 184-188, отличающийся тем, что каждый из первого и второго агентов независимо является продуктом способа по любому из вариантов осуществления 147-183.

192. Способ, включающий взаимодействие первого агента, содержащего первый реакционный фрагмент в первом представляющем интерес фрагменте, со вторым агентом, содержащим второй реакционный фрагмент во втором представляющем интерес фрагменте, при этом первый агент получают с помощью способа по любому из вариантов осуществления 147-183.

193. Способ, включающий взаимодействие первого агента, содержащего первый реакционный фрагмент в первом представляющем интерес фрагменте, со вторым агентом, содержащим второй реакционный фрагмент во втором представляющем интерес фрагменте, отличающийся тем, что второй агент получают с помощью способа по любому из вариантов осуществления 147-183.

194. Способ, включающий взаимодействие первого агента, содержащего первый реакционный фрагмент в первом представляющем интерес фрагменте, со вторым агентом, содержащим второй реакционный фрагмент во втором представляющем интерес фрагменте, отличающийся тем, что каждый из первого и второго агентов независимо получают с помощью способа по любому из вариантов осуществления 147-183.

195. Способ по любому из вариантов осуществления 184-194, отличающийся тем, что каждый из первого и второго агентов независимо имеет структуру формулы P-I или P-II или их соли.

196. Способ по любому из вариантов осуществления 184- 195, отличающийся тем, что фрагмент целевого агента первого агента представляет собой фрагмент антительного агента.

197. Способ по любому из вариантов осуществления 184- 196, отличающийся тем, что фрагмент целевого агента второго агента представляет собой фрагмент антительного агента.

198. Способ по любому из вариантов осуществления 196-197, отличающийся тем, что первый и второй фрагменты целевого агента независимо друг от друга представляют собой фрагменты антительного агента к разным антигенам.

199. Способ по любому из вариантов осуществления 196-197, отличающийся тем, что фрагменты первого и второго целевого агента независимо друг от друга представляют собой фрагменты антительного агента к разным белкам.

200. Способ по любому из вариантов осуществления 184- 199, отличающийся тем, что первый агент содержит фрагмент агента анти-CD20.

201. Способ по любому из вариантов осуществления 184- 199, отличающийся тем, что первый

агент содержит ритуксимаб.

202. Способ по любому из вариантов осуществления 184- 199, отличающийся тем, что первый агент содержит трастузумаб.

203. Способ по любому из вариантов осуществления 184- 202, отличающийся тем, что первый агент содержит фрагмент агента анти-CD3.

204. Способ по любому из вариантов осуществления 184- 202, отличающийся тем, что второй агент содержит scFv.

205. Способ по любому из вариантов осуществления 184-202, отличающийся тем, что второй агент содержит пептид, последовательность которого представляет собой SEQ ID NO: 1, или его фрагмент.

206. Способ по любому из вариантов осуществления 184- 202, отличающийся тем, что второй агент содержит цетуксимаб.

207. Способ по любому из вариантов осуществления 184-206, отличающийся тем, что один из первого и второго реакционных фрагментов представляет собой (G)_n или содержит (G)_n, где n равно 1-10, а другой фрагмент представляет собой или содержит LPXTG, где X представляет собой аминокислотный остаток.

208. Способ по любому из вариантов осуществления 184-206, отличающийся тем, что первый реакционный фрагмент представляет собой (G)_n или содержит (G)_n, где n равно 1-10, а второй реакционный фрагмент представляет собой или содержит LPXTG, где X представляет собой аминокислотный остаток.

209. Способ по любому из вариантов осуществления 184-206, отличающийся тем, что второй реакционный фрагмент представляет собой (G)_n или содержит (G)_n, где n равно 1-10, а первый реакционный фрагмент представляет собой или содержит LPXTG, где X представляет собой аминокислотный остаток.

210. Способ по любому из вариантов осуществления 207- 209, отличающийся тем, что n равно 2.

211. Способ по любому из вариантов осуществления 207- 209, отличающийся тем, что n равно 3.

212. Способ по любому из вариантов осуществления 207- 209, отличающийся тем, что n равно 4.

213. Способ по любому из вариантов осуществления 207- 209, отличающийся тем, что n равно 5.

214. Способ по любому из вариантов осуществления 207-213, отличающийся тем, что реакционный фрагмент, который представляет собой или содержит LPXTG, представляет собой или содержит LPXTG-(X)_n, где каждый X независимо представляет собой аминокислотный остаток, где n равно 1-10.

215. Способ в соответствии с вариантом осуществления 214, отличающийся тем, что n в (X)_n равно 1.

216. Способ в соответствии с вариантом осуществления 214, отличающийся тем, что n в (X)_n равно 2.

217. Способ в соответствии с вариантом осуществления 214, отличающийся тем, что n в (X)_n равно 3.

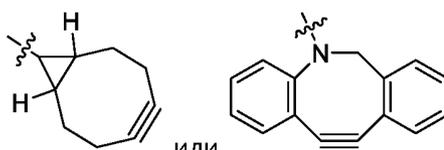
218. Способ в соответствии с вариантом осуществления 214, отличающийся тем, что n в (X)_n равно 4.

219. Способ в соответствии с вариантом осуществления 214, отличающийся тем, что n в (X)_n равно 5.

220. Способ по любому из вариантов осуществления 207- 219, отличающийся тем, что LPXTG представляет собой LPETG.

221. Способ по любому из вариантов осуществления 184-206, отличающийся тем, что один из первого и второго реакционных фрагментов представляет собой или содержит -N₃, а другой представляет собой или содержит алкин.

222. Способ по любому из вариантов осуществления 184-206, отличающийся тем, что один из первого и второго реакционных фрагментов представляет собой или содержит -N₃, а другой



представляет собой или содержит

или

223. Способ по любому из вариантов осуществления 184-222, отличающийся тем, что продукт, образованный реакцией первого и второго агентов, представляет собой агент формулы P-I или P-II или его соль, при этом фрагмент целевого агента представляет собой или является производным фрагмента целевого агента первого или второго агентов, в то время как представляющий интерес фрагмент является производным фрагмента целевого агента другого из первого или второго агентов.

224. Продукт, полученный способом по любому из вариантов осуществления 147- 223.

225. Продукт по варианту осуществления 224, отличающийся тем, что указанный продукт

представляет собой или содержит агент формулы P-I или P-II или его соль.

226. Продукт по варианту осуществления 224, отличающийся тем, что указанный продукт представляет собой композицию, содержащую агент формулы P-I или P-II или его соль.

227. Продукт по любому из вариантов осуществления 225-226, отличающийся тем, что указанный агент не содержит $-S-Cy-$, при этом $-Cy-$ представляет собой необязательно замещенное 5-членное моноциклическое кольцо, не содержит $-S-S-$, который не образован цистеиновыми остатками и не содержит $-SH$ или его солевую форму, которая не является цистеиновым остатком.

228. Продукт по любому из вариантов осуществления 224-226, отличающийся тем, что указанный продукт представляет собой фармацевтическую композицию.

229. Композиция содержит множество агентов, каждый из которых независимо содержит:

фрагмент целевого агента;

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент;

при этом агенты из множества имеют одинаковый или по существу одинаковый фрагмент целевого агента и общую модификацию независимо по меньшей мере в одном общем местоположении; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент, представляют собой агенты из множества.

230. Композиция содержит множество агентов, каждый из которых независимо содержит:

фрагмент белкового агента;

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент белкового агента и представляющий интерес фрагмент;

при этом фрагменты белкового агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность, и агенты из множества независимо друг от друга имеют общую модификацию по меньшей мере одного общего аминокислотного остатка фрагментов белкового агента; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент белкового агента, который содержит общую аминокислотную последовательность, и представляющий интерес

фрагмент, представляют собой агенты из множества.

231. Композиция содержит множество агентов, каждый из которых независимо содержит:

фрагмент антительного агента,

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент антительного агента и представляющий интерес фрагмент;

при этом фрагменты антительного агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность или могут связываться с общим антигеном, и агенты из множества независимо друг от друга имеют общую модификацию по меньшей мере одного общего аминокислотного остатка фрагментов белкового агента; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент антительного агента, который содержит общую аминокислотную последовательность или может связываться с общим антигеном, и представляющий интерес фрагмент, представляют собой агенты из множества.

232. Композиция по варианту осуществления 231, отличающаяся тем, что фрагменты антительного агента из множества агентов могут связываться с общим антигеном.

233. Композиция по варианту осуществления 231, отличающаяся тем, что фрагменты антительного агента из множества агентов могут связываться с двумя или большим количеством различных антигенов.

234. Композиция по любому из вариантов осуществления 231-233, отличающаяся тем, что фрагменты антительного агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность.

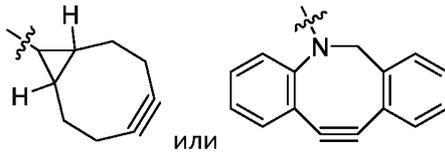
235. Композиция по любому из вариантов осуществления 231-233, отличающаяся тем, что фрагменты антительного агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность в Fc-области.

236. Композиция по любому из вариантов осуществления 231-233, отличающаяся тем, что фрагменты антительного агента из множества агентов содержат общую Fc-область.

237. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что фрагмент целевого, белкового или антительного агента представляет собой или содержит фрагмент агента анти-CD20.

238. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что фрагмент целевого, белкового или антительного агента представляет собой или содержит фрагмент агента анти-CD20.

239. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что фрагмент целевого, белкового или антительного агента представляет собой или содержит ритуксимаб.
240. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что фрагмент целевого, белкового или антительного агента представляет собой или содержит трастузумаб.
241. Композиция по любому из вариантов осуществления 233- 236, отличающаяся тем, что фрагменты антительного агента из множества агентов представляют собой фрагменты IVIG.
242. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, множество агентов составляют общую представляющую интерес группу.
243. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-242, отличающаяся тем, что каждый агент из множества независимо представляет собой агент формулы P-I или P-II или его соль.
244. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит обнаруживаемый фрагмент.
245. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит реакционный фрагмент.
246. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит реакционный фрагмент, который не реагирует с фрагментом целевого агента, фрагментом белкового агента или фрагментом антительного агента.
247. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит реакционный фрагмент, который не реагирует с фрагментом антительного агента.
248. Композиция по варианту осуществления 245, отличающаяся тем, что реакционный фрагмент представляет собой -N3.
249. Композиция по варианту осуществления 245, отличающаяся тем, что реакционный фрагмент представляет собой -Ξ-.
250. Композиция по варианту осуществления 245, отличающаяся тем, что реакционный



фрагмент представляет собой

или

251. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент терапевтического агента.

252. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент лекарственного средства.

253. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит цитотоксический фрагмент.

254. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит пептидный фрагмент.

255. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит белковый фрагмент.

256. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит антительный фрагмент.

257. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит агент scFv.

258. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит анти-CD3 агент.

259. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит пептид, последовательность которого представляет собой SEQ ID NO: 1 или его фрагмент.

260. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-243, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит цетуксимаб.

261. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-260, отличающаяся тем, что линкер не является природным аминокислотным пептидным линкером.

262. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-261, отличающаяся тем, что линкер представляет собой или содержит LPXT(G)_n, где n равно 1-10.

263. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-261, отличающаяся тем, что линкер представляет собой или содержит LPET(G)_n, где n равно 1-10.

264. Композиция по варианту осуществления 262 или 263, отличающаяся тем, что n равно 1.
265. Композиция по варианту осуществления 262 или 263, отличающаяся тем, что n равно 2.
266. 270Композиция по варианту осуществления 262 или 263, отличающаяся тем, что n равно 3.
267. Композиция по варианту осуществления 262 или 263, отличающаяся тем, что n равно 4.
268. Композиция по варианту осуществления 262 или 263, отличающаяся тем, что n равно 5.
269. Композиция по любому из вариантов осуществления 229-268, отличающаяся тем, что линкер содержит один или большее количество $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$.
270. Композиция по любому из вариантов осуществления 229- 269, отличающаяся тем, что линкер содержит триазоловое кольцо.
271. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-270, отличающаяся тем, что общая аминокислотная последовательность содержит около 1-500 или большее количество аминокислотных остатков.
272. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-270, отличающаяся тем, что общая аминокислотная последовательность содержит 10 или большее количество аминокислотных остатков.
273. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-270, отличающаяся тем, что общая аминокислотная последовательность содержит около 20 или большее количество аминокислотных остатков.
274. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-270, отличающаяся тем, что общая аминокислотная последовательность содержит около 50 или большее количество аминокислотных остатков.
275. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-274, отличающаяся тем, что общая аминокислотная последовательность содержит один или большее количество аминокислотных остатков, выбранных из K246 и K248 тяжелой цепи IgG1 и соответствующих им аминокислотных остатков, K251 и K253 тяжелой цепи IgG2 и соответствующих им аминокислотных остатков, и K239 и K241 тяжелой цепи IgG4 и соответствующих им аминокислотных остатков.
276. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-275, отличающаяся тем, что общая аминокислотная последовательность составляет по меньшей мере 10%-100% последовательности фрагмента белкового или антительного агента.
277. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-275, отличающаяся тем, что общая аминокислотная последовательность составляет по меньшей мере 50%-100% последовательности фрагмента белкового или антительного агента.

278. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-275, отличающаяся тем, что фрагменты белкового агента или фрагменты антительного агента из множества агентов имеют по меньшей мере 50% гомологии аминокислотной последовательности.
279. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-275, отличающаяся тем, что фрагменты белкового агента или фрагменты антительного агента из множества агентов имеют по меньшей 80% гомологии аминокислотной последовательности.
280. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-275, отличающаяся тем, что фрагменты белкового агента или фрагменты антительного агента из множества агентов имеют по меньшей 90% гомологии аминокислотной последовательности.
281. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что обычная модификация представляет собой или содержит представляющий интерес фрагмент и, необязательно, линкер.
282. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что все общие модификации содержат общий представляющий интерес фрагмент и, необязательно, общий линкер.
283. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-282, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K246 тяжелой цепи антитела или соответствующий ему аминокислотный остаток.
284. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-283, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K248 тяжелой цепи антитела или соответствующий ему аминокислотный остаток.
285. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-284, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K288 тяжелой цепи антитела или соответствующий ему аминокислотный остаток.
286. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-285, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K290 тяжелой цепи антитела или соответствующий ему аминокислотный остаток.
287. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-286, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K317 тяжелой цепи антитела или соответствующий ему аминокислотный остаток.
288. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-287, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K133 тяжелой цепи антитела или

соответствующий ему аминокислотный остаток.

289. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-288, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K144 тяжелой цепи антитела или соответствующий ему аминокислотный остаток.

290. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-289, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K133 тяжелой цепи антитела или соответствующий ему аминокислотный остаток.

291. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-290, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K185 легкой цепи антитела или соответствующий ему аминокислотный остаток.

292. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-291, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K187 легкой цепи антитела или соответствующий ему аминокислотный остаток.

293. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-292, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K251 тяжелой цепи антитела IgG2 или соответствующий ему аминокислотный остаток.

294. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-293, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K253 тяжелой цепи антитела IgG2 или соответствующий ему аминокислотный остаток.

295. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-294, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K239 тяжелой цепи антитела IgG4 или соответствующий ему аминокислотный остаток.

296. Композиция по любому из вариантов осуществления 230-295, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K241 тяжелой цепи антитела IgG4 или соответствующий ему аминокислотный остаток.

297. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что по меньшей мере около 2% всех агентов, которые содержат фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент, представляют собой агенты из множества, или по меньшей мере около 2% всех агентов, которые содержат фрагмент белкового агента, содержащий общую аминокислотную последовательность, и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества или по меньшей мере около 2% всех агентов, которые содержат фрагмент антительного агента, содержащий общую аминокислотную последовательность или может

связываться с общим антигеном и представляющий интерес фрагмент, являются агентами из множества.

298. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что около 1–100% всех агентов, которые содержат фрагмент целевого агента, представляют собой агенты из множества или по меньшей мере около 1–100% всех агентов, которые содержат фрагмент белкового агента, содержащий общую аминокислотную последовательность, являются агентами из множества, или около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент антительного агента, содержащий общую аминокислотную последовательность или могут связываться с общим антигеном, являются агентами из множества.

299. Композиция по любому из вариантов осуществления 297-298, отличающаяся тем, что процентное содержание составляет по меньшей мере около 5%.

300. Композиция по любому из вариантов осуществления 297-298, отличающаяся тем, что процентное содержание составляет по меньшей мере около 10%.

301. Композиция по любому из вариантов осуществления 297-298, отличающаяся тем, что процентное содержание составляет по меньшей мере около 20%.

302. Композиция по любому из вариантов осуществления 297-298, отличающаяся тем, что процентное содержание составляет по меньшей мере около 25%.

303. Композиция по любому из вариантов осуществления 297-298, отличающаяся тем, что процентное содержание составляет по меньшей мере около 50%.

304. Композиция по любому из вариантов реализации 297-298, отличающаяся тем, что процентное содержание составляет по меньшей мере около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%.

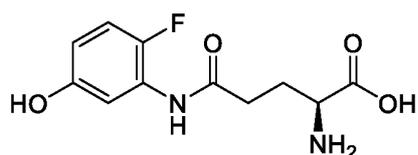
305. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что каждый агент из множества не содержит $-S-Cy-$, при этом $-Cy-$ представляет собой необязательно замещенное 5-членное моноциклическое кольцо, не содержит $-S-S-$, который не образован цистеиновыми остатками и не содержит $-SH$ или его солевую форму, которая не является цистеиновым остатком.

306. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что каждый агент из множества не содержит $-S-CH_2-CH_2-$.

307. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что каждый агент из множества не содержит фрагмент, который может специфически связываться с антительным агентом.

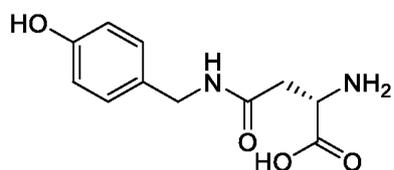
308. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что каждый агент из множества независимо содержит фрагмент антительного агента, и каждый агент может независимо связываться с Fc рецептором.
309. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что указанная композиция является продуктом способа в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления.
310. Композиция по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающаяся тем, что указанная композиция представляет собой фармацевтическую композицию.
311. Агент, при этом указанный агент представляет собой агент из множества по любому из вариантов осуществления 229-309.
312. Фармацевтическая композиция, содержащая агент по варианту осуществления 311 и фармацевтически приемлемый носитель.
313. Композиция по варианту осуществления 310 или 312, отличающаяся тем, что указанная композиция находится в твердой форме.
314. Композиция по варианту осуществления 310 или 312, отличающаяся тем, что указанная композиция находится в жидкой форме и содержит не более 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50% (об./об.) органических растворителей.
315. Способ, продукт, композиция или агент в по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающиеся тем, что соотношение представляющих интерес фрагментов, конъюгированных с фрагментами целевого агента и фрагментами целевого агента, или соотношение представляющих интерес фрагментов, конъюгированных с фрагментами белкового агента и фрагментами белкового агента, или соотношение представляющих интерес фрагментов, конъюгированных с фрагментами антительного агента и фрагментами антительного агента, составляет около 0,5-6.
316. Способ, продукт, композиция или агент по любому варианту осуществления 315, отличающиеся тем, что указанное соотношение составляет около 0,5-2,5.
317. Способ, продукт, композиция или агент по любому варианту осуществления 315, отличающиеся тем, что указанное соотношение составляет около 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,5 или 3.
318. Соединение, способ, продукт, композиция или агент по любому из предшествующих вариантов осуществления, отличающиеся тем, что каждый гетероатом независимо выбран из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

319. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



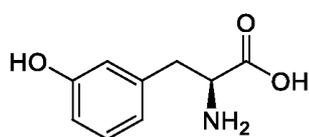
соединение или его соль.

320. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



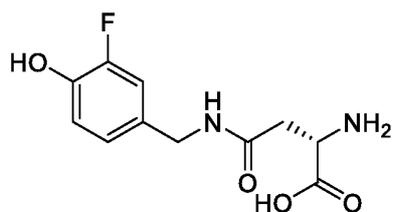
соединение или его соль.

321. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



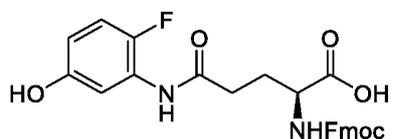
соединение или его соль.

322. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



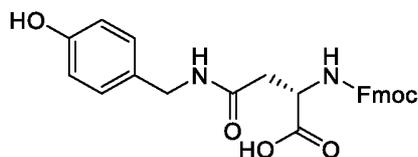
соединение или его соль.

323. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



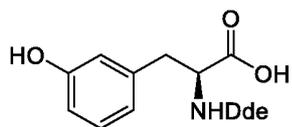
соединение или его соль.

324. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



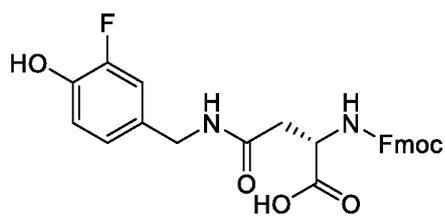
соединение или его соль.

325. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



соединение или его соль.

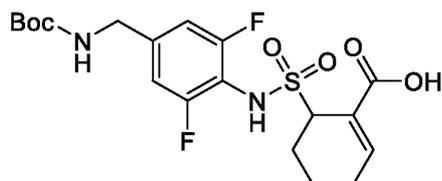
326. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



соединение

или его соль.

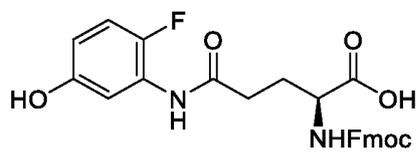
327. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



соединение

или его соль.

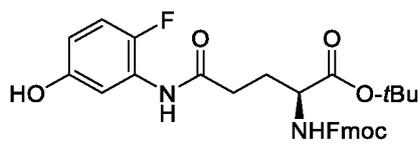
328. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



соединение

NHFmoc или его соль.

329. Соединение, отличающиеся тем, что указанное соединение представляет собой



соединение

NHFmoc или его соль.

330. Сложный эфир соединения по любому из вариантов осуществления 319-329.

331. Агент, содержащий аминокислотный остаток соединения по любому из вариантов осуществления 319-329.

332. Агент по варианту осуществления 331, отличающиеся тем, что указанный агент имеет структуру формулы R-I или его соль.

333. Полипептидный агент, содержащий аминокислотный остаток соединения по любому из вариантов осуществления 319-329.

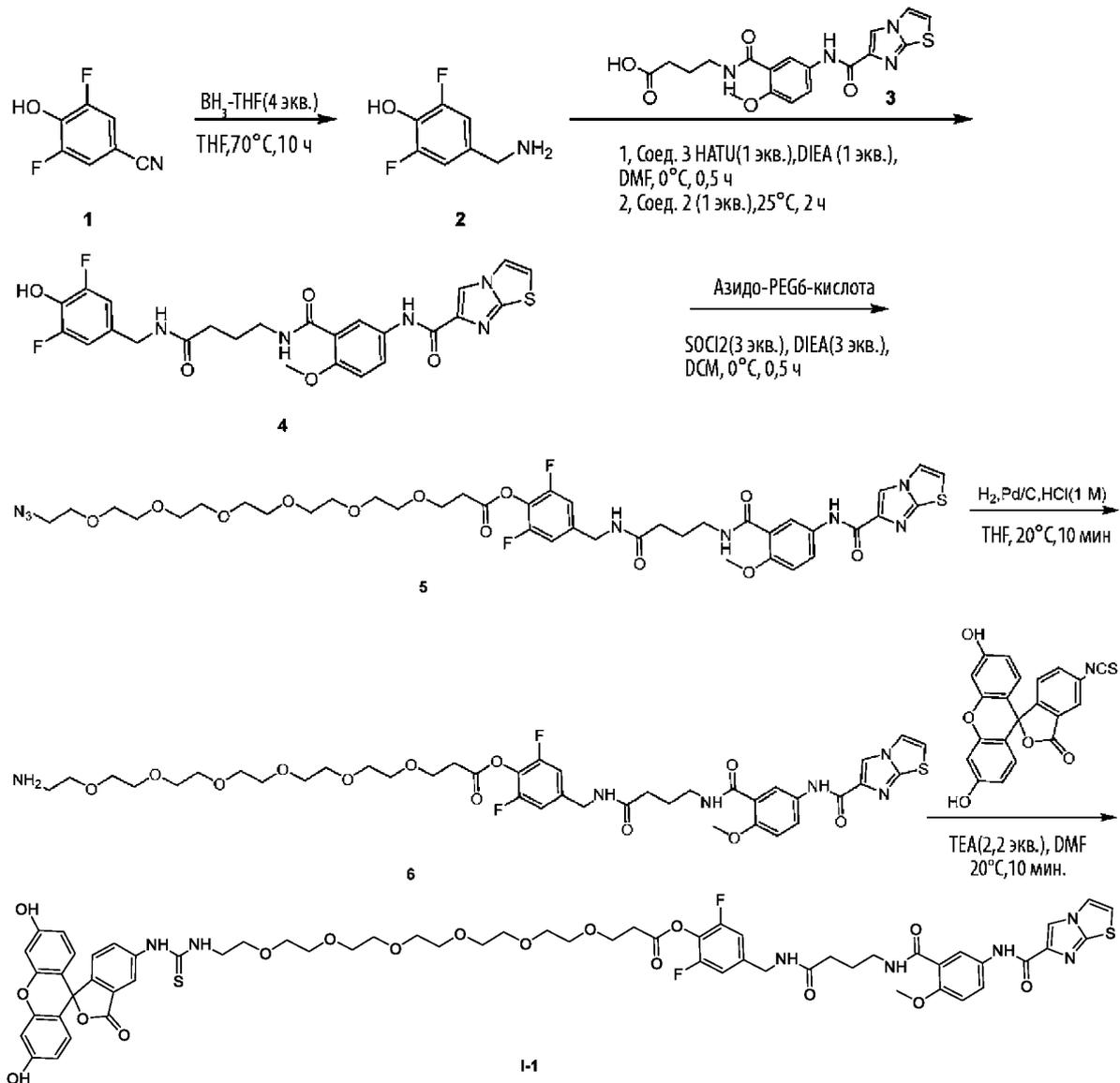
334. Способ приготовления соединения, включающий получение соединения по любому из вариантов осуществления 319-329.

335. Указанный способ по варианту осуществления 334, отличающийся тем, что указанное соединение представляет собой агент по любому из вариантов осуществления 331-333.

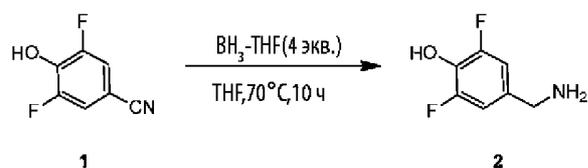
ПРИВЕДЕНИЕ ПРИМЕРОВ

[0508] Как продемонстрировано в приведенных ниже примерах, в некоторых иллюстративных вариантах осуществления соединения, агенты, композиции и т.д. получают и/или оценивают в соответствии со следующими методиками, описанными в качестве примеров. Следует понимать, что, хотя общие способы описывают синтез определенных соединений, агентов, композиций по настоящему изобретению, следующие общие способы и другие способы, известные специалистам в данной области техники, могут быть применены в соответствии с настоящим изобретением для обеспечения технологий настоящего изобретения.

[0509] Пример 1. Типовой синтез Соединения I-1.

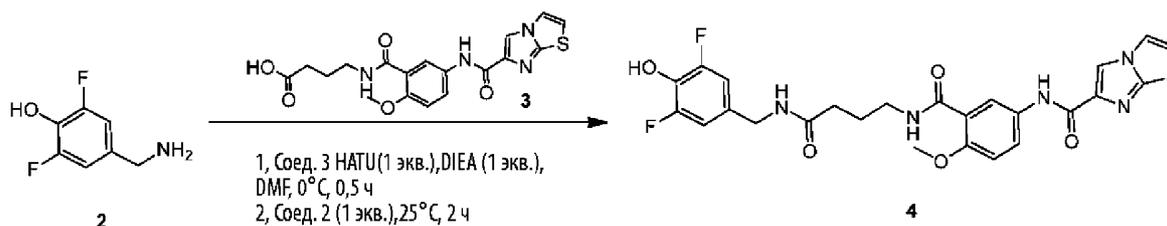


[0510] **Общая методика получения соединения 2:**



[0511] $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ (1 M, 1,29 мл, 4 экв.) осторожно добавляли к раствору **соединения 1** (50 мг, 322,37 мкмоль, 1 экв.) в безводном THF (5 мл). Полученный раствор перемешивали и кипятили в сосуде с обратным холодильником в течение 10 часов (70°C). TLC (Пластина 1, Петролейный эфир: Этилацетат = 1:1, $R_f = 0,01$) продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовали и образовалось одно новое пятно. После охлаждения смеси к раствору осторожно добавляли 6 N HCl (2 мл) и продолжали нагревание в сосуде с обратным холодильником в течение 30 мин. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 2** (40 мг, неочищенное, HCl) получали в виде белого твердого вещества, проверенного с помощью HNMR. ^1H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ- d_4) δ ppm 7,17 - 6,97 (m, 2H), 4,12 - 3,96 (m, 2H), 3,73 (s, 1H), 3,63 - 3,51 (m, 1H), 1,93 - 1,78 (m, 1H), 1,59 (br t, $J = 2,7$ Hz, 1H), 1,40 (s, 1H).

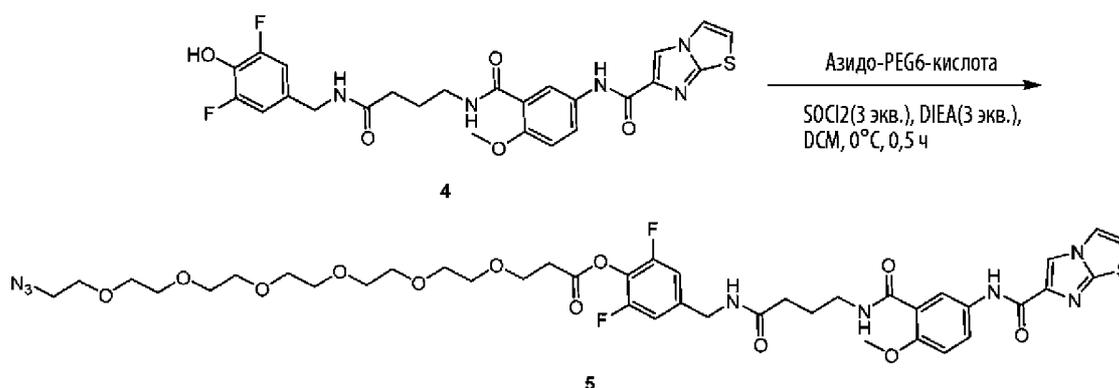
[0512] **Общая методика получения соединения 4:**



[0513] К **соединению 3** (500 мг, 968,15 мкмоль, 1 экв., TFA) в DMF (3 мл) добавляли HATU (368,12 мг, 968,15 мкмоль, 1 экв.) и DIEA (500,51 мг, 3,87 ммоль, 674,54 мкл, 4 экв.) при 0°C в течение 0,5 часа. К смеси добавляли **соединение 2** (378,73 мг, 968,15 мкмоль, 1 экв., HCl) в DMF (2 мл). Смесь перемешивали при температуре 25°C в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что **соединение 3** полностью израсходовано, и была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Phenomenex Luna C18 250*50мм*10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1% TFA)-ACN]; В%: 20%-50%, 10мин). **Соединение 4** (460 мг, 846,30 мкмоль, выход 87,41%) получали в виде желтого масла, проверенного с помощью HNMR. LCMS: RT = 1,794 мин, MS расщ.: 543.14, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 544.2$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 10,14 - 10,08 (m, 1H), 8,37 - 8,32 (m, 1H), 8,25 - 8,20 (m, 1H), 8,02 - 7,98 (m, 1H), 7,90 - 7,84 (m, 1H), 7,46 - 7,41 (m, 1H), 7,13 - 7,06 (m, 1H), 6,93 - 6,88 (m, 1H), 4,19 - 4,15 (m,

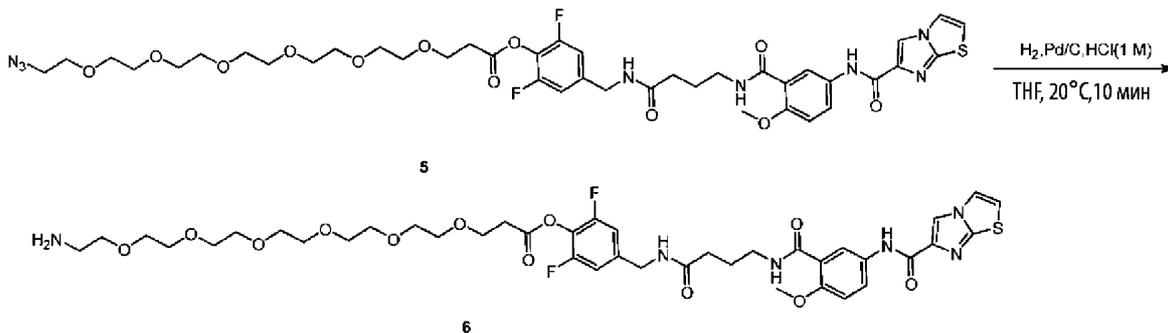
2H), 3,88 - 3,85 (m, 3H), 3,32 - 3,20 (m, 2H), 2,26 - 2,19 (m, 2H), 1,82 - 1,73 (m, 2H).

[0514] **Общая методика получения соединения 5:**



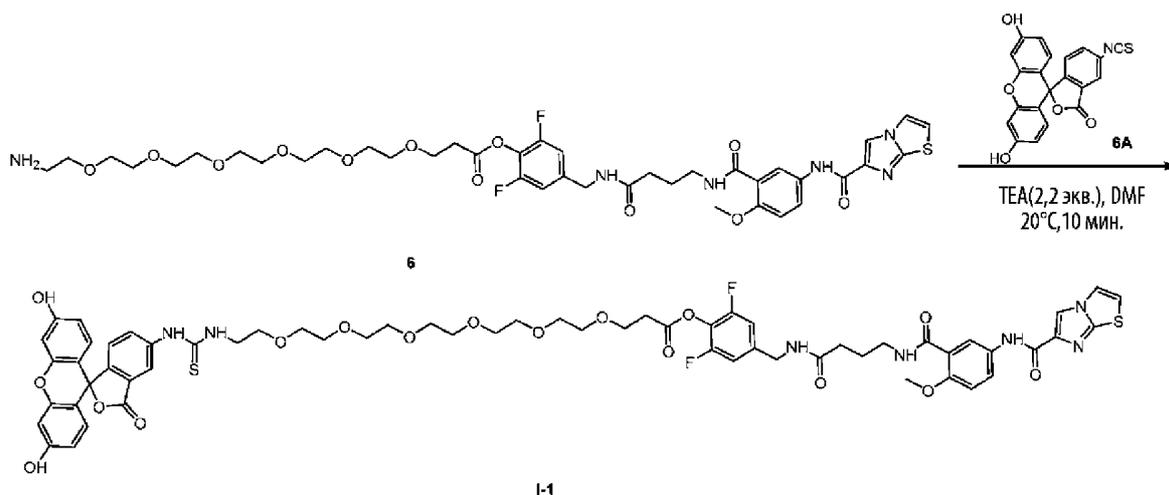
[0515] Раствор 1: К раствору азидо-PEG6-кислоты (300 мг, 790,71 мкмоль, 1 экв.) в DCM (3 мл) добавляли SOCl₂ (282,21 мг, 2,37 ммоль, 172,08 мкл, 3 экв.) при температуре 0 °C в течение 5 мин. Смесь концентрировали досуха. Неочищенный продукт растворяли в DCM (1 мл). Раствор 2: К раствору **соединения 4** (429,78 мг, 790,71 мкмоль, 1 экв.) в DCM (3 мл) добавляли DIEA (306,58 мг, 2,37 ммоль, 413,18 мкл, 3 экв.) при 0 °C. К раствору 1 добавляли раствор 2 при температуре 0 °C. Смесь перемешивали при температуре 25 °C в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Phenomenex Luna C18 250*50мм*10 мкм; мобильная фаза: [вода (0.1%TFA)-ACN]; В%: 30%-60%, 10 мин). **Соединение 5** (570 мг, 591,52 мкмоль, выход 74,81%, чистота 93,91%) получали в виде розового масла, проверенного с помощью LCMS и HNMR. **LCMS:** RT = 2,367 мин, MS расщ.: 904,32, [M/2+H]⁺ = 453,3. **LCMS:** RT = 2,367 мин, MS расщ.: 904,32, [M/2+H]⁺ = 453,4. **¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆)** δ ppm 10,14 - 10,06 (m, 1H), 8,48 - 8,40 (m, 1H), 8,36 - 8,32 (m, 1H), 8,26 - 8,17 (m, 1H), 8,03 - 7,94 (m, 1H), 7,94 - 7,81 (m, 1H), 7,48 - 7,38 (m, 1H), 7,21 - 7,01 (m, 3H), 4,33 - 4,25 (m, 2H), 3,89 - 3,83 (m, 3H), 3,80 - 3,71 (m, 3H), 3,67 - 3,52 (m, 27H), 3,52 - 3,45 (m, 16H), 3,41 - 3,36 (m, 2H), 3,33 - 3,24 (m, 3H), 2,99 - 2,88 (m, 3H), 2,29 - 2,22 (m, 2H), 1,86 - 1,72 (m, 2H), 1,29 - 1,20 (m, 1H).

[0516] **Общая методика получения соединения 6:**



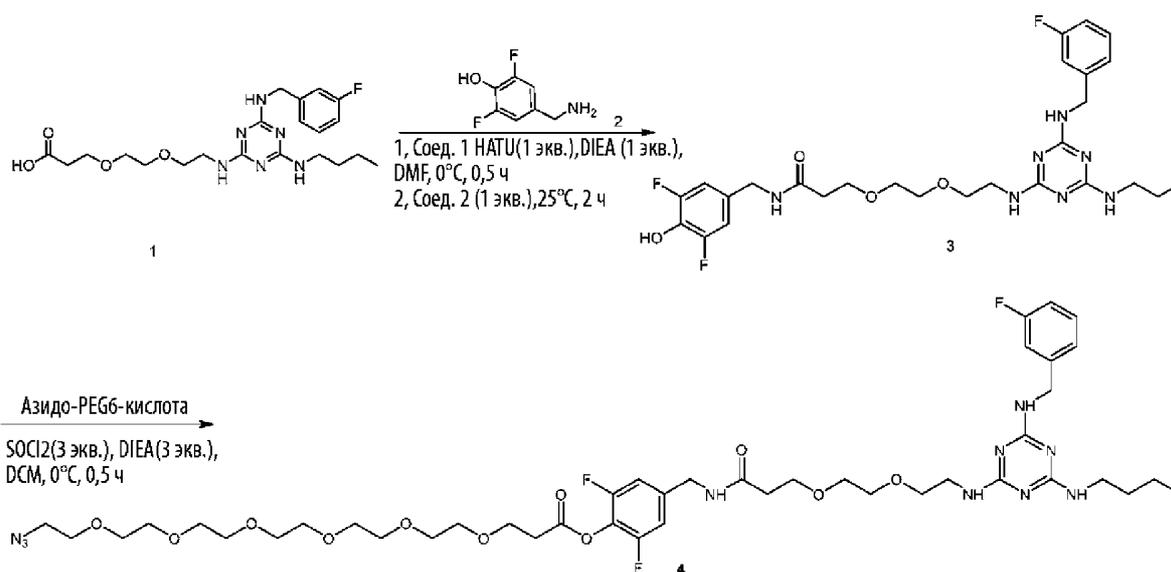
[0517] К раствору **соединения 5** (500 мг, 552,53 мкмоль, 1 экв.) в THF (10 мл) добавляли Pd/C (500 мг, 552,53 мкмоль, чистота 10%, 1 экв.) и HCl (1 М, 2,00 мл, 3,62 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 25 °С в течение 10 мин. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Смесь фильтровали и к фильтрату добавляли NaHCO₃ до pH 5-6. Фильтрат лиофилизировали с получением твердого вещества. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Nano-micro Kromasil C18 100*40 мм 10 мкм; мобильная фаза: [вода (0.1%TFA)-ACN]; В%: 15%-50%, 7 мин). **Соединение 6** (240 мг, 846,30 мкмоль, выход 87,41%) получали в виде желтого масла, проверенного с помощью HNMR. **LCMS:** RT = 1,865 мин, MS расщ.: 878,33, [1/2M+H]⁺ = 440,3. **¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ ppm 10,13 - 10,08 (m, 1H), 8,48 - 8,42 (m, 1H), 8,36 - 8,30 (m, 1H), 8,25 - 8,17 (m, 2H), 8,02 - 7,96 (m, 1H), 7,90 - 7,84 (m, 1H), 7,75 - 7,65 (m, 2H), 7,45 - 7,41 (m, 1H), 7,20 - 7,02 (m, 3H), 4,32 - 4,26 (m, 2H), 3,89 - 3,83 (m, 3H), 3,79 - 3,73 (m, 2H), 3,63 - 3,55 (m, 10H), 3,54 - 3,49 (m, 31H), 3,35 - 3,25 (m, 3H), 3,02 - 2,90 (m, 4H), 2,30 - 2,22 (m, 2H), 1,85 - 1,69 (m, 2H).

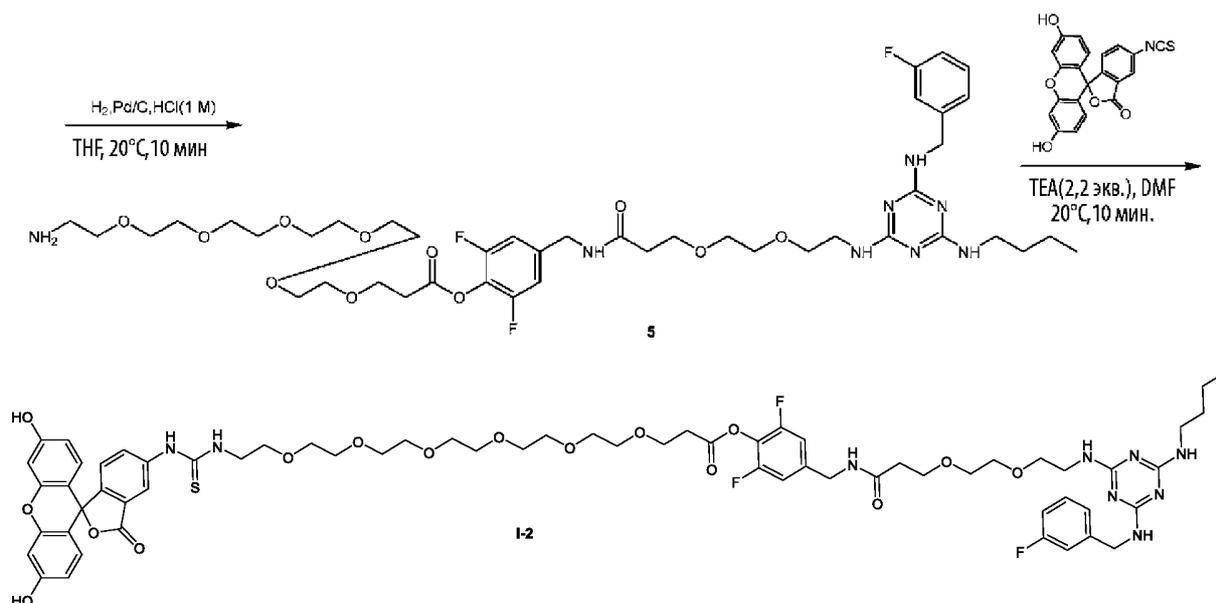
[0518] **Общая методика получения соединения I-1:**



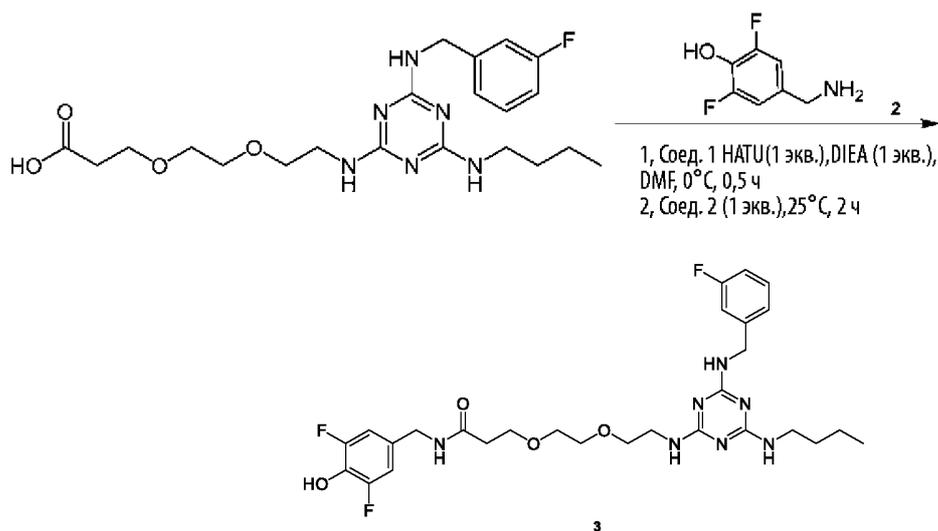
[0519] К раствору **соединения 6** (90 мг, 102,40 мкмоль, 1 экв.) в DMF (1 мл) добавляли **соединения 6A** (39,87 мг, 102,40 мкмоль, 1 экв.). К смеси добавляли TEA (22,80 мг, 225,27 мкмоль, 31,36 мкл, 2,2 экв.). Смесь перемешивали при температуре 20 °С в течение 10 мин. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Phenomenex Luna C18 100*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0.1%TFA)-ACN]; В%: 40%-60%, 10 мин). **Соединение I-1** (15,21 мг, 11,75 мкмоль, выход 11,48%, чистота 98%) получали в виде желтого твердого вещества, проверенного с помощью HNMR, HPLC и QC-LCMS. **LCMS:** RT = 2,429 мин, MS расщ.: 1267,37, [1/2M+H]⁺ = 635,1. **QCLCMS:** RT = 3,092 мин, MS расщ.: 1267,37, [1/2M+H]⁺ = 634,8. **HPLC:** Rt = 3,009. **¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ ppm 10,14 - 10,10 (m, 1H), 10,08 - 10,02 (m, 1H), 8,49 - 8,40 (m, 1H), 8,36 - 8,33 (m, 1H), 8,31 - 8,26 (m, 1H), 8,25 - 8,17 (m, 2H), 8,14 - 8,05 (m, 1H), 8,02 - 7,97 (m, 1H), 7,90 - 7,82 (m, 1H), 7,79 - 7,69 (m, 1H), 7,45 - 7,41 (m, 1H), 7,21 - 7,07 (m, 4H), 6,70 - 6,65 (m, 2H), 6,63 - 6,54 (m, 4H), 4,33 - 4,24 (m, 2H), 3,89 - 3,83 (m, 3H), 3,77 - 3,72 (m, 2H), 3,72 - 3,65 (m, 2H), 3,65 - 3,59 (m, 2H), 3,58 - 3,55 (m, 4H), 3,55 - 3,47 (m, 16H), 3,33 - 3,22 (m, 2H), 2,98 - 2,88 (m, 2H), 2,31 - 2,21 (m, 2H), 1,89 - 1,70 (m, 2H).

[0520] Пример 2. Типовой синтез Соединения I-2.





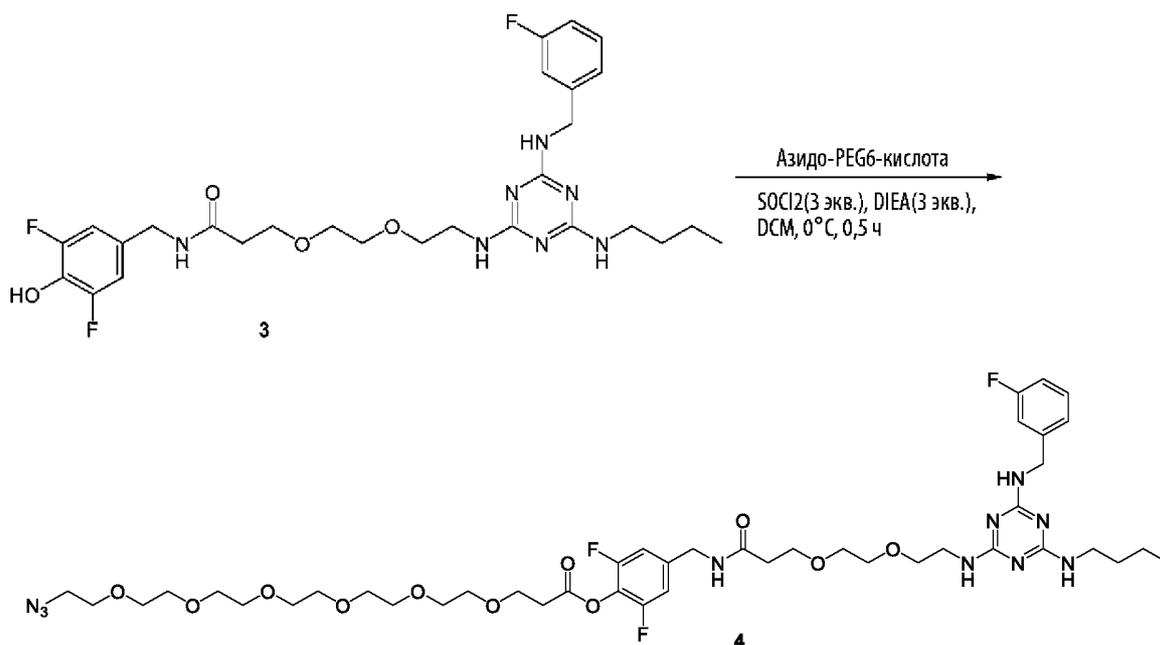
[0521] **Общая методика получения соединения 3:**



[0522] К раствору соединения **1** (500 мг, 893,03 мкмоль, 1 экв., 3 М HCl) в DMF (3 мл) добавляли НАТУ (339,56 мг, 893,03 мкмоль, 1 экв.) и DIEA (577,08 мг, 4,47 ммоль, 777,73 мкл, 5 экв.) при температуре 0 °С в течение 0,5 часа. К указанной смеси добавляли **соединение 2** (349,34 мг, 893,03 мкмоль, 1 экв., HCl). Смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 2 часов. LC-MS продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано, и была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Nano -micro Kromasil C18 100*40 мм 10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]);

В%: 26%-56%, 7 мин). Соединение 3 (470 мг, 794,42 мкмоль, выход 88,96%) получали в виде желтого масла, проверенного с помощью HNMR. **LCMS:** RT = 2,174 мин, MS расщ.: 591,63, $[M+H]^+ = 592,4$. 1H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10,09 - 9,95 (m, 1H), 8,96 - 8,62 (m, 1H), 8,44 - 8,25 (m, 1H), 8,20 - 7,87 (m, 1H), 8,25 - 7,86 (m, 1H), 7,46 - 7,32 (m, 1H), 7,25 - 7,02 (m, 3H), 6,97 - 6,82 (m, 2H), 4,65 - 4,41 (m, 2H), 4,21 - 4,13 (m, 2H), 3,70 - 3,61 (m, 2H), 3,58 - 3,49 (m, 5H), 3,48 - 3,36 (m, 4H), 3,33 - 3,18 (m, 2H), 2,42 - 2,33 (m, 2H), 1,59 - 1,41 (m, 1H), 1,40 - 1,15 (m, 2H), 1,41 - 1,13 (m, 3H), 0,94 - 0,85 (m, 2H), 0,96 - 0,75 (m, 3H), 0,96 - 0,75 (m, 3H).

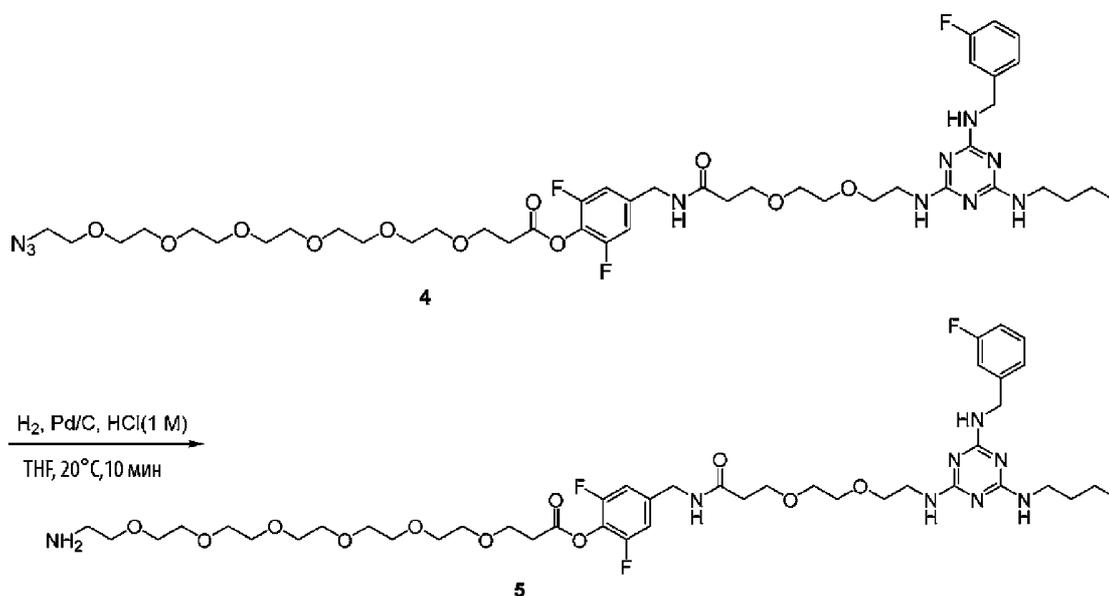
[0523] **Общая методика получения соединения 4:**



[0524] Раствор 1: К раствору азидо-PEG6-кислоты (280 мг, 738,00 мкмоль, 1 экв.) в DCM (3 мл) добавляли SOCl₂ (263,40 мг, 2,21 ммоль, 160,61 мкл, 3 экв.) при температуре 0 °C в течение 5 мин. Смесь концентрировали досуха. Неочищенный продукт растворяли в DCM (1 мл). Раствор 2: К раствору **соединения 3** (436,62 мг, 738,00 мкмоль, 1 экв.) в DCM (3 мл) добавляли DIEA (286,14 мг, 2,21 ммоль, 385,64 мкл, 3 экв.) при температуре 0 °C. **Соединение 3** добавляли к раствору 2 при температуре 0 °C. Смесь перемешивали при температуре 25 °C в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что **соединение 3** полностью израсходовано и была обнаружена целевая масса. Смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Phenomenex luna C18 250*50мм*10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 30%-60%, 10 мин). **Соединение 4** (550 мг, 551,72 мкмоль, выход 74,76%, чистота 95,6%) получали в виде желтого масла, проверенного с помощью LCMS. **LCMS:** RT = 1,398 мин, MS расщ.: 952,46, $[(M-$

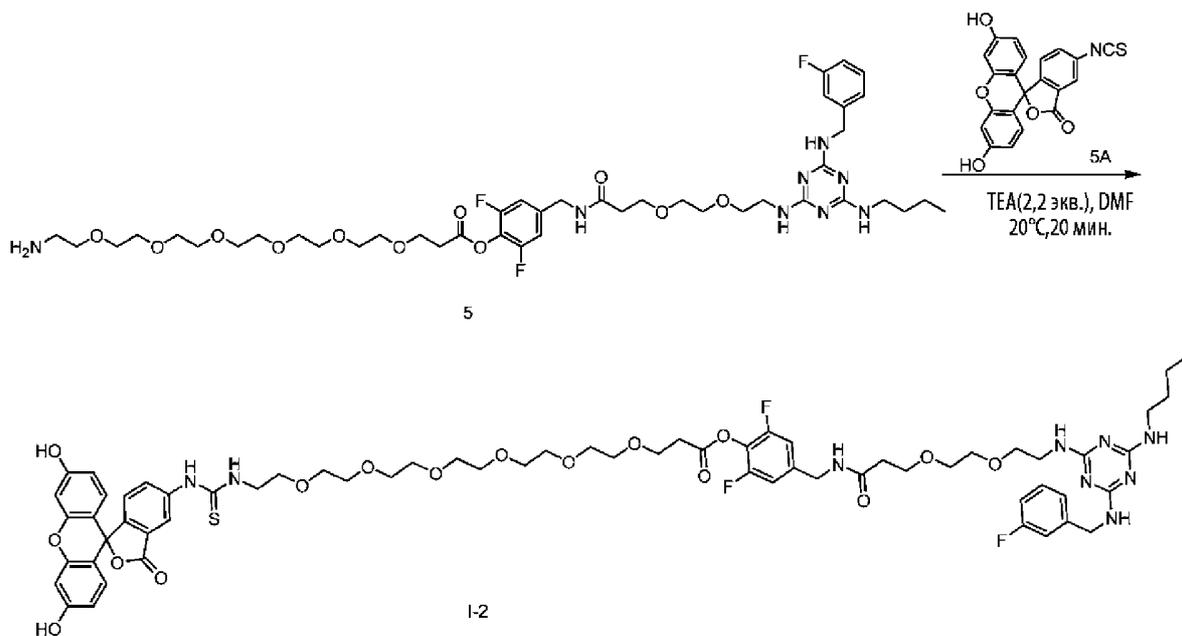
$N_2)/2+H]^+ = 463,3$. LCMS: RT = 1,361 мин, MS расщ.: 952,46, $[M+H]^+ = 935,5$.

[0525] **Общая методика получения соединения 5.**



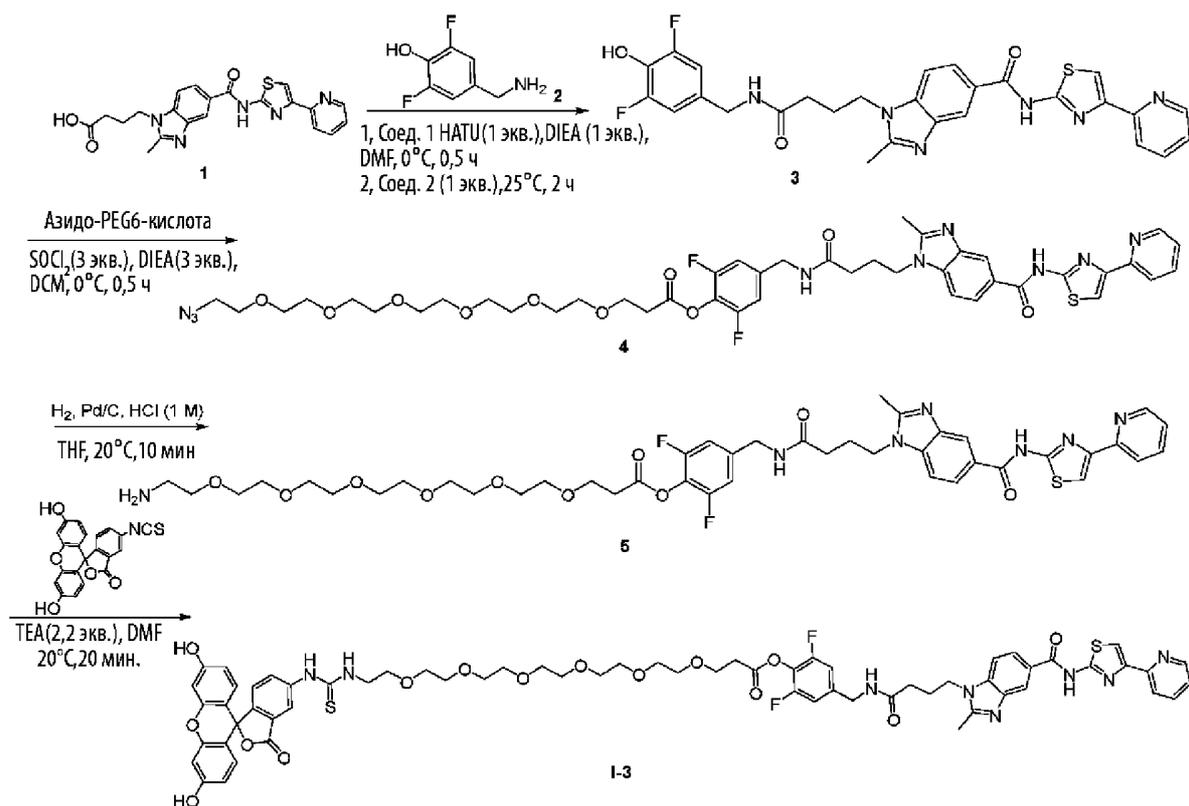
[0526] К раствору **соединения 4** (500 мг, 524,65 мкмоль, 1 экв.) в THF (10 мл) добавляли Pd/C (500 мг, 524,65 мкмоль, чистота 10%, 1 экв.) и HCl (1 M, 2 мл, 3,81 экв.) в атмосфере N_2 . Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H_2 . Смесь перемешивали в атмосфере H_2 (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 25 °C в течение 10 мин. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Смесь фильтровали и к фильтрату добавляли $NaHCO_3$ до pH 5-6. Фильтрат лиофилизировали с получением твердого вещества. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Phenomenex luna C18 250*50мм*10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 20%-50%, 10 мин). **Соединение 5** (240 мг, 258,90 мкмоль, выход 49,35%) получали в виде розового масла, проверенного с помощью HNMR. LCMS: RT = 2,176 мин, MS расщ.: 926,47, $[1/2M+H]^+ = 464,4$. 1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,55 - 8,45 (m, 1H), 7,82 - 7,68 (m, 2H), 7,42 - 7,34 (m, 1H), 7,21 - 7,06 (m, 5H), 4,59 - 4,44 (m, 2H), 4,32 - 4,23 (m, 2H), 3,80 - 3,72 (m, 5H), 3,69 - 3,48 (m, 37H), 3,54 - 3,48 (m, 21H), 3,03 - 2,91 (m, 4H), 1,55 - 1,42 (m, 1H), 1,38 - 1,25 (m, 2H), 1,27 - 1,16 (m, 1H), 1,25 - 1,12 (m, 1H), 0,92 - 0,77 (m, 3H).

[0527] **Общая методика получения соединения I-2:**

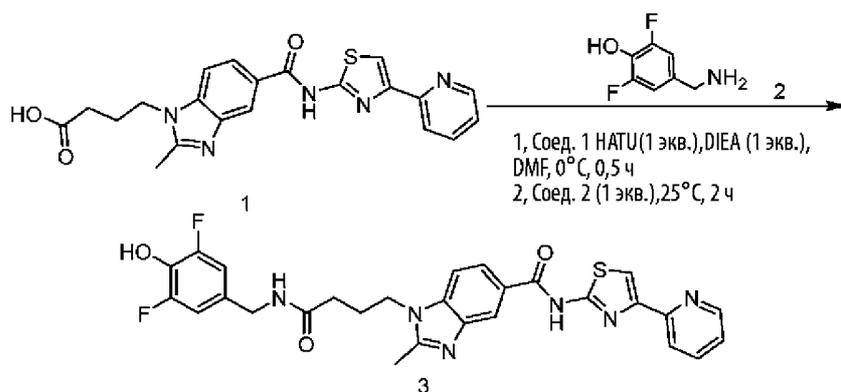


[0528] К раствору **соединения 5** (90 мг, 85,44 мкмоль, 1 экв.) и **соединения 5A** (33,27 мг, 85,44 мкмоль, 1 экв.) в DMF (1 мл) добавляли TEA (19,02 мг, 187,96 мкмоль, 26,16 мкл, 2,2 экв.). Смесь перемешивали при температуре 20 °С в течение 20 мин. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Phenomenex luna C18 100*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 20%-50%, 10 мин). **Соединение I-2** (13,27 мг, 9,96 мкмоль, выход 11,66%, чистота 98,83%) получали в виде желтого твердого вещества, проверенного с помощью HPLC, QC-LCMS и HNMR. **LCMS:** RT = 2,676 мин, MS расщ.: 1315,51, $[1/2M+H]^+ = 659,1$. **QC-LCMS:** RT = 3,297 мин, MS расщ.: 1315,51, $[1/2M+H]^+ = 658,9$. **HPLC:** Rt = 3,273. **¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d₄)** δ ppm 8,35 - 8,27 (m, 1H), 7,93 - 7,81 (m, 1H), 7,37 - 7,29 (m, 1H), 7,24 - 7,19 (m, 1H), 7,17 - 7,09 (m, 1H), 7,09 - 7,04 (m, 1H), 7,03 - 6,90 (m, 5H), 7,04 - 6,89 (m, 6H), 6,88 - 6,81 (m, 2H), 6,76 - 6,68 (m, 2H), 4,60 - 4,54 (m, 2H), 4,39 - 4,34 (m, 2H), 3,84 - 3,74 (m, 6H), 3,73 - 3,69 (m, 3H), 3,68 - 3,64 (m, 5H), 3,63 - 3,56 (m, 24H), 3,48 (br s, 3H), 2,89 - 2,83 (m, 2H), 2,56 - 2,49 (m, 2H), 1,61 - 1,51 (m, 1H), 1,50 - 1,44 (m, 1H), 1,41 - 1,33 (m, 1H), 1,33 - 1,26 (m, 1H), 1,33 - 1,25 (m, 1H), 0,98 - 0,91 (m, 2H), 0,90 - 0,85 (m, 1H), 0,91 - 0,85 (m, 1H), 1,00 - 0,77 (m, 4H).

[0529] **Пример 3. Типовой синтез Соединения I-3.**



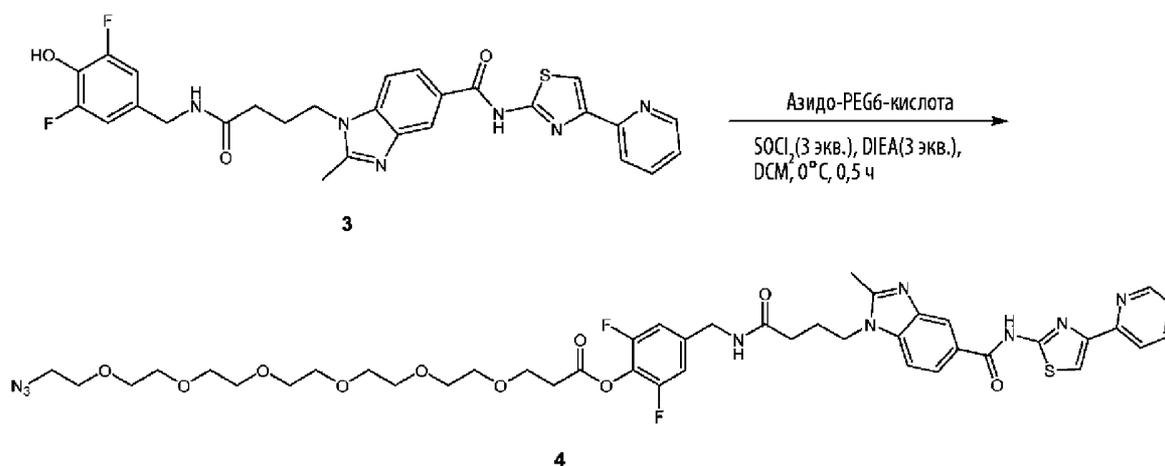
[0530] Общая методика получения соединения:



[0531] К раствору соединения 1 (400 мг, 746,97 мкмоль, 1 экв., TFA) в DCM (10 мл) добавляли HATU (312,42 мг, 821,67 мкмоль, 1 экв.) и DIEA (386,16 мг, 2,99 ммоль, 520,42 мкл, 4 экв.) при температуре 0 °C в течение 0,5 часа. К смеси добавляли **соединение 2** (321,43 мг, 821,67 мкмоль, 1,1 экв., HCl) в DMF (2 мл). Смесь перемешивали при температуре 25 °C в течение 2 часов. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Реакционную смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (колонка: Phenomenex Luna C18 200*40 мм*10 мкм; мобильная

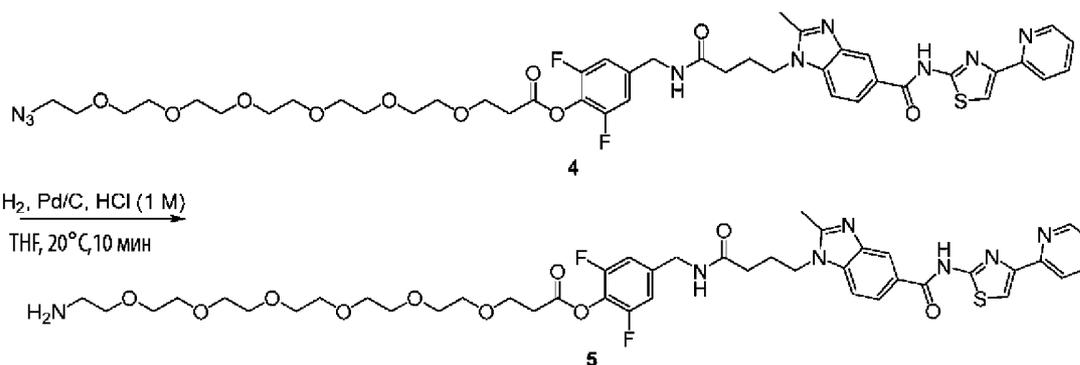
фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 5%-35%, 10 мин). **Соединение 3** (250 мг, 444,37 мкмоль, выход 59,49%) получали в виде желтого масла, проверенного с помощью HNMR. **LCMS**: RT = 0,954 мин, MS расщ.: 526,16, [1/2M+H]⁺ = 282,1. **¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ ppm 13,08 - 12,95 (m, 1H), 8,68 - 8,61 (m, 1H), 8,57 - 8,50 (m, 1H), 8,41 - 8,31 (m, 1H), 8,31 - 8,20 (m, 1H), 8,09 - 8,01 (m, 2H), 7,99 - 7,90 (m, 2H), 7,46 - 7,31 (m, 1H), 6,98 - 6,81 (m, 2H), 4,50 - 4,37 (m, 3H), 4,14 (br d, J = 5,7 Hz, 4H), 2,88 - 2,78 (m, 3H), 2,70 - 2,63 (m, 1H), 2,36 - 2,28 (m, 3H), 2,10 - 2,00 (m, 3H).

[0532] Общая методика получения соединения 4:



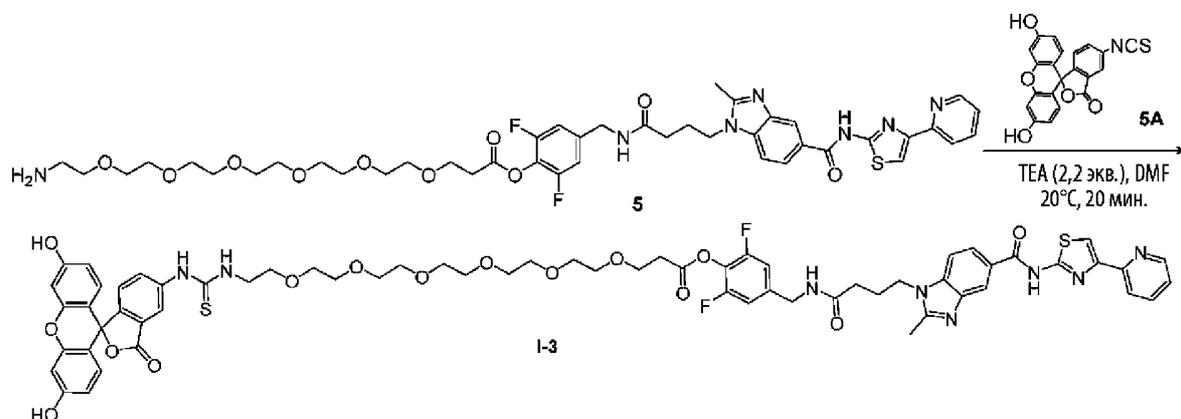
[0533] Раствор 1: К раствору азидо-PEG6-кислоты (300 мг, 790,71 мкмоль, 1 экв.) в DCM (3 мл) добавляли SOCl₂ (282,21 мг, 2,37 ммоль, 172,08 мкл, 3 экв.) при температуре 0 °C в течение 5 мин. Смесь концентрировали досуха. Неочищенный продукт растворяли в DCM (1 мл). Раствор 2: К раствору **соединения 3** (504,16 мг, 896,14 мкмоль, 1 экв.) в DCM (5 мл) добавляли DIEA (347,45 мг, 2,69 ммоль, 468,26 мкл, 3 экв.) при температуре 0 °C. Раствор 2 добавляли к раствору 1 при температуре 0 °C. Смесь перемешивали при температуре 25 °C в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Указанную смесь применяли непосредственно на следующем этапе. Остаток очищали препаративной HPLC (колонка: Welch Xtimate C18 250*50 мм*10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 15%-45%, 10 мин). **Соединение 4** (600 мг, 649,37 мкмоль, выход 72,46%) получали в виде желтого твердого вещества. **LCMS**: RT = 1,819 мин, MS расщ.: 923,34, [1/2M+H]⁺ = 462,9.

[0534] Общая методика получения соединения 5:



[0535] К раствору **соединения 4** (300 мг, 324,68 мкмоль, 1 экв.) в THF (10 мл) добавляли Pd/C (400 мг, 324,68 мкмоль, чистота 10%, 1 экв.) и HCl (1 М, 1,62 мл, 5 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 25 °С в течение 10 мин. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Указанную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Nano-micro Kromasil C18 100*40 мм 10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 8%-38%, 9мин). **Соединение 5** (200 мг, 222,72 мкмоль, выход 68,60%) получали в виде белого твердого вещества. **LCMS**: RT = 0,996 мин, MS расщ.: 897,35, [1/2M+H]⁺ = 449,8.

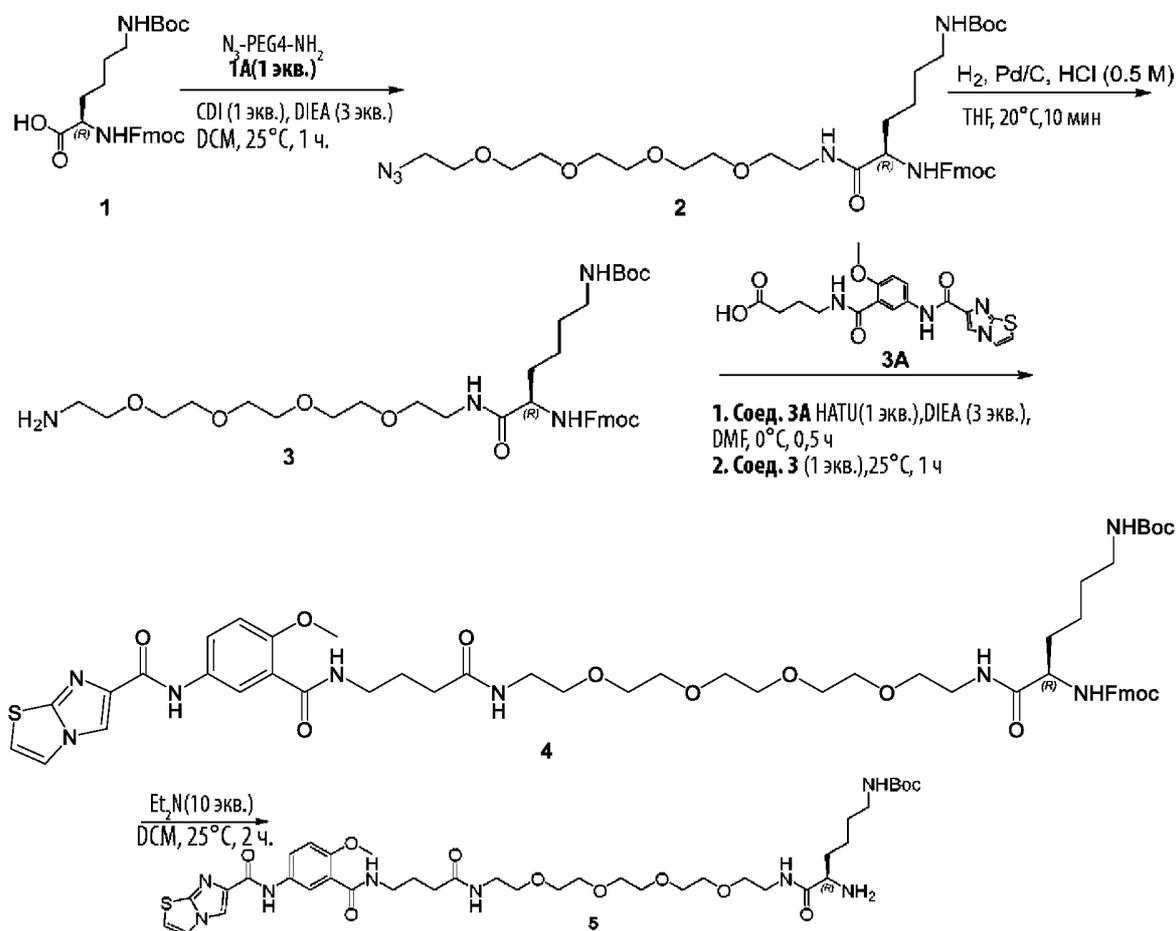
[0536] *Общая методика получения соединения - I-3:*

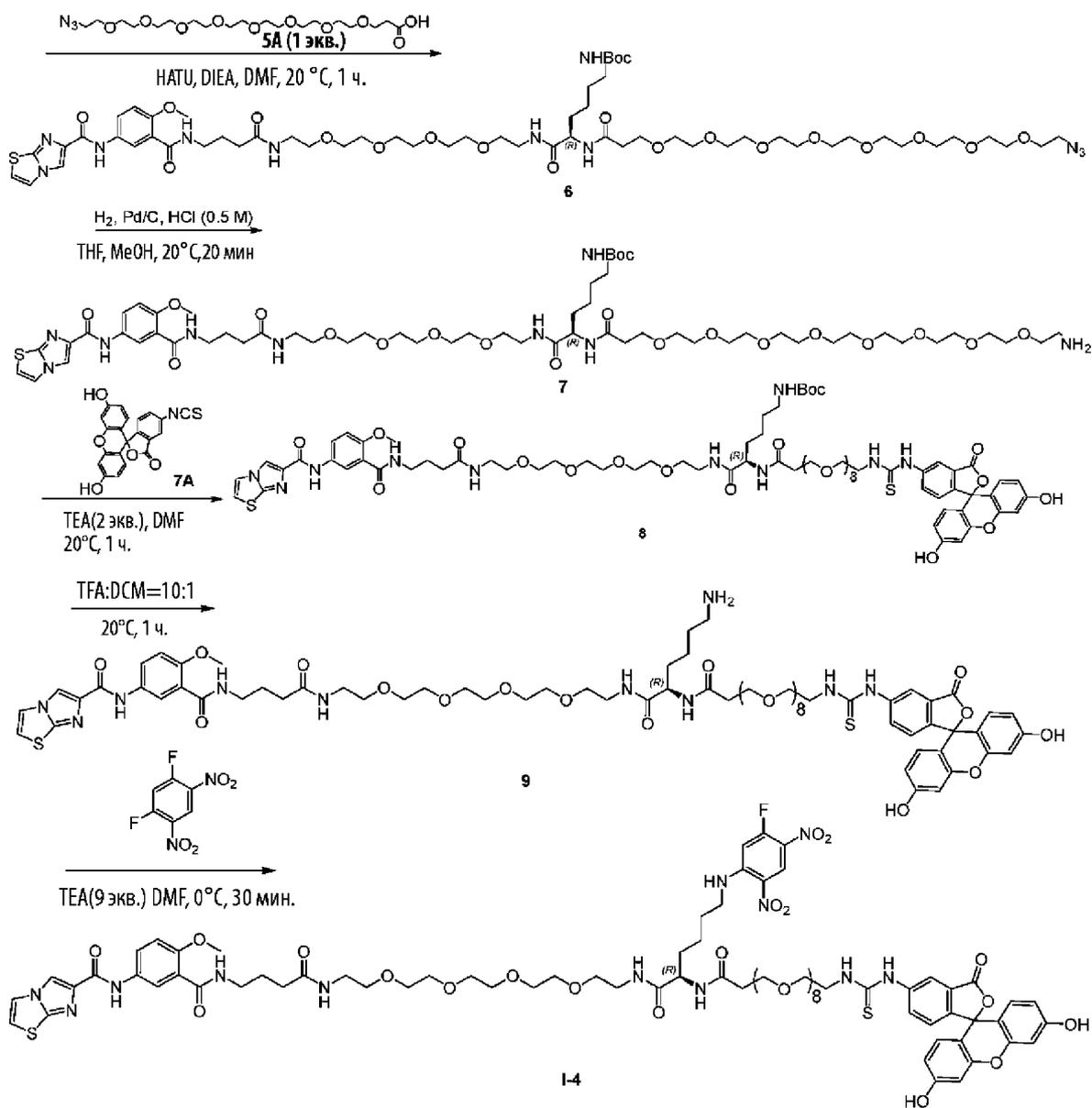


[0537] К раствору **соединения 5** (60 мг, 66,82 мкмоль, 1 экв.) и **соединения 5A** (26,02 мг, 66,82 мкмоль, 1 экв.) в DMF (1 мл) добавляли TEA (6,76 мг, 66,82 мкмоль, 9,30 мкл, 1 экв.). Указанную смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 10 мин. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда

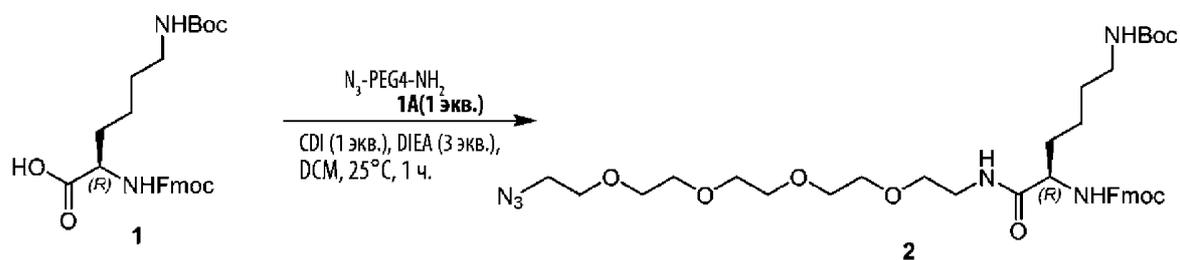
TFA; колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN];
 В%: 35%-65%, 12 мин). **Соединение I-3** (11,48 мг, 8,90 мкмоль, выход 13,33%, чистота 99,85%)
 получали в виде желтого твердого вещества, проверенного с помощью HPLC, HNMR и QC-LCMS.
LCMS: RT = 2,047 мин, MS расщ.: 1286,39, [1/2M+H]⁺ = 644,6. **QCLCMS**: RT = 3,151 мин, MS расщ.:
 1286,39, [1/2M+H]⁺ = 644,3. HPLC: Rt = 2,444. **¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆)** δ ppm 13,02 - 12,95 (m,
 1H), 10,16 - 10,07 (m, 1H), 10,07 - 9,99 (m, 1H), 8,66 - 8,62 (m, 1H), 8,55 - 8,51 (m, 1H), 8,49 - 8,43 (m,
 1H), 8,31 - 8,23 (m, 2H), 8,09 - 8,02 (m, 2H), 7,98 - 7,91 (m, 2H), 7,77 - 7,70 (m, 1H), 7,41 - 7,35 (m, 1H),
 7,20 - 7,16 (m, 1H), 7,15 - 7,10 (m, 2H), 6,69 - 6,66 (m, 2H), 6,62 - 6,61 (m, 1H), 6,60 - 6,59 (m, 1H), 6,58 -
 6,56 (m, 2H), 6,56 - 6,54 (m, 1H), 4,48 - 4,40 (m, 3H), 4,28 - 4,24 (m, 3H), 3,76 - 3,70 (m, 4H), 3,62 - 3,59
 (m, 2H), 3,58 - 3,55 (m, 4H), 3,54 - 3,46 (m, 18H), 2,97 - 2,88 (m, 2H), 2,86 - 2,77 (m, 3H), 2,41 - 2,31 (m,
 5H), 2,12 - 2,01 (m, 3H).

[0538] Пример 4. Типовой синтез Соединения I-4.





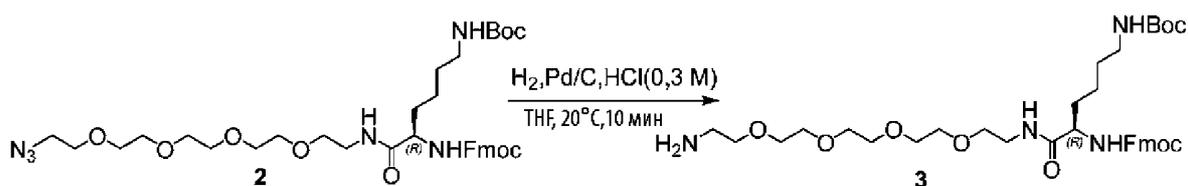
[0539] Общая методика получения соединения 2:



[0540] К раствору **соединения 1** (2 г, 4,27 ммоль, 1 экв.) в DCM (15 мл) добавляли CDI (692,14 мг, 4,27 ммоль, 1 экв.) и DIEA (1,66 г, 12,81 ммоль, 2,23 мл, 3 экв.). Затем **соединение 1A**

(1,12 г, 4,27 ммоль, 1 экв.). добавляли в реакционную смесь. Указанную смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 1 часа. LC-MS продемонстрировала, что Реагент 1 был полностью израсходован, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Остаток разводили H₂O 20 мл и экстрагировали DCM (20 мл * 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (20 мл * 3), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 2** (2,2 г, 3,09 ммоль, выход 72,30%) получали в виде белого твердого вещества. **LCMS:** RT = 3,185 мин, MS расщ.: 712,38, [M+H]⁺ = 713,4.

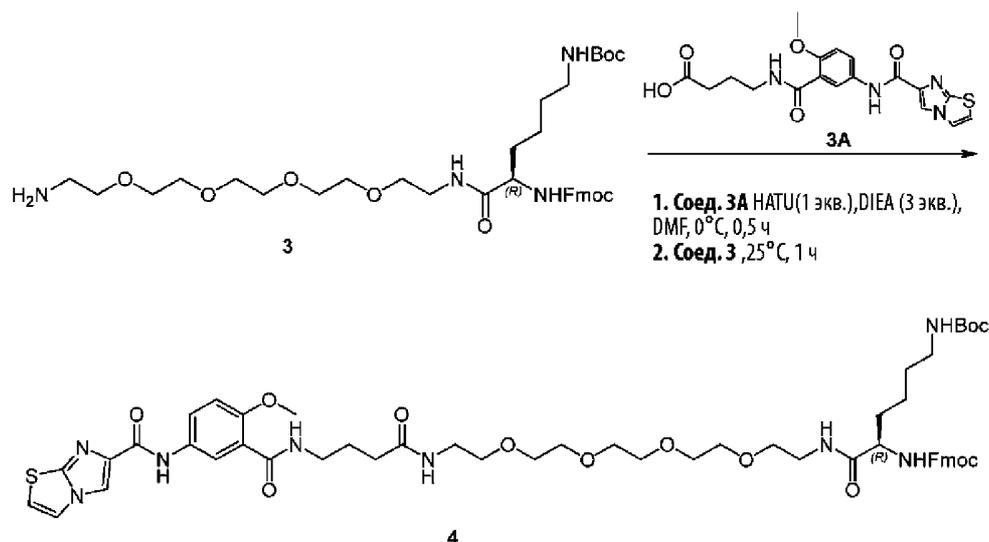
[0541] **Общая методика получения соединения 3:**



[0542] К раствору **соединения 2** (1,4 г, 1,96 ммоль, 1 экв.) в THF (50 мл) добавляли Pd/C (1 г, чистота 10%) и HCl (0,3 М, 32,73 мл, 5 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали и продували H₂ 3 раза. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 20 °С в течение 10 мин. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Смесь фильтровали и фильтрат лиофилизировали с получением твердого вещества белого цвета.

Соединение 3 (1,4 г, 1,45 ммоль, выход 73,92%, чистота 75%, HCl) получали в виде белого твердого вещества, что проверяли с помощью HNMR. **LCMS:** RT = 1,208 мин, MS расщ.: 686,39, [M+H]⁺ = 687,4. ¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,04 - 7,94 (m, 2H), 7,93 - 7,85 (m, 2H), 7,77 - 7,66 (m, 2H), 7,48 - 7,38 (m, 3H), 7,36 - 7,25 (m, 2H), 6,81 - 6,73 (m, 1H), 4,31 - 4,18 (m, 3H), 3,97 - 3,87 (m, 1H), 3,61 - 3,57 (m, 1H), 3,57 - 3,51 (m, 1H), 3,57 - 3,44 (m, 1H), 3,41 - 3,38 (m, 1H), 3,41 - 3,37 (m, 1H), 3,25 - 3,14 (m, 2H), 2,98 - 2,83 (m, 3H), 1,65 - 1,46 (m, 2H), 1,41 - 1,33 (m, 9H), 1,27 - 1,14 (m, 1H).

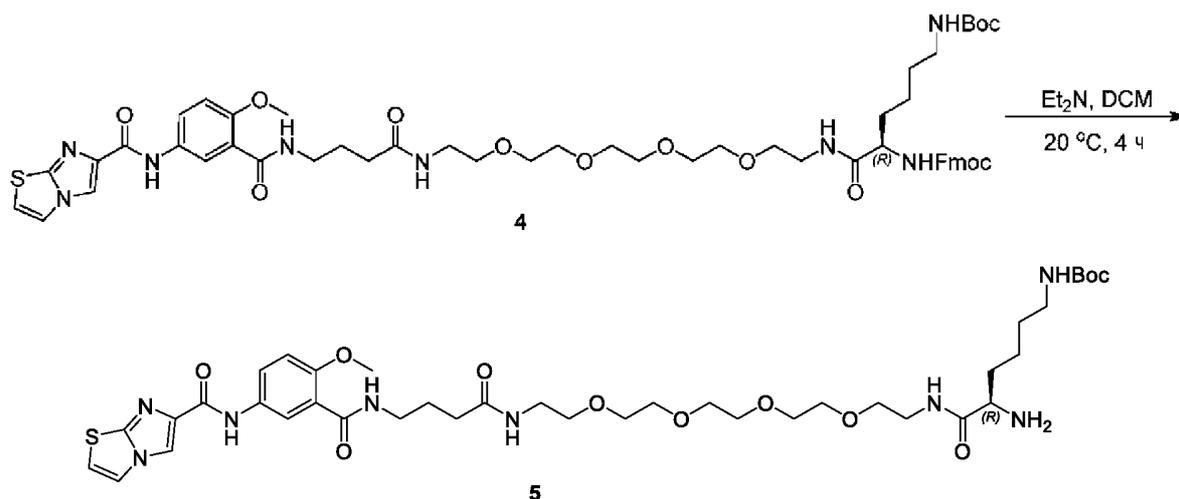
[0543] **Общая методика получения соединения 4:**



[0544] К раствору **соединения 3А** (500 мг, 968,15 мкмоль, 1 экв., TFA) в DMF (1 мл) добавляли НАТУ (368,12 мг, 968,15 мкмоль, 1 экв.) при температуре 0 °С в течение 0,5 часа. Смесь объединяли с **соединением 3** (778,07 мг, 968,15 мкмоль, 1 экв., HCl) и TEA (293,90 мг, 2,90 ммоль, 404,27 мкл, 3 экв.). Смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 1 часа. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Объединенную реакционную смесь выливали в HCl (0,5 M) (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (20 мл*2). Объединенную органическую фазу концентрировали под вакуумом с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, Дихлорметан: Метанол = от 100/1 до 5/1, R_f = 0,59).

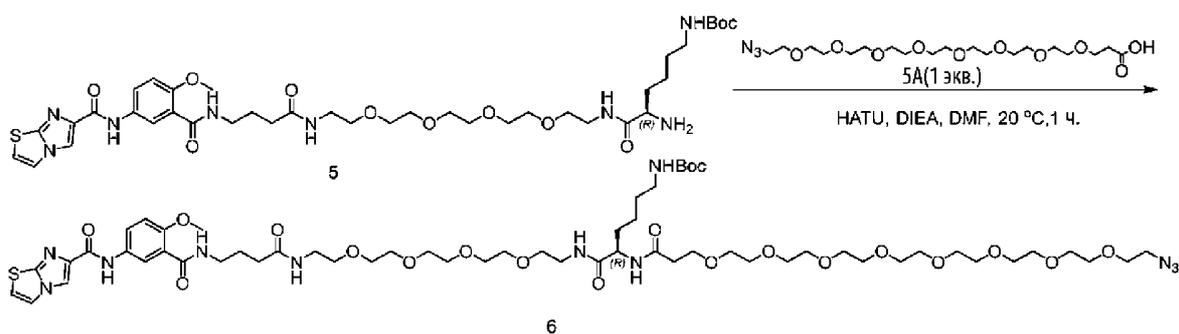
Соединение 4 (900 мг, 840,15 мкмоль, выход 86,78%) получали в виде твердого вещества розового цвета, проверенного с помощью HNMR. LCMS: RT = 2,852 мин, MS расщ.: 1070,48, [1/2M+H]⁺ = 536,4. ¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10,13 - 10,04 (m, 1H), 8,35 - 8,30 (m, 1H), 8,24 - 8,14 (m, 2H), 8,01 - 7,95 (m, 1H), 7,94 - 7,82 (m, 6H), 7,76 - 7,68 (m, 2H), 7,45 - 7,36 (m, 4H), 7,35 - 7,28 (m, 2H), 7,12 - 7,05 (m, 1H), 6,79 - 6,70 (m, 1H), 4,27 - 4,16 (m, 3H), 4,06 - 3,99 (m, 1H), 3,95 - 3,88 (m, 1H), 3,87 - 3,83 (m, 3H), 3,52 - 3,43 (m, 13H), 3,41 - 3,36 (m, 5H), 3,29 - 3,23 (m, 3H), 3,21 - 3,15 (m, 4H), 2,93 - 2,79 (m, 3H), 2,17 - 2,11 (m, 2H), 2,00 - 1,96 (m, 1H), 1,77 - 1,69 (m, 2H), 1,62 - 1,46 (m, 3H), 1,40 - 1,32 (m, 12H), 1,20 - 1,15 (m, 2H).

[0545] **Общая методика получения соединения 5:**



[0546] К раствору **соединения 4** (600 мг, 560,10 мкмоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) добавляли Et_2NH (2,13 г, 29,12 ммоль, 3,00 мл, 51,99 экв.). Смесь перемешивали при температуре 20 °C в течение 4 часов. TLC продемонстрировала, что соединение 4 полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. LC-MS продемонстрировала, что соединение 4 полностью израсходовано и была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 5** (475,52 мг, 560,09 мкмоль, выход 100%) использовали на следующей стадии без дополнительной очистки, проверенной с помощью ^1H ЯМР. **LCMS:** RT = 1,830 мин, MS расщ.: 848,41, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 849,4$. ^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- d) δ ppm 9,15 - 9,04 (m, 1H), 8,29 - 8,06 (m, 4H), 7,80 - 7,67 (m, 3H), 7,54 - 7,47 (m, 1H), 7,42 - 7,31 (m, 3H), 7,09 - 6,93 (m, 2H), 6,13 - 6,01 (m, 2H), 5,38 - 5,26 (m, 1H), 4,05 - 3,94 (m, 3H), 3,76 - 3,61 (m, 13H), 3,60 - 3,53 (m, 5H), 3,51 - 3,38 (m, 6H), 3,18 - 3,05 (m, 1H), 3,05 - 2,96 (m, 1H), 2,36 - 2,20 (m, 3H), 2,00 - 1,89 (m, 4H), 1,46 - 1,33 (m, 16H), 1,29 - 1,20 (m, 3H), 0,94 - 0,73 (m, 6H).

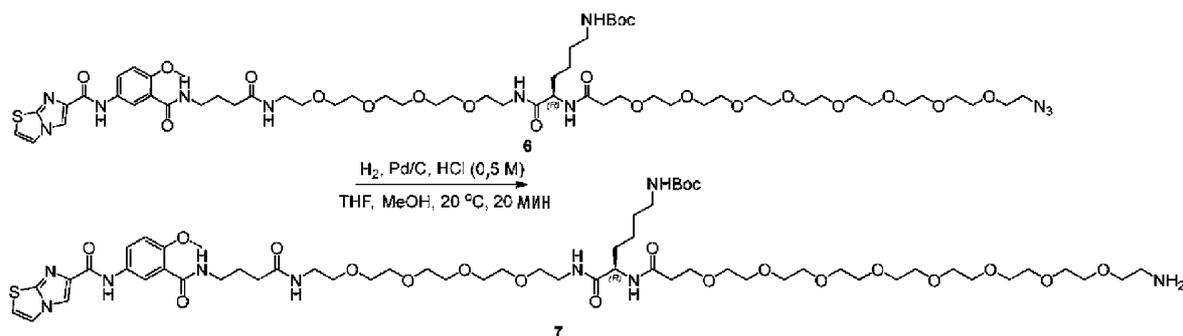
[0547] **Общая методика получения соединения 6:**



[0548] К раствору **соединения 5A** (310 мг, 663,09 мкмоль, 1,2 экв.) в ДХМ (3 мл) добавляли HATU (210,10 мг, 552,57 мкмоль, 1 экв.) и TEA (139,79 мг, 1,38 ммоль, 192,28 мкл, 2,5 экв.) при

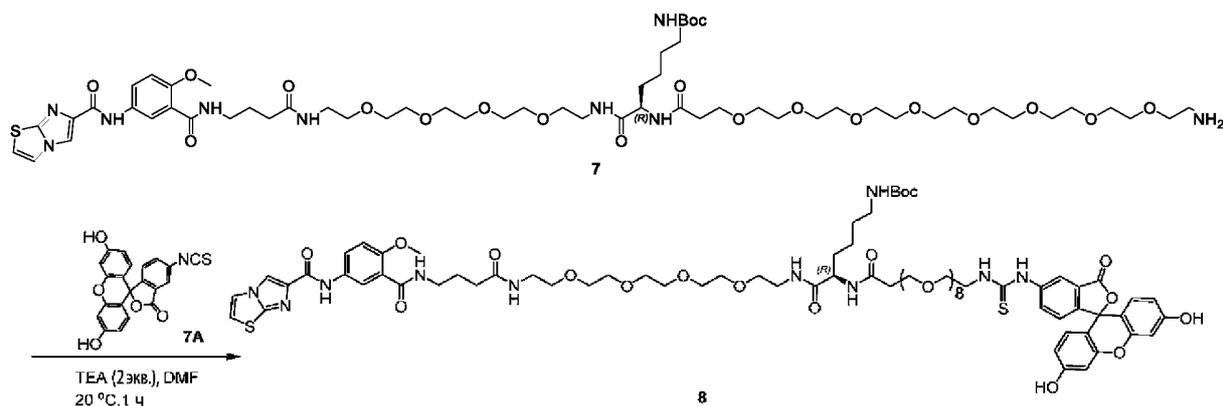
температуре 0 °C в течение 0,5 часа. Указанную смесь добавляли в **соединение 5** (469,14 мг, 552,57 мкмоль, 1 экв). Смесь перемешивали при температуре 0 °C в течение 1 часа. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Остаток промывали 10 мл NH₄Cl (10 мл * 2) и экстрагировали с использованием 40 мл DCM (40 мл * 3). Объединенные органические слои промывали 20 мл солевого раствора, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 6** (700 мг, 539,08 мкмоль, выход 97,56%) применяли на следующей стадии без дополнительной очистки (желтое масло). LCMS: RT = 2,372 мин, MS расщ.: 1297,65, [M+H]⁺ = 650,1.

[0549] Общая методика получения соединения 7:



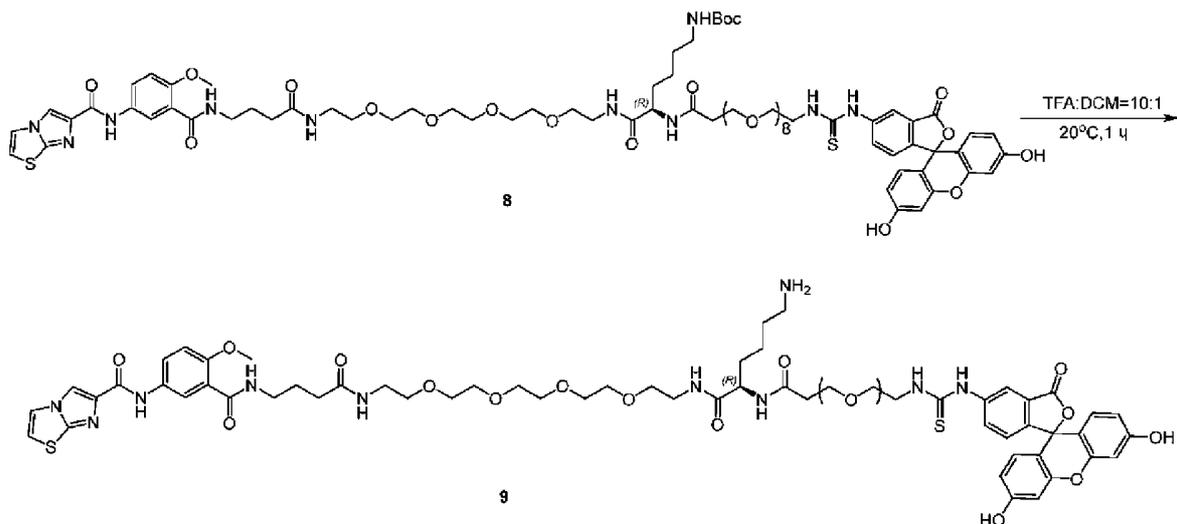
[0550] К раствору **соединения 6** (100 мг, 77,01 мкмоль, 1 экв.) в THF (1 мл) и MeOH (0,5 мл) добавляли Pd/C (100 мг, 77,01 мкмоль, чистота 10%, 1 экв.) и HCl (0,5 M, 462,07 мл, 3 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали под вакуумом и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 25 °C в течение 10 мин. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Указанную смесь фильтровали и фильтрат экстрагировали с использованием 10 мл МТВЕ. рН доводили примерно до 8-9 путем постепенного добавления насыщ. NaHCO₃. Водный слой экстрагировали с использованием 20 мл DCM (20 мл* 2). Объединенные органические слои промывали 20 мл солевого раствора, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 7** (40 мг, 9,12 мкмоль, выход 11,84%, чистота 29%) получали в виде желтого масла, проверенного LCMS. LCMS: RT = 1,973 мин, MS расщ.: 1271,66, [1/2M+H]⁺ = 637,2. LCMS: RT = 1,919 мин, MS расщ.: 1271,66, [1/2M+H]⁺ = 637,1.

[0551] Общая методика получения соединения 8:



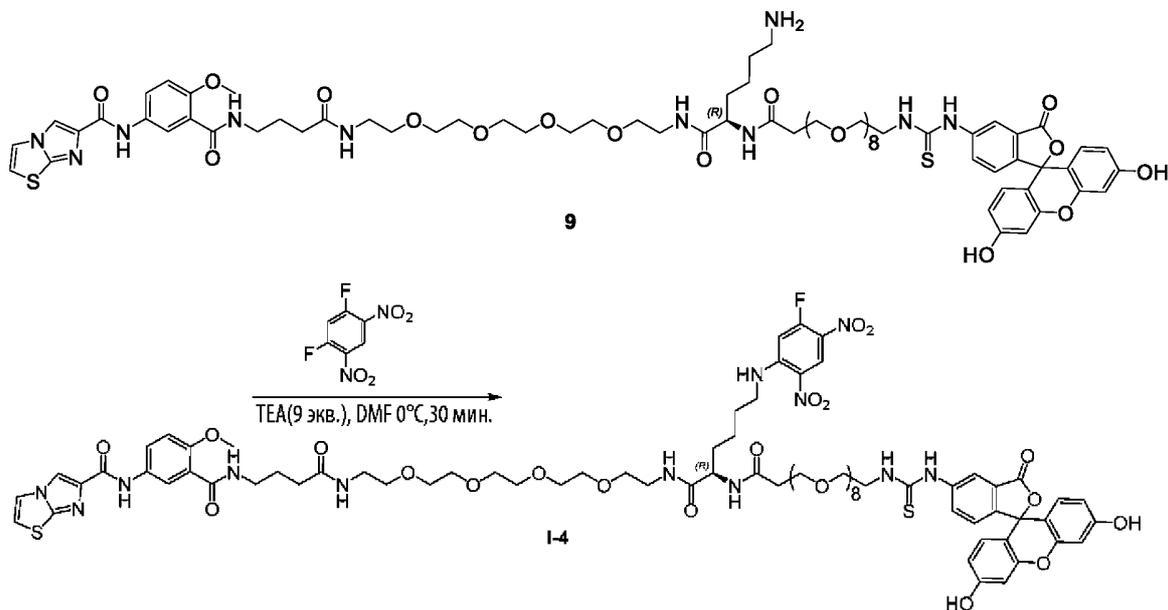
[0552] К раствору **соединения 7** (200 мг, 157,17 мкмоль, 1 экв.) в DMF (2 мл) добавляли TEA (31,81 мг, 314,34 мкмоль, 43,75 мкл, 2 экв.) и **соединение 7A** (60 мг, 154,09 мкмоль, 0,98 экв.). Смесь перемешивали при температуре 20 °C в течение 1 часа. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (колонка: Nano-micro Kromasil C18 100*30 мм 5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1% TFA)-ACN]; В%: 30%-55%, 10 мин). **Соединение 8** (100 мг, 53,55 мкмоль, выход 34,07%, чистота 89%) получали в виде желтого твердого вещества, проверенного с помощью HNMR и LCMS. **LCMS**: RT = 1,805 мин, MS расщ.: 1660,69, [1/2M+H]⁺ = 831,8. **LCMS**: RT = 1,265 мин, MS расщ.: 1660,69, [1/2M+H]⁺ = 831,8. **¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ ppm 10,12 - 10,07 (m, 1H), 10,05 - 9,98 (m, 1H), 8,35 - 8,30 (m, 1H), 8,28 - 8,24 (m, 1H), 8,22 - 8,17 (m, 2H), 7,99 - 7,96 (m, 1H), 7,94 - 7,87 (m, 3H), 7,87 - 7,80 (m, 1H), 7,74 - 7,67 (m, 1H), 7,44 - 7,37 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 1H), 7,10 - 7,06 (m, 1H), 6,75 - 6,69 (m, 1H), 6,67 - 6,62 (m, 2H), 6,62 - 6,51 (m, 4H), 3,87 - 3,79 (m, 4H), 3,60 - 3,50 (m, 95H), 3,51 - 3,44 (m, 51H), 3,40 - 3,32 (m, 5H), 3,28 - 3,20 (m, 2H), 3,20 - 3,10 (m, 4H), 2,88 - 2,80 (m, 2H), 2,44 - 2,26 (m, 2H), 2,17 - 2,08 (m, 2H), 1,76 - 1,68 (m, 2H), 1,61 - 1,50 (m, 1H), 1,49 - 1,40 (m, 1H), 1,38 - 1,29 (m, 12H), 1,23 - 1,10 (m, 2H).

[0553] **Общая методика получения соединения 9:**



[0554] К раствору **соединения 8** (6 мг, 3,61 мкмоль, 1 экв.) в DCM (0,5 мл) добавляли TFA (61,60 мг, 540,24 мкмоль, 0,04 мл, 149,64 экв.). Смесь перемешивали при температуре 20 °С в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь сушили в атмосфере азота. **Соединение 9** (5,64 мг, 3,61 мкмоль, выход 100%) получали в виде желтого твердого вещества. LCMS: RT = 1,153 мин, MS расщ.: 1560,64, $[1/2M+H]^+$ = 781,7.

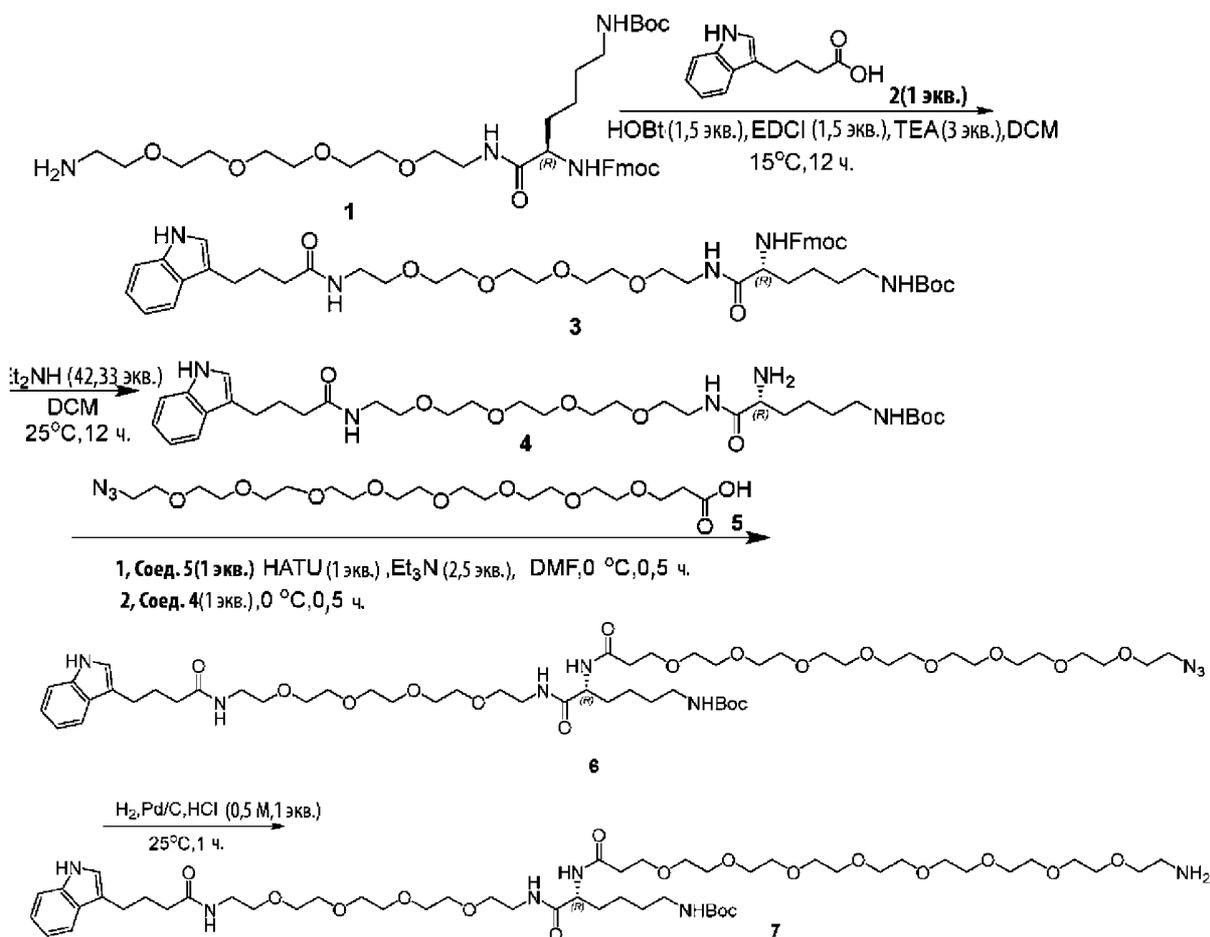
[0555] *Общая методика получения соединения I-4:*

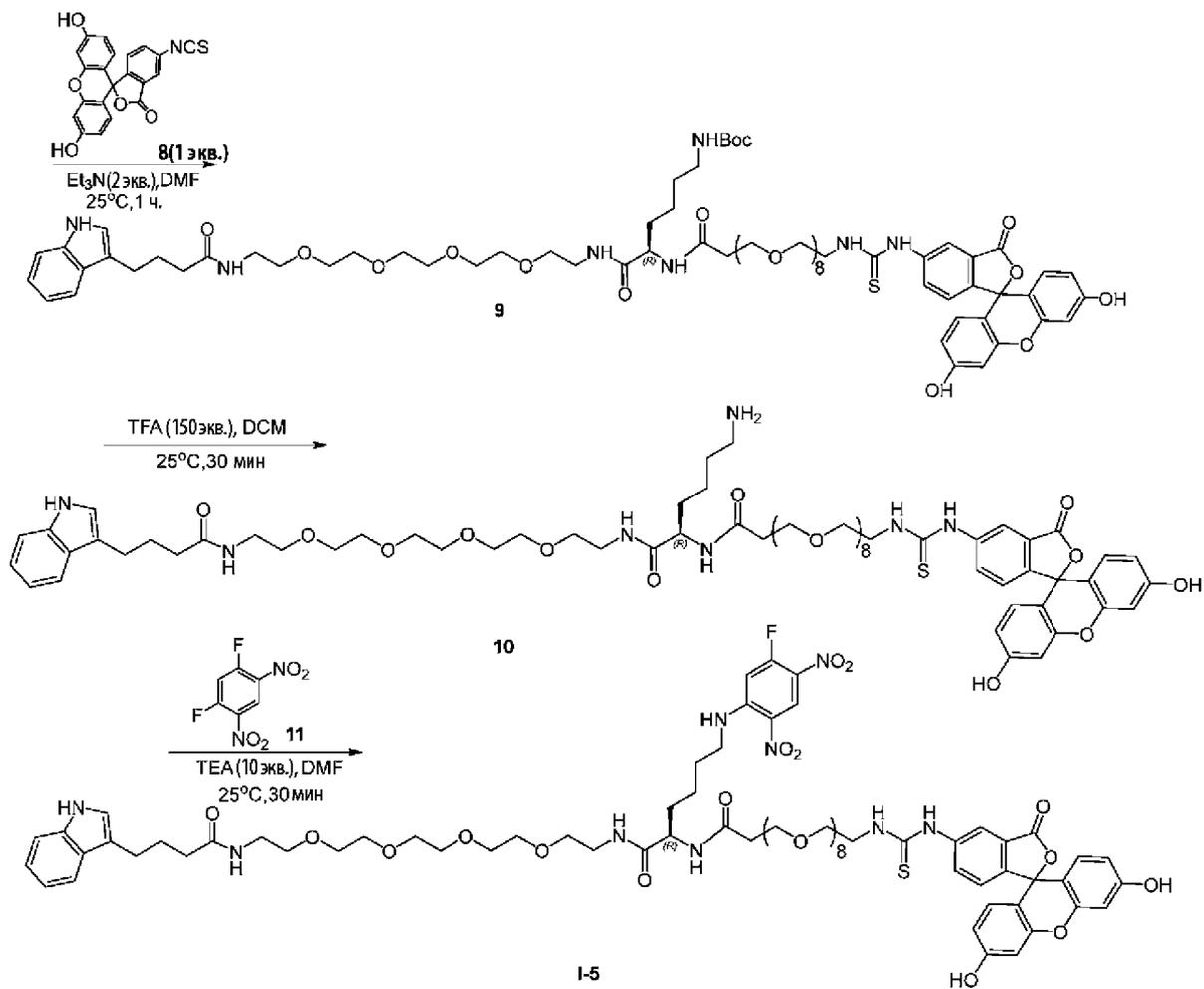


[0556] К раствору **соединения 9** (18,8 мг, 12,04 мкмоль, 1 экв.) в DMF (1 мл) добавляли TEA (10,96 мг, 108,34 мкмоль, 15,08 мкл, 9 экв.). Указанную смесь объединяли с 1,5-дифтор-2,4-динитробензолом (2,46 мг, 12,04 мкмоль, 2,94 мкл, 1 экв.) при температуре 0 °С. Смесь

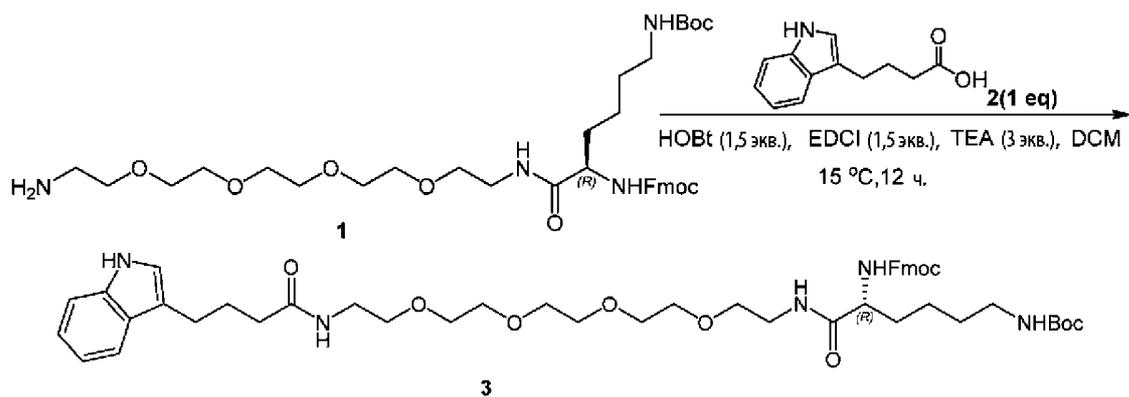
перемешивали при температуре 0 °С в течение 30 мин. LC-MS продемонстрировала, что была обнаружена целевая масса. Смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Nano-micro Kromasil C18 80*25 мм *3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 35%-55%, 10 мин). **Соединение I-4** (1,02 мг, 5,38e-1 мкмоль, выход 4,47%, чистота 92%) получали в виде желтого твердого вещества, проверенного с помощью HPLC, MS и HNMR. **LCMS:** RT = 2,591 мин, MS расщ.: 1744,63, [1/2M+H]⁺ = 873,8. **МС:** MS расщ.: 1744,63, [1/2M+H]⁺ = 874,0. **HPLC:** RT = 3,003 мин. **¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ ppm 10,17 - 10,07 (m, 2H), 10,06 - 9,99 (m, 1H), 8,91 - 8,79 (m, 2H), 8,34 - 8,30 (m, 1H), 8,30 - 8,25 (m, 1H), 8,30 - 8,24 (m, 1H), 8,23 - 8,15 (m, 2H), 8,12 - 8,04 (m, 1H), 8,01 - 7,93 (m, 2H), 7,92 - 7,83 (m, 2H), 7,77 - 7,69 (m, 1H), 7,44 - 7,40 (m, 1H), 7,24 - 7,14 (m, 1H), 7,12 - 7,05 (m, 1H), 6,98 - 6,92 (m, 1H), 6,70 - 6,64 (m, 2H), 6,62 - 6,52 (m, 3H), 4,29 - 4,20 (m, 1H), 3,90 - 3,83 (m, 3H), 3,64 - 3,36 (m, 206H), 3,33 - 3,24 (m, 11H), 3,22 - 3,13 (m, 7H), 2,40 - 2,26 (m, 6H), 2,17 - 2,08 (m, 3H), 1,80 - 1,70 (m, 2H), 1,66 - 1,44 (m, 4H), 1,37 - 1,26 (m, 2H), 1,26 - 1,19 (m, 2H).

[0557] Пример 5. Типовой синтез Соединения I-5.





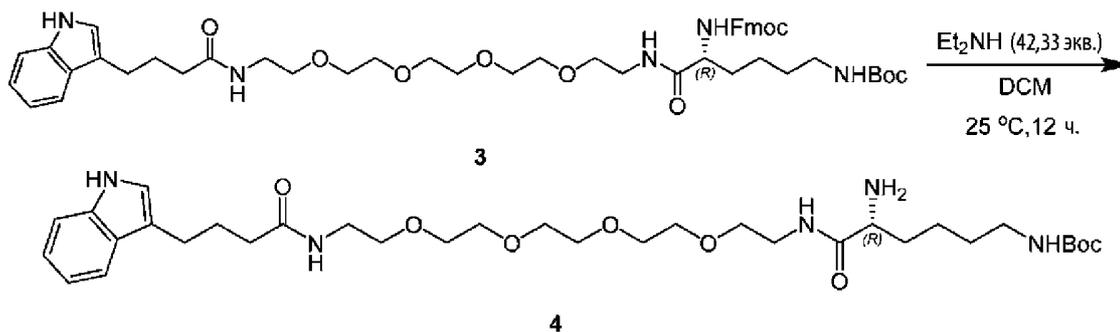
[0558] Общая методика получения соединения 3:



[0559] К раствору **соединения 1** (1 г, 1,31 ммоль, 1 экв.) в DCM (40 мл) добавляли TEA

(397,79 мг, 3,93 ммоль, 547,16 мкл, 3 экв.), EDCI (376,80 мг, 1,97 ммоль, 1,5 экв.), **Соединение 2** (266,31 мг, 1,31 ммоль, 1 экв.) и HOBT (265,59 мг, 1,97 ммоль, 1,5 экв.). Смесь перемешивали при температуре 15 °С в течение 12 часов. LC-MS (Rt = 1,489 мин.) продемонстрировала, что **соединение 1** было израсходовано полностью, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь распределяли между DCM (40 мл) и 0,5 М HCl (40 мл). Органическую фазу отделяли, промывали солевым раствором 40 мл, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, Дихлорметан: Метанол = от 80:1 до 20:1). **Соединение 3** (900 мг, 940,31 мкмоль, выход 71,76%) получали в виде желтого твердого вещества. **LCMS**: RT = 1,489 мин, MS расщ.: 871,5, [M+H]⁺ = 872,5. ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d₄) δ ppm 7,77 - 7,87 (m, 2 H) 7,63 - 7,72 (m, 2 H) 7,50 - 7,57 (m, 1 H) 7,37 - 7,44 (m, 2 H) 7,28 - 7,35 (m, 3 H) 6,94 - 7,12 (m, 3 H) 4,33 - 4,48 (m, 2 H) 4,18 - 4,29 (m, 1 H) 4,00 - 4,11 (m, 1 H) 3,42 - 3,65 (m, 19 H) 3,18 - 3,27 (m, 1 H) 2,99 - 3,09 (m, 2 H) 2,73 - 2,84 (m, 2 H) 2,22 - 2,33 (m, 2 H) 1,96 - 2,07 (m, 2 H) 1,68 - 1,82 (m, 1 H) 1,55 - 1,68 (m, 2 H) 1,39 - 1,54 (m, 14 H) 1,28 - 1,36 (m, 3 H).

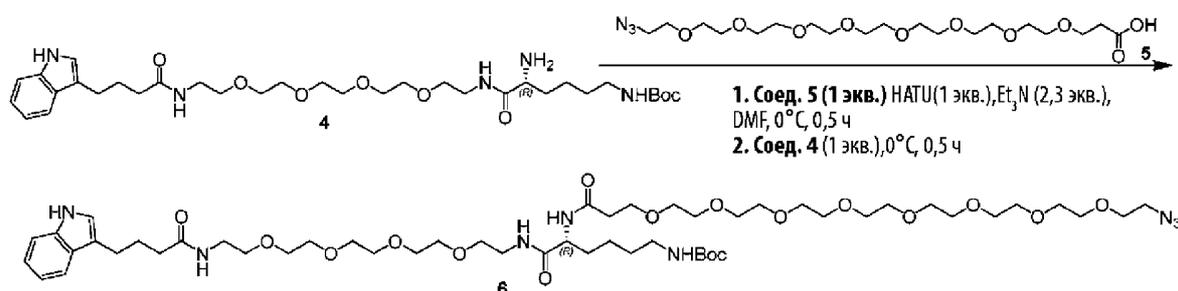
[0560] **Общая методика получения соединения 4:**



[0561] К раствору **соединения 3** (900 мг, 1,03 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) добавляли Et₂NH (3,19 г, 43,69 ммоль, 4,50 мл, 42,33 экв.). Смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 12 часов. LC-MS (Rt = 1,970 мин) продемонстрировала, что **соединение 3** было израсходовано полностью и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя. Остаток использовали сразу, в следующей стадии. **Соединение 4** (670,64 мг, 1,03 ммоль, выход 100,00%) получали в виде желтого масла. **LCMS**: RT = 1,970 мин, MS расщ.: 649,6, [M+H]⁺ = 650,4. ¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ 8,43 - 8,53 (m, 1 H) 7,60 - 7,71 (m, 2 H) 7,50 - 7,56 (m, 1 H) 7,37 - 7,44 (m, 1 H) 7,21 - 7,35 (m, 4 H) 7,07 - 7,14 (m, 1 H) 7,00 - 7,05 (m, 1 H) 6,95 - 6,99 (m, 1 H) 5,98 - 6,05 (m, 1 H) 3,51 - 3,63 (m, 9 H) 3,43 - 3,50 (m, 3 H) 3,30 - 3,41 (m, 3 H) 3,16 - 3,22 (m, 1 H) 2,99 - 3,08 (m, 1 H) 2,84 - 2,98 (m, 3

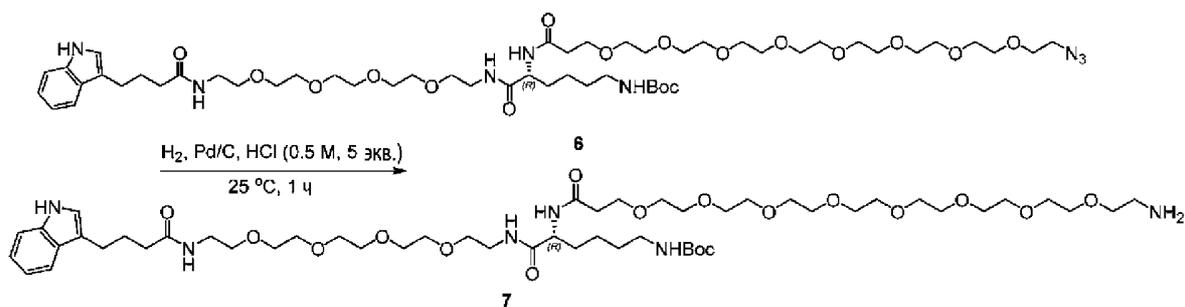
H) 2,69 - 2,80 (m, 1 H) 2,09 - 2,23 (m, 2 H) 1,93 - 2,07 (m, 2 H) 1,66 - 1,81 (m, 2 H) 0,92 - 1,08 (m, 1 H)
0,68 - 0,87 (m, 1 H).

[0562] **Общая методика получения соединения 6 :**



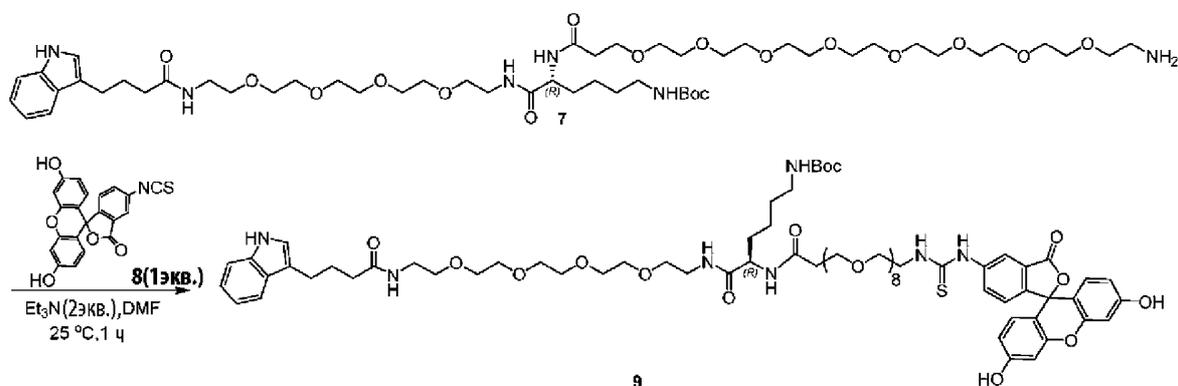
[0563] К раствору **соединения 5** (730 мг, 1,56 ммоль, 1,5 экв.) в DCM (10 мл) добавляли Et₃N (263,34 мг, 2,60 ммоль, 362,23 мкл, 2,5 экв.) и HATU (395,81 мг, 1,04 ммоль, 1 экв.). Указанную смесь перемешивали при температуре 0 °С в течение 30 мин. К реакционной смеси добавляли **соединение 4** (676,44 мг, 1,04 ммоль, 1 экв.). Смесь перемешивали при температуре 0°С в течение 30 мин. LC-MS (Rt = 1,365 мин) продемонстрировала, что **соединение 4** было израсходовано полностью и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь распределяли между DCM (10 мл) и H₂O (10 мл). Объединенные органические слои промывали NH₄Cl (10 мл), сушили над Na₂SO₄, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, Дихлорметан: Метанол = от 50:1 до 1:1). **Соединение 6** (1,1 г, 1,00 ммоль, выход 96,12%) получали в виде желтого масла. LCMS: RT = 1,317 мин, MS расщ.: 1098,6, [M/2+H]⁺ = 550,6. ¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ 8,58 - 8,64 (m, 1 H) 7,93 - 7,98 (m, 8 H) 7,61 - 7,69 (m, 4 H) 7,49 - 7,53 (m, 2 H) 7,27 - 7,34 (m, 4 H) 7,22 - 7,27 (m, 3 H) 7,05 - 7,12 (m, 2 H) 6,95 - 7,04 (m, 3 H) 6,72 - 6,82 (m, 2 H) 6,26 - 6,32 (m, 1 H) 5,99 - 6,03 (m, 2 H) 4,64 - 4,76 (m, 1 H) 4,21 - 4,30 (m, 2 H) 3,67 - 3,67 (m, 1 H) 3,50 - 3,62 (m, 122 H) 3,24 - 3,39 (m, 18 H) 3,11 - 3,18 (m, 3 H) 2,81 (s, 44 H) 2,79 - 2,85 (m, 1 H) 2,71 - 2,75 (m, 11 H) 2,52 - 2,58 (m, 3 H) 2,36 - 2,44 (m, 3 H) 2,12 - 2,19 (m, 3 H) 1,95 - 2,03 (m, 3 H) 1,33 - 1,41 (m, 23 H) 1,28 - 1,33 (m, 5 H) 1,08 - 1,13 (m, 3 H) 1,01 - 1,06 (m, 3 H).

[0564] **Общая методика получения соединения 7 :**



[0565] К раствору **соединения 6** (500 мг, 454,83 мкмоль, 1 экв.) в THF (5 мл) добавляли HCl (0,5 M, 4,55 мл, 5 экв.) и Pd/C (454,83 мкмоль, 500 мг). Указанную смесь перемешивали при температуре 25 °C в течение 1 часа. LC-MS ($R_t = 2,109$ мин) продемонстрировала, что **соединение 6** было израсходовано полностью и был обнаружен один основной пик с целевой массой. К реакционной смеси добавляли 20 мл этилацетата. Органическую фазу отделяли. Водную фазу подщелачивали до pH 8 с помощью NaHCO_3 и затем экстрагировали с использованием DCM (30 мл*6). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 7** (480 мг, 447,21 мкмоль, выход 98,33%) получали в виде желтого масла. LCMS: $R_t = 2,109$ мин, MS расщ.: 1072,7, $[\text{M}/2+\text{H}]^+ = 537,6$.

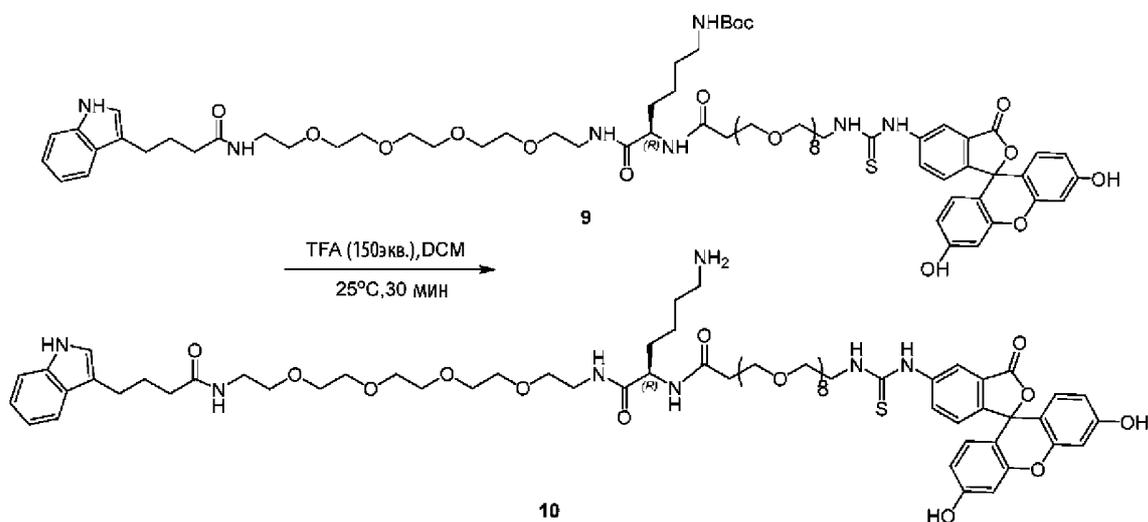
[0566] *Общая методика получения соединения 9 :*



[0567] К раствору **соединения 7** (220 мг, 204,97 мкмоль, 1 экв.) в DMF (3 мл) добавляли Et_3N (41,48 мг, 409,95 мкмоль, 57,06 мкл, 2 экв.) и **соединение 8** (79,81 мг, 204,97 мкмоль, 1 экв.). Указанную смесь перемешивали при температуре 25 °C в течение 1 часа. LC-MS ($R_t = 1,308$ мин.) продемонстрировала, что **соединение 7** было израсходовано полностью и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя. Остаток очищали препаративной HPLC (основные условия; колонка: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*40мм*10мкм; мобильная фаза: [вода (0,04% $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$ +10

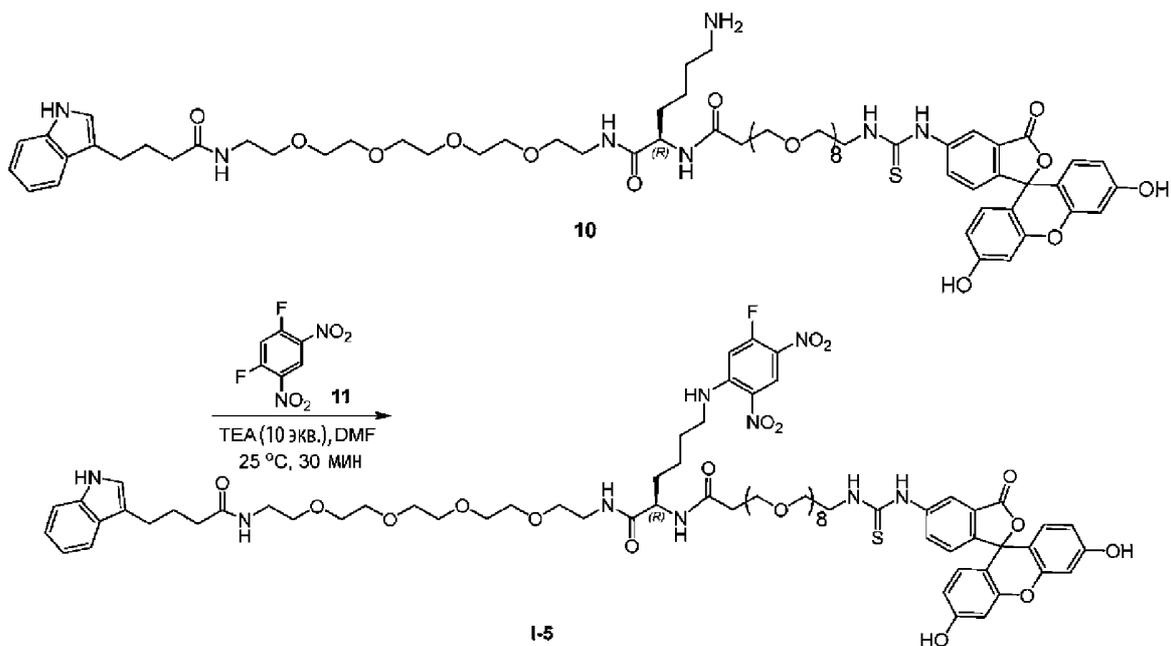
мМ NH₄HCO₃)-ACN]; В%: 10%-40%, 10 мин). **Соединение 7** (100 мг, 68,37 мкмоль, выход 33,35%) получали в виде желтого масла. LCMS: RT = 1,308 мин, MS расщ.: 1461,7, [M/2+H]⁺ = 732,2.

[0568] **Общая методика получения соединения 10:**



[0569] Смесь **соединения 9** (60 мг, 41,02 мкмоль, 1 экв.) и TFA (154,00 мг, 1,35 ммоль, 0,1 мл, 32,93 экв.) в DCM (1 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем перемешивали при температуре 20 °С в течение 1 часа в атмосфере N₂. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали. **Соединение 10** (55,89 мг, неочищенное) получали в виде желтого масла. LCMS: RT = 1,171 мин, MS расщ.: 1053,4, [M₂+H]⁺ = 682,2.

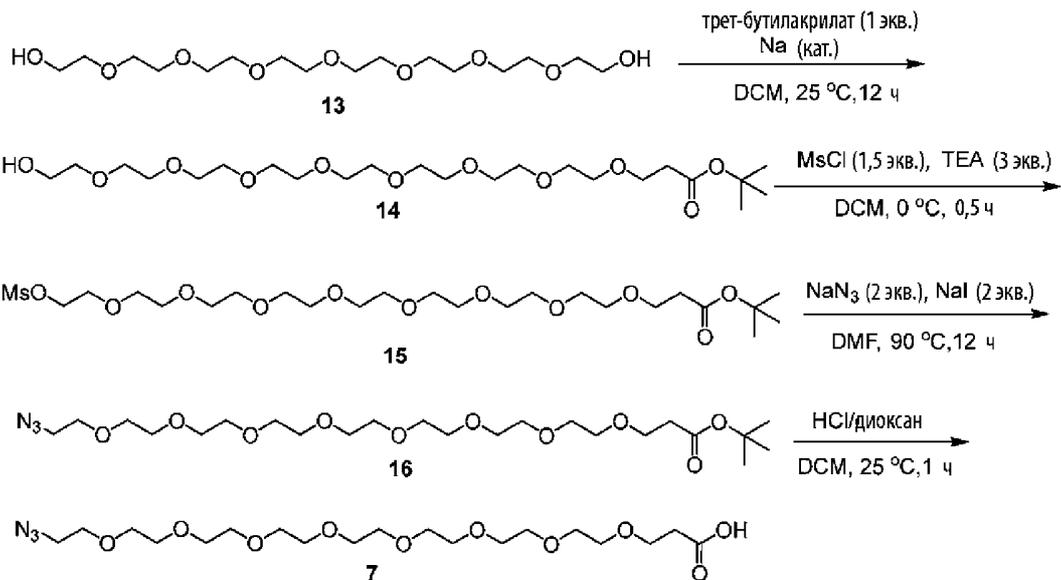
[0570] **Общая методика получения соединения 1-5:**



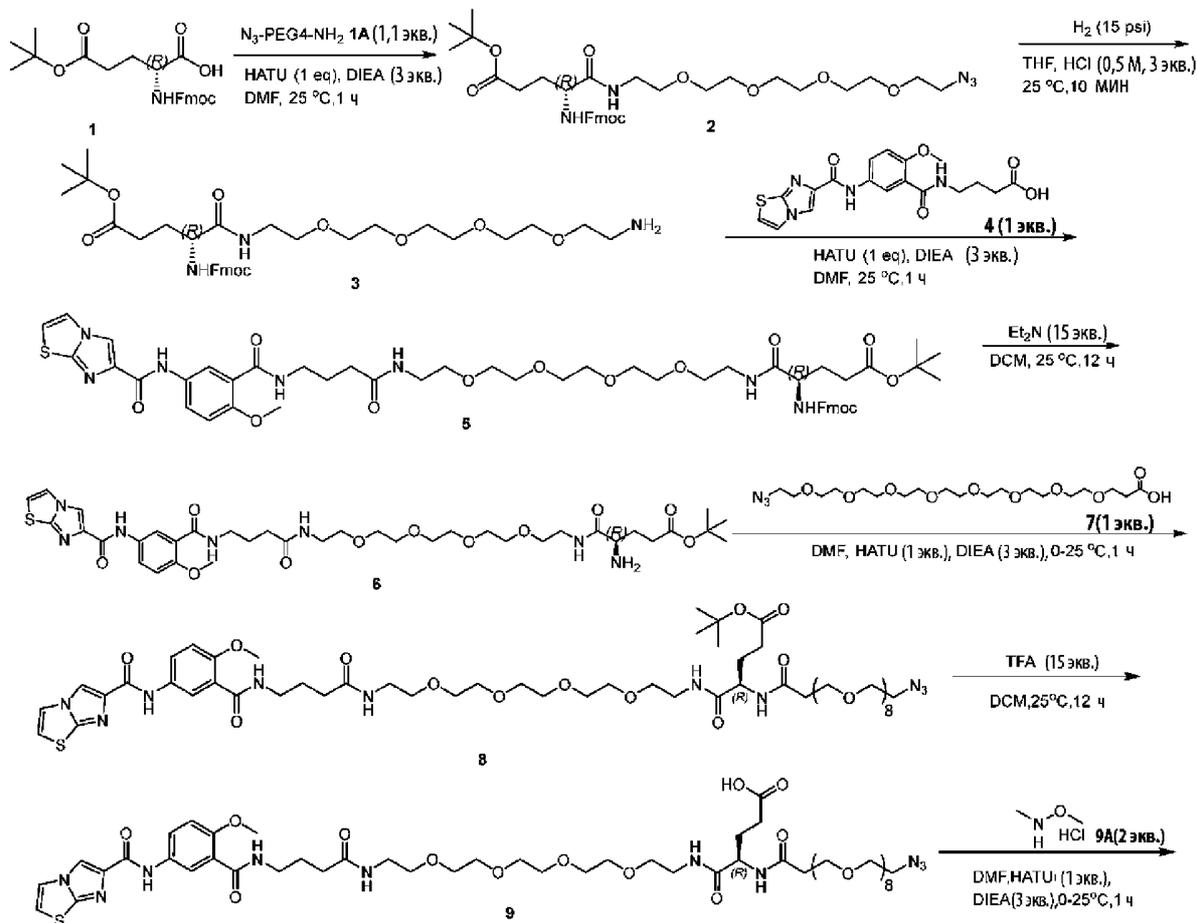
[0571] К раствору **Соединение 10** (55,89 мг, 37,85 мкмоль, 1 экв, TFA) в DMF (1 мл) добавляли Et3N (38,30 мг, 378,50 мкмоль, 52,68 мкл, 10 экв) и **соединение 11** (7,72 мг, 37,85 мкмоль, 1 экв.). Указанную смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 30 мин. LCMS продемонстрировала, что исходный материал полностью израсходован. HPLC (RT = 2,160 мин) продемонстрировала, что исходный материал полностью израсходован. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Waters Xbridge BEH C18 100*30мм*10мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; %: 25%-85%, 10 мин). **Соединение I-5** (2,68 мг, 1,73 мкмоль, выход 4,58%) получали в виде белого твердого вещества. **LCMS**: RT = 2,822 мин, MS расщ.: 1234,7, [M/2+H]⁺ = 774,2. **HPLC**: RT = 3,160 мин. **¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆)** δ ppm 9,98 - 10,22 (m, 3 H) 8,84 - 8,92 (m, 2 H) 8,27 (s, 1 H) 8,09 (br s, 1 H) 7,94 - 8,01 (m, 2 H) 7,81 - 7,87 (m, 1 H) 7,74 (br d, J = 6,36 Hz, 1 H) 7,48 (d, J = 7,46 Hz, 1 H) 7,31 (d, J = 8,19 Hz, 1 H) 7,02 - 7,24 (m, 6 H) 6,92 - 6,99 (m, 2 H) 6,67 (d, J = 2,20 Hz, 2 H) 6,54 - 6,62 (m, 5 H) 4,20 - 4,31 (m, 2 H) 3,69 (br s, 5 H) 3,57 (br s, 13 H) 3,12 - 3,27 (m, 7 H) 2,55 - 2,73 (m, 9 H) 2,52 - 2,55 (m, 12 H) 2,32 - 2,45 (m, 9 H) 2,08 - 2,15 (m, 2 H) 1,80 - 1,88 (m, 2 H) 1,46 - 1,68 (m, 5 H) 1,16 - 1,40 (m, 4 H). **МС**: [M/2+H]⁺ = 773,9.

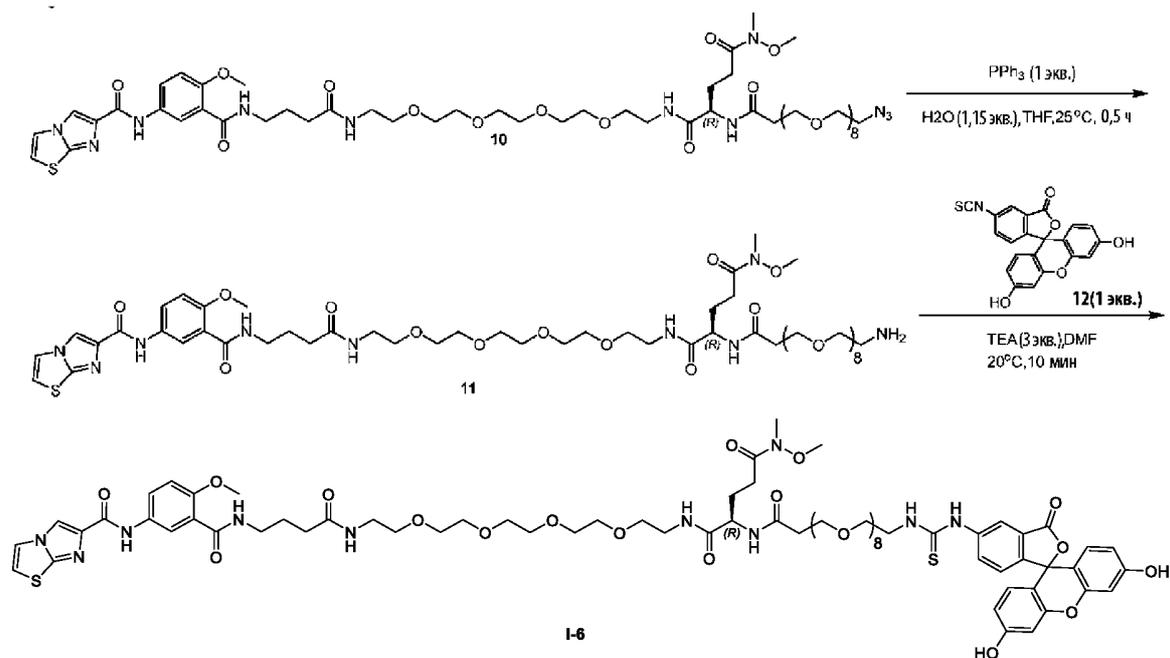
[0572] **Пример 6. Типовой синтез Соединения I-6.**

[0573] **Общая методика получения фрагмента 7:**

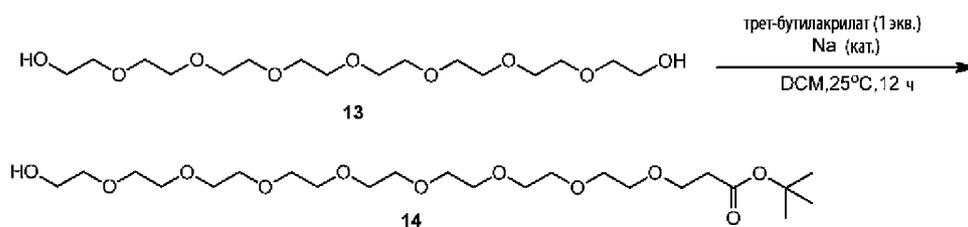


[0574] Общая методика получения соединения 1-6:





[0575] Общая методика получения соединения 14:

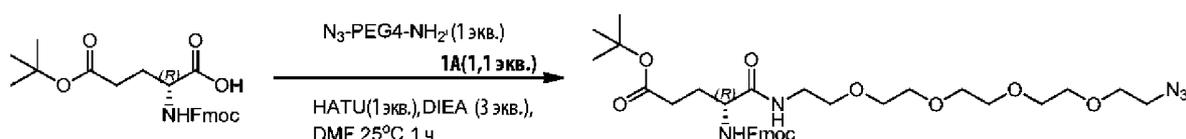


[0576] К раствору **соединения 13** (16 г, 43,19 ммоль, 1 экв.) в DCM (70 мл) добавляли Na (29,79 мг, 1,30 ммоль, 30,71 мкл, 0,03 экв.) и трет-бутилакрилат (5,54 г, 43,19 ммоль, 6,27 мл, 1 экв.). Смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 12 часов. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10: 1 R_f = 0,43) продемонстрировала, что реакция завершена. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления DCM. Остаток разбавляли 100 мл H₂O и экстрагировали EtOAc (200 мл * 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (300 мл * 1), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с образованием остатка. **Соединение 14** (16 г, 35,20 ммоль, выход 81,49%) получали в виде желтого масла.

[0577] Общая методика получения соединения 15:

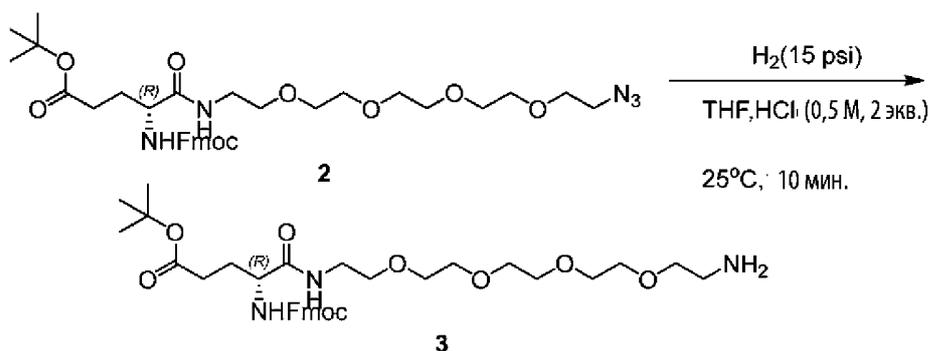
[0582] Параллельно проводили три реакции. К раствору **соединения 16** (6 г, 11,46 ммоль, 1 экв.) в DCM (120 мл) добавляли HCl/диоксан (4 М, 48,00 мл, 16,76 экв.). Смесь перемешивали при 25 °С в течение 0,5 часа. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10: 1 R_f = 0,1) продемонстрировала, что реакция завершена. Три реакции обрабатывали вместе. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, DCM: MeOH = от 200/1 до 1/1). **Соединение 7** (10 г, 21,39 ммоль, выход 62,22%) получали в виде желтого масла.

[0583] **Общая методика получения соединения 2:**



[0584] К раствору **соединения 1** (6 г, 14,10 ммоль, 1 экв.) в DMF (40 мл) добавляли HATU (5,36 г, 14,10 ммоль, 1 экв.) и DIEA (5,47 г, 42,31 ммоль, 7,37 мл, 3 экв.). Смесь перемешивали при 25 °С в течение 0,5 часа. Затем к ней добавляли **соединение 1A** (4,07 г, 15,51 ммоль, 1,1 экв.). Смесь перемешивали при 25 °С в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что **Соединение 1** было полностью израсходовано, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Смесь разбавляли 0,5 М HCl (200 мл) и экстрагировали MTBE (200 мл × 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (200 мл × 1), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и упаривали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, петролейный эфир: Этилацетат = от 20:1 до 0:1). **Соединение 2** (6 г, 8,85 ммоль, выход 62,76%, чистота 98,8%) получали в виде белого твердого вещества. LCMS: RT = 1,526 мин, MS расщ.: 669,34, [M+H]⁺ = 670,3.

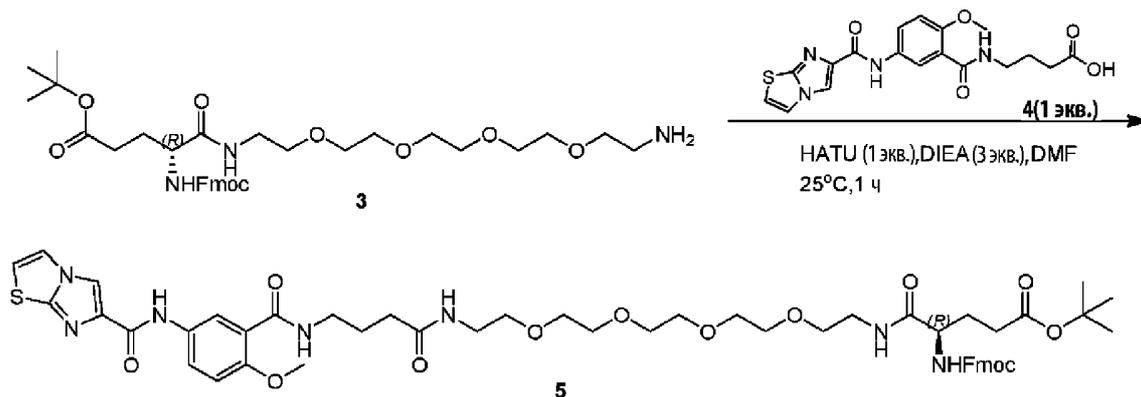
[0585] **Общая методика получения соединения 3:**



[0586] К раствору **соединения 2** (3 г, 4,48 ммоль, 1 экв.) в THF (80 мл) добавляли Pd/C (5 г,

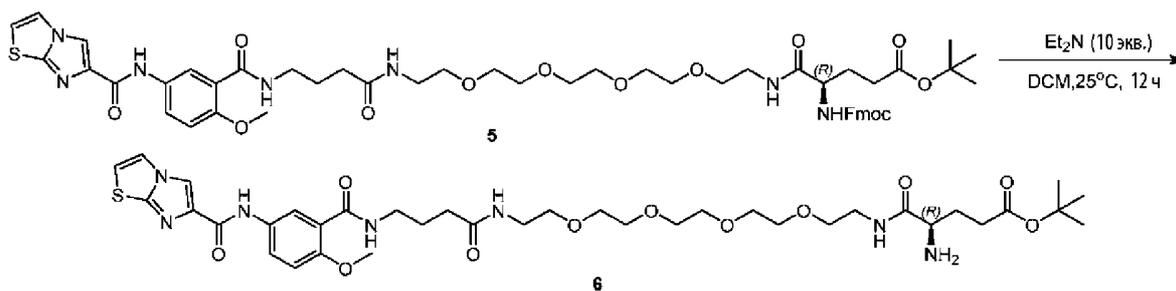
4,48 ммоль, чистота 10%, 1 экв.) и HCl (0,5 M, 17,92 мл, 2 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 25 °C в течение 10 мин. LC-MS продемонстрировала, что **соединение 2** полностью израсходовано, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 3** (2,8 г, 4,12 ммоль, выход 91,90%, HCl) получали в виде белого твердого вещества. LCMS: RT = 2,157 мин, MS расщ.: 643,35, [M+H]⁺ = 644.4.

[0587] **Общая методика получения соединения 5:**



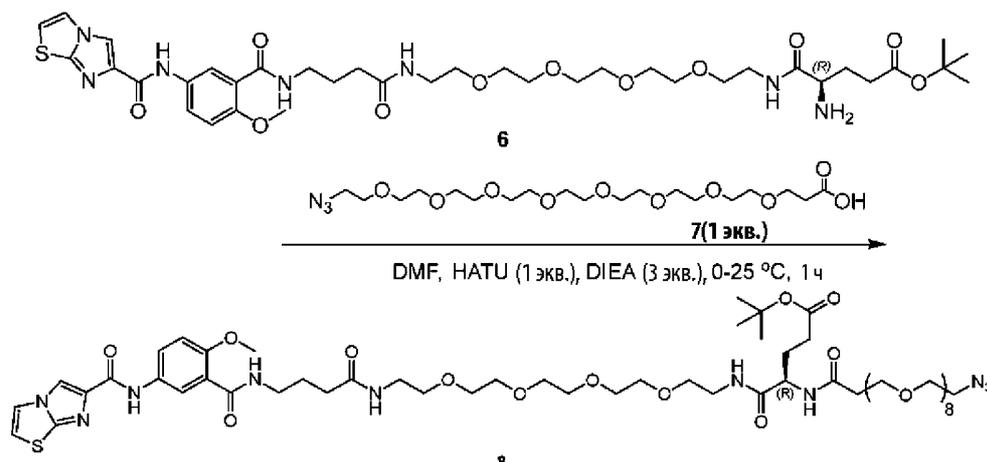
[0588] К раствору **соединения 4** (1,7 г, 3,29 ммоль, 1 экв., TFA) в DMF (15 мл) добавляли HATU (1,25 г, 3,29 ммоль, 1 экв.) и DIEA (1,28 г, 9,88 ммоль, 1,72 мл, 3 экв.). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 0,5 часа. Затем **соединение 3** (6,72 г, 4,94 ммоль, 1,5 экв., HCl) добавляли в реакционную смесь. Смесь перемешивали при 25 °C в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что **Соединение 4** было полностью израсходовано, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь добавляли к 50 мл 1 M HCl, экстрагировали EtOAc (50 мл * 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл * 1), сушили над Na₂SO, фильтровали, и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, DCM: MeOH = от 100:1 до 0:1). **Соединение 5** (2,8 г, 4,12 ммоль, выход 91,90%, HCl) получали в виде желтого твердого вещества. LCMS: RT = 2,903 мин, MS расщ.: 1027,44, [M/2+H]⁺ = 514,9.

[0589] **Общая методика получения соединения 6:**



[0590] К раствору **соединения 5** (1,5 г, 1,46 ммоль, 1 экв.) в DCM (6 мл) добавляли Et₂NH (1,07 г, 14,59 ммоль, 1,50 мл, 10 экв.). Смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 12 часов. LC-MS продемонстрировала, что **Соединение 5** было полностью израсходовано, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 6** (1 г, 1,24 ммоль, выход 85,05%) получали в виде желтого твердого вещества. LCMS: RT = 1,081 мин, MS расщ.: 805,37, [M+H]⁺ = 806,4.

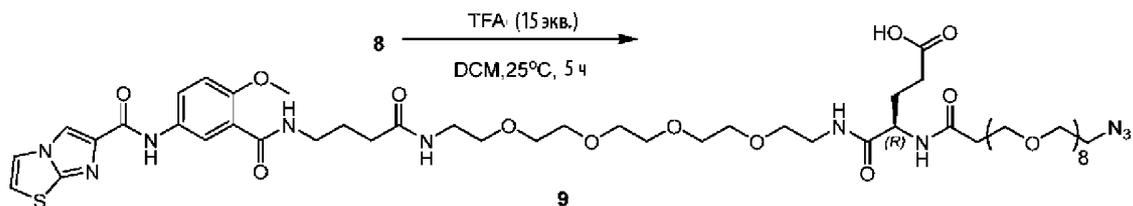
[0591] **Общая методика получения соединения 8:**



[0592] К раствору **соединения 7** (1 г, 2,14 ммоль, 1 экв.) в DMF (2 мл) добавляли HATU (813,31 мг, 2,14 ммоль, 1 экв.) и DIEA (829,35 мг, 6,42 ммоль, 1,12 мл, 3 экв.). Смесь перемешивали при температуре 0 °С в течение 0,5 часа. Затем **соединение 6** (1,72 г, 2,14 ммоль, 1 экв.) добавляли в реакционную смесь. Смесь перемешивали при 25 °С в течение 0,5 часа. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10: 1 R_f = 0.24) продемонстрировала, что реакция завершилась. В смесь добавляли H₂O (10 мл), экстрагировали EtOAc (10 мл * 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (10 мл * 1), сушили над Na₂SO, фильтровали, и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, DCM: MeOH = от 200:1 до 5:1). **Соединение 8** (1 г, 673,87 мкмоль, выход 31,50%, чистота

84,6%) получали в виде твердого вещества желтого цвета.

[0593] Общая методика получения соединения 9:

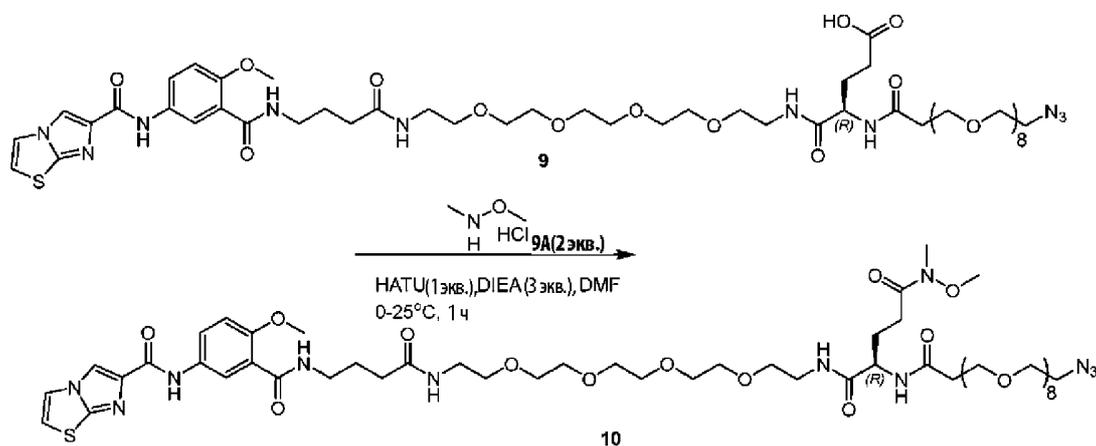


[0594] К раствору **соединения 8** (0,3 г, 238,96 мкмоль, 1 экв.) в DCM (5 мл) добавляли TFA (408,71 мг, 3,58 ммоль, 265,39 мкл, 15 экв.). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 5 часов. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10: 1 $R_f = 0,1$) продемонстрировала, что реакция завершилась.

Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка.

Соединение 9 (250 мг, 208,45 мкмоль, выход 87,23%) получали в виде желтого масла.

[0595] Общая методика получения соединения 10:

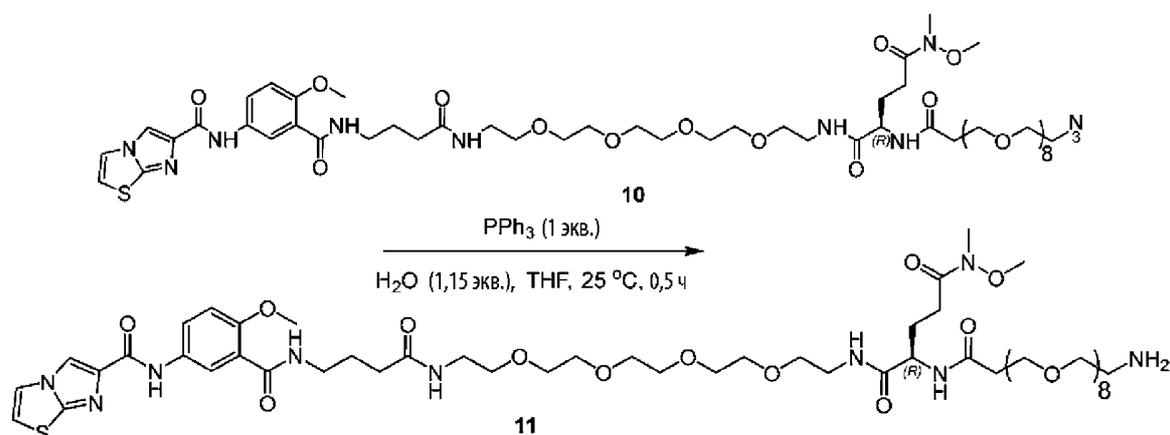


[0596] К раствору **соединения 9** (0,19 г, 158,42 мкмоль, 1 экв.) в DMF (2 мл) добавляли NUTU (60,24 мг, 158,42 мкмоль, 1 экв.) и DIEA (61,43 мг, 475,27 мкмоль, 82,78 мкл, 3 экв.). Смесь перемешивали при температуре 0 °C в течение 0,5 часа. Затем к реакционной смеси добавляли **соединение 9A** (30,91 мг, 316,85 мкмоль, 2 экв., HCl). Смесь перемешивали при температуре 0 °C в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что Реагент 1 был полностью израсходован, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Остаток разводили H₂O (10 мл) и экстрагировали EtOAc (20 мл * 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (20 мл * 1), сушили над Na₂SO₄, фильтровали, и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Nano-micro Kromasil C18 80*25 мм *3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 20%-40%, 10 мин).

Соединение 10 (0,1 г, 80,49 мкмоль, выход 50,81%) получали в виде белого твердого вещества.

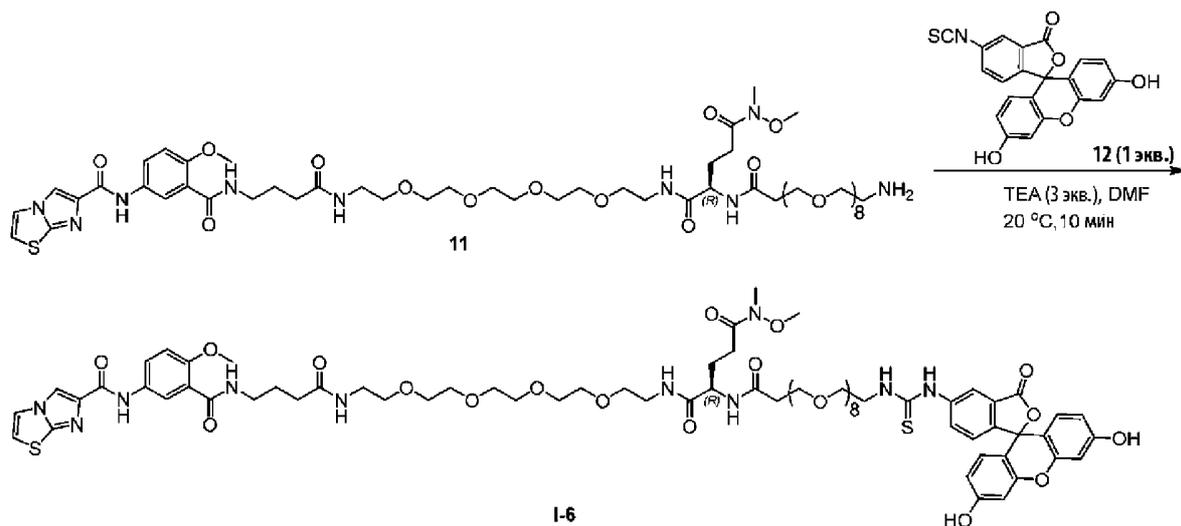
LCMS: RT = 2,030 мин, MS расщ.: 1241,58, $[M/2+H]^+ = 622,0$.

[0597] **Общая методика получения соединения 11:**

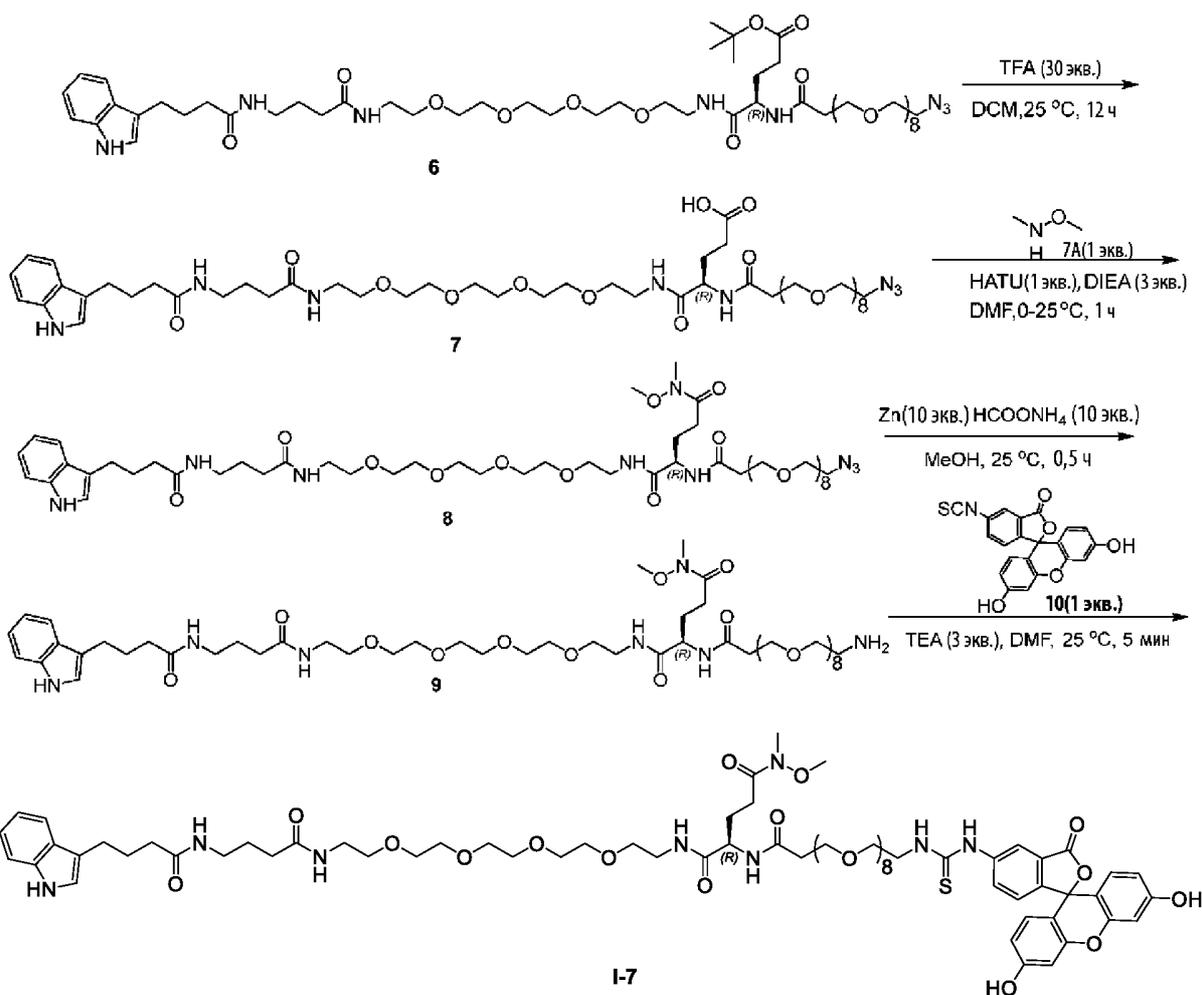


[0598] К раствору соединения **10** (5 мг, 4,02 мкмоль, 1 экв.) в THF (3 мл) добавляли PPh_3 (1,06 мг, 4,02 мкмоль, 1 экв.) и H_2O (83,33 мкг, 4,63 мкмоль, $8,33\text{e-}2$ мкл, 1,15 экв.). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что **Соединение 10** было полностью израсходовано, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Раствор разводили H_2O (10 мл), экстрагировали DCM (10 мл *3). Объединенный органический слой промывали H_2O (20 мл), солевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и фильтрат концентрировали с получением неочищенного продукта. **LCMS:**

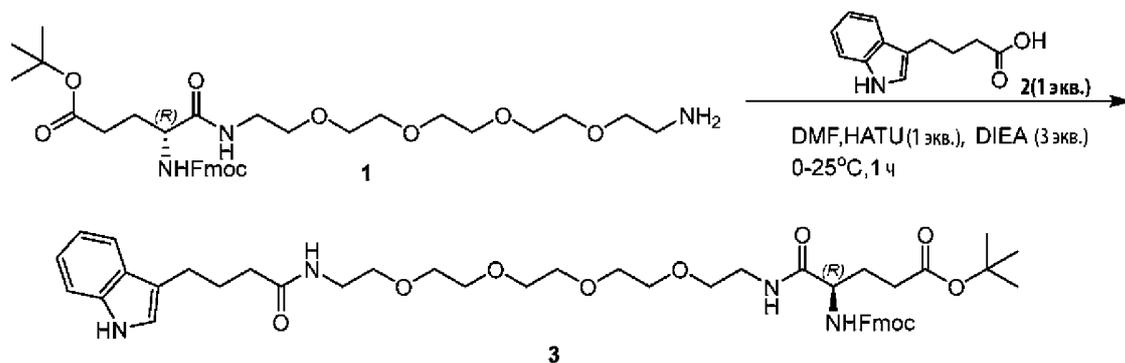
[0599] **Общая методика получения соединения I-6:**



[0600] К раствору **соединения 11** (6 мг, 4,93 мкмоль, 1 экв.) в DMF (2 мл) добавляли TEA



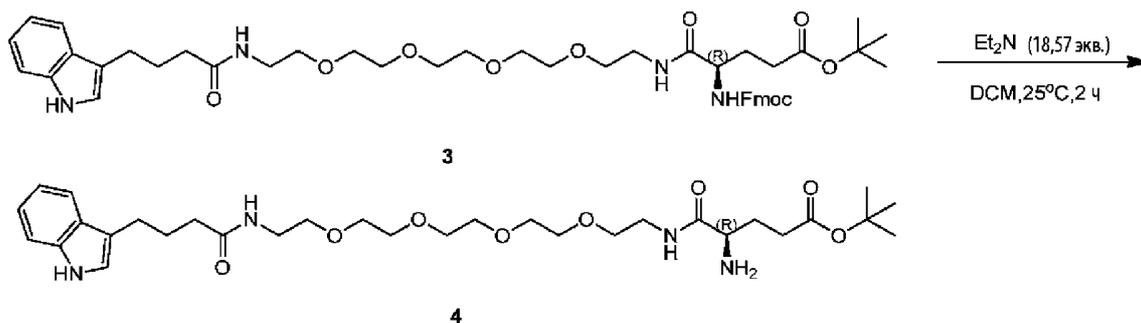
[0602] *Общая методика получения соединения 3:*



[0603] К раствору **соединения 2** (433,23 мг, 2,13 ммоль, 1 экв.) в DMF (23 мл) добавляли HATU (891,57 мг, 2,34 ммоль, 1,1 экв.) и DIEA (826,50 мг, 6,39 ммоль, 1,11 экв.). Смесь перемешивали при температуре 0 °C в течение 0,5 часа. Затем **соединение 1** (2,9 г, 2,13 ммоль, 1 экв., HCl) добавляли в реакционную смесь. Смесь перемешивали при 25 °C в течение 0,5 часа. LC-

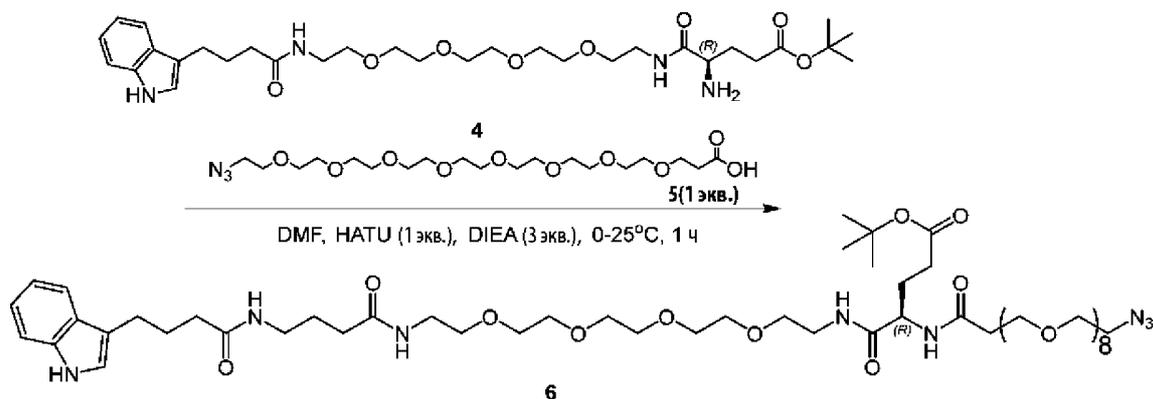
MS продемонстрировала, что **Соединение 2** было полностью израсходовано, и был обнаружен один основной пик с целевым m/z . Остаток разбавляли 25 мл 0,5 М HCl и экстрагировали EtOAc (70 мл * 3). Сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией (SiO_2 , DCM:MeOH= от 100:1 до 20:1). **Соединение 3** (0,7 г, 844,40 мкмоль, выход 39,61%) получали в виде твердого вещества желтого цвета. LCMS: RT = 3,241 мин, MS расщ.: 828,3, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 829,4$.

[0604] *Общая методика получения соединения 4:*



[0605] Параллельно проводили две реакции. Смесь **соединения 3** (0,65 г, 784,09 мкмоль, 1 экв.) и Et_2NH (1,07 г, 14,56 ммоль, 1,5 мл, 18,57 экв.) в DCM (5 мл) дегазировали и продували N_2 3 раза, а затем смесь перемешивали при 25 °С в течение 2 часов в атмосфере N_2 . LC-MS продемонстрировала, что **Соединение 3** было полностью израсходовано, и был обнаружен один основной пик с целевым m/z . Две реакции обрабатывали вместе. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 4** (900 мг, 1,48 ммоль, выход 94,59%) получали в виде желтого масла. LCMS: RT = 1,833 мин, MS расщ.: 606,36, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 607,4$.

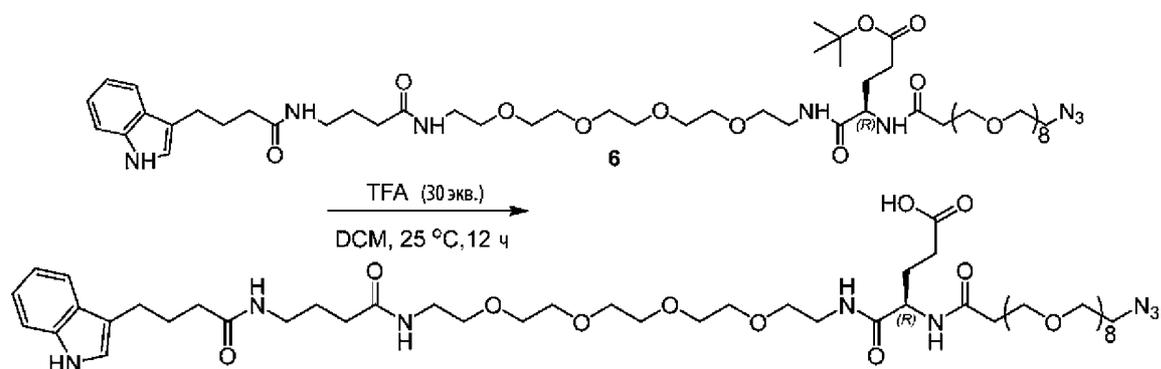
[0606] *Общая методика получения соединения 6:*



[0607] К раствору соединения 5 (690,01 мг, 1,48 ммоль, 1 экв.) в DMF (20 мл) добавляли

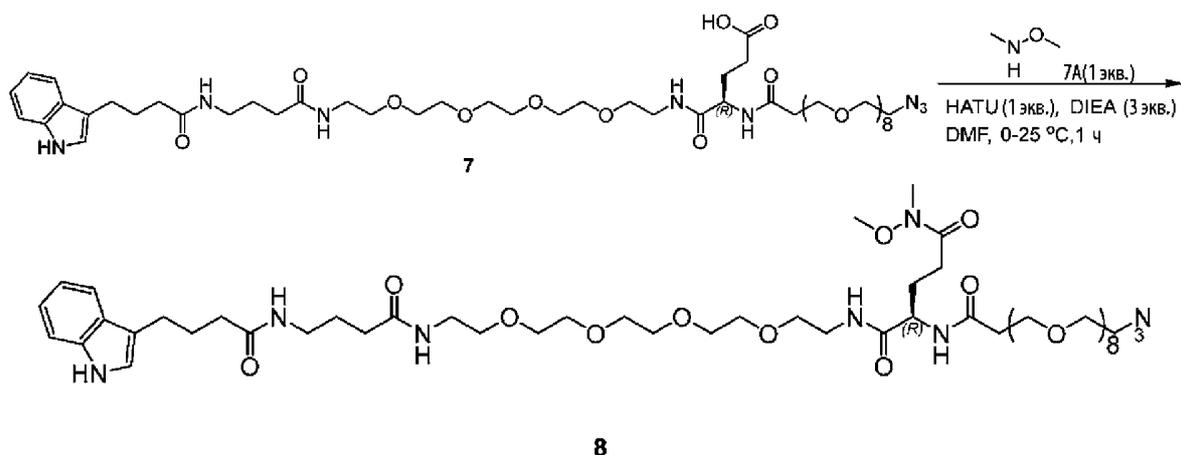
DIEA (572,26 мг, 4,43 ммоль, 771,24 мкл, 3 экв.) и HATU (561,20 мг, 1,48 ммоль, 1 экв.). Смесь перемешивали при температуре 0 °С в течение 0,5 часа. Затем к реакционной смеси добавляли **соединение 4** (600 мг, 988,88 мкмоль, 0,67 экв.). Смесь перемешивали при 25 °С в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что **Соединение 5** было полностью израсходовано, и был обнаружен один основной пик с целевым m/z. Остаток разбавляли H₂O (60 мл) и экстрагировали этилацетатом (60 мл * 3). Органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, Дихлорметан: Метанол = от 100:1 до 10:1). **Соединение 6** (1,5 г, 1,42 ммоль, выход 96,22%) получали в виде желтого масла. **LCMS**: RT = 2,368 мин, MS расщ.: 1055,6, [M/2+H]⁺ = 529,1.

[0608] **Общая методика получения соединения 7:**



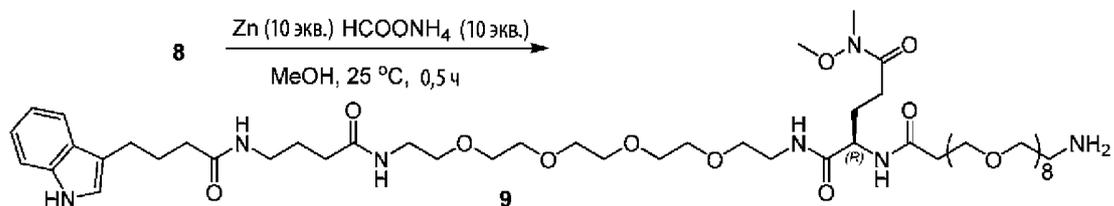
[0609] Смесь **соединения 6** (100 мг, 94,68 мкмоль, 1 экв.) и TFA (323,85 мг, 2,84 ммоль, 210,30 мкл, 30 экв.) в DCM (5 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при 25 °С в течение 12 часов в атмосфере N₂. LC-MS продемонстрировала, что **соединение 6** полностью израсходовано, наблюдалось несколько новых пиков. Было обнаружено приблизительно 42,52% целевого соединения. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA). **Соединение 7** (92 мг, 91,99 мкмоль, выход 48,58%) получали в виде бесцветного масла. **LCMS**: RT = 2,135 мин, MS расщ.: 999,54, [M/2+H]⁺ = 501,0.

[0610] **Общая методика получения соединения 8:**



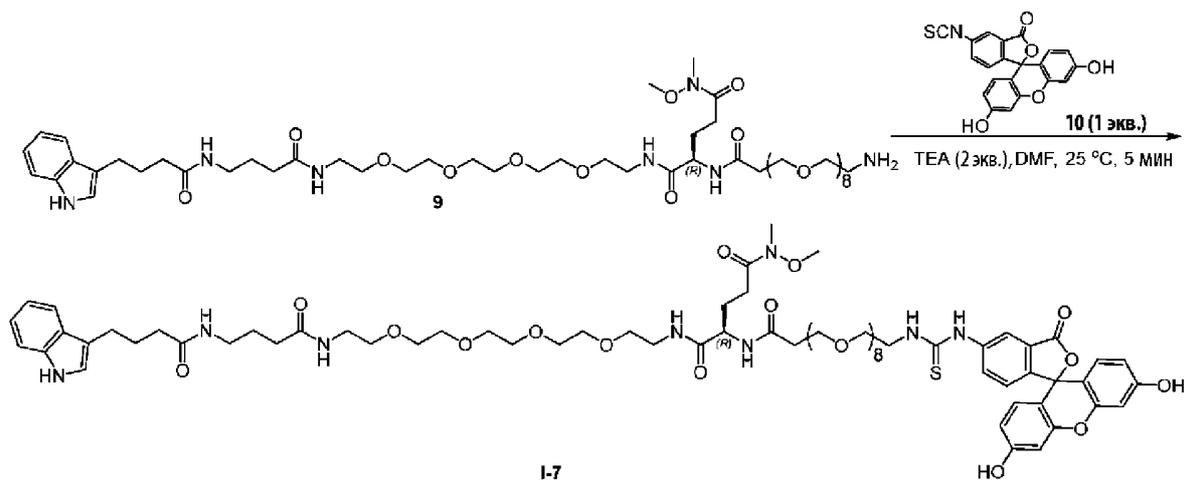
[0611] К раствору **соединения 7** (50 мг, 49,99 мкмоль, 1 экв.) в DMF (1 мл) добавляли DIEA (19,38 мг, 149,98 мкмоль, 26,12 мкл, 3 экв.) и HATU (19,01 мг, 49,99 мкмоль, 1 экв.). Смесь перемешивали при температуре 0 °С в течение 0,5 часа. Затем к реакционной смеси добавляли **соединение 7A** (39,75 мг, 99,99 мкмоль, 2 экв., HCl). Смесь перемешивали при 25 °С в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что **Соединение 7** было полностью израсходовано, и был обнаружен один основной пик с целевым m/z или целевой массой. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат очищали препаративной HPLC. Смесь очищали препаративной HPLC (среда TFA). **Соединение 8** (20 мг, 19,17 мкмоль, выход 38,35%) получали в виде бесцветного масла. LCMS: RT = 2,236 мин, MS расщ.: 1043,2, $[M/2+H]^+ = 522,5$.

[0612] **Общая методика получения соединения 9:**



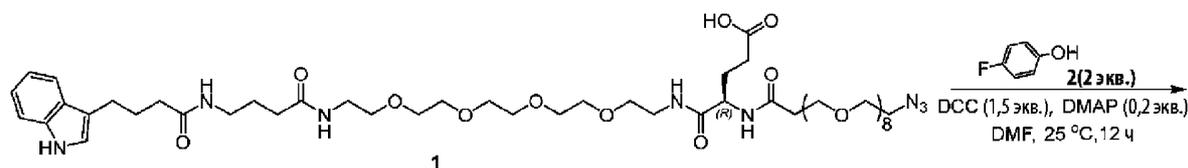
[0613] К раствору **соединения 8** (40 мг, 38,34 мкмоль, 1 экв.) в MeOH (2 мл) добавляли Zn (25,07 мг, 383,43 мкмоль, 10 экв.) и HCOONH₄ (24,18 мг, 383,43 мкмоль, 10 экв.). Смесь перемешивали при 25 °С в течение 0,5 часа. LC-MS продемонстрировала, что Реагент 1 был полностью израсходован, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 9** (38 мг, 37,36 мкмоль, выход 97,43%) получали в виде желтого масла. LCMS: RT = 1,748 мин, MS расщ.: 1016,59, $[M/2+H]^+ = 509,5$.

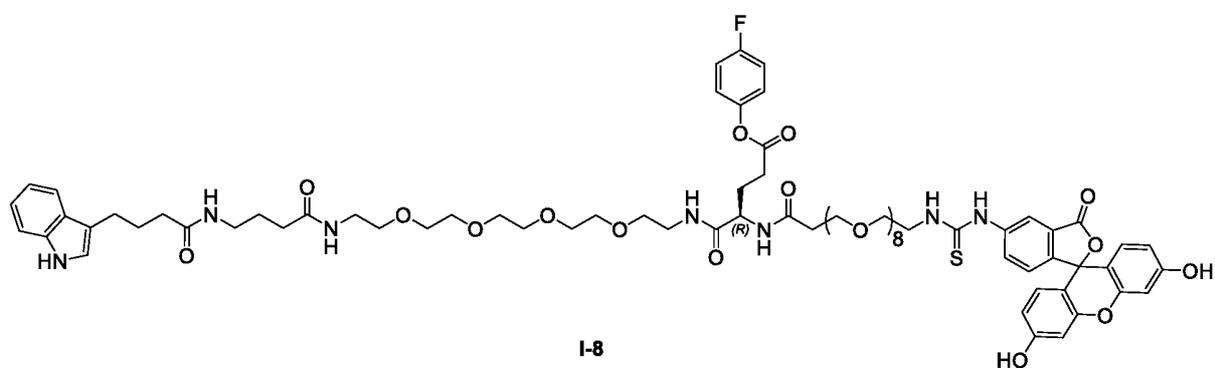
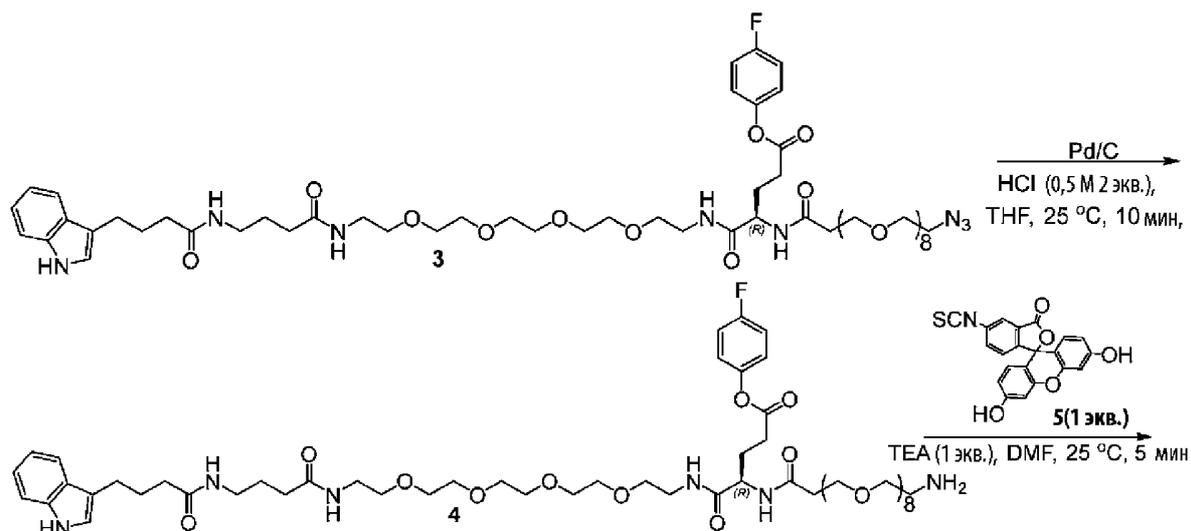
[0614] **Общая методика получения соединения 1-7:**



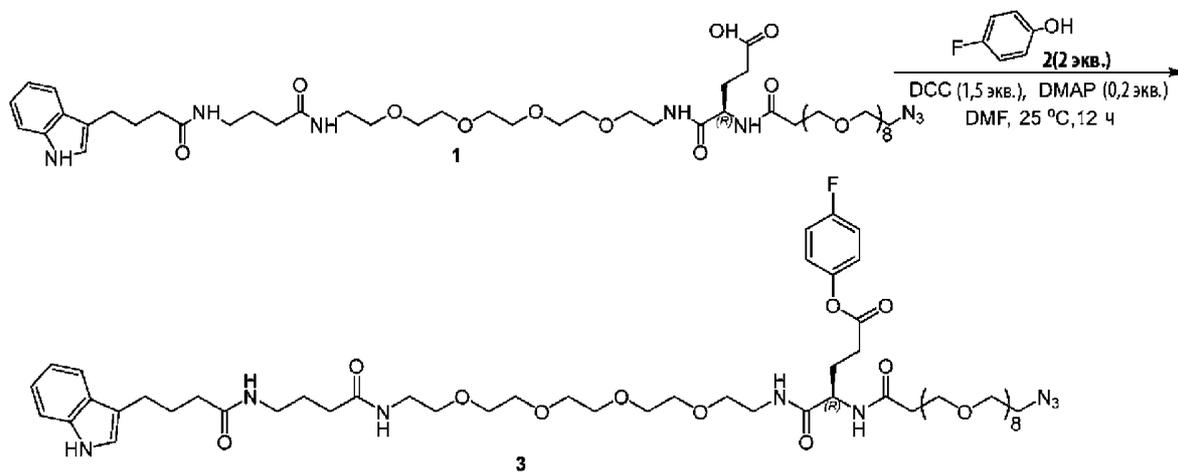
[0615] К раствору **соединения 9** (10 мг, 9,83 мкмоль, 1 экв.) в DMF (0,5 мл) добавляли TEA (1,99 мг, 19,66 мкмоль, 2,74 мкл, 2 экв.) и соединение **10** (3,83 мг, 9,83 мкмоль, 1 экв.). Смесь перемешивали при 25°C в течение 5 мин. LC-MS продемонстрировала, что Реагент **1** полностью израсходован. На LC-MS было продемонстрировано несколько новых пиков. Было обнаружено приблизительно 19,07% целевого соединения. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (нейтральные условия: колонка: Waters Xbridge BEH C18 100*30мм*10мкм; мобильная фаза: [вода (0,04% NH₃H₂O)-ACN]; V%: 1%-30%, 10 мин). **Соединение I-7** (1,68 мг, 1,19 мкмоль, выход 12,15%) получали в виде твердого вещества желтого цвета. **LCMS**: RT = 2,403 мин, MS расщ.: 1405,63, [M/2+H]⁺ = 704,2. **HPLC**: RT = 1,610 мин. **¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ ppm 10,73 (s, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 8,24 - 8,31 (m, 1 H) 8,01 (br d, J=8,44 Hz, 1 H) 7,81 - 7,94 (m, 2 H) 7,73 (br d, J=9,41 Hz, 1 H) 7,48 (d, J=8,44 Hz, 1 H) 7,31 (d, J=8,07 Hz, 1 H) 7,17 (d, J=8,07 Hz, 1 H) 7,01 - 7,10 (m, 2 H) 6,91 - 6,98 (m, 1 H) 6,67 (d, J=1,96 Hz, 2 H) 6,52 - 6,62 (m, 5 H) 4,24 (br d, J=5,75 Hz, 1 H) 3,68 (br s, 2 H) 3,55 - 3,63 (m, 11 H) 3,45 - 3,52 (m, 38 H) 3,13 - 3,23 (m, 5 H) 3,06 (s, 3 H) 2,60 - 2,69 (m, 4 H) 2,30 - 2,40 (m, 5 H) 2,13 (t, J=7,40 Hz, 2 H) 1,66 - 1,90 (m, 4 H).

[0616] **Пример 8. Типовой синтез Соединения I-8.**





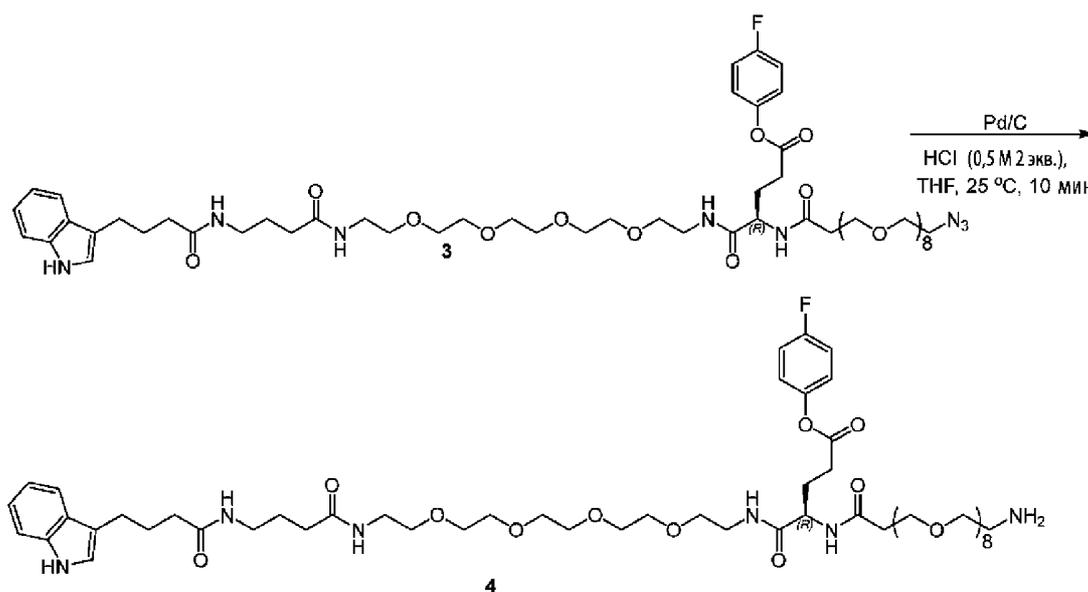
[0617] *Общая методика получения соединения 3:*



[0618] К раствору **соединения 1** (80 мг, 79,99 мкмоль, 1 экв.) и **соединения 2** (17,93 мг, 159,98 мкмоль, 2 экв.) в DCM (2 мл) добавляли DCC (24,76 мг, 119,98 мкмоль, 24,27 мкл, 1,5 экв.) и

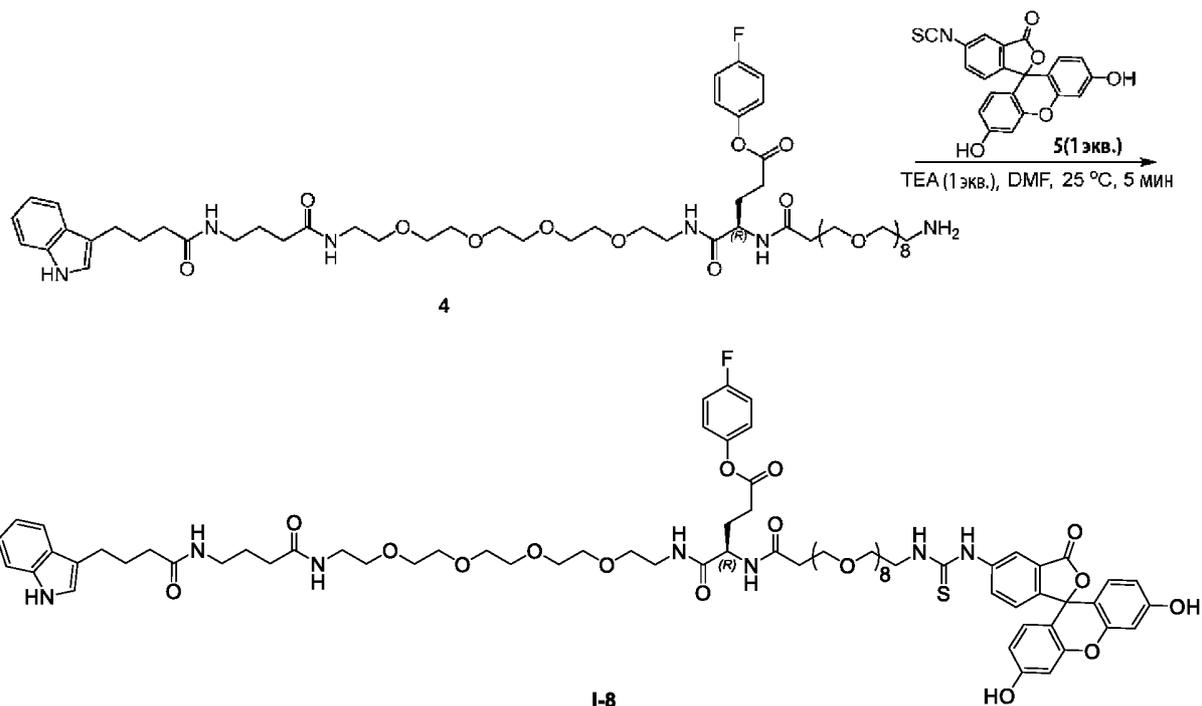
DMAP (1,95 мг, 16,00 мкмоль, 0,2 экв.). Смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 12 часов. LC-MS продемонстрировала, что **Соединение 1** было полностью израсходовано, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь сушили в атмосфере азота. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Nano-micro Kromasil C18 80*25 мм *3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 32%-62%, 7 мин). **Соединение 3** (50 мг, 45,69 мкмоль, выход 57,13%) получали в виде желтого масла. LCMS: RT = 2,499 мин, MS расщ.: 1093,56, $[M/2+H]^+ = 580,0$.

[0619] *Общая методика получения соединения 4:*



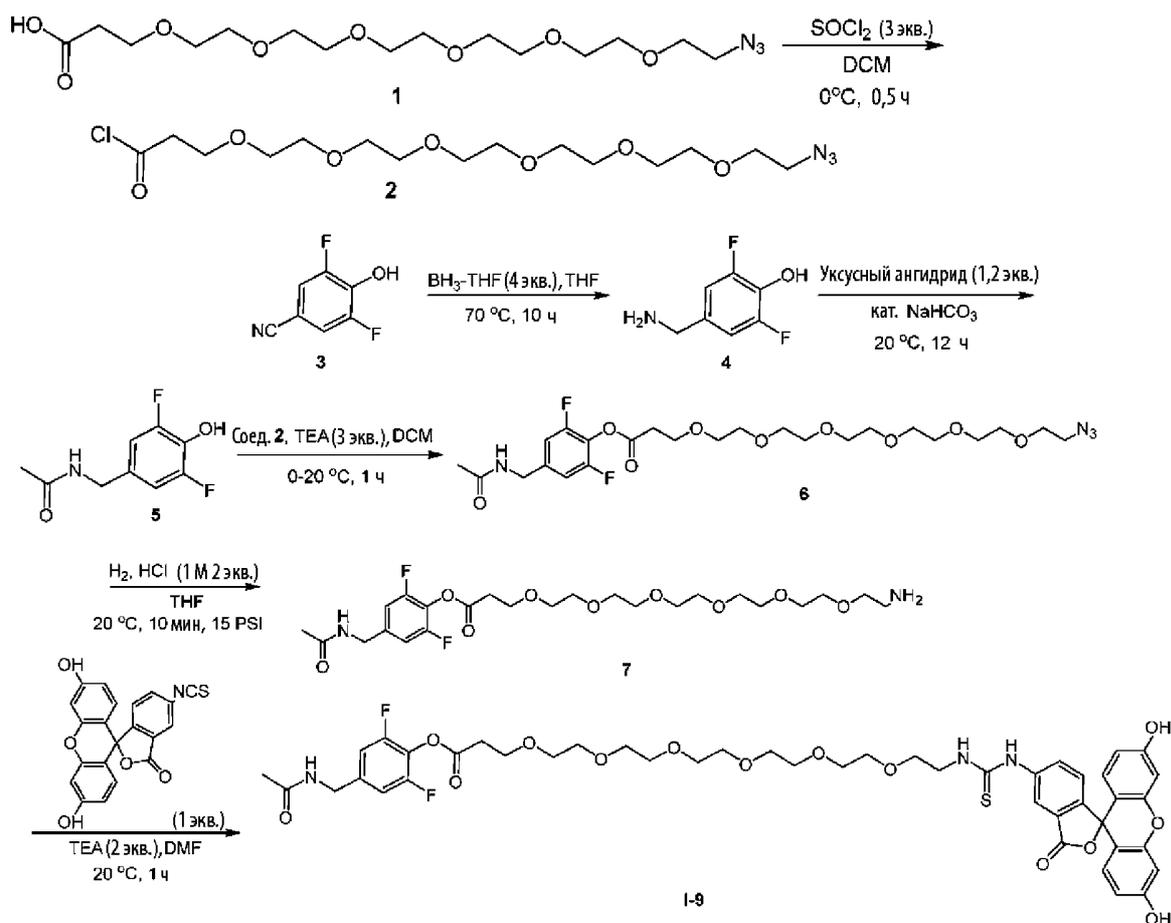
[0620] К раствору **соединения 3** (20 мг, 18,28 мкмоль, 1 экв.) в THF (2 мл) добавляли Pd/C (10 мг, 18,28 мкмоль, чистота 10%, 1 экв.) и HCl (0,5 M, 73,11 мкл, 2 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 25 °С в течение 10 мин. LC-MS продемонстрировала, что Реагент 1 полностью израсходован, и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 4** (19 мг, 17,79 мкмоль, выход 97,31%) получали в виде белого твердого вещества. LCMS: RT = 2,013 мин, MS расщ.: 1067,57, $[M/2+H]^+ = 535,0$.

[0621] *Общая методика получения соединения 1-8:*

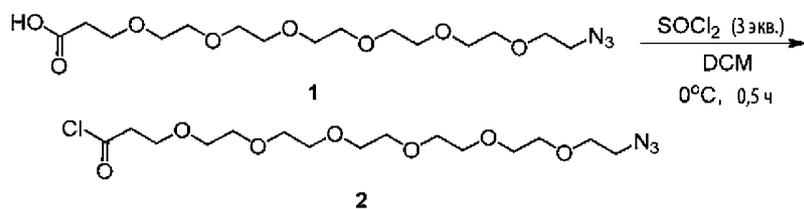


[0622] К раствору **соединения 4** (20 мг, 18,10 мкмоль, 1 экв., HCl) и **соединения 5** (7,05 мг, 18,10 мкмоль, 1 экв.) в DMF (1 мл) добавляли TEA (1,83 мг, 18,10 мкмоль, 2,52 мкл, 1 экв.). Смесь перемешивали при 25°C в течение 5 мин. LC-MS продемонстрировала, что Реагент 1 полностью израсходован. Было обнаружено приблизительно 23,73% целевого соединения. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Phenomenex luna C18 100*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 35%-55%, 12 мин). **Соединение I-8** (2,08 мг, 1,43 мкмоль, выход 7,88%) получали в виде твердого вещества желтого цвета. LCMS: RT = 2,845, MS расщ.: 1456,6, $[M/2+H]^+ = 729,7$. HPLC: RT = 3,857 мин. ^1H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10,74 (br s, 1 H) 10,00 - 10,22 (m, 2 H) 8,27 (s, 1 H) 7,99 - 8,13 (m, 3 H) 7,70 - 7,88 (m, 2 H) 7,48 (d, $J=7,82$ Hz, 1 H) 6,90 - 7,34 (m, 8 H) 6,67 (d, $J=1,96$ Hz, 2 H) 6,53 - 6,62 (m, 3 H) 5,58 (br s, 2 H) 4,35 (br d, $J=5,62$ Hz, 1 H) 3,68 (br s, 2 H) 3,45 - 3,62 (m, 48 H) 3,14 - 3,24 (m, 2 H) 2,13 (br t, $J=7,70$ Hz, 3 H) 1,94 - 2,05 (m, 2 H) 1,80 - 1,88 (m, 2 H) 1,71 (br d, $J=12,35$ Hz, 6 H) 1,57 - 1,65 (m, 6 H) 1,50 (br d, $J=12,72$ Hz, 3 H) 1,18 - 1,28 (m, 6 H) 0,98 - 1,16 (m, 10 H).

[0623] Пример 9. Типовой синтез Соединения I-9.

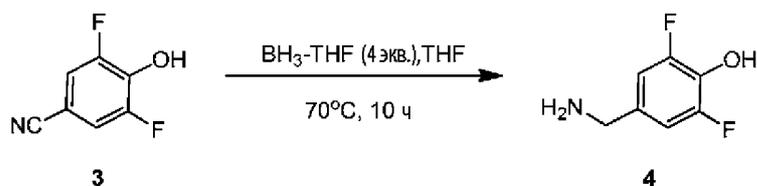


[0624] Общая методика получения соединения 2:



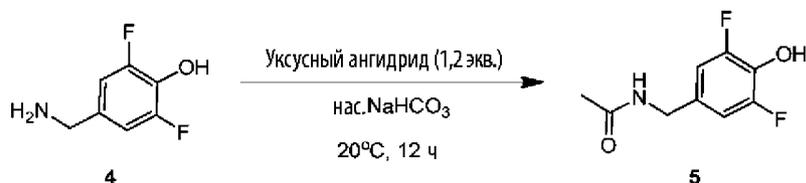
[0625] Смесь **соединения 1** (140 мг, 369,00 мкмоль, 1 экв.), SOCl₂ (131,70 мг, 1,11 ммоль, 80,30 мкл, 3 экв.) в DCM (2 мл) при 0 °C дегазировали и продували N₂ 3 раза, и затем смесь перемешивали при 0-20 °C в течение 0,5 ч в атмосфере. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10:1, R_f = 0,46) продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано. Реакционную смесь концентрировали с получением неочищенного продукта. **Соединение 2** (146,81 мг, неочищенное) получали в виде желтого масла.

[0626] Общая методика получения соединения 4:



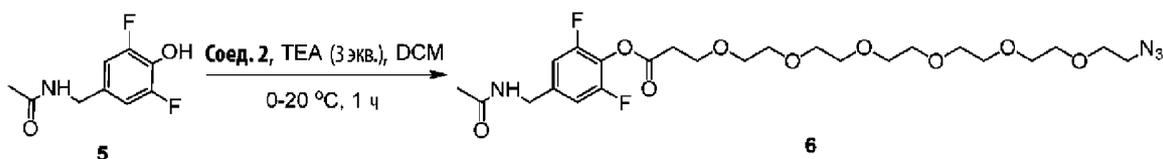
[0627] $\text{BH}_3\text{-THF}$ (1 М, 25,79 мл, 4 экв.) осторожно добавляли к раствору **соединения 3** (1 г, 6,45 ммоль, 1 экв.) в безводном THF (70 мл). Полученный раствор перемешивали и кипятили в сосуде с обратным холодильником в течение 10 часов (70°C). TLC (Петролейный эфир: Этилацетат = 1:1, $R_f = 0,01$) продемонстрировала, что **соединение 3** полностью израсходовали и образовалось **одно новое пятно**. После охлаждения смеси к раствору осторожно добавляли 6 N HCl (2 мл) и продолжали нагревание в сосуде с обратным холодильником в течение 30 мин. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 4** (2,5 г, неочищенное, HCl) получали в виде белого твердого вещества.

[0628] **Общая методика получения соединения 5:**



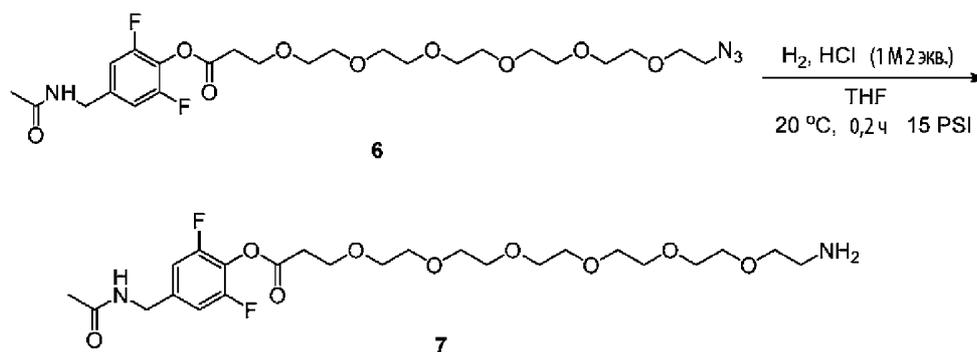
[0629] Смесь **соединения 4** (270 мг, 690,20 мкмоль, 1 экв., HCl), уксусного ангидрида (84,55 мг, 828,25 мкмоль, 77,57 мкл, 1,2 экв.) в NaHCO_3 (5 мл) дегазировали и продували N_2 3 раза, а затем смесь перемешивали при 20 °C в течение 24 часов в атмосфере N_2 . LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. TLC продемонстрировала, что **соединение 4** было полностью израсходовано. Реакционную смесь подкисляли до pH 4-5 с применением 1M HCl. Реакционную смесь экстрагировали EtOAc (30 мл*2). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили над Na_2SO_4 , отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO_2 , петролейный эфир: Этилацетат = от 10:1 до 1:3). **Соединение 5** (67 мг, 333,05 мкмоль, выход 48,25%) получали в виде белого твердого вещества. LCMS: RT = 0,609, MS расщ.: 201,0, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 202,2$. ^1H ЯМР (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 9,99 (s, 1 H) 8,28 (br s, 1 H) 6,83 - 6,93 (m, 2 H) 4,12 (d, $J = 5,95$ Hz, 2 H) 1,84 (s, 3 H).

[0630] **Общая методика получения соединения 6:**



[0631] К раствору **соединения 5** (67 мг, 333,05 мкмоль, 1 экв.) в DCM (1 мл) добавляли TEA (101,10 мг, 999,16 мкмоль, 139,07 мкл, 3 экв.), а затем **соединение 2** (145,76 мг, 366,36 мкмоль, 1,1 экв.) в DCM (1 мл) добавляли при 0 °С. Полученную смесь перемешивали при 20 °С в течение 2 часов. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 35%-65%, 12 мин). **Соединение 6** (100 мг, 177,76 мкмоль, выход 53,37%) получали в виде желтого масла. **LCMS**: RT = 2,129 мин, MS расщ.: 562,2, [M+H]⁺ = 563,3. **¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d)** δ ppm 6,84 (d, J = 7,95 Hz, 2 H) 5,86 (br s, 1 H) 4,33 (d, J = 6,11 Hz, 2 H) 3,81 (t, J = 6,42 Hz, 2 H) 3,53 - 3,64 (m, 23 H) 3,32 (br t, J = 5,01 Hz, 3 H) 2,85 (t, J = 6,36 Hz, 2 H) 1,99 (s, 3 H) 1,50 (s, 2 H).

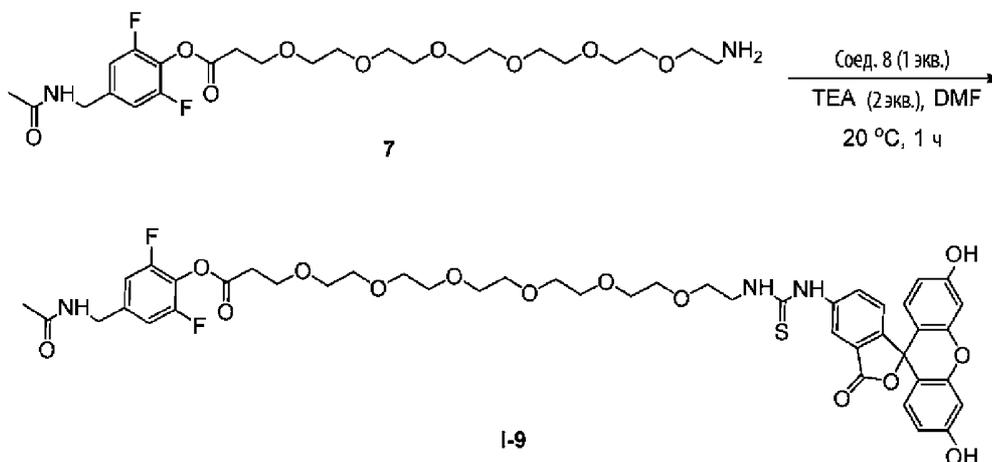
[0632] **Общая методика получения соединения 7:**



[0633] К раствору **соединения 6** (100 мг, 177,76 мкмоль, 1 экв.) в THF (3 мл) добавляли HCl (0,5 M, 711,04 мкл, 2 экв.) и Pd/C (100 мг, 177,76 мкмоль, чистота 10%). 1,00 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 20 °С в течение 0,2 часов. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 15%-45%, 12 мин). **Соединение 7** (60 мг, 111,82 мкмоль, выход 62,91%) получали в виде белого масла. **LCMS**: RT = 2,272 мин, MS расщ.: 536,2, [M+H]⁺ = 537,3. **¹H ЯМР**

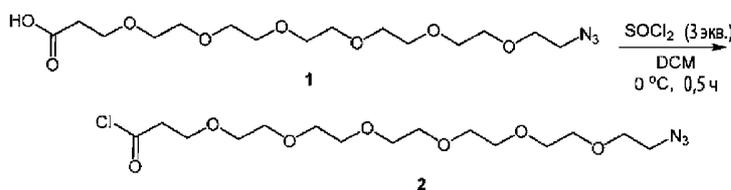
(400 МНз, ХЛОРОФОРМ-*d*) δ ppm 7,79 (br s, 3 H) 6,98 (br d, $J = 8,19$ Hz, 2 H) 6,72 (br s, 1 H) 4,42 (d, $J = 5,99$ Hz, 2 H) 3,88 (t, $J = 5,93$ Hz, 2 H) 3,80 - 3,85 (m, 2 H) 3,72 - 3,76 (m, 2 H) 3,65 - 3,71 (m, 12 H) 3,13 (br s, 2 H) 2,92 (t, $J = 5,87$ Hz, 2 H) 2,68 (br s, 4 H) 2,08 (s, 3 H).

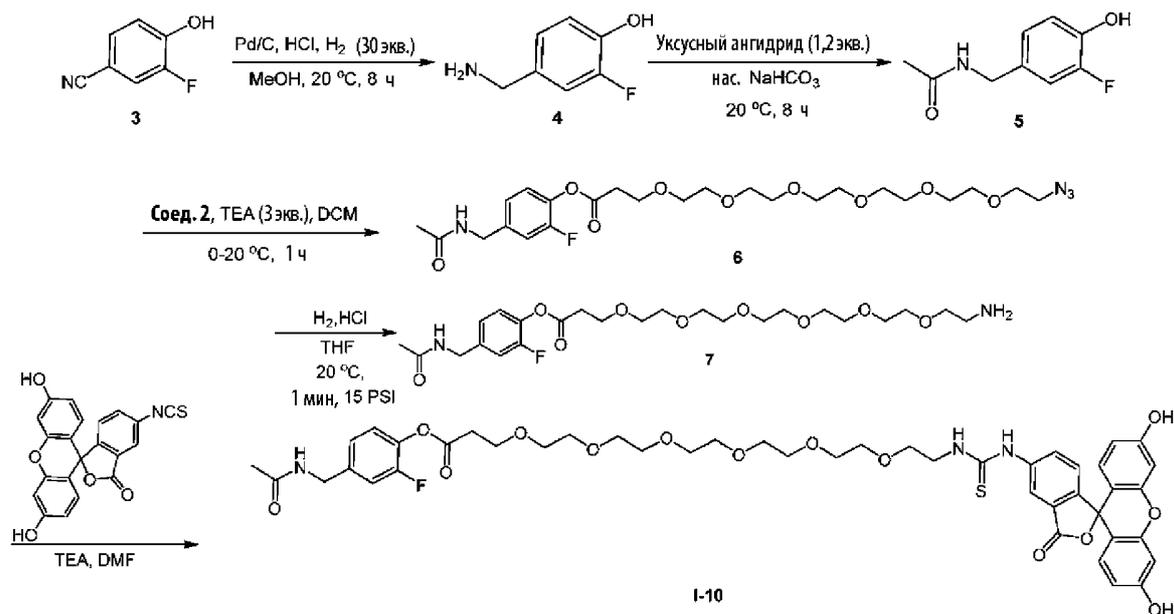
[0634] **Общая методика получения соединения I-9:**



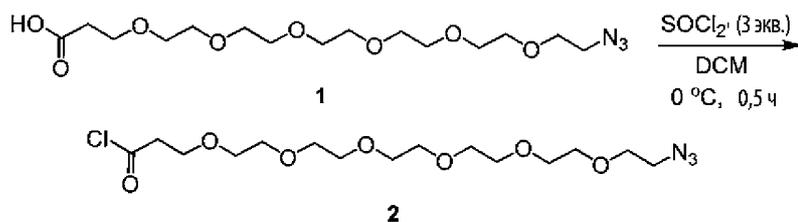
[0635] Смесь **соединения 7** (20 мг, 37,27 мкмоль, 1 экв.), **соединения 8** (14,51 мг, 37,27 мкмоль, 1 экв.), Et3N (3,77 мг, 37,27 мкмоль, 5,19 мкл, 1 экв.) в DMF (1,5 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при температуре 20°C в течение 1 часа в атмосфере N₂. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. HPLC продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 40%-70%, 12 мин). **Соединение I-9** (8 мг, 8,64 мкмоль, выход 23,18%) получали в виде твердого вещества желтого цвета. LCMS: RT = 2,350 мин, MS расч.: 925,2, [M/2+H]⁺ = 463,8. HPLC: RT = 2,521 мин, ¹H ЯМР (400 МНз, DMSO-*d*₆) δ ppm 10,03 (br s, 1 H) 8,42 (br t, $J = 5,50$ Hz, 1 H) 8,27 (s, 1 H) 8,09 (br s, 1 H) 7,74 (br d, $J = 7,70$ Hz, 1 H) 7,18 (d, $J = 8,19$ Hz, 1 H) 7,12 (d, $J = 8,80$ Hz, 2 H) 6,67 (d, $J = 1,83$ Hz, 2 H) 6,53 - 6,62 (m, 4 H) 4,25 (d, $J = 5,99$ Hz, 2 H) 3,55 - 3,63 (m, 8 H) 3,45 - 3,53 (m, 17 H) 2,93 (t, $J = 5,93$ Hz, 2 H) 1,89 (s, 3 H). MS: [M/2+H]⁺ = 463,9.

[0636] **Пример 10. Типовой синтез Соединения I-10.**



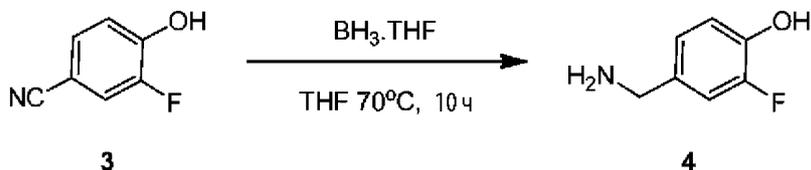


[0637] Общая методика получения соединения 2:



[0638] К раствору **соединения 1** (100 мг, 263,57 мкмоль, 1 экв.) в DCM (1 мл) добавляли SOCl₂ (94,07 мг, 790,71 мкмоль, 3 экв.) при температуре 0 °С. Полученную смесь перемешивали при температуре 0 °С в течение 0,5 часа. TLC продемонстрировала, что реакция завершилась. Реакционную смесь концентрировали сразу. Неочищенный продукт **соединения 2** (104 мг, 261,40 мкмоль, выход 99,18%) использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

[0639] Общая методика получения соединения 4:



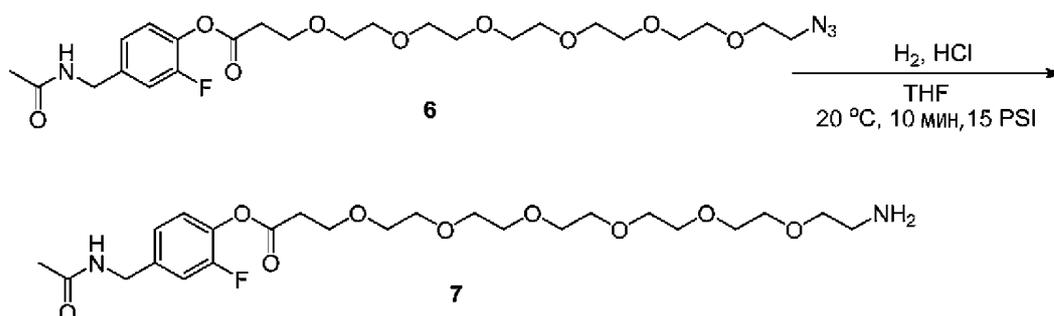
[0640] BH₃.THF (1 M, 29,17 мл, 4 экв.) осторожно добавляли к раствору **соединения 3** (1 г,

перемешивали при температуре 20 °С в течение 2 часов. LCMS продемонстрировала образование целевого продукта. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали.

Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 25%-55%, 12 мин).

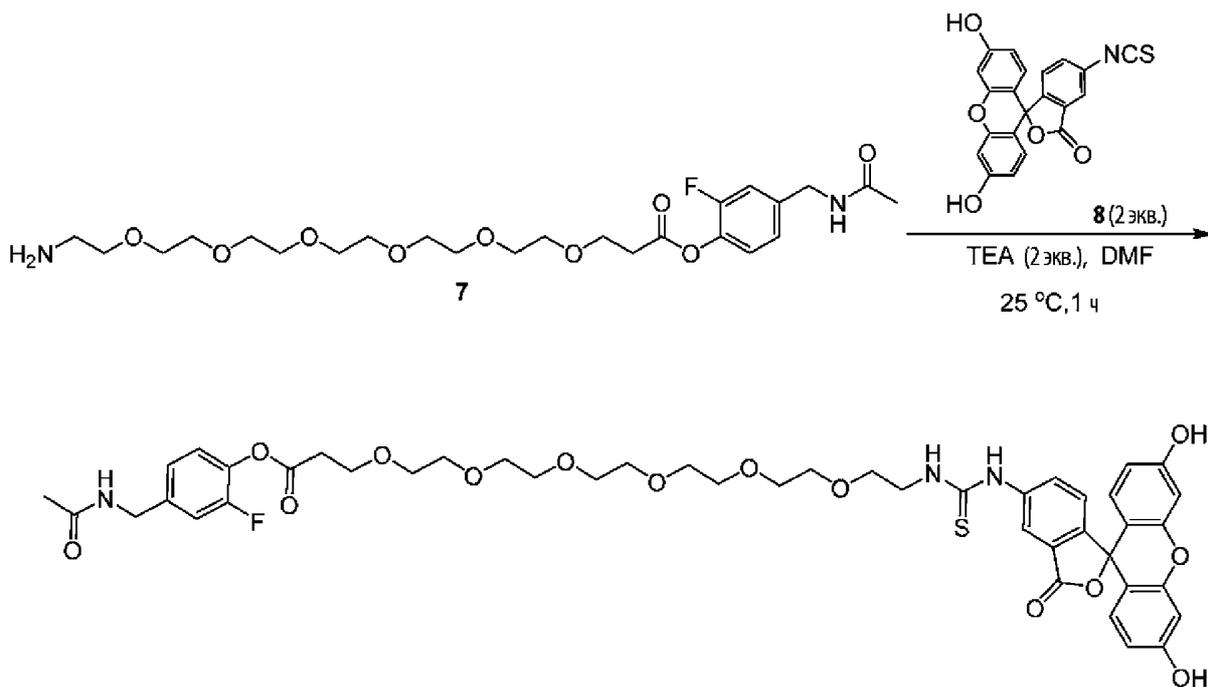
Соединение 6 (82 мг, 150,58 мкмоль, выход 57,60%) получали в виде белого масла. **LCMS:** RT = 1,789 мин, MS расщ.: 544,2, $[M+H]^+ = 545.5$. **¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ ppm** 7,04 - 7,17 (m, 3 H) 5,92 (br s, 1 H) 4,44 (d, $J = 5,87$ Hz, 2 H) 3,89 (t, $J = 6,36$ Hz, 2 H) 3,60 - 3,73 (m, 24 H) 3,40 (br t, $J = 5,07$ Hz, 3 H) 2,90 (t, $J = 6,36$ Hz, 2 H) 2,44 (br s, 2 H) 2,07 (s, 3 H).

[0645] Общая методика получения соединения 7:



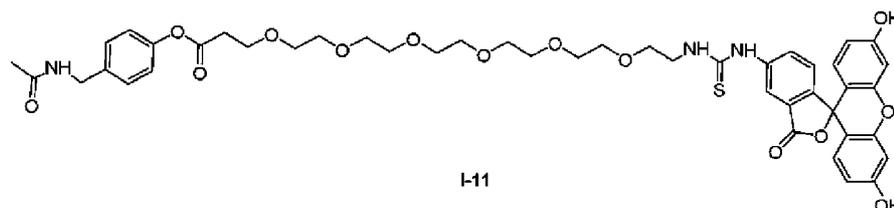
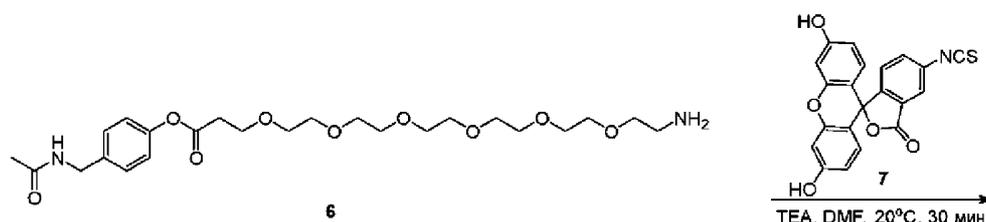
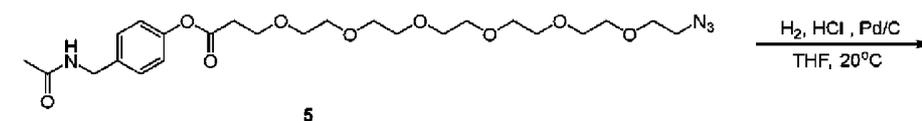
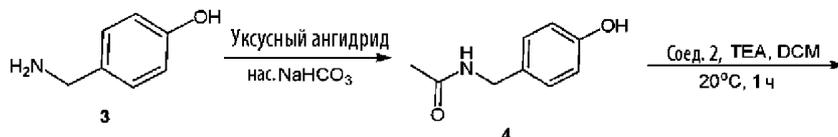
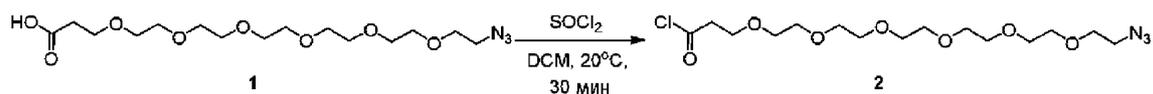
[0646] К раствору **соединения 6** (82 мг, 150,58 мкмоль, 1 экв.) в THF (5 мл) добавляли HCl (1 M, 301,16 мкл, 2 экв.) и Pd/C (150,58 мкмоль, чистота 10%), 1,00 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 20 °С в течение 10 мин. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь сушили в атмосфере азота. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 12%-42%, 12 мин). **Соединение 7** (4 мг, 7,71 мкмоль, выход 5,12%) получали в виде белого масла. **LCMS:** RT = 1,356 мин, MS расщ.: 518,2, $[M+H]^+ = 519,2$. **¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ ppm** 7,94 (br s, 1 H) 7,05 - 7,18 (m, 1 H) 6,31 (br s, 1 H) 4,43 (d, $J = 5,75$ Hz, 1 H) 3,78 - 3,91 (m, 2 H) 3,56 - 3,77 (m, 10 H) 3,11 (br s, 1 H) 2,88 (t, $J = 5,93$ Hz, 1 H) 2,06 (s, 1 H) 1,61 (br s, 3 H).

[0647] Общая методика получения соединения I-10:

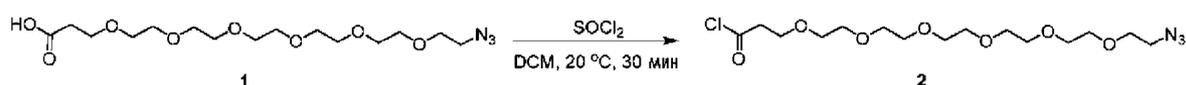


[0648] Смесь **соединения 7** (4 мг, 7,71 мкмоль, 1 экв.), **соединения 8** (3,00 мг, 7,71 мкмоль, 1 экв.), TEA (1,56 мг, 15,43 мкмоль, 2,15 мкл, 2 экв.) в DMF (0,2 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при температуре 25°C в течение 1 часа в атмосфере N₂. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. HPLC продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь фильтровали, и фильтрат представлял собой неочищенный продукт. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 30%-60%, 12 мин). **Соединение I-10** (1,35 мг, 1,49 мкмоль, выход 19,28%) получали в виде желтого твердого вещества. **LCMS:** RT = 2,294 мин, MS расщ.: 907,3, [M/2+H]⁺ = 454,8. **HPLC:** RT = 2,496 мин, ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 9,89 - 10,27 (m, 2 H) 8,40 (br s, 1 H) 8,27 (br s, 1 H) 8,08 (br s, 1 H) 7,72 (br s, 1 H) 7,14 - 7,24 (m, 3 H) 7,10 (br d, J = 7,95 Hz, 1 H) 6,67 (br s, 2 H) 6,58 (q, J = 8,35 Hz, 4 H) 4,24 (br d, J = 4,77 Hz, 2 H) 3,64 - 3,77 (m, 5 H) 3,55 - 3,64 (m, 9 H) 3,50 - 3,55 (m, 13 H) 2,86 (br s, 2 H) 1,88 (s, 3 H). MS: [M/2+H]⁺ = 455,0.

[0649] **Пример 11. Типовой синтез Соединения I-11.**

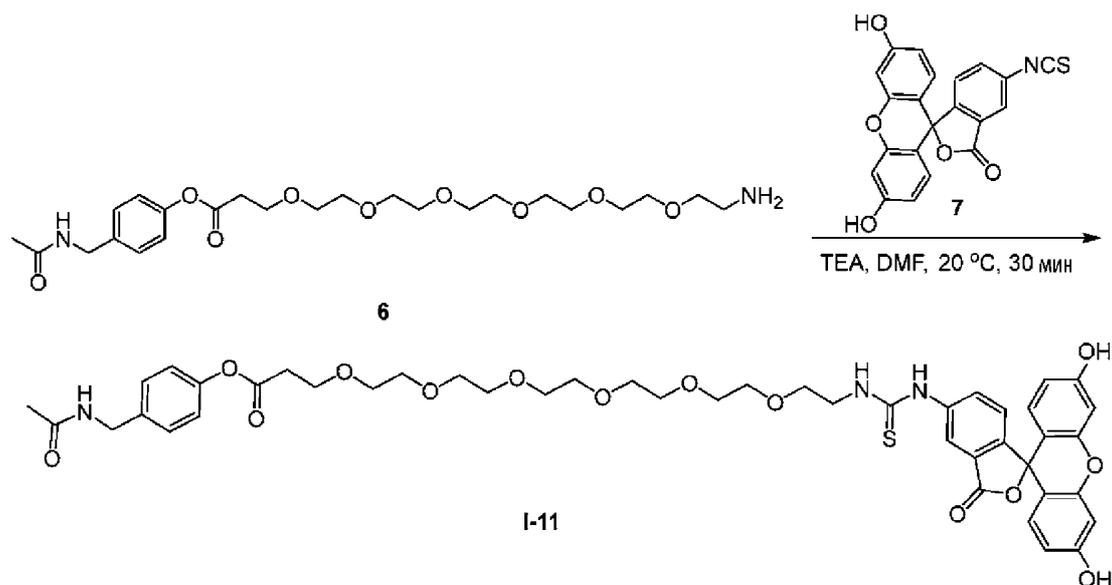


[0650] Общая методика получения соединения 2:



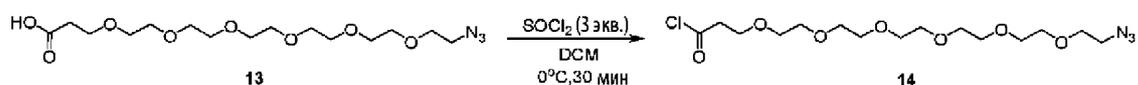
[0651] К раствору **соединения 1** (100 мг, 263,57 мкмоль, 1 экв.) в SOCl₂ (94,07 мг, 790,71 мкмоль, 57,36 мкл, 3 экв.) добавляли DCM (1 мл) одной порцией при температуре 0 °С в атмосфере N₂. Смесь перемешивали при 20°С в течение 30 мин. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10:1, R_F = 0,5) продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано и образовалось одно новое большое пятно. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Неочищенный продукт **соединения 2** (104,86 мг, 263,57 мкмоль, выход 100,00%) использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. **Соединение 2** (104,86 мг, 263,57 мкмоль, выход 100,00%) получали в виде бесцветного масла.

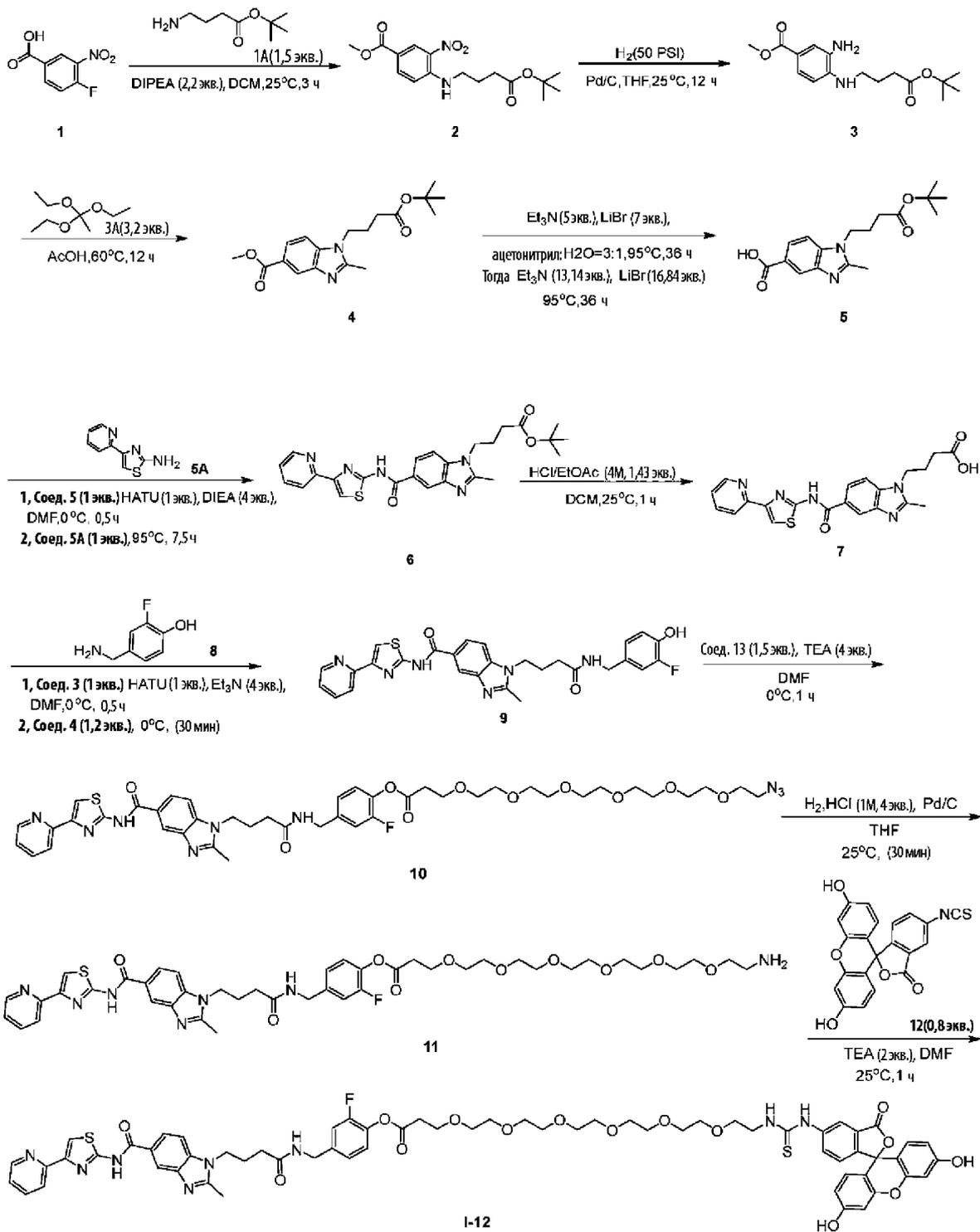
[0652] **Общая методика получения соединения 4:**



[0657] К раствору **соединения 6** (30 мг, 48,81 мкмоль, 1 экв., TFA) и **соединения 7** (19,01 мг, 48,81 мкмоль, 1 экв.) в DMF (1 мл) добавляли TEA (4,94 мг, 48,81 мкмоль, 6,79 мкл, 1 экв.). Смесь перемешивали при температуре 20 °C в течение 0,5 часа. LCMS продемонстрировала, что **соединение 6** полностью израсходовано, и была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь концентрировали. Остаток очищали препаративной HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 30%-60%, 12 мин). **Соединение I-11** (4,05 мг, 4,55 мкмоль, выход 9,32%) получали в виде твердого вещества желтого цвета. **LCMS**: RT = 2,083 мин, MS расщ.: 889,3 [M+H]⁺ = 890,3; [M/2+H]⁺ = 445,9. **HPLC**: RT = 2,767 min. **¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆)** δ ppm 1,86 (s, 3 H) 2,80 (t, J = 6,17 Hz, 2 H) 3,41 - 3,65 (m, 22 H) 3,66 - 3,77 (m, 4 H) 4,23 (d, J = 5,95 Hz, 2 H) 6,51 - 6,63 (m, 4 H) 6,67 (d, J = 2,21 Hz, 2 H) 7,04 (d, J = 8,38 Hz, 2 H) 7,18 (d, J = 8,16 Hz, 1 H) 7,27 (d, J = 8,38 Hz, 2 H) 7,73 (br d, J = 8,16 Hz, 1 H) 8,08 (br s, 1 H) 8,27 (s, 1 H) 8,35 (br t, J = 5,95 Hz, 1 H) 9,97 - 10,21 (m, 3 H). **МС**: MS расщ.: 889,3 [M+H]⁺ = 445,9; [M/2+H]⁺ = 890,5.

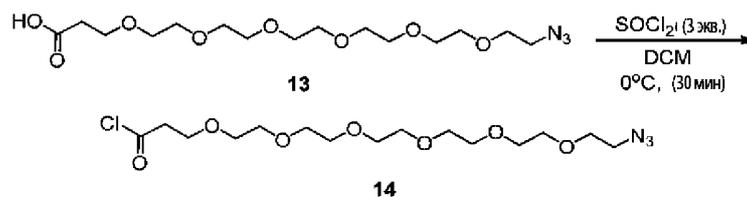
[0658] Пример 12. Типовой синтез Соединения I-12.





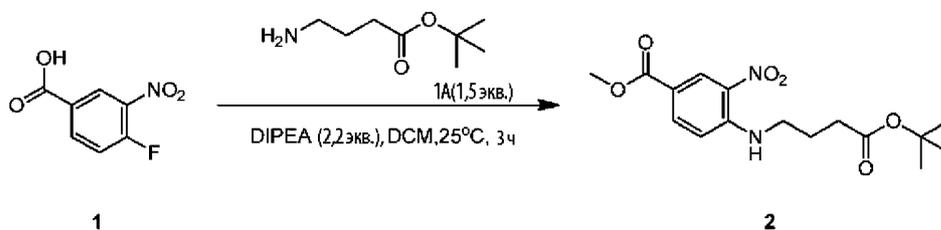
[0659]

Общая методика получения соединения 13:



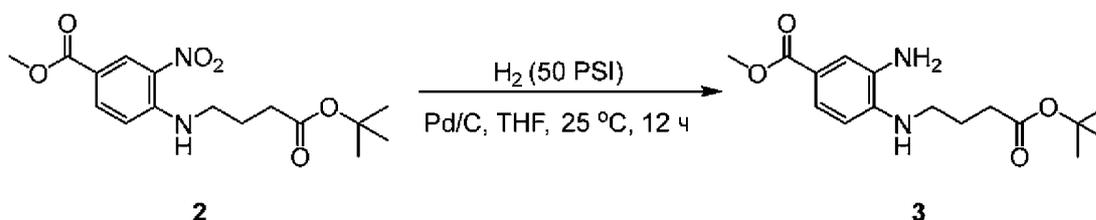
[0660] К раствору **соединения 13** (80 мг, 210,86 мкмоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) добавляли SOCl_2 (75,26 мг, мкмоль, 632,57 мкл, 45,89 мкл, 3 экв.). Смесь перемешивали при температуре 0°C в течение 30 мин. TLC (Дихлорметан: Метанол=10: 1, $R_f=0,57$) продемонстрировала, что **соединение 13** полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 14** (83 мг, 208,62 мкмоль, выход 98,94%) получали в виде желтого масла.

[0661] **Общая методика получения соединения 2:**



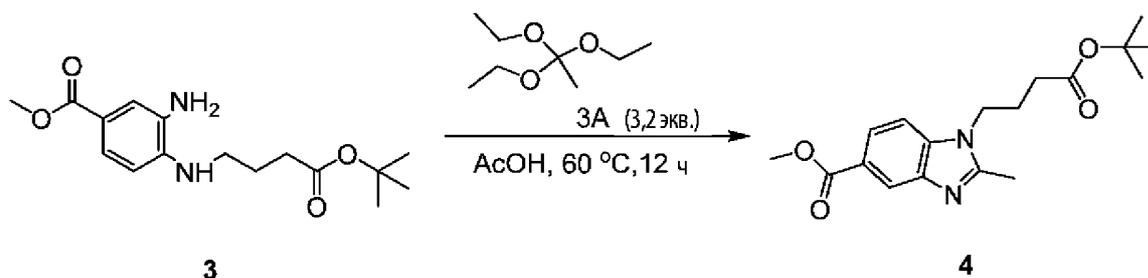
[0662] К раствору **соединения 1** (20 г, 100,43 ммоль, 1 экв.) и **соединения 1A** (19,65 г, 100,43 ммоль, 1 экв., HCl) в DCM (150 мл) добавляли DIPEA (28,56 г, 220,95 ммоль, 38,49 мл, 2,2 экв.). Смесь перемешивали при температуре 25°C в течение 3 часов. TLC (Петролейный эфир: Этилацетат = 3: 1, $R_f=0,24$) продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано и образовалось одно новое большое пятно. Согласно TLC, реакция была чистой. Реакционную смесь разбавляли DCM (50 мл). Затем смесь промывали 0,2 М HCl (100 мл*2), объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток использовали в следующей стадии. **Соединение 2** (33 г, 97,53 ммоль, выход 97,11%) получали в виде желтого твердого вещества.

[0663] **Общая методика получения соединения 3:**



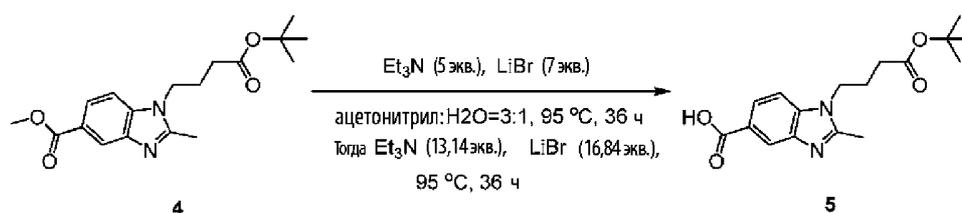
[0664] Смесь **соединения 2** (30 г, 88,66 ммоль, 1 экв.) и Pd/C (88,66 ммоль, чистота 10%, 1 г) в THF (80 мл) дегазировали и продували H₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 12 часов в атмосфере H₂. TLC (Этилацетат, R_f = 0,5) продемонстрировала, что **соединение 2** полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. Согласно TLC, реакция была чистой. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 3** (27 г, 87,56 ммоль, выход 98,75%) получали в виде желтого твердого вещества.

[0665] *Общая методика получения соединения 4:*



[0666] Смесь **соединения 3** (27 г, 87,56 ммоль, 1 экв.) и соединения 3A (45,45 г, 280,18 ммоль, 51,36 мл, 3,2 экв.) готовили в AcOH (300 мл). Указанную смесь перемешивали при температуре 60 °С в течение 12 часов. TLC (Этилацетат, R_f = 0,42) продемонстрировала, что **соединение 3** полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. Согласно TLC, реакция была чистой. Реакционную смесь распределяли между EtOAc (150 мл) и H₂O (150 мл). Органическую фазу отделяли, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 4** (24 г, 72,20 ммоль, выход 82,47%) получали в виде желтого твердого вещества.

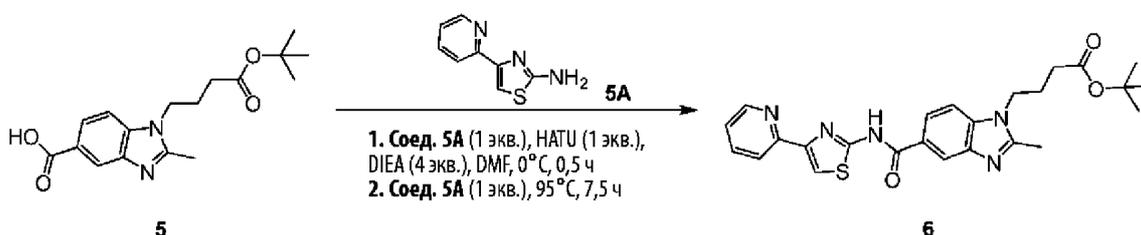
[0667] *Общая методика получения соединения 5:*



[0668] Параллельно проводили три реакции. К раствору **соединения 4** (10 г, 30,08 ммоль, 1 экв.) в ацетонитриле (900 мл) и H₂O (300 мл) добавляли Et₃N (15,22 г, 150,42 ммоль, 20,94 мл, 5 экв.) и LiBr (18,29 г, 210,59 ммоль, 5,29 мл, 7 экв.). Смесь перемешивали при температуре 95 °С в течение 36 часов. К реакционной смеси добавляли Et₃N (40,00 г, 395,30 ммоль, 55,02 мл, 13,14

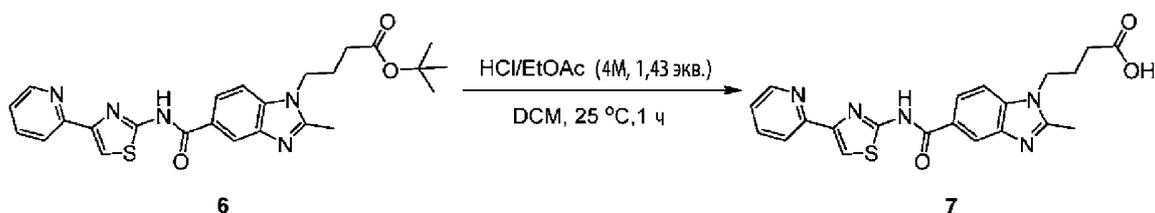
экв.) и LiBr (44,00 г, 506,65 ммоль, 12,72 мл, 16,84 экв.). Указанную смесь перемешивали при температуре 95 °С в течение 36 часов. LC-MS продемонстрировала, что **соединение 4** было полностью израсходовано и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Три реакции обрабатывали вместе. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя. Остаток растворяли в воде (200 мл), водную фазу подкисляли до pH 5 водным раствором HCl и образовался осадок. Фильтровали с получением фильтрационной лепешки. Осадок на фильтре извлекали с помощью MePh (3*200 мл) и полученный раствор концентрировали в вакууме с получением продукта. **Соединение 5** (15 г, 47,12 ммоль, выход 52,20%) получали в виде желтого твердого вещества. **LCMS**: RT = 1,108 мин, MS расщ.: 318,2, [M+H]⁺ = 319,1.

[0669] *Общая методика получения соединения 6:*



[0670] К раствору **соединения 5** (16 г, 50,26 ммоль, 1 экв.) в DMF (100 мл) добавляли HATU (19,11 г, 50,26 ммоль, 1 экв.) и DIEA (25,98 г, 201,03 ммоль, 35,02 мл, 4 экв.). Смесь перемешивали при температуре 0 °С в течение 0,5 часа. Затем к реакционной смеси добавляли соединение 5A (8,91 г, 50,26 ммоль, 1 экв.), смесь перемешивали при 90 °С в течение 7,5 часов. LC-MS продемонстрировала, что **соединение 5** было полностью израсходовано, и обнаружен один основной пик с целевой массой. Остаток разбавляли H₂O (500 мл) и экстрагировали EtOAc (500 мл * 2). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, DCM: MeOH = от 200/1 до 0:1). Соединение **6** (19 г, 39,78 ммоль, выход 79,16%) получали в виде белого твердого вещества. **LCMS**: RT = 1,639 мин, MS расщ.: 477,2, [M+H]⁺ = 478,0.

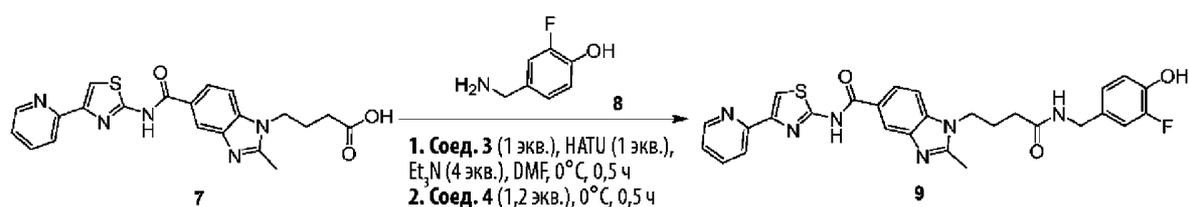
[0671] *Общая методика получения соединения 7:*



[0672] К раствору **соединения 6** (4 г, 8,38 ммоль, 1 экв.) в DCM (5 мл) добавляли HCl/EtOAc (4 М, 3 мл, 1,43 экв.). Указанную смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 1 часа. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10: 1, $R_f = 0,24$) продемонстрировала, что реакция завершена. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка.

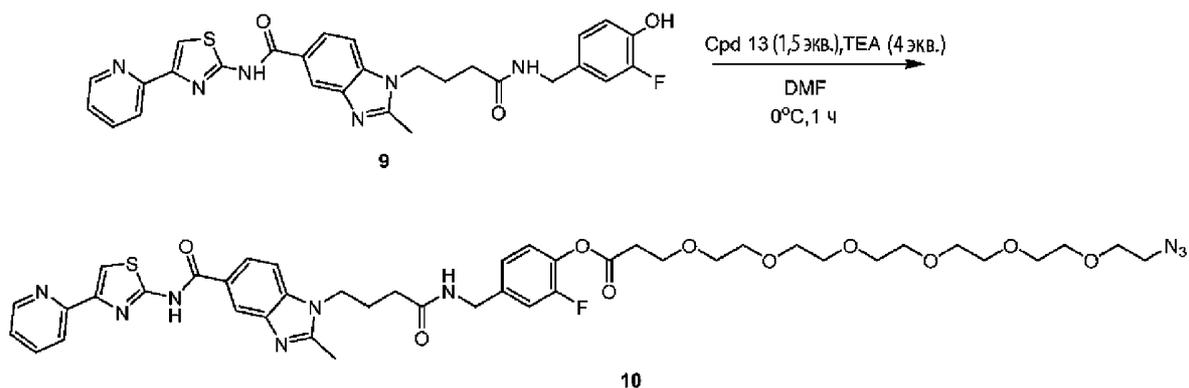
Соединение 6 (4,3 г, 8,03 ммоль, выход 95,87%, TFA) получали в виде белого твердого вещества.

[0673] **Общая методика получения соединения 9:**



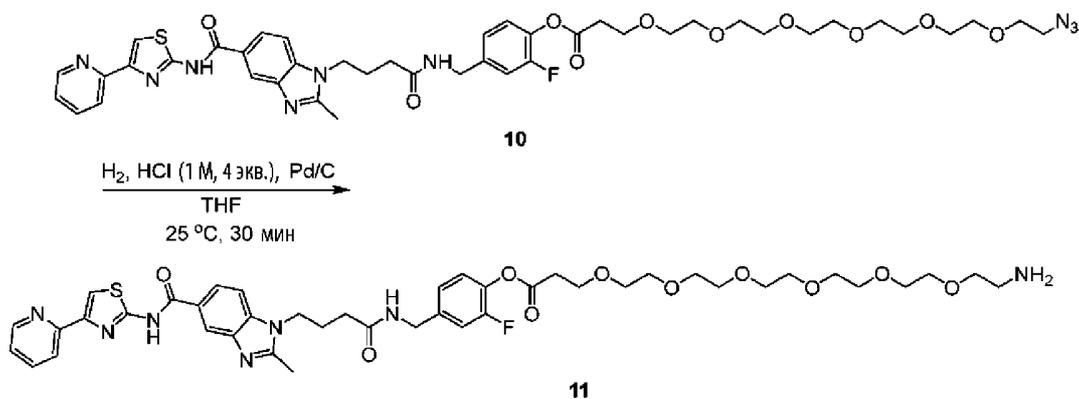
[0674] К раствору **соединения 7** (250 мг, 466,86 мкмоль, 1 экв., TFA) в DMF (5 мл) добавляли Et₃N (188,97 мг, 1,87 ммоль, 259,93 мкл, 4 экв.) и HATU (177,51 мг, 466,86 мкмоль, 1 экв.). Смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 мин. Реакционную смесь по каплям добавляли к **соединению 8** (199,00 мг, 560,23 мкмоль, 1,2 экв., HCl) при 0 °С. Смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 мин. LC-MS ($R_t = 0,966$ мин) продемонстрировала, что **соединение 7** было израсходовано полностью, и был обнаружен один основной пик целевой массы. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Nano-micro Kromasil C18 80*25 мм *3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 5%-45%, 7 мин). **Соединение 9** ((280 мг, 425,13 мкмоль, выход 91,06%, TFA) получали в виде белого твердого вещества. LCMS: $R_t = 0,966$ мин, MS расщ.: 544,2, $[M+H]^+ = 545,3$. $[M/2+H]^+ = 273,2$. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 8,50 - 8,68 (m, 2 H) 8,20 - 8,36 (m, 2 H) 7,90 - 8,10 (m, 3 H) 7,35 - 7,43 (m, 1 H) 6,96 - 7,05 (m, 1 H) 6,82 - 6,92 (m, 2 H) 4,36 - 4,48 (m, 2 H) 4,10 - 4,17 (m, 3 H) 2,74 - 2,86 (m, 3 H) 2,26 - 2,37 (m, 2 H) 2,01 - 2,12 (m, 2 H).

[0675] **Общая методика получения соединения 10:**



[0676] К раствору **соединения 13** (82,19 мг, 206,57 мкмоль, 1,5 экв.) в DMF (2 мл) добавляли Et₃N (55,74 мг, 550,86 мкмоль, 76,67 мкл, 4 экв.) и **соединение 9** (75 мг, 137,72 мкмоль, 1 экв., TFA). Смесь перемешивали при температуре 0 °С в течение 1 часа. LC-MS (Rt = 1,769 мин.) продемонстрировала, что **соединение 9** было израсходовано полностью и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA: колонка: Nano-micro Kromasil C18 80*25 мм *3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 15%-60%, 7 мин). **Соединение 10** (90 мг, 99,34 мкмоль, выход 72,13%) получали в виде белого твердого вещества. LCMS: RT = 1,290 мин, MS кал.: 905,4, [M/2+H]⁺ = 453,8.

[0677] **Общая методика получения соединения 11:**



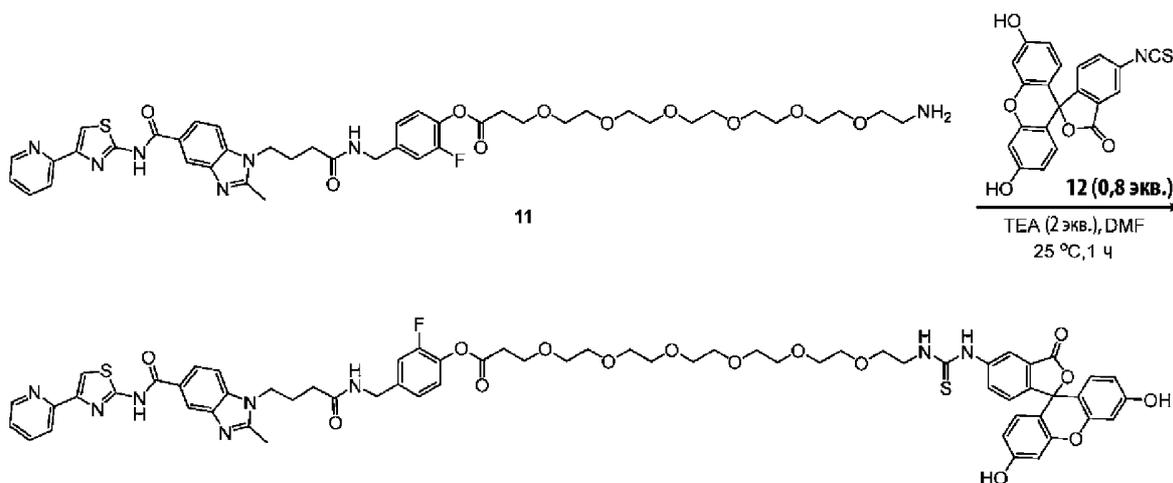
[0678] Смесь **соединения 10** (90 мг, 99,34 мкмоль, 1 экв.), HCl (1 M, 397,36 мкл, 4 экв.) и Pd/C (90 мг, чистота 10%) в THF (3 мл) дегазировали и продували с H₂ 3 раза, затем смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 30 минут в атмосфере H₂. LC-MS (Rt = 1,473 мин) продемонстрировала, что **соединение 10** было израсходовано полностью и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Суспензию фильтровали и осадок на фильтре промывали THF (5 мл × 3). Объединенные фильтраты концентрировали досуха с получением продукта в виде белого

твердого вещества. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Nano-micro Kromasil C18 80*25 мм *3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 5%-45%, 7 мин).

Соединение 11 (30 мг, 34,09 мкмоль, выход 34,32%) получали в виде белого твердого вещества.

LCMS: RT = 1,473 мин, MS расщ.: 879,4, $[M/2+H]^+ = 440,9$. **1H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ 12,90 - 12,98 (m, 1 H) 8,61 - 8,67 (m, 1 H) 8,50 - 8,53 (m, 1 H) 8,42 - 8,49 (m, 1 H) 8,17 - 8,23 (m, 1 H) 8,04 - 8,09 (m, 1 H) 7,90 - 7,97 (m, 3 H) 7,65 - 7,81 (m, 2 H) 7,35 - 7,42 (m, 1 H) 7,16 - 7,26 (m, 2 H) 7,07 - 7,14 (m, 1 H) 4,34 - 4,44 (m, 2 H) 4,23 - 4,29 (m, 2 H) 3,71 - 3,77 (m, 4 H) 3,55 - 3,60 (m, 24 H) 2,94 - 3,02 (m, 2 H) 2,83 - 2,90 (m, 2 H) 2,73 - 2,79 (m, 3 H) 2,00 - 2,11 (m, 2 H).

[0679] Общая методика получения соединения I-12:



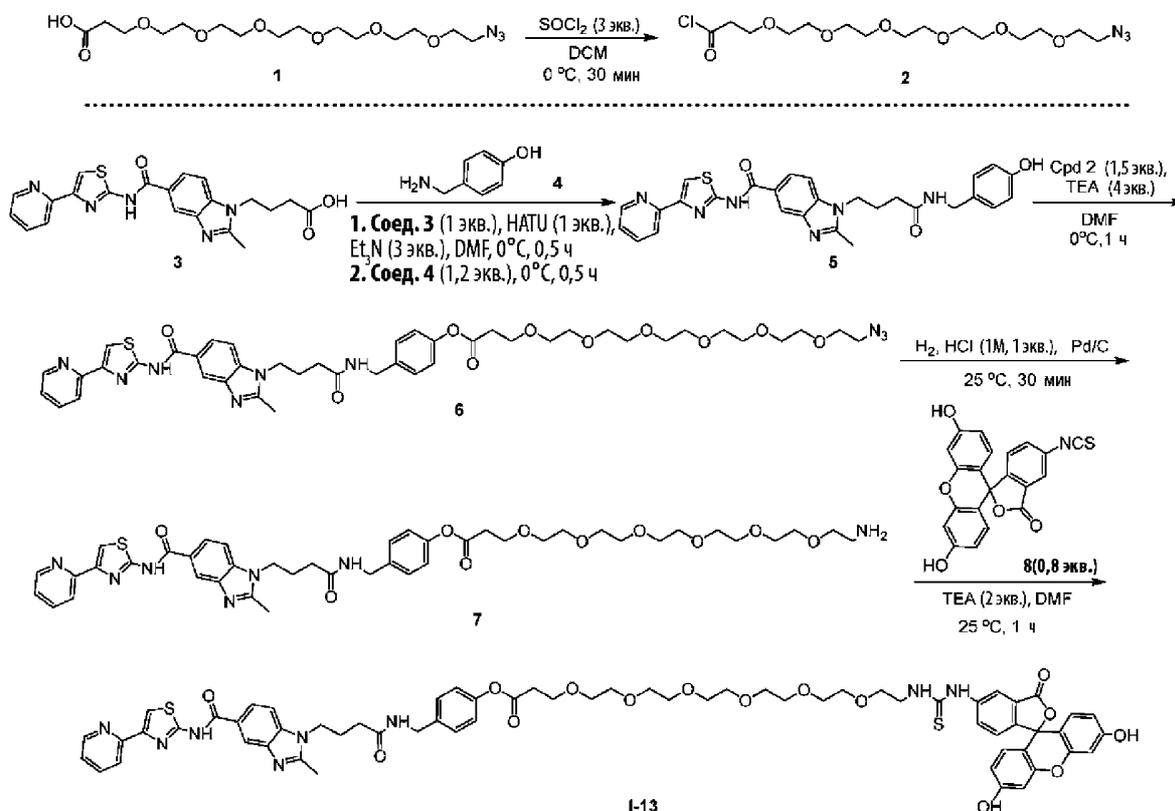
[0680] К раствору **соединения 11** (30 мг, 34,09 мкмоль, 1 экв., TFA) и **соединения 12** (10,62 мг, 27,27 мкмоль, 0,8 экв) в DMF (1 мл) добавляли Et₃N (6,90 мг, 68,18 мкмоль, 9,49 мкл, 2 экв.).

Указанную смесь перемешивали при температуре 25 °C в течение 1 часа. LC-MS (Rt = 2,071 мин) продемонстрировала, что **соединение 11** было израсходовано полностью и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка:

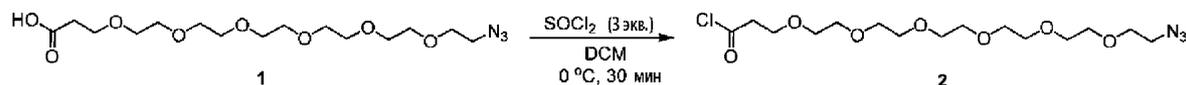
Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 25%-55%, 12 мин). **Соединение I-12** (3,80 мг, 2,99 мкмоль, выход 8,78%) получали в виде белого твердого вещества. **LCMS:** RT = 2,071 мин, MS расщ.: 1268,4, $[M/2+H]^+ = 635,6$, $[M/3+H]^+ = 424,1$. **МС:** MS расщ.: 1268,4, $[M/2+H]^+ = 635,3$. **1H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ 12,97 - 13,06 (m, 1 H) 9,99 - 10,26 (m, 2 H) 8,62 - 8,67 (m, 1 H) 8,51 - 8,56 (m, 1 H) 8,41 - 8,49 (m, 1 H) 8,23 - 8,30 (m, 2 H) 8,09 - 8,15 (m, 1 H) 8,02 - 8,09 (m, 2 H) 7,91 - 7,98 (m, 2 H) 7,70 - 7,77 (m, 1 H) 7,36 - 7,42 (m, 1 H) 7,17 - 7,24 (m, 2 H) 7,06 - 7,13 (m, 1 H) 6,65 - 6,70 (m, 2 H) 6,54 - 6,63 (m, 3 H) 4,40 - 4,48 (m, 2 H) 4,22 - 4,27 (m, 2 H) 3,72 -

3,76 (m, 2 H) 3,46 - 3,64 (m, 21 H) 2,85 - 2,89 (m, 1 H) 2,78 - 2,84 (m, 3 H) 2,31 - 2,36 (m, 2 H) 2,02 - 2,13 (m, 2 H). HPLC: Время удерживания продукта составило 2,521 мин.

[0681] Пример 13. Типовой синтез Соединения I-13.

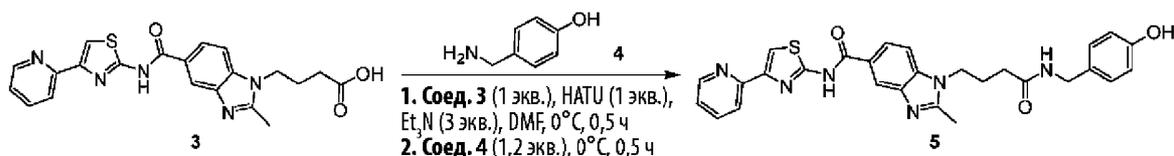


[0682] Общая методика получения соединения:



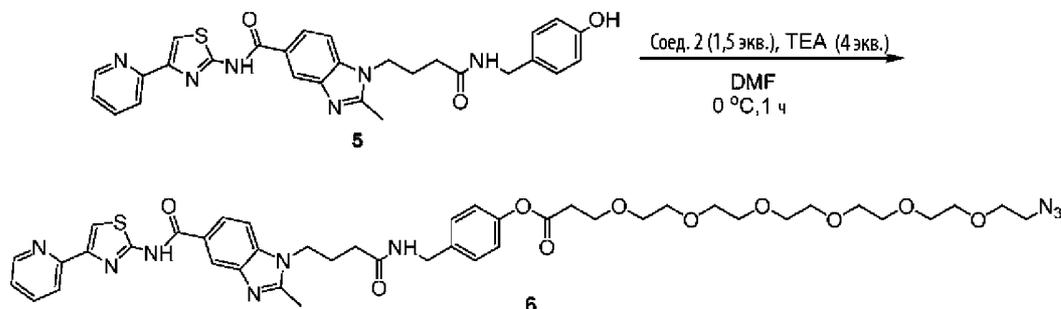
[0683] К раствору **соединения 1** (80 мг, 210,86 мкмоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) добавляли SOCl_2 (75,26 мг, мкмоль, 632,57 мкл, 45,89 мкл, 3 экв.). Смесь перемешивали при температуре 0°C в течение 30 мин. TLC (Дихлорметан: Метанол=10:1, $R_f = 0,57$), продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. **Соединение 2** (83 мг, 208,62 мкмоль, выход 98,94%) получали в виде желтого масла.

[0684] Общая методика получения соединения 5:



[0685] К раствору **соединения 3** (300 мг, 560,23 мкмоль, 1 экв., TFA) в DMF (5 мл) добавляли Et₃N (170,07 мг, 1,68 ммоль, 233,93 мкл, 3 экв.) и HATU (213,02 мг, 560,23 мкмоль, 1 экв.). Смесь перемешивали при температуре 0 °C в течение 30 мин. Реакционную смесь по каплям добавляли к **соединению 4** (89,69 мг, 728,30 мкмоль, 1,3 экв.) при температуре 0 °C. Смесь перемешивали при температуре 0 °C в течение 30 мин. LC-MS (Rt = 0,979 мин) продемонстрировала, что **соединение 3** полностью израсходовано и был обнаружен один основной пик целевой массы. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA: колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 10%-40%, 12 мин). Соединение 5 (280 мг, 437,07 мкмоль, выход 78,02%, TFA) получали в виде белого твердого вещества. LCMS: RT = 0,979 мин, MS расщ.: 526,2, [M+H]⁺ = 527,2 . [M/2+H]⁺ = 264,1. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,95 - 13,15 (m, 1 H) 8,62 - 8,74 (m, 1 H) 8,52 - 8,59 (m, 1 H) 8,18 - 8,40 (m, 2 H) 8,03 - 8,14 (m, 2 H) 7,88 - 8,02 (m, 2 H) 7,34 - 7,49 (m, 1 H) 6,98 - 7,15 (m, 2 H) 6,60 - 6,79 (m, 2 H) 4,35 - 4,54 (m, 2 H) 4,07 - 4,17 (m, 2 H) 2,75 - 2,92 (m, 3 H) 2,23 - 2,39 (m, 2 H) 1,96 - 2,15 (m, 2 H).

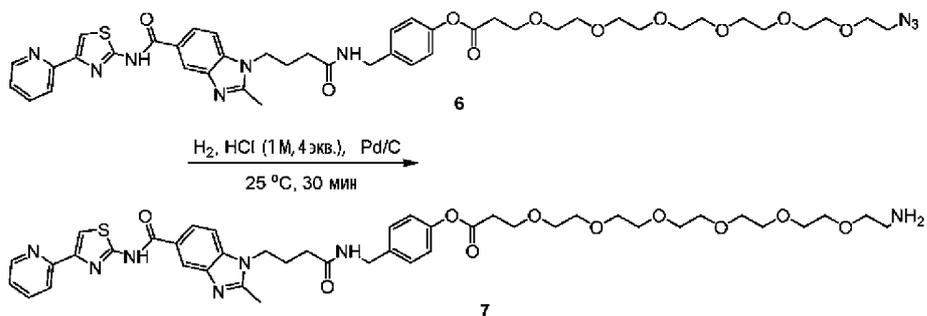
[0686] **Общая методика получения соединения 6:**



[0687] К раствору **соединения 2** (74,52 мг, 187,32 мкмоль, 1,5 экв.) в DMF (2 мл) добавляли Et₃N (50,55 мг, 499,51 мкмоль, 69,53 мкл, 4 экв.) и **соединение 5** (80 мг, 124,88 мкмоль, 1 экв., TFA). Смесь перемешивали при температуре 0 °C в течение 1 часа. LC-MS (Rt = 1,769 мин) продемонстрировала ~50% оставшегося **соединения 5** и ~50% целевого соединения. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA: колонка: Nano-micro Kromasil C18 80*25 мм *3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 10%-54%, 7 мин). **Соединение 6** (50

мг, 56,31 мкмоль, выход 45,09%) получали в виде белого твердого вещества. **LCMS:** RT = 1,769 мин, MS расщ.: 887,4, $[M/2+H]^+ = 444,9$.

[0688] **Общая методика получения соединения 7:**

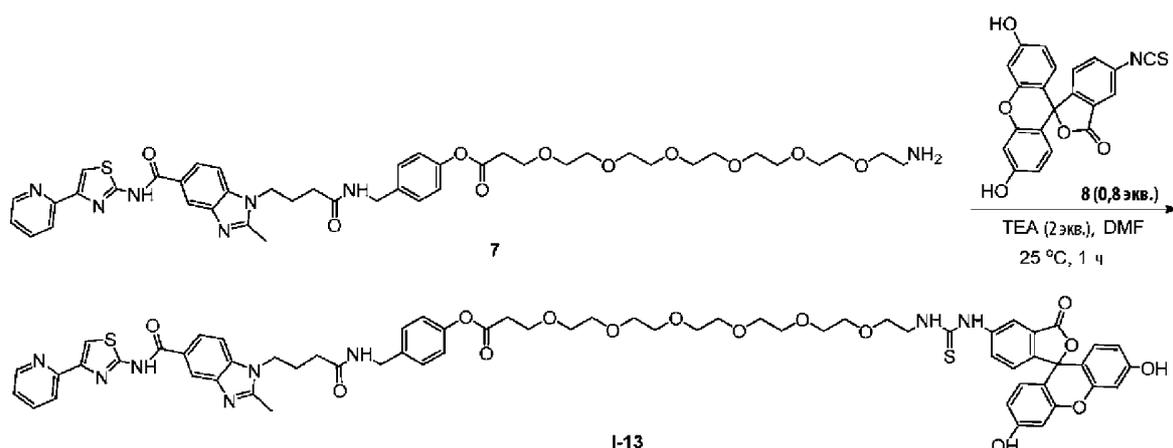


[0689] Смесь **соединения 6** (160 мг, 180,18 мкмоль, 1 экв.), HCl (1 М, 720,72 мкл, 4 экв.) и Pd/C (160 мг, чистота 10%) в THF (3 мл) дегазировали и продували с H₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 30 мин в атмосфере H₂. LC-MS (Rt = 0,968 мин) продемонстрировала, что **соединение 6** было израсходовано полностью и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA: колонка: Nano-micro Kromasil C18 80*25 мм *3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1% TFA)-ACN]; V%: 10%-40%, 7 мин).

Соединение 7 (45 мг, 52,20 мкмоль, выход 28,97%) получали в виде белого твердого вещества.

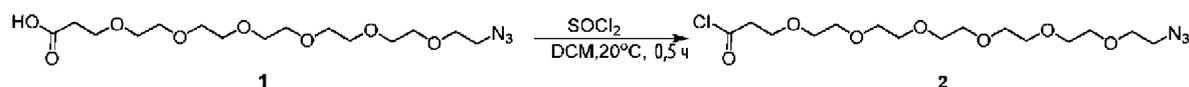
LCMS: RT = 1,473 мин, MS расщ.: 861,4, $[M/2+H]^+ = 431,9$. **¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆)** δ 12,87 - 12,99 (m, 1 H) 8,60 - 8,68 (m, 1 H) 8,49 - 8,55 (m, 1 H) 8,38 - 8,45 (m, 1 H) 8,17 - 8,24 (m, 1 H) 8,03 - 8,08 (m, 1 H) 7,88 - 7,98 (m, 2 H) 7,63 - 7,83 (m, 2 H) 7,35 - 7,42 (m, 1 H) 7,23 - 7,31 (m, 1 H) 7,02 - 7,09 (m, 1 H) 4,35 - 4,45 (m, 1 H) 4,22 - 4,27 (m, 1 H) 3,44 - 3,68 (m, 29 H) 2,96 - 3,03 (m, 2 H) 2,78 - 2,84 (m, 3 H) 2,72 - 2,78 (m, 3 H) 2,25 - 2,33 (m, 2 H) 2,00 - 2,11 (m, 1 H).

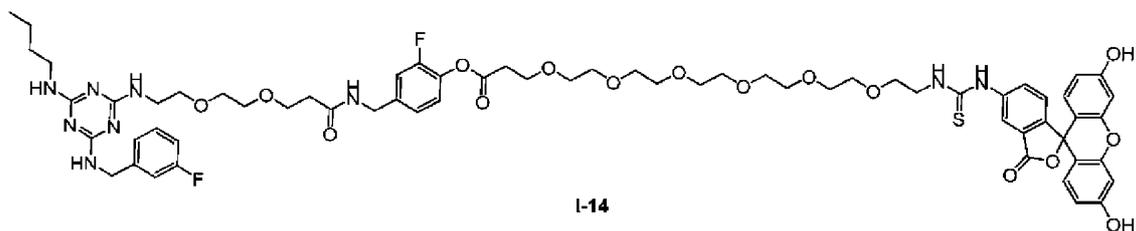
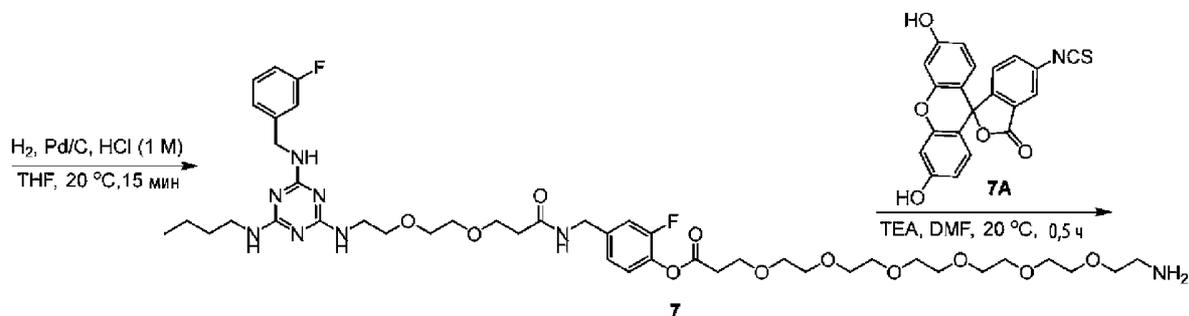
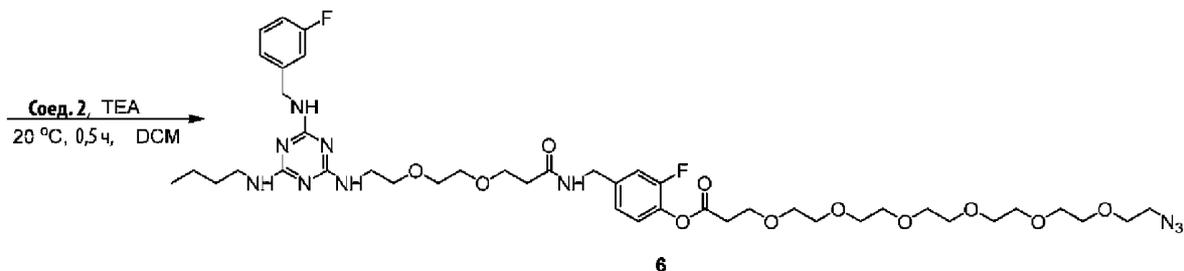
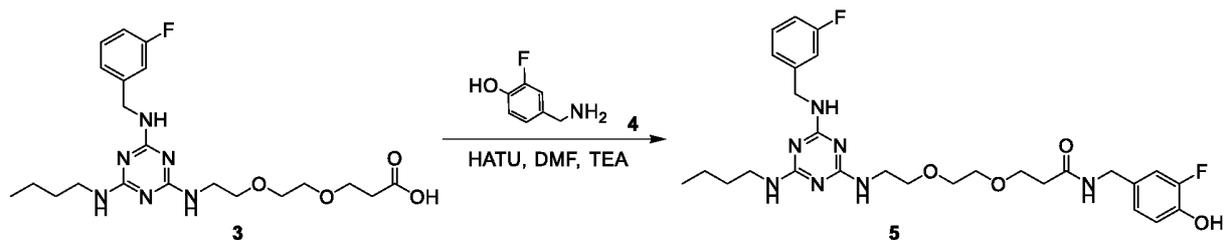
[0690] **Общая методика получения соединения I-13:**



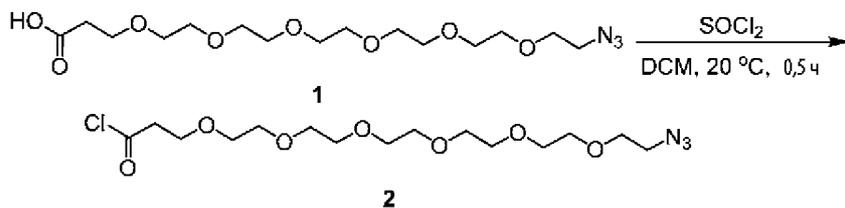
[0691] К раствору **соединения 7** (45 мг, 46,11 мкмоль, 1 экв., TFA) и **соединения 8** (14,36 мг, 36,88 мкмоль, 0,8 экв) в DMF (1 мл) добавляли Et₃N (9,33 мг, 92,21 мкмоль, 12,83 мкл, 2 экв.). Указанную смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 1 часа. LC-MS (Rt = 1,240 мин) продемонстрировала, что **соединение 7** было израсходовано полностью и был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм, вода (0,1% TFA)-ACN). **Соединение I-13** (3,83 мг, 3,06 мкмоль, выход 6,64%) получали в виде белого твердого вещества. **LCMS:** RT = 1,240 мин, MS расщ.: 1250,4, [M/2+H]⁺ = 626,4, [M/3+H]⁺ = 417,9. **МС:** MS расщ.: v1250,4, [M/2+H]⁺ = 626,8. **¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆)** δ12,96 - 13,08 (m, 1 H) 10,14 (br s, 2 H) 8,63 - 8,66 (m, 1 H) 8,52 - 8,56 (m, 1 H) 8,35 - 8,44 (m, 1 H) 8,24 - 8,30 (m, 1 H) 8,10 - 8,14 (m, 1 H) 8,03 - 8,09 (m, 1 H) 7,91 - 7,98 (m, 1 H) 7,71 - 7,78 (m, 1 H) 7,36 - 7,43 (m, 1 H) 7,22 - 7,30 (m, 1 H) 7,16 - 7,21 (m, 1 H) 7,00 - 7,07 (m, 1 H) 6,66 - 6,70 (m, 1 H) 6,53 - 6,64 (m, 3 H) 4,40 - 4,48 (m, 2 H) 4,21 - 4,28 (m, 3 H) 3,68 - 3,75 (m, 4 H) 3,44 - 3,68 (m, 19 H) 2,75 - 2,91 (m, 4 H) 2,30 - 2,36 (m, 3 H) 2,04 - 2,14 (m, 3 H). HPLC: Время удерживания продукта в HPLC составило 2,209 мин.

[0692] **Пример 14. Типовой синтез Соединения I-14.**

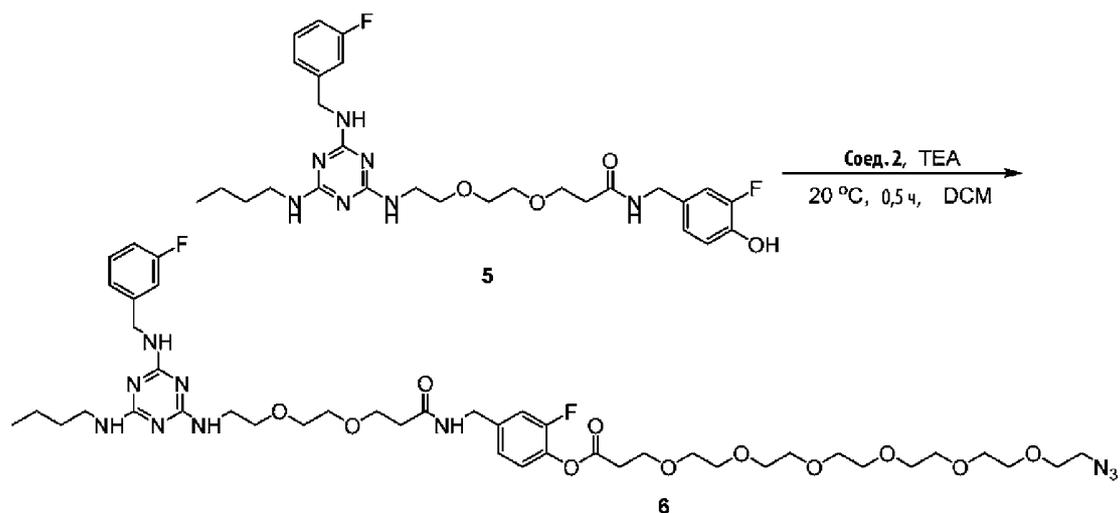




[0693] Общая методика получения соединения 2:

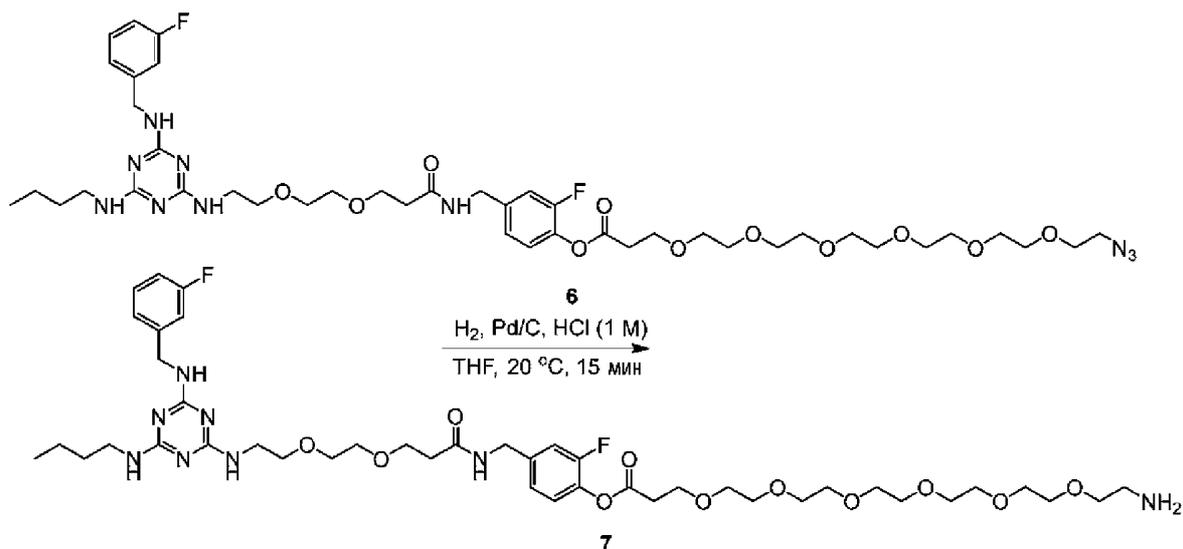


[0694] К раствору **соединения 1** (250 мг, 658,93 мкмоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) добавляли $SOCl_2$ (235,18 мг, 1,98 ммоль, 143,40 мкл, 3 экв.) одной порцией при температуре 0 °C в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали при температуре 20 °C в течение 30 мин. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10: 1, $R_f = 0,6$), продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано и образовалось



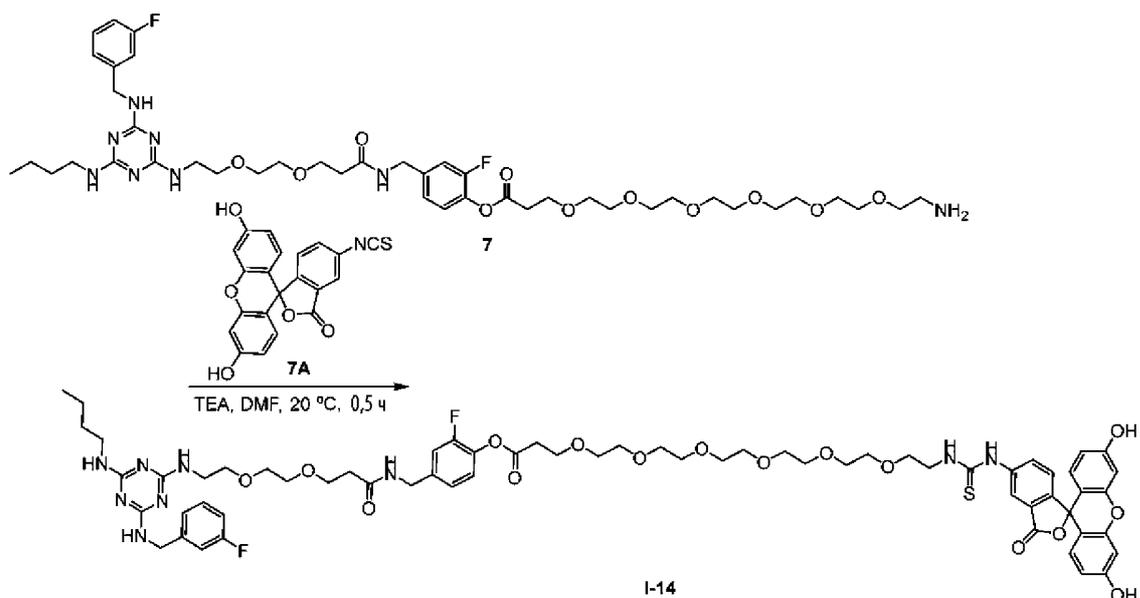
[0698] К раствору **соединения 5** (300 мг, 327,62 мкмоль, 1 экв., 3TFA) в DCM (4 мл) добавляли **соединение 2** (156,41 мг, 393,14 мкмоль, 1,2 экв) и Et₃N (165,76 мг, 1,64 ммоль, 228,00 мкл, 5 экв.) одной порцией при температуре 0 °С в атмосфере N₂. Смесь перемешивали при температуре 0 °С в течение 0,5 часа. LCMS продемонстрировала, что **соединение 5** полностью израсходовано и была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь подкисляли TFA до pH 6-7 и концентрировали. Остаток очищали препаративной HPLC (колонка: Nano- micro Kromasil C18 80*25 мм*3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1% TFA)-ACN]; В%: 20%- 76%, 7 мин) с получением соединения **6** (300 мг, 3234,91 мкмоль, выход 71,70%, 3TFA) в виде бесцветного масла. **LCMS**: RT = 2,514 мин, MS расщ.: 934,5, [M+H]⁺ = 935,5. **¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d)** δ ppm 7,31 (br s, 2 H) 6,92 - 7,20 (m, 6 H) 4,59 (br d, J = 5,75 Hz, 2 H) 4,42 (br d, J = 5,75 Hz, 1 H) 4,33 - 4,49 (m, 1 H) 3,75 - 3,92 (m, 3 H) 3,30 - 3,73 (m, 38 H) 2,81 - 2,91 (m, 2 H) 2,55 (br d, J = 5,01 Hz, 2 H) 1,55 (dt, J = 14,18, 7,09 Hz, 2 H) 1,22 - 1,44 (m, 2 H) 0,83 - 1,00 (m, 3 H).

[0699] **Общая методика получения соединения 7:**



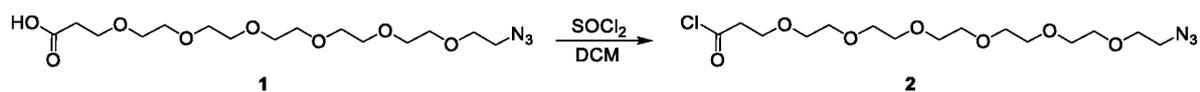
[0700] К раствору соединения **6** (100 мг, 106,95 мкмоль, 1 экв.) в THF (3 мл) добавляли Pd/C (100 мг, 106,95 мкмоль, чистота 10%) и HCl (1 М, 427,80 мкл, 4 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (215,60 мкг, 106,95 мкмоль) (15 фунт/кв.дюйм) при 20 °C в течение 15 мин. LCMS продемонстрировала, что **соединение 6** полностью израсходовано и была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь подщелачивали водным раствором NaHCO₃ до pH 5-6, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали препаративной HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1% TFA) — CAN]; В%: 25%- 55%, 12 мин) с получением соединения **7** (60 мг, 66,00 мкмоль, выход 61,72%) в виде бесцветного масла. **LCMS**: RT = 2,027 мин, MS расщ.: 908,5, [M+H] /2⁺ = 455,4. **¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-*d*)** δ ppm 7,78 (br s, 3 H) 7,52 (br d, *J* = 8,56 Hz, 1 H) 6,94 - 7,16 (m, 6 H) 4,52 - 4,65 (m, 2 H) 4,41 (br d, *J*=5,50 Hz, 2 H) 3,77 - 3,89 (m, 6 H) 3,27 - 3,75 (m, 33 H) 2,87 (br d, *J* = 5,50 Hz, 3 H) 2,56 (br s, 3 H) 1,55 (br dd, *J* = 14,79, 7,09 Hz, 2 H) 1,28 - 1,43 (m, 2 H) 0,87 - 0,97 (m, 2 H) 0,84 - 0,97 (m, 1 H).

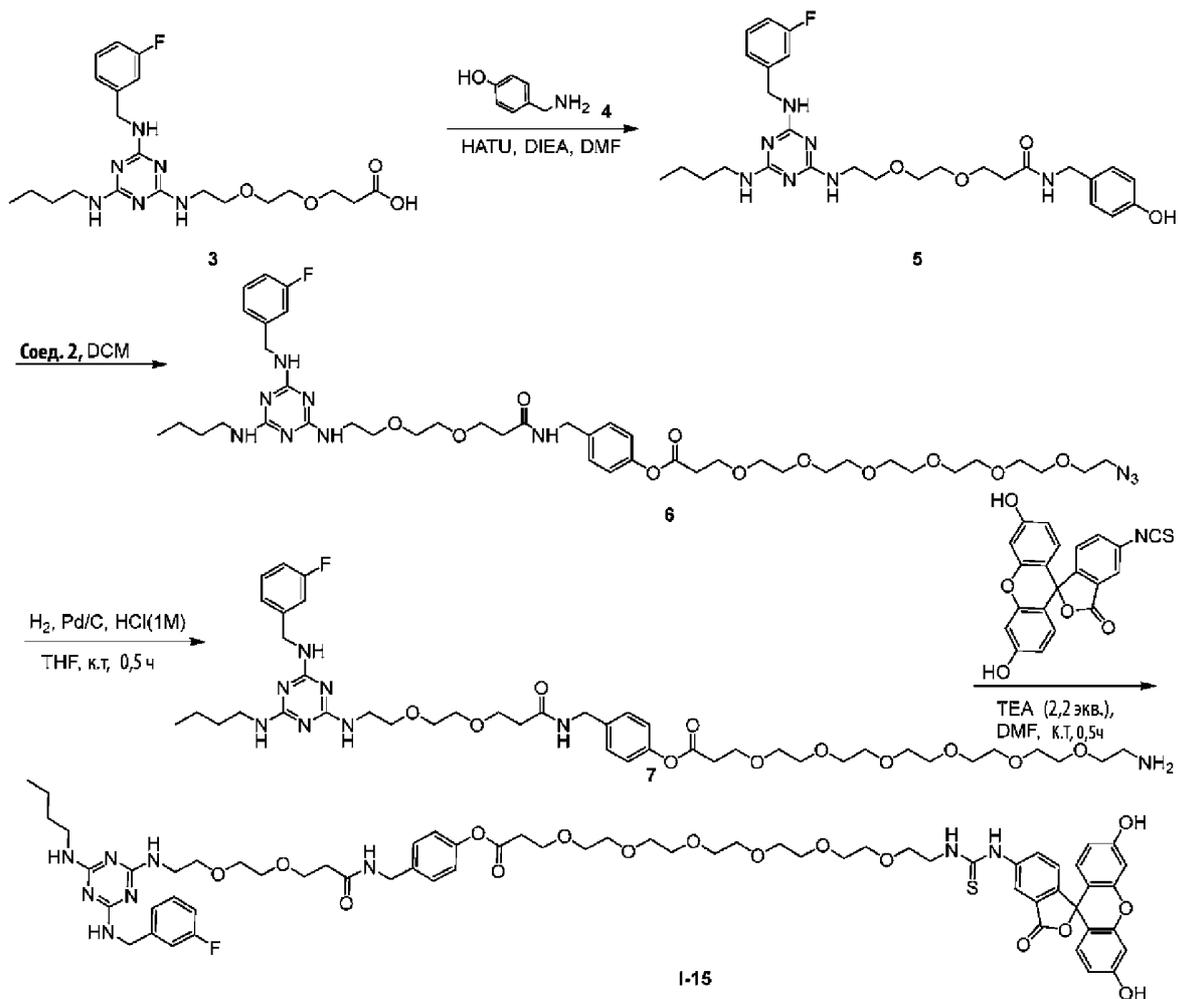
[0701] **Общая методика получения соединения I-14:**



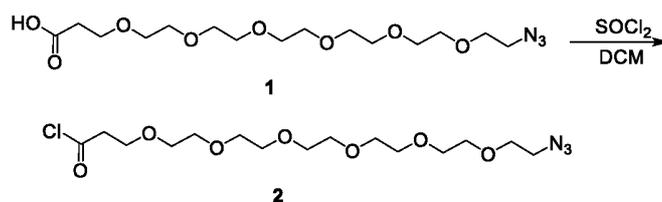
[0702] К раствору **соединения 7** (60 мг, 47,96 мкмоль, 1 экв., 3TFA) и **соединения 7A** (18,67 мг, 47,96 мкмоль, 1 экв) в DMF (1 мл) добавляли Et₃N (4,85 мг, 47,96 мкмоль, 6,68 мкл, 1 экв.) при температуре 20 °С в атмосфере N₂. Смесь перемешивали при 20 °С в течение 15 минут, затем добавляли Et₃N (4,85 мг, 47,96 мкмоль, 6,68 мкл, 1 экв.) при 20 °С и перемешивали в течение 15 минут. LCMS продемонстрировала, что **соединение 7** полностью израсходовано, и была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь подкисляли TFA до pH 6. Смесь очищали препаративной HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1% TFA)-ACN]; V%: 48-58%, 12 мин) с получением **соединения I-14** (4,66 мг, 3,59 мкмоль, выход 7,48%) в виде желтого твердого вещества. **LCMS**: RT = 1,368 мин, MS расщ.: 1297,5, [M+H]/2⁺ = 650,0. **HPLC**: RT = 3,123 мин. **MS**: MS расщ.: 1297,5, [M+H]/2⁺ = 650,3. **¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ ppm 10,06 (br s, 1 H) 9,97 - 10,27 (m, 1 H) 8,56 - 8,96 (m, 1 H) 8,45 (br d, J=5,95 Hz, 1 H) 8,27 (s, 1 H) 8,13 (br s, 1 H) 7,83 - 8,05 (m, 1 H) 7,74 (br d, J=8,16 Hz, 1 H) 7,34 - 7,43 (m, 1 H) 7,04 - 7,24 (m, 7 H) 6,67 (d, J=2,21 Hz, 2 H) 6,52 - 6,62 (m, 4 H) 4,51 (br d, J=14,77 Hz, 2 H) 4,27 (br d, J=5,29 Hz, 2 H) 3,16 - 3,75 (m, 38 H) 2,85 (t, J=6,06 Hz, 2 H) 2,35 - 2,42 (m, 2 H) 1,43 - 1,56 (m, 1 H) 1,15 - 1,42 (m, 3 H) 0,77 - 0,92 (m, 2 H) 0,76 - 0,93 (m, 1 H).

[0703] **Пример 15. Типовой синтез Соединения I-15.**





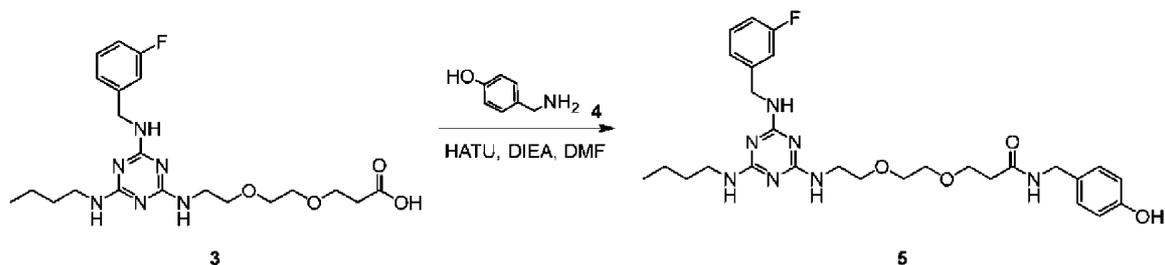
[0704] *Общая методика получения соединения 2:*



[0705] К раствору **соединения 1** (110 мг, 289,93 мкмоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) добавляли $SOCl_2$ (103,48 мг, 869,78 мкмоль, 3 экв.) одной порцией при температуре 0 °C в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали при температуре 20 °C в течение 30 мин. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10: 1, $R_f = 0,64$), продемонстрировала, что **исходный материал** полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. Растворитель удаляли, получая соединение 2 (116 мг, неочищенное) в виде бесцветного масла, которое использовали сразу на следующей

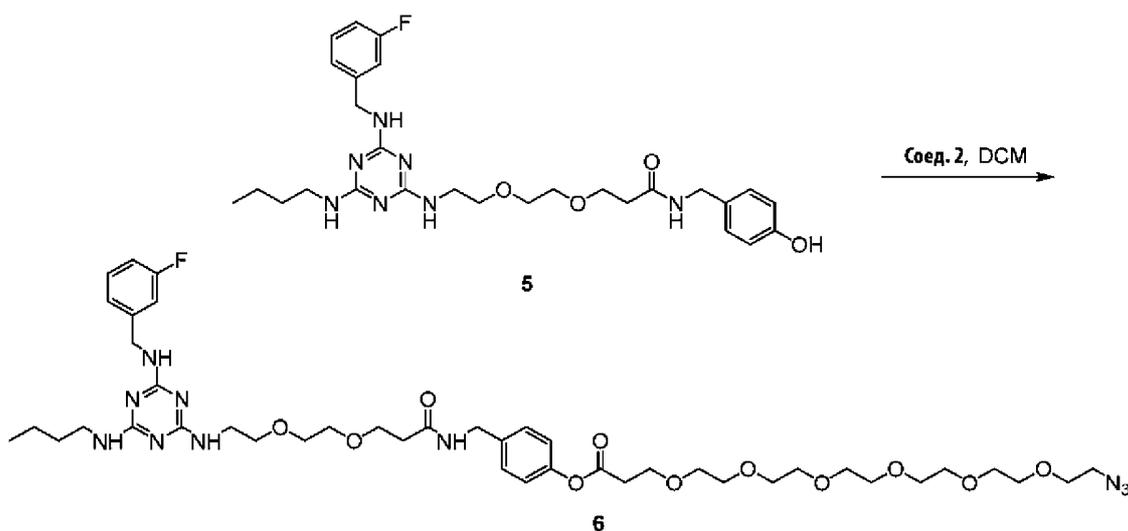
стадии.

[0706] **Общая методика получения соединения 5:**



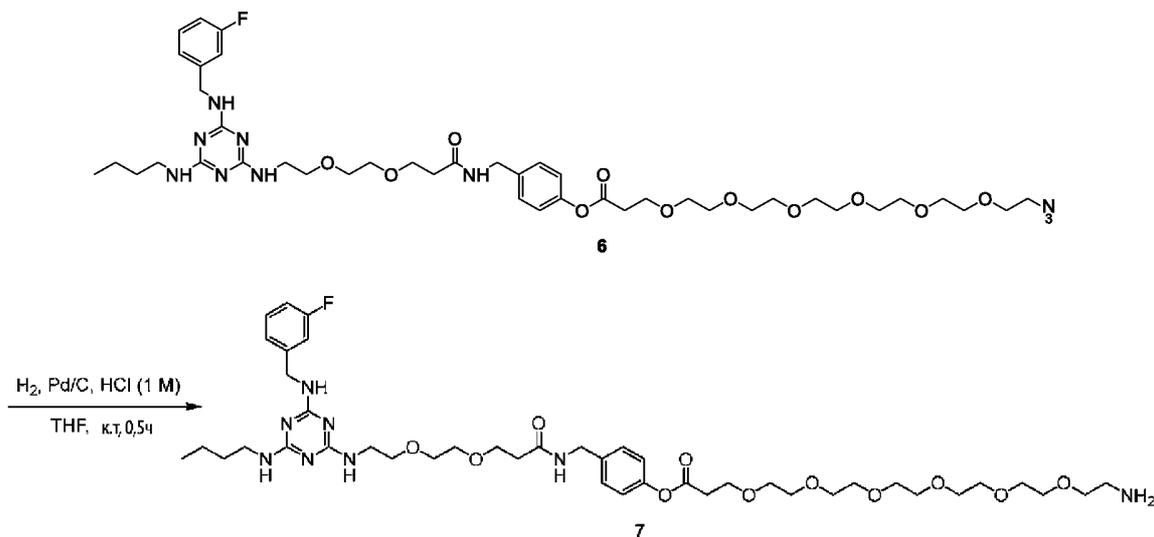
[0707] К раствору соединения 3 (300 мг, 535,82 мкмоль, 1 экв., 3HCl) в DMF (3 мл) добавляли HATU (224,11 мг, 589,40 мкмоль, 1,1 экв.) и DIEA (415,50 мг, 3,21 ммоль, 559,97 мкл, 6 экв.) одной порцией при температуре 0 °С в атмосфере N₂. Смесь перемешивали при температуре 0 °С в течение 20 мин, затем смесь медленно добавляли к раствору **соединения 4** (79,18 мг, 642,98 мкмоль, 1,2 экв) в DMF (0,5 мл) при температуре 0 °С и указанную смесь перемешивали при температуре 20 °С в течение 1 часа. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован и обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат очищали препаративной HPLC (среда TFA) с получением **соединения 5** (200 мг, 222,79 мкмоль, выход 41,58%, 3TFA) в виде коричневого масла. **LCMS:** RT = 2,189 мин, MS расщ.:555,3, [M+H]⁺ = 556,3. **¹H ЯМР: (400 МГц, DMSO-*d*₆)** δ ppm 9,28 (br s, 1 H) 7,81 - 8,92 (m, 4 H) 7,30 - 7,46 (m, 1 H) 6,96 - 7,25 (m, 5 H) 6,69 (d, *J*=8,31 Hz, 2 H) 4,51 (br d, *J*=11,37 Hz, 2 H) 4,14 (br d, *J*=5,50 Hz, 2 H) 3,10 - 3,71 (m, 12 H) 2,35 (br d, *J*=4,28 Hz, 2 H) 1,12 - 1,58 (m, 4 H) 0,74 - 0,97 (m, 3 H).

[0708] **Общая методика получения соединения 6:**



[0709] К раствору **соединения 5** (200 мг, 222,79 мкмоль, 1 экв., 3TFA) в DCM (2 мл) добавляли TEA (135,26 мг, 1,34 ммоль, 186,06 мкл, 6 экв.) одной порцией при температуре 0 °С в атмосфере N₂. Затем к реакционной смеси медленно добавляли раствор соединения 2 (106,36 мг, 267,35 мкмоль, 1,2 экв.) в DCM (1 мл) и смесь перемешивали при 20 °С в течение 0,5 часа. LCMS продемонстрировала, что осталось ~20% соединения 5 и образовалось ~70% желаемого соединения. Растворитель удаляли с получением остатка, и остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA) с получением **соединения 6** (200 мг, 193,98 мкмоль, выход 87,07%, TFA) в виде светло-желтого масла. **LCMS:** RT = 1,445 мин, MS расщ.: 916,5, [M+H]⁺ = 917,7. **¹H ЯМР: (400 МГц, DMSO-d₆)** δ ppm 8,40 (br d, J=5,50 Hz, 1 H) 7,37 (br d, J=5,99 Hz, 1 H) 7,27 (d, J=8,31 Hz, 2 H) 6,99 - 7,20 (m, 5 H) 4,50 (br d, J=11,25 Hz, 2 H) 4,26 (br d, J=5,75 Hz, 2 H) 3,73 (t, J=6,17 Hz, 2 H) 3,57 - 3,66 (m, 5 H) 3,44 - 3,57 (m, 32 H) 3,26 (br s, 1 H) 2,80 (t, J=6,11 Hz, 2 H) 2,44 (br t, J=6,42 Hz, 1 H) 2,38 (br d, J=4,40 Hz, 2 H) 1,13 - 1,55 (m, 4 H) 0,72 - 0,94 (m, 3 H).

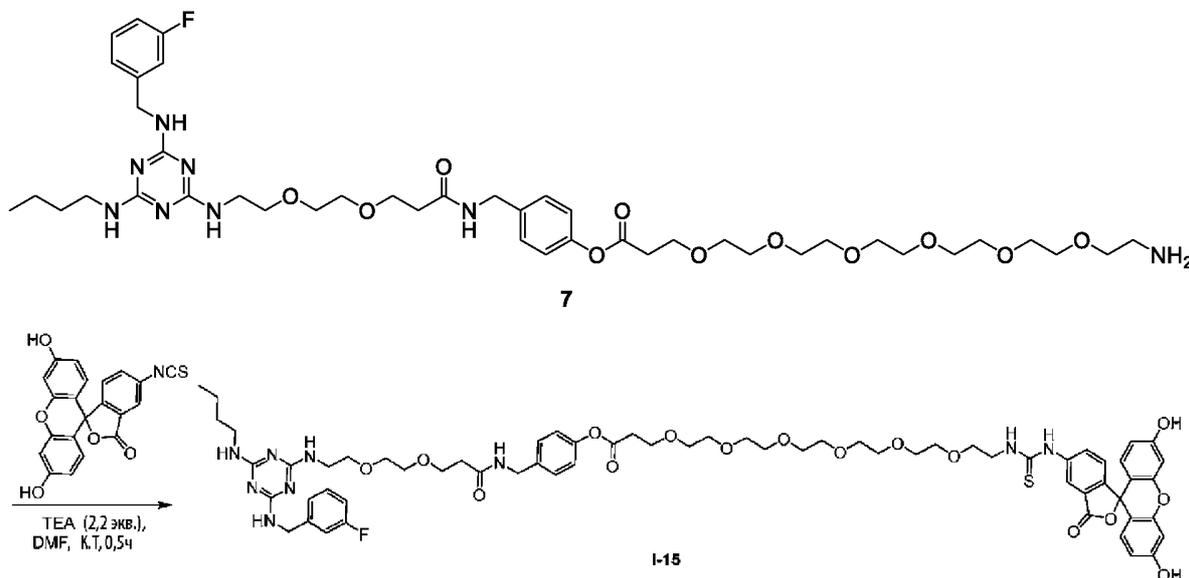
[0710] **Общая методика получения соединения 7:**



[0711] К смеси **соединения 6** (170 мг, 164,88 мкмоль, 1 экв., TFA) и HCl (1 M, 659,52 мкл, 4 экв.) в THF (5 мл) добавляли Pd/C (24 мг, чистота 10%) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 20 °С в течение 0,5 часов. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован и обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали с получением остатка, который очищали препаративной HPLC (среда TFA) с получением **соединения 7** (100 мг, 99,50 мкмоль, выход 60,35%, TFA) в виде бесцветного масла. **LCMS:** RT = 2,018 мин, MS расщ.: 980,5,

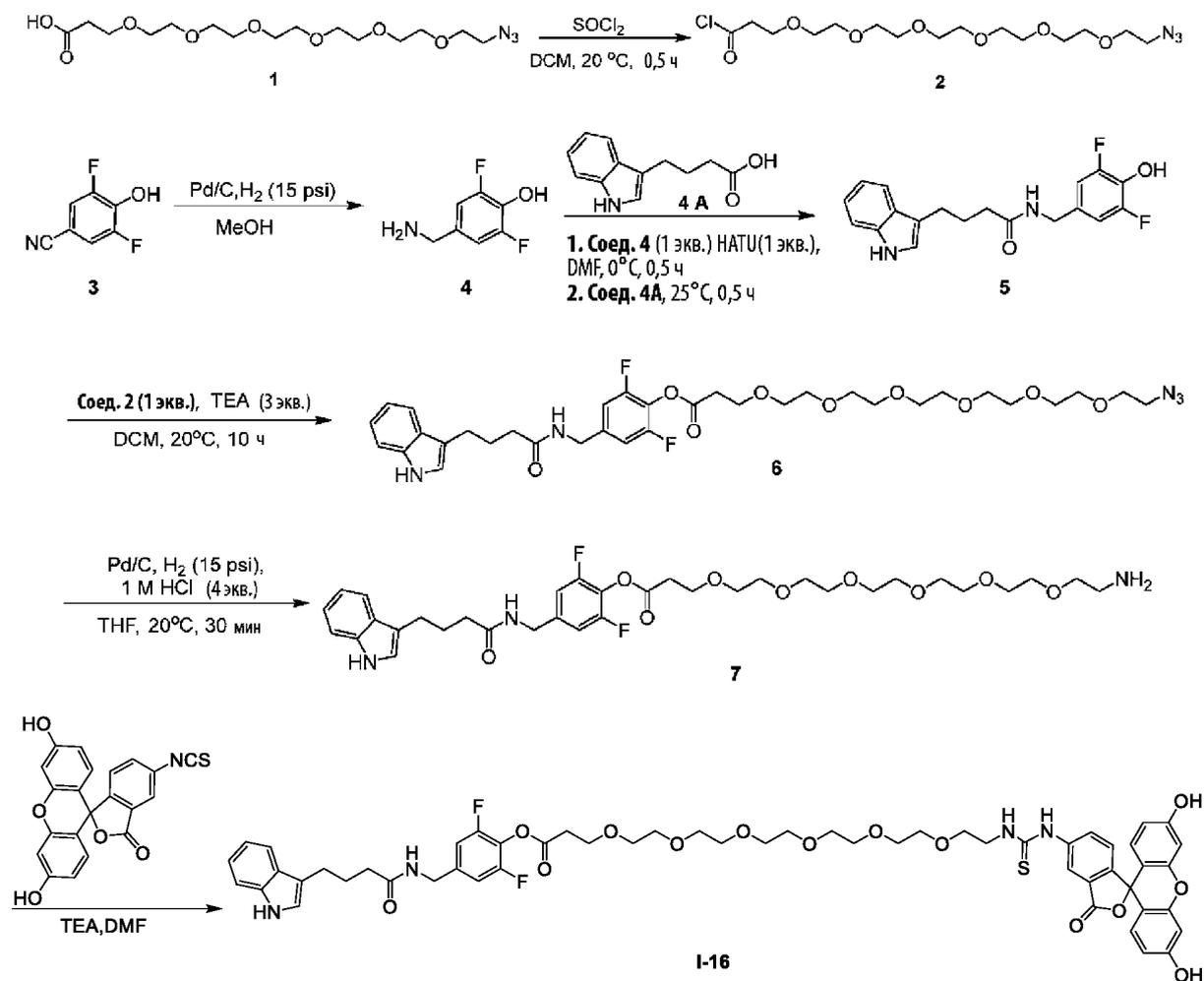
$[M+H]^+ = 891,5$. $^1\text{H ЯМР}$: (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,41 (br d, $J=6,11$ Hz, 1 H) 7,76 (br s, 3 H) 7,32 - 7,43 (m, 1 H) 7,27 (d, $J=8,44$ Hz, 2 H) 6,99 - 7,20 (m, 5 H) 4,50 (br d, $J=10,76$ Hz, 2 H) 4,26 (br d, $J=5,75$ Hz, 2 H) 3,73 (t, $J=6,17$ Hz, 3 H) 3,53 - 3,66 (m, 21 H) 3,34 - 3,51 (m, 14 H) 2,92 - 3,04 (m, 2 H) 2,80 (t, $J=6,17$ Hz, 2 H) 2,38 (br d, $J=3,42$ Hz, 2 H) 1,15 - 1,55 (m, 4 H) 0,76 - 0,95 (m, 3 H).

[0712] **Общая методика получения соединения I-15:**

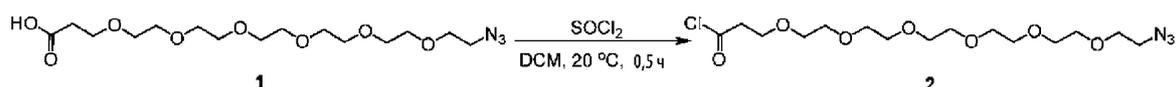


[0713] К смеси **соединения 7** (100 мг, 112,23 мкмоль, 1 экв.) и 3',6'-дигидрокси-6-изотиоцианато-спиро[изобензофуран-3,9'-ксантен]-1-она (34,96 мг, 89,78 мкмоль, 0,8 экв.) в DMF (1 мл) медленно добавляли TEA (11,36 мг, 112,23 мкмоль, 15,62 мкл, 1 экв.) при температуре 20 °C в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 5 минут к смеси медленно добавляли TEA (13,63 мг, 134,67 мкмоль, 18,75 мкл, 1,2 экв.) и смесь перемешивали при температуре 20 °C в течение 0,5 часа. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован и обнаружен один основной пик с целевой массой. Смесь подкисляли TFA до pH 5-6, затем удаляли растворитель, чтобы получить остаток и остаток очищали с помощью препаративной HPLC (среда TFA), получая **соединение I-15** (7,08 мг, 5,53 мкмоль, выход 4,93%).) в виде коричневого твердого вещества. **LCMS**: RT = 2,582 мин, MS расщ.: 1279,5, $[M/2+H]^+ = 641,0$. **MS**: MS расщ.: 1279,5, $[M/2+H]^+ = 641,3$, $[M/3+H]^+ = 427,9$. $^1\text{H ЯМР}$: (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,99 - 10,27 (m, 2 H) 8,45 - 8,97 (m, 1 H) 8,40 (br d, $J=5,62$ Hz, 1 H) 8,21 - 8,32 (m, 1 H) 8,13 (br s, 1 H) 7,95 (br s, 1 H) 7,74 (br d, $J=8,19$ Hz, 1 H) 7,32 - 7,43 (m, 1 H) 7,26 (d, $J=8,44$ Hz, 2 H) 6,98 - 7,21 (m, 6 H) 6,67 (d, $J=2,08$ Hz, 2 H) 6,52 - 6,62 (m, 4 H) 4,46 - 4,56 (m, 2 H) 4,26 (br d, $J=5,01$ Hz, 2 H) 3,35 - 3,77 (m, 33 H) 3,27 (br s, 2 H) 2,79 (t, $J=6,11$ Hz, 2 H) 2,34 - 2,41 (m, 2 H) 1,11 - 1,58 (m, 3 H) 1,11 - 1,58 (m, 1 H) 0,70 - 0,95 (m, 3 H).

[0714] Пример 16. Типовой синтез Соединения I-16.

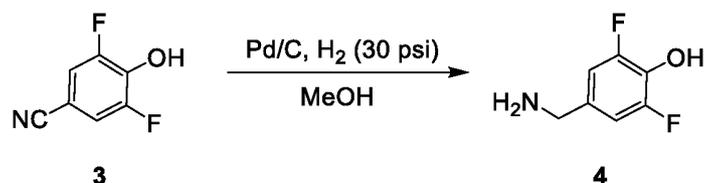


[0715] Общая методика получения соединения 2:



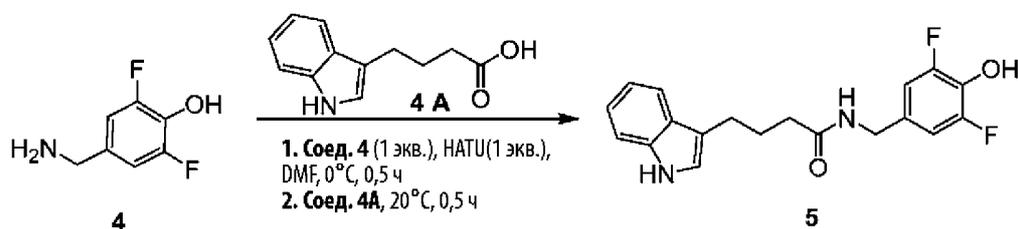
[0716] К раствору **соединения 1** (150 мг, 395,36 мкмоль, 1 экв.) в DCM (1 мл) добавляли SOCl_2 (282,22 мг, 2,37 ммоль, 172,08 мкл, 6 экв.) одной порцией при 0°C в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали при температуре 20°C в течение 30 мин. TLC (Дихлорметан: Метанол=10:1, $R_f=0,5$) продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано и образовалось одно новое большое пятно. Реакционную смесь концентрировали. Неочищенный продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. **Соединение 2** (157 мг, 394,62 мкмоль, выход 99,81%) получали в виде бесцветного масла.

[0717] Общая методика получения соединения 4:



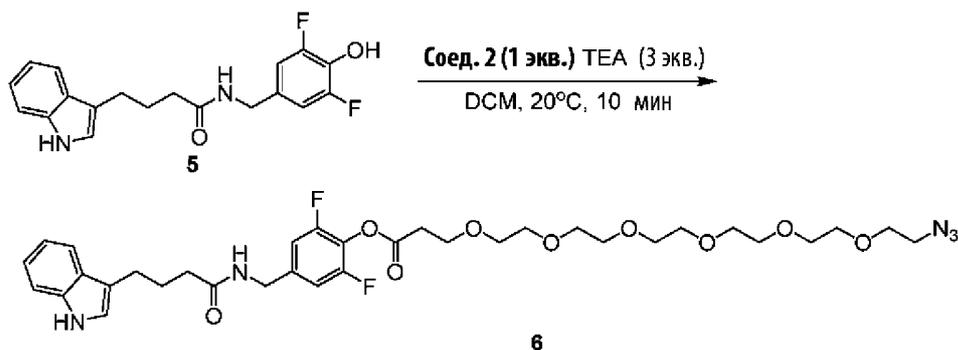
[0718] К раствору **соединения 3** (500 мг, 3,22 ммоль, 1 экв.) в MeOH (15 мл) добавляли Pd/C (50 мг, чистота 10%) и HCl (12 М, 2 мл, 7,44 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали под вакуумом и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 20 °С в течение 0,5 ч. TLC продемонстрировала, что реакция завершилась. Этилацетат = 1:1, R_f = 0,57). Реакционную смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали с получением **соединения 4** (0,35 г, 2,20 ммоль, выход 68,23%) в виде желтого твердого вещества.

[0719] **Общая методика получения соединения 5:**



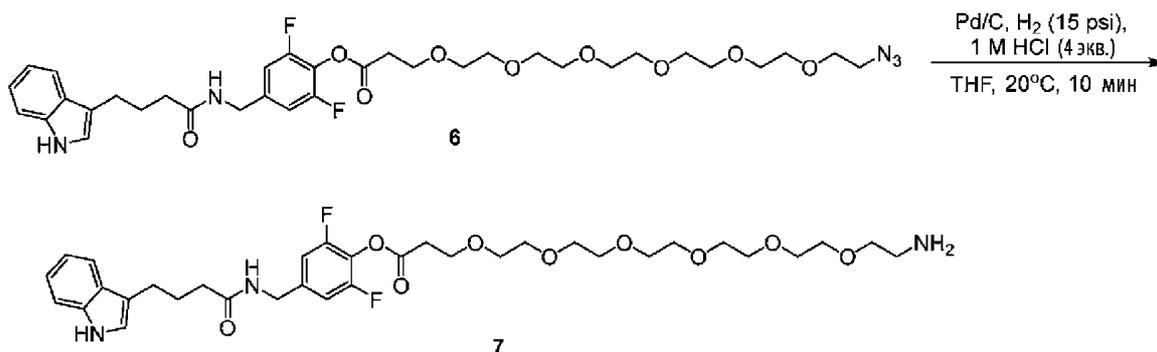
[0720] К раствору соединения 4A (300 мг, 1,48 ммоль, 1 экв.) в DMF (2 мл) добавляли HATU (561,26 мг, 1,48 ммоль, 1 экв.) и Et₃N (597,47 мг, 5,90 ммоль, 821,83 мкл, 4 экв.) одной порцией при 0 °С в атмосфере N₂. Смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 мин, затем смесь добавляли к **соединению 4** (320,80 мг, 1,48 ммоль, 1 экв., HCl) в DMF (1 мл) при 0 °С и перемешивали при 20 °С в течение 30 мин. LCMS продемонстрировала, что соединение 4 полностью израсходовано, и была обнаружена целевая масса. Реакционную смесь очищали препаративной HPLC (колонка: Phenomenex luna C18 100*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 25%-50%, 12 мин) с получением соединения 5 (250 мг, 726,00 мкмоль, выход 49,18%) в виде белого твердого вещества. LCMS: RT = 1,891 мин, MS расщ.: 344,1, [M+H]⁺ = 345,2.

[0721] **Общая методика получения соединения 6:**



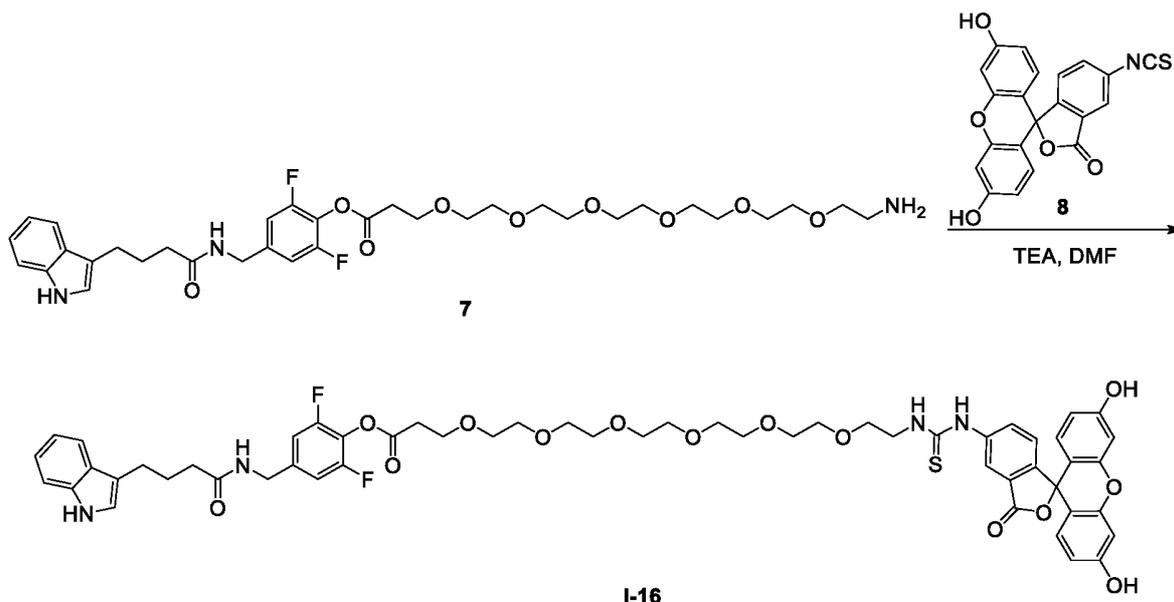
[0722] К смеси **соединения 5** (130 мг, 377,52 мкмоль, 1 экв.) и **соединения 2** (150,20 мг, 377,52 мкмоль, 1 экв.) в ДХМ (2 мл) медленно добавляли TEA (114,60 мг, 1,13 ммоль, 157,64 мкл, 3 экв.) при 0 °С в атмосфере N₂. Смесь перемешивали при 20 °С в течение 10 часов. TLC (Дихлорметан: MeOH = 0:1, R_f = 0,6) продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь концентрировали. Остаток очищали препаративной HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1% TFA)-ACN]; В%: 42-72%, 12 мин) с получением **соединения 6** (140 мг, 198,37 мкмоль, выход 52,55%) в виде белого масла.

[0723] **Общая методика получения соединения 7:**



[0724] К раствору **соединения 6** (130 мг, 184,20 мкмоль, 1 экв.) в THF (3 мл) добавляли HCl (1 М, 736,81 мкл, 4 экв.) и Pd/C (50 мг, чистота 10%). Смесь перемешивали при 20 °С в течение 10 часов в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм). LCMS продемонстрировала образование целевого продукта. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат очищали непосредственно препаративной HPLC (колонка: Nano-micro Kromasil C18 80*25 мм *3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 18-52%, 7 мин) с получением **соединения 7** (45 мг, 66,20 мкмоль, выход 35,94%) в виде бесцветного масла. LCMS: RT = 2,071 мин, MS расщ.: 679,3, [M+H]²⁺ = 680,4.

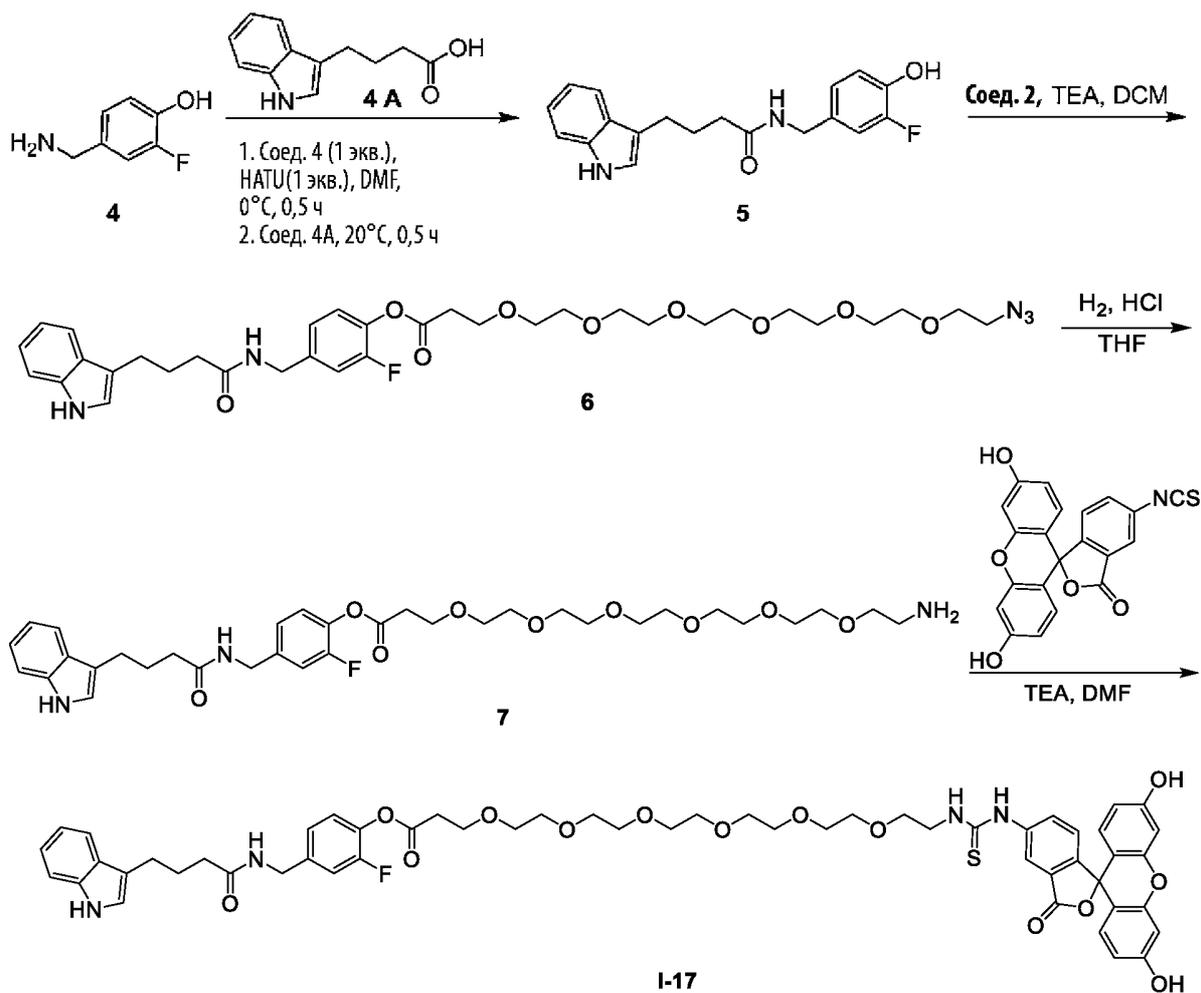
[0725] **Общая методика получения соединения I-16:**



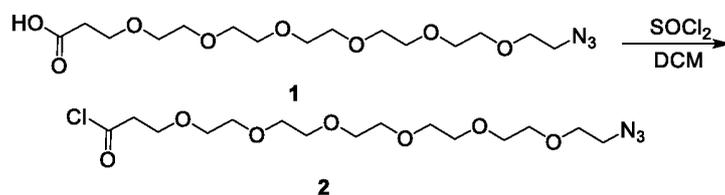
[0726] К раствору **соединения 7** (40 мг, 50,39 мкмоль, 1 экв., TFA) в DMF (0,5 мл) добавляли соединение **8** (19,62 мг, 50,39 мкмоль, 1 экв.) и TEA (5,10 мг, 50,39 мкмоль, 7,01 мкл, 1 экв.). Смесь перемешивали при температуре 20 °С в течение 0,5 часа. LCMS продемонстрировала образование целевого продукта. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат очищали непосредственно препаративной HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 45%-75%, 12 мин) с получением **Соединения I-16** (5,31 мг, 4,86 мкмоль, выход 9,65%, чистота 97,9%) в виде желтого твердого вещества. **LCMS**: RT = 2,622 мин, MS расщ.: 1068,3, [M+H]²⁺ = 535,5. **¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ ppm 10,76 (br s, 1 H) 9,95 - 10,23 (m, 2 H) 8,37 - 8,45 (m, 1 H) 8,27 (s, 1 H) 8,09 (br s, 1 H) 7,73 (br d, J=6,60 Hz, 1 H) 7,48 (br d, J=8,07 Hz, 1 H) 7,32 (d, J=8,07 Hz, 1 H) 7,08 - 7,22 (m, 3 H) 7,05 (br t, J=7,46 Hz, 1 H) 6,90 - 6,98 (m, 1 H) 6,67 (d, J=1,96 Hz, 2 H) 6,51 - 6,63 (m, 3 H) 4,27 (br d, J=5,38 Hz, 2 H) 3,40 - 3,64 (m, 27 H) 2,87 - 2,98 (m, 2 H) 2,62 - 2,72 (m, 2 H) 2,16 - 2,27 (m, 5 H) 1,83 - 1,99 (m, 2 H). HPLC: RT = 3,216 мин. MS: MS расщ.: 1068,3, [M+H]²⁺ = 535,6.

[0727] **Пример 17. Типовой синтез Соединения I-17.**



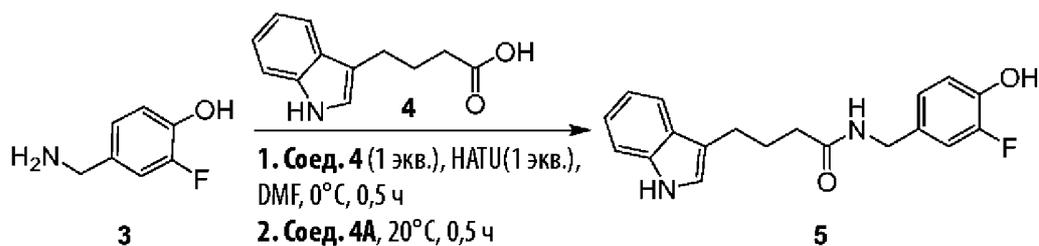


[0728] Общая методика получения соединения 2:



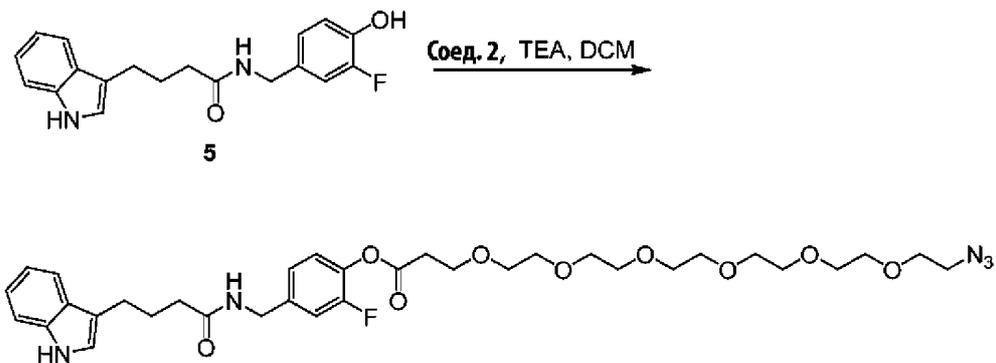
[0729] К раствору **соединения 1** (500 мг, 1,32 ммоль, 1 экв) в DCM (1 мл) добавляли SOCl_2 (470,36 мг, 3,95 ммоль, 286,80 мкл, 3 экв.) одной порцией при температуре 0 °С в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали при температуре 20 °С в течение 30 мин. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10:1, $R_f = 0,64$), продемонстрировала, что **исходный материал** полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. Растворитель удаляли, получая соединение 2 (520 мг, неочищенное) в виде бесцветного масла, которое использовали сразу на следующей стадии.

[0730] Общая методика получения соединения 5:



[0731] К раствору соединения **3** (260 мг, 1,28 ммоль, 1 экв.) в DMF (2 мл) добавляли HATU (535,07 мг, 1,41 ммоль, 1,1 экв.) и DIEA (496,02 мг, 3,84 ммоль, 668,49 мкл, 3 экв.) одной порцией при температуре 0 °C в атмосфере N₂. Смесь перемешивали при температуре 0 °C в течение 30 мин, затем смесь медленно добавляли к раствору **соединения 3** (433,35 мг, 1,54 ммоль, 1,2 экв.) в DMF (2 мл) при температуре 0 °C и указанную смесь перемешивали при температуре 20 °C в течение 1 часа. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован и обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали с получением остатка, который очищали препаративной HPLC (среда TFA) с получением **соединения 5** (330 мг, 1,01 ммоль, выход 79,04%) в виде белого твердого вещества. LCMS: RT = 1,843 мин, MS расщ.: 326,1, [M+H]⁺ = 327,2. ¹H ЯМР: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10,74 (br s, 1 H) 9,66 (br s, 1 H) 8,24 (s, 1 H) 7,47 (d, *J*=7,83 Hz, 1 H) 7,32 (d, *J*=8,19 Hz, 1 H) 6,84 - 7,10 (m, 5 H) 4,15 (d, *J*=5,75 Hz, 2 H) 2,66 (br t, *J*=7,27 Hz, 2 H) 2,18 (br t, *J*=7,58 Hz, 2 H) 1,82 - 1,94 (m, 1 H) 1,82 - 1,94 (m, 1 H).

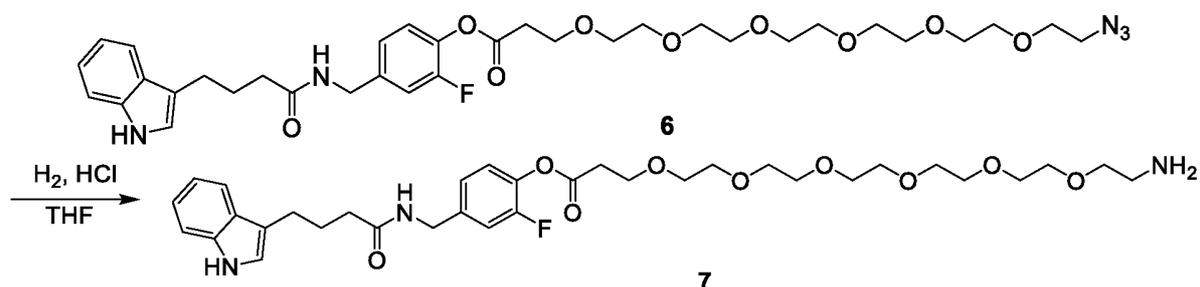
[0732] *Общая методика получения соединения 6:*



[0733] К раствору **соединения 5** (330 мг, 1,01 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) добавляли TEA (613,90 мг, 6,07 ммоль, 844,43 мкл, 6 экв.) одной порцией при температуре 0 °C в атмосфере N₂. Затем к реакционной смеси медленно добавляли раствор **соединения 2** (482,74 мг, 1,21 ммоль, 1,2 экв.) в DCM (2 мл) и смесь перемешивали при 20 °C в течение 0,5 ч. LCMS

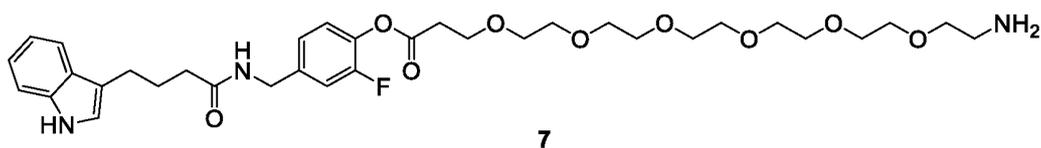
продемонстрировала, что был обнаружен основной пик с целевой массой. Растворитель удаляли с получением остатка, и остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA) с получением **соединения 6** (400 мг, 581,60 мкмоль, выход 57,52%) в виде бесцветного масла. **LCMS:** RT = 2,476 мин, MS расщ.: 687,3, [M+H]⁺ = 688,4. **¹H ЯМР: (400 МГц, DMSO-d₆)** δ ppm 10,76 (br s, 1 H) 8,39 (t, J=5,99 Hz, 1 H) 7,49 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 7,33 (d, J=8,07 Hz, 1 H) 7,17 - 7,25 (m, 2 H) 7,09 - 7,13 (m, 2 H) 7,06 (t, J=7,15 Hz, 1 H) 6,93 - 6,99 (m, 1 H) 4,28 (d, J=5,50 Hz, 2 H) 3,75 (t, J=6,11 Hz, 2 H) 3,58 - 3,61 (m, 2 H) 3,49 - 3,57 (m, 22 H) 3,35 - 3,42 (m, 2 H) 2,87 (t, J=6,11 Hz, 2 H) 2,68 (t, J=7,46 Hz, 2 H) 2,23 (t, J=7,46 Hz, 2 H) 1,91 (quin, J=7,49 Hz, 2 H).

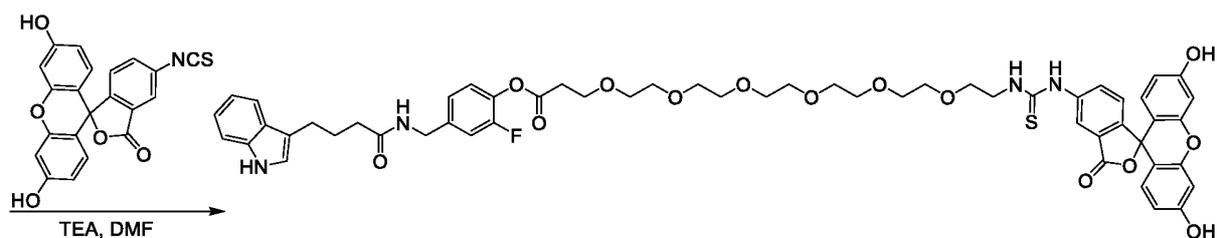
[0734] Общая методика получения соединения 7:



[0735] К раствору **соединения 6** (120 мг, 174,48 мкмоль, 1 экв.) и HCl (1 M, 523,44 мкл, 3 экв.) в THF (5 мл) добавляли Pd/C (210 мг, чистота 10%) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 20 °C в течение 0,5 часов. LCMS продемонстрировала, что был обнаружен один основной пик с целевой массой. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат подщелачивали насыщ. NaHCO₃ водн. до pH 5-6, затем смесь концентрировали с получением остатка, и остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA) с получением **соединения 7** (70 мг, 105,78 мкмоль, выход 60,63%) в виде бесцветного масла. **LCMS:** RT = 2,005 мин, MS расщ.: 661,3, [M+H]⁺ = 662,4. **¹H ЯМР: (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d)** δ ppm 8,54 (br s, 1 H) 7,90 (br s, 2 H) 7,57 (d, J=7,82 Hz, 1 H) 7,35 (d, J=8,07 Hz, 1 H) 7,13 - 7,19 (m, 1 H) 7,01 - 7,11 (m, 4 H) 6,95 (d, J=1,71 Hz, 1 H) 6,36 (br t, J=5,81 Hz, 1 H) 4,35 (d, J=5,99 Hz, 2 H) 3,85 (t, J=5,93 Hz, 2 H) 3,69 - 3,75 (m, 2 H) 3,52 - 3,68 (m, 20 H) 3,07 (br s, 2 H) 2,73 - 2,91 (m, 4 H) 2,23 - 2,31 (m, 2 H) 2,07 (quin, J=7,34 Hz, 2 H).

[0736] Общая методика получения соединения I-17:

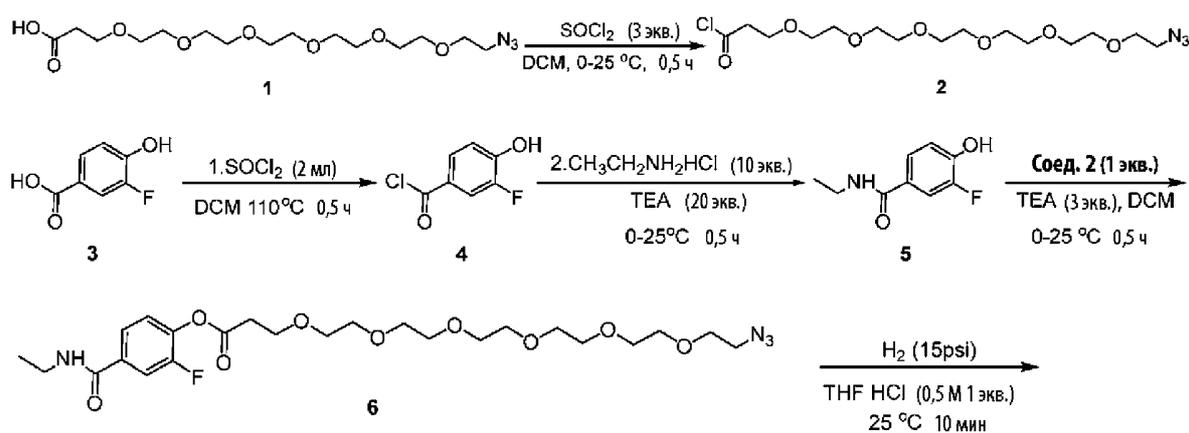


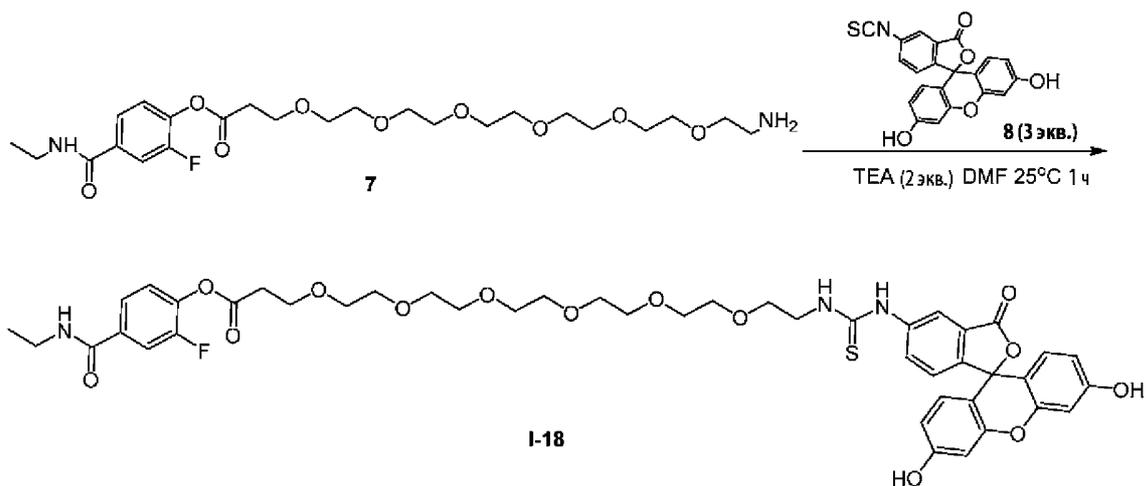


I-17

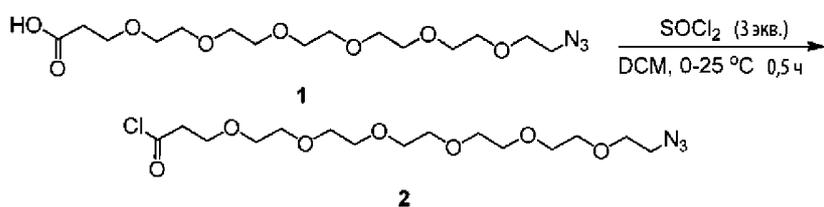
[0737] К смеси **соединения 7** (70 мг, 105,78 мкмоль, 1 экв.) и 3',6'-дигидрокси-6-изотиоцианато-спиро[изобензофуран-3,9'-ксантен]-1-она (32,95 мг, 84,62 мкмоль, 0,8 экв.) в DMF (1 мл) медленно добавляли TEA (10,70 мг, 105,78 мкмоль, 14,72 мкл, 1 экв.) при температуре 20 °С в атмосфере N₂. После перемешивания в течение 5 минут к смеси медленно добавляли TEA (12,84 мг, 126,94 мкмоль, 17,67 мкл, 1,2 экв.) и смесь перемешивали при температуре 20 °С в течение 0,5 ч. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован и обнаружен один основной пик с целевой массой. Смесь подкисляли TFA до pH 5-6, затем растворитель удаляли, получая остаток. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA) с получением **соединения I-17** (8,42 мг, 8,01 мкмоль, выход 7,57%) в виде коричневого твердого вещества. LCMS: RT = 2,781 мин, MS расщ.: 1050,4, [M/2+H]⁺ = 526,4. MC: MS расщ.: 1050,4, [M/2+H]⁺ = 526,6. ¹H ЯМР: (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 10,74 (br s, 1 H) 9,94 - 10,25 (m, 2 H) 8,37 (t, J=6,24 Hz, 1 H) 8,27 (s, 1 H) 8,08 (br s, 1 H) 7,73 (br d, J=7,70 Hz, 1 H) 7,48 (d, J=7,95 Hz, 1 H) 7,32 (d, J=8,07 Hz, 1 H) 7,15 - 7,23 (m, 3 H) 7,07 - 7,12 (m, 2 H) 7,04 (t, J=7,15 Hz, 1 H) 6,92 - 6,98 (m, 1 H) 6,67 (d, J=2,20 Hz, 2 H) 6,52 - 6,63 (m, 4 H) 4,27 (d, J=5,87 Hz, 2 H) 3,73 (t, J=6,11 Hz, 2 H) 3,68 (br s, 2 H) 3,58 - 3,63 (m, 2 H) 3,47 - 3,57 (m, 22 H) 2,81 - 2,89 (m, 2 H) 2,66 - 2,71 (m, 2 H) 2,22 (t, J=7,46 Hz, 2 H) 1,90 (quin, J=7,49 Hz, 2 H).

[0738] **Пример 18. Типовой синтез Соединения I-18.**



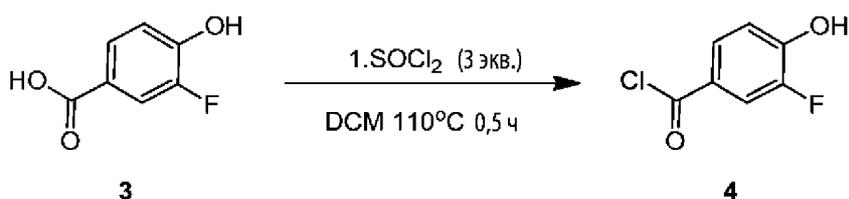


[0739] *Общая методика получения соединения 2:*



[0740] Смесь **соединения 1** (130 мг, 342,64 мкмоль, 1 экв.) и SOCl₂ (122,29 мг, 1,03 ммоль, 74,57 мкл, 3 экв.) в DCM (2 мл) при 0 °C дегазировали и продували N₂ 3 раза, и затем смесь перемешивали при 20 °C в течение 0,5 ч в атмосфере N₂. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10:1, R_f = 0,46) продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано. Реакционную смесь трижды упаривали совместно с DCM для удаления избытка SOCl₂. **Соединение 2** (136 мг, неочищенное) получали в виде желтого масла.

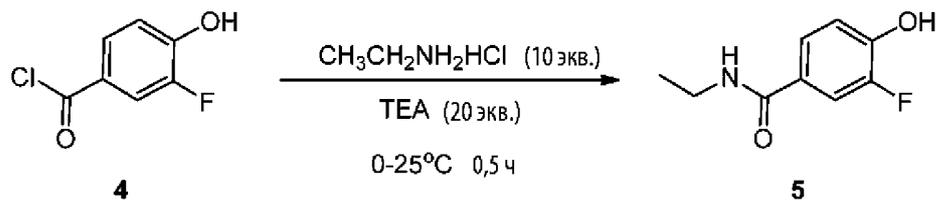
[0741] *Общая методика получения соединения 4:*



[0742] Смесь **соединения 3** (100 мг, 640,57 мкмоль, 1 экв.) и SOCl₂ (3,28 г, 27,57 ммоль, 2 мл, 43,04 экв.) дегазировали и продували N₂ 3 раза, и затем смесь перемешивали при 110 °C в течение 0,5 ч в атмосфере N₂. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10:1, R_f = 0,38) продемонстрировала, что **соединение 3** полностью израсходовано. Реакционную смесь трижды упаривали совместно с DCM для удаления избытка SOCl₂. **Соединение 4** (112 мг, неочищенное) получали в виде желтого

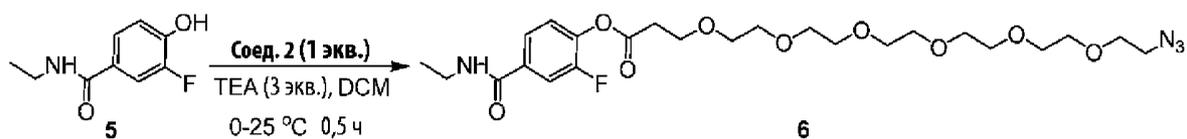
масла.

[0743] Общая методика получения соединения 5:



[0744] К раствору $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NH}_2\text{HCl}$ (518,54 мг, 6,36 ммоль, 10 экв.) в DCM (2 мл) добавляли TEA (1,29 г, 12,72 ммоль, 1,77 мл, 20 экв.) при 0 °C. После добавления смесь перемешивали при этой температуре в течение 10 мин, а затем раствор **соединения 4** (111 мг, 635,90 мкмоль, 1 экв.) в DCM (1 мл) добавляли по каплям при 0 °C. Полученную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1 ч. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. К реакционной смеси добавляли DCM (10 мл) и H_2O (5 мл). Органическую фазу отделяли, водную фазу подкисляли 1 М HCl до pH 3-4, водную фазу дважды экстрагировали DCM, каждый раз по 10 мл. Все органические фазы объединяли, один раз промывали насыщенным раствором соленой воды (10 мл), сушили безводным сульфатом натрия, фильтровали и сушили центрифугированием. **Соединение 5** (60 мг, 327,55 мкмоль, выход 51,51%) получали в виде желтого масла. LCMS: RT = 0,799 мин, MS расщ.: 183,0, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 184,2$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 10,47 (br s, 1 H) 8,35 (br s, 1 H) 7,69 (dd, $J = 12,41, 1,90$ Hz, 1 H) 7,60 (br d, $J = 8,44$ Hz, 1 H) 7,00 - 7,09 (m, 1 H) 3,27 - 3,34 (m, 2 H) 1,16 (t, $J = 7,15$ Hz, 3 H).

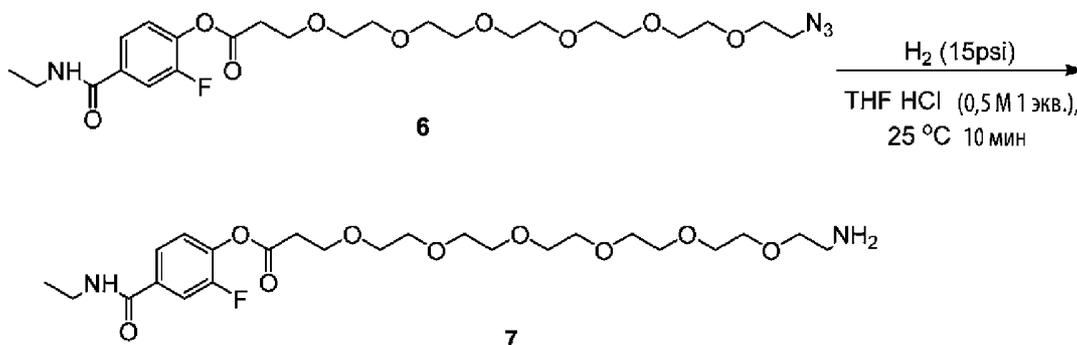
[0745] Общая методика получения соединения 6:



[0746] К раствору **соединения 5** (60 мг, 327,55 мкмоль, 1 экв.) в DCM (1 мл) добавляли TEA (99,43 мг, 982,64 мкмоль, 136,77 мкл, 33 экв.) при 0 °C. После добавления смесь перемешивали при этой температуре в течение 0,5 ч, а затем добавляли раствор соединения 2 (130,32 мг, 327,55 мкмоль, 1 экв.) в DCM (1 мл) при 0 °C. Полученную смесь перемешивали при 20 °C в течение 1 часа. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь сушили в атмосфере азота. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно-фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1% TFA)-ACN]; V%: 27%-57%, 12 мин). **Соединение 6** (90 мг, 165,27 мкмоль, выход 50,46%) получали в

виде белого масла. **LCMS:** RT = 2,130 мин, MS расщ.: 544,2, [M+H]⁺ = 545.3. **¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d)** δ ppm 7,64 (br d, J = 10,39 Hz, 1 H) 7,56 (br d, J = 9,54 Hz, 1 H) 6,12 (br s, 1 H) 3,90 (t, J = 6,36 Hz, 2 H) 3,63 - 3,75 (m, 24 H) 3,48 - 3,56 (m, 2 H) 3,40 (br t, J = 5,01 Hz, 2 H) 2,92 (t, J = 6,30 Hz, 2 H) 1,28 (t, J = 7,21 Hz, 3 H).

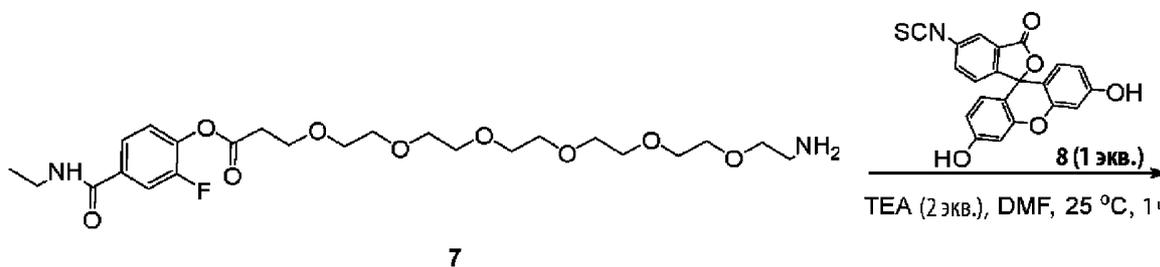
[0747] Общая методика получения соединения 7:

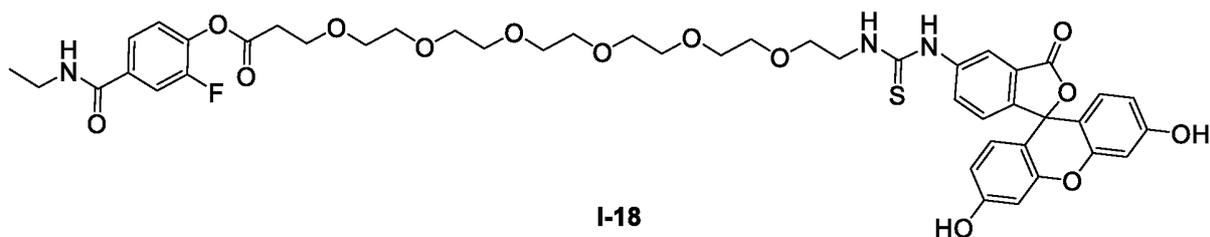


[0748] К раствору **соединения 6** (60 мг, 110,18 мкмоль, 1 экв.) в THF (3 мл) добавляли Pd/C (60 мг, чистота 10%) и HCl (0,5 М, 220,36 мкл, 1 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв.дюйм) при 25 °C в течение 10 мин. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 15%-40%, 12 мин).

Соединение 7 (50 мг, 96,42 мкмоль, выход 87,51%) получали в виде белого масла. **LCMS:** RT = 1,426 мин, MS расщ.: 518,2, [M+H]⁺ = 519,3. **¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d)** δ ppm 7,86 - 8,08 (m, 2 H) 7,73 (d, J = 10,64 Hz, 1 H) 7,65 (d, J = 7,82 Hz, 1 H) 3,90 (t, J = 5,93 Hz, 2 H) 3,78 - 3,86 (m, 2 H) 3,58 - 3,78 (m, 20 H) 3,47 - 3,57 (m, 2 H) 3,13 (br s, 1 H) 3,09 - 3,17 (m, 1 H) 2,91 (t, J = 5,93 Hz, 2 H) 1,29 (t, J = 7,27 Hz, 4 H).

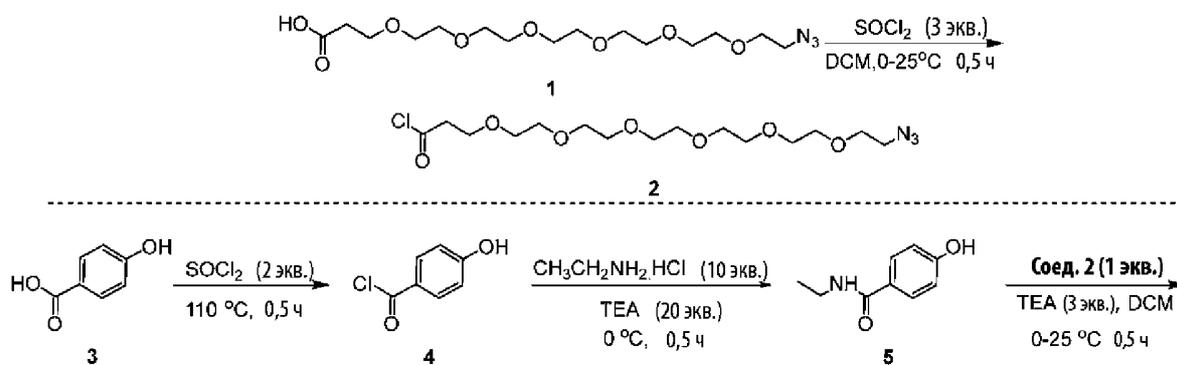
[0749] Общая методика получения соединения I-18:

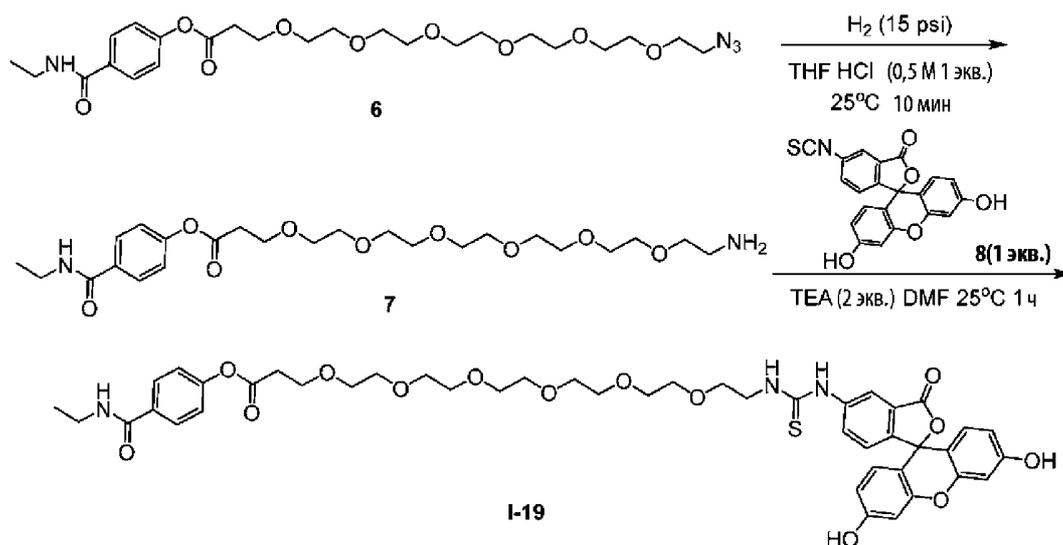




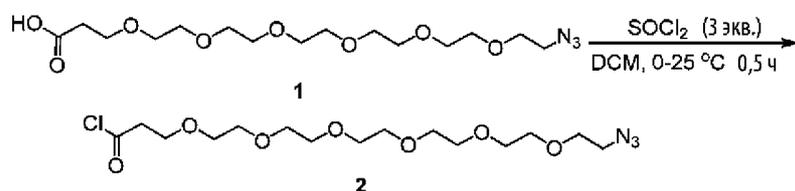
[0750] Смесь **соединения 7** (40 мг, 77,14 мкмоль, 1 экв.), **соединения 8** (30,03 мг, 77,14 мкмоль, 1 экв.) и TEA (15,61 мг, 154,27 мкмоль, 2 экв.) в DMF (0,8 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 1 часа в атмосфере N₂. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. HPLC продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 35%-65%, 12 мин). **Соединение I-18** (5 мг, 4,89 мкмоль, выход 6,34%, TFA) получали в виде твердого вещества желтого цвета. **LCMS**: RT = 2,427 мин, MS расщ.: 907,3, [M/2+H]⁺ = 454,9. **HPLC**: RT = 3,566 мин. **¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ ppm 10,00 - 10,22 (m, 2 H) 8,58 (br s, 1 H) 8,27 (s, 1 H) 8,10 (br s, 1 H) 7,80 (br d, J = 11,25 Hz, 1 H) 7,73 (br d, J = 7,70 Hz, 2 H) 7,38 (t, J = 8,01 Hz, 1 H) 7,19 (d, J = 8,31 Hz, 1 H) 6,68 (d, J = 1,96 Hz, 2 H) 6,53 - 6,65 (m, 4 H) 3,47 - 3,62 (m, 27 H) 3,23 - 3,36 (m, 2 H) 2,90 (t, J = 6,05 Hz, 2 H) 1,12 (t, J = 7,21 Hz, 3 H). MS: [M/2+H]⁺ = 455,1.

[0751] **Пример 19. Типовой синтез Соединения I-19.**



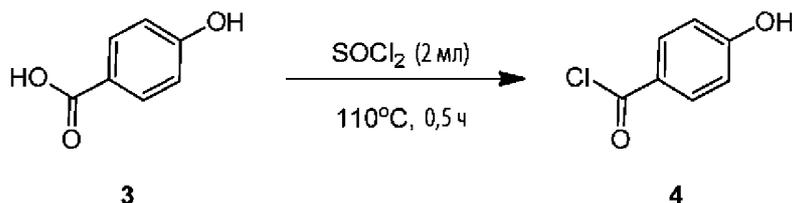


[0752] Общая методика получения соединения 2:



[0753] Смесь **соединения 1** (160 мг, 421,71 мкмоль, 1 экв.) и SOCl_2 (150,51 мг, 1,27 ммоль, 91,78 мкл, 3 экв.) в DCM (2 мл) при 0 °С дегазировали и продували N_2 3 раза, и затем смесь перемешивали при 20 °С в течение 0,5 ч в атмосфере N_2 . TLC (Дихлорметан: Метанол = 10:1, $R_f = 0,46$) продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано. Реакционную смесь концентрировали с получением неочищенного продукта. **Соединение 2** (167 мг, неочищенное) получали в виде желтого масла.

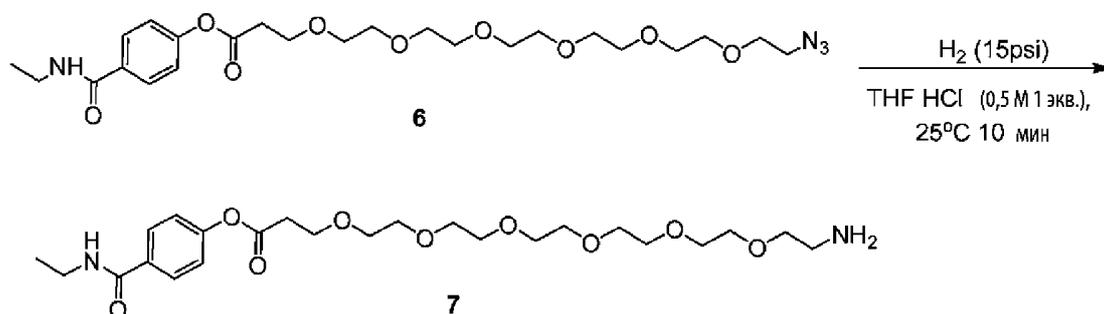
[0754] Общая методика получения соединения 4:



[0755] Смесь **соединения 3** (300 мг, 2,17 ммоль, 1 экв.) и SOCl_2 (3,28 г, 27,57 ммоль, 2 мл, 12,69 экв.) дегазировали и продували N_2 3 раза, и затем смесь перемешивали при 110 °С в течение 0,5 ч в атмосфере N_2 . TLC (Петролейный эфир: Этилацетат = 10:1 $R_f = 0,36$) продемонстрировала, что **соединение 3** полностью израсходовано. Реакционную смесь трижды упаривали совместно с

7,21 Hz, 3 H).

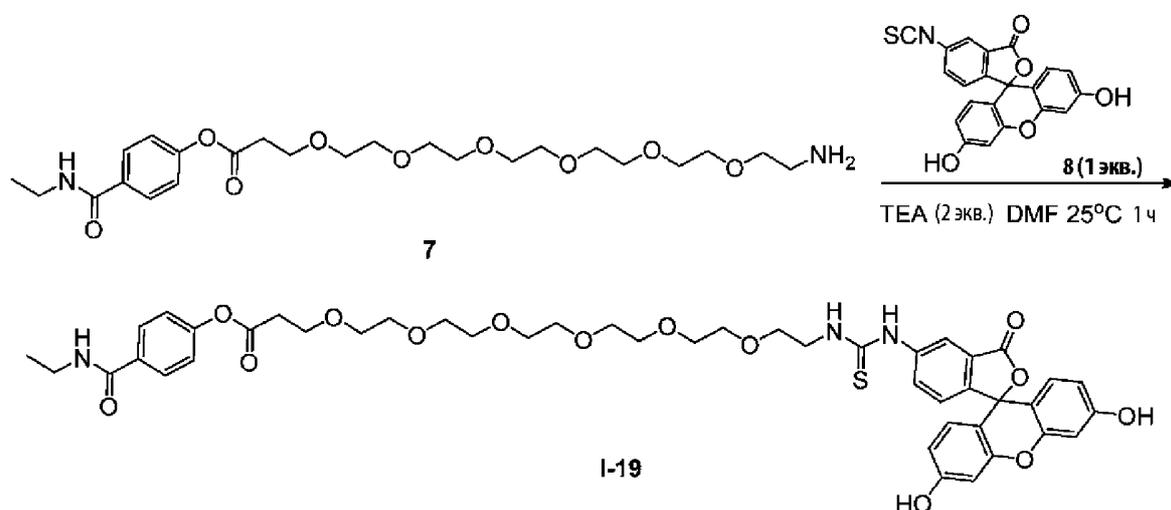
[0760] *Общая методика получения соединения 7:*



[0761] К смеси **соединения 6** (75 мг, 142,43 мкмоль, 1 экв.) и HCl (0,5 М, 284,86 мкл, 1 экв.) в THF (1 мл) добавляли Pd/C (чистота 10%, 1 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв.дюйм) при 25 °С в течение 20 мин. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 13%-43%, 12 мин).

Соединение 7 (60 мг, 119,86 мкмоль, выход 84,15%) получали в виде белого масла. LCMS: RT = 1,400 мин, MS расщ.: 500,2, [M+H]⁺ = 501,3.

[0762] *Общая методика получения соединения I-19:*



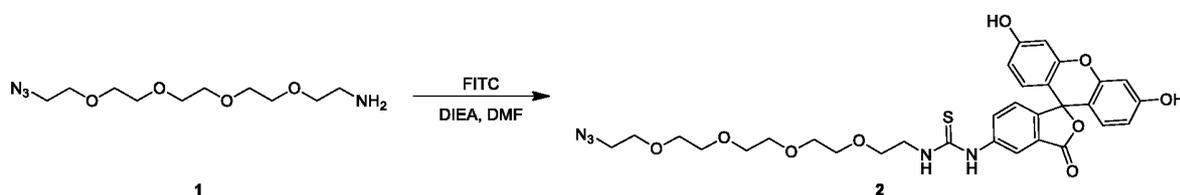
[0763] Смесь **соединения 7** (30 мг, 59,93 мкмоль, 1 экв.), **соединения 8** (23,34 мг, 59,93 мкмоль, 1 экв.), TEA (12,13 мг, 119,86 мкмоль, 16,68 мкл, 2 экв.) в DMF (1 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при температуре 25 °С в течение 1 часа в

атмосфере N₂. LCMS (продукт: RT = 2,337 мин; M/2+1 = 445,9) продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. HPLC продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали.

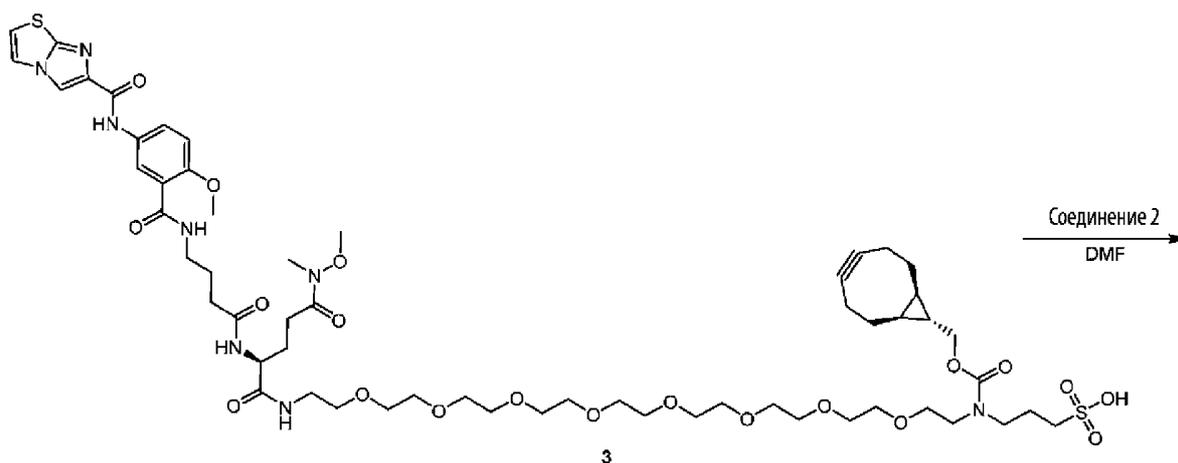
Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Welch Ultimate AQ-C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 30%-60%, 12 мин).

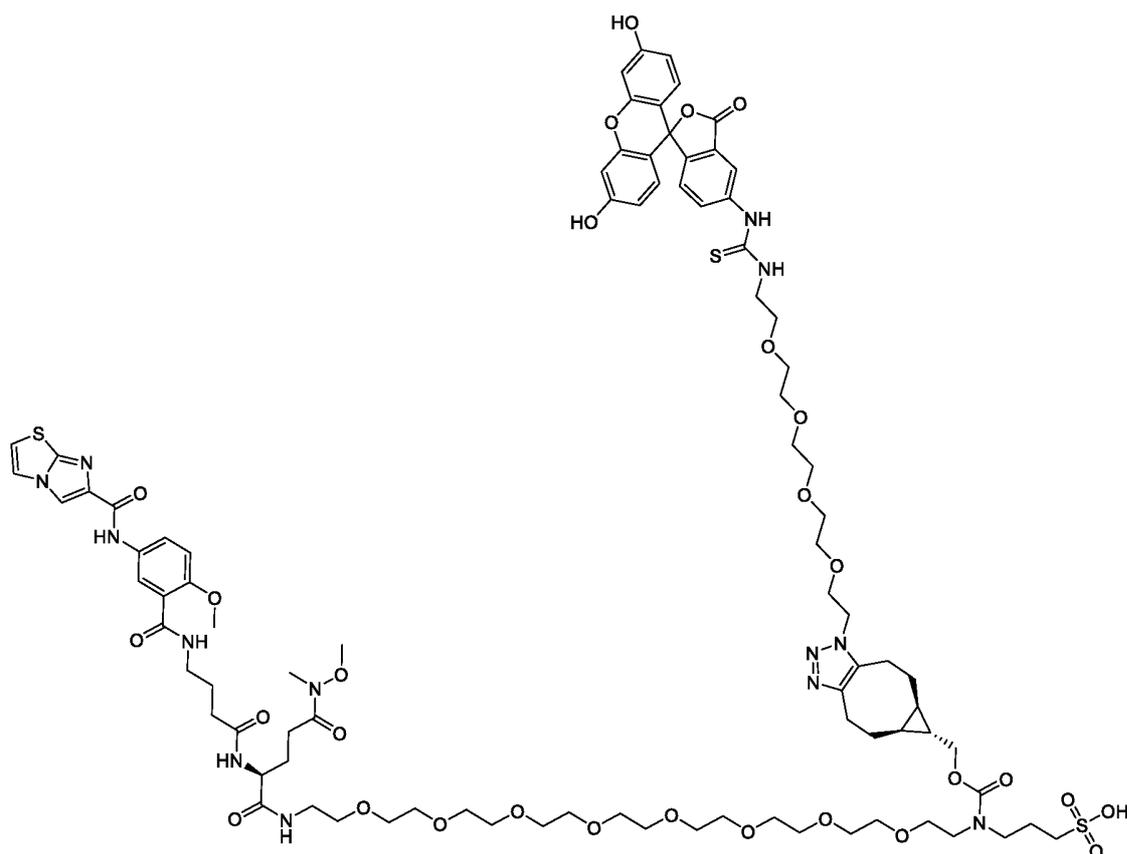
Соединение I-19 (5 мг, 4,98 мкмоль, выход 8,31%, TFA) получали в виде твердого вещества желтого цвета. **LCMS**: RT = 2,337 мин, MS расщ.: 889,3, [M/2+H]⁺ = 445,9. **HPLC**: RT = 3,469 мин. **¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆)** δ ppm 10,03 (br s, 1 H) 8,47 (t, J = 5,44 Hz, 1 H) 8,28 (s, 1 H) 8,09 (br s, 1 H) 7,88 (d, J = 8,68 Hz, 2 H) 7,75 (br d, J = 8,93 Hz, 1 H) 7,16 - 7,22 (m, 3 H) 6,68 (d, J = 2,08 Hz, 2 H) 6,53 - 6,63 (m, 4 H) 3,75 (t, J = 6,11 Hz, 3 H) 3,69 (br s, 2 H) 3,60 - 3,65 (m, 2 H) 3,53 - 3,60 (m, 8 H) 3,46 - 3,53 (m, 13 H) 3,24 - 3,32 (m, 2 H) 2,84 (t, J = 6,11 Hz, 2 H) 1,12 (t, J = 7,15 Hz, 3 H). **MS**: [M/2+H]⁺ = 446,0.

[0764] Пример 20. Типовой синтез Соединения I-20.



[0765] Смесь **соединения 1** (163,2 мг, 419,3 мкмоль), FITC (0,10 г, 381,2 мкмоль), DIEA (98,5 мг, 762,4 мкмоль, 132,8 мкл) в DMF (0,5 мл) перемешивали при 15 °C в течение 2 часов. Смесь очищали с помощью флэш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) с получением **соединения 2** (300 мг, 1,43 ммоль, чистота 90,0%, выход 52,2%) в виде твердого вещества желтого цвета.





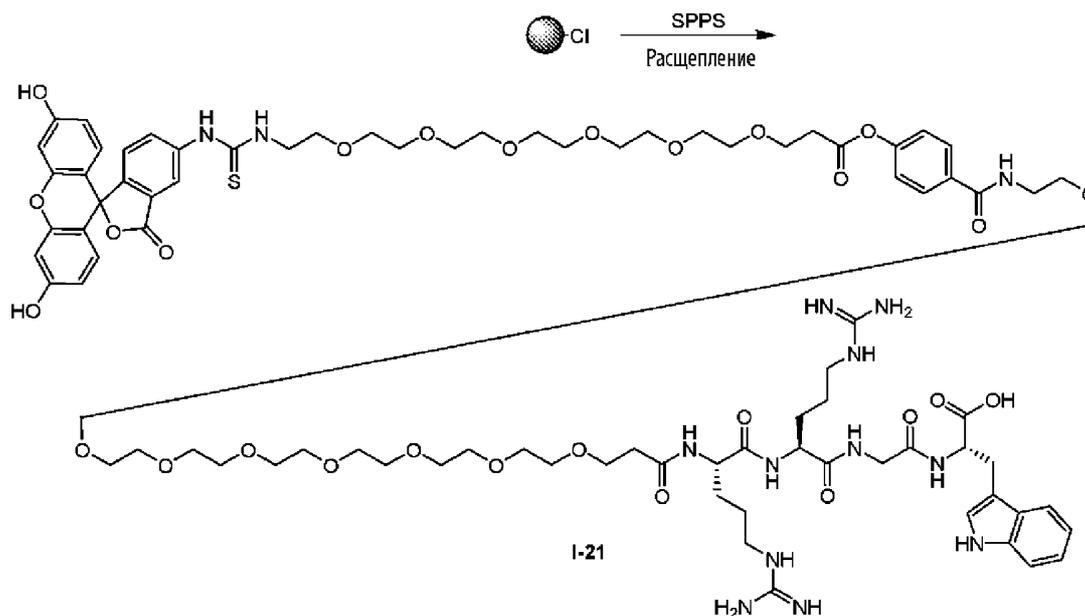
I-20

[0766] Раствор **соединения 3** (7,3 мг, 5,78 мкмоль), **соединения 2** (3,7 мг, 5,78 мкмоль) в DMF (0,1 мл) перемешивали при 15 °С в течение 16 часов. Смесь очищали препаративной HPLC (нейтральные условия, NH₄OAc) непосредственно с получением **соединения I-20** (1,8 мг, 8,44e-1 мкмоль, чистота 90,1%, выход 14,6%, NH₄OAc) в виде твердого вещества желтого цвета. MS: m/z 959,6 [M+2H]²⁺. Типовая процедура очистки:

| Условия очистки | |
|---------------------|---|
| Подготовка образцов | Растворить в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |
| Градиент: | 20-50%-60 мин. Время удерживания: 40 мин. |

| | |
|-----------------|--|
| Колонка | Luna25*200 мм, C18 10 мкм, 110A+Gemin150*30мм, C18 5 мкм, 110A |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

[0767] **Пример 21. Типовой синтез Соединений I-21, I-22 и I-23.**



[0768] Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии. Ниже в качестве примера описана одна процедура:

- 1) Добавляли DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (0,20 ммоль, 0,20 г, 1,0 ммоль/г) и Fmoc-Trp(Ooc)-OH (0,085 г, 0,16 ммоль, 0,8 экв) с барботированием N₂.
- 2) Добавляли по каплям DIEA (6,0 экв) и перемешивали в течение 2 часов.
- 3) Добавляли MeOH (0,50 мл) и перемешивали в течение 30 мин.
- 4) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 5) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 6) Сливали воду, а затем промывали DMF в течение 30 секунд 5 раз.
- 7) Добавляли раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивали в течение 30 секунд, затем добавляли буфер для активации, барботируя N₂ в течение примерно 1 часа.
- 8) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.

9) Повторяли стадии с 4 по 8 для соединения следующей аминокислоты.

Одна синтезированная шкала составляла 0,2 ммоль.

| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|---|---|---|
| 1 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,0 экв.) | DIEA(6,0 экв.) |
| 2 | Fmoc-Gly-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 3 | Fmoc-Arg(Pbf)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 4 | Fmoc-Arg(Pbf)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 5 | Fmoc-PEG8-CH ₂ CH ₂ COOH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 6 | 4-гидроксibenзойная кислота (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 7 | Fmoc-PEG6-CH ₂ CH ₂ COOH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT(3,0 экв.), DMAP (3,0 экв.) |
| 8 | FITC (2,0 экв.) | DIEA (4,0 экв.) |

[0769] Для снятия защиты с Fmoc применяли 20% пиперидин в DMF в течение 30 минут.

Для 7-ой Fmoc снятие защиты составило 2 мин. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали с применением DMF 5 раз. После последнего связывания смолу промывали с применением MeOH 3 раза, а затем сушили в вакууме. Пептид обрабатывали в темноте после связывания с FITC.

[0770] Расщепление и очистка пептидов. Ниже в качестве примера описана одна процедура:

- 1) Добавляли коктейль для отщепления (97,5% TFA/2,5% H₂O) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре и перемешивали в течение 2 часов.
- 2) Смесь фильтровали и раствор концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя.
- 3) Очищали неочищенный пептид препаративной HPLC (условие ТФУ) с получением I-21 (6,4 мг, чистота 96,8%, выход 3,47%). MS: m/z 921,8 [M+2H]²⁺.

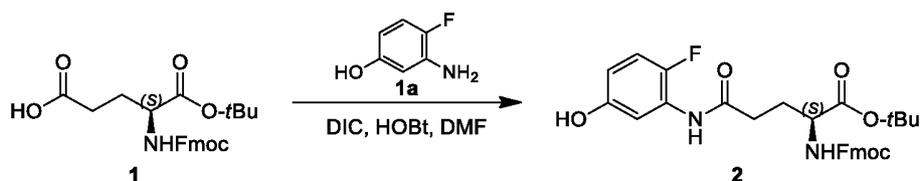
[0771] В некоторых вариантах осуществления пептиды очищали с применением приведенных ниже условий в качестве примера».

| Условия очистки | |
|---------------------|------------------------------------|
| Подготовка образцов | Растворить в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |

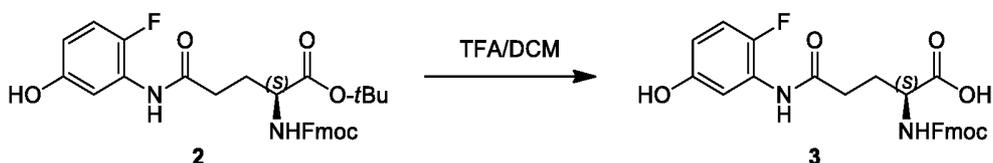
| | |
|-----------------|--|
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |
| Градиент: | 20-50%-60 мин. Время удерживания: 45 мин |
| Колонка | Luna25*200 мм, C18 10 мкм, 110A+Gemin150*30мм, C18 5 мкм, 110A |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

[0772] I-22 и I-23 были получены с помощью аналогичного процесса, и материалы, использованные в цикле 5, представляли собой Fmoc-PEG4-CH₂CH₂COOH и Fmoc-PEG2-CH₂CH₂COOH соответственно. В одном препарате чистота I-22 составляла около 96%, MS: m/z 555,9 [M+3H]³⁺. В одном препарате чистота I-23 составляла около 93%, MS: m/z 526,6 [M+3H]³⁺.

[0773] **Пример 22. Типовой синтез Соединений I-24 и I-25.**

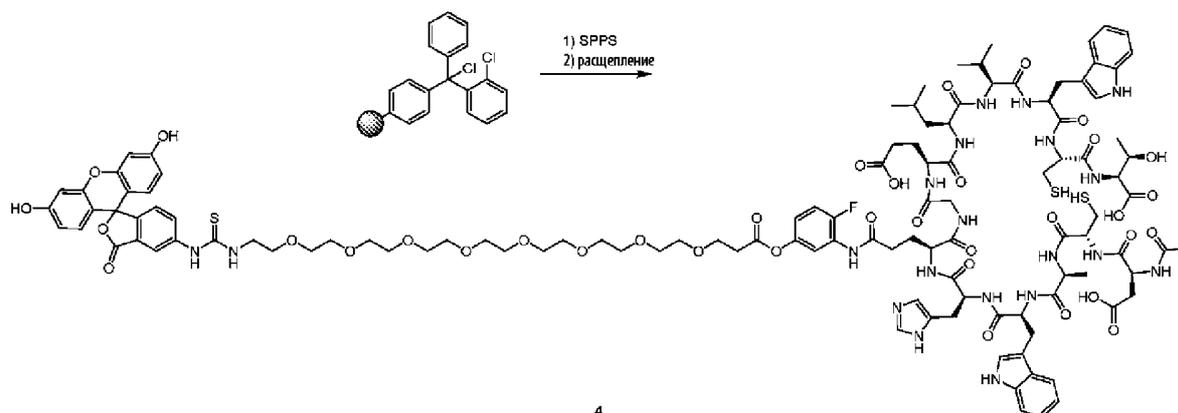


[0774] Смесь соединения 1 (2,00 г, 4,70 ммоль), **соединения 1a** (597,5 мг, 4,70 ммоль), EDCI (1,80 г, 9,40 ммоль), HOBT (1,27 г, 9,40 ммоль) в DCM (20 мл) перемешивали при 15 °C в течение 16 часов. Затем растворитель разбавляли DCM (100 мл), промывали 1M HCl (50 мл), H₂O (50 мл), соевым раствором (50 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, DCM: MeOH = от 50/1 до 10/1) с получением **соединения 2** (2,00 г, 3,74 ммоль, выход 79,59%) в виде белого твердого вещества.



[0775] Смесь соединения 2 (2,00 г, 3,74 ммоль) в DCM (20 мл) и TFA (20 мл) перемешивали при 15 °C в течение 0,5 часа. Растворитель удалили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90%

MeCN/H₂O эфир градиент при 75 мл/мин) с получением **соединения 3** (1,00 г, 2,09 ммоль, выход 55,8%) в виде белого твердого вещества.



[0776] В некоторых вариантах осуществления пептид получали с помощью описанной ниже процедуры:

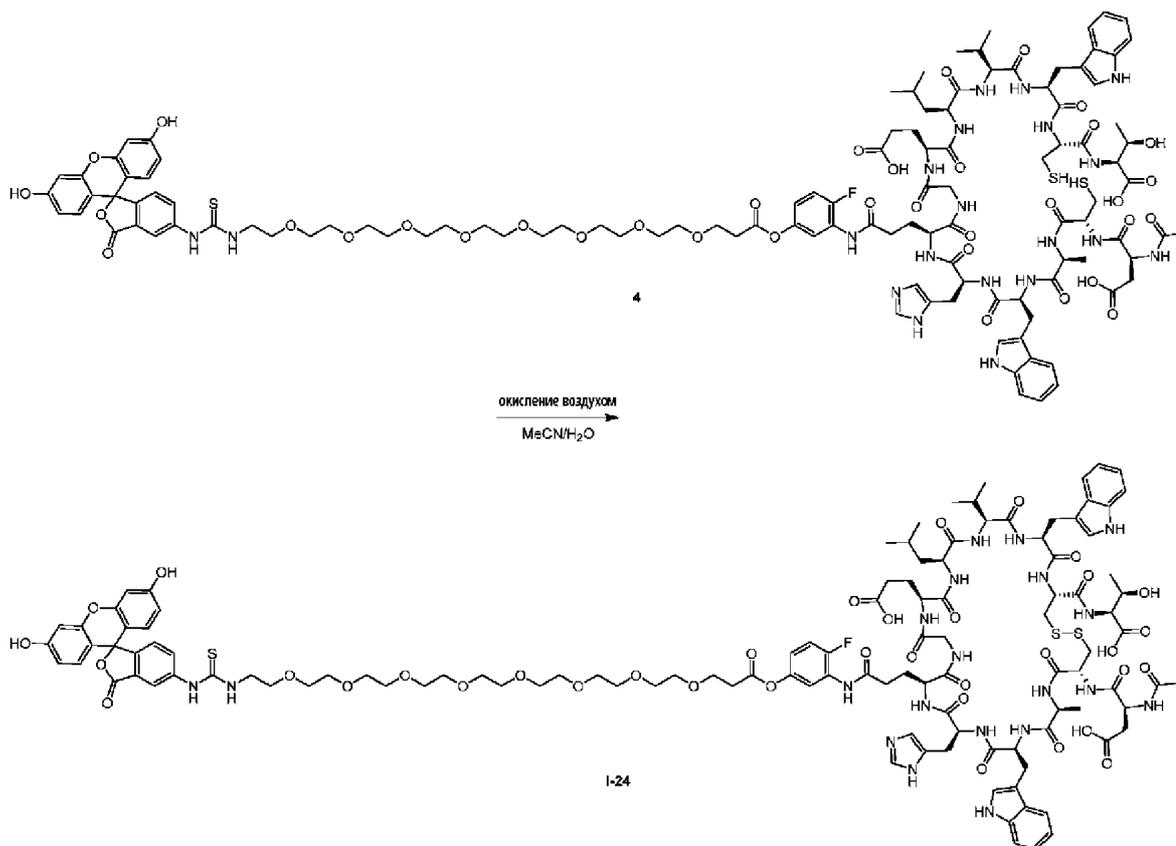
- 1) Добавляли DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (0,10 ммоль, 0,10 г, 1,0 ммоль/г) и Fmoc-Thr(*t*Bu)-OH (39,7 мг, 0,10 ммоль, 1,0 экв.) с барботированием N₂.
- 2) Добавляли по каплям DIEA (6,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов.
- 3) Добавляли MeOH (0,10 мл) и перемешивали в течение 30 мин.
- 4) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 5) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 6) Сливали воду, а затем промывали DMF в течение 30 секунд 5 раз.
- 7) Добавляли раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивали в течение 30 секунд, затем добавляли буфер для активации, барботируя N₂ в течение примерно 1 часа.
- 8) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 9) Повторяли стадии с 4 по 8 для соединения следующей аминокислоты.

Синтезированная шкала: 0,10 ммоль.

| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|---|---|-----------------------------------|
| 1 | Fmoc-Thr(<i>t</i> Bu)-OH (0,8 экв.) | DIEA(6,0 экв.) |
| 2 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв) и DIEA(6,0 экв.) |
| 3 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв) и DIEA(6,0 экв.) |
| 4 | Fmoc-Val-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв) и DIEA(6,0 экв.) |
| 5 | Fmoc-Leu-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 6 | Fmoc-Glu(<i>O</i> <i>t</i> Bu)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |

| | | |
|----|---|---|
| 7 | Fmoc-Gly-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 8 | Соединение 3 (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 9 | Fmoc-His(Trt)-OH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 10 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 11 | Fmoc-Ala-OH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 12 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 13 | Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 14 | 10%AC ₂ O/5%NMM/85%DMF (10 мл) | Н/Д |
| 15 | Fmoc-NH-PEG ₆ -CH ₂ CH ₂ COOH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.), DMAP (3,0 экв.) |
| 16 | FITC (2,0 экв.) | DIEA (4,0 экв.) |

- [0777]** Для снятия защиты с Fmoc применяли 20% пиперидин в DMF в течение 30 минут. Реакции связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали DMF 5 раз. После соединения последней аминокислоты смолу промывали MeOH 3 раза, а затем сушили в вакууме. После образования пары с FITC пептид обрабатывали в темноте. В некоторых вариантах осуществления пептид расщепляли и очищали с помощью следующей процедуры:
- 1) Добавляли коктейль для отщепления (92,5% TFA/2,5% 3-меркаптопропановой кислоты/2,5% H₂O/2,5% TIS) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре, и перемешивали смесь в течение 1 часа.
 - 2) Пептид осаждали холодным изопропиловым эфиром и собирали центрифугированием (3 мин при 3000 об/мин).
 - 3) Осадок промывали холодным изопропиловым эфиром еще два раза.
 - 4) Неочищенный пептид сушили под вакуумом в течение 1 часа.
 - 5) Получали **соединение 4** (100,0 мг, неочищенное) в виде твердого вещества желтого цвета.



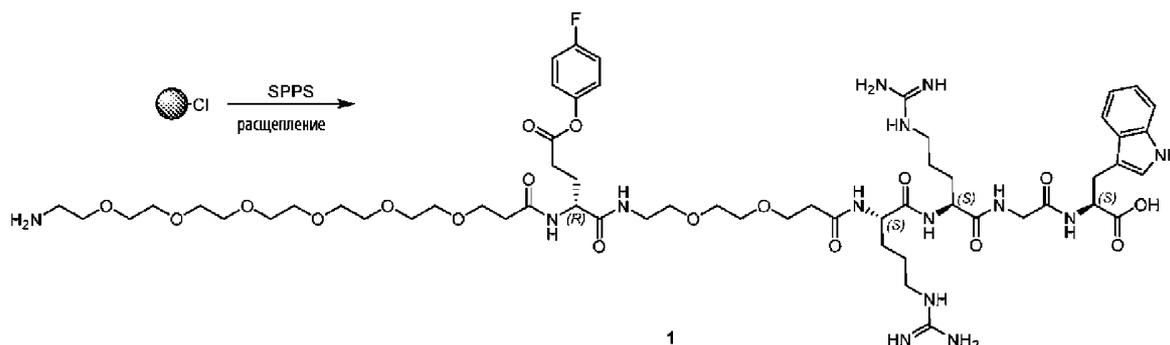
[0778] Смесь **соединения 4** (100,0 мг, 39,8 мкмоль) в MeCN/H₂O (1:1, 100 мл) перемешивали при 15 °С в темноте для образования дисульфида путем окисления воздухом в течение 16 часов. Раствор подкисляли 1 М HCl до pH = 3, сушили лиофилизацией. Остаток очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) с получением I-24 (2,5 мг, 9,96 е-1 мкмоль, выход 2,5%, чистота 95,4%) в виде твердого вещества желтого цвета. MS: m/z 837,7 [M+3H]³⁺. В качестве примера ниже описана процедура очистки:

| Условия очистки | |
|---------------------|--|
| Подготовка образцов | Растворить в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |
| Градиент: | 30-60%-60 мин. Время удерживания: 38 мин |
| Колонка | Luna25*200 мм, C18 10 мкм, 110A+Gemin150*30мм, C18 5 мкм, 110A |

| | |
|-----------------|-----------------------|
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

[0779] I-25 синтезировали по аналогичной методике с применением соответствующих аминокислот (в препарате чистота около 94%; MS: m/z 832,5 [M+3H]³⁺).

[0780] **Пример 23. Типовой синтез Соединений I-26 и I-27.**



[0781] Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии. В качестве примера ниже описана процедура:

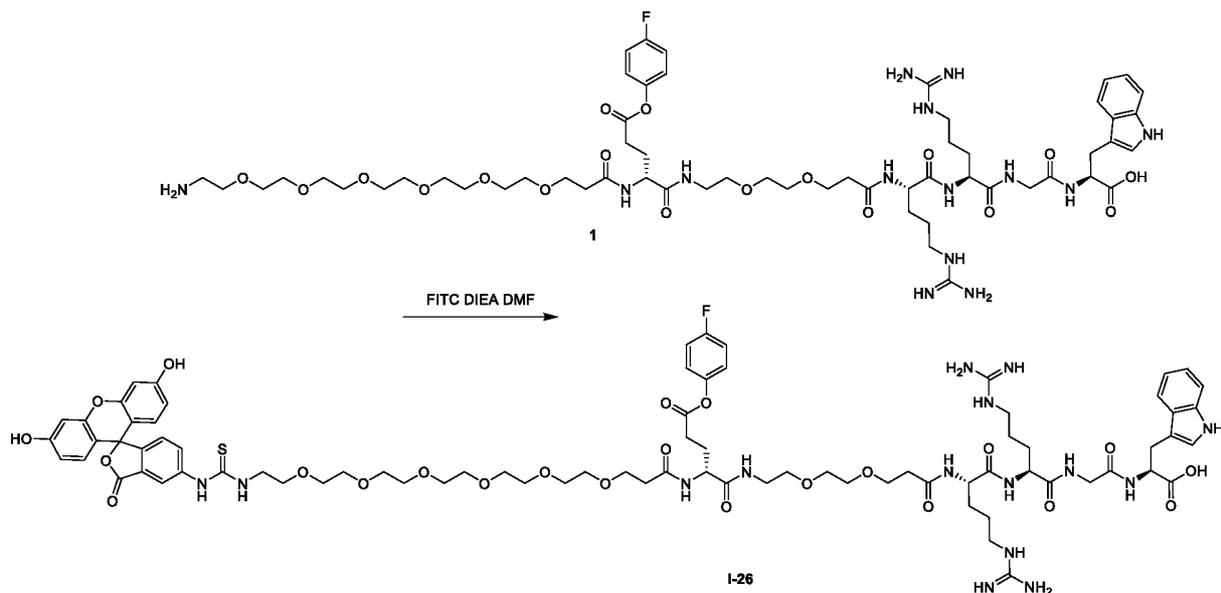
- 1) Добавляли DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (0,20 ммоль, 0,20 г, 1,0 ммоль/г) и Fmoc-Trp(Вос)-ОН (0,085 г, 0,16 ммоль, 0,8 экв.) с барботированием N₂.
- 2) Добавляли по каплям DIEA (6,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов.
- 3) Добавляли MeOH (0,50 мл) и перемешивайте в течение 30 мин.
- 4) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 5) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивайте в течение 30 минут.
- 6) Сливали воду, а затем промывали DMF в течение 30 секунд 5 раз.
- 7) Добавляли раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивайте в течение 30 секунд, затем добавляли буфер для активации, барботируя N₂ в течение примерно 1 часа.
- 8) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивли в течение 30 минут.
- 9) Повторяли стадии с 4 по 8 для соединения следующей аминокислоты.

Синтезированная шкала: 0,2 ммоль.

| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|---|-----------|----------------------|
|---|-----------|----------------------|

| | | |
|---|---|--|
| 1 | Fmoc-Trp(Вос)-ОН (3,0 экв.) | DIEA(6,0 экв.) |
| 2 | Fmoc-Gly-ОН (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 3 | Fmoc-Arg(Pbf)-ОН (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 4 | Fmoc-Arg(Pbf)-ОН (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 5 | Fmoc-PEG2-CH ₂ CH ₂ COOH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 6 | Fmoc-D-Glu(OAll)-ОН (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 7 | Вос-PEG6-CH ₂ CH ₂ COOH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT(3,0 экв.), DMAP (3,0 экв.) |
| 8 | 4-фторфенол (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |

- [0782]** Pd(PPh₃)₄ и фенилсилан применяли для удаления аллильной группы на боковой цепи D-Glu. Для снятия защиты с Fmoc применяли 20% пиперидин в DMF в течение 30 минут. Реакции связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали DMF 5 раз. После соединения последней аминокислоты смолу промывали MeOH 3 раза, а затем сушили в вакууме. Пригодная процедура расщепления и очистки описана ниже:
- 1) Добавляли коктейль для отщепления (97,5% TFA/2,5% H₂O) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре и перемешивали в течение 2 часов.
 - 2) Смесь для отщепления фильтровали и раствор концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя.
 - 3) Очищали неочищенный пептид препаративной HPLC (среда TFA), получая **соединение 1** (90 мг).

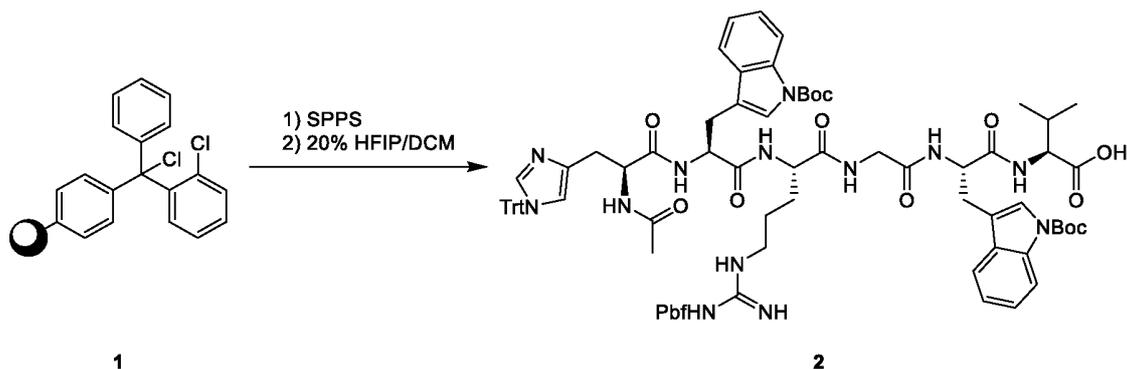


[0783] К раствору соединения 1 (90 мг, 69,69 мкмоль), FITC (32,6 мг, 83,63 мкмоль) добавляли DIEA (27,02 мг, 209,07 мкмоль, 36,42 мкл) в DMF (1 мл) и перемешивали при 25 °С в течение 2 часов. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA) непосредственно с получением I-26 (53,2 мг, выход 40,6%, чистота 95,2%) в виде твердого вещества желтого цвета. MS: m/z 560,2 $[M+3H]^{3+}$. В качестве примера ниже описана процедура очистки:

| Условия очистки | |
|---------------------|--|
| Подготовка образцов | Растворить в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |
| Градиент: | 25-55%-60 мин. Время удерживания: 48 мин |
| Колонка | Luna25*200 мм, C18 10 мкм, 110A+Gemin150*30мм, C18 5 мкм, 110A |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

[0784] I-27 получали с помощью аналогичного процесса, в котором в цикле 5 применяли Fmoc-PEG8-CH₂CH₂COOH (в препарате чистота составляла около 95%; MS: m/z 649 $[M+3H]^{3+}$)

[0785] **Пример 24. Типовой синтез Соединений с I-28 по I-41.**



[0786] Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии. В качестве примера ниже описана процедура:

- 1) Добавляли DCM (5,0 мл) в сосуд, содержащий смолу CTC (0,50 ммоль, 0,50 г, 1,0 ммоль/г) и Fmoc-Val-OH (0,136 г, 0,40 ммоль, 0,8 экв.) с барботированием N₂.
- 2) Добавляли по каплям DIEA (4,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов.
- 3) Добавляли MeOH (0,5 мл) и перемешивали в течение 30 мин.
- 4) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 5) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 6) Сливали воду, а затем промывали DMF в течение 30 секунд 5 раз.
- 7) Добавляли раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивали в течение 30 секунд, затем добавляли буфер для активации, барботируя N₂ в течение около 1 часа.
- 8) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 9) Повторяли стадии с 4 по 8 для соединения следующей аминокислоты.

Синтезированная шкала: 0,5 ммоль.

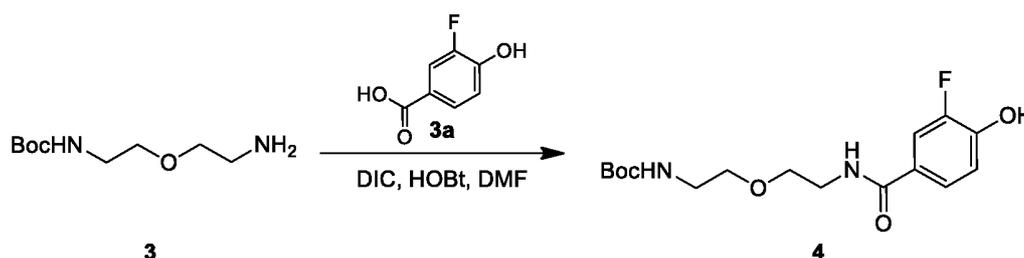
| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|---|-----------------------------|--|
| 1 | Fmoc-Val-OH (0,8 экв.) | DIEA (4,0 экв.) |
| 2 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 3 | Fmoc-Gly-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 4 | Fmoc-Arg(Pbf)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 5 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 6 | Fmoc-His(Trt)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 7 | Ac ₂ O | Ac ₂ O/NMM/DMF (10/5/85, 10 мл) |

[0787] Для снятия защиты с Fmoc применяли 20% пиперидин в DMF в течение 30 минут.

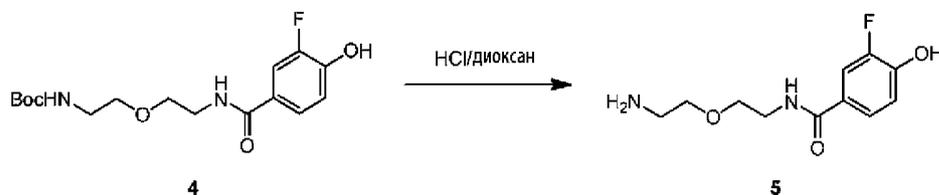
Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали DMF 5 раз. После соединения последней аминокислоты смолу промывали MeOH 3 раза, а затем сушили в вакууме. В некоторых вариантах осуществления пептид расщепляли и очищали с помощью следующей процедуры:

[0788] Пептидную смолу дважды обрабатывали 20% HFIP/DCM (20 мл) в течение 0,5 часа. После фильтрации объединенный фильтрат концентрировали при пониженном давлении.

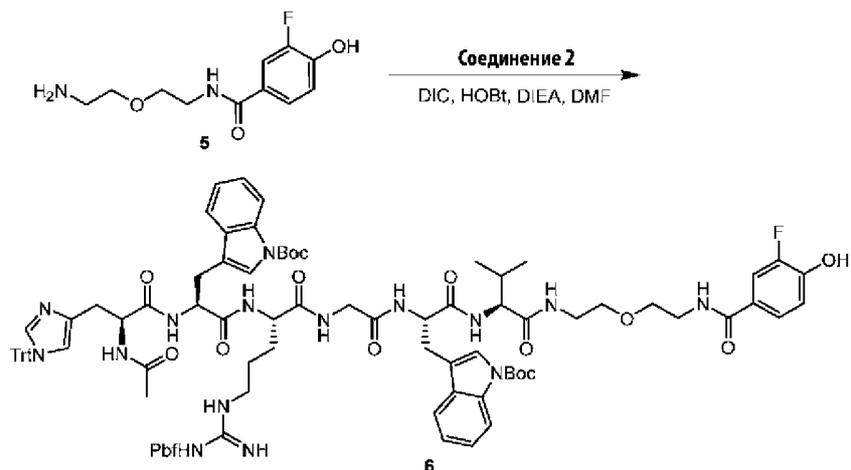
[0789] Остаток сначала растворяли в MeCN (5 мл), а затем полностью защищенный пептид осаждали холодной H₂O (50 мл). После фильтрации твердую фракцию сушили лиофилизацией, получая **соединение 2** (707 мг, чистота 95,0%, выход 85,2%).



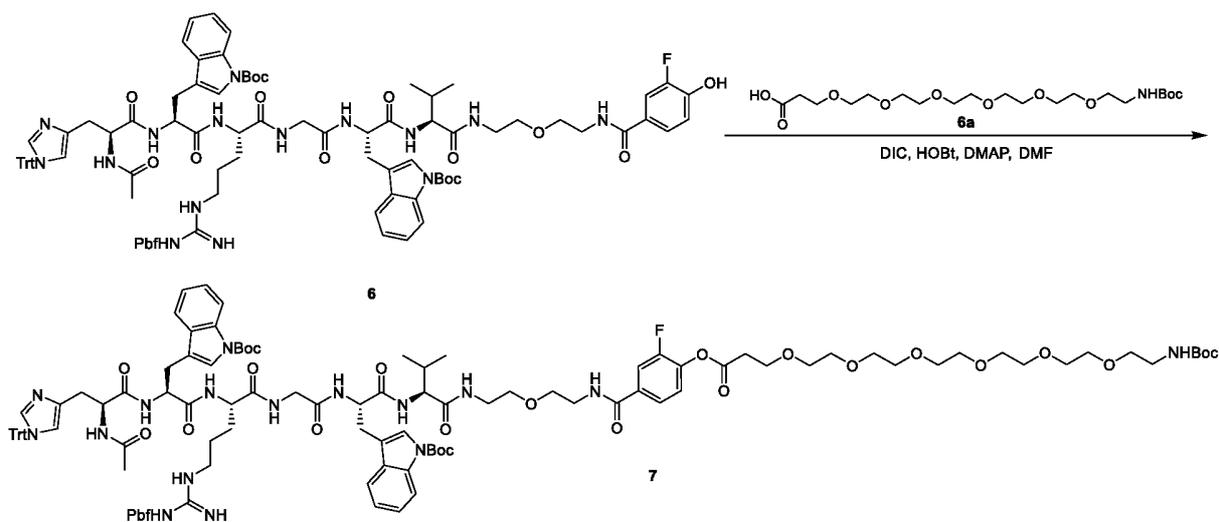
[0790] Смесь **соединения 3** (0,50 г, 2,45 ммоль), **соединения 3a** (420 мг, 2,69 ммоль), DIC (463 мг, 3,67 ммоль, 568 мкл), HOBT (496 мг, 3,67 ммоль) в DMF (5 мл) перемешивали при 15 °C в течение 2 часов. Смесь очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно с получением **соединения 4** (700 мг, 2,04 ммоль, выход 83,5%) в виде бесцветного масла.



[0791] Смесь **соединения 4** (700 мг, 2,04 ммоль) в HCl/диоксане (4 М, 10 мл) перемешивали при 15 °C в течение 0,5 часа. Смесь фильтровали и твердое вещество сушили лиофилизацией с получением **соединения 5** (соль HCl, 400 мг, 1,65 ммоль, выход 80,7%) в виде белого твердого вещества.

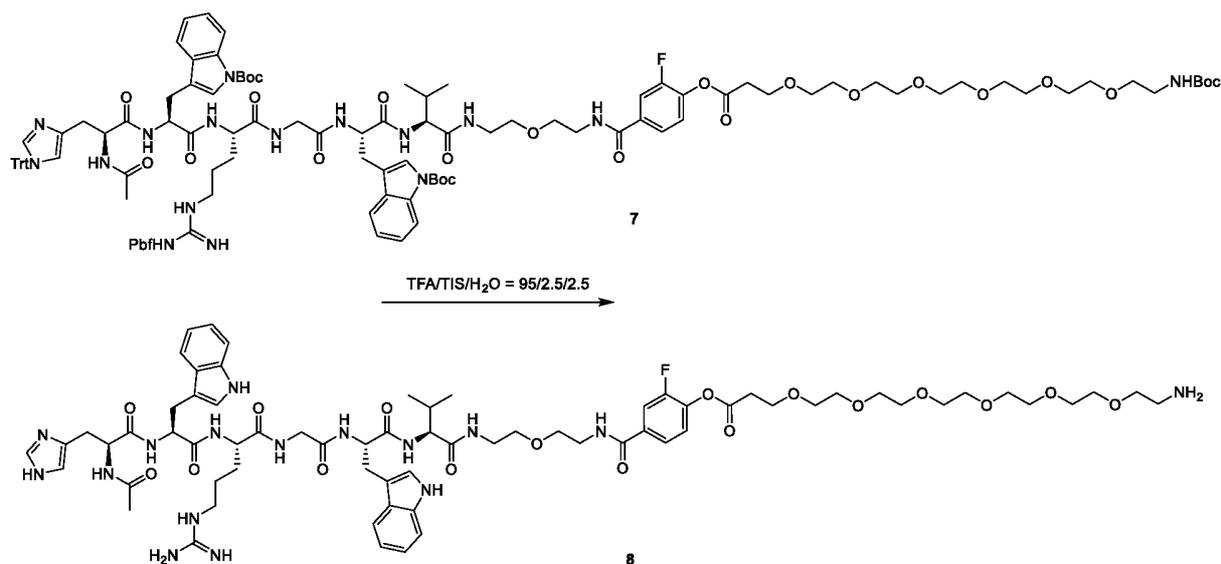


[0792] Смесь **соединения 2** (150 мг, 95,13 мкмоль), **соединения 5** (26,5 мг, 95,1 мкмоль, HCl), DIC (18,0 мг, 142,7 мкмоль, 22,1 мкл), HOBT (19,3 мг, 142,7 мкмоль), DIEA (18,4 мг, 142,7 мкмоль, 24,8 мкл) в DMF (2 мл) перемешивали при 15 °С в течение 3 часов. Смесь очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeOH/H₂O эфир градиент при 75 мл/мин) непосредственно с получением **соединения 6** (150 мг, 83,2 мкмоль, выход 87,4%) в виде белого твердого вещества.

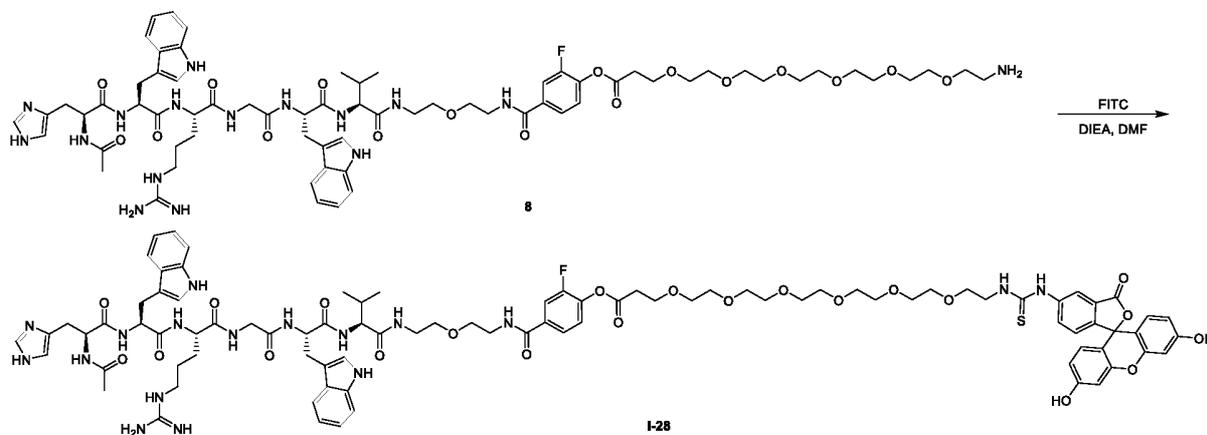


[0793] Раствор **соединения 6** (150 мг, 83,2 мкмоль), **соединения 6a** (75,4 мг, 166,4 мкмоль), DIC (21,0 мг, 166,4 мкмоль, 25,7 мкл), HOBT (22,5 мг, 166 мкмоль), DMAP (10,2 мг, 83,2 мкмоль) в DMF (1 мл) перемешивали при 15 °С в течение 16 часов. Затем смесь добавляли к 0,5 М HCl (холодная, 30 мл), появлялась масса белого твердого вещества. Смесь центрифугировали (3 мин при 3000 об/мин), жидкую фракцию отбрасывали. Твердое вещество сушили лиофилизацией, получая **соединение 7** (100 мг, 44,6 мкмоль, выход 53,7%) в виде белого твердого

вещества.



[0794] Смесь **соединения 7** (100 мг, 44,7 мкмоль) в TFA (4,81 г, 42,2 ммоль, 3,13 мл), триизопропилсилане (72,3 мг, 456,4 мкмоль, 93,7 мкл) и H₂O (93,7 мг, 5,20 ммоль, 93,7 мкл) перемешивали. при 15 °C в течение 1 часа. Смесь осаждали холодным изопропиловым эфиром (50 мл), центрифугировали (3 мин при 3000 об/мин), дважды промывали изопропиловым эфиром, сушили под вакуумом 2 часа. Остаток очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) с получением **соединения 8** (50,0 мг, 34,6 мкмоль, выход 77,5%) в виде белого твердого вещества.



[0795] Смесь **соединения 8** (40,0 мг, 27,7 мкмоль), FITC (10,8 мг, 27,7 мкмоль), DIEA (10,7 мг, 83,2 мкмоль, 14,5 мкл) в DMF (0,5 мл) перемешивали при 15 °C в течение 1 часа в темноте. Смесь очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) с получением **I-28** (13,0 мг, 6,55 мкмоль, выход 23,6%, чистота 98,2%, TFA) в виде твердого вещества желтого цвета. MS: m/z 916 [M+2H]²⁺. В качестве примера ниже описана процедура очистки:

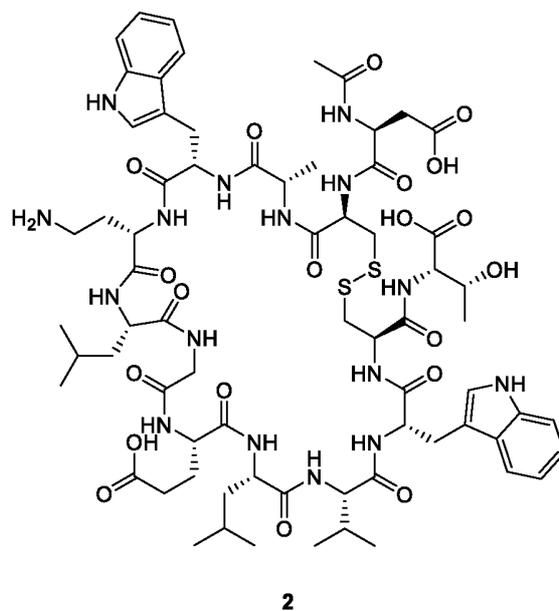
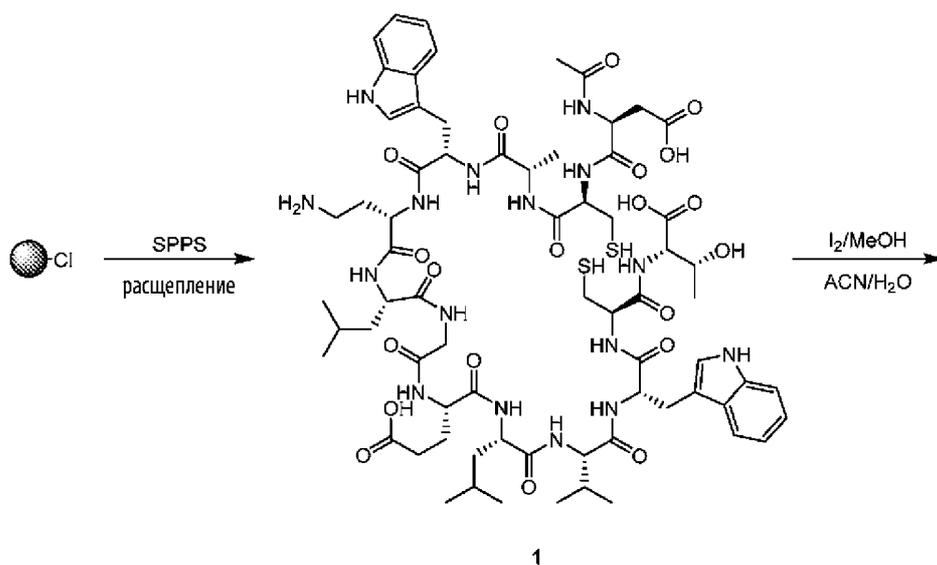
| Условия очистки | |
|---------------------|--|
| Подготовка образцов | Растворить в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |
| Градиент: | 30-60%-60 мин. Время удерживания: 35 мин |
| Колонка | Luna25*200 мм, C18 10 мкм, 110A+Gemin150*30мм, C18 5 мкм, 110A |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

[0796] Различные соединения были получены с помощью аналогичных методик с соответствующими аминокислотами. Данные по чистоте и MS для некоторых препаратов представлены ниже.

| Соединение | Чистота | MS |
|------------|---------|-----------------------------|
| I-29 | 97,5% | 982,5 [M+2H] ²⁺ |
| I-30 | 98,0% | 817,5 [M+2H] ²⁺ |
| I-31 | 95,1% | 883,6 [M+2H] ²⁺ |
| I-32 | 98,8% | 813 [M+2H] ²⁺ |
| I-33 | 96,2% | 879 [M+2H] ²⁺ |
| I-34 | 98,3% | 1107,5 [M+2H] ²⁺ |
| I-35 | 99,1% | 1173,3 [M+2H] ²⁺ |
| I-36 | 99,7% | 783 [M+2H] ²⁺ |
| I-37 | 98,0% | 849,1 [M+3H] ³⁺ |
| I-38 | 95,2% | 1195,5 [M+2H] ²⁺ |
| I-39 | 95,7% | 1151,6 [M+2H] ²⁺ |
| I-40 | 97,1% | 1129,3 [M+2H] ²⁺ |
| I-41 | 97,4% | 1187,0 [M+2H] ²⁺ |

[0797]

Пример 25. Типовой синтез Соединения I-42.



[0798]

Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии. В качестве примера ниже описана процедура:

- 1) Добавьте DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (0,50 ммоль, 0,50 г, 1,0 ммоль/г) и Fmoc-Thr(tBu)-OH (0,159 г, 0,40 ммоль, 0,80 экв.) с барботированием N_2 .
- 2) Добавляли по каплям DIEA (6,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов.
- 3) Добавляли MeOH (0,50 мл) и перемешивали в течение 30 мин.

- 4) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 5) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 6) Сливали воду, а затем промывали DMF в течение 30 секунд 5 раз.
- 7) Добавляли раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивали в течение 30 секунд, затем добавляли буфер для активации, барботируя N₂ в течение примерно 1 часа.
- 8) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 9) Повторяли стадии с 4 по 8 для соединения следующей аминокислоты.

Синтезированная шкала: 0,50 ммоль.

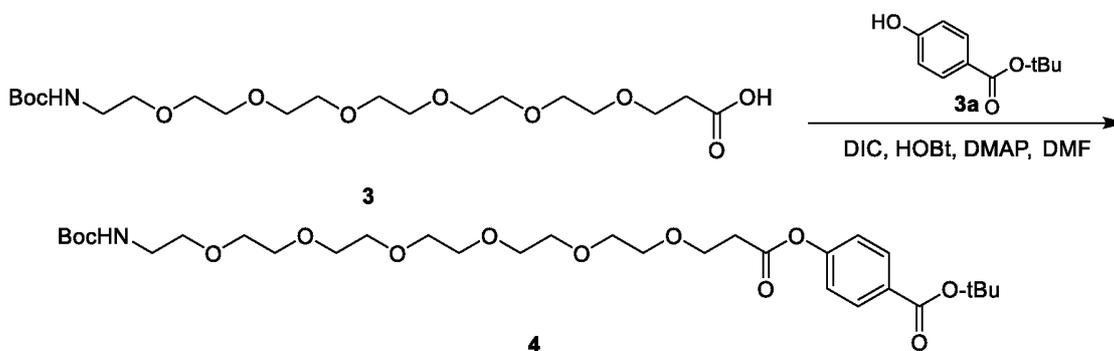
| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|----|---|-----------------------------------|
| 1 | Fmoc-Thr(tBu)-OH (0,8 экв.) | DIEA(6,0 экв.) |
| 2 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 3 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 4 | Fmoc-Val-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 5 | Fmoc-Leu-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 6 | Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 7 | Fmoc-Gly-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 8 | Fmoc-Leu-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 9 | Fmoc-Dab(Boc)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 10 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,0 экв.) | HATU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 11 | Fmoc-Ala-OH (3,0 экв.) | HATU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 12 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,0 экв.) | HATU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 13 | Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3,0 экв.) | HATU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 14 | 10%AC ₂ O/85%DMF/5%NMM (20 мл) | Н/Д |

[0799] Для снятия защиты с Fmoc применяли 20% пиперидин в DMF в течение 30 минут. Реакции связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали DMF 5 раз. После соединения последней аминокислоты смолу промывали MeOH 3 раза, а затем сушили в вакууме. В некоторых вариантах осуществления пептид расщепляли и очищали с помощью следующей процедуры:

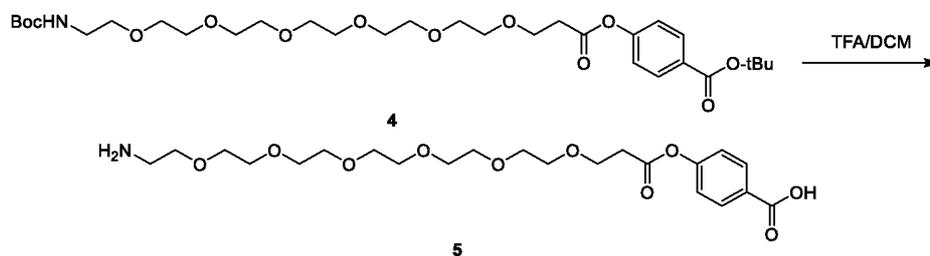
- 1) Добавляли коктейль для отщепления (92,5% TFA/2,5% 3-меркаптопропановой кислоты/2,5% H₂O/2,5% TIS) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной

температуре, и перемешивали смесь в течение 2 часов.

- 2) Пептид осаждали холодным изопропиловым эфиром и собирали центрифугированием (3 мин при 3000 об/мин).
- 3) Осадок промывали холодным изопропиловым эфиром еще два раза.
- 4) Неочищенный пептид сушили под вакуумом в течение 2 часов.
- 5) Растворяли неочищенный пептид в ACN/H₂O (1:1, всего 150 мл).
- 6) К энергично перемешиваемому раствору пептида по каплям добавляли йод (0,1 М в MeOH) до сохранения желтой окраски. Через 10 минут по каплям добавляли тиосульфат натрия (0,1 М в воде) до исчезновения желтой окраски, при этом завершение реакции определяли помощью LCMS. Смесь лиофилизировали с получением неочищенного порошка.
- 7) Очищали неочищенный пептид препаративной HPLC (среда TFA), получая **соединение 2** (120 мг).

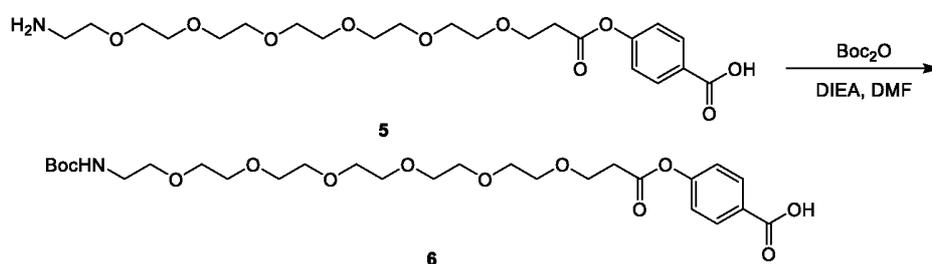


[0800] Смесь **соединения 3** (1,00 г, 2,20 ммоль), **соединения 3a** (856,5 мг, 4,41 ммоль), HOBT (893,8 мг, 6,61 ммоль), DMAP (808,1 мг, 6,61 ммоль), EDCI (1,27 г, 6,61 ммоль) в DMF (1,00 мл) перемешивали при 15 °С в течение 16 часов. Смесь очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно с получением **соединения 4** (1,20 г, чистота 90,0%, 86,0% выход) в виде белого твердого вещества.

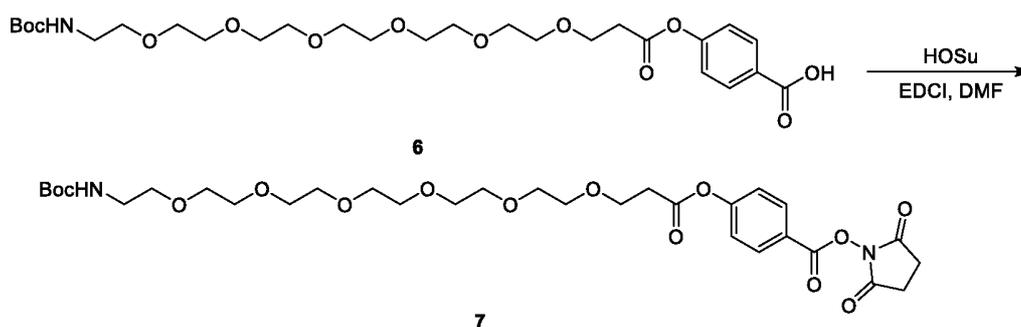


[0801] Смесь соединения 4 (1,20 г, 1,91 ммоль) в TFA (36,96 г, 324,1 ммоль, 24,0 мл), H₂O (1,20 г, 66,6 ммоль, 1,20 мл) перемешивали при 15 °С в течение 0,5 часа. Растворитель удалили

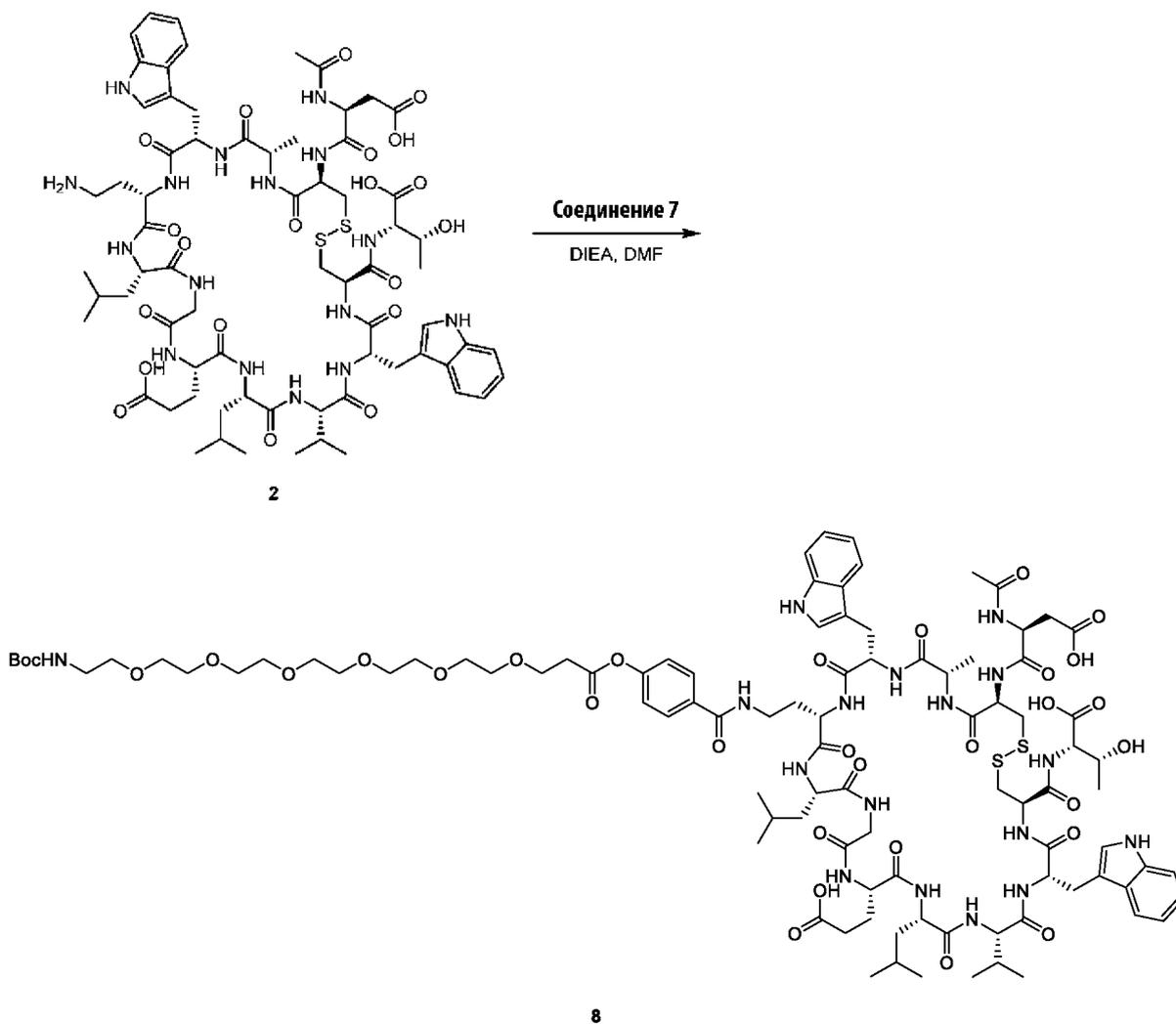
при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) с получением **соединения 5** (0,83 г, чистота 90,0%, выход 74,1%, TFA) в виде бесцветного масла.



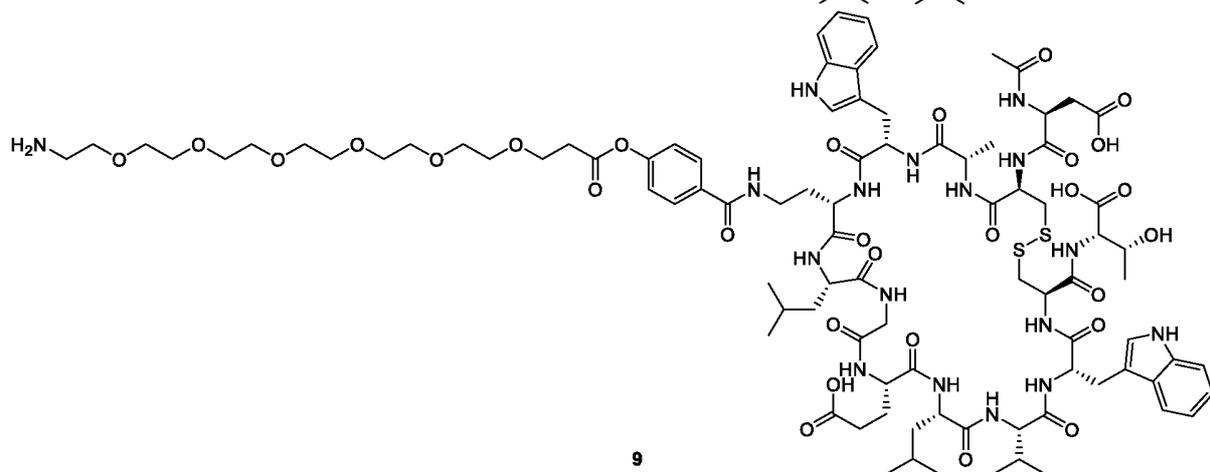
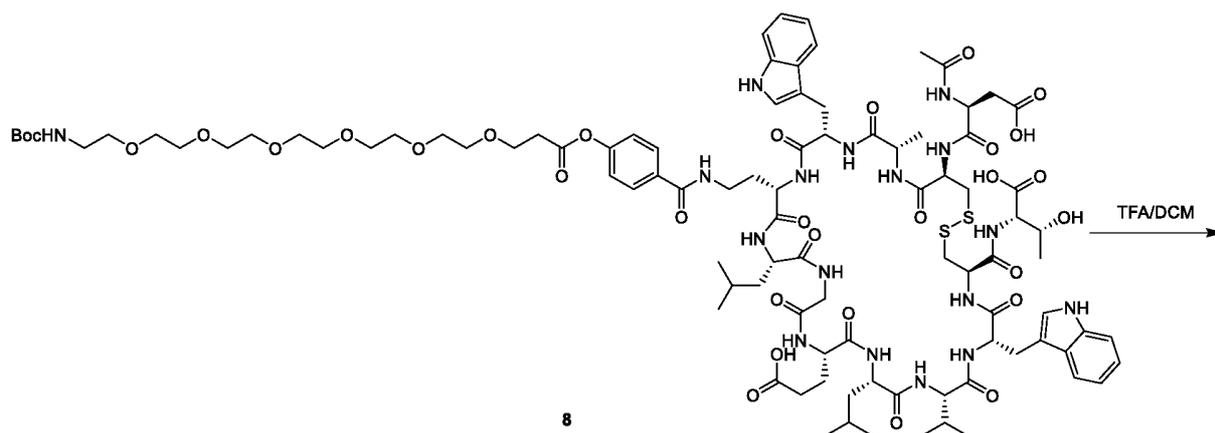
[0802] К смеси **соединения 5** (0,57 г, 970,15 мкмоль, TFA), DIEA (376,1 мг, 2,91 ммоль, 506,9 мкл) в DMF (5,0 мл) добавляли Boc₂O (317,6 мг, 1,46 ммоль, 334,3 мкл) при 0 °С, затем смесь перемешивали при 15 °С в течение 2 часов. Смесь очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно с получением **соединения 6** (230 мг, 400,9 мкмоль, выход 41,3%) в виде бесцветного масла.



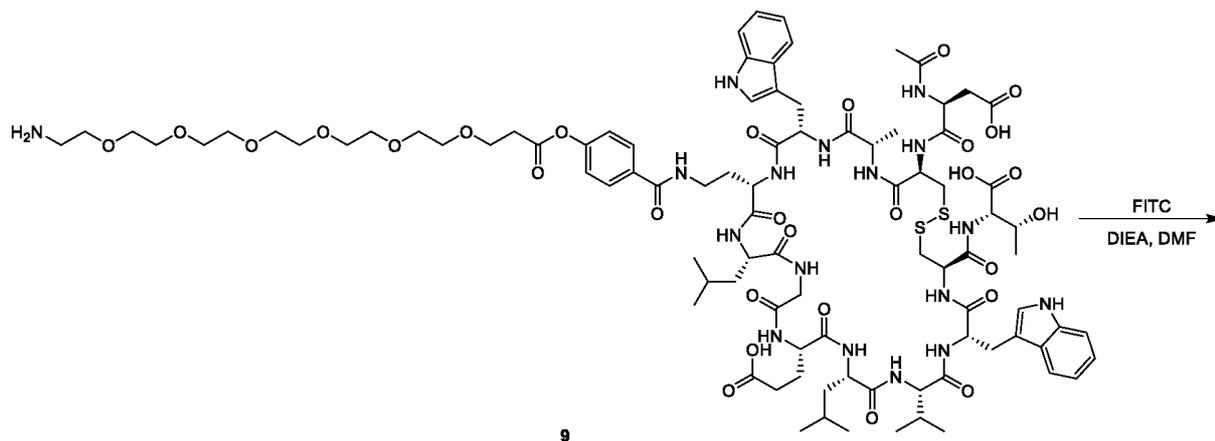
[0803] Смесь **соединения 6** (230 мг, 400,9 мкмоль), HOSu (69,2 мг, 601,4 мкмоль), EDCI (153,7 мг, 801,9 мкмоль) в DMF (1,0 мл) перемешивали при 15 °С в течение 1 часа. Смесь очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно с получением **соединения 7** (150 мг, 223,6 мкмоль, выход 55,7%) в виде бесцветного масла.

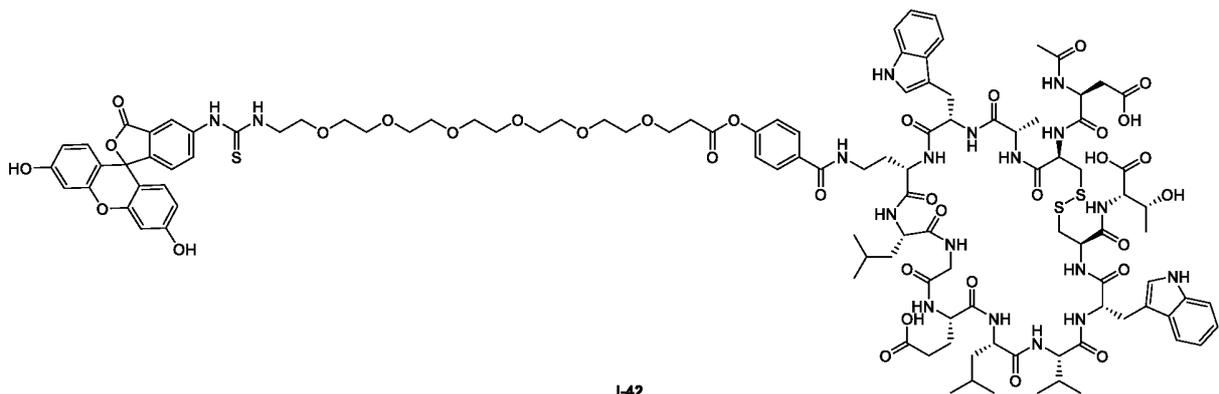


[0804] Смесь **соединения 2** (24,6 мг, 14,9 мкмоль, TFA), **соединения 7** (10,0 мг, 14,9 мкмоль), DIEA (9,6 мг, 74,5 мкмоль, 12,9 мкл) в DMF (0,2 мл) перемешивали при 15 °С в течение 1 часа. Смесь очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) непосредственно с получением **соединения 8** (3,3 мг, 1,58 мкмоль, выход 10,5%) в виде белого твердого вещества.



[0805] Смесь **соединения 8** (3,3 мг, 1,58 мкмоль) в TFA (770,0 мг, 6,75 ммоль, 0,50 мл) и DCM (0,5 мл) перемешивали при 15 °С в течение 0,5 часа. Растворитель удаляли при пониженном давлении с получением **соединения 9** (3,0 мг, неочищенное, TFA) в виде бесцветного масла.



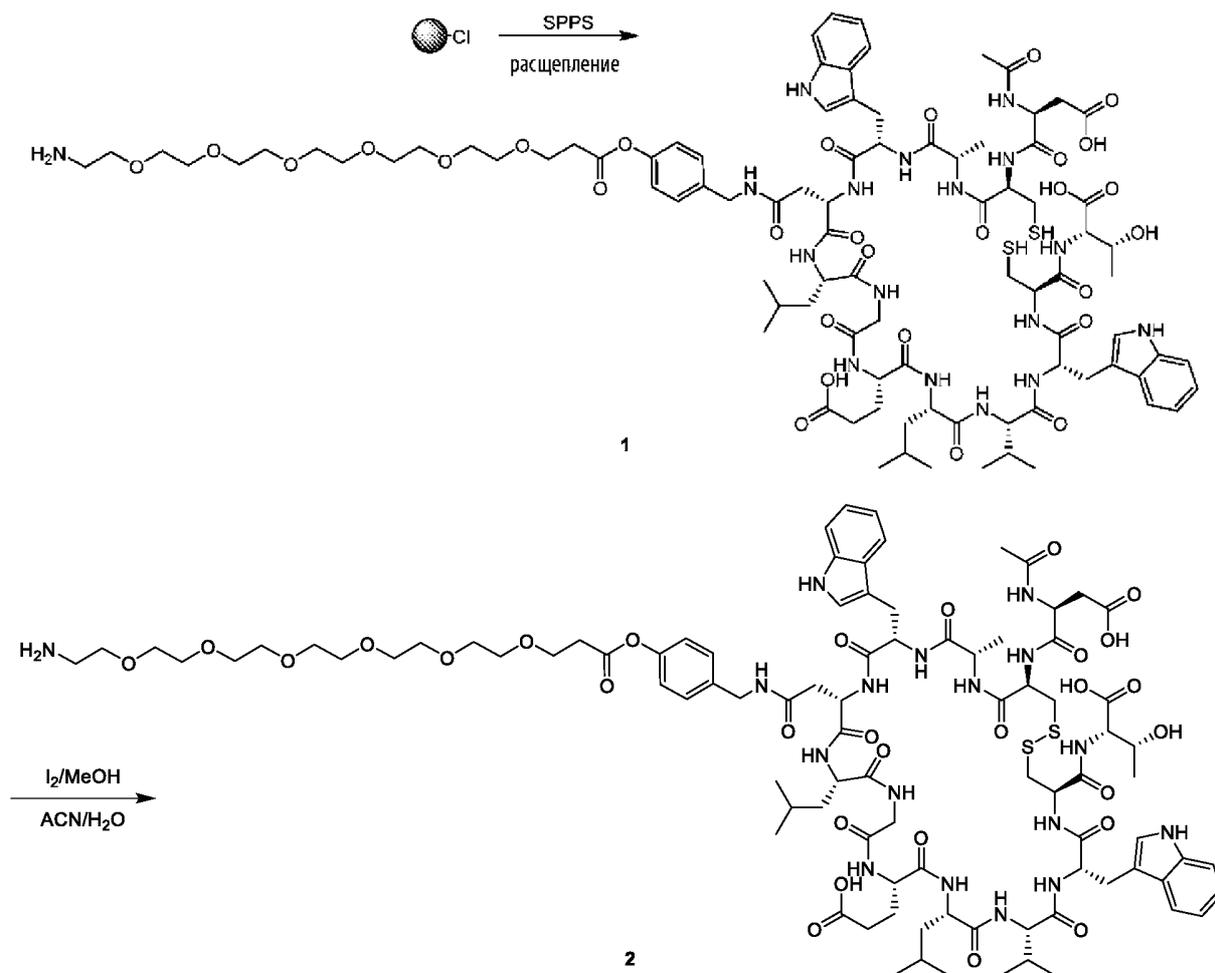


I-42

[0806] Смесь **соединения 9** (3,0 мг, 1,51 мкмоль), FITC (0,6 мг, 1,51 мкмоль), DIEA (7,53 мкмоль, 1,3 мкл) в DMF (0,1 мл) перемешивали при 15 °С в течение 1 часа в темноте. Смесь очищали с помощью препаративной HPLC (среда TFA) непосредственно с получением **I-42** (2,1 мг, 9,06e-1 мкмоль, чистота 98,3%, выход 60,1%) в виде твердого вещества желтого цвета. MS: m/z 1191 [M+2H]²⁺. В некоторых вариантах осуществления пептид расщепляли и очищали с помощью следующей процедуры:

| Условия очистки | |
|---------------------|---|
| Подготовка образцов | Растворить в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |
| Градиент: | 40-70%-60 мин. Время удерживания: 40 мин. |
| Колонка | Luna25*200 мм, C18 10 мкм, 110A+Gemin150*30мм, C18 5 мкм, 110A° |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

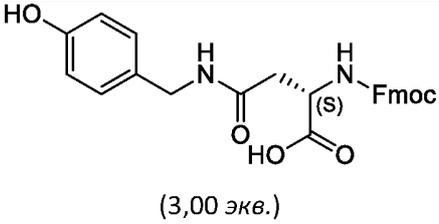
[0807] **Пример 26. Типовой синтез Соединения I-43.**



[0808] Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии. В качестве примера ниже описана процедура:

- 1) Добавляли DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (0,500 ммоль, 0,500 г, 1,00 ммоль/г) и Fmoc-Thr(tBu)-OH (159 мг, 0,400 ммоль, 0,80 экв.) с барботированием N₂.
- 2) Добавляли по каплям DIEA (4,00 экв.) и перемешивали в течение 2 часов.
- 3) Добавляли MeOH (0,500 мл) и перемешивали в течение 30 мин.
- 4) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 5) Добавляли 20% пиперидин/DMF и оставляли для осуществления реакции на 30 мин.
- 6) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 7) Добавляли раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивали сначала в течение 30 секунд, затем добавляли активирующий раствор, и реакция связывания продолжалась в течение 1 часа при непрерывном барботировании N₂.

8) Повторяли стадии с 4 по 7 для соединения следующей аминокислоты.

| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|----|---|---|
| 1 | Fmoc-Thr(tBu)-OH (0,80 экв.) | DIEA (4,00 экв.) |
| 2 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 3 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 4 | Fmoc-Val-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 5 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 6 | Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 7 | Fmoc-Gly-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 8 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 9 |  <p>(3,00 экв.)</p> | HOBT (3,00 экв.) и DIC (3,00 экв.) |
| 10 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,00 экв.) | HOBT (3,00 экв.) и DIC (3,00 экв.) |
| 11 | Fmoc-Ala-OH (3,00 экв.) | HOBT (3,00 экв.) и DIC (3,00 экв.) |
| 12 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HOBT (3,00 экв.) и DIC (3,00 экв.) |
| 13 | Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3,00 экв.) | HOBT (3,00 экв.) и DIC (3,00 экв.) |
| 14 | AC ₂ O:NMM:DMF=10:5:85 (10 мл) | / |
| 15 | Boc-PEG6-CH ₂ CH ₂ COOH (3,00 экв.) | HOBT (3,00 экв.), DIC (3,00 экв.) и DMAP(3,00 экв.) |

a) Шкала синтеза: 0,5 ммоль

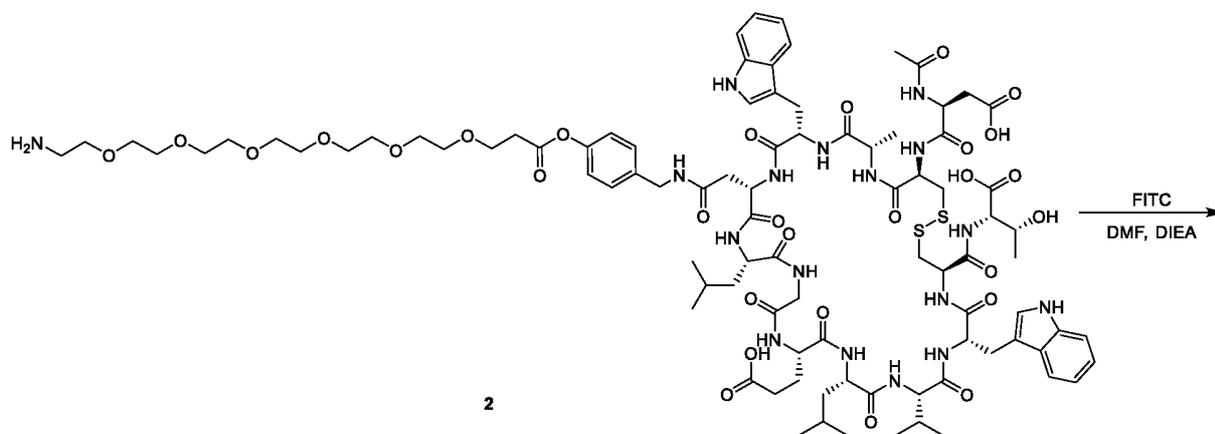
b) Для снятия защиты с Fmoc применяли 20% пиперидин в DMF в течение 30 минут.

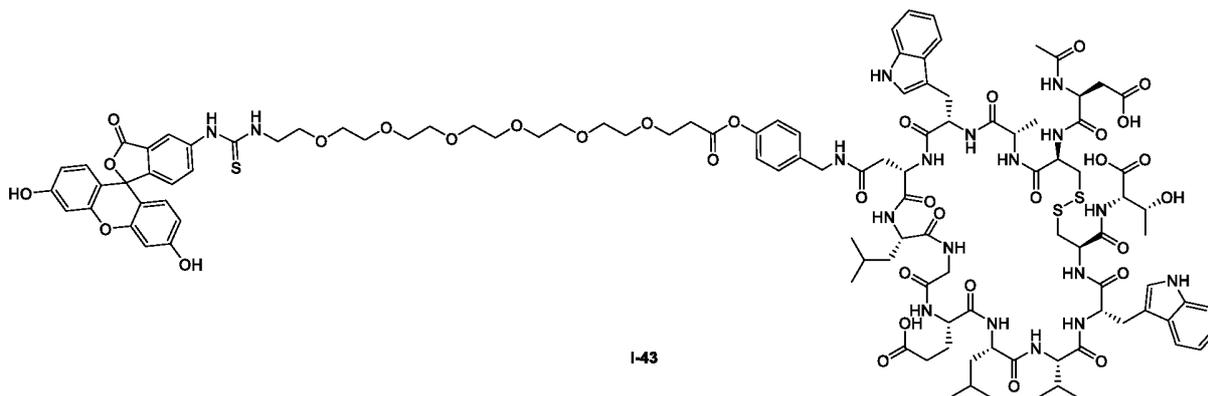
c) Реакции связывания контролировали с помощью нингидринового теста.

- d) После 14-го цикла добавляли 3% $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$ (10 мл) и барботировали в течение 20 мин.
- e) После последнего связывания смолу промывали MeOH 3 раза, а затем сушили в вакууме.

Расщепление и очистка пептидов:

- 1) Добавляли коктейль для отщепления (92,5% $\text{TFA}/2,5\%$ 3-меркаптопропановой кислоты/ $2,5\%$ $\text{H}_2\text{O}/2,5\%$ TIS) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре, и перемешивали в течение 2 часов.
- 2) Пептид осаждали холодным изопропиловым эфиром и собирали центрифугированием (3 мин при 3000 об/мин).
- 3) Осадок промывали холодным изопропиловым эфиром еще два раза.
- 4) Неочищенный пептид сушили под вакуумом в течение 2 часов.
- 5) Растворяли неочищенный пептид в $\text{ACN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, всего 150 мл).
- 6) К энергично перемешиваемому раствору пептида по каплям добавляли йод (0,1 М в MeOH) до сохранения желтой окраски. Через 10 минут по каплям добавляли тиосульфат натрия (0,1 М в воде) до исчезновения желтой окраски, при этом завершение реакции определяли помощью LCMS. Смесь лиофилизировали с получением неочищенного порошка.
- 7) Очищали неочищенный пептид препаративной HPLC (среда TFA), получая **соединение 2** (22,4 мг).

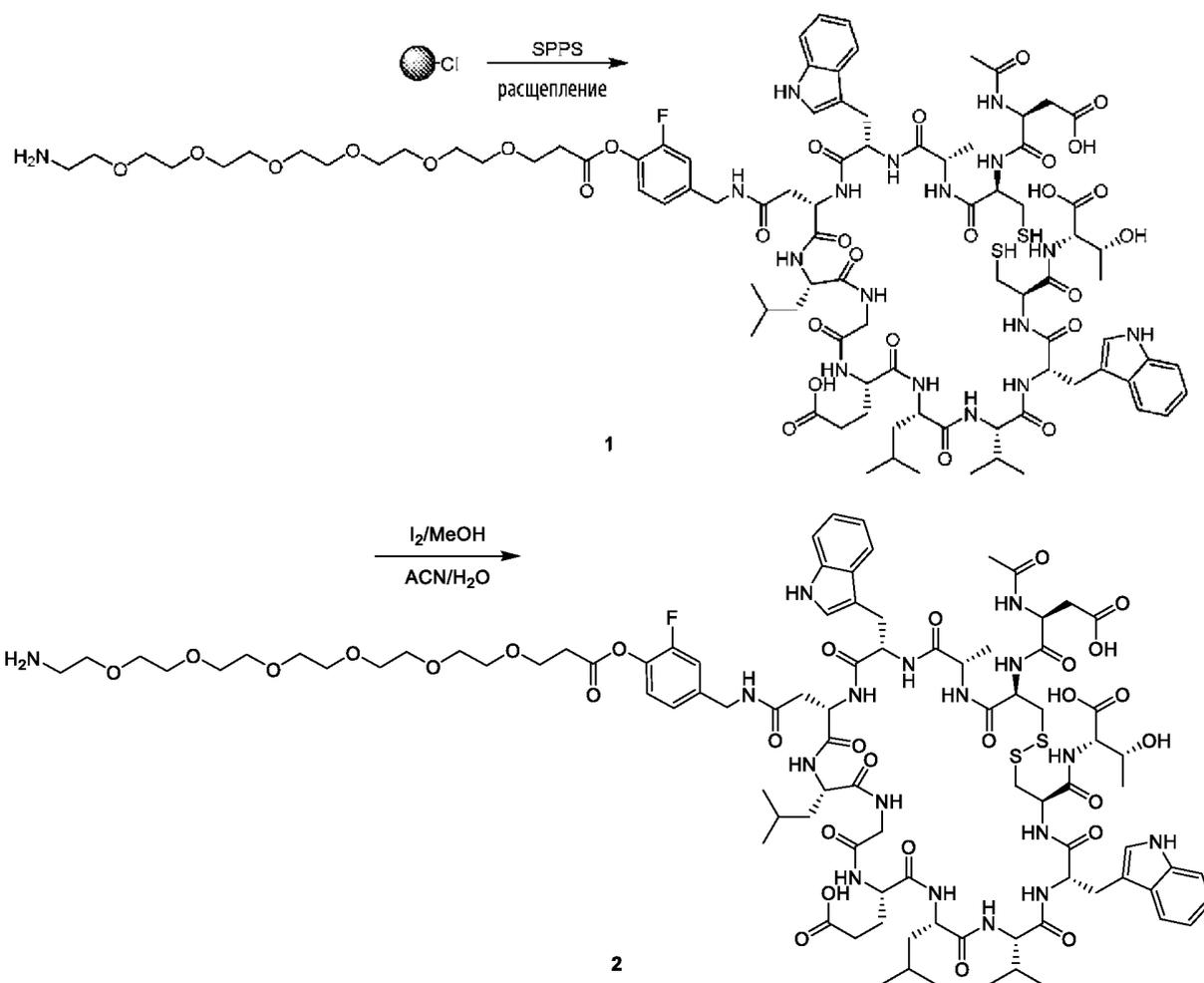




[0809] Смесь соединения 2 (22,4 мг, 1,00 экв.) и FITC (4,38 мг, 1,00 экв.) растворяли в DMF (1 мл) и затем медленно добавляли DIEA (6,00 экв.) Смесь перемешивали при 20°C в течение 2 часов. LCMS демонстрировала, что реакция завершилась. Затем смесь очищали непосредственно препаративной HPLC (среда TFA) и получали **I-43** (16,7 мг, чистота 96,0%, выход 59,8%) в виде твердого вещества желтого цвета. MS: m/z 794,2 $[M+3H]^{3+}$. В качестве примера ниже описана процедура очистки:

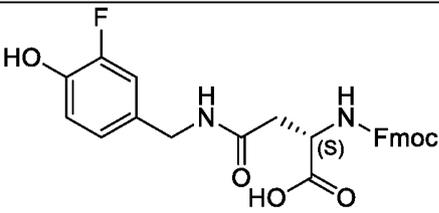
| Условия разделения | |
|---------------------|--|
| Подготовка образцов | Растворение в DMF |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: CH ₃ CN |
| Градиент: | 35-65%-60 мин. Время удерживания: 48 мин |
| Колонка | Luna C 18, 25*200 мм, 10 мкм, 110 A + Gemini C 18, 150*30 мм, 5 мкм, 110 A |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

[0810] Пример 27. Типовой синтез Соединения I-44.



[0811] Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии. В качестве примера ниже описана процедура:

- 1) Добавляли DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (0,500 ммоль, 0,500 г, 1,00 ммоль/г) и Fmoc-Thr(tBu)-OH (159 мг, 0,400 ммоль, 0,80 экв.) с барботированием N₂.
- 2) Добавляли по каплям DIEA (4,00 экв.) и перемешивали в течение 2 часов.
- 3) Добавляли MeOH (0,500 мл) и перемешивали в течение 30 мин.
- 4) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 5) Добавляли 20% пиперидин/DMF и оставляли для осуществления реакции на 30 мин.
- 6) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 7) Добавляли раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивали сначала в течение 30 секунд, затем добавляли активирующий раствор, и реакция связывания продолжалась в течение 1 часа при непрерывном барботировании N₂.
- 8) Повторяли стадии с 4 по 7 для соединения следующей аминокислоты.

| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|----|---|---|
| 1 | Fmoc-Thr(tBu)-OH (0,80 экв.) | DIEA (4,00 экв.) |
| 2 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 3 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 4 | Fmoc-Val-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 5 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 6 | Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 7 | Fmoc-Gly-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 8 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 9 |  <p>(3,00 экв.)</p> | HOBT (3,00 экв.) и DIC (3,00 экв.) |
| 10 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,00 экв.) | HOBT (3,00 экв.) и DIC (3,00 экв.) |
| 11 | Fmoc-Ala-OH (3,00 экв.) | HOBT (3,00 экв.) и DIC (3,00 экв.) |
| 12 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HOBT (3,00 экв.) и DIC (3,00 экв.) |
| 13 | Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3,00 экв.) | HOBT (3,00 экв.) и DIC (3,00 экв.) |
| 14 | AC ₂ O:NMM:DMF=10:5:85 (10 мл) | / |
| 15 | Boc-PEG6-CH ₂ CH ₂ COOH (3,00 экв.) | HOBT (3,00 экв.), DIC (3,00 экв.) и DMAP(3,00 экв.) |

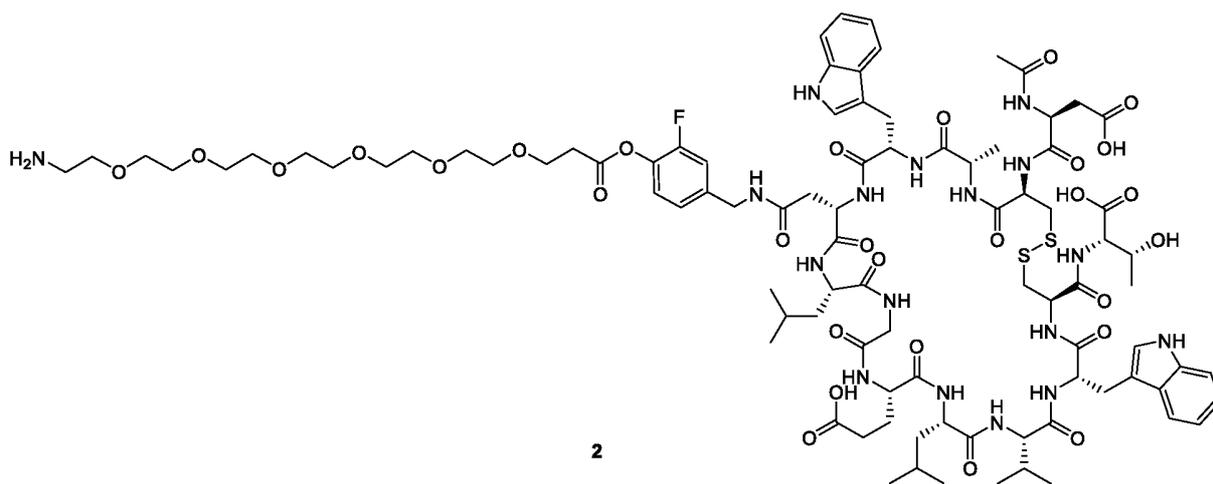
а) Шкала синтеза: 0,5 ммоль

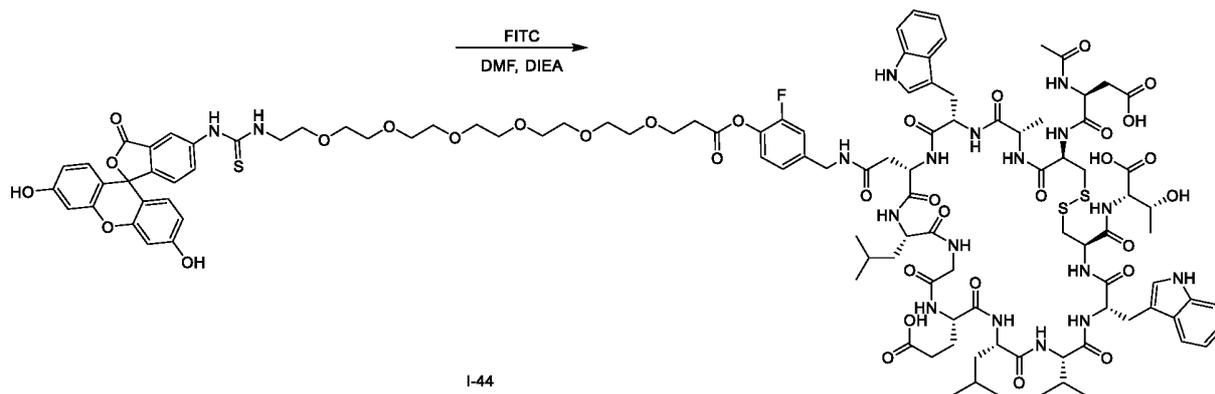
б) Для снятия защиты с Fmoc применяли 20% пиперидин в DMF в течение 30 минут.

- c) Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста.
- d) После 14-го цикла добавляли 3% $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$ (10 мл) и перемешивали барботированием в течение 20 мин.
- e) После последнего связывания смолу промывали MeOH 3 раза, а затем сушили в вакууме.

[0812] В некоторых вариантах осуществления пептид расщепляли и очищали с помощью следующей процедуры:

- 4) Добавляли коктейль для отщепления (92,5% $\text{TFA}/2,5\%$ 3-меркаптопропановой кислоты/ $2,5\%$ $\text{H}_2\text{O}/2,5\%$ TIS) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре, и перемешивали в течение 2 часов.
- 5) Пептид осаждали холодным изопропиловым эфиром и собирали центрифугированием (3 мин при 3000 об/мин).
- 6) Осадок промывали холодным изопропиловым эфиром еще два раза.
- 7) Неочищенный пептид сушили под вакуумом в течение 2 часов.
- 8) Растворяли неочищенный пептид в $\text{ACN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, всего 150 мл).
- 9) К энергично перемешиваемому раствору пептида по каплям добавляли йод (0,1 М в MeOH) до сохранения желтой окраски. Через 10 минут по каплям добавляли тиосульфат натрия (0,1 М в воде) до исчезновения желтой окраски, при этом завершение реакции определяли помощью LCMS. Смесь лиофилизировали с получением неочищенного порошка.
- 10) Очищали неочищенный пептид препаративной HPLC (среда TFA), получая **соединение 2** (48,0 мг).

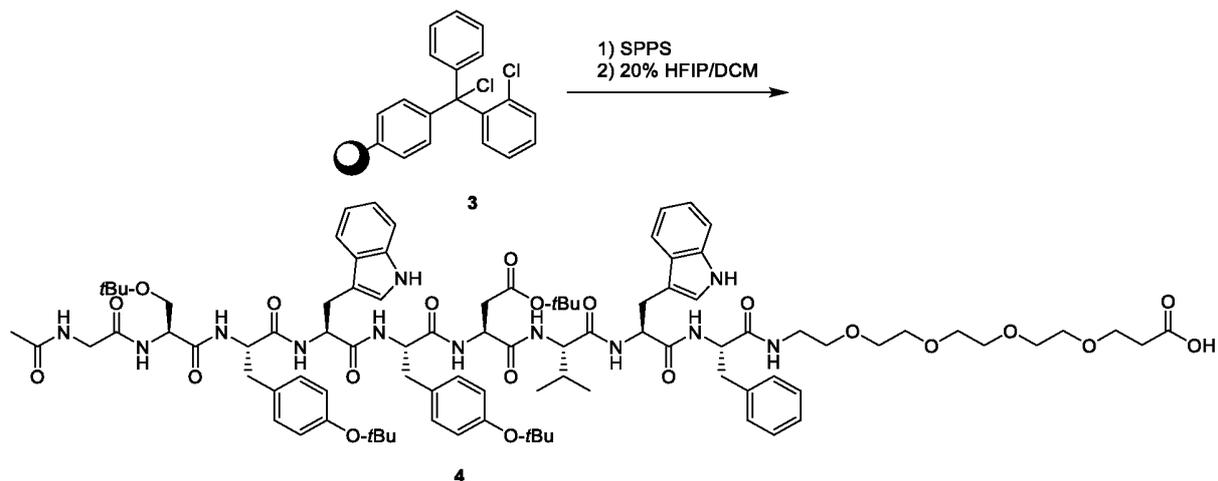




[0813] Смесь **соединения 2** (48,0 мг, 1,00 экв.) и FITC (9,29 мг, 1,00 экв.) растворяли в DMF (1 мл) и затем медленно добавляли DIEA (6,00 экв.). Смесь перемешивали при 20 °С в течение 2 часов. LCMS демонстрировала, что реакция завершилась. Затем смесь очищали непосредственно препаративной HPLC (среда TFA) и получали **I-44** (32,1 мг, чистота 97,0%, выход 83,7%) в виде твердого вещества желтого цвета. MS: m/z 1200 $[M+2H]^{2+}$. В качестве примера ниже описана процедура очистки:

| Условия разделения | |
|---------------------|--|
| Подготовка образцов | Растворение в DMF |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: CH ₃ CN |
| Градиент: | 35-65%-60 мин. Время удерживания: 48 мин |
| Колонка | Luna C 18, 25*200 мм, 10 мкм, 110 A + Gemini C 18, 150*30 мм, 5 мкм, 110 A |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

[0814] **Пример 28. Типовой синтез Соединения I-45.**



[0815] Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии. В качестве примера ниже описана процедура:

- 1) Добавьте DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (1,00 ммоль, 1,00 г, 1,0 ммоль/г) и Fmoc-NH-PEG₄-COOH (0,39 г, 0,80 ммоль, 0,8 экв.) с барботированием N₂.
- 2) Добавляли по каплям DIEA (4,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов.
- 3) Добавляли MeOH (1 мл) и перемешивали в течение 30 мин.
- 4) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 5) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 6) Сливали воду, а затем промывали DMF в течение 30 секунд 5 раз.
- 7) Добавляли раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивали в течение 30 секунд, затем добавьте буфер для активации, барботируя N₂ в течение примерно 1 часа.
- 8) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 9) Повторяли стадии с 4 по 8 для соединения следующей аминокислоты.

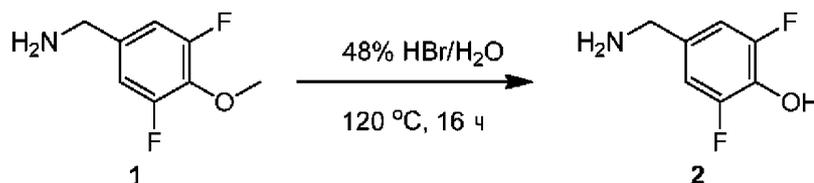
Синтезированная шкала: 1,0 ммоль.

| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|---|---|-----------------------------------|
| 1 | Fmoc-NH-PEG ₄ -COOH (0,8 экв.) | DIEA (4,0 экв.) |
| 2 | Fmoc-Phe-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 3 | Fmoc-Phe-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 4 | Fmoc-Val-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 5 | Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |

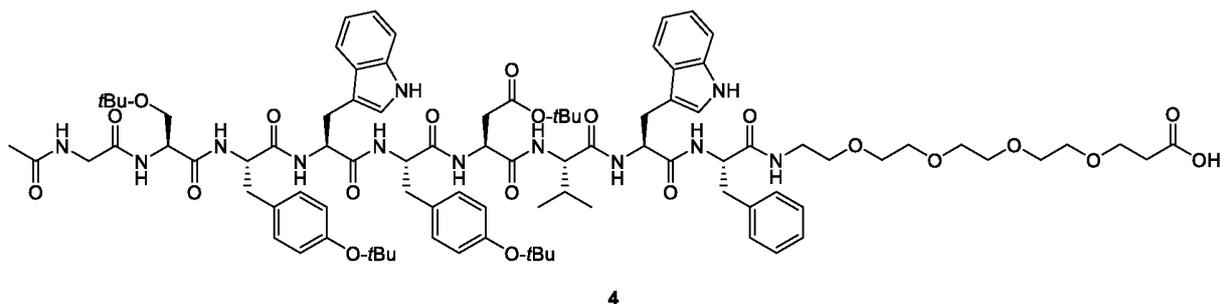
| | | |
|----|--------------------------------------|--|
| 6 | Fmoc-Tyr(<i>t</i> Bu)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 7 | Fmoc-Trp-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 8 | Fmoc-Tyr(<i>t</i> Bu)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 9 | Fmoc-Ser(<i>t</i> Bu)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 10 | Fmoc-Gly-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 11 | Ac ₂ O | Ac ₂ O/NMM/DMF (10/5/85, 10 мл) |

[0816] Для снятия защиты с Fmoc применяли 20% пиперидин в DMF в течение 30 минут. Реакции связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали DMF 5 раз. После соединения последней аминокислоты смолу промывали MeOH 3 раза, а затем сушили в вакууме. В некоторых вариантах осуществления пептид расщепляли и очищали с помощью следующей процедуры:

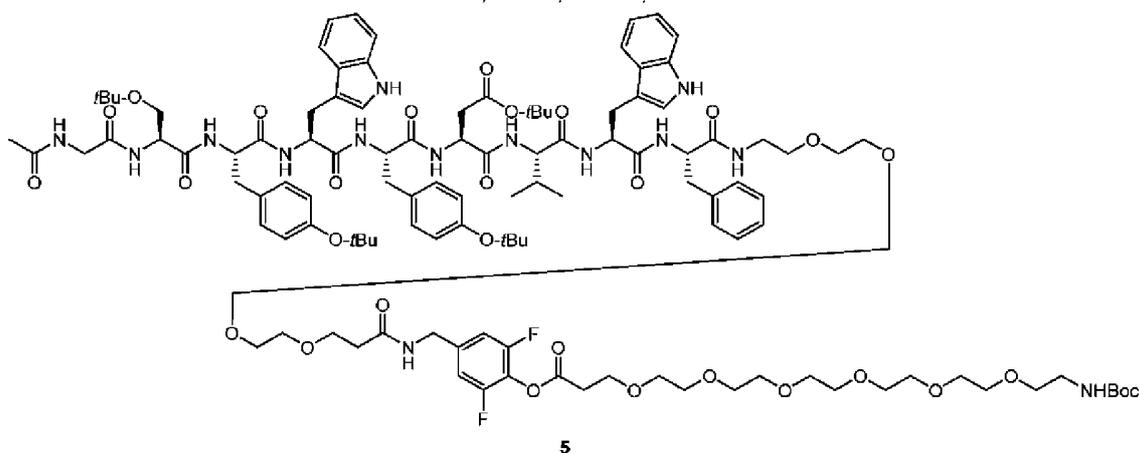
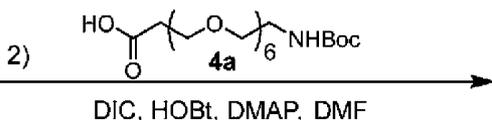
- 1) Пептидную смолу дважды обрабатывали 20% HFIP/DCM (20 мл) в течение 30 мин. После фильтрации объединенный фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка.
- 2) Остаток растворяли в MeCN (5 мл). Раствор осаждали холодной водой (50 мл), после фильтрации твердое вещество сушили лиофилизацией.
- 3) Получали **соединение 4** (800 мг, чистота 95,0%, выход 58,4%).



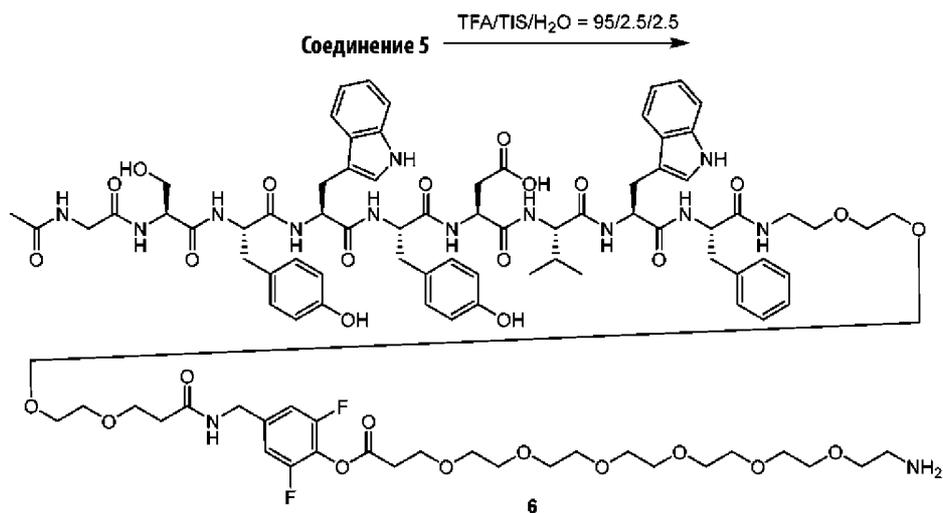
[0817] Раствор **соединения 1** (0,30 г, 1,73 ммоль) в HBr/H₂O (29,8 г, 176 ммоль, 20 мл) перемешивали при 120 °C в течение 16 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток растирали в MeCN (10 мл). После фильтрации твердое вещество сушили лиофилизацией, получая **соединение 2** (200 мг, 833,1 мкмоль, выход 48,1%, HBr) в виде коричневого твердого вещества. ¹H ЯМР: (400 MHz DMSO-*d*₆) δ ppm 10,43 (s, 1 H) 8,16 (s, 2 H) 7,13 - 7,26 (m, 2 H) 3,96 (s, 2 H),



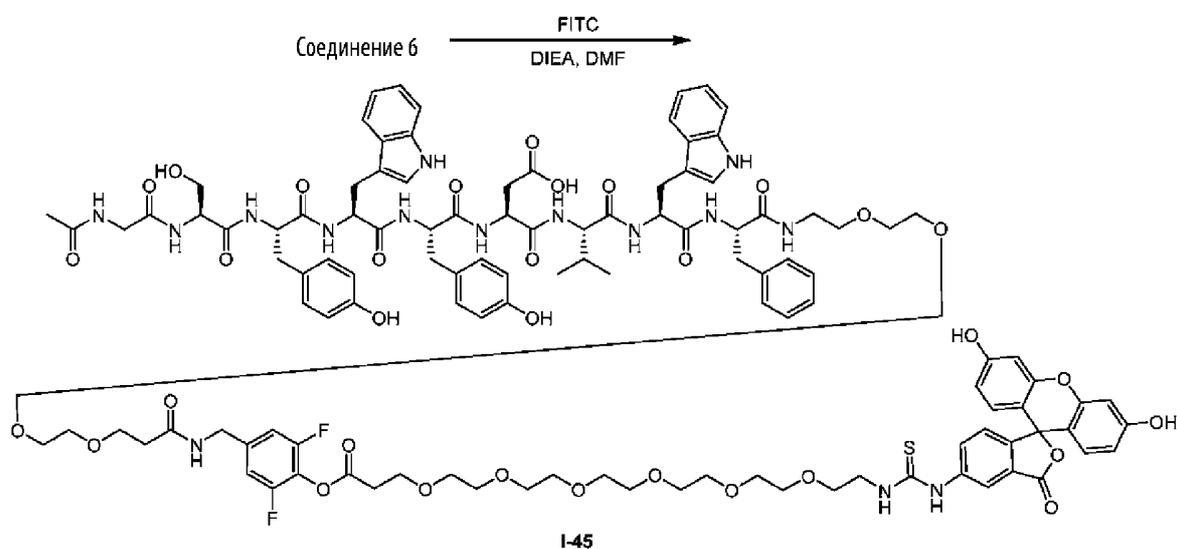
1) Соединение 2, DIC, HOBT, DIEA, DMF



[0818] Смесь **соединения 4** (400 мг, 230,4 мкмоль), **соединения 2** (82,9 мг, 345,6 мкмоль, HBr), DIC (43,6 мг, 345,6 мкмоль, 53,2 μ L), HOBT (62,3 мг, 460,8 мкмоль), DIEA (59,5 мг, 460,8 мкмоль, 80,3 мкл) в DMF (5 мл) перемешивали при 15 °C в течение 3 часов. Добавляли смесь, затем добавляли **соединение 4a** (104,5 мг, 230,4 мкмоль), DMAP (56,3 мг, 460,8 мкмоль), DIC (87,2 мг, 691,2 мкмоль, 107,0 мкл) при 15 °C, и полученную смесь перемешивали при 15 °C в течение дополнительных 16 часов. Смесь осаждали 1 М HCl (холодная, 40 мл) и центрифугировали (3 мин при 3000 об/мин), сушили при лиофилизации, получая **соединение 5** (532 мг, неочищенное) в виде белого твердого вещества.



[0819] Смесь **соединения 6** (532 мг, 230,2 мкмоль) в TFA (24,6 г, 215,5 ммоль, 15,9 мл), триизопропилсилане (307,6 мг, 1,94 ммоль, 399 мкл), H₂O (399 мг, 22,1 ммоль, 399 мкл) перемешивали. при 15 °С в течение 1 часа. Смесь осаждали изопропиловым эфиром (холодным, 50 мл) и центрифугировали (3 мин при 3000 об/мин), промывали изопропиловым эфиром еще два раза (50 мл), неочищенный пептид сушили в вакууме 2 часа. Остаток очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) с получением **соединения 7** (43,0 мг, 21,6 мкмоль, выход 9,4%) в виде белого твердого вещества.

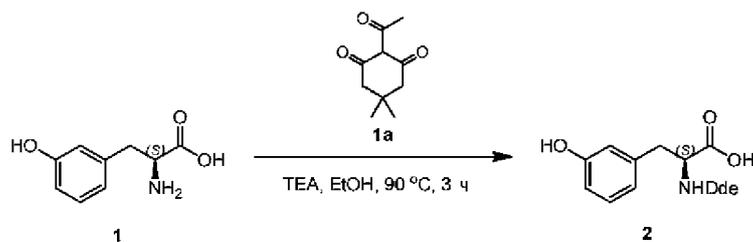


[0820] Смесь **соединения 7** (43,0 мг, 21,9 мкмоль), FITC (8,5 мг, 21,9 мкмоль), DIEA (5,7 мг, 43,9 мкмоль, 7,6 мкл) в DMF (0,5 мл) перемешивали при 15 °С в течение 1 часа. Смесь очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) с получением **I-45** (29,1 мг, чистота 95,5%, выход 60,5%, соль TFA) в виде твердого вещества желтого цвета. MS: m/z 1189,4 [M+2H]²⁺. В качестве

примера ниже описана процедура очистки:

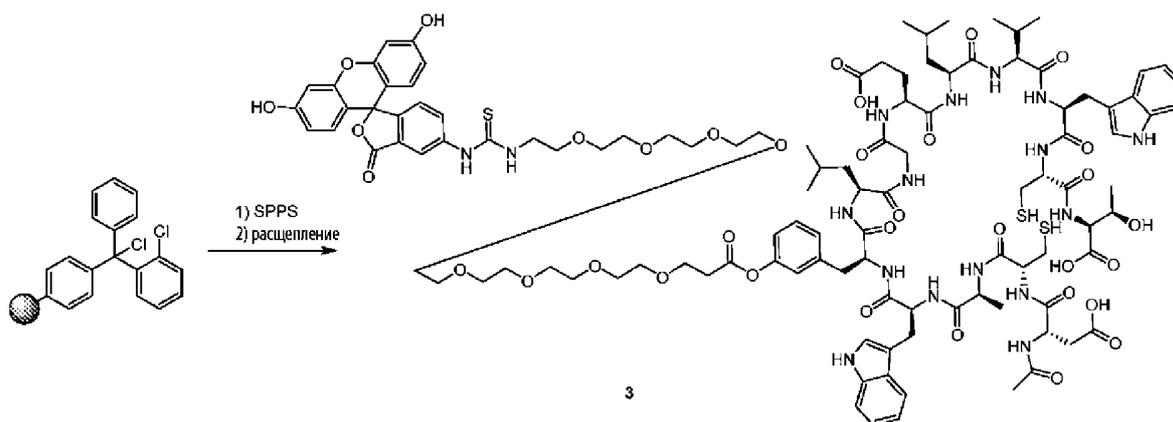
| Условия очистки | |
|---------------------|--|
| Подготовка образцов | Растворить в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |
| Градиент: | 30-60%-60 мин. Время удерживания: 33 мин |
| Колонка | Luna25*200 мм, C18 10 мкм, 110A+Gemin150*30мм, C18 5 мкм, 110A |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

[0821] Пример 29. Типовой синтез Соединения I-46.



[0822] Смесь **соединения 1** (0,30 г, 1,66 ммоль), **соединения 1a** (301,7 мг, 1,66 ммоль), TEA (251,3 мг, 2,48 ммоль, 345,6 мкл) в EtOH (40 мл) перемешивали при 90 °C в течение 3 часов.

Растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток растирали в 1 М HCl (20 мл) в течение 10 минут, после фильтрации твердое вещество сушили лиофилизацией с получением соединения 2 (500,0 мг, неочищенное) в виде белого твердого вещества.



[0823] Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии. В качестве примера ниже описана процедура:

- 1) Добавляли DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (0,10 ммоль, 0,10 г, 1,0 ммоль/г) и Fmoc-Thr(*t*Bu)-OH (39,7 мг, 0,10 ммоль, 1,0 экв.) с барботированием N₂.
- 2) Добавляли по каплям DIEA (6,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов.
- 3) Добавляли MeOH (0,10 мл) и перемешивали в течение 30 мин.
- 4) Сливали воду и промывали DMF 5 раз.
- 5) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 6) Сливали воду, а затем промывали DMF в течение 30 секунд 5 раз.
- 7) Добавляли раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивали в течение 30 секунд, затем добавьте буфер для активации, барботируя N₂ в течение примерно 1 часа.
- 8) Добавляли 20% пиперидин/DMF и перемешивали в течение 30 минут.
- 9) Повторяли стадии с 4 по 8 для соединения следующей аминокислоты.

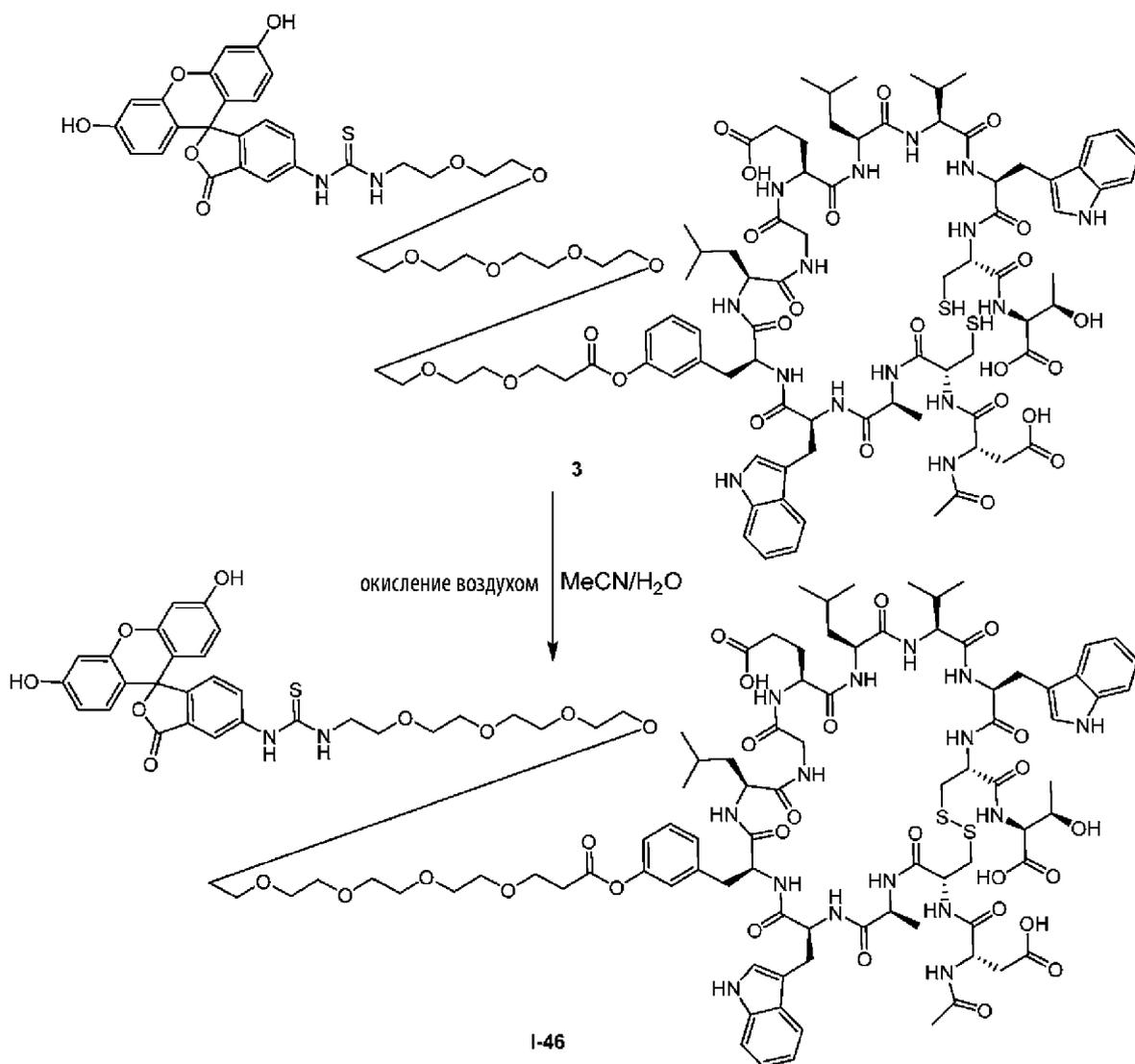
Синтезированная шкала: 0,10 ммоль.

| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|---|--------------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | Fmoc-Thr(<i>t</i> Bu)-OH (0,8 экв.) | DIEA(6,0 экв.) |
| 2 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 3 | Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 4 | Fmoc-Val-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 5 | Fmoc-Leu-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |

| | | |
|----|---|---|
| 6 | Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 7 | Fmoc-Gly-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 8 | Fmoc-Leu-OH (3,0 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA(6,0 экв.) |
| 9 | Соединение 2 (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 10 | Fmoc-Trp(Вос)-OH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 11 | Fmoc-Ala-OH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 12 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 13 | Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.) |
| 14 | 10%AC ₂ O/5%NMM/85%DMF (10 мл) | Н/Д |
| 15 | Fmoc-NH-PEG ₆ -CH ₂ CH ₂ COOH (3,0 экв.) | DIC (3,0 экв.) и HOBT (3,0 экв.), DMAP (3,0 экв.) |
| 16 | FITC (2,0 экв.) | DIEA (4,0 экв.) |

[0824] Для снятия защиты с Fmoc применяли 20% пиперидин в DMF в течение 30 минут. 3% гидразингидрата в DMF применяли для снятия защиты с Dde в течение 30 мин. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали DMF 5 раз. После последнего связывания смолу промывали MeOH 3 раза, а затем сушили в вакууме. После образования пары с FITC, пептид обрабатывали в темноте. В некоторых вариантах осуществления пептид расщепляли и очищали с помощью следующей процедуры:

- 11) Добавляли коктейль для отщепления (92,5% TFA/2,5% 3-меркаптопропановой кислоты/2,5% H₂O/2,5% TIS) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре, и перемешивали смесь в течение 1 часа.
- 12) Пептид осаждали холодным изопропиловым эфиром и собирали центрифугированием (3 мин при 3000 об/мин).
- 13) Осадок промывали холодным изопропиловым эфиром еще два раза.
- 14) Неочищенный пептид сушили под вакуумом в течение 2 часов.
- 15) Получали **соединение 3** (100,0 мг, неочищенное) в виде твердого вещества желтого цвета.



[0825] **Соединение 3** (100,0 мг, 41,43 мкмоль) растворяли в смеси MeCN (50 мл) и H₂O (50 мл) и перемешивали при 15 °С в темноте для образования дисульфида при окислении воздухом в течение 16 часов. Раствор подкисляли 1 М HCl до pH = 3, сушили в условиях лиофилизации. Остаток очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) с получением **соединения I-46** (1,1 мг, 4,33e-1 мкмоль, выход 1,0%, чистота 91,8%) в виде твердого вещества желтого цвета. MS: m/z 1207,0 [M+2H]²⁺. В качестве примера ниже описана процедура очистки:

| Условия очистки | |
|---------------------|------------------------------------|
| Подготовка образцов | Растворить в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |

| | |
|-----------------|---|
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |
| Градиент: | 35-65%-60 мин. Время удерживания: 40 мин. |
| Колонка | Luna25*200 мм, C18 10 мкм, 110A+Gemin150*30мм, C18 5 мкм, 110A° |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

[0826] **Пример 30. Предложенные технологии обеспечивают значительно повышенную эффективность.**

[0827] Помимо прочего, предложенные технологии могут обеспечить повышенную эффективность (например, более высокие скорости и/или выходы) и/или селективность. Данные некоторых оценок приведены в данном документе в качестве примеров.

[0828] В некоторых вариантах осуществления целевым агентом является белковый агент. В некоторых вариантах осуществления целевой агент представляет собой агент антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются технологии конъюгации представляющих интерес фрагментов с антителами, например, даратумумаб, цетуксимаб и т. д.

[0829] В некоторых вариантах осуществления партнеры по реакции, например, соединения формулы R-I или их соли растворяют в DMSO до 5 мМ маточного раствора.

[0830] В некоторых вариантах осуществления реакцию проводят с 300 мкг антитела. В некоторых вариантах осуществления можно применять различные условия, включая различные буферы, эквиваленты реагентов, время реакции, температуру реакции и концентрации реакции.

[0831] Например, одна реакция представляет собой реакцию объемом 300 мкл реакции с 1 мг/мл антитела в PBS. Пептид I-45 (1 мкл 5 мМ маточного раствора в DMSO, 2,5 молярных эквивалента по отношению к даратумумабу) разводили в 284 мкл буфера PBS (10 мМ фосфата, 150 мМ хлорида натрия, pH 7,4), затем к реакционной смеси добавляли 15 мкл даратумумаба (20 мг/мл маточного раствора) с последующей инкубацией при комнатной температуре в темноте. Через 4 часа реакционный буфер заменяли с применением центрифужного фильтра Amicon Ultra (MWCO 30 кДа, объем 0,5 мл). Сначала глициновый буфер (100 мМ, pH 2,1) применяли для замены буфера, чтобы гарантировать диссоциацию фрагментов, связывающих цель, после реакции. Затем для дальнейшей замены и хранения буфера применяли фосфатно-солевой буфер

(рН 7,4).

[0832] В другом примере реакция представляет собой реакцию объемом 300 мкл с 1 мг/мл антитела в боратном буфере. Пептид I-44 (1,2 мкл 5 мМ маточного раствора в DMSO, 3,0 молярных эквивалента по отношению к даратумумабу) разводили в 284 мкл боратного буфера (100 мМ бората, рН 8,3), затем к реакционной смеси добавляли 15 мкл даратумумаба (20 мг/мл маточного раствора) с последующей инкубацией при комнатной температуре в темноте. Через 20 часов реакционный буфер заменяли с применением центрифужного фильтра Amicon Ultra (MWCO 30 кДа, объем 0,5 мл). Сначала глициновый буфер (100 мМ, рН 2,1) применяли для замены буфера, чтобы гарантировать диссоциацию фрагментов, связывающих цель, после реакции. Затем применяли фосфатно-солевой буфер (10 мМ фосфата, 150 мМ хлорида натрия, рН 7,4) для дальнейшей замены и хранения буфера.

[0833] Различные технологии можно применять для оценки результатов реакции в соответствии с данным изобретением.

[0834] Как продемонстрировано в данном документе, предлагаемые технологии, среди прочего, могут обеспечить повышенную эффективность и селективность конъюгации, не требуя дополнительных стадий реакции. В некоторых вариантах осуществления предлагаемые технологии могут избирательно конъюгировать желаемые представляющие интерес фрагменты с селективным остатком(ами) антительных агентов. Среди прочего, с помощью технологий по данному изобретению можно получать агенты с улучшенными свойствами и/или активностью (например, повышенной чистотой, гомогенностью и т. д.) с высокой эффективностью.

[0835] В некоторых вариантах осуществления пригодной технологией является анализ DAR на основе абсорбции. DAR (соотношение представляющих интерес фрагментов и фрагментов целевого агента (например, фрагменты антительного агента) рассчитывали для различных конъюгатов антител, например, в различных способах скрининга/оценки реагентов. Различные агенты, включающие фрагменты, связывающие цель, оценивали на эффективность конъюгации в качестве партнеров по реакции с целями, например, белковыми агентами, такими как антительные агенты, по сравнению с реагентами с такими же реакционными группами, но без фрагментов, связывающих цель. При определении различных соотношений «лекарственное средство»/фрагмент, представляющий интерес применяют краситель флуоресцеинизотиоцианат (FITC), конъюгированный с целевыми агентами, например, антительными агентами. Молярное соотношение DAR определяется как соотношение молей лекарственного средства/фрагмента, представляющего интерес, к молям целевого агента/антитела. Молярность рассчитывали по

абсорбции FITC (A_{485}) и антитела (A_{280}) конъюгированного продукта, а также по коэффициентам экстинкции FITC и антитела с применением закона Бера-Ламберта. Поправочный коэффициент 0,35 применяли для поправки на абсорбцию FITC при 280 нм. Для измерения абсорбции использовали считыватель для микропланшетов Biotek Synergy H1 и микропланшет Take3. Концентрация антител составляла по меньшей мере 3 мг/мл для оптимального отношения сигнал/шум в показаниях. Некоторые фрагменты, связывающие цель, которые могут обеспечить более высокий показатель DAR по сравнению с эквивалентными контролями (отсутствие фрагментов, связывающих цель), были выбраны в качестве попаданий для дальнейшего анализа. Некоторые данные оценки представлены ниже в качестве примеров.

[0836] Таблица 30-1. Определенные данные.

| Соединение | DAR |
|------------|-------|
| I-20 | 0,72 |
| I-21 | 0,18 |
| I-22 | -0,18 |
| I-23 | 0,14 |

Реакции проводили с даратумумабом, применяя 10 М экв указанного реагента в бикарбонатном буфере с pH 8,3, в течение 20 ч при 25 °C. DAR – это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC.

[0837] Таблица 30-2. Определенные данные.

| Соединение | DAR |
|------------|------|
| I-1 | 1,00 |
| I-2 | 1,76 |
| I-3 | 1,39 |
| I-4 | 0,24 |
| I-9 | 1,10 |
| I-10 | 0,14 |
| I-11 | 0,14 |
| I-14 | 0,29 |

| | |
|------|------|
| I-15 | 0,74 |
|------|------|

Реакции проводили с даратумумабом, применяя 10 М экв указанного реагента в бикарбонатном буфере с рН 8,3, в течение 2 ч при 37 °С. DAR — это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC.

[0838] Таблица 30-3. Определенные данные.

| Соединение | DAR |
|------------|-------|
| I-10 | 0,98 |
| I-11 | 0,14 |
| I-46 | 0,43 |
| I-24 | 0,83 |
| I-25 | 1,25 |
| I-26 | -0,10 |
| I-27 | -0,02 |
| I-30 | 0,22 |
| I-32 | 0,28 |
| I-33 | 0,33 |
| I-35 | 2,05 |
| I-36 | 5,03 |
| I-37 | 5,49 |

Реакции проводили с даратумумабом, применяя 30 М экв указанного реагента в боратном буфере с рН 8,3, в течение 20 часов при 37 °С. DAR – это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC.

[0839] Таблица 30-4. Определенные данные.

| Соединение | DAR |
|------------|------|
| I-6 | 0,00 |
| I-5 | 0,15 |
| I-13 | 0,09 |

| | |
|------|------|
| I-17 | 0,37 |
| I-7 | 0,01 |
| I-8 | 0,04 |
| I-12 | 1,44 |
| I-16 | 0,30 |

Реакции проводили с даратумумабом, применяя 5 М экв указанного реагента в бикарбонатном буфере с pH 8,3, в течение 20 ч при 37 °С. DAR – это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC.

[0840] Таблица 30-5. Определенные данные.

| Реагент М экв. | Темп. (°С) | Время | Буфер | pH | DAR с I-18 | DAR с I-35 | Кратность |
|-------------------|---------------|-------|--------|-----|---------------|---------------|-----------|
| 2,5 | 25 | 4 ч. | PBS | 7,4 | 0,05 | 0,25 | 5,46 |
| 5 | 25 | 4 ч. | PBS | 7,4 | 0,08 | 0,29 | 3,89 |
| 10 | 25 | 4 ч. | PBS | 7,4 | 0,15 | 0,54 | 3,57 |
| 2,5 | 25 | 4 ч. | Борат | 8,3 | 0,35 | 0,60 | 1,75 |
| 5 | 25 | 4 ч. | Борат | 8,3 | 0,42 | 0,99 | 2,37 |
| 10 | 25 | 4 ч. | Борат | 8,3 | 0,77 | 1,56 | 2,02 |
| 2,5 | 25 | 4 ч. | Ацетат | 6,2 | 0,08 | 0,20 | 2,65 |
| 5 | 25 | 4 ч. | Ацетат | 6,2 | 0,14 | 0,23 | 1,64 |
| 10 | 25 | 2 ч | Ацетат | 6,2 | 0,12 | 0,47 | 3,94 |

DAR – это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC. Как продемонстрировано в приведенной выше таблице, предлагаемые технологии могут значительно улучшить конъюгацию по сравнению с контрольными технологиями, не включающими фрагменты, связывающие цель, по отношению к целевому антителу.

[0841] Таблица 30-6. Определенные данные.

| | |
|------------|------|
| Соединение | DAR |
| I-46 | 0,15 |

| | |
|------|------|
| I-24 | 0,05 |
| I-25 | 0,10 |
| I-18 | 0,15 |
| I-35 | 0,30 |

Реакции проводили с даратумумабом, применяя 5 М экв указанного реагента в фосфатно-солевом буфере с pH 7,4 в течение 4 часов при 25 °С. DAR – это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC.

[0842] Таблица 30-7. Определенные данные.

| Соединение | DAR |
|------------|------|
| I-9 | 0,06 |
| I-45 | 0,64 |
| I-18 | 0,05 |
| I-38 | 0,52 |
| I-39 | 0,36 |
| I-40 | 0,40 |
| I-43 | 0,26 |
| I-11 | 0,05 |
| I-44 | 0,59 |
| I-10 | 0,08 |
| I-42 | 0,13 |
| I-19 | 0,20 |

Реакции проводили с даратумумабом, применяя 2,5 М экв указанного реагента в фосфатно-солевом буфере с pH 7,4 в течение 4 ч при 25 °С. DAR – это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC. Как продемонстрировано в данном документе, различные реагенты, содержащие фрагменты, связывающие цель, могут обеспечивать более высокий уровень конъюгации (более высокие соотношения представляющих интерес фрагментов/фрагментов целевого агента) по сравнению с эталонными реагентами, не содержащими фрагментов,

связывающих цель.

[0843] Таблица 30-8. Определенные данные.

| Конц. антител | Реагент М экв. | Темп. (°С) | Время | Буфер | pH | DAR I-9 | DAR I-45 | Кратность |
|---------------|----------------|------------|-------|-------|-----|---------|----------|-----------|
| 1 мг/мл | 2,5 | 25 | 20 ч. | PBS | 7,4 | 0,19 | 0,90 | 4,78 |
| 1 мг/мл | 3 | 25 | 20 ч. | PBS | 7,4 | 0,18 | 0,96 | 5,31 |
| 1 мг/мл | 3,5 | 25 | 20 ч. | PBS | 7,4 | 0,24 | 1,06 | 4,39 |
| 4 мг/мл | 2,5 | 25 | 20 ч. | PBS | 7,4 | 0,37 | 1,04 | 2,81 |
| 4 мг/мл | 3 | 25 | 20 ч. | PBS | 7,4 | 0,49 | 1,09 | 2,23 |
| 4 мг/мл | 3,5 | 25 | 20 ч. | PBS | 7,4 | 0,44 | 1,06 | 2,40 |

Реакции проводили с даратумумабом. DAR – это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC. Как продемонстрировано в данном документе, предложенные технологии могут обеспечить улучшенную конъюгацию в различных условиях.

[0844] Таблица 30-9. Определенные данные.

| Соединение | DAR | |
|------------|-------------|------------|
| | Даратумумаб | Цетуксимаб |
| I-9 | 0,06 | 0,03 |
| I-45 | 0,64 | 0,70 |
| I-18 | 0,05 | 0,04 |
| I-38 | 0,52 | 0,31 |
| I-39 | 0,36 | 0,46 |
| I-40 | 0,40 | 0,69 |

Реакции проводили с антителами, применяя 2,5 М экв указанного реагента в фосфатно-солевом буфере, pH 7,4, в течение 4 ч при 25 °С. DAR – это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC. Как продемонстрировано в данном документе, предлагаемые технологии, включающие фрагменты, связывающие цель, могут обеспечить значительно улучшенную конъюгацию для различных целевых агентов, включая различные реагенты антител.

[0845] Таблица 30-10. Определенные данные.

| Реагент М экв. | Темп. (°С) | Время | Буфер | pH | DAR (I-10) | DAR (I-44) | Кратность |
|----------------|------------|-------|-------|-----|------------|------------|-----------|
| 2,5 | 25 С | 4 ч. | PBS | 7,4 | 0,08 | 0,59 | 7,79 |
| 2,5 | 25 С | 20 ч. | PBS | 7,4 | 0,07 | 1,09 | 16,08 |
| 2,5 | 25 С | 20 ч. | Борат | 8,2 | 0,21 | 1,42 | 6,83 |
| 2,5 | 25 С | 20 ч. | PBS | 8,2 | 0,03 | 1,14 | 36,42 |
| 2,5 | 25 С | 20 ч. | PBS | 8,0 | 0,06 | 0,99 | 15,39 |
| 2,5 | 25 С | 20 ч. | PBS | 7,8 | 0,15 | 1,00 | 6,58 |
| 2,5 | 30 °С | 20 ч. | PBS | 7,4 | 0,05 | 1,15 | 21,43 |
| 2,5 | 37 С | 20 ч. | PBS | 7,4 | 0,17 | 1,66 | 9,77 |

Реакции проводили с даратумумабом в различных условиях. DAR – это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC. Как продемонстрировано в данном документе, предложенные технологии, включающие фрагменты, связывающие цель (например, I-44) по отношению к целевым агентам (например, даратумумаб), могут обеспечить значительно большую конъюгацию по сравнению с референсными технологиями, не содержащими фрагментов, связывающих цель, по отношению к целевым агентам (например, I-10) при различных условиях. Среди прочего, в данном изобретении предлагаются технологии для оценки различных условий для лучшего достижения желаемых результатов (например, DAR, кратность увеличения по сравнению с эталонными технологиями и т. д.).

[0846] Пример 31. Предложенные технологии обеспечивают значительно повышенную селективность.

[0847] Помимо прочего, предложенные технологии могут обеспечить значительно улучшенную селективность в отношении сайтов конъюгации, когда целевые агенты имеют множество сайтов, доступных для конъюгации. Например, как продемонстрировано в данном документе, в различных условиях различные предлагаемые технологии селективно конъюгируют с определенными цепями антителных агентов и/или селективными остатками антителных агентов. Среди прочего, в данном изобретении приводятся данные, демонстрирующие, что эффективность и/или селективность могут быть оптимизированы в соответствии с данным

изобретением.

[0848] В некоторых вариантах осуществления для оценки мест конъюгации антител (например, тяжелой цепи, легкой цепи и т. д.) применяли вестерн-блоттинг. Определенные данные представлены на Фигурах. Как продемонстрировано, технологии по данному изобретению могут обеспечивать различные уровни селективности. В некоторых вариантах осуществления различные технологии обеспечивают селективность в отношении тяжелых цепей по сравнению с легкими цепями.

[0849] В некоторых вариантах осуществления для вестерн-блоттинга образцы сначала обрабатывали на денатурирующем геле NuPage (например, Invitrogen, NP0321). Образцы загружали в количестве 50 нг на лунку. После разделения полос гель переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Invitrogen, IB23002) с помощью iBlot. Мембрану блокировали 5% сухим молоком в буфере PBST (PBS pH 7,4 с 0,1% Tween 20). В некоторых вариантах осуществления для обнаружения легких и тяжелых цепей, конъюгированных с флуоресцеином, первичным антителом было мышинное антитело против флуоресцеина (EMD Millipore, MAB045) в разведении 1:2500, а вторичным антителом было козье антитело против мышинного IgG, конъюгированное с HRP (Southern Biotech, 1038-05) в разведении 1:20000. Реагент для обнаружения антител на нитроцеллюлозной мембране готовили с применением SuperSignal West Femto Chemiluminescent Substrate (Thermo Fisher, 34096). Мембрану визуализировали на Azure Biosystems c500 для хемилюминесцентного сигнала.

[0850] В некоторых вариантах осуществления технологии для оценки предоставленных технологий представляют собой или включают масс-спектрометрию, необязательно с хроматографическими технологиями (например, HPLC, UPLC и т. д.). Например, различные агенты-продукты оценивали с помощью масс-спектрометрии, например, в некоторых вариантах осуществления, с применением системы Sciex X500 QTOF, оснащенной колонкой Agilent ZORBAX RRHD (300SB-C8, 2,1x50 мм, 1,8 мкм). В некоторых вариантах осуществления жидкостную хроматографию применяли вместе с MS. В одном примере: буферы мобильной фазы представляли собой: A = 0,1% раствор муравьиной кислоты в воде, B = ацетонитрил. Условия протокола: 0 – 1 мин, 2 % B; 1 – 7 мин, 2 – 40 % B; 7 – 7,5 мин, 40 – 80 % B; 7,5 – 9 мин, 80 % B; 9 – 9,5 мин, 80 – 2 % B; 9,5 – 10,5 мин, 2 % B; скорость потока 0,25 мл/мин; концентрация конъюгатов 0,1 мг/мин; объем инъекции 0,01 мл. В некоторых вариантах осуществления для анализа интактной массы применяли набор BioTool. В некоторых вариантах осуществления диапазон масс составлял 147 000–155 000 и m/z 2200–3400.

[0851] В некоторых вариантах осуществления для оценки предложенных технологий применяли анализ пептидного картирования. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный и неконъюгированный даратумумаб расщепляли до пептидов с применением трипсина, и пептиды, включающие конъюгацию, количественно определяли по ионной массе. В некоторых вариантах осуществления расщепление трипсином выполняли следующим образом:

1. Аликвотировали 25-50 мкг образца общего белка в пробирку Эппендорфа с чистым белком для связывания.
2. Обмен буфера образца на буфер Smart Digest с проводили с применением колонок для гель-фильтрации MWCO 7 кДа и протокола, предоставленного Thermo Scientific.
3. Добавляли любой необходимый буфер Smartdigest в образец с замененным буфером, чтобы получить окончательный объем 100 мкл.
4. Добавляли 5 мкл раствора Smart Trypsin в образец с замененным буфером.
5. Расщепляли белок в течение 15 минут при 70°C на сухой бане (добавляли воду в лунку, чтобы обеспечить надлежащий перенос тепла на образец).
6. Удаляли образец из бани и давали ему остыть до комнатной температуры.
7. К образцу белка добавляли 1 мкл раствора TCEP Bond Breaker.
8. Инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут (вдали от света).
9. Добавляли 10 мкл 5% водного раствора TFA к образцу для подкисления и перемешивали на вортексе.
10. Прокручивали образец в течение 3 минут в настольной центрифуге при 12 000 rcf.
11. Переносили образец в чистую пробирку автоматического пробоотборника, стараясь не повредить нерасщепленный белковый осадок.

[0852] В некоторых вариантах осуществления условия прибора для анализа были следующими:

LC:

Waters Acquity I-класс UPLC

Мобильные фазы:

A: 0,05% водный раствор TFA

B: 0.05% TFA в ацетонитриле

Колонка:

ACQUITY UPLC Пептид ВЕН C18 Колонка 1,7 мкм, 2,1 мм x 100 мм

Градиент:

Удерживание 2% В в течение первой минуты.

2-65% В более 1-60 минут

MS:

Thermo LTQ Орбитрэп Velos Pro

MS1, исходные ионы, разрешение 30000 при 400 Да; диапазон: 300-2000 Да, используется фиксированная масса для обеспечения точности в пределах 5 ppm

Метод, зависящий от данных, с порогом общего количества ионов 20000 для запуска фрагментации исходного иона. Энергия столкновения 35 эВ (стандартная энергия столкновения для картирования пептидов)

[0853] В качестве примеров на Фигурах представлены различные данные MS. В некоторых вариантах осуществления конъюгация избирательно происходила на K246/K248 тяжелых цепей антитела, например, при использовании I-40 или I-45 (например, см. Фигуру 13). В некоторых вариантах осуществления сайты конъюгации включают K246 тяжелых цепей. В некоторых вариантах осуществления сайты конъюгации включают K248 тяжелых цепей. В некоторых вариантах осуществления сайты конъюгации включают K288/K290 тяжелых цепей. В некоторых вариантах осуществления сайты конъюгации включают K288 тяжелых цепей. В некоторых вариантах осуществления сайты конъюгации включают K290 тяжелых цепей. В некоторых вариантах осуществления сайты конъюгации включают K185 легких цепей. В некоторых вариантах осуществления сайты конъюгации включают K187 легких цепей. В некоторых вариантах осуществления сайты конъюгации включают K414 тяжелых цепей.

[0854] Дополнительные данные подтвердили, что предложенные технологии могут обеспечить эффективную и/или селективную конъюгацию с различными типами агентов антител (например, агентами моноклональных антител, агентами поликлональных антител, агентами объединенных антител, такими как IVIG, IgG1, IgG2, IgG3 и/или агентами антител IgG4 т.д.). Например, данные на Фигуре 22 подтверждают, что I-44 может эффективно и селективно обеспечивать конъюгацию в K246 и/или K248 тяжелой цепи (по сравнению с неспецифической конъюгацией, например, с применением I-10). В некоторых вариантах осуществления

предложенные технологии, например, I-44, применяли для конъюгации с деносуабом (IgG2) (например, см. Фигуру 27) и ниволумабом (IgG4) (например, см. Фигуру 28). Как подтверждено в данном документе, в некоторых вариантах осуществления остаток 251 и/или 253 тяжелой цепи IgG2 является селективно конъюгированным; в некоторых вариантах осуществления остаток 239 и/или 241 тяжелой цепи IgG2 является селективно конъюгированным. Специалистам в данной области техники, читающим данное описание, будет понятно, что различные типы антител также могут быть конъюгированы с высокой эффективностью и/или селективностью в соответствии с данным изобретением (например, с применением соединений и способов, которые содержат пригодные фрагменты, связывающие цель, для таких антител, и различные реакционные фрагменты и необязательно линкерные фрагменты, как описано в данном документе). Пригодный протокол картирования пептидов описан ниже в качестве примера; специалистам в данной области техники будет понятно, что другие протоколы, включая различные модификации и варианты протокола, описанного ниже, также могут применяться в соответствии с данным изобретением:

1. Определяли количество белков, например, с применением реагента Pierce 660.
2. В пробирках Эппендорфа с низкой степенью связывания разводили 10 мкг образца в 100 мкл Трис 50 mM pH 8,0.
3. Уменьшали количество белков, добавив 10 mM DTT (дитиотреитол) в течение 15 минут при 60 °C в блочном нагревателе.
4. Добавляли 15 mM иодацетамида для алкилирования при комнатной температуре в течение 30 минут в темноте.
5. Гасили реакцию, добавив 10 mM DTT.
6. Расщепляли белки с 0,33 мкг α -химотрипсина (Sigma) в течение ночи при 37 °C в термошейкере.
7. Подкисляли образцы 2 мкл 100% муравьиной кислоты.
8. Очищали пептиды на SPE с обращенной фазой Strata-X (Phenomenex). Пептид элюировали 60% ацетонитрилом с 2% муравьиной кислотой.
9. Сушили элюированные пептиды в потоке азота.
10. Восстанавливали пептиды в 25 мкл мобильной фазы А.
11. Разбавляли пептиды 1:10 в мобильной фазе А перед инъекцией на LC-MS/MS, например, в соответствии с приведенными ниже параметрами.

[0855] Инструмент для анализа в качестве примера:

LC: Eksigent microLC200 (Sciex)

Мобильные фазы:

A: 0,2% муравьиной кислоты и 3% DMSO в воде

B: 0,2% муравьиной кислоты и 3% DMSO в этаноле

Колонка: Luna Omega PS колонка с внутренним диаметром 0,3 мм, частицы 3 мкм, 100 мм (Phenomenex)

Градиент: 2-48% B в течение 25 минут при скорости потока 6 мкл/мин.

MS: ABSciex TripleTOF 6600+

MS1 (диапазон 350-1250 Да), разрешение 35000

Метод DDA с порогом 500 cps.

[0856] Как описано в данном документе, предложенные технологии могут обеспечить высокоэффективную и/или селективную (например, в отношении сайтов конъюгации) конъюгацию для различных типов антительных агентов (например, агентов моноклональных антител, агентов поликлональных антител или агентов объединенных антител, таких как IVIG). Помимо прочего, в настоящем описании представлены данные, подтверждающие, что технологии данного изобретения могут обеспечить высокоэффективную и/или селективную конъюгацию антител IgG2 и IgG4 (например, см. Фигуру 27 для некоторых данных по конъюгации для деносумаба (IgG2) и Фигуру 28 для некоторых данных по конъюгации ниволумаба (IgG4)). В некоторых вариантах осуществления реакции проводили в боратном буфере с pH 8,2, 2,5 М экв. реагента на антитело, 20 ч, 25 °C. Специалистам в данной области техники, читающим настоящее описание, будет понятно, что другие типы антител также могут быть конъюгированы с высокой эффективностью и/или селективностью в соответствии с данным изобретением (например, с применением соединений и способов, которые включает пригодные фрагменты, связывающие цель, для таких антител, и различные реакционные фрагменты и необязательно линкерные фрагменты, как описано в данном документе).

[0857] Пример 32. Предлагаемые агенты-продукты поддерживают свойства и функции целевых агентов.

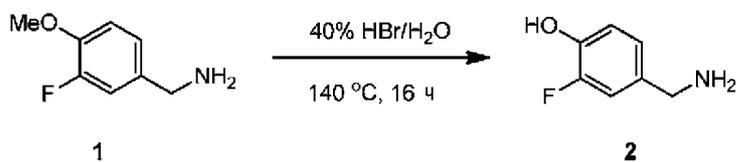
[0858] Помимо прочего, в предлагаемых технологиях применяются мягкие условия, короткие пути (например, отсутствие отдельного удаления фрагментов, связывающих цель) и т. д., а также предлагается конъюгация в указанных сайтах и агенты-продукты, которые сохраняют одно или большее количество или все желаемые свойства и/или активности целевых агентов (например, антительные агенты). Как продемонстрировано на Фигурах (например, Фигуры 7, 8, 9,

10 и т. д.), предлагаемые агенты, содержащие фрагменты антительного агента, могут поддерживать взаимодействие с Fc рецепторами (например, FcRn).

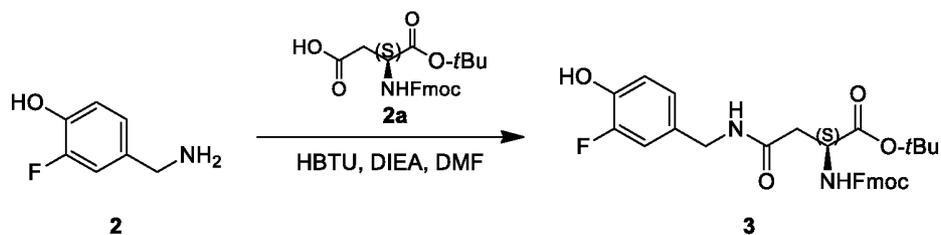
[0859] Для оценки свойств и/или активности целевых агентов (например, антительных агентов) пригодными являются различные технологии. Например, в некоторых вариантах осуществления для оценки связывания предлагаемых агентов с рецептором FcRn применяли анализ ELISA. В одном примере 96-луночный планшет с высоким связыванием (например, Costar 3922) покрывали нейтравидином (Thermo Fisher, 31000) в буфере PBS (pH 7,4), блокировали 5% бычьим сывороточным альбумином в буфере PBST, pH 7,4 (буфер PBS, pH 7.4 с 0,05% твин 20) с последующей иммобилизацией Avi-меченого белка FcRn (Acro Biosystems, FCM-H82W4) в буфере PBST с pH 6,0. После промывки с применением PBST pH 6,0, антитело (например, даратумумаб, эрбитукс и т. д.) и его конъюгаты связывали с FcRn на планшете в PBST pH 6,0. Все связанные антитела и конъюгаты детектировали в PBST pH 6,0 с применением антител против F(ab)₂ человека, конъюгированных с HRP. Реагентом для детекции был SuperSignal ELISA Pico Chemiluminescent Substrate (Thermo fisher, 37069) с последующим считыванием люминесценции на считывателе для микропланшетов Biotek Synergy H1.

[0860] Пример 33. Типовой синтез Соединения I-53.

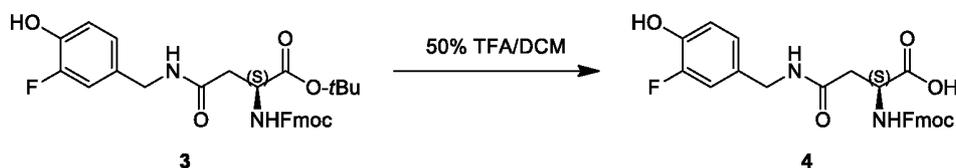
[0861] Помимо прочего, в данном изобретении предложены технологии получения описанных в данном документе соединений. В качестве примера ниже описан процесс получения соединения I-53.



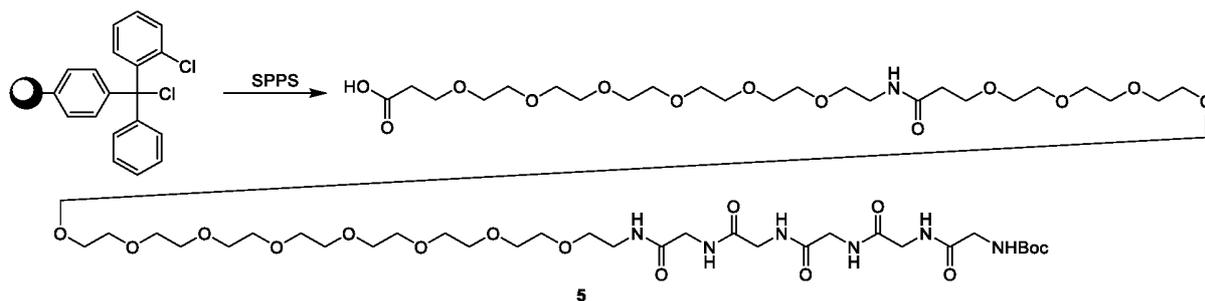
[0862] Смесь соединения 1 (3,00 г, 19,3 ммоль) в HBr/H₂O (149,0 г, 736,6 ммоль, 100 мл, чистота 40%) перемешивали при 140 °C в течение 16 часов. Растворитель удаляли при 70 °C при пониженном давлении, остаток растирали в MeCN (30 мл) в течение 10 мин. После фильтрации твердое вещество сушили лиофилизацией с получением соединения 2 (4,00 г, 18,0 ммоль, выход 93,17%, HBr) в виде коричневого твердого вещества. ¹H ЯМР: ES9329-522-P1B (400 MHz DMSO-*d*₆): δ ppm 10,06 (s, 1 H) 8,11 (s, 3 H) 7,30 (dd, *J* = 12,17, 1,63 Hz, 1 H) 7,09 (d, *J* = 8,28 Hz, 1 H) 6,93 - 7,04 (m, 1 H) 3,93 (q, *J* = 5,27 Hz, 1 H) 3,87 - 4,00 (m, 1 H).



[0863] Смесь соединения 2 (3,00 г, 13,51 ммоль, HBr, 1,00 экв.), соединения 2a (5,56 г, 13,51 ммоль, 1,00 экв.), HBTU (5,12 г, 13,51 ммоль, 1,00 экв.), DIEA (5,24 г, 40,5 ммоль, 7,06 мл, 3,00 экв.) в DMF (50 мл) перемешивали при 15 °С в течение 1 часа. Смесь добавляли к 0,5 М HCl (холодная, 500 мл), и появлялось много белого твердого вещества. После фильтрации твердое вещество сушили лиофилизацией с получением соединения 3 (7,00 г, неочищенное) в виде белого твердого вещества.



[0864] Смесь соединения 3 (7,00 г, 13,0 ммоль) в TFA (61,60 г, 540,2 ммоль, 40 мл) и DCM (40 мл) перемешивали при 15 °С в течение 0,5 часа. Растворитель удалили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно с получением соединения 4 (5,00 г, 10,4 ммоль, выход 79,8%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР: ES9329-561-P1C (400 MHz DMSO-*d*₆): δ ppm 12,68 (s, 1 H) 9,67 (s, 1 H) 8,33 (t, *J* = 5,65 Hz, 1 H) 7,90 (d, *J* = 7,28 Hz, 2 H) 7,71 (d, *J* = 7,28 Hz, 2 H) 7,39 - 7,47 (m, 2 H) 7,29 - 7,37 (m, 2 H) 7,02 (d, *J* = 12,05 Hz, 1 H) 6,84 - 6,90 (m, 2 H) 4,36 - 4,47 (m, 1 H) 4,26 - 4,30 (m, 2 H) 4,20 - 4,25 (m, 1 H) 4,17 (s, 2 H) 1,88 - 2,06 (m, 1 H) 1,24 (s, 3 H).



[0865] В некоторых вариантах осуществления пептид получали с помощью описанной ниже процедуры Fmoc-химии.

1) Получение смолы: В сосуд, содержащий смолу CTC (1,0 ммоль, 1,0 г, 1,00 ммоль/г) и Fmoc-PEG6-CH₂CH₂COOH (0,575 г, 1,0 ммоль, 1,00 экв.) в DCM (5 мл), по каплям добавляли DIEA (4,00 экв.) и перемешивали в течение 2 часов с барботированием N₂ при 15 °С. Затем добавляли MeOH (1,0 мл) и барботировали N₂ еще в течение 30 минут. Смолу промывали DMF (20 мл) *5. Затем добавляли 20% пиперидин в DMF (20 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. Затем смесь фильтровали для получения смолы. Смолу промывали DMF (20 мл)*5 перед переходом к следующему этапу.

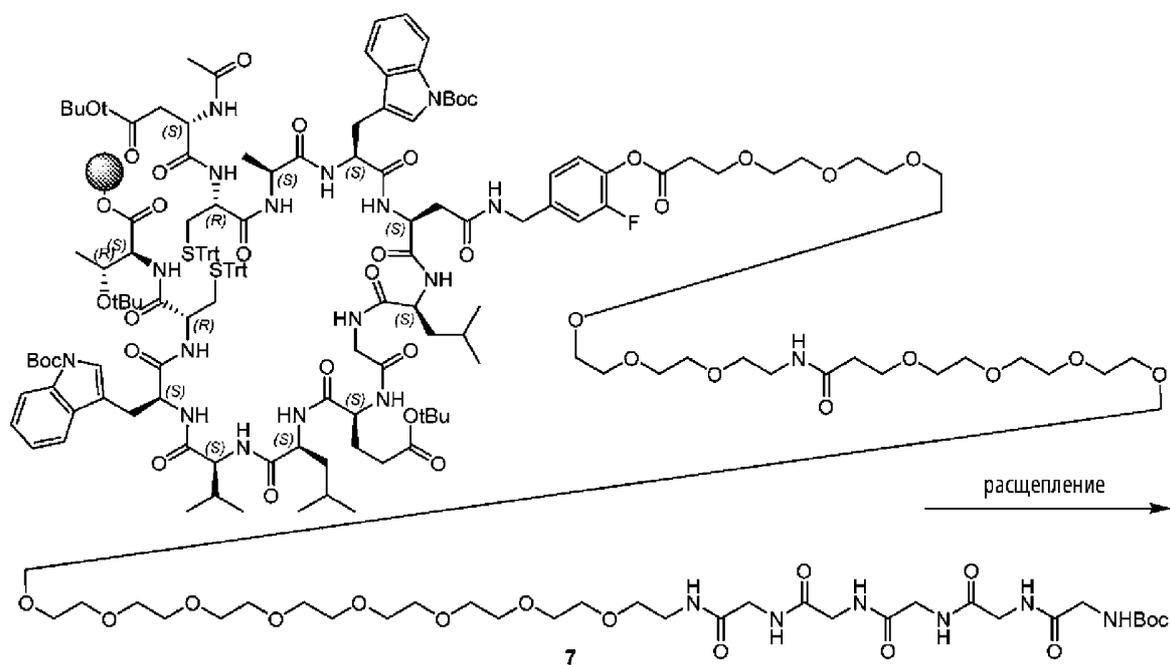
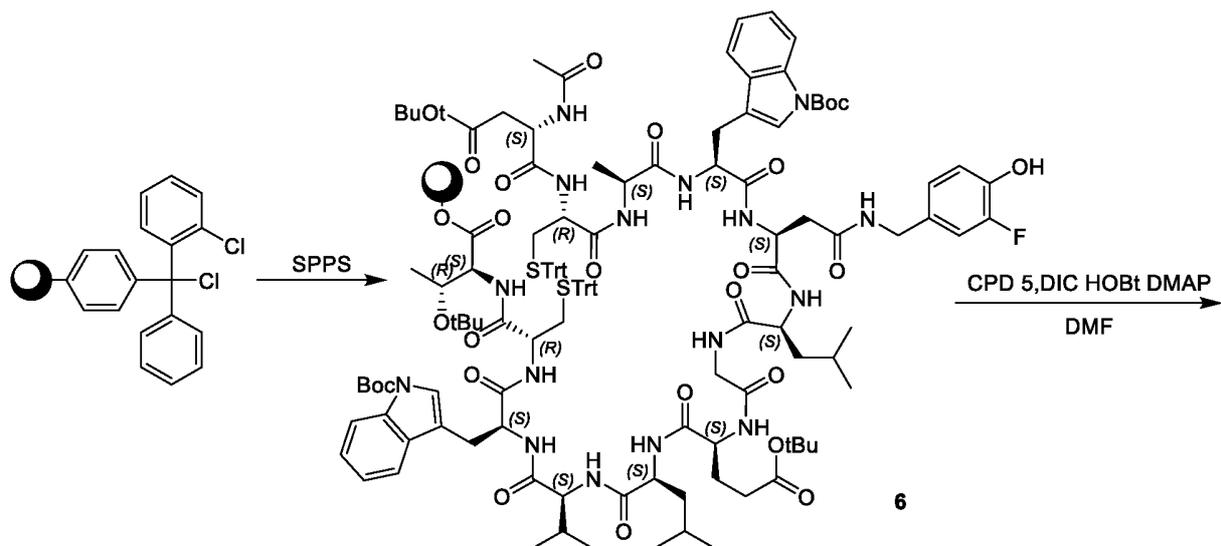
2) Связывание: К смоле добавляли раствор Fmoc-PEG12-CH₂CH₂COOH (1,26 г, 1,50 экв.), HATU (0,541 г, 1,43 экв.) в DMF (10 мл) при барботировании N₂. Затем к смеси по каплям добавляли DIEA (3,00 экв.) и барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, если реакция была бесцветной, то связывание было завершено. Затем смолу промывали DMF (20 мл) *5.

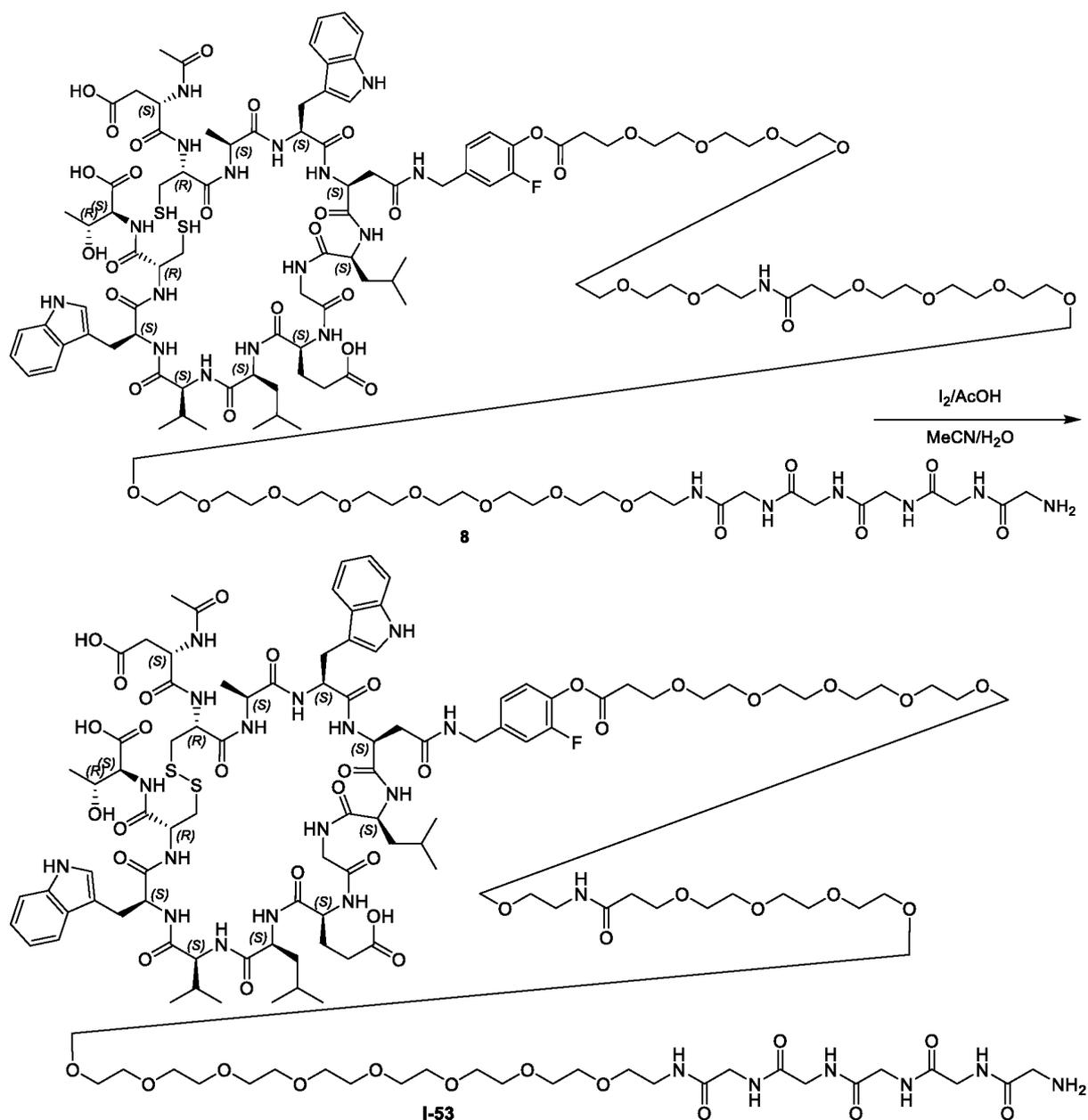
3) Снятие защиты: К смоле добавляли 20% пиперидин в DMF (20 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. Затем смолу промывали DMF (20 мл)*5. Реакцию снятия защиты контролировали с помощью нингидринового теста, если он демонстрировал синий или другой коричневато-красный цвет, реакция была завершена.

4) Повторение этапов 2 и 3 для всех остальных аминокислот: (2-4 в таблице ниже)

| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|---|---|-------------------------------------|
| 1 | Fmoc-PEG6-CH ₂ CH ₂ COOH (1,00 экв.) | DIEA (4,00 экв.) |
| 2 | Fmoc-PEG12-CH ₂ CH ₂ COOH (1,50 экв.) | HATU (1,43 экв.) и DIEA (3,00 экв.) |
| 3 | Fmoc-Gly-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 4 | Woc-Gly-Gly-Gly-OH (3,00 экв.) | HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |

[0866] Расщепление и очистка пептидов: Добавляли буфер для отщепления (20% HFIP/DCM, 30 мл) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре и перемешивали в течение 30 мин. Фильтровали и собирали фильтрат. Смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя. Остаток лиофилизировали с получением неочищенного соединения 5 (802 мг).





[0867] В некоторых вариантах осуществления пептид получали с помощью описанной ниже процедуры Fmoc-химии.

1) Получение смолы: В сосуд, содержащий смолу CTC (0,3 ммоль, 0,3 г, 1,00 ммоль/г) и Fmoc-Thr(tBu)-OH (0,119 г, 1,0 ммоль, 1,00 экв.) в DCM (5 мл), по каплям добавляли DIEA (4,00 экв.) и перемешивали. в течение 2 часов с барботированием N_2 при 15 °С. Затем добавляли MeOH (0,5 мл) и барботировали N_2 еще в течение 30 минут. Смолу промывали DMF (10 мл) *5. Затем добавляли 20% пиперидин в DMF (10 мл) и смесь барботировали N_2 в течение 30 минут при 15 °С. Затем смесь фильтровали для получения смолы. Смолу промывали DMF (10 мл)*5 перед

переходом к следующему этапу.

2) Связывание: К смоле добавляли раствор Fmoc-Cys(Trt)-OH (0,527 г, 3,00 экв.), HBTU (0,324 г, 2,85 экв.) в DMF (3 мл) при барботировании N₂. Затем к смеси по каплям добавляли DIEA (6,00 экв.) и барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, если реакция была бесцветной, то связывание было завершено. Если связывание не было завершено, его повторяли еще раз до тех пор, пока нингидриновый тест не становился бесцветным. Затем смолу промывали DMF (10 мл) *5.

3) Снятие защиты: К смоле добавляли 20% пиперидин в DMF (10 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. Затем смолу промывали DMF (10 мл)*5. Реакцию снятия защиты контролировали с помощью нингидринового теста, если он демонстрировал синий или другой коричневато-красный цвет, реакция была завершена.

4) Повторение этапов 2 и 3 для всех остальных аминокислот: (2-13 в Таблице ниже).

5) Ацетилирование: После связывания Fmoc-Asp(OtBu)-OH с последовательностью смолу промывали DMF и удаляли Fmoc. Затем смолу промывали DMF 5 раз, DCM 5 раз, а затем к смоле добавляли смешанный раствор, содержащий Ac₂O/NMM/DMF (об./об./об., 10/5/85, всего 20 мл) и реакция длилась 20 мин. Нингидриновый тест демонстрировал отсутствие свободного амина. Связывание для последнего положения: К смоле добавляли раствор соединения 5 (802 мг, 0,6 ммоль, 2,00 экв.), DIC (2,00 экв.), HOBT (2,00 экв.) и DMAP (2,00 экв.) и смесь барботировали азотом в течение 36 часов. Реакцию связывания контролировали с помощью LCMS после мини-расщепления, почти 50% составляла желаемая MS. Затем смолу промывали DMF (10 мл) *5, MeOH (10 мл) *5 и сушили в вакууме.

| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|---|---------------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | Fmoc-Thr(<i>t</i> Bu)-OH (1,00 экв.) | DIEA (4,00 экв.) |
| 2 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 3 | Fmoc-Trp-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 4 | Fmoc-Val-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 5 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 6 | Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 7 | Fmoc-Gly-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 8 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 9 | Соединение 4 (2,00 экв.) | DIC (2,00 экв.) и HOBT (2,00 экв.) |

| | | |
|----|-------------------------------|--|
| 10 | Fmoc-Trp-OH (3,00 экв.) | DIC (3,00 экв.) и HOBT (3,00 экв.) |
| 11 | Fmoc-Ala-OH (3,00 экв.) | DIC (3,00 экв.) и HOBT (3,00 экв.) |
| 12 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | DIC (3,00 экв.) и HOBT (3,00 экв.) |
| 13 | Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3,00 экв.) | DIC (3,00 экв.) и HOBT (3,00 экв.) |
| 14 | Ac ₂ O | Ac ₂ O/NMM/DMF (10/5/85, 20 мл) |
| 15 | Соединение 5(2,00 экв.) | DIC (2,00 экв.), HOBT (2,00 экв.) и DMAP (2,00 экв.) |

[0868] Расщепление и очистка пептидов: Добавляли буфер для отщепления (95%TFA/2.5%Tis/2.5%H₂O, 15 мл) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре и перемешивали в течение 1 ч. Фильтровали и собирали фильтрат. Пептид осаждали холодным изопропиловым эфиром (100 мл) и центрифугировали (3 мин при 3000 об/мин). Два дополнительных раза промывали изопропиловым эфиром и сушили неочищенный пептид в вакууме в течение 2 часов. Остаток очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) с получением соединения 420 (17,3 мг, выход 1,99%, чистота 95,3%) в виде белого твердого вещества. Наблюдаемый LCMS + ESI (m/z, основные пики): 1447,8, 965,5, 724,4. В качестве примера ниже приведен протокол очистки:

| Условия очистки | |
|---------------------|--|
| Подготовка образцов | Растворение в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |
| Градиент: | 15-45%-60 мин. Время удерживания: 51 мин |
| Колонка | Luna 25*200 мм, C 18 10 мкм, 110 Å + Gemin 150*30 мм, C18 5 мкм, 110 Å |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

[0869] Также были получены различные другие соединения, например, соединения I-54, I-55, I-56, I-57, I-58 и т.д.

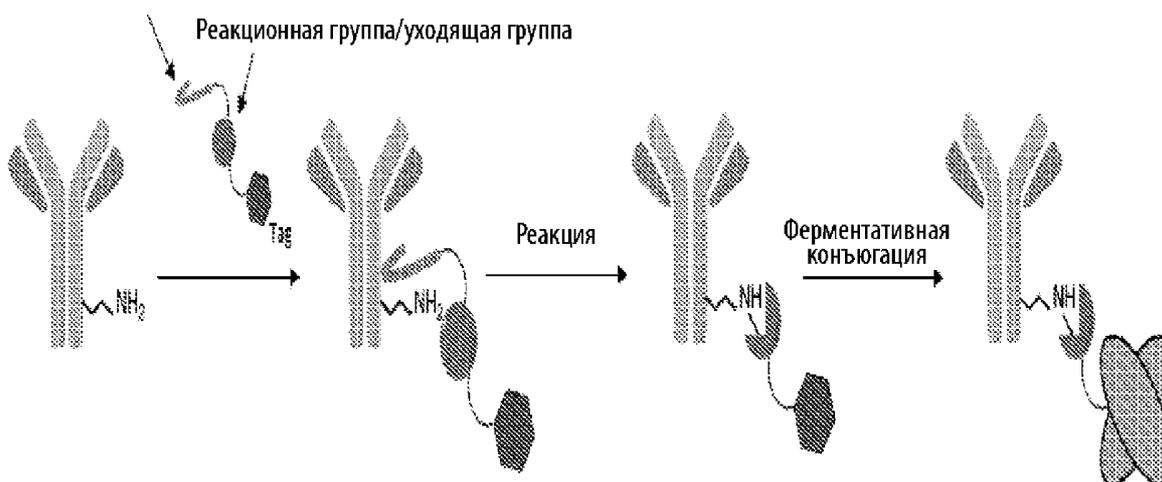
[0870] **Пример 34. Получение агентов, содержащих фрагменты множества антительных агентов.**

[0871] Помимо прочего, в данном изобретении предлагаются технологии получения агентов, содержащих фрагменты, обладающие различной специфичностью, например, антительные фрагменты по отношению к разным антигенам. В некоторых вариантах осуществления такие агенты могут быть получены, как описано в данном документе, путем взаимодействия первого соединения, которое содержит фрагмент целевого агента, который представляет собой или содержит фрагмент первого антитела, первый представляющий интерес фрагмент, который представляет собой или содержит первый реакционный фрагмент, и необязательно линкерный фрагмент, со вторым соединением, которое содержит второй реакционный фрагмент и второе антитело. В некоторых вариантах осуществления каждый из первого и второго агентов независимо представляет собой соединение формулы P-I или P-II или его соль. Помимо прочего, предложенные технологии обеспечивают различные преимущества, например, с их помощью можно легко конъюгировать существующие антительные агенты с другими антительными агентами для получения агентов, содержащих фрагменты множества антительных агентов, которые могут иметь различную специфичность. В некоторых вариантах осуществления агент-продукт представляет собой агент биспецифического антитела. В данном документе описан пример, подтверждающий различные эффекты и/или преимущества предложенных технологий.

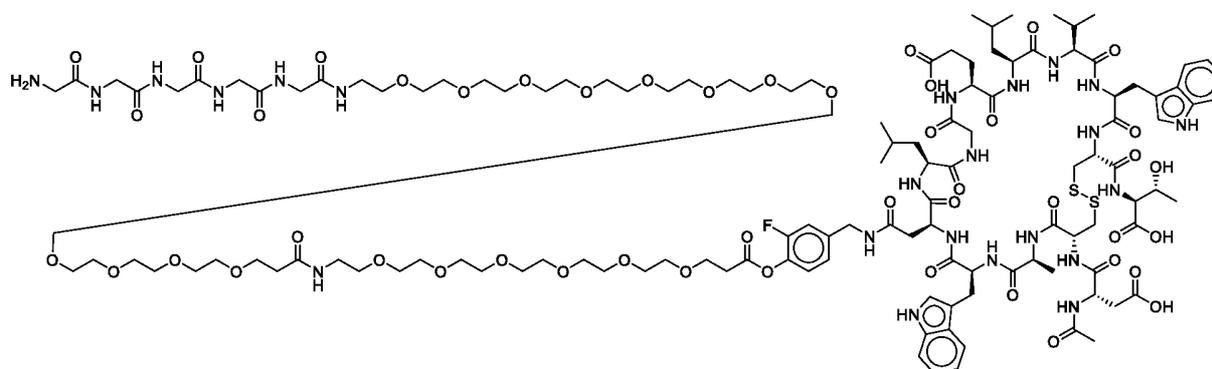
[0872] Первый агент, содержащий фрагмент первого антитела, например, фрагмент агента анти-CD20, такой как ритуксимаб, применяемый в настоящем примере, конъюгировали со вторым агентом, содержащим фрагмент второго антитела, например, CD3-направленный ScFv (SP34) для получения биспецифического агента, в данном примере CD20 × CD3. Могут быть конъюгированы агенты различных антител, в том числе агенты различных структур/форматов и/или пригодные для терапевтического и/или диагностического применения, например, ритуксимаб представляет собой химерное моноклональное антитело, применимое, например, для лечения В-клеточных лимфом и лимфоцитарных лейкозов. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются технологии, например, технологии усилителя терапии mAb (MATETM), которые могут обеспечить эффективную направленную химическую конъюгацию с «готовыми» терапевтическими антительными агентами, например, различные mAb и позволяют разрабатывать различные биспецифические терапевтические агенты. Среди прочего, технологии по данному изобретению, например, технологии MATE, обеспечивают химическую

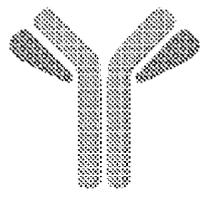
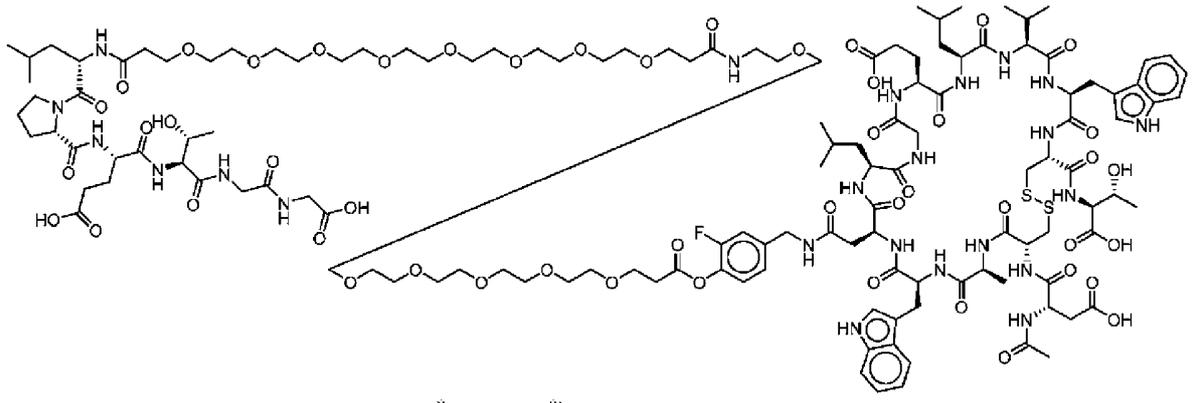
инженерию антительных агентов, например, различных существующих антител, без необходимости создания новых ДНК-векторов, или генную инженерию основных клеточных линий. В некоторых вариантах осуществления преимущества предложенных технологий включают 1) специфичность сайт-направленного конъюгирования и/или 2) отсутствие требований к генной инженерии по сравнению с некоторыми существующими способами, которые 1) не обладают специфичностью сайт-направленного конъюгирования за счет неизбирательного связывания/конъюгирования с доступными аминокислотными остатками и/или 2) требуют генной инженерии для создания конъюгированных меток. В некоторых вариантах осуществления ниже описана полезная технология, при которой метка, содержащая реакционный фрагмент, вводится в агент, содержащий фрагмент первого антитела, и используется для конъюгации с агентом, содержащим фрагмент второго антитела. В некоторых вариантах осуществления ферментативное конъюгирование стимулируется сортазой.

Молекула, связывающая антитело

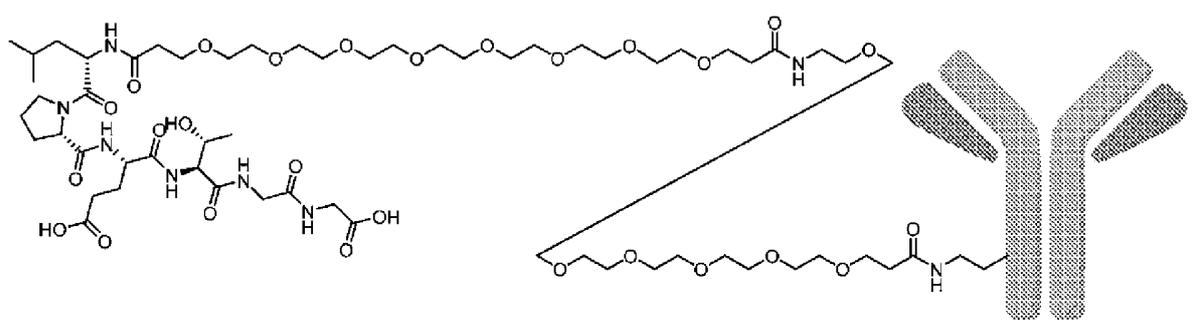


[0873] В некоторых вариантах осуществления пригодная схема изображена ниже:

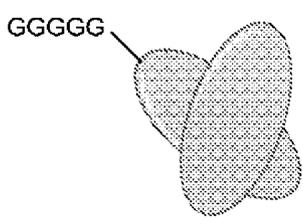




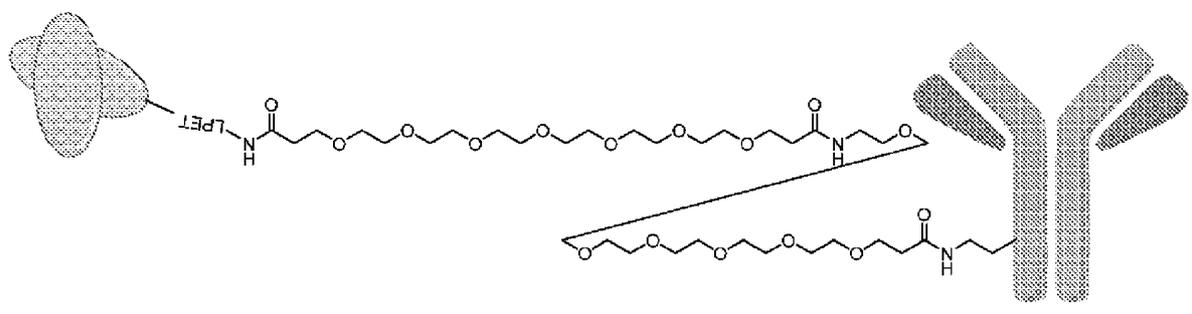
Антителные агенты, например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, например, ритуксимаб



Srt A

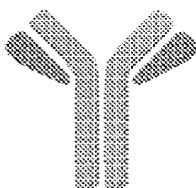
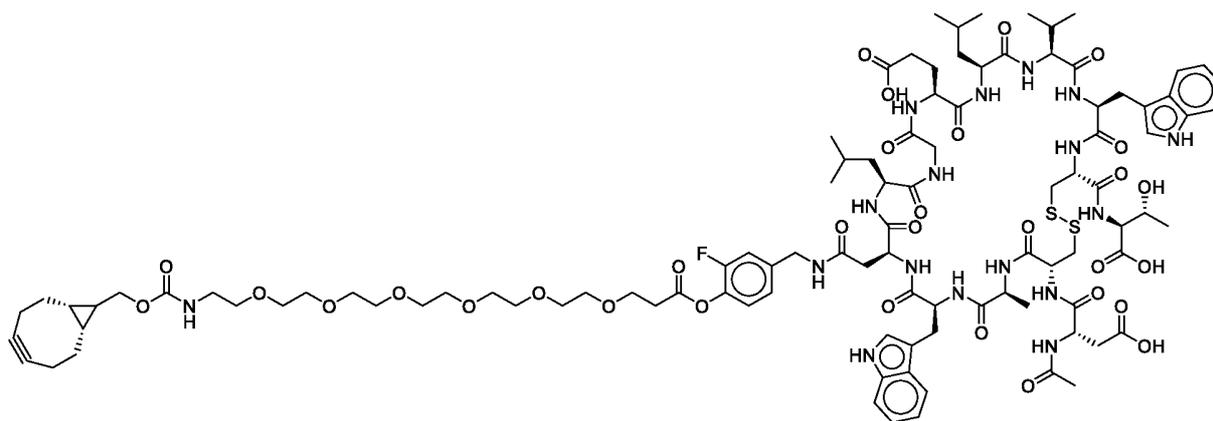


Белок с пентаглицином на N-конце

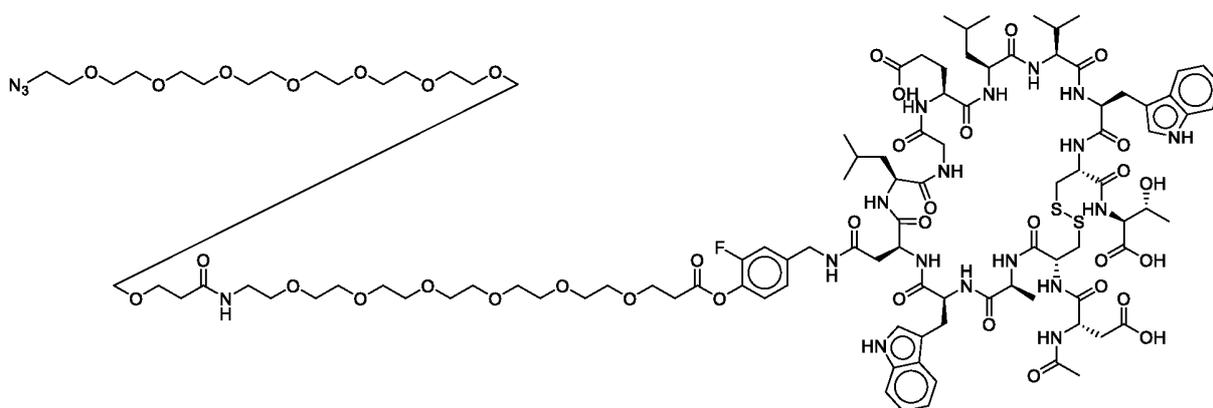
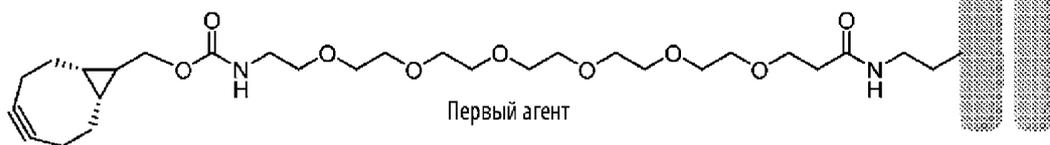


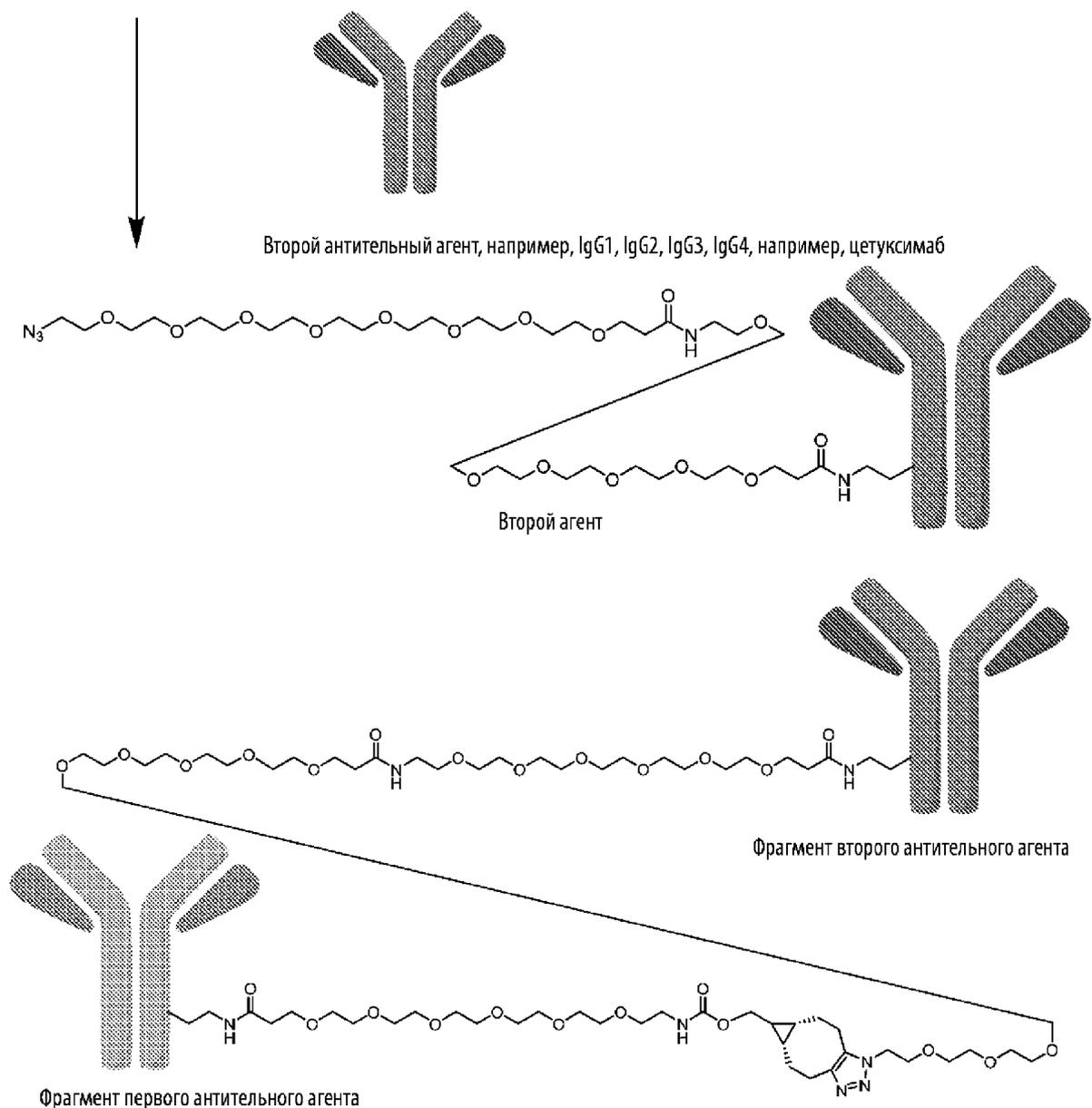
[0875]

В некоторых вариантах осуществления пригодная схема изображена ниже:



Первый антителный агент, например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, например, трастузумаб





Пример сайт-специфической химической конъюгации двух антител (например, трастузумаб-цетуксимаб для двойного EGFR-HER2-таргетинга)

[0876] В некоторых вариантах осуществления первый агент содержит реакционный фрагмент, который представляет собой или содержит $(G)_n$, где n равно 1-10. В некоторых вариантах осуществления n равно 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления фрагмент $(G)_n$ содержит свободную N-концевую аминогруппу. В качестве примера в данном документе описана процедура репарации меченого пентаглицином ритуксимаба. Ритуксимаб (для клинического применения) разводили до концентрации 1 мг/мл в 50 мМ боратном буфере с pH 8,2. Добавляли 2,5 молярных эквивалента I-53 и тщательно перемешивали. Реакции давали возможность

протекать в течение 20 ч при 25 °С при 800 об/мин. Реакционную смесь добавляли в 15-мл спин-колонку Amicon с MWCO 10000, а сверху добавляли стерильный фосфатно-солевой буфер pH 7,4. Спин-колонку центрифугировали в течение 30 минут при 2800 g в качающемся лопастном роторе. Затем спин-колонку заполняли стерильным 100 мМ глициновым буфером, pH 2,7, и центрифугировали, как описано выше. Повторяли промывание ритуксимаба, конъюгированного с пентаглициновой меткой, глициновым буфером, а затем pH раствора доводили до 7,4 с заменой буфера на PBS. В некоторых вариантах осуществления реакционный фрагмент, например, который представляет собой или содержит (G)_n, может быть включен при экспрессии антительного агента.

[0877] В некоторых вариантах осуществления второй агент содержит реакционный фрагмент, которая представляет собой или содержит LPXTG, где X представляет собой аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления второй агент содержит реакционный фрагмент, который представляет собой или содержит LPETG. В некоторых вариантах осуществления второй агент содержит реакционный фрагмент, которая представляет собой или содержит LPXTG-(X)_n, где каждый X независимо представляет собой аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления второй агент содержит реакционный фрагмент, которая представляет собой или содержит LPETG-(X)_n, где каждый X независимо представляет собой аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления n равно 1-10. В некоторых вариантах осуществления n равно 2-10. В некоторых вариантах осуществления n равно 3-10. В некоторых вариантах осуществления n равно 2. В некоторых вариантах осуществления n равно 3. В некоторых вариантах осуществления n равно 4. В некоторых вариантах осуществления n равно 5. В некоторых вариантах осуществления n равно 6. В некоторых вариантах осуществления n равно 7. В некоторых вариантах осуществления n равно 8. В некоторых вариантах осуществления n равно 9. В некоторых вариантах осуществления n равно 10. В некоторых вариантах осуществления реакционный фрагмент, который представляет собой или содержит LPXTG, может быть включен в качестве представляющего интерес фрагмента с помощью реакции, описанной в данном документе (например, путем взаимодействия с пригодным соединением, имеющим структуру R-I, или его солью). В некоторых вариантах осуществления реакционный фрагмент может быть включен при экспрессии антительного агента. В некоторых вариантах осуществления второй агент экспрессировали из клеток. В некоторых вариантах осуществления второй агент представляет собой или содержит
METDTLLLVWLLLWVPGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYN

NYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGGGGG
GGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLL
GGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGKTLTVLGSEKQLISEEDLGSGGGGSLPETGGSHHHHHH (SEQ ID
NO: 1), или его соль. В некоторых вариантах осуществления второй агент представляет собой II-I,
где II-I представляет собой пептид, последовательность которого представляет собой SEQ ID NO:
1), или его соль. В некоторых вариантах осуществления агент, например, II-1, экспрессировали из
экспрессионных векторов в HEK293, которые были оптимизированы по кодонам в условиях
низкого содержания эндотоксина. В некоторых вариантах осуществления для получения
мономерного scFv, например, для MATE, применяли аффинную очистку и эксклюзионную
хроматографию. Анализ связывания проводили с помощью программного обеспечения Octet Data
Analysis HT. Обработанные данные в целом соответствовали модели связывания 1:1 для
определения равновесной константы диссоциации (K_d).

[0878] С помощью различных технологий можно конъюгировать первый и второй агенты,
например, путем приведения в контакт первого и второго реакционных фрагментов. В некоторых
вариантах осуществления реакция представляет собой ферментативную реакцию. В некоторых
вариантах осуществления реакция активируется сортазой. В некоторых вариантах осуществления
способ включает приведение в контакт I-53 или его соли с II-I или его солью в присутствии сортазы.
В некоторых вариантах осуществления агент-продукт представляет собой агент CD20 x CD3. В
некоторых вариантах осуществления продукт содержит линкерный фрагмент продукта, который
представляет собой или содержит LPXTG. В некоторых вариантах осуществления продукт
содержит линкерный фрагмент продукта, который представляет собой или содержит LPXT(G) n , где
 n является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления
продукт содержит линкерный фрагмент продукта, который представляет собой или содержит
LPETG. В некоторых вариантах осуществления продукт содержит линкерный фрагмент продукта,
который представляет собой LPET(G) n или содержит LPET(G) n , где n является таким, как описано в
данном документе. В некоторых вариантах осуществления агент-продукт, состоящий из
аналогичного агента, полученного иным образом, обеспечивает ряд преимуществ, таких как
сохранение свойств/активности фрагментов антительных агентов, низкий уровень повреждения
фрагментов антительных агентов (например, в некоторых вариантах осуществления из-за
меньшего количества стадий и/или более мягких условий реакции), гомогенность, сайт-
специфичность, наличие линкеров с различными свойствами/активностями (например, такими,
которые не могут быть обеспечены пептидными линкерами природных аминокислот) и т. д. В

некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента поддерживают различные функции, например, связывание с целями, связывание с FcR (например, через Fc-домен) и т. д. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антительного агента поддерживают активность, например, эффекторные механизмы Fc, такие как ADCC, ADCP, и т. д. В некоторых вариантах осуществления включение второго типа фрагментов антительного агента вводит дополнительные свойства и/или активности, например, опосредованную Т-клетками иммунную активность (например, опосредованную Т-клетками цитотоксичность, зависящую от мишени активацию и рекрутирование Т-клеток и т. д.). В некоторых вариантах осуществления агенты, содержащие множество типов фрагментов антительного агента, обеспечивают повышенную активность по сравнению с одним или большим количеством или всеми индивидуальными типами фрагментов антительного агента, например, в некоторых вариантах осуществления, повышенное уничтожение целевых клеток, таких как раковые клетки. В качестве примера ниже описана процедура конъюгации.

[0879] Конъюгация анти-CD3 scFv с ритуксимабом. В реакции с сортазой использовали рекомбинантный пентамутантный фермент Сортаза А5 с активным мотивом для добавления SP34 ScFv. 2,5 молярных эквивалента scFv добавляли к конъюгированному ритуксимабу с I-53 (см. выше). К смеси добавляли 5 молярных эквивалентов NiCl₂ с получением 2:1 Ni²⁺ в scFv. CaCl₂ добавляли до 1 мМ. 250 мкг Сортазы А5 добавляли на 6 мг меченого ритуксимаба (3 мг scFv). Реакция проходила в течение 1 часа при 30 °С при 800 об/мин. Реакцию останавливали 50 мМ EDTA. Образец очищали эксклюзионной хроматографией с получением композиций ритуксимаб x SP34 scFv (III-1). В некоторых вариантах осуществления композиция агента-продукта может содержать определенные уровни непрореагировавших первого и/или второго агентов. Например, в некоторых вариантах осуществления композиция агента-продукта содержит ритуксимаб в дополнение к ритуксимабу, конъюгированному с SP34 ScFv. Определенные результаты проиллюстрированы на Фиг. 17. Образец анализировали на геле 4-12% NuPAGE при 150 В в течение 1,5 часов в рабочем буфере MOPS, затем окрашивали Кумасси синим. Редуцированная дорожка демонстрирует неконъюгированную легкую цепь (~30 кДа) и тяжелую цепь (~50 кДа), а также CD20 x CD3 (ритуксимаб x SP34 scFv, III-1) при ~80 кДа. Нередуцированная дорожка демонстрирует неконъюгированный ритуксимаб (нижняя полоса) и CD20 x CD3 (верхняя полоса). В некоторых вариантах осуществления агенты-продукты использовались без удаления ритуксимаба, который не конъюгирован с SP34 ScFv (например, в различных результатах анализов, описанных ниже).

[0880] Предлагаемые агенты, содержащие более одного фрагмента антительного агента, например, агенты CD20 x CD3 (например, ритуксимаб x SP34 scFv, описанные выше), могут быть оценены с помощью различных пригодных технологий в соответствии с данным изобретением, как *in vivo*, так и *in vitro*. Определенные анализы описаны ниже.

[0881] В некоторых вариантах осуществления связывание CD20 с ритуксимабом x SP34 scFv (III-1) оценивали и подтверждали с помощью биослойной интерферометрии с помощью Octet (Fortebio). Анализы связывания проводили с применением биосенсоров с белком А. Связывание CD3 $\epsilon\delta$, CD16a и FcRn определяли с помощью ELISA с использованием планшетов, покрытых нейтравидином. Применяли биотинилированный гетеродимерный белок CD3 ϵ и CD3 δ человека (метка Avi), CD16a (метка Avi) и CD16a человека. Считывания проводили с применением HRP против F(ab) человека.

[0882] В некоторых вариантах осуществления анализ представляет собой анализ цитотоксичности, опосредованной Т-клетками *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления нефракционированные и деплетированные по NK-клеткам PBMC получали из свежеразмороженных или предварительно стимулированных PMA + IL-2 PBMC. В-лимфобластные клетки Дауди (CD38⁺) были сконструированы для стабильной экспрессии репортерного фрагмента beta-gal с применением ретрочастиц KILR (Eurofins). Клетки-мишени обрабатывали III-1, ритуксимабом и контролями. PBMC вводили в соотношении эффектор:мишень 15:1 и инкубировали в течение 18 часов. Сигнал люминесценции получали с помощью люминометра для отображения гибели клеток-мишеней.

[0883] В некоторых вариантах осуществления предложенные технологии оценивали на животных моделях. В некоторых вариантах осуществления яванским макакам внутривенно вводили ритуксимаб или III-1 (30 мкг/кг). Критерии оценки включали клинические наблюдения, цитокиновый профиль и проточно-цитометрическое иммунофенотипирование Т-клеток, моноцитов, гранулоцитов, NK-клеток и В-клеток (CD45, CD3, CD16, CD14, NKG2A, HLA DR), а также клеточную активацию (CD44 и CD69).

[0884] В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлены данные, подтверждающие различные свойства и/или активности агентов, содержащих фрагменты множества антительных агентов, например, биоспецифических агентов. Например, в некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлены данные, подтверждающие, что после конъюгации фрагменты антительного агента все еще могут эффективно связываться со своими мишенями. В некоторых вариантах осуществления наблюдали, что аффинность

связывания CD20 с III-1 составляла 0,75 нМ. Связывание CD20 с ритуксимабом и III-1 было схожим, поэтому конъюгация CD3-связывающего ScFv не оказывала отрицательного влияния на аффинность к CD20. Результаты ELISA продемонстрировали, что III-1 связывается с CD3εδ, FcRn и CD16a, указывая на то, что конъюгация не препятствует связыванию с их различными фрагментами.

[0885] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлены данные, например, результаты *in vitro* опосредованной Т-клетками цитотоксичности, которые продемонстрировали активность связывания Fc/FcR и CD20 фрагментом ритуксимаба по сравнению со связыванием CD3 с эффекторными Т-клетками. В некоторых вариантах осуществления обогащение Т-клеток путем функциональной предварительной стимуляции PBMC повышало уничтожение клеток-мишеней в 2 раза. В некоторых вариантах осуществления механическое деплетирование NK-клеток указывает на то, что гибель клеток-мишеней индуцируется Т-клетками и может не индуцироваться или в относительно меньшей степени индуцироваться NK-клетками через ADCC. В некоторых вариантах осуществления наблюдалось, что III-1 вызывал уничтожение клеток-мишеней при EC₅₀ 0,03-0,07 нМ или 0,09-0,21 нМ для предварительно стимулированных или свежеразмороженных PBMC соответственно.

[0886] Различные свойства и/или активности предложенных агентов также были подтверждены на животных моделях. В некоторых вариантах осуществления исследования на яванских макаках продемонстрировали, что III-1 может активировать иммунные клетки, например, Т-клетки *in vivo*, о чем свидетельствует, например, повышенная экспрессия CD69 и CD44 (в некоторых вариантах осуществления наблюдалось 3- и 2-кратное увеличение соответственно) с пиком в некоторых случаях через 4 часа после введения дозы по сравнению с эквивалентной дозой ритуксимаба. В некоторых вариантах осуществления выраженное деплетирование В-клеток наблюдалось у животных, получавших III-1, уже через полчаса после введения дозы с частичным восстановлением к 7-14 дню, в то время как эквивалентная доза ритуксимаба индуцировала транзиторное деплетирование В-клеток с последующим более быстрым возвратом к исходному уровню.

[0887] Среди прочего, этот Пример подтверждает, что данное изобретение может предоставлять агенты, содержащие множество типов фрагментов антительных агентов, например, биспецифических, таких как III-1, например, путем химической конъюгации CD3-специфического ScFv с «готовыми» ритуксимабом с помощью предлагаемых технологий, например, технологии MATE™. Как подтверждено в данном документе, предлагаемые технологии могут поддерживать

и/или улучшать свойства и/или активности (например, связывание с мишенью, иммунную активность и т.д.) отдельных фрагментов антительных агентов. Например, III-1 может поддерживать связывание ритуксимаба с FcR через свой домен Fc и его связывание с CD20 на клетках-мишенях, а также может сохранять нативную способность ритуксимаба воздействовать на В-лимфоидные злокачественные новообразования посредством эффекторных механизмов Fc, таких как ADCC и ADCP. Предлагаемые технологии путем конъюгации более чем одного типа фрагментов антительных агентов могут обеспечивать дополнительные свойства и/или активности, например, дополнительные иммунные активности, такие как цитотоксичность, опосредованная Т-клетками. Например, III-1 может обеспечивать цитотоксичность, опосредованную Т-клетками. Среди прочего, некоторые данные *in vitro* демонстрируют повышенное уничтожение клеток-мишеней с помощью III-1 по сравнению с ритуксимабом, а исследования *in vivo* подтверждают, что III-1 может индуцировать зависимую от мишени активацию и рекрутирование Т-клеток, что обуславливает его превосходящую эффективность по сравнению с неконъюгированным ритуксимабом. Конъюгаты CD3, полученные с другими агентами антител, демонстрируют аналогичную повышенную цитотоксичность, опосредованную Т-клетками, подтверждая, что предлагаемые технологии могут быть применены для создания оптимизированных агентов, в том числе из «готовых» антител.

[0888] Как будет понятно специалистам в данной области техники, доступны различные технологии для оценки предлагаемых композиций и способов. Определенные данные по таким технологиям представлены на Фиг. 18, Фиг. 19, Фиг. 20 и Фиг. 21 в качестве примеров. В некоторых вариантах осуществления предложенные технологии оценивали на животных моделях. Определенные примеры описаны ниже.

[0889] В некоторых вариантах осуществления животные представляют собой специально выведенных «наивных» самок яванского макака (*Macaca fascicularis*) в возрасте 2-3 лет на момент введения дозы. В некоторых вариантах осуществления два животных в группе получали внутривенную (медленную болюсную) инъекцию либо ритуксимаба 30 мкг/кг, либо III-1 (30 мкг/кг). В некоторых вариантах осуществления кровь собирали с интервалами, указанными ниже.

Сбор образцов для иммунофенотипирования

| Моменты времени для сбора образцов | | |
|------------------------------------|--------------------------|---|
| Номера групп | День/Неделя исследования | Моменты времени (относительно введения дозы) |
| 1 и 2 | День 1 | до введения; 0,5 ч., 2 ч., 4 ч. и 8 ч. после введения |
| | День 2 | День 1, 24 ч. после введения |
| | День 7 | - |
| | День 15 | до введения; 0,5 ч., 2 ч., 4 ч. и 8 ч. после введения |

Иммунофенотипирование проводили окрашиванием флуоресцентно мечеными антителами, в том числе:

| Маркер | Цвет | клон |
|--------|----------|-----------|
| CD45 | APC-R700 | D058-1283 |
| CD14 | BV605 | M5E2 |
| CD3 | PeCy7 | SP-34-2 |
| CD16 | BV421 | 3G8 |
| NKG2A | APC | REA110 |
| CD44 | FITC | IM7 |
| CD69 | PE | FN50 |
| HLA DR | BV786 | G46-6 |

[0890] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки и В-клетки идентифицировали в соответствии со стратегией гейтирования, описанной ниже. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки идентифицировали как CD45+CD3+. В некоторых вариантах осуществления активацию Т-клеток маркировали CD69 и CD44. В некоторых вариантах осуществления В-клетки идентифицировали как CD45+CD3-CD14-NKG2A-HLADR+. В некоторых вариантах осуществления отслеживали абсолютное количество и частоту субпопуляций иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления, для сравнения, PBMC человека обрабатывали *in vitro* в течение 18 часов и идентифицировали как CD19⁺, после чего рассчитывали процент PBMC. В некоторых вариантах осуществления собирали кровь и получали плазму для анализа цитокинов с интервалами, указанными ниже:

Сбор образцов для исследования цитокинов

| Моменты времени для сбора образцов | | |
|------------------------------------|--------------------------|---|
| Номера групп | День/Неделя исследования | Моменты времени (относительно введения дозы) |
| 1 и 2 | День 1 | до введения; 0,5 ч., 2 ч., 4 ч. и 8 ч. после введения |
| | День 2 | День 1, 24 ч. после введения |
| | День 7 | - |
| | День 15 | до введения; 0,5 ч., 2 ч., 4 ч. и 8 ч. после введения |

[0891] В некоторых вариантах осуществления для определения уровней воспалительных цитокинов и хемокинов применяли цитокиновую мультиплексную панель для приматов, отличных

от человека (ThermoFisher). Как продемонстрировано на Фигуре 29 и Фигуре 33, предлагаемые технологии могут активировать иммунную активность (например, Т-клеток) с минимальным повышением уровней цитокинов/хемокинов (например, IL-6) и могут обеспечить повышенную эффективность (например, в 10 раз или более) при деплетировании мишени (например, В-клеток) (например, Mate (III-1) по сравнению с ритуксимабом (RTX)). В некоторых вариантах осуществления наблюдалось, что III-1 повышал экспрессию CD69 и CD44 (в 3 и 2 раза соответственно) с пиком через 4 часа после введения дозы по сравнению с эквивалентной дозой RTX. В некоторых вариантах осуществления наблюдалось выраженное деплетирование В-клеток у животных, получавших III-1, уже через 0,5 часа после введения дозы, в некоторых вариантах осуществления – с частичным восстановлением к 7-14 дню. В некоторых вариантах осуществления, для PBMC человека, III-1 также индуцирует деплетирование В-клеток *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления эквивалентная доза RTX вызывала транзиторное деплетирование В-клеток с последующим более быстрым возвращением к исходным уровням. В некоторых вариантах осуществления III-1 индуцировал минимальное увеличение уровня IL-6. В некоторых вариантах осуществления III-1 может обеспечивать активацию Т-клеток и усиленное деплетирование В-клеток без воспалительной токсичности для животных. В некоторых вариантах осуществления III-1 индуцирует CCL4 и CXCL11. В некоторых вариантах осуществления III-1 может активировать Т-клетки, способствуя хемотаксической активности эффекторных клеток (т.е. моноцитов, НК-клеток).

[0892] В некоторых вариантах осуществления III-1 индуцирует функциональную активацию эффекторных клеток. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки или PBMC обрабатывали различными концентрациями III-1, mAb, scFv или контрольным MATE. Эффекторные клетки культивировали с клетками-мишенями CD20+ Дауди или без них. В некоторых вариантах осуществления для измерения вовлечения Т-клеточного рецептора (TCR)/CD3 и активации Т-клеток применяли эффекторные клетки Jurkat, стабильно экспрессирующие NFAT-RE, вышерасположенные от люциферазы. Активацию измеряли по люминесценции. В некоторых вариантах осуществления PBMC окрашивали флуоресцентно мечеными античеловеческими антителами, специфичными в отношении CD2, CD56, CD14 и CD19, и субпопуляции PBMC анализировали на маркер активации CD69 с помощью проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления III-1 индуцирует зависимую от клетки-мишени (в 100 раз выше) активацию Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления III-1 функционирует как биспецифическая молекула, которая рекрутирует и активирует эффекторные Т-клетки для

уничтожения опухолевых клеток CD20+. В некоторых вариантах осуществления III-1 индуцирует зависимую от клетки-мишени активацию Т-клеток, в некоторых вариантах осуществления – с ко-стимуляцией дополнительными иммунными клетками дозозависимым образом. В некоторых вариантах осуществления RTX, применяемый отдельно, не индуцировал какой-либо активации эффекторных клеток РВМС *in vitro*. Определенные данные представлены на Фиг. 30. В некоторых вариантах осуществления пригодные протоколы для оценки предлагаемых технологий описаны ниже.

[0893] В-лимфобластные клетки Дауди высевали в количестве $1,0 \times 10^4$ клеток/лунку 96-луночного круглодонного планшета с белыми стенками и обрабатывали различными концентрациями III-1, контрольного МАТЕ (анти-CD3 scFv, конъюгированный с Fc-молчащим ритуксимабом (например, Ab00126-10.3 анти-CD20 [10F381 (ритуксимаб)] из Absolute Antibody), «Fc-молчащий III-1»), одноцепочечный вариабельный фрагмент анти-CD3 (scFv) или контрольными моноклональными антителами, разведенными в среде для анализа (RPMI, 10 % эмбриональной бычьей сыворотки, 100 ЕД/мл пенициллина-стрептомицина). В альтернативном варианте тестируемые агенты добавляли в среду для анализа, не содержащую клетки Дауди (условие «только эффектор»). В обоих случаях инкубацию проводили в течение 30 мин. при 37 °С. Генетически сконструированную линию Т-клеток Jurkat (Promega # J1621), экспрессирующую репортерную люциферазу, управляемую элементом NFAT-ответа (NFAT-RE), вводили при соотношении эффектор:мишень 8:1 (или эквивалентное количество Т-клеток для условия «без клеток Дауди») и инкубировали в течение 18 часов. В каждую лунку добавляли реагент Bio-Glo в соответствии с рекомендациями производителя (Promega). Сигнал люминесценции получали с помощью люминометра для отражения индукции NFAT, а активацию Т-клеток рассчитывали с помощью программного обеспечения GraphPad Prism.

[0894] Клетки Дауди высевали в количестве $1,0 \times 10^4$ клеток/лунку 96-луночного круглодонного планшета и обрабатывали различными концентрациями III-1 или ритуксимаба, разведенного в среде для анализа (RPMI, 5% сыворотка крупного рогатого скота с низким содержанием IgG, 100 ЕД/мл пенициллина-стрептомицина). В альтернативном варианте тестируемые агенты добавляли в среду для анализа, не содержащую клетки Дауди. В обоих случаях инкубацию проводили в течение 30 мин. при 37 °С. Свеже размороженные эффекторные клетки РВМС вводили в соотношении эффектор:мишень 20:1 (или эквивалентное количество РВМС для условия «без клеток Дауди») и инкубировали в течение 18 часов. Клетки собирали и окрашивали флуоресцентно мечеными античеловеческими антителами, специфичными в

отношении CD2, CD56, CD14 и CD19, и субпопуляции РВМС анализировали на маркер активации CD69 с помощью проточной цитометрии.

[0895] В некоторых вариантах осуществления обогащение Т-клеток путем функциональной предварительной стимуляции РВМС или деплетирования НК-клеток повышает опосредованное Т-клетками уничтожение опухолевых клеток. В некоторых вариантах осуществления В-лимфобластные клетки Дауди (CD20⁺) были сконструированы для стабильной экспрессии репортерного фрагмента beta-gal с применением ретрочастиц KILR (Eurofins DiscoverX). Клетки-мишени обрабатывали III-1, ритуксимабом и соответствующими контролями в различных концентрациях. Эффекторные клетки из нефракционированных и деплетированных по НК-клеткам РВМС получали из свежеразмороженных или предварительно стимулированных РНА + IL-2 (5 дней) РВМС. Клетки культивировали при соотношении «эффектор:мишень» 15:1 и инкубировали в течение 18 часов. Сигнал люминесценции получали с помощью люминометра, чтобы отразить гибель клеток-мишеней. В некоторых вариантах осуществления клетки эпидермоидной карциномы А-431 (EGFR⁺) обрабатывали различными концентрациями цетуксимаба (CTX)-CD3 МАТЕ (конъюгат CTX-CD3), контрольных mAb или scFv. Гибель клеток-мишеней измеряли с применением реагента CytoTox-Glo (Promega). В некоторых вариантах осуществления III-1 индуцирует уничтожение клеток Дауди опухолевыми клетками (в некоторых вариантах осуществления это может происходить за счет опосредованной Т-клетками цитотоксичности по сравнению с ADCC или ADCP). В некоторых вариантах осуществления предлагаемые технологии обеспечивают максимальное уничтожение опухолевых клеток в 2-3 раза выше по сравнению с агентами нативных антител, например, RTX. В некоторых вариантах осуществления аналогичную сайт-направленную химию для конъюгации scFv анти-CD3 с RTX применяли к цетуксимабу, который обеспечивает конъюгаты цетуксимаб-CD3, которые могут вызывать более эффективное уничтожение по сравнению с нативным Ab. Определенные данные представлены на Фиг. 31. В некоторых вариантах осуществления пригодные протоколы для оценки предлагаемых технологий описаны ниже.

[0896] РВМС получали различными способами для применения в качестве эффекторных клеток. В некоторых вариантах осуществления РВМС оттаивали и обрабатывали в течение 3 дней фитогемагглютинином (РНА) (Sigma # L8754) в конечной концентрации 4 мкг/мл и интерлейкином 2 (IL-2) (R&D System # 202-IL) в конечной концентрации 5 нг/мл. В день 3 IL-2 восполняли дополнительными 5 мкг/мл, и РВМС инкубировали еще 2 дня. Эти «предварительно стимулированные» РВМС, обогащенные Т-клетками, собирали и применяли в качестве

эффекторных клеток в день 5. Во втором способе РВМС просто размораживали в день постановки эксперимента. В обоих методах РВМС применяли как есть и называли «нефракционированными» или деплетированными относительно NK-клеток с использованием набора для выделения клеток с помощью иммуномагнитной положительной селекции для CD56-позитивных клеток (StemCell Technologies # 17855). В-лимфобластные клетки Дауди были сконструированы для стабильной экспрессии репортерного фрагмента beta-gal с применением ретрочастиц KILR (DiscoverX #97-0002). Клетки Дауди высевали в количестве $1,0 \times 10^4$ клеток/лунку 96-луночного круглодонного планшета с белыми стенками и обрабатывали различными концентрациями MATE, контрольных MATE, одноцепочечного вариабельного фрагмента анти-CD3 (scFv) или контрольных моноклональных антител (mAb), разведенных в среде для анализа (RPMI, 5% сыворотка крупного рогатого скота с низким содержанием IgG, 100 ЕД/мл пенициллина-стрептомицина). Клетки-мишени Дауди инкубировали в течение 30 мин. при 37 °С. Эффекторные клетки РВМС, приготовленные, как описано выше, вводили в соотношении эффектор:мишень 15:1 и инкубировали в течение 18 часов. Реагент для обнаружения KILR (DiscoverX #97-0001L) добавляли в каждую лунку в соответствии с рекомендациями производителя. Сигнал люминесценции получали с помощью люминометра для отражения гибели клеток Дауди, и процент уничтожения рассчитывали с помощью программного обеспечения GraphPad Prism.

[0897] Клетки A-431 высевали в количестве $1,0 \times 10^4$ клеток/лунку 96-луночного плоскодонного планшета с белыми стенками и обрабатывали различными концентрациями MATE, анти-CD3 scFv или контрольных mAb, разведенных в среде для анализа (RPMI, 5% сыворотка крупного рогатого скота с низким содержанием IgG, 100 ЕД/мл пенициллина-стрептомицина). Клетки-мишени A-431 инкубировали в течение 30 мин. при 37 °С. РВМС размораживали в день постановки эксперимента и применяли как есть («нефракционированными») или деплетированными относительно NK-клеток с использованием набора для выделения клеток с помощью иммуномагнитной положительной селекции для CD56-позитивных клеток (StemCell Technologies # 17855). Эффекторные клетки РВМС вводили в соотношении эффектор:мишень 10:1 и инкубировали в течение 18 часов. Реагент CytoTox-Glo (Promega #G9292) добавляли в каждую лунку в соответствии с рекомендациями производителя. Сигнал люминесценции получали с помощью люминометра для отражения гибели клеток A-431, и процент уничтожения рассчитывали с помощью программного обеспечения GraphPad Prism.

[0898] В некоторых вариантах осуществления III-1 индуцирует продукцию цитокинов, соответствующую активации эффекторных клеток *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления

свежезамороженные нефракционированные РВМС культивировали с (соотношение «эффиктор:мишень» 20:1) или без клеток-мишеней Дауди и обрабатывали различными концентрациями III-1, ритуксимаба или контрольного scFv (не продемонстрировано) в течение 18 часов. Супернатанты собирали и оценивали с помощью панели цитокинов человека для мультиплексного иммуноанализа (Invitrogen, ProcartaPlex). В некоторых вариантах осуществления III-1 преимущественно индуцирует увеличение уровня воспалительных и активирующих цитокинов в присутствии клеток-мишеней Дауди. В некоторых вариантах осуществления не наблюдается индукции цитокинов при применении только RTX или только scFv. В некоторых вариантах осуществления активируются Т-клетки, NK-клетки и/или макрофаги. В некоторых вариантах осуществления III-1 может индуцировать активирующие и воспалительные цитокины в зависимости от клетки-мишени. Отмечено, что при применении других конъюгатов, например, анти-CD3 x анти-CD20 трифункциональных биспецифических моноклональных антител «Lymphonum» (TRION Pharma, также известных как Bi20, FBTA05), также сообщают о более высоких или подобных уровнях IL-6, например, при воздействии РВМС + В-лимфоидных клеточных линий *in vitro*. Кроме того, следует отметить, что эти данные *in vitro* могут не отражать результаты *in vivo*, как продемонстрировано данными у животных (например, см. Фиг. 33), повышение уровня IL-6 было минимальным, и сообщалось, что уровни IL-6 у животных могут согласовываться с данными у человека (например, Winkler, et. al. Blood, Vol 94, No 7 (October 1), 1999: pp 2217-2224). В различных вариантах осуществления полученные данные подтвердили, что предлагаемые конъюгированные агенты антитело-антитело демонстрируют сравнимые или более низкие уровни нежелательных цитокинов/хемокинов (например, IL-6) по сравнению с другими описанными аналогичными конъюгированными агентами (например, Lymphonum). Определенные данные представлены на Фиг. 32. В некоторых вариантах осуществления пригодные протоколы для оценки предлагаемых технологий описаны ниже.

[0899] Свежезамороженные нефракционированные РВМС культивировали с (соотношение «эффиктор:мишень» 20:1) или без клеток-мишеней Дауди и обрабатывали различными концентрациями III-1, ритуксимаба или контрольного scFv (не продемонстрировано) в течение 18 часов. Супернатанты собирали и оценивали с помощью панели цитокинов человека для мультиплексного иммуноанализа (Invitrogen, ProcartaPlex).

[0900] Клетки Дауди высевали в количестве $1,0 \times 10^4$ клеток/лунку 96-луночного круглодонного планшета и обрабатывали различными концентрациями конъюгатов антитело-антитело (III-1) или ритуксимаба, разведенного в среде для анализа (RPMI, 5% сыворотка крупного

рогатого скота с низким содержанием IgG, 100 ЕД/мл пенициллина-стрептомицина). В альтернативном варианте тестируемые агенты добавляли в среду для анализа, не содержащую клетки Дауди. В обоих случаях инкубацию проводили в течение 30 мин. при 37 °С.

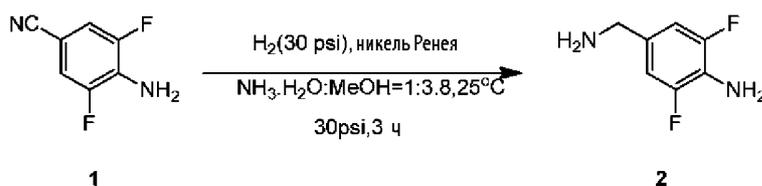
Свежезамороженные эффекторные клетки РВМС вводили в соотношении эффектор:мишень 20:1 (или эквивалентное количество РВМС для условия «без клеток Дауди») и инкубировали в течение 18 часов. Супернатанты собирали и хранили при -80 °С до дальнейшего анализа и оценивали с помощью панели мультиплексного иммуноанализа цитокинов человека (Invitrogen, # EPX110-10810-901). Данные о цитокинах анализировали с помощью программного обеспечения Affymetrix ProcartaPlex Analyst 1.0.

[0901] На примере III-1 и других конъюгатов подтверждается, что предлагаемые технологии могут обеспечивать различные преимущества и пользу.

[0902] В некоторых вариантах осуществления предлагается конъюгат «трастузумаб-цетуксимаб». В некоторых вариантах осуществления трастузумаб конъюгировали с I-56, а цетуксимаб конъюгировали с I-65, который получали с помощью аналогичных химических процессов, как описано в Примерах. Продукты конъюгации очищали и инкубировали в течение 72 часов для клик-реакции с получением конъюгата «трастузумаб (TRA)-цетуксимаб (CTX)». Определенные результаты проиллюстрированы на Фиг. 24, подтверждая образование конъюгатов антител. Среди прочего, предлагаемые конъюгаты антитело-антитело сохраняют связывание с мишенями каждого антитела (например, см. Фиг. 25) и связываются с рецепторами Fc (например, см. Фиг. 26).

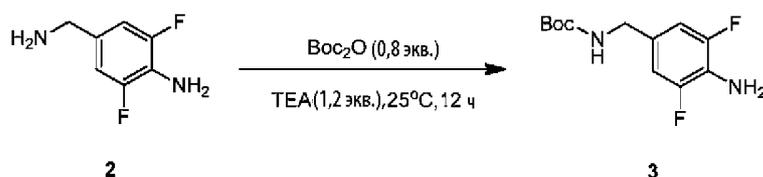
[0903] **Пример 35. Типовой синтез Соединения I-59.**

[0904] Общая методика получения соединения 2:



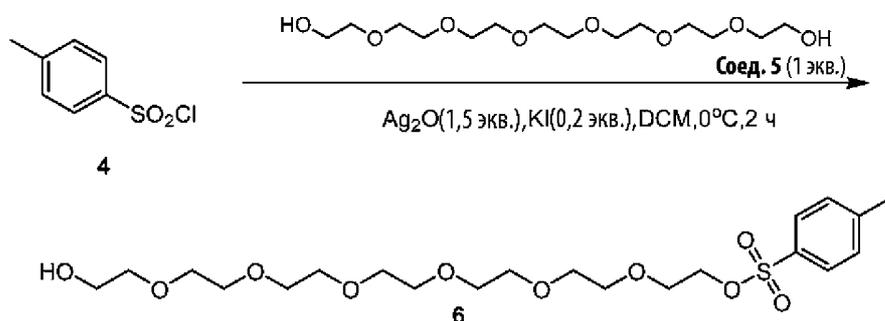
[0905] К раствору соединения 1 (5 г, 32,4 ммоль, 1 экв.) в MeOH (50 мл) NH₃.H₂O (13 мл) добавляли никель (5 г) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали в условиях вакуума и несколько раз продували H₂. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (30 фунт/кв. дюйм) при 25 °С в течение 3 часов. TLC (Петролейный эфир: Этилацетат = 1:1 R_f = 0,01) продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали. Соединение 2 (10 г, 63,23 ммоль, выход: 97,45%) получали в виде коричневого твердого вещества.

[0906] Общая методика получения соединения 3:



[0907] Смесь **соединения 2** (5 г, 31,62 ммоль, 1 экв.), Boc₂O (5,52 г, 25,2 ммоль, 5,81 мл, 0,8 экв.) в THF (50 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при 25 °C в течение 12 часов в атмосфере N₂. TLC (Петролейный эфир: Этилацетат = 1:1 R_f = 0,69) продемонстрировала, что **соединение 2** полностью израсходовано. Остаток разбавляли H₂O (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл * 2). Реакционную смесь сливали в делительную воронку и разделяли. Объединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, Петролейный эфир: **Этилацетат = от 100:1 до 0:1**). Соединение 3 (5 г, 19,36 ммоль, выход: 61,24%) получали в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 7.31 (br t, J = 5,96 Hz, 1 H) 6,76 (br d, J = 7,87 Hz, 2 H) 5,05 (s, 2 H) 3,97 (br d, J = 5,01 Hz, 2 H) 1,38 (s, 9 H).

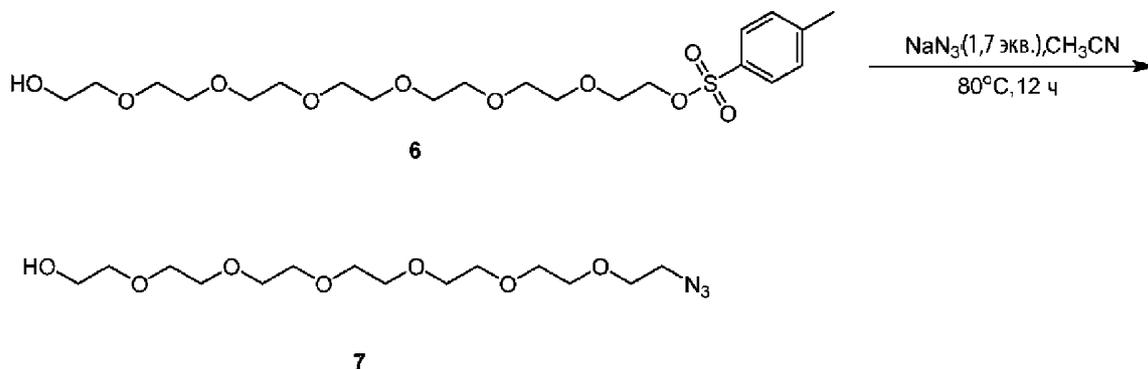
[0908] Общая методика получения соединения 6:



[0909] К раствору соединения 4 (5 г, 15,32 ммоль, 1 экв.) в DCM (80 мл) добавляли Ag₂O (5,33 г, 22,98 ммоль, 1,5 экв.) и KI (508,61 мг, 3,06 ммоль, 0,2 экв.). К смеси добавляли соединение 5 (2,92 г, 15,32 ммоль, 1 экв.) в DCM (20 мл) при 0 °C. Смесь перемешивали при 0 °C в течение 2 часов. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10:1, R_f = 0,65), продемонстрировала, что соединение 4 было полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. Согласно TLC, реакция была чистой. Суспензию фильтровали, и осадок на фильтре промывали EtOAc (30 мл×3). Объединенные фильтраты концентрировали досуха с получением продукта. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, Дихлорметан: Метанол = от 100:1 до 2:1). Соединение 6 (4,45 г, 9,26 ммоль,

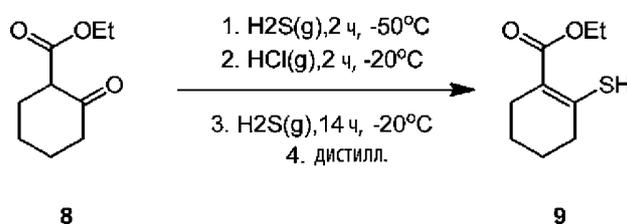
выход: 60,45%) получали в виде бесцветного масла.

[0910] Общая методика получения соединения 7:



[0911] К раствору соединения 6 (4,3 г, 8,95 ммоль, 1 экв.) в CH_3CN (50 мл) добавляли (988,88 мг, 15,21 ммоль, 1,7 экв.). Указанную смесь перемешивали при температуре 80 °С в течение 12 часов. TLC (Дихлорметан: Метанол = 10:1, $R_f = 0,40$) продемонстрировала, что соединение 6 было полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. Реакционную смесь разбавляли H_2O , 100 мл, и экстрагировали EtOAc (50 мл x 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Соединение 7 (3 г, 8,54 ммоль, выход 95,41%) получали в виде желтого масла.

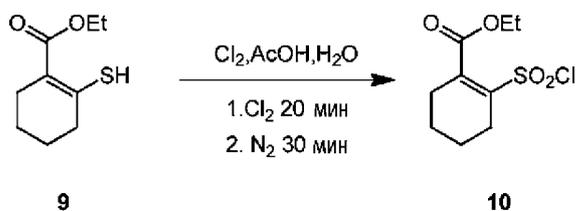
[0912] Общая методика получения соединения 9:



[0913] Газообразный H_2S барботировали через раствор соединения 8 (40 г, 235 ммоль, 37,7 мл, 1 экв.) в этаноле (400 мл) при -50 °С в течение 2 часов. Затем в реакционную смесь барботировали газообразную HCl при -20 °С в течение 2 часов, после чего барботировали газообразный H_2S при -20 °С в течение 2 часов. Затем смеси давали отстояться при 25 °С в течение 14 часов. TLC (Петролейный эфир: Этилацетат = 10:1 $R_f = 0,52$) продемонстрировала, что **соединение 8** полностью израсходовано. Реакционную смесь выливали на баню со льдом и водой (300 мл) и обрабатывали петролейным эфиром (500 мл) и водой (500 мл*2). Реакционную смесь сливали в делительную воронку и разделяли. Объединенные органические слои

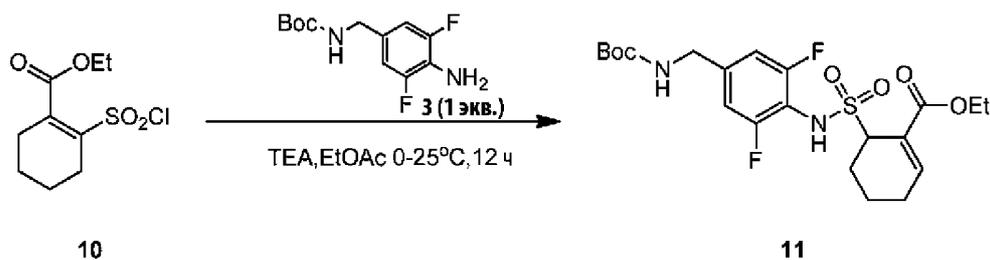
промывали солевым раствором (500 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали под пониженным давлением с получением остатка. Соединение 9 (43 г, 230 ммоль, выход 98,23%) получали в виде масла красного цвета. ^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d): δ ppm 4,21 (q, $J = 7,06$ Hz, 2 H) 3,97 (s, 1 H) 2,43 - 2,53 (m, 2 H) 2,29 - 2,38 (m, 2 H) 1,59 - 1,71 (m, 4 H) 1,30 (t, $J = 7,17$ Hz, 3 H).

[0914] Общая методика получения соединения 10:



[0915] Хлор (10 г) барботировали через раствор соединения 9 (25 г, 134,2 ммоль, 1 экв.) в AcOH (360 мл) H_2O (40 мл) при 15°C в течение 20 мин. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. После удаления избытка Cl_2 с помощью N_2 , TLC (петролейный эфир: Этилацетат = 10:1 $R_f = 0,4$) продемонстрировала, что **соединение 9** полностью израсходовано. Остаток разбавляли NH_4Cl (500 мл *5) и экстрагировали этилацетатом (500 мл). Реакционную смесь сливали в делительную воронку и разделяли. Объединенные органические слои промывали солевым раствором (500 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали, и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Соединение 10 (28 г, 110 ммоль, выход: 82,5%) получали в виде желтого масла. ^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d): δ ppm 4,19 - 4,31 (m, 2 H) 2,52 - 2,61 (m, 2 H) 2,44 - 2,52 (m, 2 H) 1,72 - 1,82 (m, 2 H) 1,62 - 1,72 (m, 2 H) 1,21 - 1,33 (m, 3 H).

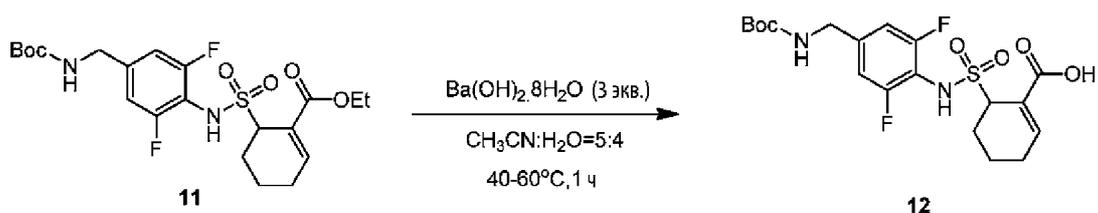
[0916] Общая методика получения соединения 11:



[0917] К раствору соединения 10 (7,83 г, 30,98 ммоль, 2 экв.) в EtOAc (20 мл) по каплям добавляли соединение 3 (4 г, 15,49 ммоль, 42,63 мкл, 1 экв.) и TEA (3,13 г, 30,98 ммоль, 4,31 г). мл, 2 экв.) в EtOAc (20 мл) при температуре 0°C . После добавления смесь перемешивали при температуре 25°C в течение 12 часов. TLC (Петролейный эфир: Этилацетат = 3:1 $R_f = 0,32$)

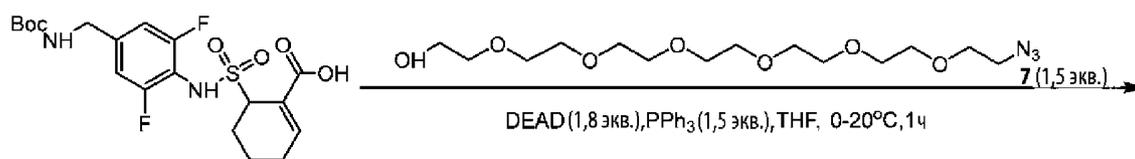
продемонстрировала, что **соединение 3** полностью израсходовано. Остаток разбавляли H₂O 100 мл и экстрагировали этилацетатом (200 мл * 2). Реакционную смесь сливали в делительную воронку и разделяли. Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, Петролейный эфир: **Этилацетат** = от **10:1** до 0:1). Соединение 11 (5,5 г, 11,5 ммоль, выход: 74,84%) получали в виде белого твердого вещества.

[0918] Общая методика получения соединения 12:

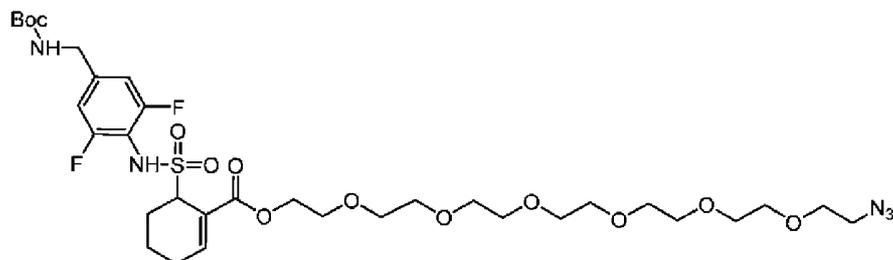


[0919] К раствору соединения 11 (3,5 г, 7,38 ммоль, 1 экв.) в CH₃CN (30 мл) H₂O (20 мл) добавляли октагидрат гидроксида бария (6,98 г, 22,13 ммоль, 3 экв.). Указанную смесь перемешивали при температуре 40-60 °C в течение 1 часа. LCMS продемонстрировала, что стартовый материал был полностью израсходован. Реакционную смесь разделяли между **этилацетатом (200 мл)**. Органическую фазу отделяли. Водную фазу разбавляли H₂O (100 мл) и добавляли 0,5 М HCl для доведения до pH = 3-4. Органическую фазу смеси отделяли, а водную фазу дважды экстрагировали этилацетатом, каждый раз по 100 мл. Все органические фазы объединяли, один раз промывали 50 мл насыщенным раствором соленой воды, сушили безводным сульфатом натрия, фильтровали и сушили центрифугированием. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Phenomenex Luna C18 250мм*100мм*10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,05% HCl)-ACN]; В%: 15%-60%, 20мин). Соединение 12 (1,7 г, 3,81 ммоль, выход: 51,62%) получали в виде белого твердого вещества. LCMS: Rt = 1,997 мин, MS (ESI): m/z [M+H⁺] рассчитано для C₁₉H₂₄F₂N₂O₆S, 447,1; найдено 464,2.

[0920] Общая методика получения соединения 13:



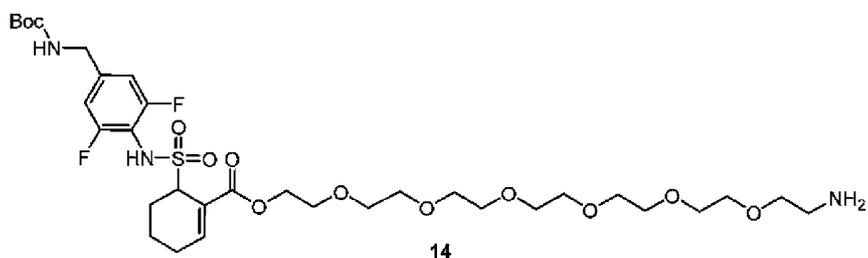
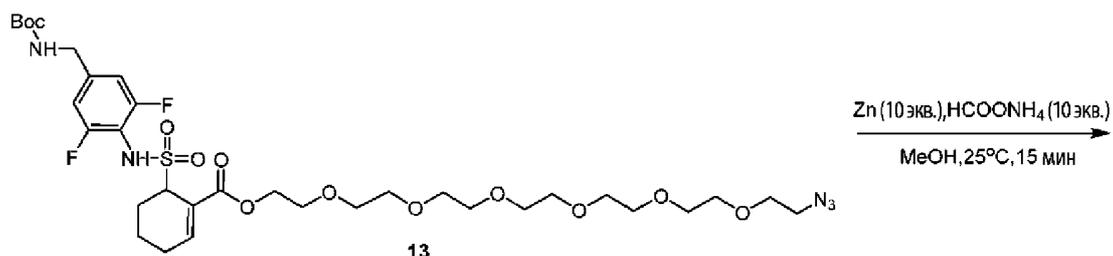
12



13

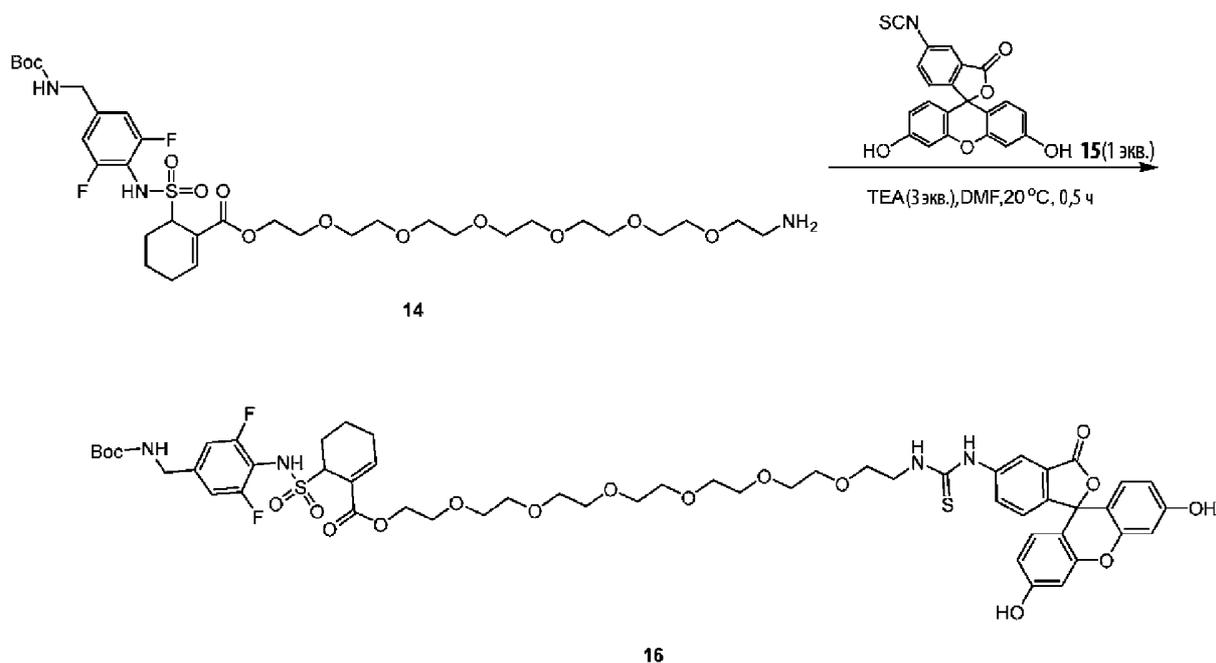
[0921] К раствору соединения 12 (200 мг, 447,96 мкмоль, 1 экв.) в THF (2 мл) добавляли соединение 7 (236 мг, 671,9 мкмоль, 1,5 экв.), PPh₃ (176,24 мг, 671,95 мкмоль, 1,5 экв.) и DEAD (140 мг, 806 мкмоль, 1,8 экв.) при температуре 0 °С. Смесь перемешивали при 20 °С в течение 12 часов. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. HPLC продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Phenomenex Luna C18 250*50мм*10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 50%-80%, 10мин). Соединение 13 (200 мг, 256,46 мкмоль, выход: 57,25%) получали в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,62 (s, 1 H) 7,51 (br t, *J* = 6,32 Hz, 1 H) 7,10 (br s, 1 H) 7,03 (br d, *J* = 8,58 Hz, 2 H) 4,37 (br d, *J* = 4,65 Hz, 1 H) 4,14 (br d, *J* = 5,72 Hz, 2 H) 4,01 - 4,11 (m, 2 H) 3,57 - 3,62 (m, 4 H) 3,43 - 3,57 (m, 26 H) 2,14 - 2,28 (m, 1 H) 2,10 (br s, 1 H) 1,80 (br d, *J* = 13,35 Hz, 1 H) 1,64 (br s, 2 H) 1,34 - 1,48 (m, 9 H) 1,31 (br s, 1 H). LCMS: Rt = 1,452 мин, MS (ESI): *m/z* [M+H⁺] расщ. для C₃₃H₅₁F₂N₅O₁₂S, 780,3; найдено 797,3. HPLC: RT = 3,718 мин.

[0922] Общая методика получения соединения 14:



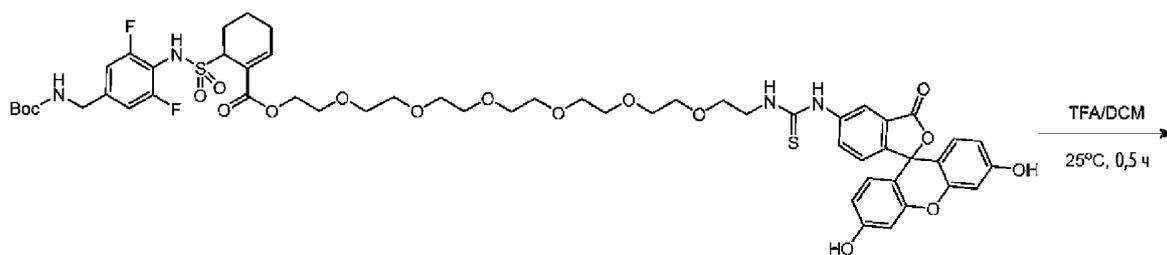
[0923] Смесь соединения **13** (200 мг, 256,46 мкмоль, 1 экв.), Zn (167,70 мг, 2,56 ммоль, 10 экв.) и аммиака; муравьиной кислоты (161,71 мг, 2,56 ммоль, 10 экв.) в MeOH (3 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при температуре 20 °С в течение 5 минут в атмосфере N₂. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь концентрировали. Неочищенный продукт растворяли в THF (20 мл) и добавляли DCM (20 мл), смесь осаждали твердыми веществами. Смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали DCM (20 мл ×2). **Объединенные фильтраты** концентрировали досуха с получением неочищенного продукта. **Соединение 14** (195 мг, неочищенное) получали в виде белого твердого вещества. LCMS: Rt = 0,678 мин, MS (ESI): *m/z* [M+H⁺] расчч. для C₃₃H₅₃F₂N₃O₁₂S, 754,3; найдено 754,3.

[0924] Общая методика получения соединения **16**:

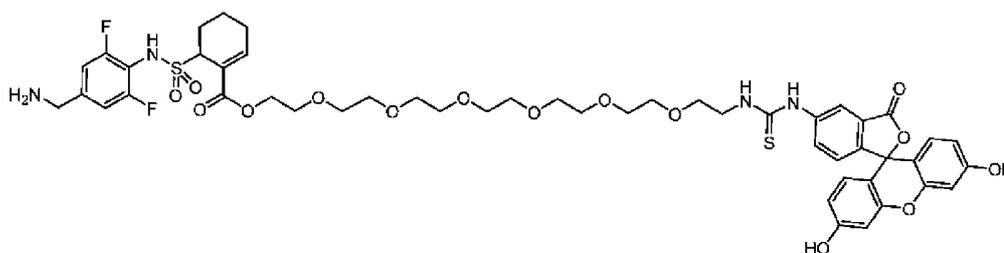


[0925] Смесь соединения 14 (193 мг, 256 мкмоль, 1 экв.), соединения 15 (99,6 мг, 256 мкмоль, 1 экв.) и TEA (77,7 мг, 768 мкмоль, 106 мкл, 3 экв.), в DMF (1 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при 20 °C в течение 0,5 ч в атмосфере N₂. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Nano-micro Kromasil C18 100*40 мм 10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA) – ACN]; V%: 35%-65%, 8 мин). Соединение 16 (170 мг, 148,70 мкмоль, выход: 58,08%) получали в виде желтого твердого вещества. LCMS: Rt = 0,788 мин, MS (ESI): *m/z* [M/2+H⁺] расщ. для C₅₄H₆₄F₂N₄O₁₇S₂, 1142,3; найдено 572,8.

[0926] Общая методика получения соединения 17:



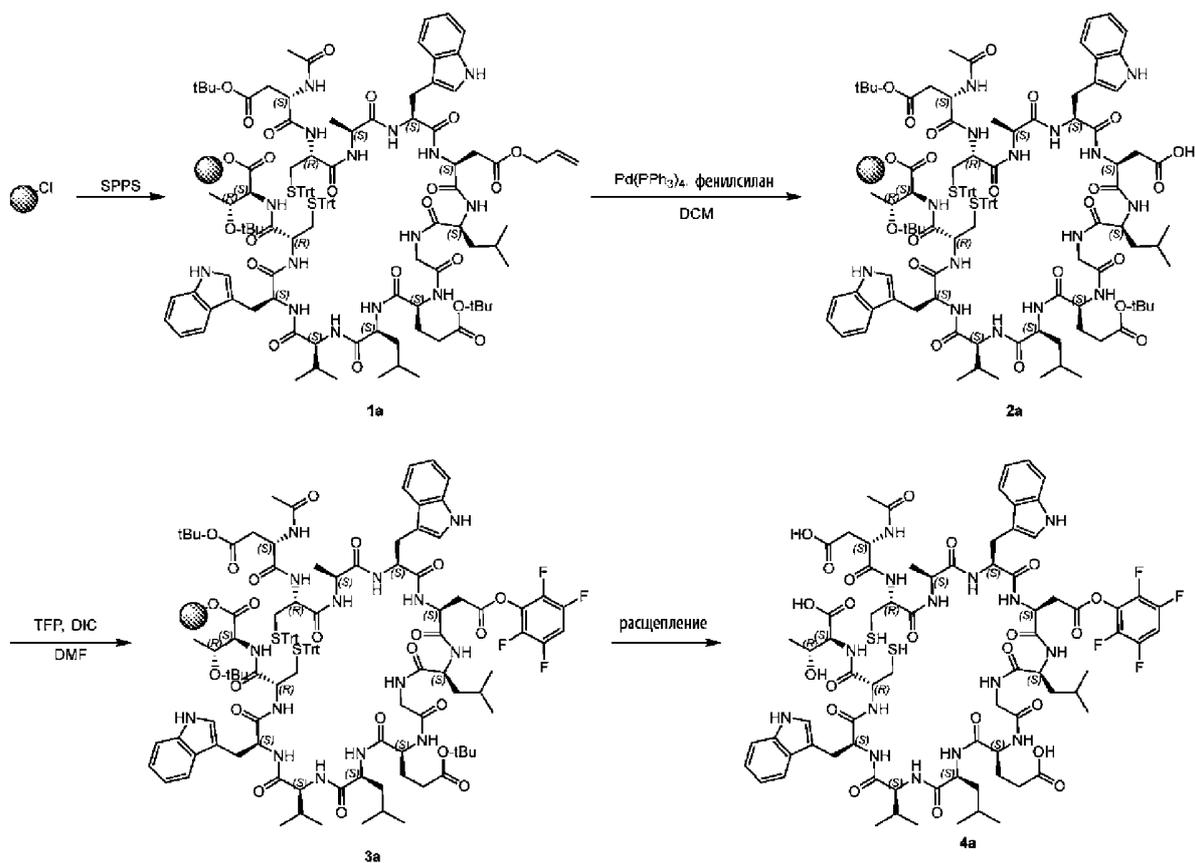
16



17

Смесь **соединения 16** (100 мг, 87,4 мкмоль, 1 экв.) и TFA (539 мг, 4,73 ммоль, 350 мкл, 54,0 экв.) в DCM (2 мл) дегазировали и продували N_2 3 раза, а затем смесь перемешивали при 25 °С в течение 0,5 ч в атмосфере N_2 . LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. HPLC продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Nano-micro Kromasil C18 100*40 мм 10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 23%-58%, 8 мин). Соединение 17 (54,78 мг, 51,87 мкмоль, выход: 59,30%, чистота 98,77%) получали в виде твердого вещества желтого цвета. 1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 10,04 (br s, 3 H) 9,73 (br s, 1 H) 8,15 - 8,36 (m, 4 H) 8,10 (br s, 1 H) 7,75 (br s, 1 H) 7,33 (br d, $J = 8,07$ Hz, 2 H) 7,18 (br d, $J = 8,44$ Hz, 1 H) 7,12 (br s, 1 H) 6,67 (br s, 2 H) 6,49 - 6,64 (m, 4 H) 4,41 (br s, 1 H) 4,09 (br d, $J = 4,16$ Hz, 4 H) 3,35 - 3,64 (m, 31 H) 2,24 (br s, 2 H) 2,08 (br s, 1 H) 1,79 (br s, 1 H) 1,62 (br s, 1 H). LCMS: $R_t = 0,655$ мин, MS (ESI): m/z $[M+H^+]$ расщ. для $C_{49}H_{56}F_2N_4O_{15}S_2$, 1042,3; найдено 522,6. HPLC: $R_t = 3,146$ мин. Данные QC для соединения 17: HPLC: $R_t = 1,574$ мин, чистота: 98,83%. QC LCMS: m/z $[M+H^+]$ расщ. для $C_{49}H_{56}F_2N_4O_{15}S_2$, 1042,3; найдено 522,3.

[0927] Общая методика получения соединения 4a:



[0928] Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии.

- 1) Получение смолы: В сосуд, содержащий смолу CTC (1,00 ммоль, 0,97 г, 1,05 ммоль/г, 1,00 экв.) и Fmoc-Thr(tBu)-OH (0,40 г, 1,00 ммоль, 1,00 экв.) в DCM (20,0 мл), по каплям добавляли DIEA (4,00 экв.) и перемешивали в течение 2 часов с барботированием N_2 при 15 °C. Затем добавляли MeOH (1,0 мл) и барботировали N_2 еще в течение 30 мин. Смолу промывали DMF (20,0 мл) *5. Затем добавляли 20% пиперидин в DMF (20,0 мл) и смесь барботировали N_2 в течение 30 минут при 15 °C. Затем смесь фильтровали для получения смолы, которую промывали DMF (20,0 мл)*5 перед переходом к следующему этапу.
- 2) Связывание: К смоле добавляли раствор Fmoc-Cys(Trt)-OH (1,19 г, 3,00 ммоль, 3,00 экв.), HBTU (1,08 г, 2,85 ммоль, 2,85 экв.) в DMF (10,0 мл) при барботировании N_2 . Затем к смеси по каплям добавляли DIEA (6,00 экв.) и барботировали N_2 в течение 30 минут при 15 °C. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, если реакция была бесцветной, то связывание было завершено. Затем смолу промывали DMF (20,0 мл) *5.

- 3) Снятие защиты: К смоле добавляли 20% пиперидин в DMF (20,0 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. Затем смолу промывали DMF (20,0 мл)*5. Реакцию снятия защиты контролировали с помощью нингидринового теста, если он демонстрировал синий или другой коричневато-красный цвет, реакция была завершена.
- 4) Повторение этапов 2 и 3 для всех остальных аминокислот: (2-13 в Таблице ниже).
- 5) Ацелирование (соединение 1а): К смоле добавляли раствор 10%Ac₂O/5%NMM/85%DMF (20,0 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 20 минут. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, если реакция была бесцветной, то связывание было завершено. Затем смолу промывали DMF (20,0 мл) *5, DCM (10,0 мл) *5.
- 6) De-OAll (соединение 2а): Смесь фенилсилана (10,0 экв.), Pd(PPh₃)₄ (0,10 экв.) в DCM (10,0 мл) добавляли к смоле при барботировании в течение 15 мин. Затем смолу промывали DCM (20,0 мл) *3. Эту процедуру повторяли дважды, и реакцию снятия защиты контролировали с помощью LCMS теста расщепления.
- 7) Связывание TFP (соединение 3а): Смесь TFP (20,00 экв.), DMAP (1,00 экв.) в DMF (15,0 мл) добавляли к смоле с барботированием N₂. Затем к смоле по каплям добавляли DIC (10,00 экв.) и смесь барботировали N₂ в течение 3 часов. Реакцию контролировали с помощью LCMS теста расщепления. После завершения последнего положения смолу промывали DMF (20,0 мл) *5, изопропиловым эфиром (20,0 мл) *5 и сушили в вакууме.

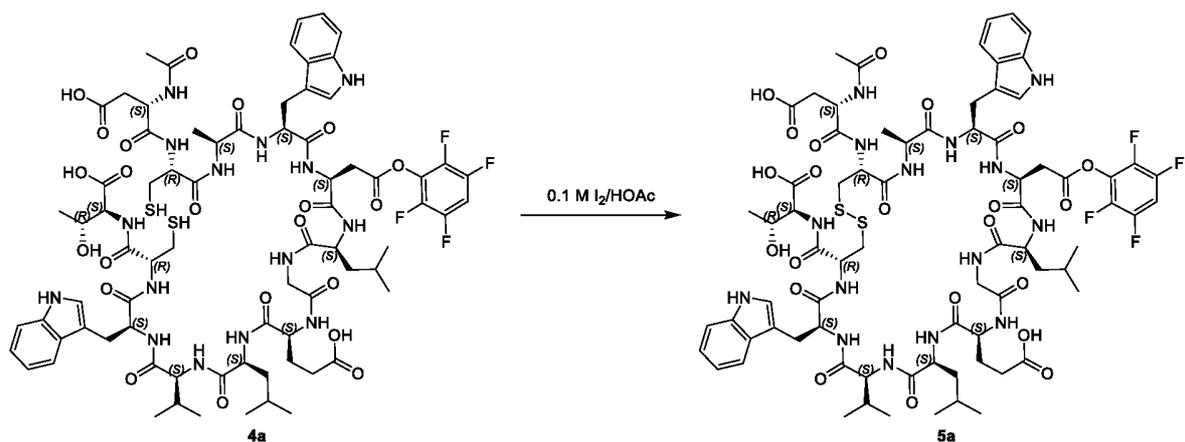
| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|---|--|-------------------------------------|
| 1 | Fmoc-Thr(<i>t</i> Bu)-OH (1,00 экв.) | DIEA (4,00 экв.) |
| 2 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 3 | Fmoc-Trp-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 4 | Fmoc-Val-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 5 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 6 | Fmoc-Glu(O <i>t</i> Bu)-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 7 | Fmoc-Gly-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 8 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 9 | Fmoc-Asp(OAll)-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |

| | | |
|--------|-------------------------------|---|
| 1 0 | Fmoc-Trp-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 1 1 | Fmoc-Ala-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 1 2 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HBTU(2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 1 3 | Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3,00 экв.) | HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 1 4 | Ацетилирование | 10% Ac ₂ O/ 5%NMM/ 85%DMF (20 мл) |
| 1 5 | De-OAll | фенилсилан (10,00 экв.), Pd(PPh ₃) ₄ (0,10 экв.) |
| 1 6 | TFP (20,00 экв.) | DIC (10,00 экв.) DMAP (1,00 экв.) |

[0929] Расщепление и очистка пептидов:

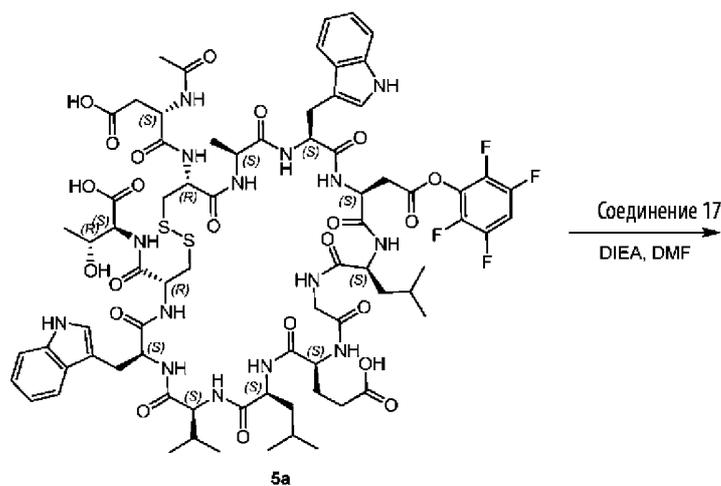
- 16) Добавляли буфер для отщепления (95%TFA/2.5%Tis/2.5%H₂O) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре и перемешивали в течение 1 ч.
- 17) После фильтрации раствор объединяли.
- 18) Пептид осаждали холодным изопропиловым эфиром (100 мл) и центрифугировали (3 мин при 3000 об/мин).
- 19) Твердое вещество дважды промывали изопропиловым эфиром и сушили в вакууме в течение 2 часов.
- 20) **Соединение 4a** (1, 50 г, неочищенное) получали в виде белого твердого вещества.

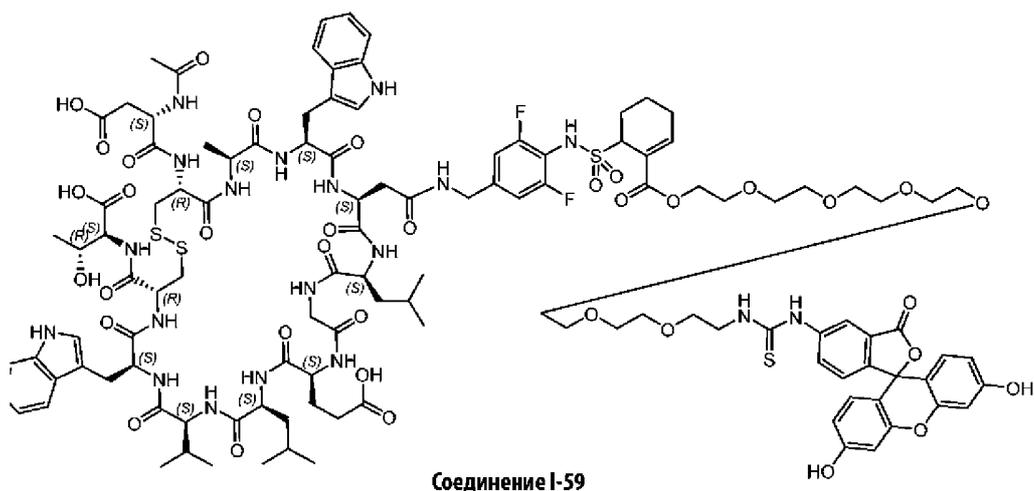
[0930] Общая методика получения соединения 5a:



[0931] К смеси соединения 4a (1,51 г, неочищенное) в MeCN/H₂O (1/1, 1 л) по каплям добавляли 0,1 М I₂/HOAc до тех пор, пока цвет смеси не становился светло-желтым. Смесь перемешивали при 15 °С в течение 5 мин и реакцию гасили добавлением по каплям 0,1 М Na₂S₂O₃ до тех пор, пока смесь не становилась бесцветной. Смесь сушили при лиофилизации. Смесь очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) непосредственно с получением **соединения 5a** (22,01 мг, чистота 90,0%, выход 1,30%) в виде белого твердого вещества.

[0932] Общая методика получения соединения I-59:





[0933] Смесь соединения 5a (22,01 мг, 12,90 мкмоль, 1,00 экв.) и соединения 17 (13,50 мг, 12,90 мкмоль, 1,00 экв.), DIEA (5,01 мг, 38,90 мкмоль, 6,7 мкл, 3,00 экв.) в DMF (0,1 мл) перемешивали при 15 °С в течение 1 часа. Смесь гасили 1 М HCl до pH = 3. Смесь очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) непосредственно с получением соединения I-59 (0,90 мг, 0,32 мкмоль, чистота 92,4%, выход 2,45%) в виде белого твердого вещества и соединения I-59 (1,4 мг, 0,50 мкмоль, чистота 91,2%, выход 3,82%) в виде твердого вещества желтого цвета.

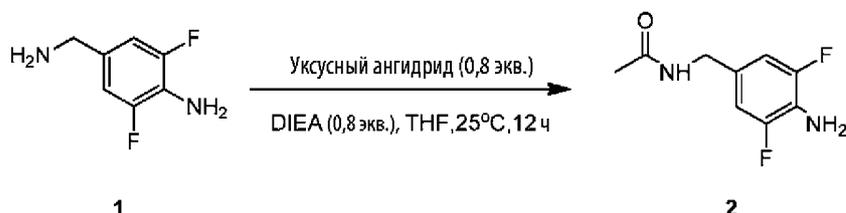
Условия очистки:

| Условия очистки | |
|---------------------|--|
| Подготовка образцов | Растворение в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |
| Градиент: | 25-55%-60 мин. Время удерживания: 45 мин |
| Колонка | Luna 25*200 мм, C 18 10 мкм,110 Å + Gemin150 * 30 мм ,C 18 5 мкм,110 Å |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |

| | |
|------------|-----------------------|
| Темп. печи | Комнатная температура |
|------------|-----------------------|

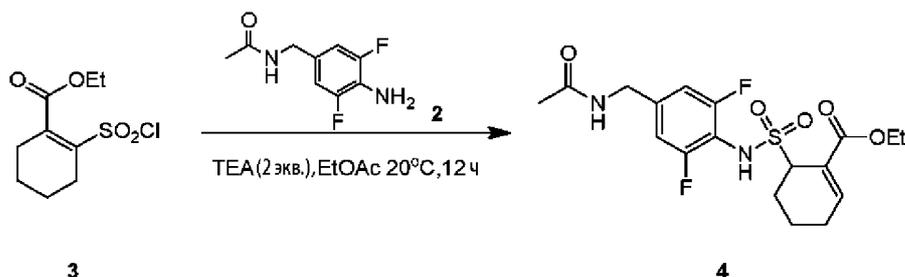
[0934] **Пример 36. Типовой синтез Соединения I-60.**

[0935] Общая методика получения соединения 2:



[0936] Смесь соединения 1 (3 г, 18,9 ммоль, 1 экв.), ацетилацетата (1,55 г, 15,1 ммоль, 1,42 мл, 0,8 экв.), DIEA (1,96 г, 15,1 ммоль, 2,64 мл, 0,8 экв.) в THF (30 мл) дегазировали и продували N_2 3 раза, а затем смесь перемешивали при 25°C в течение 12 часов в атмосфере N_2 . TLC (Петролейный эфир: Этилацетат = 1:1 $R_f = 0,24$) продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано. Остаток разбавляли H_2O (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл * 2). Реакционную смесь сливали в делительную воронку и разделяли. Объединенные органические слои промывали соевым раствором (50 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO_2 , петролейный эфир: Этилацетат = от 100: 1 до 0: 1). **Соединение 2** (3 г, 14,99 ммоль, выход: 79,00%) получали в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 8,25 (br s, 1 H) 6,71 - 6,85 (m, 2 H) 5,07 (s, 2 H) 4,09 (d, $J = 5,96$ Hz, 2 H) 1,84 (s, 3 H).

[0937] Общая методика получения соединения 4:

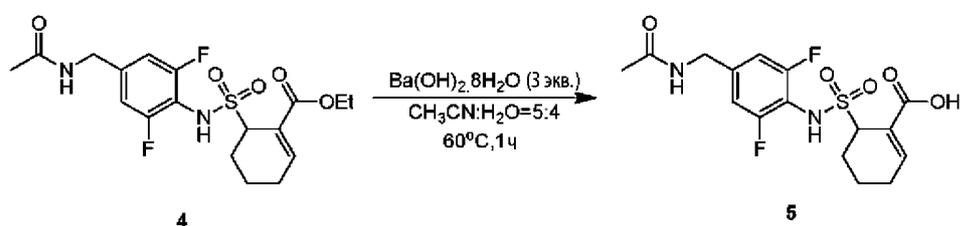


[0938] К раствору соединения 3 (4,29 г, 16,98 ммоль, 2 экв.) в EtOAc (20 мл) добавляли соединение 2 (1,7 г, 8,49 ммоль, 42,63 мкл, 1 экв.) и TEA (1,72 г, 16,98 ммоль, 2,36 мл, 2 экв.) в EtOAc (20 мл) при температуре 0°C в течение 2 мин. После добавления смесь перемешивали при температуре 20°C в течение 12 часов. TLC продемонстрировала, что **соединение 2** было

израсходовано полностью. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Остаток разбавляли H₂O (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (200 мл * 2). Реакционную смесь сливали в делительную воронку и разделяли. Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, Петролейный эфир: **Этилацетат** = от 5:1 до 0:1).

Соединение 4 (4 г, неочищенное) получали в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,64 (s, 1 H) 8,41 - 8,55 (m, 1 H) 7,18 - 7,31 (m, 1 H) 7,07 (br d, J = 8,46 Hz, 1 H) 4,31 - 4,40 (m, 1 H) 4,26 (d, J = 6,08 Hz, 1 H) 3,92 - 4,06 (m, 2 H) 2,30 - 2,44 (m, 2 H) 2,04 - 2,18 (m, 2 H) 2,00 (s, 1 H) 1,77 - 1,96 (m, 4 H) 1,64 (br s, 1 H) 1,15 - 1,21 (m, 1 H) 1,08 (t, J = 7,09 Hz, 1 H) 1,02 (td, J = 7,12, 1,85 Hz, 2 H).

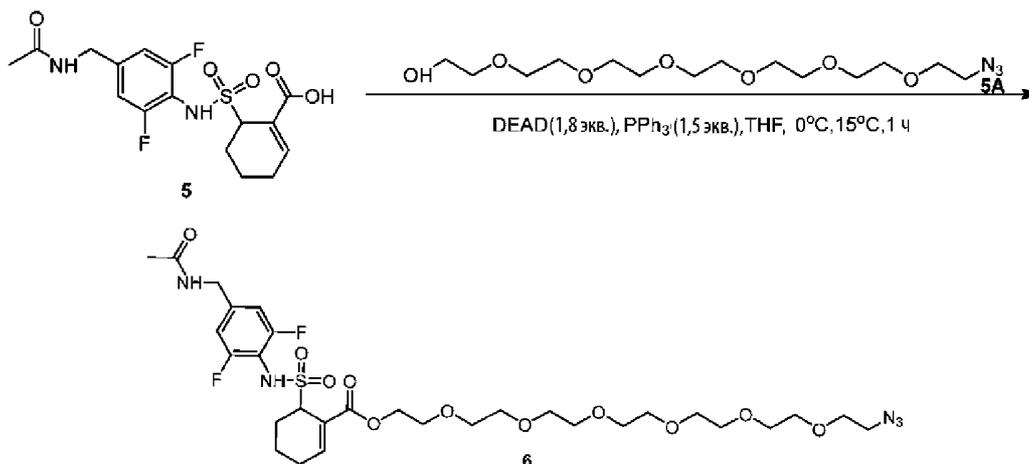
[0939] Общая методика получения соединения 5:



[0940] К раствору соединения 4 (1,5 г, 3,60 ммоль, 1 экв.) в CH₃CN (20 мл) H₂O (15 мл) добавляли октагидрат дигидроксидбария (3,41 г, 10,81 ммоль, 3 экв.). Смесь перемешивали при 60° С в течение 1 часа. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь распределяли между EtOAc (100 мл). Органическую фазу отделяли. Водную фазу разбавляли H₂O (100 мл), а затем добавляли 0,5 М HCl для доведения pH до 3-4. Органическую фазу смеси отделяли, а водную фазу дважды экстрагировали этилацетатом, каждый раз по 200 мл. Объединяли все органические фазы, один раз промывали 50 мл насыщенной соленой воды, сушили безводным сульфатом натрия, фильтровали и сушили центрифугированием. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Phenomenex luna C18 80*40мм*3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,04%HCl)-ACN]; V%: 17%-35%, 7 мин). **Соединение 5** (600 мг, 1,54 ммоль, выход: 42,89%), получали в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12,28 (br s, 1 H) 9,52 (s, 1 H) 8,42 (br t, J = 5,81 Hz, 1 H) 7,05 (br d, J = 8,68 Hz, 3 H) 4,37 (br d, J = 5,38 Hz, 1 H) 4,25 (d, J = 5,99 Hz, 2 H) 2,33 (br d, J=3,67 Hz, 1 H) 2,29 (br t, J=4,58 Hz, 1 H) 2,17 - 2,25 (m, 1 H) 2,03 - 2,17 (m, 1 H) 1,90 (s, 3 H) 1,67 - 1,81 (m, 1 H) 1,54 - 1,67 (m, 1 H). LCMS: Rt = 1,232 мин, MS (ESI): m/z [M*2+H⁺] расщ. для C₁₆H₁₈F₂N₂O₅S, 388,0; найдено

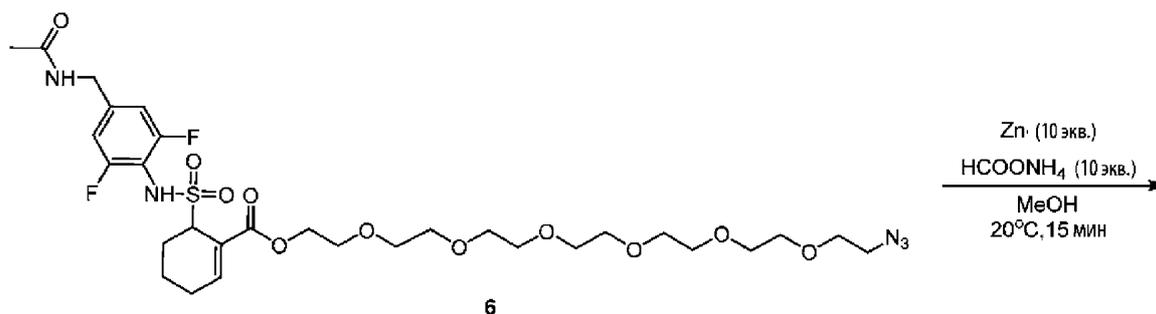
777,2.

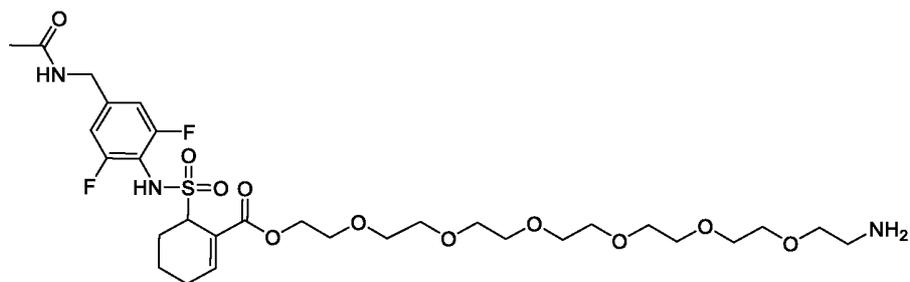
[0941] Общая методика получения соединения 6:



[0942] К раствору соединения 5 (200 мг, 514 мкмоль, 1 экв.) в THF (2 мл) добавляли PPh₃ (202 мг, 772 мкмоль, 1,5 экв.) и DEAD (161 мг, 926 мкмоль, 1,8 экв.) и соединение 5A (361 мг, 1,03 ммоль, 2 экв.). Смесь перемешивали при температуре 15 °С в течение 1 часа. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. HPLC продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Kromasil C18 (250*50мм*10 мкм); мобильная фаза: [вода (10 мМ NH₄HCO₃)-ACN]; В%: 20%-45%, 10 мин). **Соединение 6** (170 мг, 235 мкмоль, выход: 45,74%) получали в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 8,42 (br s, 1 H) 7,07 (br s, 2 H) 4,36 (br s, 1 H) 4,25 (br s, 2 H) 4,07 (br s, 2 H) 3,50 (br s, 16 H) 2,10 (br s, 5 H) 1,89 (br s, 3 H) 1,61 (br s, 3 H). LCMS: Rt = 1,239 мин, MS (ESI): *m/z* [M+H₂O⁺] рассч. для C₃₀H₄₅F₂N₅O₁₁S, 721,2; найдено 739,3. HPLC: Rt = 1,983 мин.

[0943] Общая методика получения соединения 7:

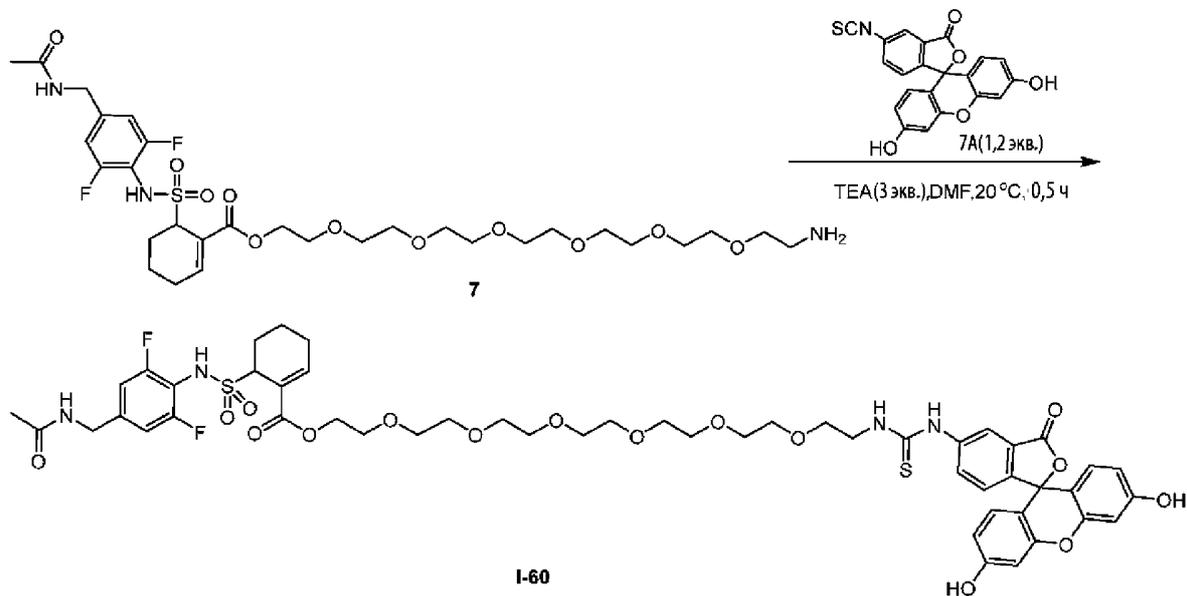




7

[0944] Смесь соединения 6 (50 мг, 69,2 мкмоль, 1 экв.), Zn (45,30 мг, 692,75 мкмоль, 10 экв.), аммиака; муравьиной кислоты (43,68 мг, 692,75 мкмоль, 10 экв.) в MeOH (0,5 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при 20 °С в течение 15 минут в атмосфере N₂. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь концентрировали. Неочищенный продукт растворяли в THF (2 мл) и добавляли DCM (2 мл), смесь осаждали твердыми веществами. Смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали DCM (3 мл ×2). **Объединенные фильтраты** концентрировали досуха с получением неочищенного продукта. Соединение 7 (30 мг, 43,12 мкмоль, выход: 61,24%) получали в виде белого масла. LCMS: Rt = 0,580 мин, MS (ESI): *m/z* [M+H⁺] расщ. для C₃₀H₄₇F₂N₃O₁₁S, 695,5; найдено 696,2.

[0945] Общая методика получения соединения I-60:

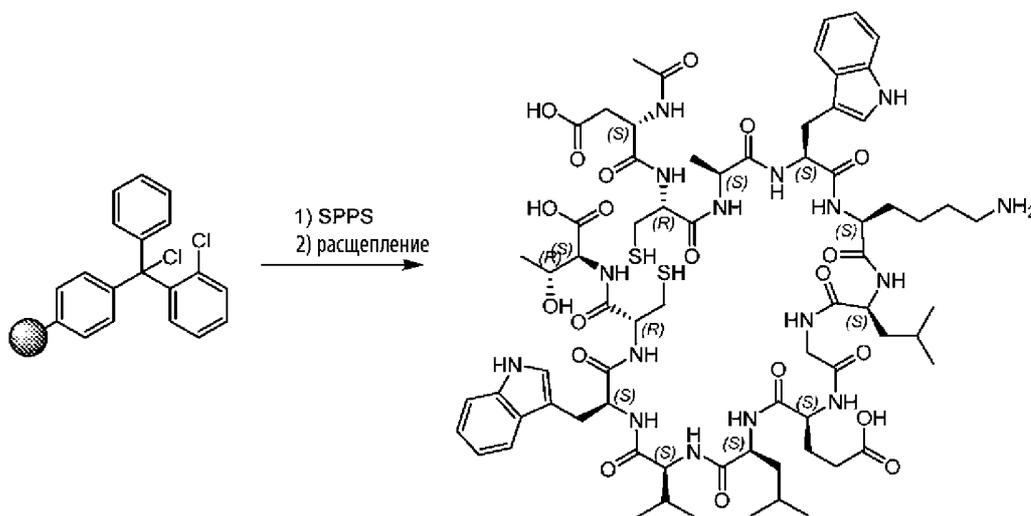


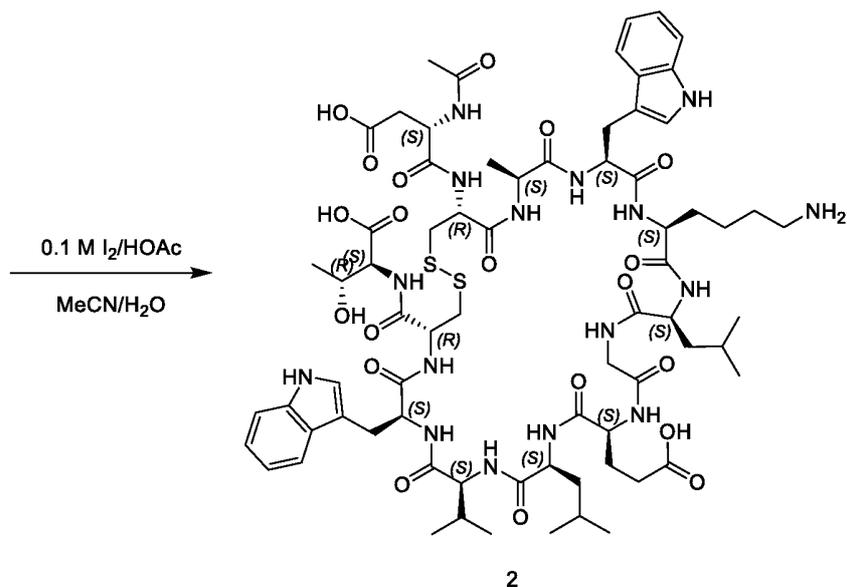
Смесь соединения 7 (30 мг, 43.1 μmol, 1 экв.), соединения 7A (20,15 мг, 51,74 мкмоль, 1,2 экв.) и

TEA (13,0 мг, 129 мкмоль, 18,0 мкл, 3 экв.),) в DMF (1 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при 20 °С в течение 0,5 ч в атмосфере N₂. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. HPLC продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Nano-micro Kromasil C18 100*40 мм 10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1% TFA)-ACN]; В%: 30%-58%, 8 мин). Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно-фазовой HPLC (колонка: Waters Xbridge BEH C18 100*30мм*10мкм; мобильная фаза: [вода (10 мМ NH₄HCO₃)-ACN]; В%: 5%-40%, 8 мин). **Соединение I-60** (5,27 мг, 5,01 мкмоль, выход: 11,61%, чистота 96,00%) получали в виде твердого вещества желтого цвета. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ ppm 10,05 (s, 1 H) 8,40 (br s, 1 H) 8,27 (s, 1 H) 8,14 (br s, 1 H) 7,73 (s, 1 H) 7,17 (d, J = 8,16 Hz, 1 H) 6,96 - 7,07 (m, 3 H) 6,67 (s, 2 H) 6,52 - 6,62 (m, 4 H) 4,31 (br s, 1 H) 4,23 (br d, J = 5,95 Hz, 2 H) 4,05 (br d, J = 4,41 Hz, 2 H) 3,68 (br s, 2 H) 3,60 (br s, 2 H) 3,56 (s, 4 H) 3,41 - 3,54 (m, 20 H) 2,25 - 2,31 (m, 1 H) 2,20 (s, 1 H) 2,15 (br s, 2 H) 1,89 (s, 3 H) 1,74 (s, 1 H) 1,59 (s, 1 H). LCMS: Rt = 0,716 мин, MS (ESI): m/z [M+H⁺] расщ. для C₅₁H₅₈F₂N₄O₁₆S₂, 1084,3; найдено 543,9. HPLC: Rt = 1,481 мин. Данные QC для соединения I-60: HPLC: Rt = 3,047 мин, чистота: 96,00%. MS: MS (ESI): m/z [M+H⁺] расщ. для C₅₁H₅₈F₂N₄O₁₆S₂, 1084,3; [M+H⁺] = 1085,1; [M/2+H⁺] = 543,1; найдено 1085,1.

[0946] Пример 37. Типовой синтез Соединения I-61.

[0947] Общая методика получения соединения 2:





[0948] Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии.

- 8) Получение смолы: В сосуд, содержащий смолу CTC (0,50 ммоль, 0,50 г, 1,00 ммоль/г) и Fmoc-Thr(*t*Bu)-OH (0,20 г, 0,50 ммоль, 1,00 экв.) в DCM (5,0 мл), по каплям добавляли DIEA (4,00 экв.) и перемешивали. в течение 2 часов с барботированием N₂ при 15 °С. Затем добавляли MeOH (0,5 мл) и барботировали N₂ еще в течение 30 минут. Смолу промывали DMF (10,0 мл)*5, затем в сосуд добавляли 20% пиперидина в DMF (10,0 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. После фильтрации смолу промывали DMF (10,0 мл)*5 перед переходом к следующему этапу.
- 9) Связывание: К смоле добавляли раствор Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.), HBTU (2,85 экв.) в DMF (5,0 мл) при барботировании N₂. Затем к смеси по каплям добавляли DIEA (6,00 экв.) и барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, если реакция была бесцветной, то связывание было завершено. Затем смолу промывали DMF (10,0 мл) *5.
- 10) Снятие защиты: К смоле добавляли 20% пиперидин в DMF (10,0 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. Затем смолу промывали DMF (10,0 мл)*5. Реакцию снятия защиты контролировали с помощью нингидринового теста, если он демонстрировал синий или другой коричневато-красный цвет, реакция была завершена.
- 11) Повторение этапов 2 и 3 для всех остальных аминокислот: (2-13 в Таблице ниже).
- 12) Ацетилирование: К смоле добавляли раствор 10%Ac₂O/5%NMM/85%DMF (10,0 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 20 минут. Реакцию связывания контролировали с помощью

нингидринового теста, если реакция была бесцветной, то связывание было завершено. Затем смолу промывали DMF (10,0 мл) *5, MeOH (10,0 мл) *5 и сушили в вакууме.

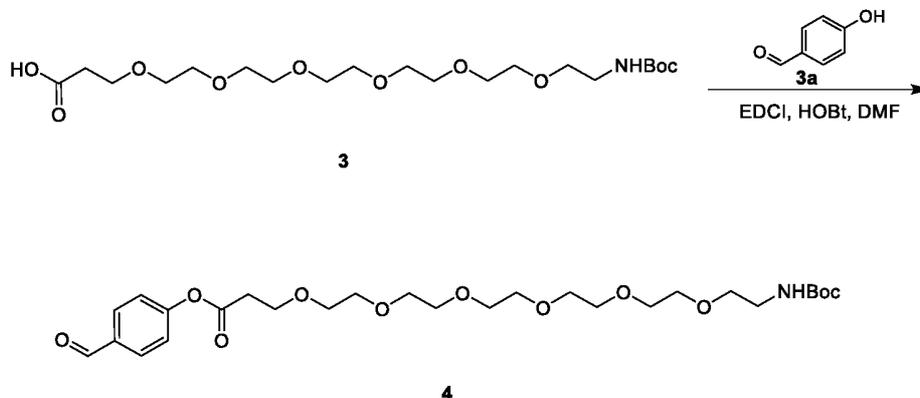
| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|----|--|--|
| 1 | Fmoc-Thr(<i>t</i> Bu)-OH (1,00 экв.) | DIEA (4,00 экв.) |
| 2 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 3 | Fmoc-Trp-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 4 | Fmoc-Val-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 5 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 6 | Fmoc-Glu(O <i>t</i> Bu)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 7 | Fmoc-Gly-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 8 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 9 | Fmoc-Lys(Boc)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 10 | Fmoc-Trp-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 11 | Fmoc-Ala-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 12 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 13 | Fmoc-Asp(O <i>t</i> Bu)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 14 | Ацетилирование | 10% Ac ₂ O/ 5%NMM/ 85%DMF (20 мл) |

[0949] Расщепление и очистка пептидов:

- 21) Добавляли буфер для отщепления (95%TFA/2.5%Tis/2.5%Н₂O) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре и перемешивали в течение 1 ч.
- 22) После фильтрации раствор объединяли.
- 23) Пептид осаждали холодным изопропиловым эфиром (100 мл) и центрифугировали (3 мин при 3000 об/мин).
- 24) Твердое вещество дважды промывали изопропиловым эфиром и сушили в вакууме в течение 2 часов с получением соединения 1 (600,0 мг, неочищенное) в виде белого твердого вещества. К смеси соединения 1 (600,0 мг, неочищенное) в MeCN/H₂O (1/1, 500,0 мл) по каплям добавляли 0,1 M I₂/HOAc до появления светло-желтого цвета, затем смесь гасили путем

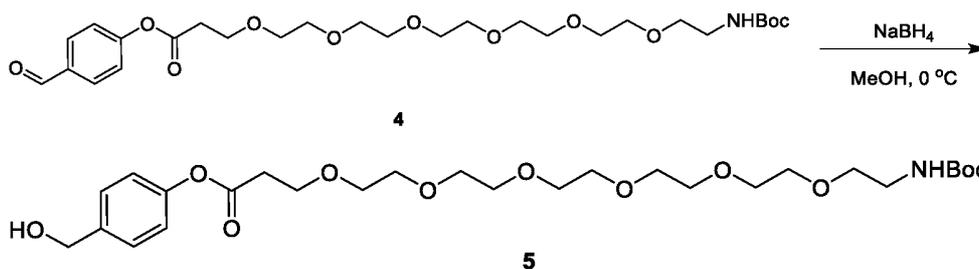
добавления по каплям 0,1 М Na₂S₂O₃ до исчезновения светло-желтого цвета. Смесь лиофилизировали с последующей очисткой препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) с получением соединения 2 (245,0 мг) в виде белого твердого вещества.

[0950] Общая методика получения соединения 4:



[0951] Смесь соединения 3a (323,1 мг, 2,65 ммоль, 3,00 экв.), соединения 3 (400,0 мг, 881,98 мкмоль, 1,00 экв.), DIC (333,9 мг, 2,65 ммоль, 409,71 мкл, 3,00 экв.), HOBT (357,5 мг, 2,65 ммоль, 3,00 экв.) и DMAP (215,5 мг, 1,76 ммоль, 2,00 экв.) в DMF (4 мл) перемешивали при 15 °С в течение 16 часов. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно для получения соединения 4 (400,0 мг, 717,3 мкмоль, выход 81,3%) в виде бесцветного масла. ¹H ЯМР (400 MHz CD₃Cl): δ ppm 9,99 - 10,04 (m, 1 H) 7,88 - 7,97 (m, 2 H) 7,29 - 7,34 (m, 2 H) 5,12 (s, 1 H) 3,90 (t, *J* = 6,27 Hz, 2 H) 3,68 - 3,71 (m, 4 H) 3,66 - 3,68 (m, 12 H) 3,61 - 3,65 (m, 4 H) 3,52 - 3,58 (m, 2 H) 3,33 (d, *J* = 4,77 Hz, 2 H) 2,89 (t, *J* = 6,27 Hz, 2 H) 1,46 (s, 9 H).

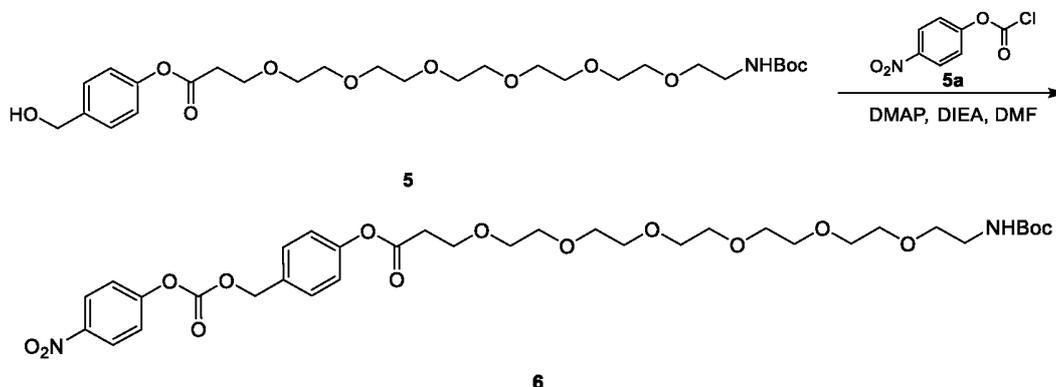
[0952] Общая методика получения соединения 5:



[0953] К смеси соединения 4 (360,0 мг, 645,5 мкмоль, 1,00 экв.) в MeOH (5 мл) добавляли раствор NaBH₄ (24,4 мг, 645,50 мкмоль, 1,00 экв.) в MeOH (0,2 мл) при 0 °С, затем смесь перемешивали при 0 °С в течение 0,5 часа. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин)

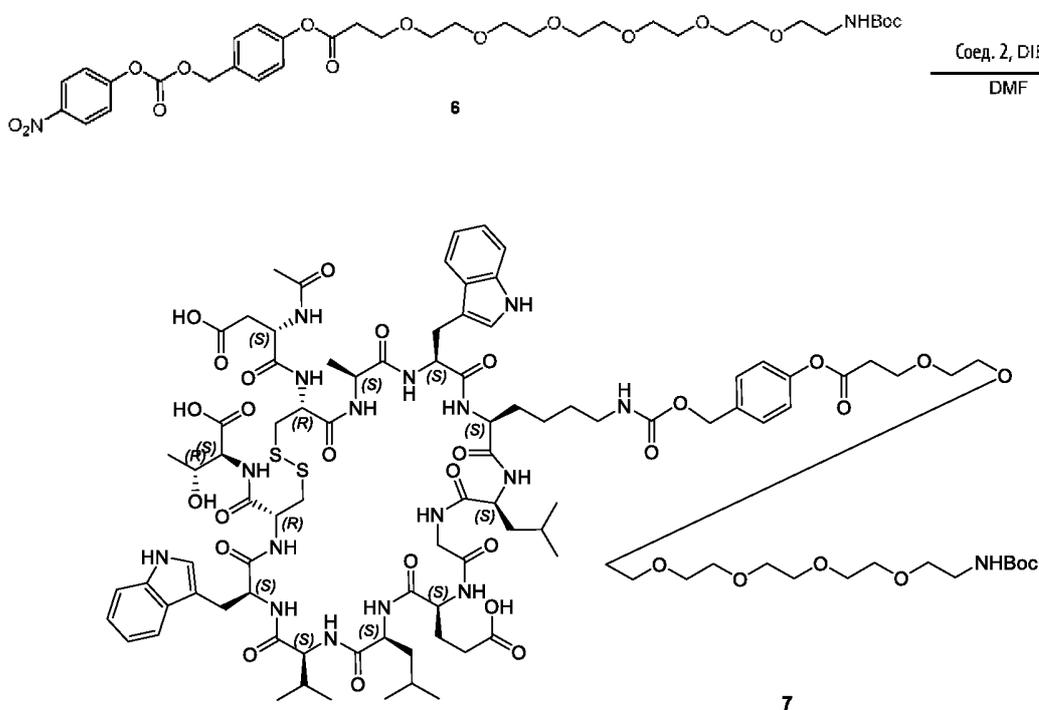
непосредственно для получения соединения 5 (330,0 мг, 589,61 мкмоль, выход 91,34%) в виде бесцветного масла.

[0954] Общая методика получения соединения 6:



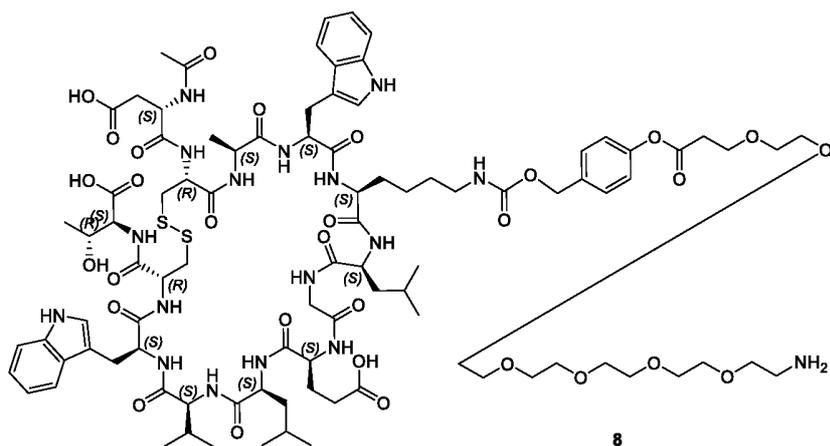
[0955] Смесь соединения 5a (237,7 мг, 1,18 ммоль, 2,00 экв.), соединения 5 (330,0 мг, 589,61 мкмоль, 1,00 экв.) и DIEA (304,8 мг, 2,36 ммоль, 410,8 мкл, 4,00 экв.) в THF (5 мл) перемешивали при 15 °С в течение 2 часов. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно с получением соединения 6 (200,0 мг, 275,91 мкмоль, выход 46,8%) в виде светло-желтого масла.

[0956] Общая методика получения соединения 7:



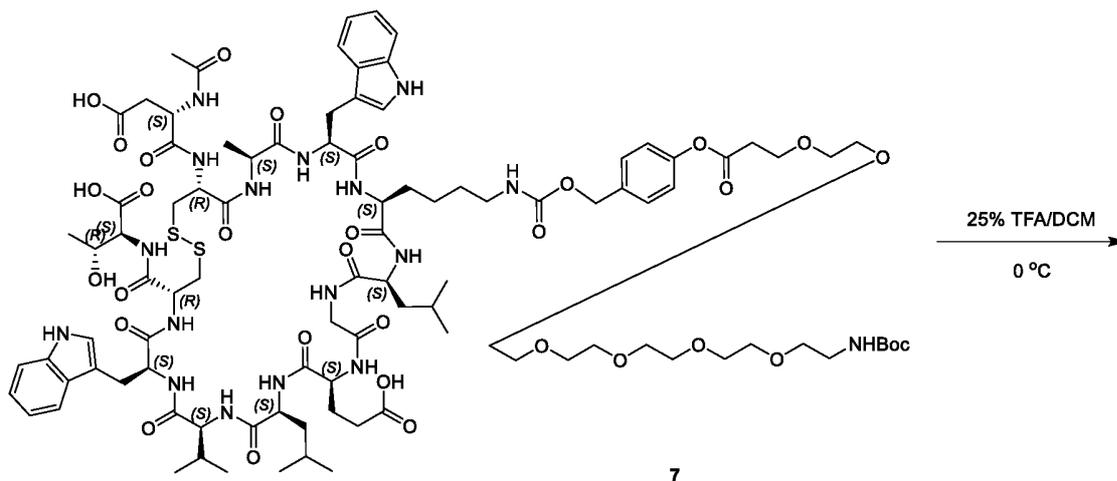
[0957] Смесь соединения 2 (92,6 мг, 55,19 мкмоль, 1,00 экв., TFA), соединения 6 (40,0 мг, 55,19 мкмоль, 1,00 экв.) и DIEA (35,6 мг, 275,91 мкмоль, 48,0 мкл, 5,00 экв.) в DMF (2 мл) перемешивали при 15 °С в течение 1 часа. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно с получением соединения 7 (40,0 мг, 18,6 мкмоль, выход 33,7%) в виде белого твердого вещества.

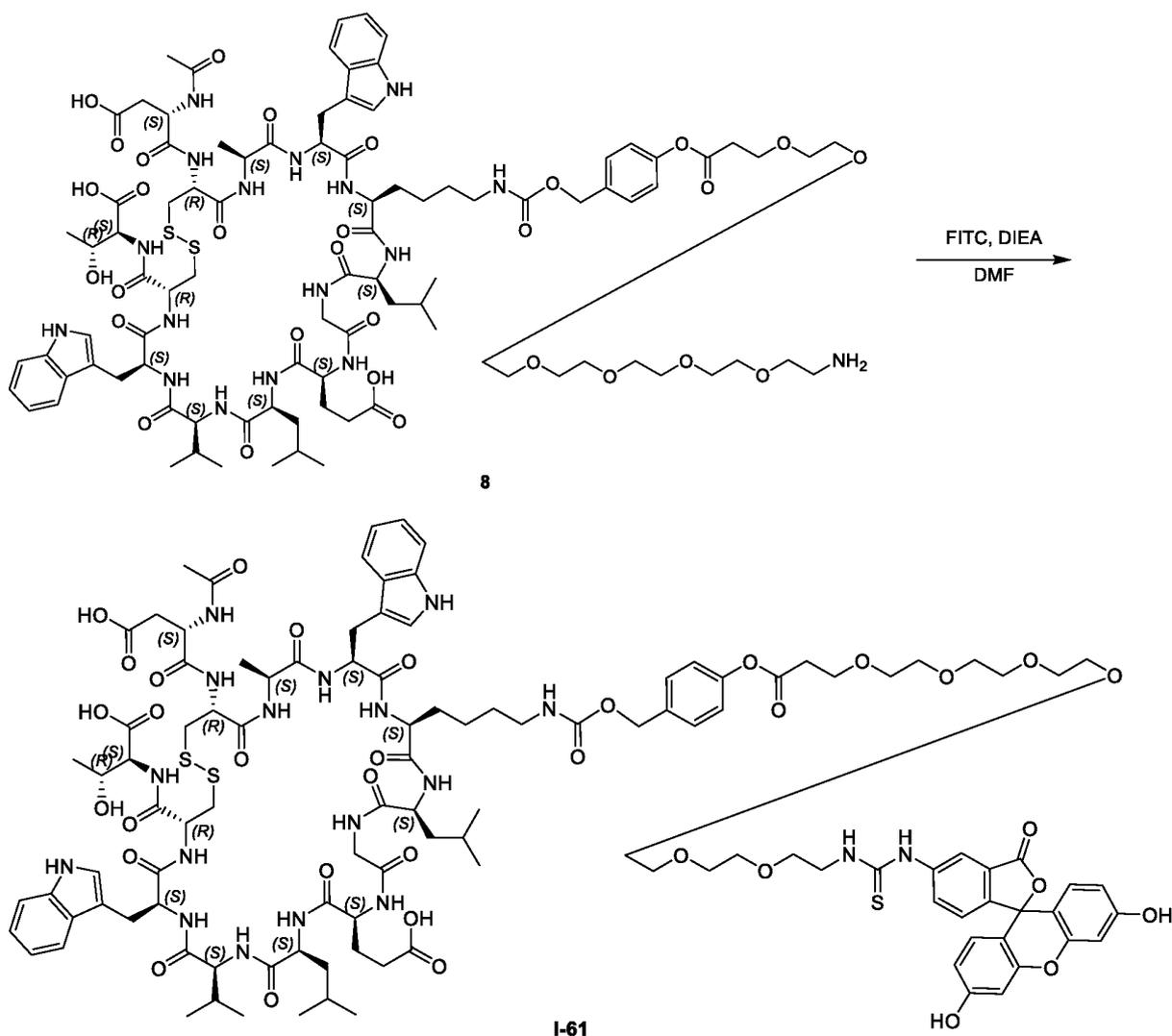
[0958] Общая методика получения соединения 8:



[0959] Смесь соединения 7 (40,0 мг, 18,61 мкмоль, 1,00 экв.) в 25% TFA/DCM (1:4, 5,0 мл) перемешивали при 0 °С в течение 2 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении при 0 °С. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно для получения соединения 8 (30,0 мг, 13,80 мкмоль, выход 74,5%, TFA) в виде белого твердого вещества.

[0960] Общая методика получения соединения I-61:





[0961] Смесь соединения 8 (30,0 мг, 13,80 мкмоль, 1,00 экв., TFA), FITC (8,1 мг, 20,80 мкмоль, 1,50 экв.), DIEA (7,12 мг, 55,40 мкмоль, 9,6 мкл, 4,00 экв.) в DMF (0,5 мл) перемешивали при 15 °С в течение 1 часа. Раствор очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) непосредственно с получением соединения I-61 (14,3 мг, 5,05 мкмоль, выход 36,4%, чистота 86,2%) в виде твердого вещества желтого цвета.

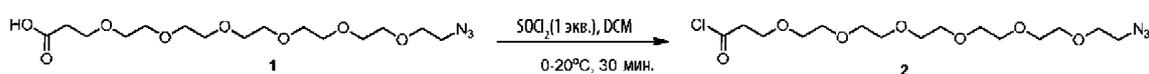
Условия очистки:

| Условия очистки | |
|---------------------|---|
| Подготовка образцов | Растворение в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |

| | |
|-----------------|---|
| | В: MeCN |
| Градиент: | 20-50%-60 мин. Время удерживания: 45 мин |
| Колонка | Luna 25*200 мм, C18 10 мкм, 110Å+Gemin 150*30 мм, C18 5 мкм, 110Å |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

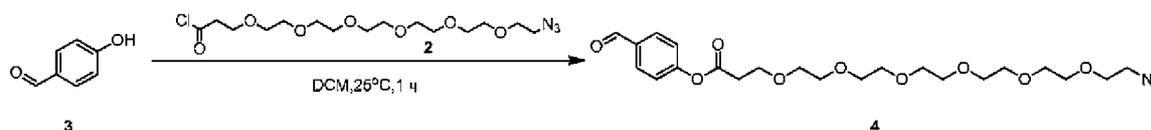
[0962] Пример 38. Типовой синтез Соединения I-62.

[0963] Общая методика получения соединения 2:



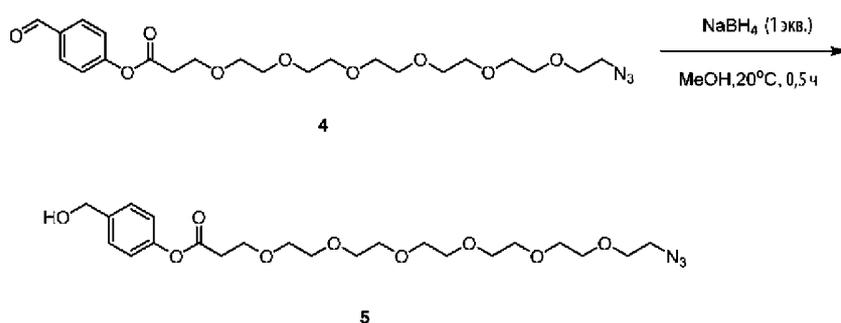
[0964] К раствору соединения 1 (500 мг, 1,32 ммоль, 1 экв.) в DCM (3 мл) добавляли SOCl_2 (470,36 мг, 3,95 ммоль, 286,80 мкл, 3 экв.) при 0 °С. Смесь перемешивали при 20 °С в течение 30 мин. TLC продемонстрировала, что соединение 1 полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. Реакционную смесь концентрировали досуха. Неочищенный продукт **соединения 2** (524 мг, неочищенное) использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

[0965] Общая методика получения соединения 4:



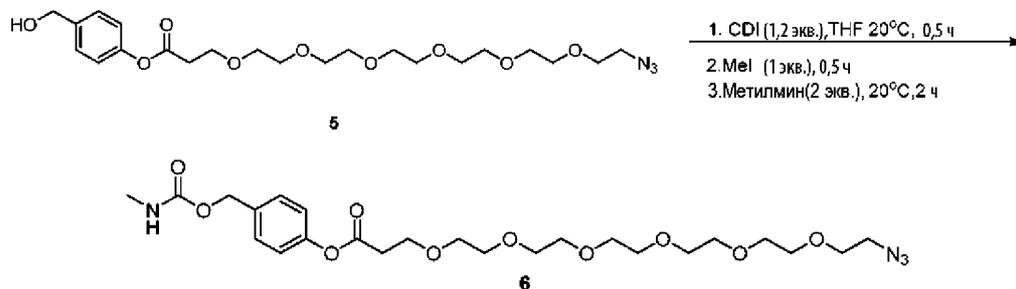
[0966] К раствору соединения 3 (160 мг, 1,31 ммоль, 1 экв.) в DCM (3 мл) добавляли TEAA (397,73 мг, 3,93 ммоль, 547,08 мкл, 3 экв.) при 0 °С. К смеси добавляли соединение 2 (521,25 мг, 1,31 ммоль, 1 экв.) в DCM (1 мл) при 0 °С. Смесь перемешивали при 25°C в течение 1 часа. TLC продемонстрировала, что соединение 3 полностью израсходовано и образовалось одно новое пятно. Согласно TLC, реакция была чистой. Раствор разводили H_2O (10 мл), экстрагировали DCM (20 мл *3). Объединенный органический слой промывали 5 мл H_2O , 5 мл солевого раствора, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и фильтрат концентрировали, получая неочищенный продукт. Соединение 4 (550 мг, 1,14 ммоль, выход: 86,82%) получали в виде желтого масла. ^1H ЯМР (ХЛОРОФОРМ-d, 400 МГц): δ 10,00 (s, 1H), 7,93 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 7,2-7,3 (m, 3H), 3,89 (t, 2H, $J = 6,2$ Hz), 3,6-3,7 (m, 24H), 3,39 (t, 2H, $J = 5,1$ Hz), 2,88 (t, 2H, $J = 6,2$ Hz).

[0967] Общая методика получения соединения 5:



[0968] К раствору соединения 4 (250 мг, 517,05 мкмоль, 1 экв.) в THF (1 мл) добавляли (19,56 мг, 517,05 мкмоль, 1 экв.) при 0 °С. Смесь перемешивали при 20°С в течение 30 мин. LC-MS продемонстрировала, что соединение 4 израсходовано полностью. Реакцию гасили добавлением 1 мл HCl (0,5M) до pH=4-5 при 0 °С.. Смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Phenomenex Synergi C18 150*25*10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 15%-55%, 10 мин). Соединение 5 (340 мг, 700,27 мкмоль, выход: 67,72%) получали в виде бесцветного масла. LCMS: RT = 1,748 мин, MS (ESI): m/z [M+H⁺] расщ. для C₂₂H₃₅N₃O₉, 485,24; найдено 440,3. ¹H ЯМР (ХЛОРОФОРМ-d, 400 MHz): δ 7,38 (br s, 2H), 7,2-7,3 (m, 1H), 7,09 (br d, 2H, J=4,6 Hz), 4,70 (br s, 2H), 3,8-3,9 (m, 2H), 3,6-3,8 (m, 23H), 3,39 (br s, 2H), 2,8-2,9 (m, 2H), 1,8-2,2 (m, 3H).

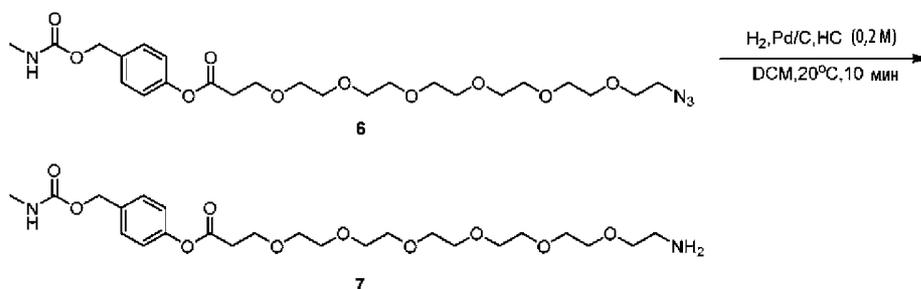
[0969] Общая методика получения соединения 6:



[0970] К раствору соединения 5 (100 мг, 205,96 мкмоль, 1 экв.) в THF (1 мл) добавляли CDI (40,08 мг, 247,15 мкмоль, 1,2 экв.) на 0,5 часа. К смеси добавляли MeI (29,23 мг, 205,96 мкмоль, 12,82 мкл, 1 экв.) на 0,5 часа. К смеси добавляли метанамин (0,5 M, 823,85 мкл, 2 экв.). Указанную смесь перемешивали при температуре 20 °С в течение 2 часов. LC-MS продемонстрировала, что желаемая масса была обнаружена. Реакционную смесь сушили в атмосфере азота. Смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Phenomenex luna C18 100*40 мм*3 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA) – ACN]; V%: 35%-65%,10 мин). Соединение 6

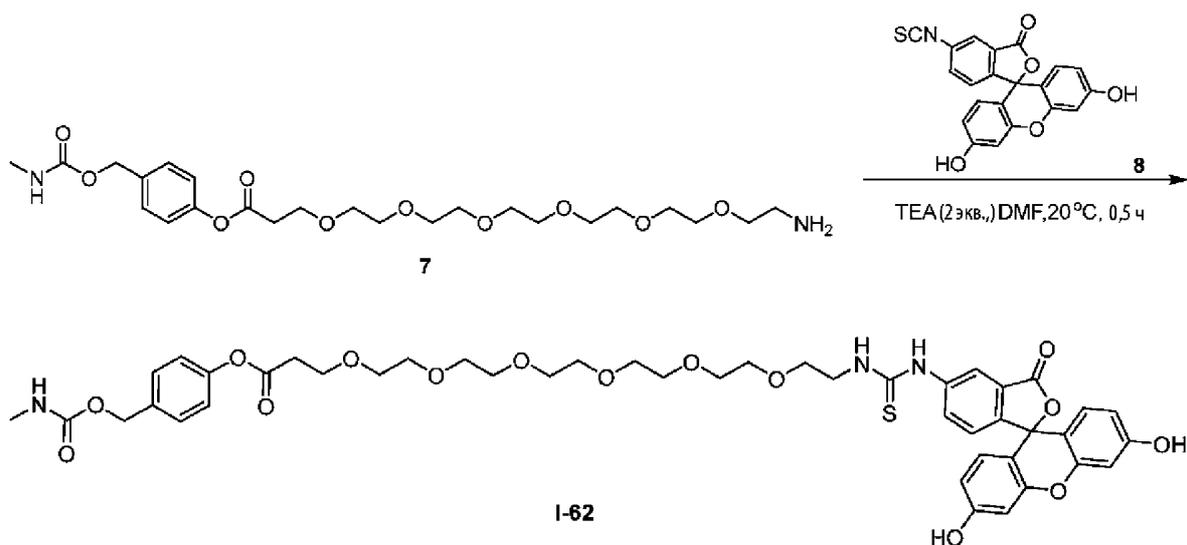
(50 мг, 92,15 мкмоль, выход: 44,74%) получали в виде желтого масла. LCMS: Rt = 1,277 мин, MS (ESI): m/z [M+H⁺] рассч. для C₂₄H₃₈N₄O₁₀, 543,26; найдено 543,3. ¹H ЯМР (ХЛОРОФОРМ-d, 400 МГц): δ 7,38 (br d, 2H, J = 8,2 Hz), 7,09 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 5,09 (s, 2H), 3,87 (t, 2H, J = 6,4 Hz), 3,6-3,7 (m, 23H), 3,39 (t, 2H, J = 5,1 Hz), 2,8-2,9 (m, 5H).

[0971] Общая методика получения соединения 7:



[0972] К раствору соединения 6 (30 мг, 55,29 мкмоль, 1 экв.) в THF (0,5 мл) добавляли Pd/C (15 мг, чистота 10%) и HCl (0,2 М, 276,46 мкл, 1 экв.) в атмосфере N₂. Суспензию дегазировали и продували H₂ 3 раза. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ (15 фунт/кв. дюйм) при температуре 20 °С в течение 5 мин. LC-MS продемонстрировала, что соединение 6 полностью израсходовано, и была обнаружена целевая масса. Суспензию фильтровали и осадок на фильтре промывали THF (2 мл× 2). Объединенные фильтраты сушили в атмосфере азота. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Nano-micro Kromasil C18 100*40 мм 10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA) – ACN]; В%: 1%-34%, 8 мин). Соединение 7 (10 мг, 18,00 мкмоль, выход 32,56%, чистота 93%) получали в виде бесцветного масла. LCMS: Rt = 1,465 мин, MS (ESI): m/z [M+H⁺] рассч. для C₂₄H₄₀N₂O₁₀, 517,27; найдено 517,3.

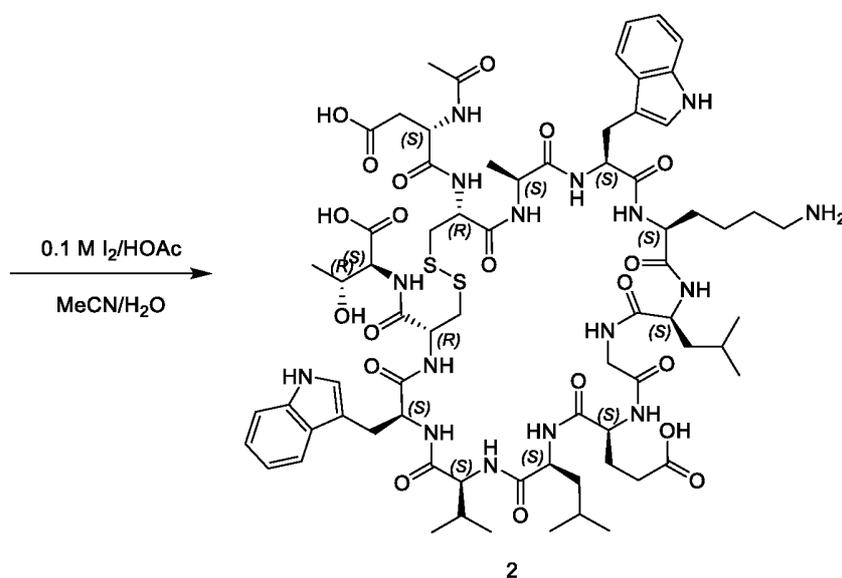
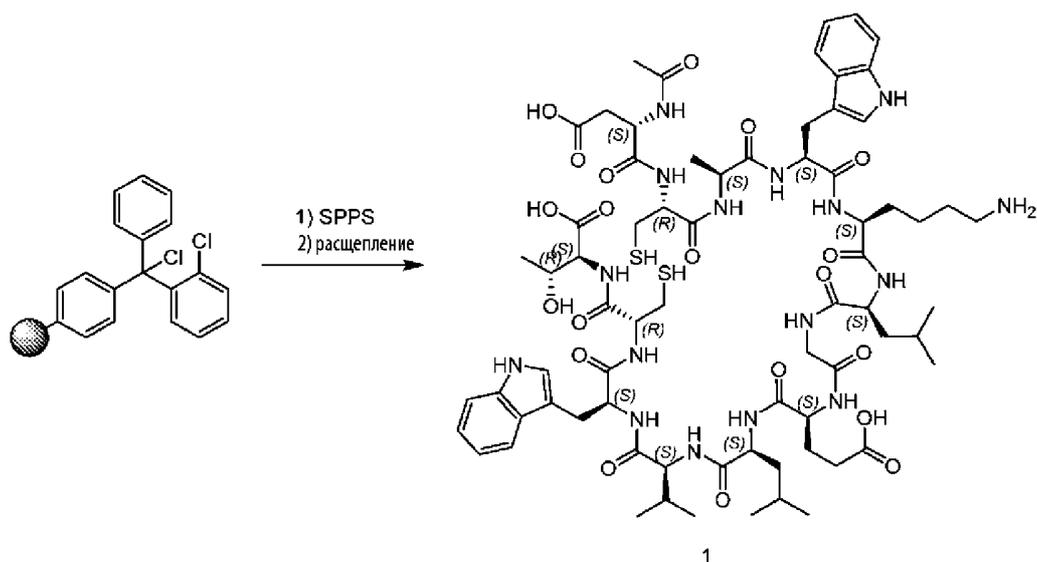
[0973] Общая методика получения Соединения I-62:



К раствору соединения 7 (5 мг, 7,93 мкмоль, 1 экв., TFA) и соединения 8 (2,78 мг, 7,14 мкмоль, 0,9 экв.) в DMF (0,5 мл) добавляли TEA (1,60 мг, 15,86 мкмоль, 2,21 мкл, 2 экв.). Смесь перемешивали при температуре 20 °C в течение 30 мин. LC-MS продемонстрировала, что соединение 7 полностью израсходовано, и была обнаружена целевая масса. Смесь сразу очищали. Остаток очищали препаративной HPLC (среда TFA; колонка: Phenomenex Synergi C18 150*25*10 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; В%: 25%-50%, 10 мин). Соединение I-62 (5,34 мг, 5,77 мкмоль, выход: 36,39%, чистота 97,91%) получали в виде твердого вещества желтого цвета. ^1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц): δ 8,27 (s, 1H), 7,9-8,2 (m, 1H), 7,74 (br d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,37 (br d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 7,18 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 7,09 (br d, 3H, $J = 8,3$ Hz), 6,67 (d, 2H, $J = 2,0$ Hz), 6,5-6,6 (m, 4H), 5,00 (s, 2H), 3,73 (br t, 3H, $J = 6,2$ Hz), 3,68 (br s, 2H), 3,6-3,6 (m, 3H), 3,5-3,6 (m, 22H), 2,8-2,8 (m, 2H), 2,57 (br d, 4H, $J = 4,5$ Hz). LCMS: $R_t = 2,430$ мин, MS (ESI): m/z [$M+H^+$] рассч. для $C_{45}H_{51}N_3O_{15}S$, 906,30; найдено 906,6. Данные QC для соединения I-62: HPLC: $R_t = 2,907$ мин, чистота: 97,91%. LCMS: $R_t = 2,330$ мин. MS (ESI): m/z [$M+H^+$] рассч. для $C_{45}H_{51}N_3O_{15}S$, 906,30; найдено 906,3.

[0974] **Пример 39. Типовой синтез Соединения I-63.**

[0975] **Общая методика получения соединения 2:**



[0976] Пептид синтезировали с применением стандартной Fmoc химии.

- 1) Получение смолы: В сосуд, содержащий смолу CTC (0,50 ммоль, 0,50 г, 1,0 ммоль/г) и Fmoc-Thr(*t*Bu)-OH (0,20 г, 0,50 ммоль, 1,00 экв.) в DCM (5,0 мл), по каплям добавляли DIEA (4,00 экв.) и перемешивали. в течение 2 часов с барботированием N₂ при 15 °С. Затем добавляли MeOH (0,5 мл) и барботировали N₂ еще в течение 30 минут. Смолу промывали DMF (10,0 мл)*5, затем в сосуд добавляли 20% пиперидина в DMF (10,0 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. После фильтрации смолу промывали DMF (10,0 мл)*5 перед переходом к следующему этапу.

- 2) Связывание: К смоле добавляли раствор Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.), HBTU (2,85 экв.) в DMF (5,0 мл) при барботировании N₂. Затем к смеси по каплям добавляли DIEA (6,00 экв.) и барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, если реакция была бесцветной, то связывание было завершено. Затем смолу промывали DMF (10,0 мл) *5.
- 3) Снятие защиты: К смоле добавляли 20% пиперидин в DMF (10,0 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 30 минут при 15 °С. Затем смолу промывали DMF (10,0 мл)*5. Реакцию снятия защиты контролировали с помощью нингидринового теста, если он демонстрировал синий или другой коричневато-красный цвет, реакция была завершена.
- 4) Повторение этапов 2 и 3 для всех остальных аминокислот: (2-13 в Таблице ниже).
- 5) Ацетилирование: К смоле добавляли раствор 10%Ac₂O/5%NMM/85%DMF (10,0 мл) и смесь барботировали N₂ в течение 20 минут. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, если реакция была бесцветной, то связывание было завершено. Затем смолу промывали DMF (10,0 мл) *5, MeOH (10,0 мл) *5 и сушили в вакууме.

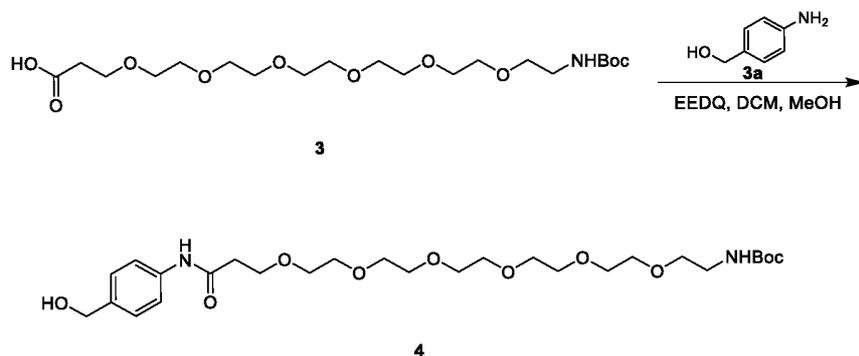
| # | Материалы | Связывающие реагенты |
|----|--|-------------------------------------|
| 1 | Fmoc-Thr(<i>t</i> Bu)-OH (1.00 экв.) | DIEA (4,00 экв.) |
| 2 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 3 | Fmoc-Trp-OH (3.00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 4 | Fmoc-Val-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 5 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 6 | Fmoc-Glu(O <i>t</i> Bu)-OH (3.00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 7 | Fmoc-Gly-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 8 | Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 9 | Fmoc-Lys(Boc)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 10 | Fmoc-Trp-OH (3.00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 11 | Fmoc-Ala-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 12 | Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |
| 13 | Fmoc-Asp(O <i>t</i> Bu)-OH (3,00 экв.) | HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.) |

| | | |
|----|----------------|--|
| 14 | Ацетилирование | 10% Ac ₂ O/ 5%NMM/ 85%DMF (20 мл) |
|----|----------------|--|

[0977] Расщепление и очистка пептидов:

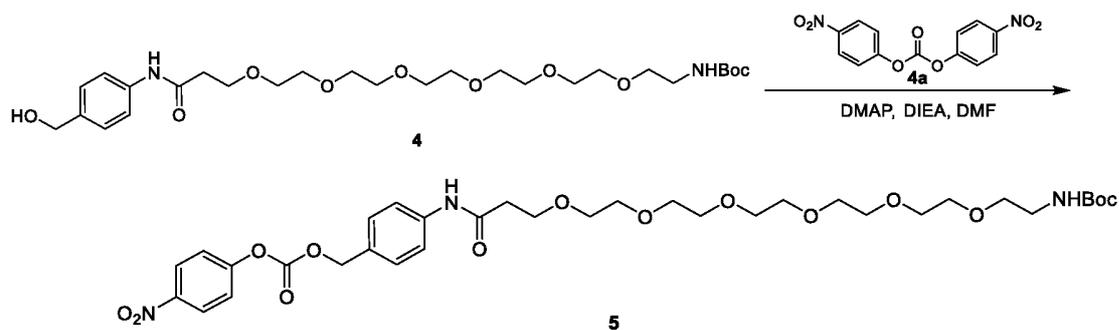
- 1) Добавляли буфер для отщепления (95%TFA/2.5%Tis/2.5%H₂O) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре и перемешивали в течение 1 ч.
- 2) После фильтрации раствор объединяли.
- 3) Пептид осаждали холодным изопропиловым эфиром (100 мл) и центрифугировали (3 мин при 3000 об/мин).
- 4) Твердое вещество дважды промывали изопропиловым эфиром и сушили в вакууме в течение 2 часов с получением соединения 1 (600,0 мг, неочищенное) в виде белого твердого вещества.
- 5) К смеси соединения 1 (600,0 мг, неочищенное) в MeCN/H₂O (1/1, 500,0 мл) по каплям добавляли 0,1 М I₂/HOAc до появления светло-желтого цвета, затем смесь гасили путем добавления по каплям 0,1 М Na₂S₂O₃ до исчезновения светло-желтого цвета. Смесь лиофилизировали с последующей очисткой препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) с получением соединения 2 (245,0 мг) в виде белого твердого вещества.

[0978] Общая методика получения соединения 4



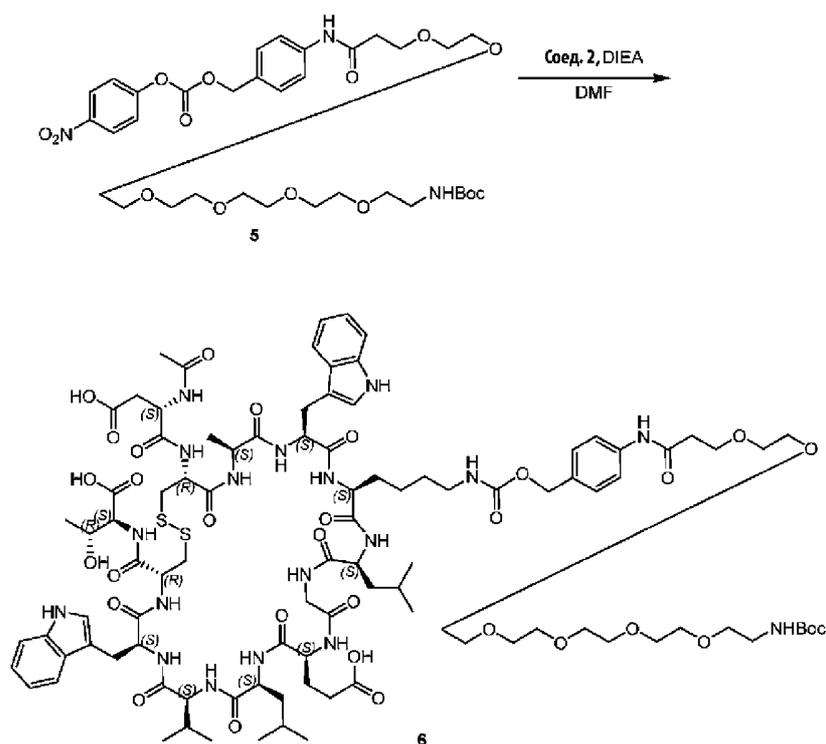
[0979] К смеси соединения 3a (217,21 мг, 1,76 ммоль, 2,00 экв.) и соединения 3 (400,01 мг, 881,90 мкмоль, 1,00 экв.) в DCM (1,0 мл) добавляли раствор MeOH (1,0 мл), содержащий EEDQ (436,20 мг, 1,76 ммоль, 2,00 экв.) при 15 °С. Смесь перемешивали при 15°С в течение 16 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно для получения соединения 4 (270,01 мг, 483,30 мкмоль, выход 54,8%) в виде коричневого масла.

[0980] Общая методика получения соединения 5:



[0981] Смесь соединения 4a (294,0 мг, 966,60 мкмоль, 2,00 экв.), соединения 4 (270,0 мг, 483,30 мкмоль, 1,00 экв.) и DIEA (249,8 мг, 1,93 ммоль, 336,7 мкл, 4,00 экв.) в DMF (2 мл) перемешивали при 15 °С в течение 3 часов. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно с получением соединения 5 (172,0 мг, 237,6 мкмоль, выход 49,1%) в виде желтого масла.

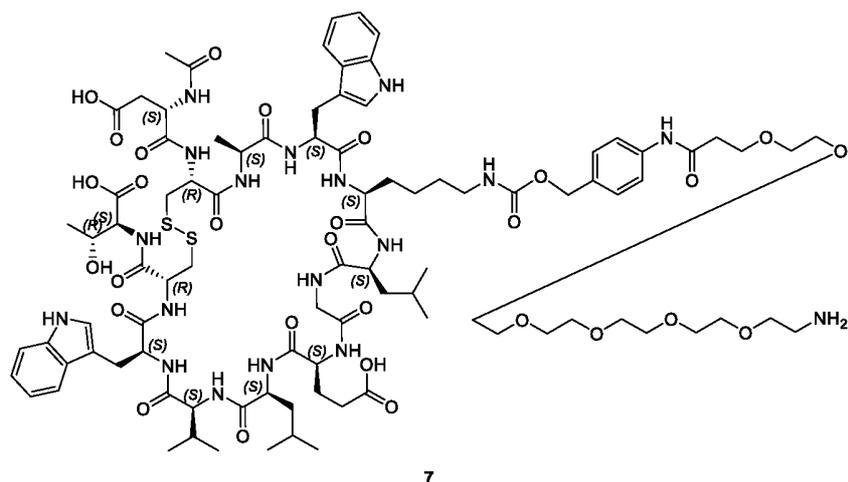
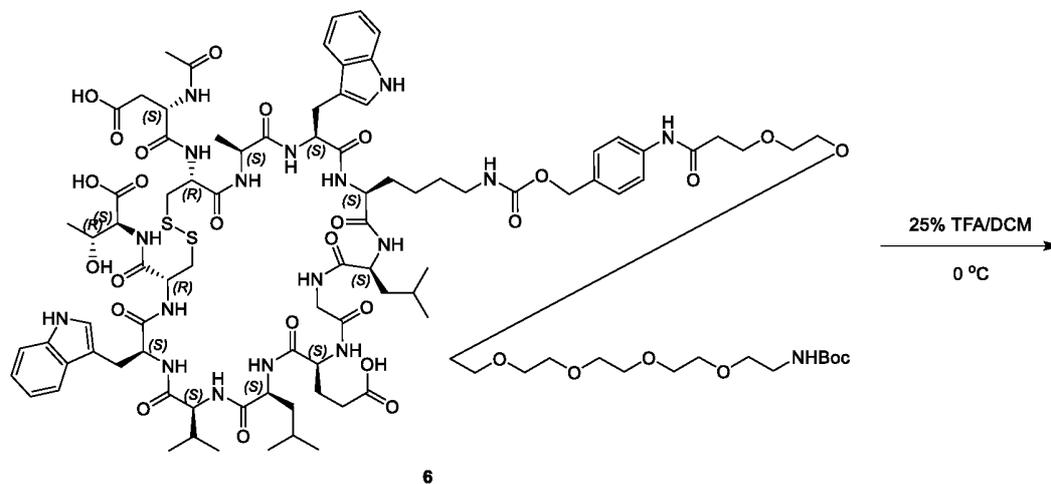
[0982] Общая методика получения соединения 6:



[0983] Смесь соединения 2 (40,0 мг, 25,58 мкмоль, 1,00 экв.), соединения 5 (18,5 мг, 25,58 мкмоль, 1,00 экв.) и DIEA (16,5 мг, 127,80 мкмоль, 22,28 мкл, 5,00 экв.) в DMF (0,5 мл) перемешивали при 15 °С в течение 1 часа. Смесь очищали с помощью флеш-хроматографии

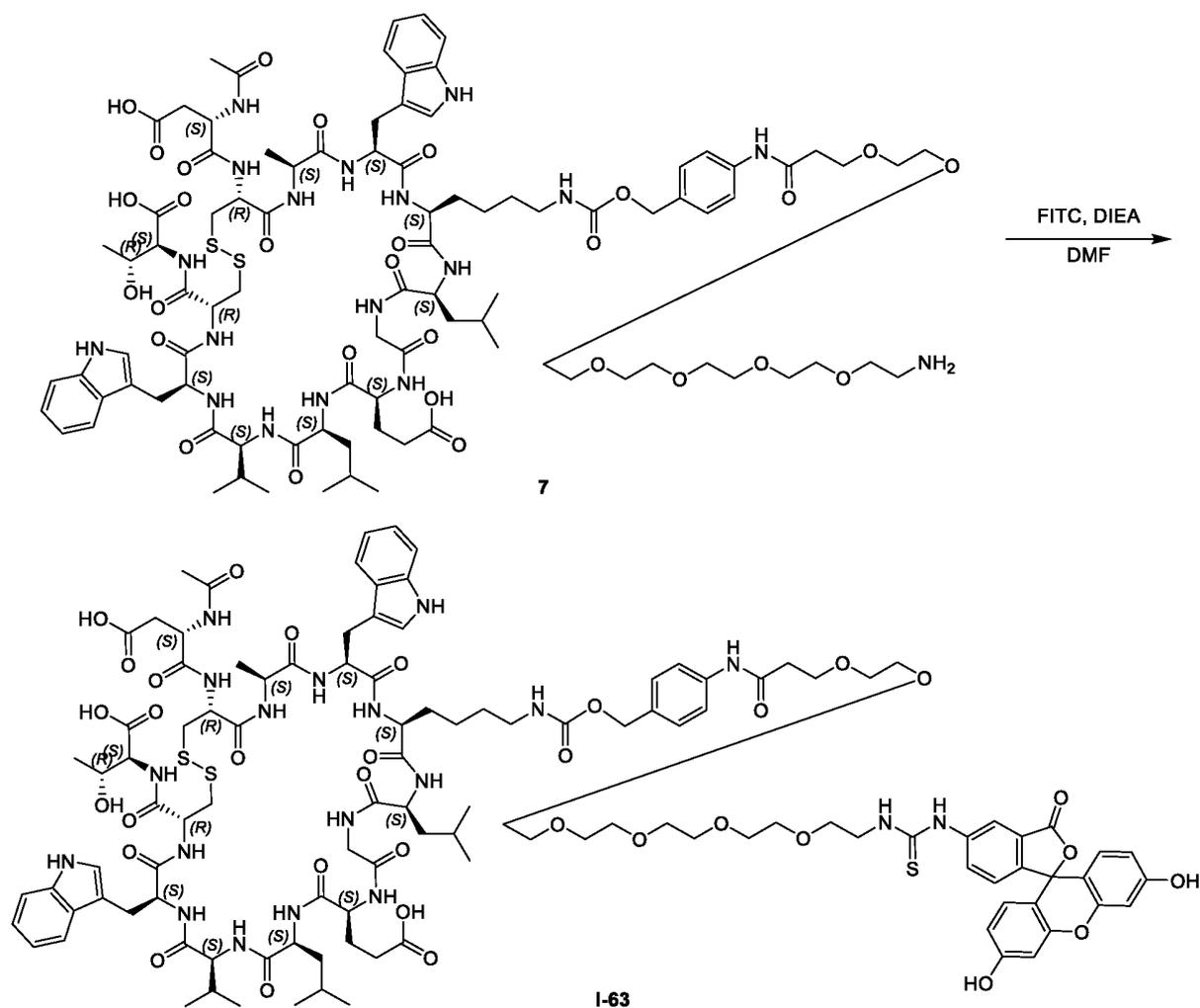
C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно для получения соединения 6 (28,0 мг, 12,38 мкмоль, выход 48,3%, соль TFA) в виде белого твердого вещества.

[0984] Общая методика получения соединения 7:



[0985] Смесь соединения 6 (28,0 мг, 13,00 мкмоль, 1,00 экв.) в 25% TFA/DCM (2 мл) перемешивали при 0 °С в течение 2 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении при 0 °С. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии C18 (ISCO®; 120 г SepaFlash® C18 Flash колонка, элюент 0~90% MeCN/H₂O эфир градиент @ 75 мл/мин) непосредственно для получения соединения 7 (25,0 мг, 11,50 мкмоль, выход 88,7%, соль TFA) в виде белого твердого вещества.

[0986] Общая методика получения соединения I-63:



[0987] Смесь соединения 7 (25,0 мг, 12,20 мкмоль, 1,00 экв.), FITC (7,1 мг, 18,30 мкмоль, 1,50 экв.) и DIEA (7,8 мг, 61,0 мкмоль, 10,6 мкл, 5,00 экв.) в DMF (0,20 мл) перемешивали при 15 °С в течение 1 часа. Смесь очищали препаративной HPLC (кислотная среда, TFA) непосредственно с получением соединения I-63 (6,5 мг, 2,59 мкмоль, чистота 97,0%, выход 21,1%) в виде твердого вещества желтого цвета.

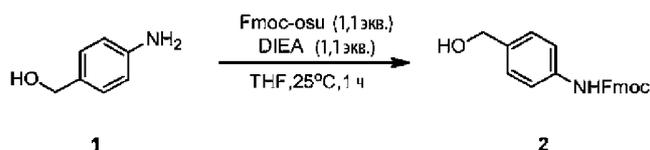
Условия очистки:

| Условия очистки | |
|---------------------|---|
| Подготовка образцов | Растворение в MeCN/H ₂ O |
| Прибор | Gilson GX-215 |
| Мобильная фаза | A: H ₂ O (0,075% TFA в H ₂ O) |
| | B: MeCN |

| | |
|-----------------|---|
| Градиент: | 20-50%-60 мин. Время удерживания: 48 мин |
| Колонка | Luna 25*200 мм, C18 10 мкм, 110Å+Gemin 150*30 мм, C18 5 мкм, 110Å |
| Скорость потока | 20 мл/мин |
| Длина волны | 220/254 нм |
| Темп. печи | Комнатная температура |

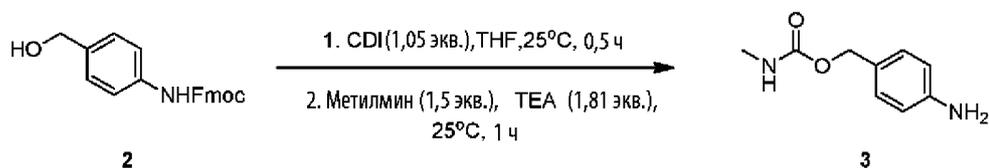
[0988] **Пример 40. Типовой синтез Соединения I-64.**

[0989] Общая методика получения соединения 2:



[0990] Смесь **соединения** (2 г, 16,24 ммоль, 1 экв.), FMOC-OSU (6,03 г, 17,86 ммоль, 1,1 экв.) и DIEA (2,31 г, 17,86 ммоль, 3,11 мл, 1,1 экв.) в THF (30 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при 25 °С в течение 1 часа в атмосфере N₂. TLC (Петролейный эфир: Этилацетат = 1:1 R_f = 0,6) продемонстрировала, что **соединение 1** полностью израсходовано. Реакционную смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали 20 мл DCM, сушили в вакууме с получением продукта. Соединение 2 (2,3 г, 6,66 ммоль, выход: 41,00%) получали в виде белого твердого вещества.

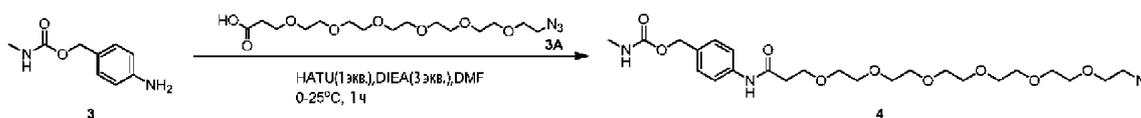
[0991] Общая методика получения соединения 3:



[0992] К раствору соединения 2 (200 мг, 579,05 мкмоль, 1 экв.) в THF (2 мл) добавляли CDI (98,59 мг, 608,01 мкмоль, 1,05 экв.) при 25 °С. После добавления смесь перемешивали при этой температуре в течение 0,5 часа, а затем добавляли метанамин (2 М, 1,16 мл, 4 экв.) при 25 °С. Полученную смесь перемешивали при 25 °С в течение 1 часа. TLC (Петролейный эфир: Этилацетат = 1:1 R_f = 0,4) продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Остаток разбавляли H₂O (2 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл * 2). Реакционную смесь сливали в делительную воронку и разделяли. Объединенные органические слои промывали рассолом (5 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, петролейный эфир:

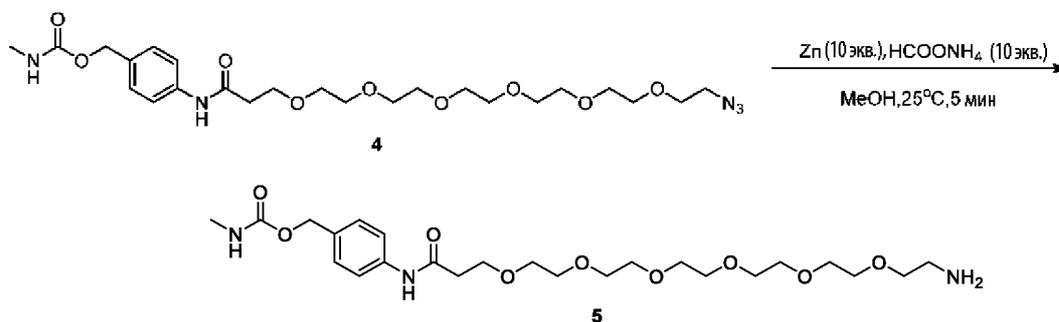
Этилацетат = от 100: 1 до 0: 1). Соединение 3 (20 мг, 110,99 мкмоль, выход: 19,17%) получали в виде белого твердого вещества.

[0993] Общая методика получения соединения 4:



[0994] К раствору соединения 3 (42,11 мг, 110,99 мкмоль, 1 экв.) в DMF (0,5 мл) добавляли HATU (42,20 мг, 110,99 мкмоль, 1 экв.) и DIEA (43,03 мг, 332,96 мкмоль, 58,00 мкл, 3 экв.) при 0 °С. После добавления смесь перемешивали при этой температуре в течение 0,5 часа и добавляли соединение 3A (20 мг, 110,99 мкмоль, 1 экв.) при 0 °С. Полученную смесь перемешивали при 25 °С в течение 1 часа. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали. Остаток очищали препаративной HPLC (колонка: Waters Xbridge BEH C18 100*30мм*10мкм; мобильная фаза: [вода (10 мМ NH₄HCO₃)-ACN]; В%: 20%-50%, 8 мин). Соединение 4 (12 мг, 22,16 мкмоль, выход: 19,96%) получали в виде белого твердого вещества. LCMS: Rt = 1,854 мин, MS (ESI): *m/z* [M+H⁺] расщ. для C₂₄H₃₉N₅O₉, 542,2; найдено 542,2.

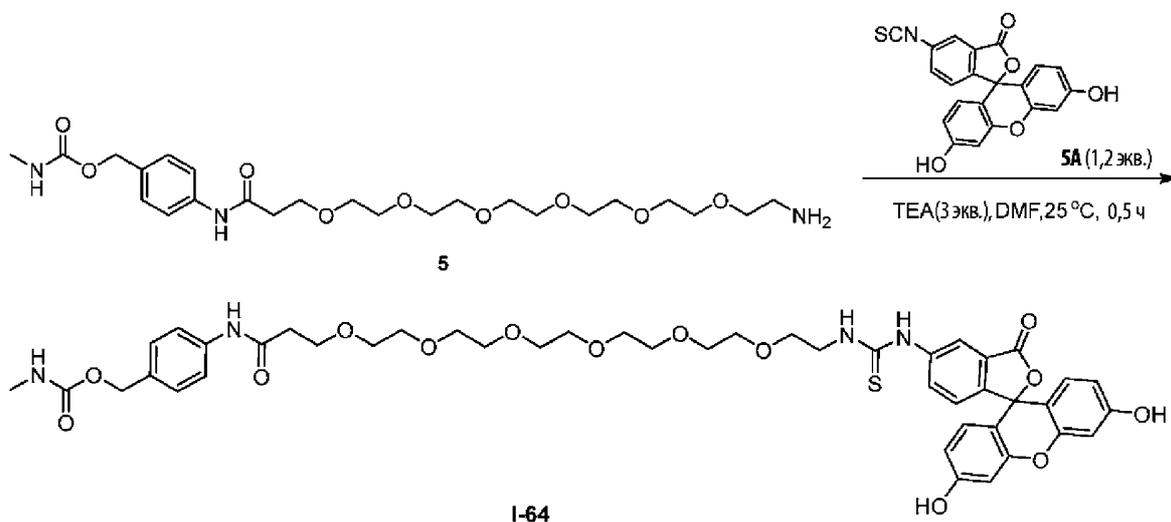
[0995] Общая методика получения соединения 5:



[0996] Смесь соединения 4 (5 мг, 9,23 мкмоль, 1 экв.), Zn (6,04 мг, 92,32 мкмоль, 10 экв.), аммиак; муравьиную кислоту (5,82 мг, 92,32 мкмоль, 10 экв.) и в MeOH (0,5 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при 25 °С в течение 5 минут в атмосфере N₂. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. Реакционную смесь концентрировали. Неочищенный продукт растворяли в THF (1 мл) и добавляли DCM (1 мл), смесь осаждали твердыми веществами. Смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали DCM (0,5 мл ×2). **Объединенные фильтраты** концентрировали досуха с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно-фазовой HPLC (колонка:

Phenomenex Luna C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 25%-55%, 10 мин.). **Соединение 5** (6 мг, неочищенное) получали в виде бесцветного масла. LCMS: Rt = 1,233 мин, MS (ESI): m/z [M+H⁺] расщ. для C₂₄H₄₁N₃O₉, 516,2; найдено 516,2.

[0997] Общая методика получения соединения I-64:



Смесь соединения 5 (3 мг, 5,82 мкмоль, 1 экв.), соединения 5A (2,72 мг, 6,98 мкмоль, 1,2 экв.) и TEA (1,77 мг, 17,46 мкмоль, 2,43 мкл, 3 экв.), в DMF (1 мл) дегазировали и продували N₂ 3 раза, а затем смесь перемешивали при 25 °C в течение 0,5 ч в атмосфере N₂. LCMS продемонстрировала, что исходный материал был полностью израсходован. HPLC продемонстрировала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно - фазовой HPLC (колонка: Phenomenex Luna C18 150*30 мм*5 мкм; мобильная фаза: [вода (0,1%TFA)-ACN]; V%: 30%-60%, 10 мин). **Соединение I-64** (3,77 мг, 4,17 мкмоль, выход 71,60%) получали в виде твердого вещества желтого цвета. ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆): δ = 10,10 (br s, 1H), 10,05 - 9,97 (m, 1H), 9,94 (s, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,07 (br s, 1H), 7,72 (br d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,56 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,25 (br d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,17 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,03 (br s, 1H), 6,66 (d, J = 2,0 Hz, 2H), 6,62 - 6,51 (m, 4H), 4,91 (s, 2H), 3,55 (br s, 5H), 3,47 (br d, J = 11,5 Hz, 2H), 2,55 (br d, J = 4,4 Hz, 5H). LCMS: Rt = 1,248 мин, MS (ESI): m/z [M+H⁺] расщ. для C₄₅H₅₂N₄O₁₄S, 904,3; найдено 453,3. HPLC: RT = 2,746 мин. Данные QC для соединения I-64: HPLC: RT = 2,763 мин, чистота: 95,42%. MS, MS (ESI): m/z [M+H⁺] расщ. для C₄₅H₅₂N₄O₁₄S 904,3[M+H⁺] = 905,5 найдено 905,5.

[0998] **Пример 41. Предлагаемые технологии обеспечивают эффективные реакции и удаление фрагментов, связывающих цель.**

[0999] Данные с применением различных соединений дополнительно подтверждают, что предлагаемые технологии могут обеспечить эффективную конъюгацию:

| Соединение | DAR |
|------------|------|
| I-10 | 0,07 |
| I-44 | 0,96 |
| I-64 | 0,13 |
| I-63 | 0,81 |
| I-62 | 0,05 |
| I-61 | 0,88 |
| I-60 | 0,23 |
| I-59 | 0,71 |

Реакции проводили с даратумумабом, применяя 2,5 М экв указанного реагента в фосфатно-солевом буфере с pH 7,4 в течение 4 ч при 25 °С. DAR – это соотношение лекарственного средства к антителу, в данном случае «лекарственное средство» – это FITC, а DAR измеряется с учетом абсорбции FITC.

[1000] Помимо прочего, в данном изобретении предлагаются технологии удаления агента, содержащего фрагмент, связывающий цель (например, продукт реакции, содержащий фрагмент, связывающий цель, который высвобождается после реакции), из продукта реакции (например, продукт, содержащий антителный фрагмент или его часть). В некоторых вариантах осуществления способ включает приведение в контакт композиции, содержащей агент, содержащий фрагмент, связывающий цель, и продукт реакции, при этом фрагмент, связывающий цель, взаимодействует с продуктом реакции, с кислым раствором. В некоторых вариантах осуществления, после контакта с кислым раствором, агент, содержащий фрагмент, связывающий цель, отделяют от продукта реакции. В некоторых вариантах осуществления pH раствора составляет около 1, 2, 3 или 4. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 1. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 2. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 3. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 4. Как показано на Фиг. 23, агенты, содержащие фрагмент, связывающий цель, высвобожденный в результате реакции между I-44 и даратумумабом, могут быть эффективно удалены, например, при pH 2. В качестве примера ниже описан протокол.

[1001] В некоторых вариантах осуществления масс-спектрометрический анализ конъюгатов антител, осажденных метанолом, применяли для оценки конъюгатов антител с помощью предлагаемых технологий. В некоторых вариантах осуществления для удаления связанной уходящей группы из антитела (например, продуктов конъюгации антител) после конъюгации применяли буферы с другим pH. В некоторых вариантах осуществления осаждение метанолом выполняли следующим образом:

1. Смешивали один объем очищенного конъюгата антител и 3 объема метанола.
2. Инкубировали образец при 25 °C в течение 1 часа.
3. Центрифугировали при 15 500 x *g* в течение 10 мин при 4 °C.
4. Собирали супернатант и высушивали в скоростном вакууме.
5. Ресуспендировали в 0,1% водном растворе муравьиной кислоты до 30 мкл.

[1002] В некоторых вариантах осуществления условия прибора для анализа были следующими:

LC: ExionLC

Мобильные фазы:

A: 0,1% водная муравьиная кислота

B: 0,1% муравьиная кислота в 95% ацетонитриле

Колонка:

Колонка Phenomenex Luna C18(2) (100 X 2, 3 мкм, 100Å)

Градиент:

Удерживание 5% B в течение первой минуты.

5-50% B в течение 1-7 минут

MS:

Система Sciex X500B QTOF

Калибровку выполняли с положительным калибровочным раствором с помощью системы CDS. Напряжение ESI 5,5 кВ, газ-источник ионов 1 и 2 при 40 фунтов на квадратный дюйм, газовая завеса 30 (произвольная единица), газ CAD 7 (произвольная единица). Температура источника 350

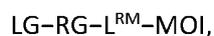
°C, DP 100 В, время накопления 0,25 с, CE 0В. Полное сканирование TOF-MS от m/z 300 до m/z 5000 в профильном режиме.

Для получения данных применяли Sciex OS 1.4.

[1003] Несмотря на то, что было описано несколько вариантов осуществления данного изобретения, очевидно, что приведенные основные примеры могут быть изменены для обеспечения других вариантов осуществления, в которых применяются технологии (например, соединения, агенты, композиции, способы и т. д.) по данному изобретению.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

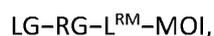
LG представляет собой группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

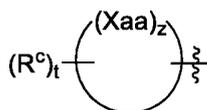
2. Соединение, имеющее структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой $\text{R}^{\text{LG}}\text{-L}^{\text{LG}}$;



R^{LG} представляет собой $\text{R}^{\text{c}}\text{-(Xaa)}_z\text{-}$, фрагмент нуклеиновой кислоты или низкомолекулярный фрагмент;

каждый Хаа независимо представляет собой остаток аминокислоты или аналог аминокислоты;

t равно 0-50;

z равно 1-50;

каждый R^{c} независимо представляет собой $\text{-L}^{\text{a}}\text{-R}'$;

каждый L^{a} независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно

замещенную двухвалентную группу, выбранную и C₁-C₂₀ алифатических или C₁-C₂₀ гетероалифатических групп, содержащих 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на -Су-, -О-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -C(O)S- или -C(O)O-;

каждый -Су- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную моноциклическую, бициклическую или полициклическую группу, при этом каждое моноциклическое кольцо независимо выбрано из C₃₋₂₀ циклоалифатического кольца, C₆₋₂₀ арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-10 гетероатомов и 3-20-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-10 гетероатомов;

L^{LG} представляет собой -L^{LG1}-, -L^{LG1}-L^{LG2}-, -L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-, или -L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-;

RG представляет собой -L^{RG1}-L^{RG2}-, -L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-, -L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-,
-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-;

каждый из L^{LG1}, L^{LG2}, L^{LG3}, L^{LG4}, L^{RG1}, L^{RG2} и L^{RM} независимо представляет собой L;

каждый L независимо представляет собой ковалентную связь или двухвалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу C₁₋₁₀₀, содержащую один или большее количество алифатических фрагментов, арильных фрагментов, гетероалифатических фрагментов, каждый из которых независимо содержит 1-20 гетероатомов, гетероароматических фрагментов, каждый из которых независимо содержит 1-20 гетероатомов, или любых комбинаций любого одного или большего количества таких фрагментов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на C₁₋₆ алкилен, C₁₋₆ алкенилен, двухвалентную C₁₋₆ гетероалифатическую группу, имеющую 1- 5 гетероатомов, -C≡C-, -Су-, -C(R')₂-, -О-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -C(O)C(R')₂N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -C(O)S-, -C(O)O-, -P(O)(OR')-, -P(O)(SR')-, -P(O)(R')-, -P(O)(NR')-, -P(S)(OR')-, -P(S)(SR')-, -P(S)(R')-, -P(S)(NR')-, -P(R')-, -P(OR')-, -P(SR')-, -P(NR')-, аминокислотный остаток или -[(-O-C(R')₂-C(R')₂)_n]-, где n представляет собой 1-20.

каждый R' независимо представляет собой -R, -C(O)R, -CO₂R или -SO₂R;

каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C₁₋₃₀ алифатической группы, C₁₋₃₀ гетероалифатической группы, содержащей 1-10

гетероатомов, C₆₋₃₀ арила, C₆₋₃₀ арилатифатической группы, C₆₋₃₀ арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, 5-30-членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, и 3-30-членного гетероциклила, содержащего 1-10 гетероатомов, или

две группы R, необязательно и независимо вместе взятые, образуют ковалентную связь, или:

две или большее количество групп R на одном и том же атоме, необязательно и независимо взятые вместе с атомом, образуют необязательно замещенное 3-30-членное моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо указанного атома, 0-10 гетероатомов; или

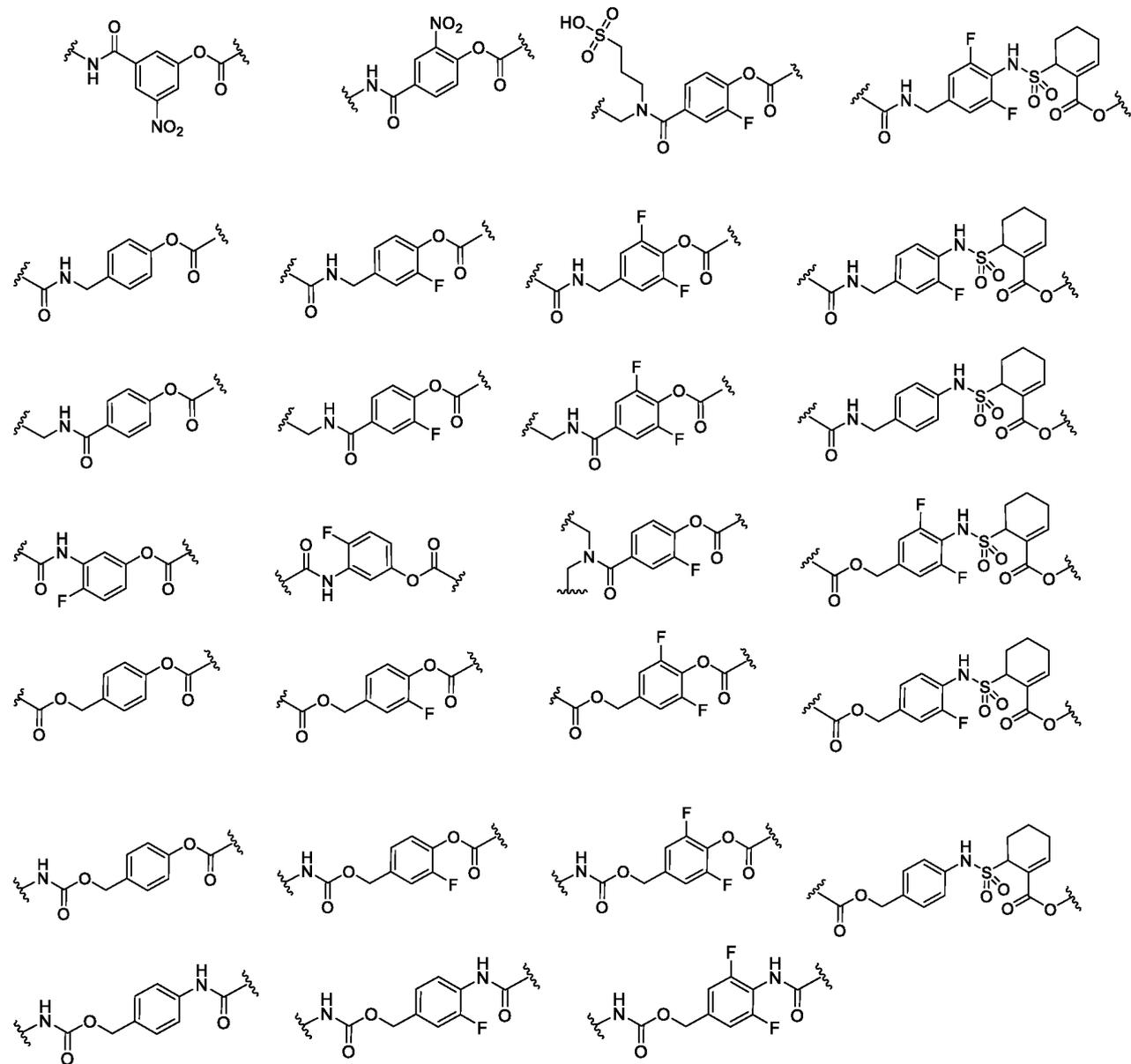
две или большее количество групп R на двух или большем количестве атомов, необязательно и независимо взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют необязательно замещенное 3-30-членное моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-10 гетероатомов; и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

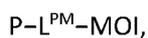
3. Соединение по п. 1 или 2, отличающееся тем, что LG представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом, при этом целевой агент представляет собой антительный агент.
4. Соединение по п. 1 или 2, отличающееся тем, что LG представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, который связывается с Fc областью.
5. Соединение по п. 2, отличающееся тем, что R^{LG} представляет собой или содержит DCAWXLGELVWCT, где два цистеиновых остатка необязательно образуют дисульфидную связь, а X представляет собой аминокислотный остаток.
6. Соединение по п. 5, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит обнаруживаемый фрагмент.
7. Соединение по п. 5, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит терапевтический агент.
8. Соединение по п. 5, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент, который может связываться с белком, нуклеиновой кислотой или клеткой.
9. Соединение по п. 5, отличающееся тем, что представляющий интерес фрагмент

представляет собой или содержит реакционный фрагмент, пригодный для биоортогональной реакции.

10. Соединение по п. 5, отличающееся тем, что указанное соединение содержит одну или большее количество групп, выбранных из:



11. Способ приготовления агента, имеющего структуру P-I:



(P-I)

или его соль, где

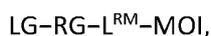
P представляет собой фрагмент целевого агента;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

включающий этапы:

1) приведение в контакт целевого агента с партнером по реакции, имеющим структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес; а также

2) формирование агента, имеющего структуру формулы P-I: или

способ приготовления агента, имеющего структуру P-II:



(P-II)

где:

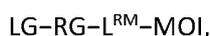
P-N представляет собой фрагмент белкового агента, содержащий остаток лизина;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес;

способ, включающий:

приведение в контакт P-N с партнером по реакции, имеющим структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой группу, содержащую белок-связывающий фрагмент, который связывается с P-N,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

12. Способ по п. 11, отличающийся тем, что целевой агент представляет собой или содержит антительный агент.
13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K246 или K248 тяжелой цепи IgG1 или в соответствующем местоположении.
14. Способ по варианту осуществления 152, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K251 или K253 тяжелой цепи IgG2 или в соответствующем местоположении.
15. Способ по п. 12, отличающийся тем, что представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K239 или K241 тяжелой цепи IgG4 или в соответствующем местоположении.
16. Способ по п. 12, отличающийся тем, что этапы приведения в контакт и образования выполняются за одну химическую реакцию.
17. Композиция содержит множество агентов, каждый из которых независимо содержит:
 - фрагмент целевого агента;
 - фрагмент, представляющий интерес; а также
 - необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент;при этом агенты из множества имеют одинаковый или по существу одинаковый фрагмент

целевого агента и общую модификацию независимо по меньшей мере в одном общем местоположении; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества; или композиция содержит множество агентов, каждый из которых независимо содержит:

фрагмент белкового агента;

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент белкового агента и представляющий интерес фрагмент;

при этом фрагменты белкового агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность, и агенты из множества независимо друг от друга имеют общую модификацию по меньшей мере одного общего аминокислотного остатка фрагментов белкового агента; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент белкового агента, который содержит общую аминокислотную последовательность, и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества.

18. Композиция содержит множество агентов, каждый из которых независимо содержит:

фрагмент антительного агента,

фрагмент, представляющий интерес; а также

необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент антительного агента и представляющий интерес фрагмент;

при этом фрагменты антительного агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность или могут связываться с общим антигеном, и агенты из множества независимо друг от друга имеют общую модификацию по меньшей мере одного общего аминокислотного остатка фрагментов белкового агента; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент антительного агента, который содержит общую аминокислотную последовательность или может связываться с общим антигеном, и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества.

19. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что фрагменты антительного агента из множества агентов могут связываться с общим антигеном.

20. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что фрагменты антительного агента из множества

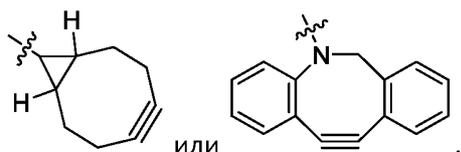
агентов могут связываться с двумя или большим количеством различных антигенов.

21. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит реакционный фрагмент.

22. Композиция по п. 21, отличающаяся тем, что реакционный фрагмент представляет собой $-N_3$.

23. Композиция по п. 21, отличающаяся тем, что реакционный фрагмент представляет собой $-\equiv-$.

24. Композиция по п. 21, отличающаяся тем, что реакционный фрагмент представляет собой



25. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент терапевтического агента.

26. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит антительный агент.

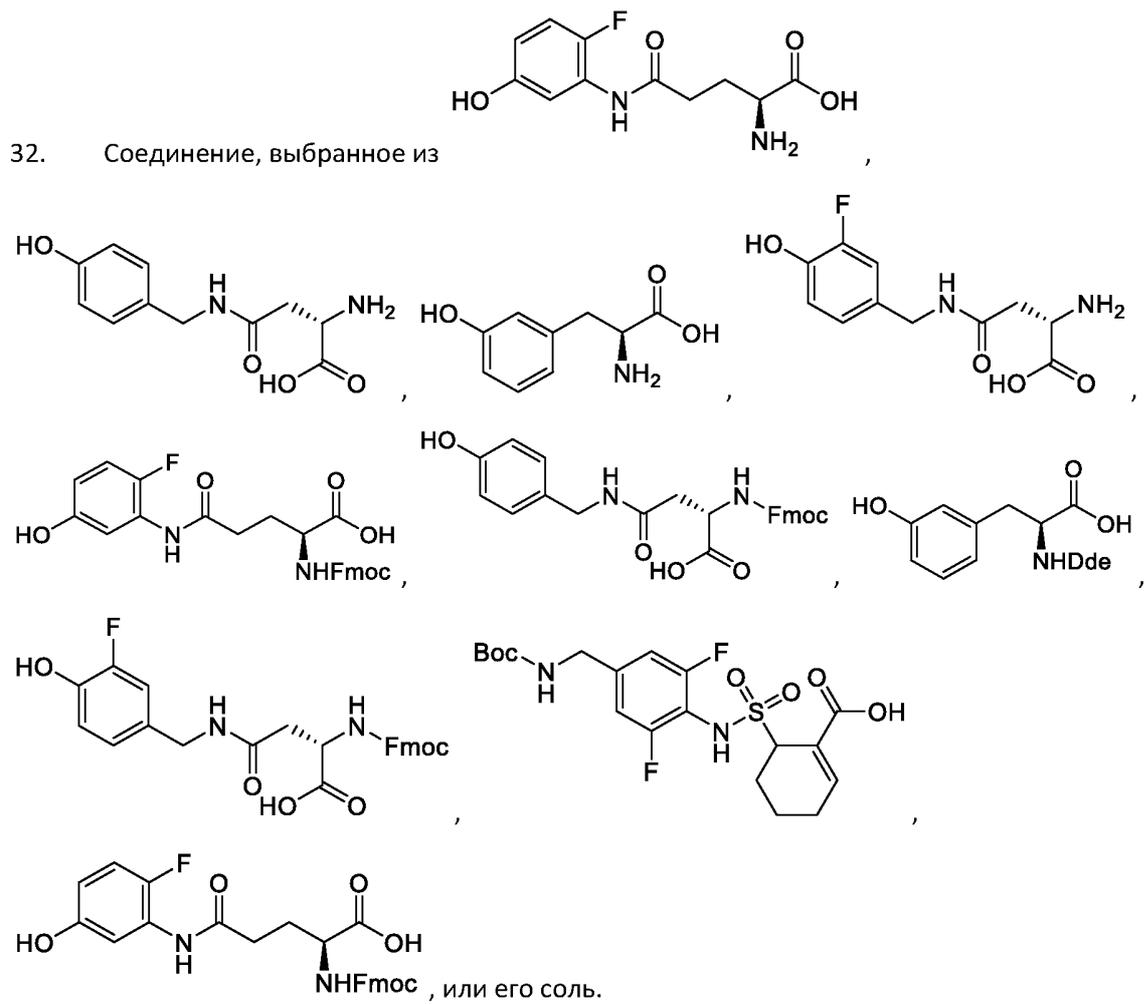
27. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K246 или K248 тяжелой цепи антитела IgG1 или соответствующий ему аминокислотный остаток.

28. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K251 или K253 тяжелой цепи антитела IgG2 или соответствующий ему аминокислотный остаток.

29. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что общий аминокислотный остаток представляет собой K239 или K241 тяжелой цепи антитела IgG4 или соответствующий ему аминокислотный остаток.

30. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что каждый агент из множества не содержит $-S-Cu-$, при этом $-Cu-$ представляет собой необязательно замещенное 5-членное моноциклическое кольцо, не содержит $-S-S-$, который не образован цистеиновыми остатками и не содержит $-SH$ или его солевую форму, которая не является цистеиновым остатком.

31. Композиция по п.18, отличающаяся тем, что каждый агент из множества не содержит $-S-CH_2-CH_2-$.



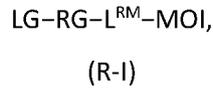
33. Полипептидный агент, содержащий аминокислотный остаток соединения по п. 32.

34. Способ приготовления соединения, включающий получение соединения по п. 32.

35. Соединение, агент, продукт, композиция или способ, описанные в данном документе, или по любому из вариантов осуществления 1-335.

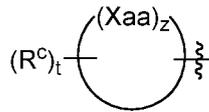
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ, С ИЗМЕНЕНИЯМИ ПО СТ. 19 РСТ

1. Соединение, имеющее структуру формулы R-I:



или его соль, где

LG представляет собой $\text{R}^{\text{LG}}\text{-L}^{\text{LG}}$;



R^{LG} представляет собой $\text{R}^{\text{c}}\text{-(Xaa)}_z\text{-}$, фрагмент нуклеиновой кислоты или низкомолекулярный фрагмент;

каждый Хаа независимо представляет собой остаток аминокислоты или аналог аминокислоты;

t равно 0-50;

z равно 1-50;

каждый R^{c} независимо представляет собой $\text{-L}^{\text{a}}\text{-R}'$;

каждый L^{a} независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ алифатических или $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ гетероалифатических групп, содержащих 1-5 гетероатомов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на -Su- , -O- , -S- , -S-S- , -N(R)'- , -C(O)- , -C(S)- , -C(NR)'- , -C(O)N(R)'- , -N(R)'C(O)N(R)'- , -N(R)'C(O)O- , -S(O)- , -S(O)2- , -S(O)2N(R)'- , -C(O)S- или -C(O)O- ;

каждый -Su- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную моноциклическую, бициклическую или полициклическую группу, при этом каждое моноциклическое кольцо независимо выбрано из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-10 гетероатомов и 3-20-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-10 гетероатомов;

L^{LG} представляет собой $\text{-L}^{\text{LG1}}\text{-}$, $\text{-L}^{\text{LG1}}\text{-L}^{\text{LG2}}\text{-}$, $\text{-L}^{\text{LG1}}\text{-L}^{\text{LG2}}\text{-L}^{\text{LG3}}\text{-}$, или $\text{-L}^{\text{LG1}}\text{-L}^{\text{LG2}}\text{-L}^{\text{LG3}}\text{-L}^{\text{LG4}}\text{-}$;

RG представляет собой $\text{-L}^{\text{RG1}}\text{-L}^{\text{RG2}}\text{-}$, $\text{-L}^{\text{LG4}}\text{-L}^{\text{RG1}}\text{-L}^{\text{RG2}}\text{-}$, $\text{-L}^{\text{LG3}}\text{-L}^{\text{LG4}}\text{-L}^{\text{RG1}}\text{-L}^{\text{RG2}}\text{-}$,
 $\text{-L}^{\text{LG2}}\text{-L}^{\text{LG3}}\text{-L}^{\text{LG4}}\text{-L}^{\text{RG1}}\text{-L}^{\text{RG2}}\text{-}$;

каждый из L^{LG1} , L^{LG2} , L^{LG3} , L^{LG4} , L^{RG1} , L^{RG2} и L^{RM} независимо представляет собой L;

каждый L независимо представляет собой ковалентную связь или двухвалентную,

необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу C_{1-100} , содержащую один или большее количество алифатических фрагментов, арильных фрагментов, гетероалифатических фрагментов, каждый из которых независимо содержит 1-20 гетероатомов, гетероароматических фрагментов, каждый из которых независимо содержит 1-20 гетероатомов, или любых комбинаций любого одного или большего количества таких фрагментов, при этом одна или большее количество метиленовых единиц группы необязательно и независимо замещены на C_{1-6} алкилен, C_{1-6} алкенилен, двухвалентную C_{1-6} гетероалифатическую группу, имеющую 1-5 гетероатомов, $-C\equiv C-$, $-C_2-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, аминокислотный остаток или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2)_n]-$, где n представляет собой 1-20.

каждый R' независимо представляет собой $-R$, $-C(O)R$, $-CO_2R$ или $-SO_2R$;

каждый R независимо представляет собой $-H$ или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, 5-30-членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, и 3-30-членного гетероциклила, содержащего 1-10 гетероатомов, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или большее количество групп R на одном и том же атоме, необязательно и независимо взятые вместе с атомом, образуют необязательно замещенное 3-30-членное моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо указанного атома, 0-10 гетероатомов; или

две или большее количество групп R на двух или большем количестве атомов, необязательно и независимо взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют необязательно замещенное 3-30-членное моноциклическое, бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее, помимо промежуточных атомов, 0-10 гетероатомов; и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

2. Соединение по 1, отличающееся тем, что LG представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом, при этом целевой агент

представляет собой антительный агент.

3. Соединение по п. 1, отличающееся тем, что LG представляет собой или содержит фрагмент, связывающий цель, который связывается с Fc-областью, и/или R^{LG} представляет собой или содержит DCAWXLGELVWCT, где два цистеиновых остатка необязательно образуют дисульфидную связь, а X представляет собой аминокислотный остаток.

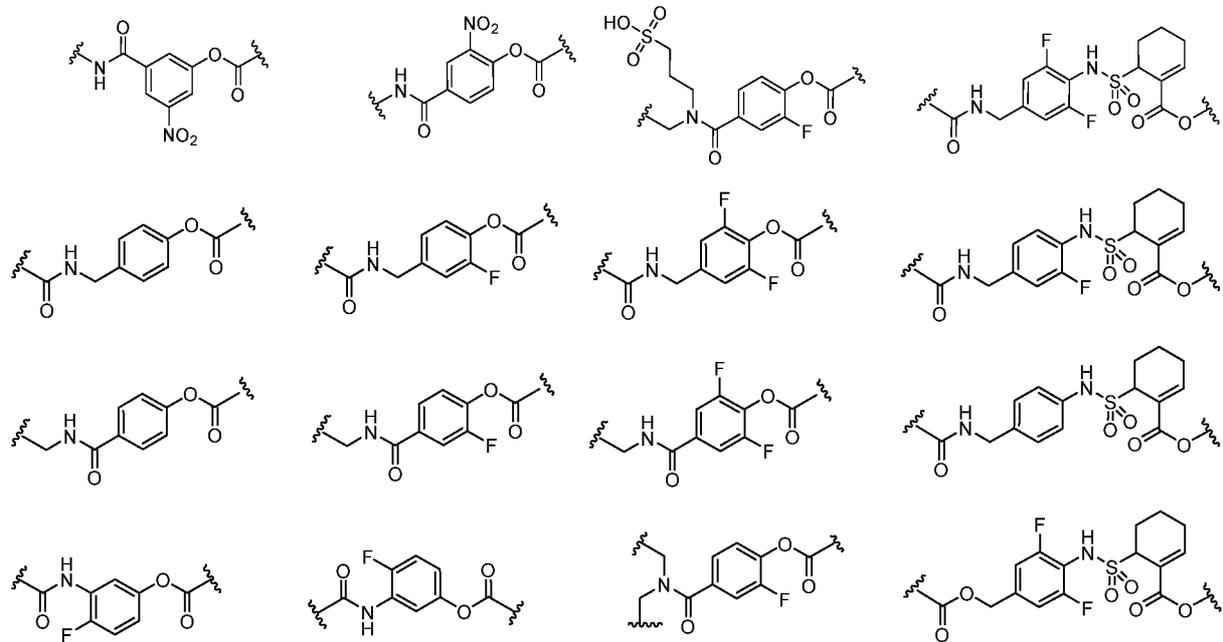
4. Соединение по п. 1, отличающееся тем, что выполняется по меньшей мере одно из следующих условий:

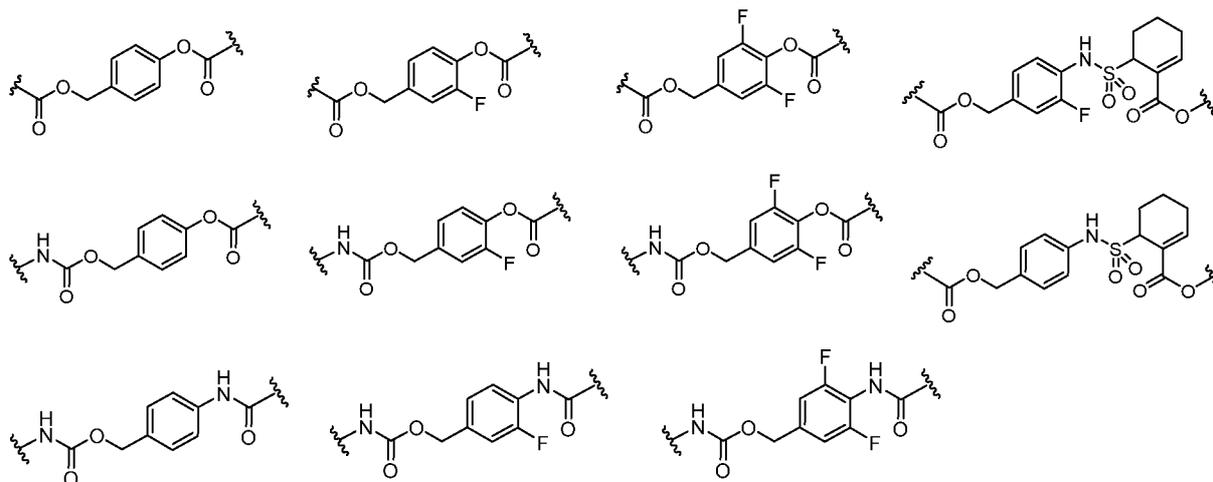
(a) представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит терапевтический агент;

(b) представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент, который может связываться с белком, нуклеиновой кислотой или клеткой; и/или

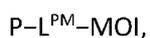
(c) представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит реакционный фрагмент, пригодный для биоортогональной реакции.

5. Соединение по п. 1, 2 или 3, отличающееся тем, что указанное соединение содержит одну или большее количество групп, выбранных из:





6. Способ приготовления агента, имеющего структуру P-I:



(P-I)

или его соль, где

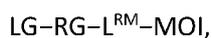
P представляет собой фрагмент целевого агента;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

включающий этапы:

1) приведение в контакт целевого агента с партнером по реакции, имеющим структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который связывается с целевым агентом,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес; а также

2) формирование агента, имеющего структуру формулы P-I: или способ приготовления агента, имеющего структуру P-II:



(P-II)

где:

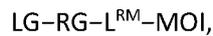
P-N представляет собой фрагмент белкового агента, содержащий остаток лизина;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес;

способ, включающий:

приведение в контакт P-N с партнером по реакции, имеющим структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой группу, содержащую белок-связывающий фрагмент, который связывается с P-N,

RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес.

7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что целевой агент представляет собой или содержит антительный агент.

8. Способ по п. 7, отличающийся тем, что выполняется по меньшей мере одно из следующих условий:

(A) представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K246 или K248 тяжелой цепи IgG1 или в соответствующем местоположении.

(b) представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K251 или K253 тяжелой цепи IgG2 или в соответствующем местоположении; или

(C) представляющий интерес фрагмент селективно присоединен к антительному агенту в K239 или K241 тяжелой цепи IgG4 или в соответствующем местоположении.

9. Способ по п. 7, отличающийся тем, что этапы приведения в контакт и образования выполняются за одну химическую реакцию.

10. Композиция содержит множество агентов, каждый из которых независимо содержит:

фрагмент целевого агента;
фрагмент, представляющий интерес; а также
необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент;
при этом агенты из множества имеют одинаковый или по существу одинаковый фрагмент целевого агента и общую модификацию независимо по меньшей мере в одном общем местоположении; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент целевого агента и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества; или композиция содержит множество агентов, каждый из которых независимо содержит:

фрагмент белкового агента;
фрагмент, представляющий интерес; а также
необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент белкового агента и представляющий интерес фрагмент;
при этом фрагменты белкового агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность, и агенты из множества независимо друг от друга имеют общую модификацию по меньшей мере одного общего аминокислотного остатка фрагментов белкового агента; и

при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент белкового агента, который содержит общую аминокислотную последовательность, и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества.

11. Композиция содержит множество агентов, каждый из которых независимо содержит:
фрагмент антительного агента,
фрагмент, представляющий интерес; а также
необязательно линкерный фрагмент, связывающий фрагмент антительного агента и представляющий интерес фрагмент;
при этом фрагменты антительного агента из множества агентов содержат общую аминокислотную последовательность или могут связываться с общим антигеном, и агенты из множества независимо друг от друга имеют общую модификацию по меньшей мере одного общего аминокислотного остатка фрагментов белкового агента; и

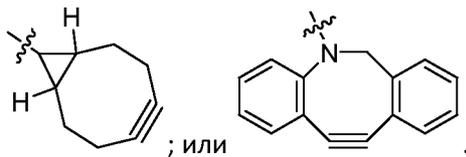
при этом около 1%-100% всех агентов, которые содержат фрагмент антительного агента,

который содержит общую аминокислотную последовательность или может связываться с общим антигеном, и представляющий интерес фрагмент представляют собой агенты из множества.

12. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что фрагменты антительного агента из множества агентов могут связываться с общим антигеном.

13. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что фрагменты антительного агента из множества агентов могут связываться с двумя или большим количеством различных антигенов.

14. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит реакционный фрагмент; при этом реакционный фрагмент представляет собой $-N_3$; $-≡-$;



15. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит фрагмент терапевтического агента; и/или представляющий интерес фрагмент представляет собой или содержит антительный агент.

16. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что выполняется по меньшей мере одно из следующих условий:

(a) общий аминокислотный остаток представляет собой K246 или K248 тяжелой цепи антитела IgG1 или соответствующий ему аминокислотный остаток;

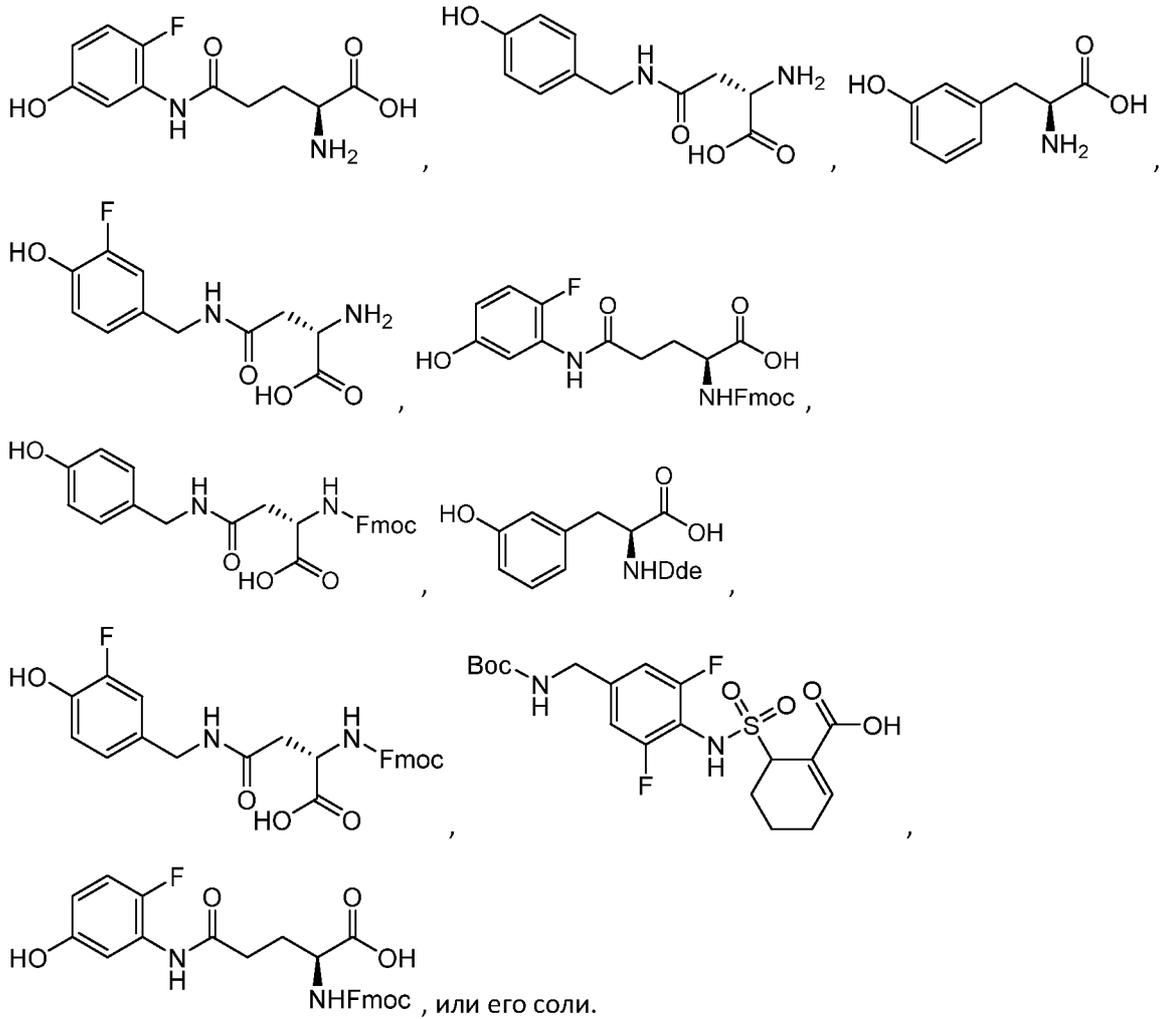
(b) общий аминокислотный остаток представляет собой K251 или K253 тяжелой цепи антитела IgG2 или соответствующий ему аминокислотный остаток; или

(c) общий аминокислотный остаток представляет собой K239 или K241 тяжелой цепи антитела IgG4 или соответствующий ему аминокислотный остаток.

17. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что каждый агент из множества не содержит $-S-Cy-$, при этом $-Cy-$ представляет собой необязательно замещенное 5-членное моноциклическое кольцо, не содержит $-S-S-$, который не образован цистеиновыми остатками и

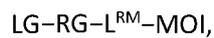
не содержит –SH или его солевую форму, которая не является цистеиновым остатком; или при этом каждый агент из множества не содержит –S–CH₂–CH₂–.

18. Соединение, выбранное из



19. Полипептидный агент, содержащий аминокислотный остаток соединения по п. 18.

20. Соединение, имеющее структуру формулы R-I:



(R-I)

или его соль, где

LG представляет собой группу, содержащую фрагмент, связывающий цель, который

связывается с целевым агентом,

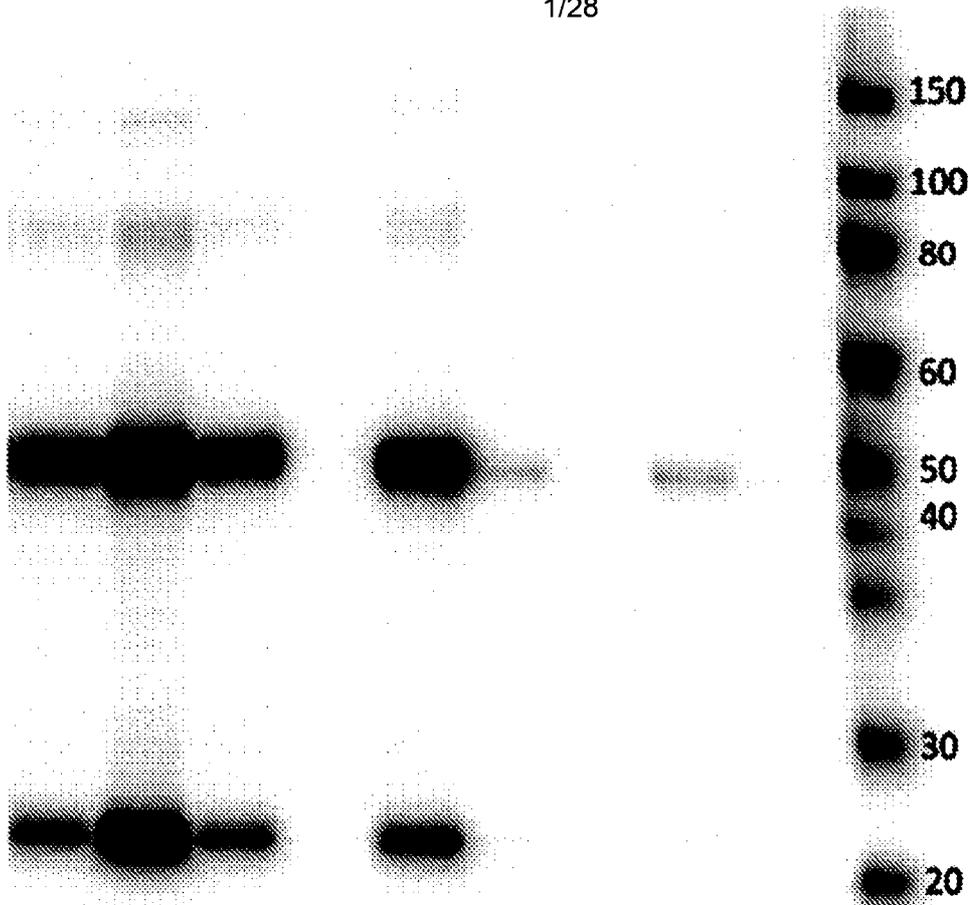
RG представляет собой реакционную группу;

L^{RM} представляет собой линкер, и

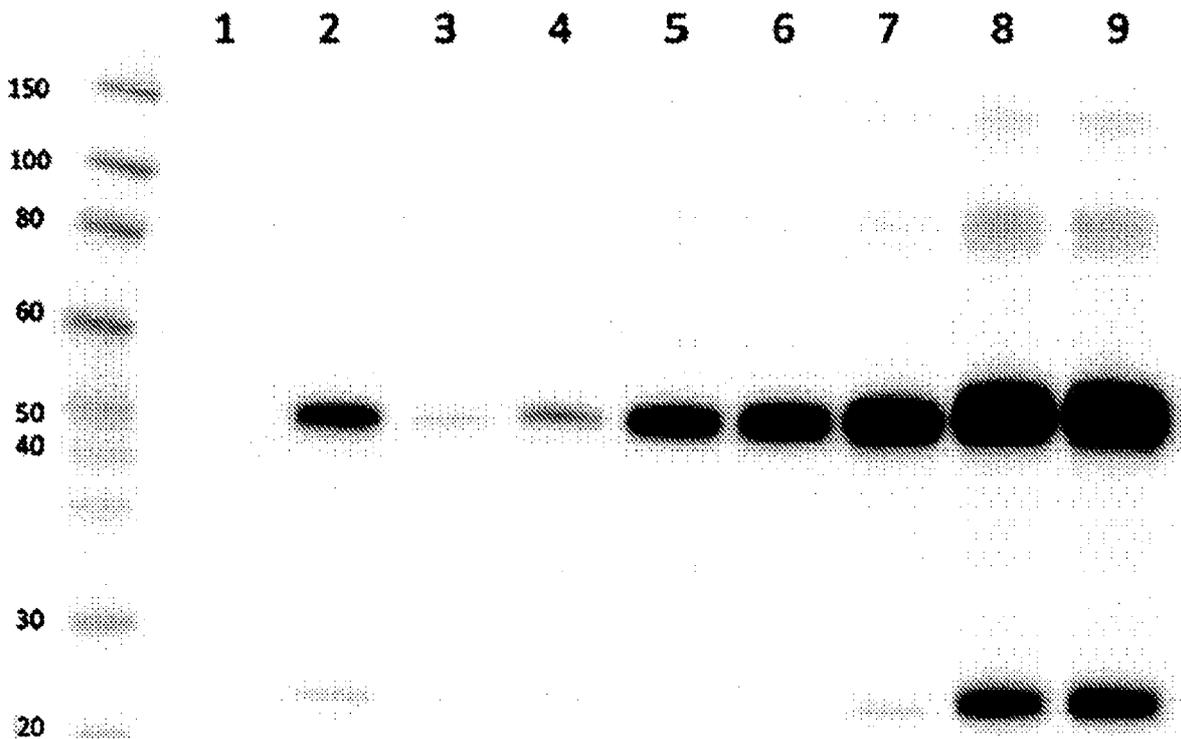
MOI представляет собой фрагмент, представляющий интерес,

при этом целевой агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь IgG, содержащую K246 или K248, и

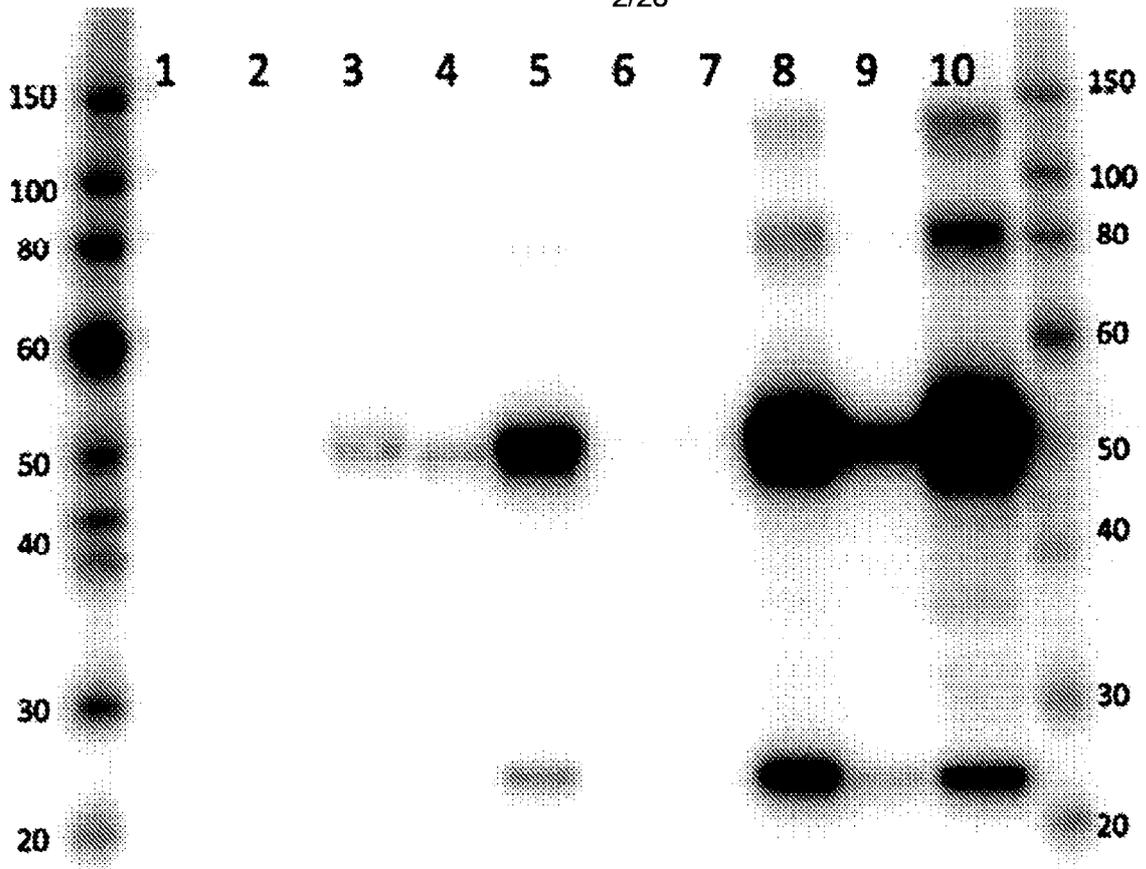
при этом фрагмент, связывающий цель, выполнен с возможностью связывания антитела таким образом, чтобы сблизить реакционную группу с K246 или K248 тяжелой цепи IgG с целью обеспечения реакции между K246 или K248 и реакционной группой, которая приводит к присоединению фрагмента, содержащего L^{RM} -MOI, к K246 или K248, и удалению группы, содержащей фрагмент, связывающий цель, из соединения.



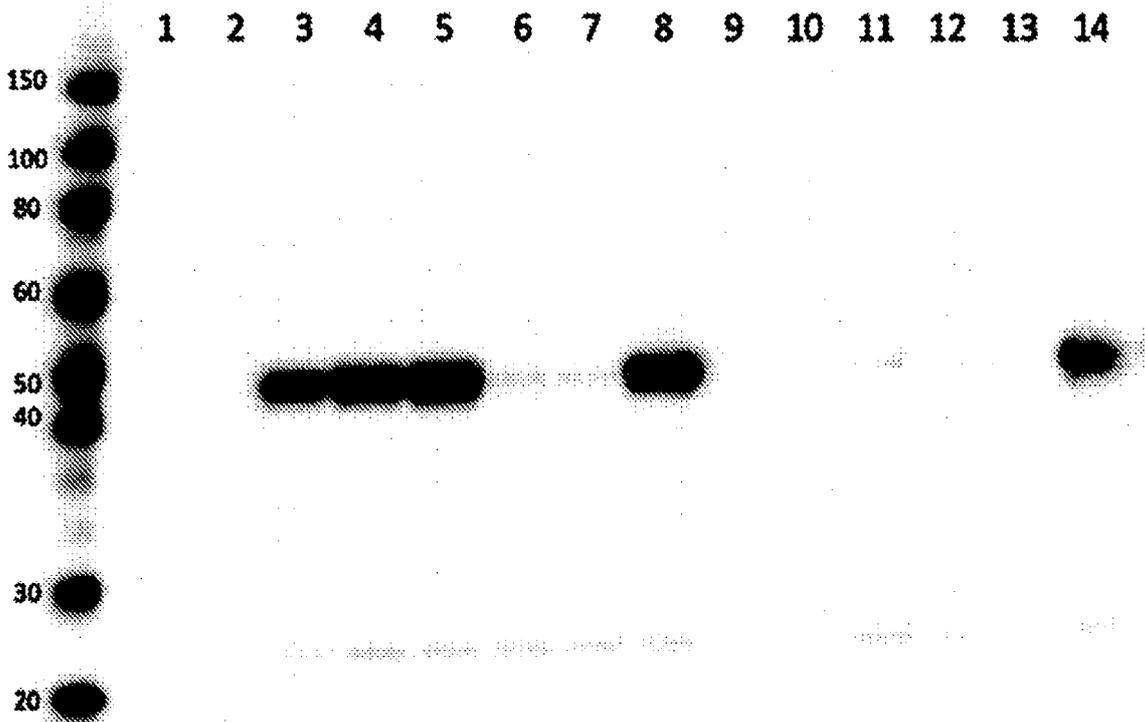
Фиг. 1



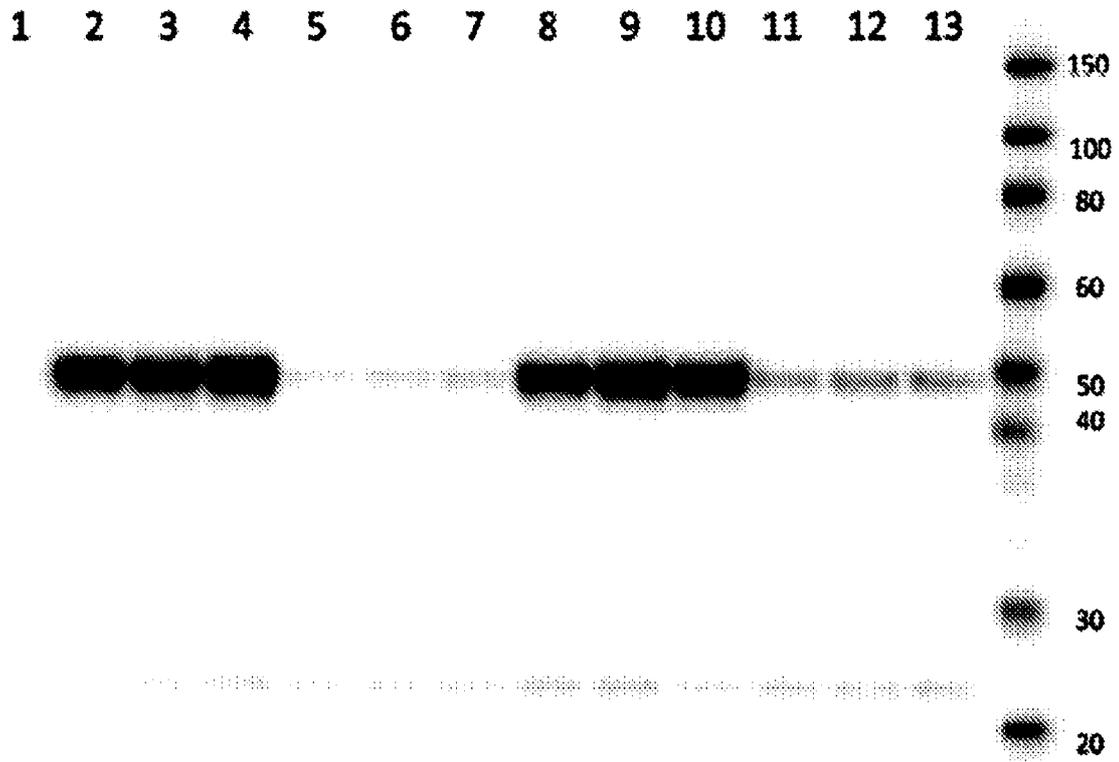
Фиг. 2



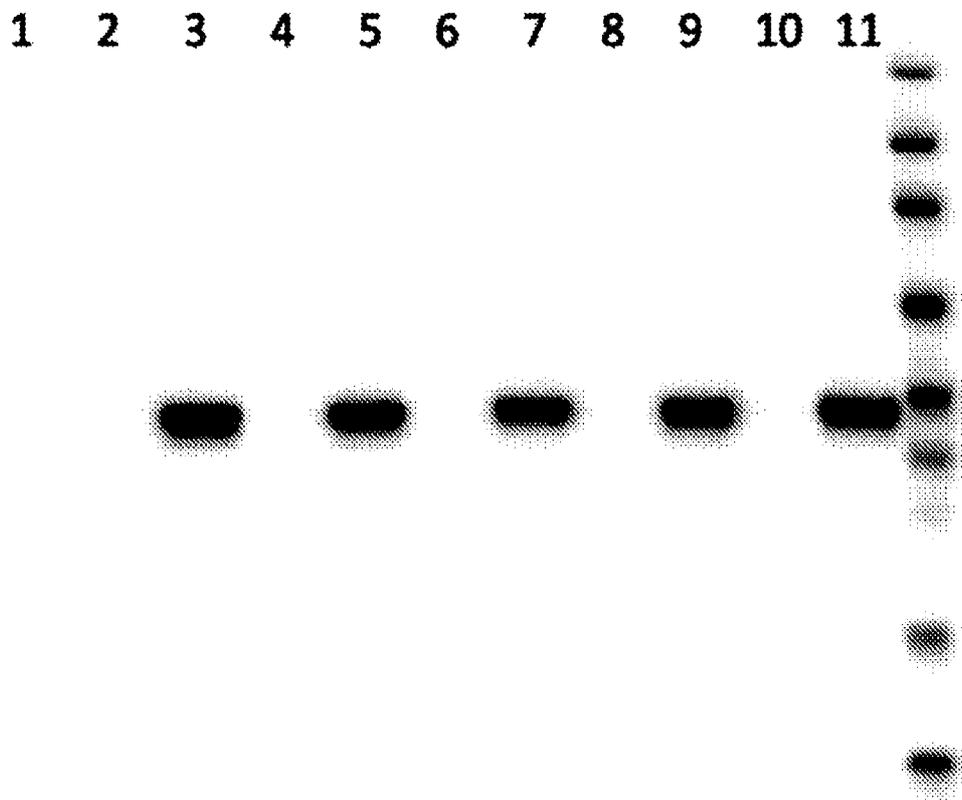
Фиг. 3



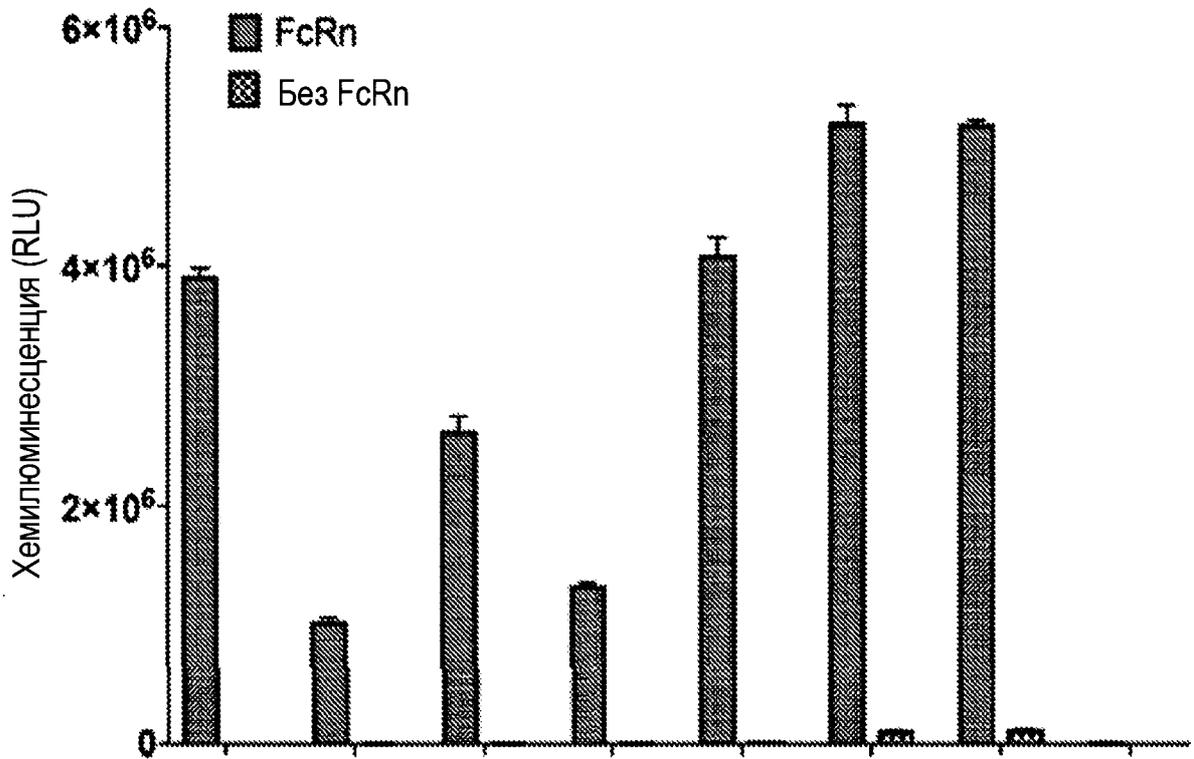
Фиг. 4



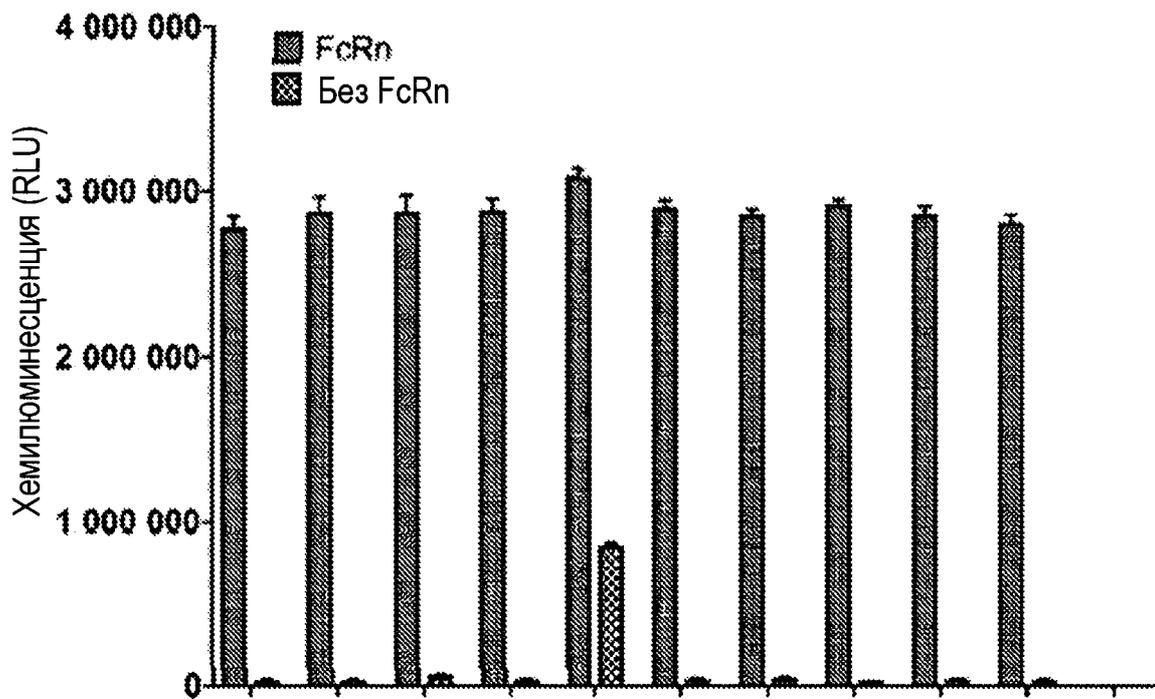
Фиг. 5



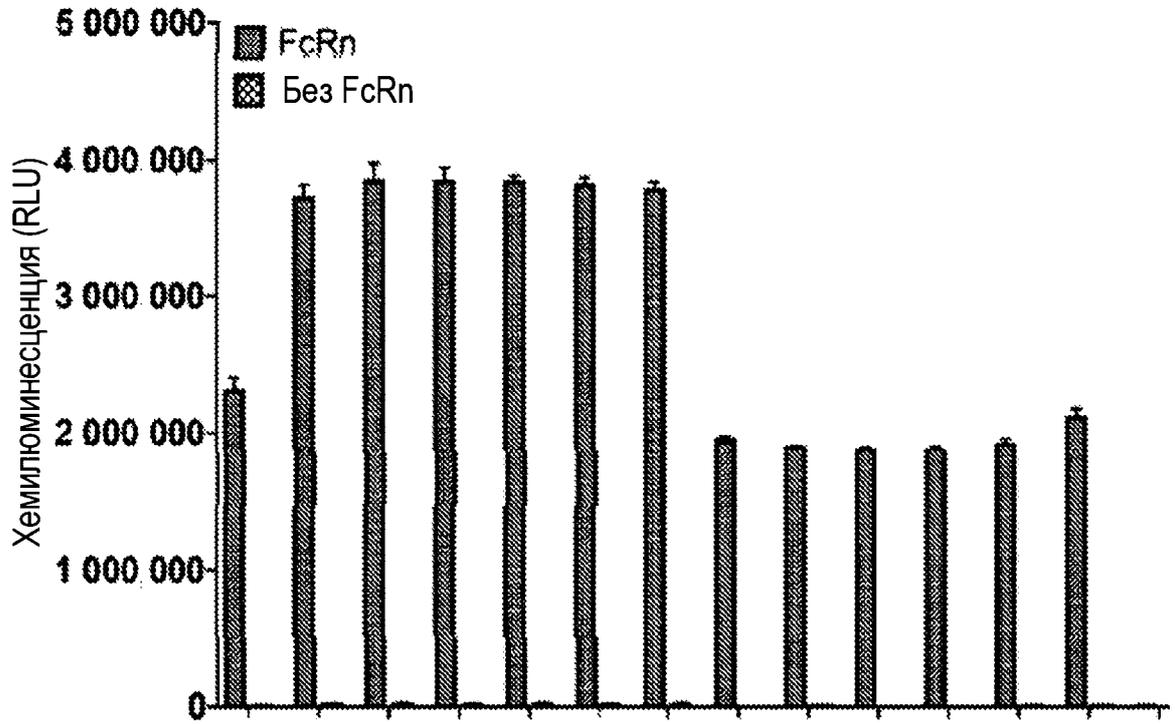
Фиг. 6



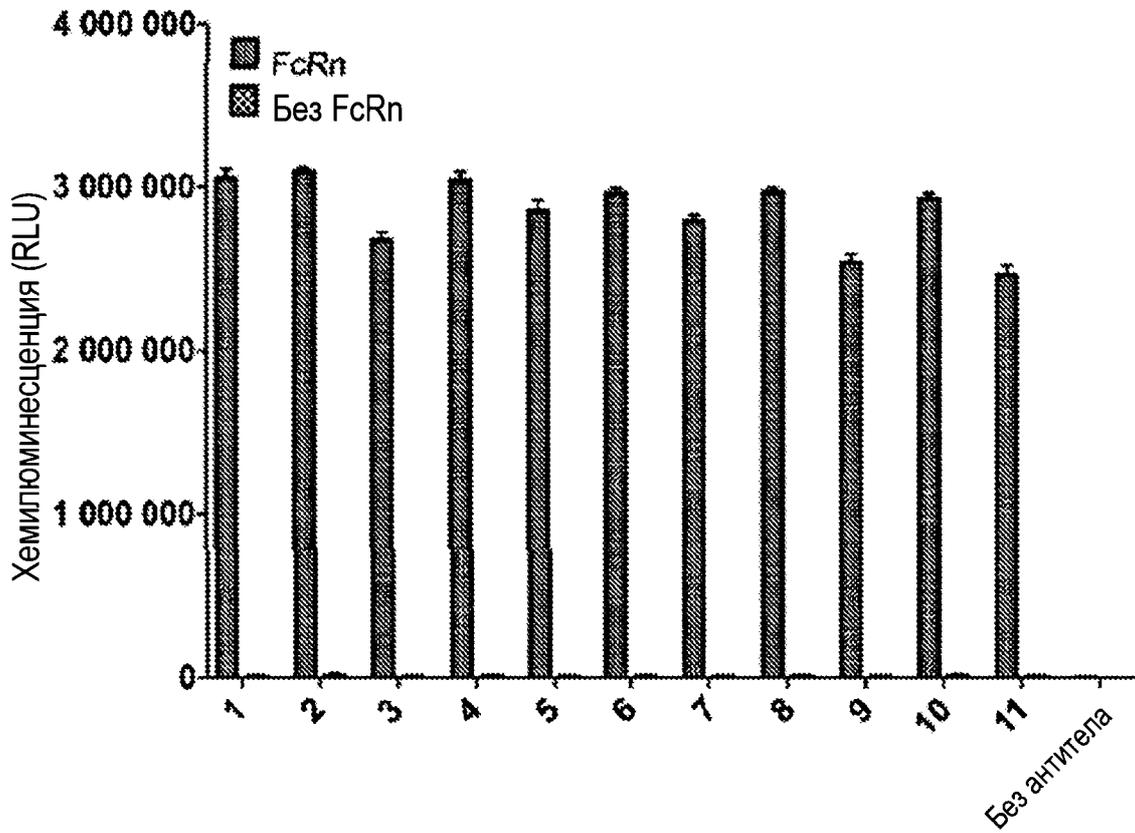
Фиг. 7



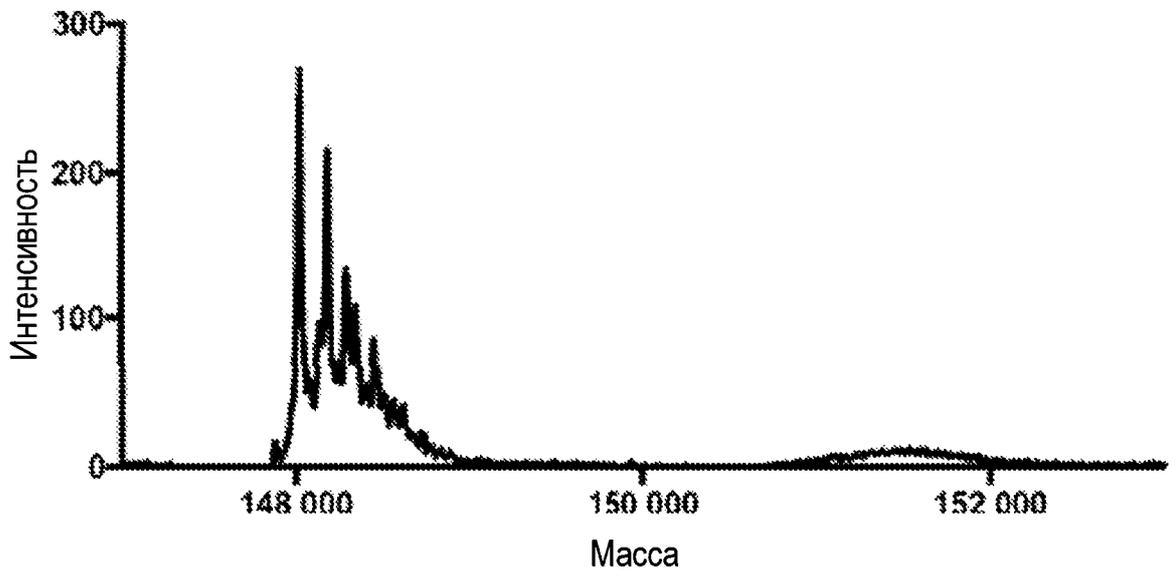
Фиг. 8



Фиг. 9

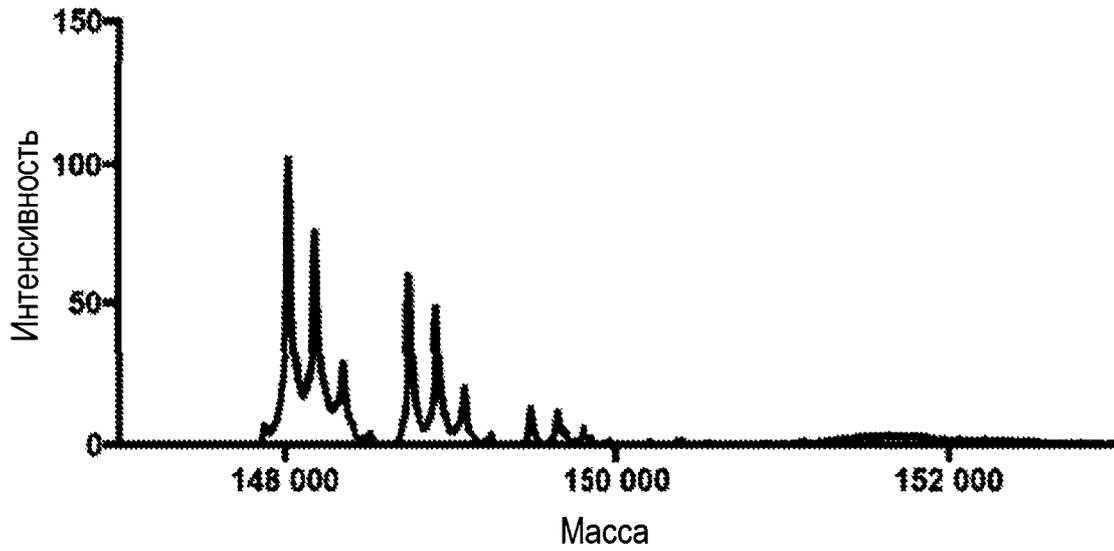


Фиг. 10

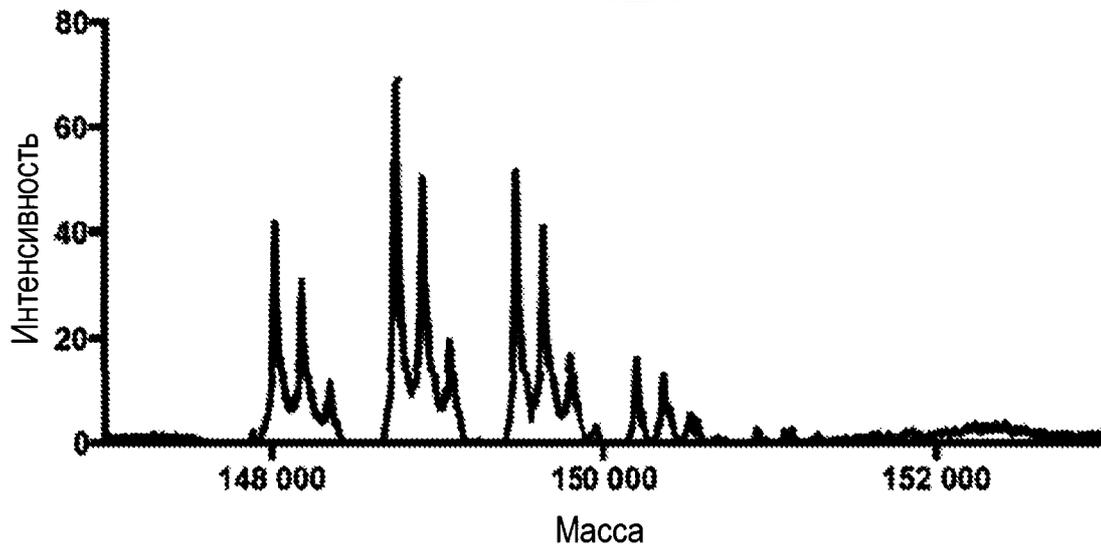


Фиг. 11

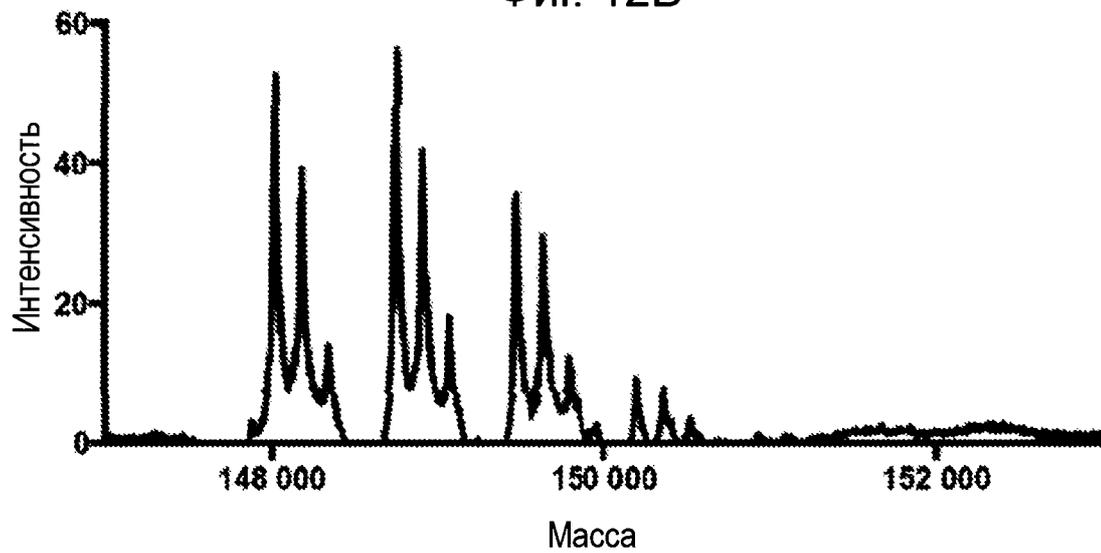
7/28



Фиг. 12А

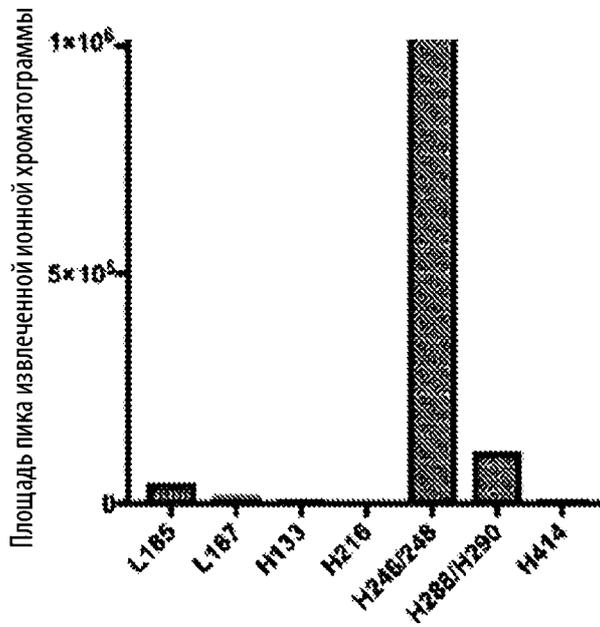
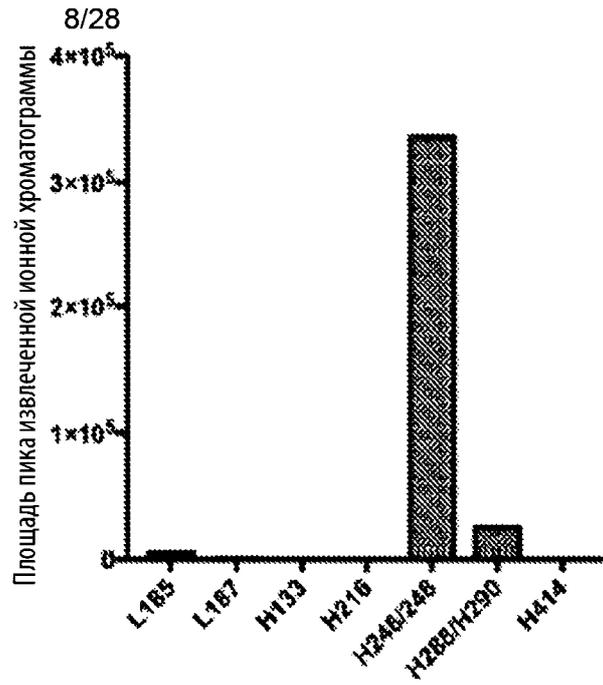


Фиг. 12В



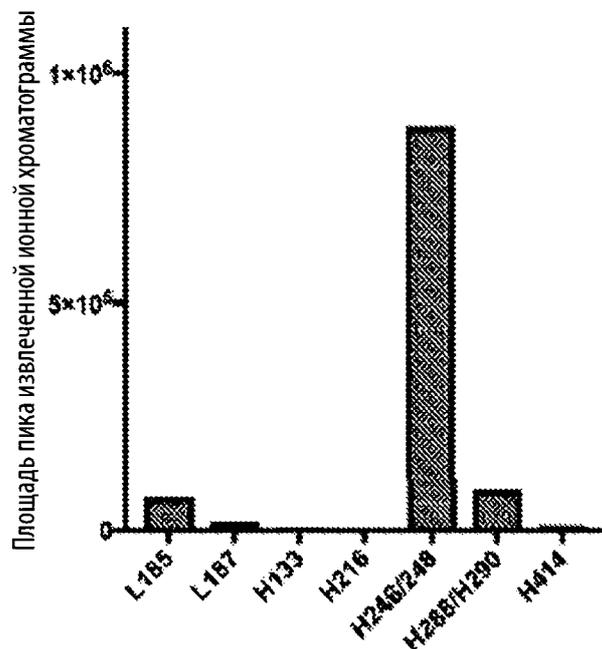
Фиг. 12С

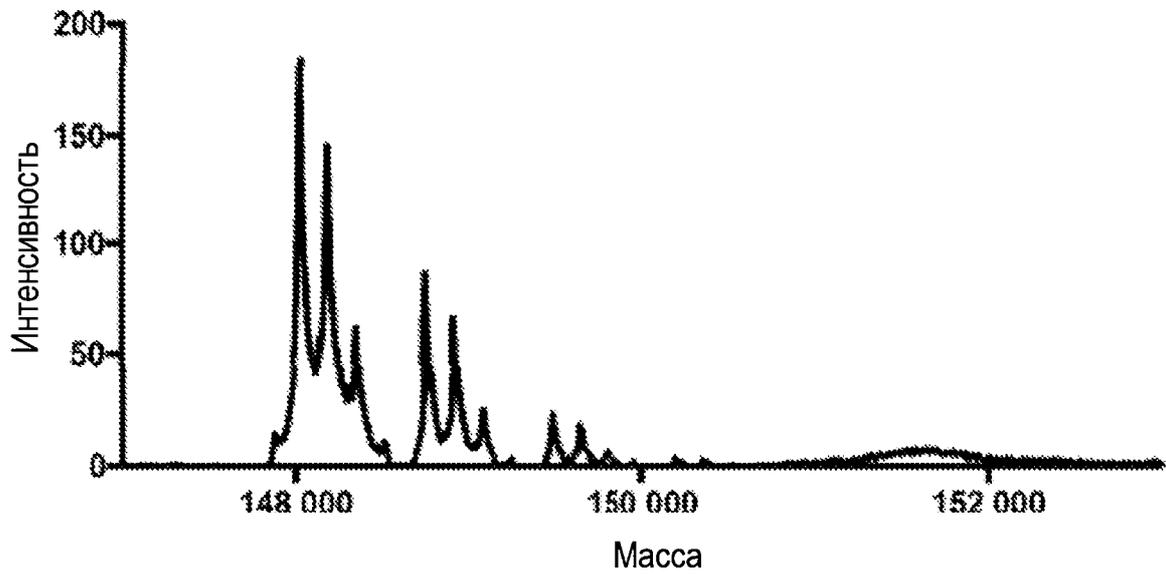
Фиг. 13А



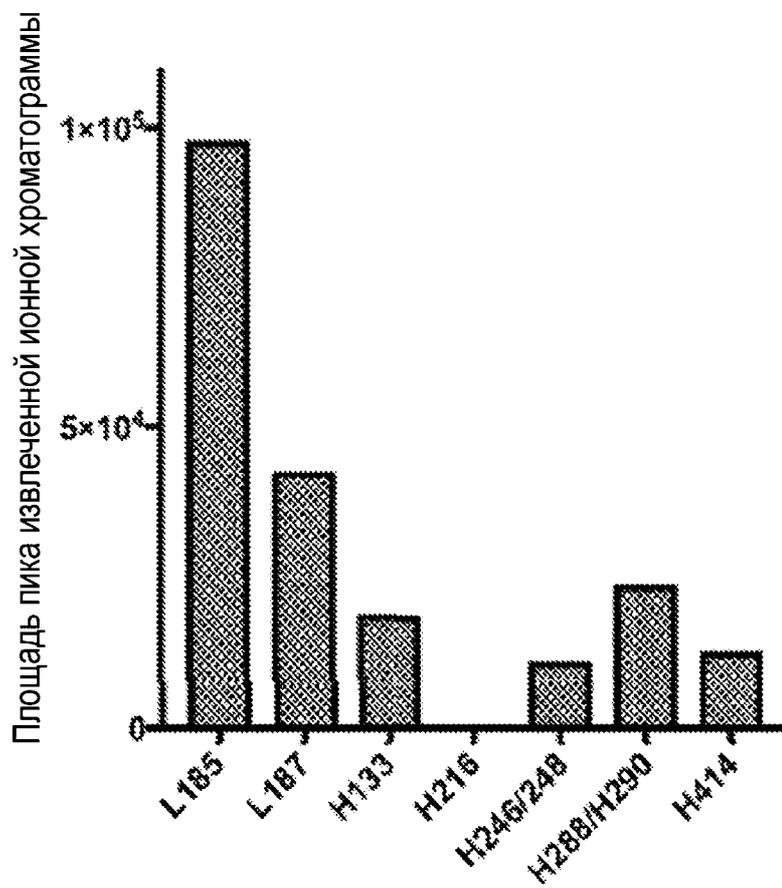
Фиг. 13В

Фиг. 13С

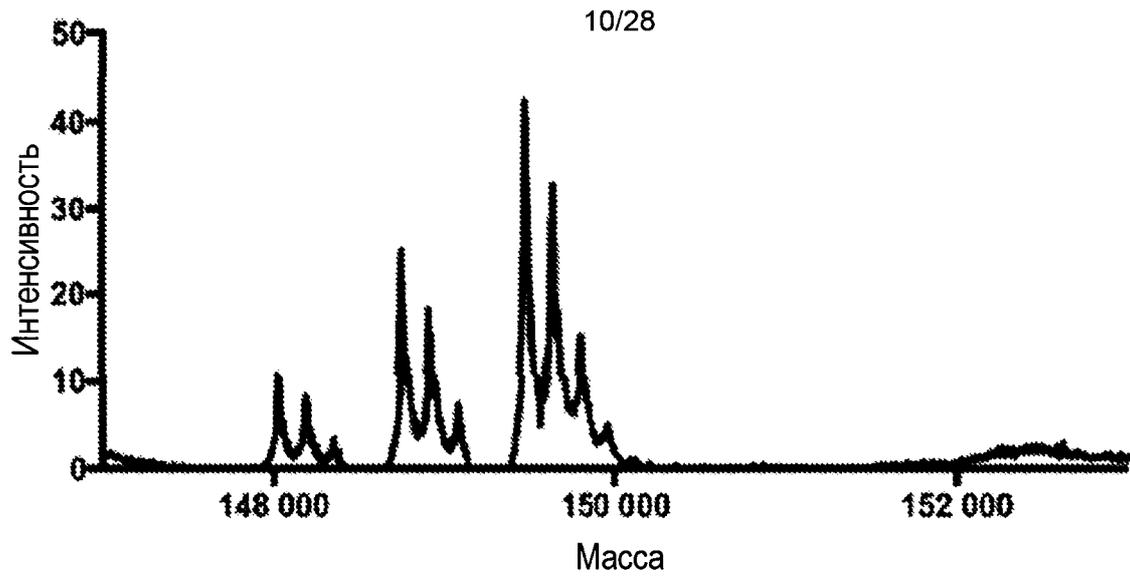




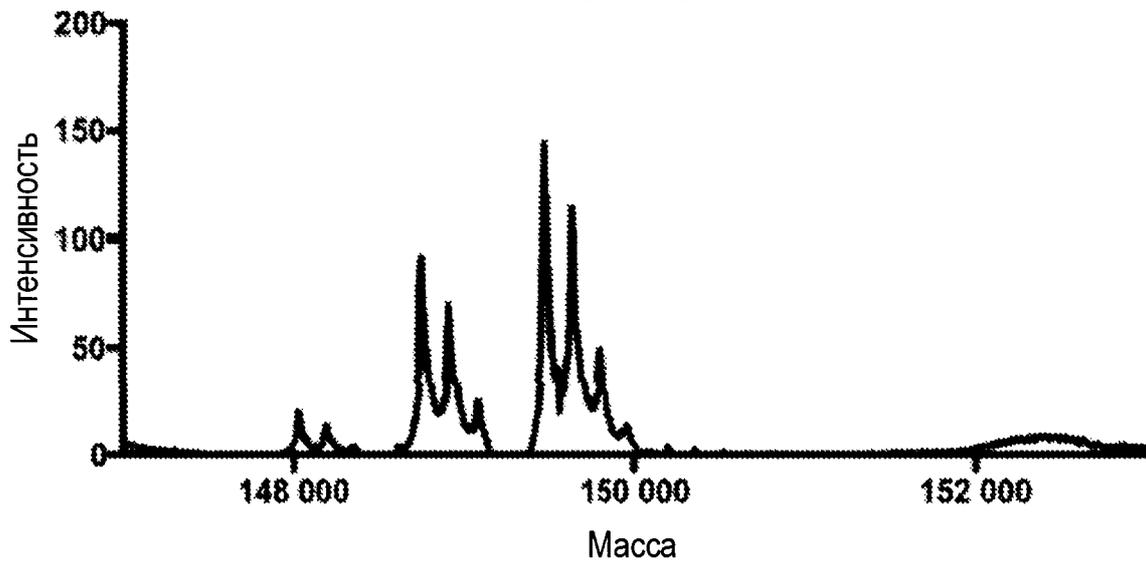
Фиг. 14



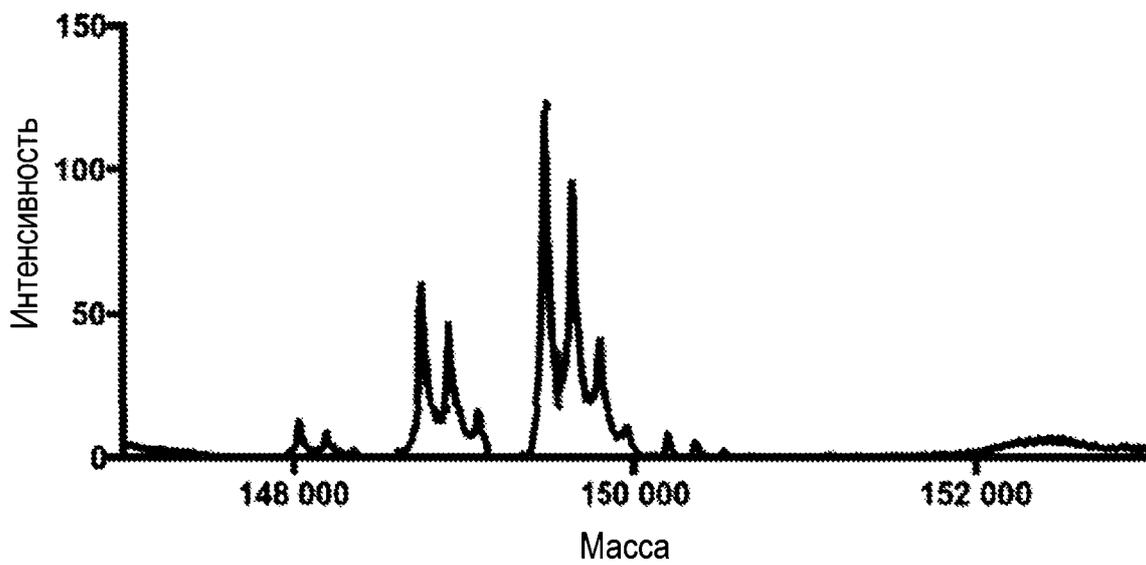
Фиг. 15



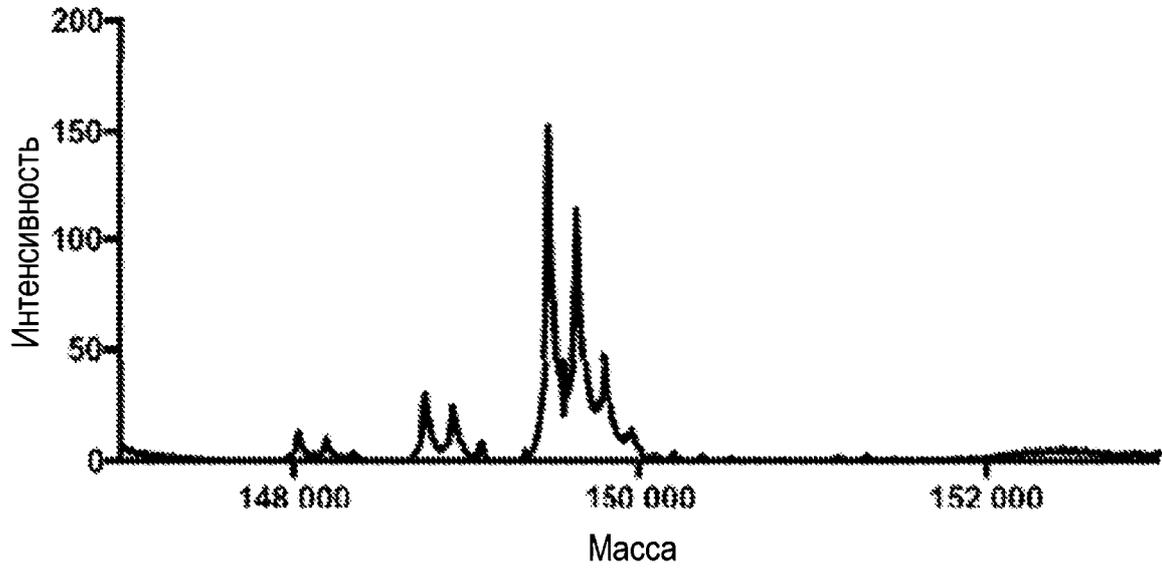
Фиг. 16А



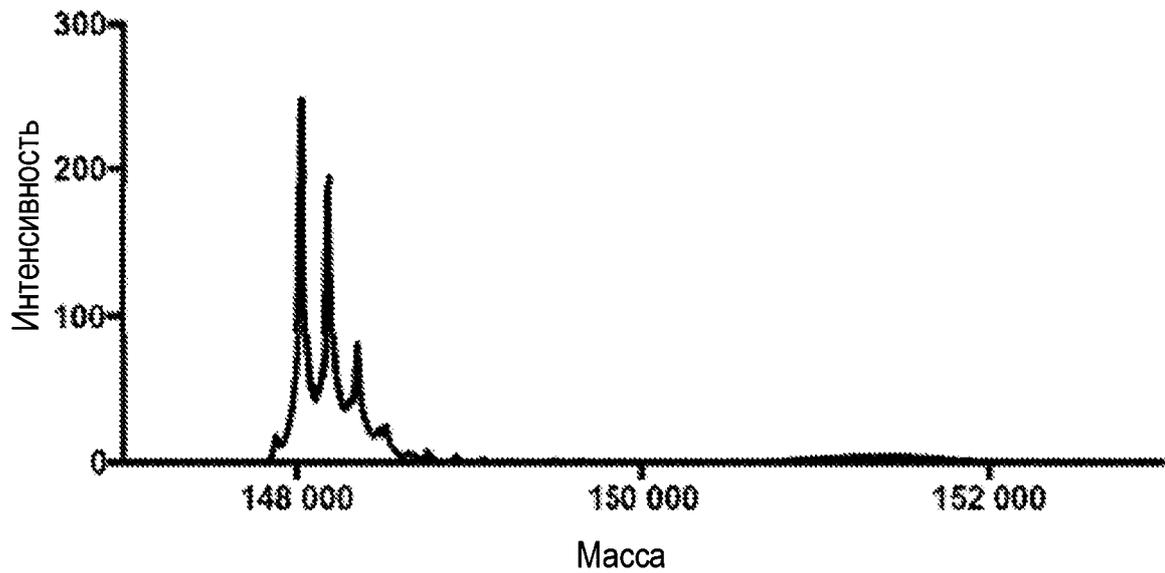
Фиг. 16В



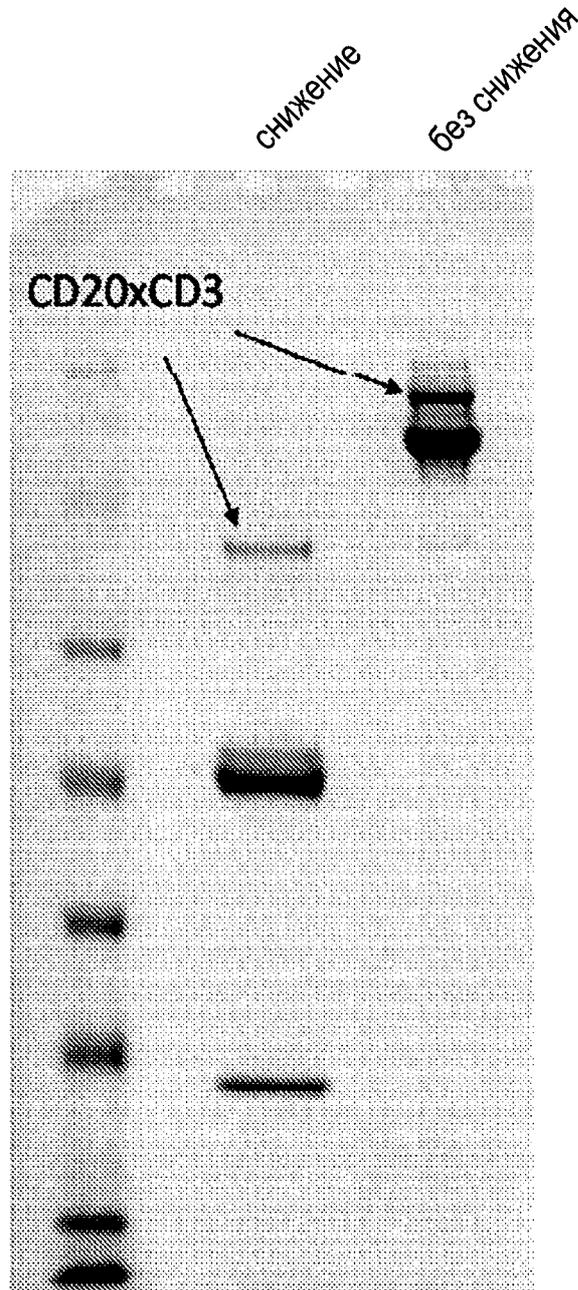
Фиг. 16С



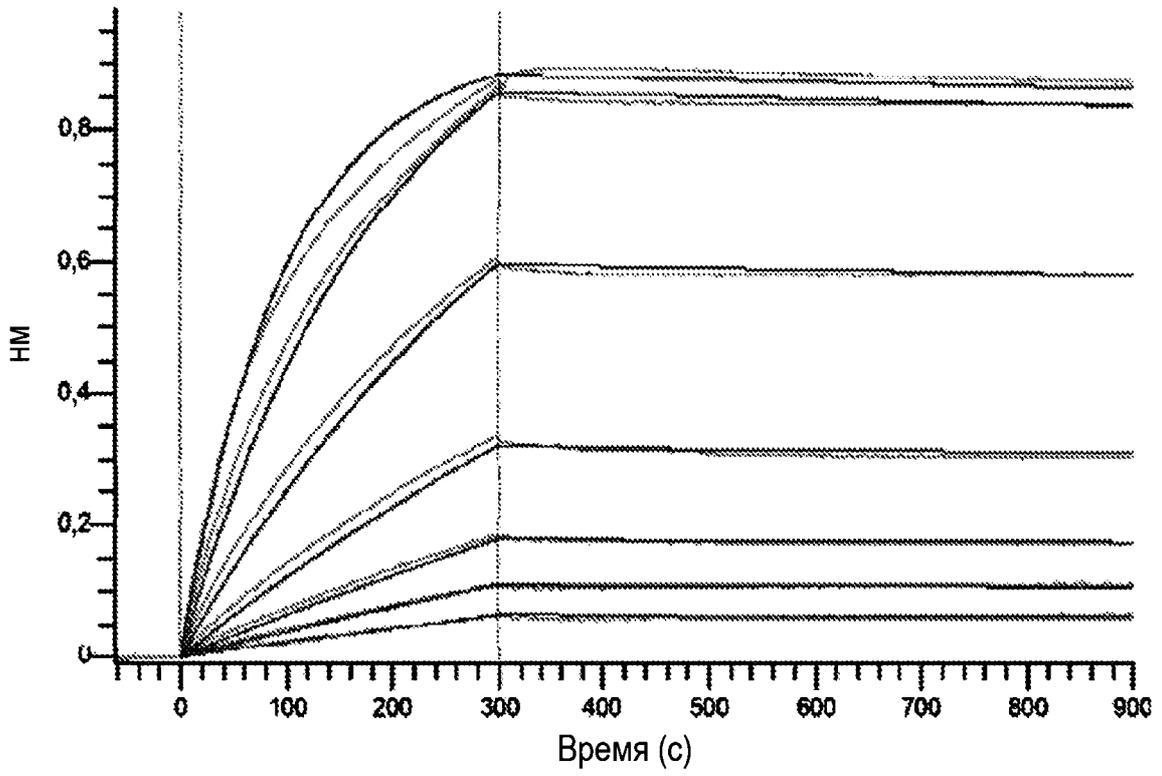
Фиг. 16D



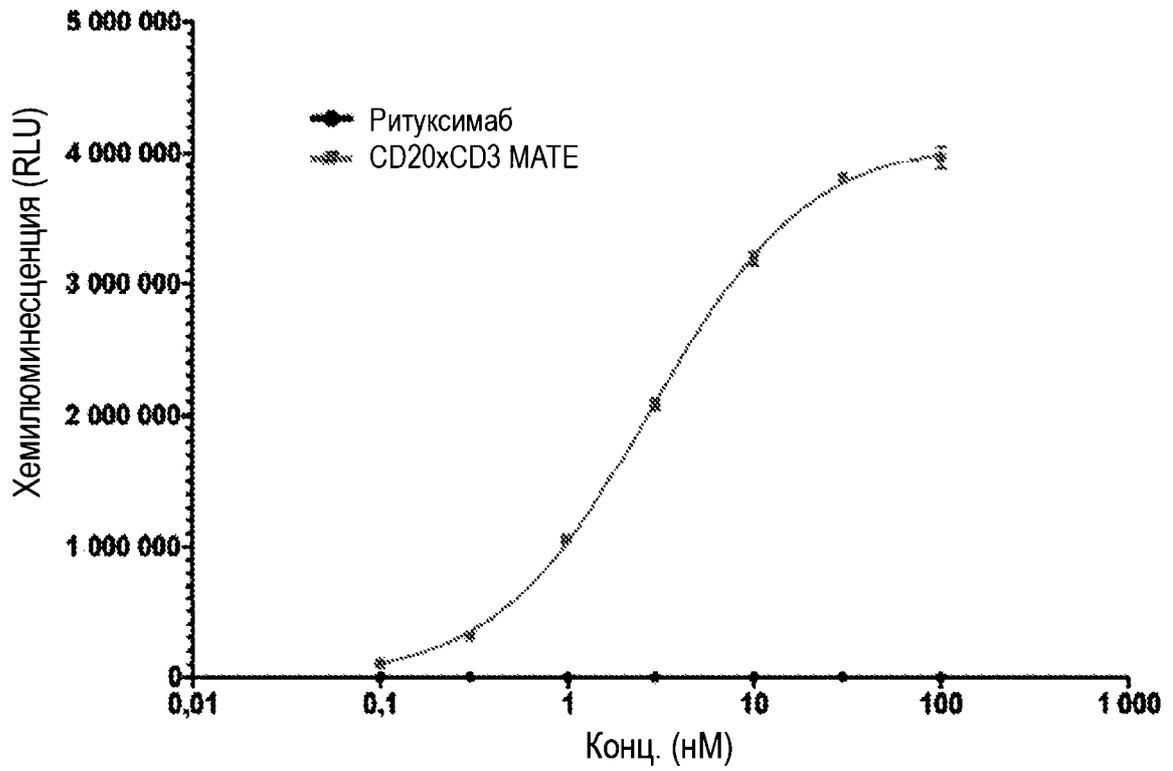
Фиг. 16E



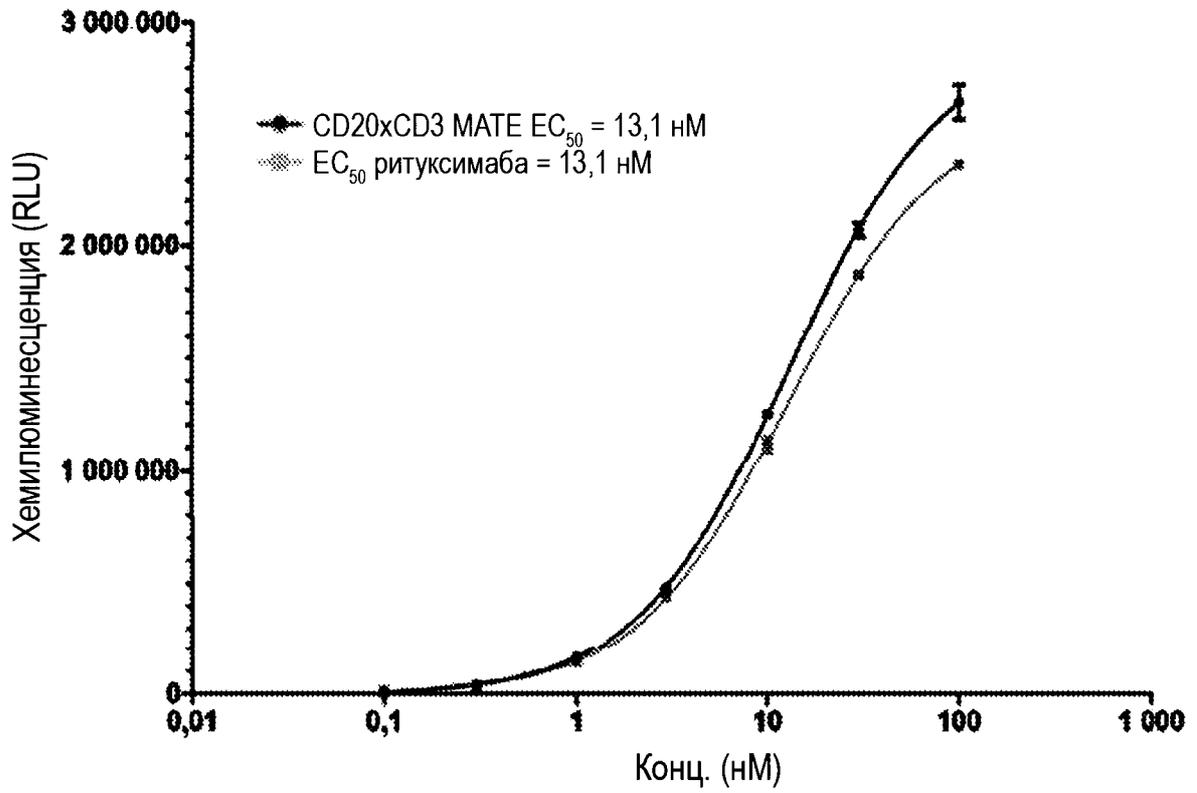
Фиг. 17



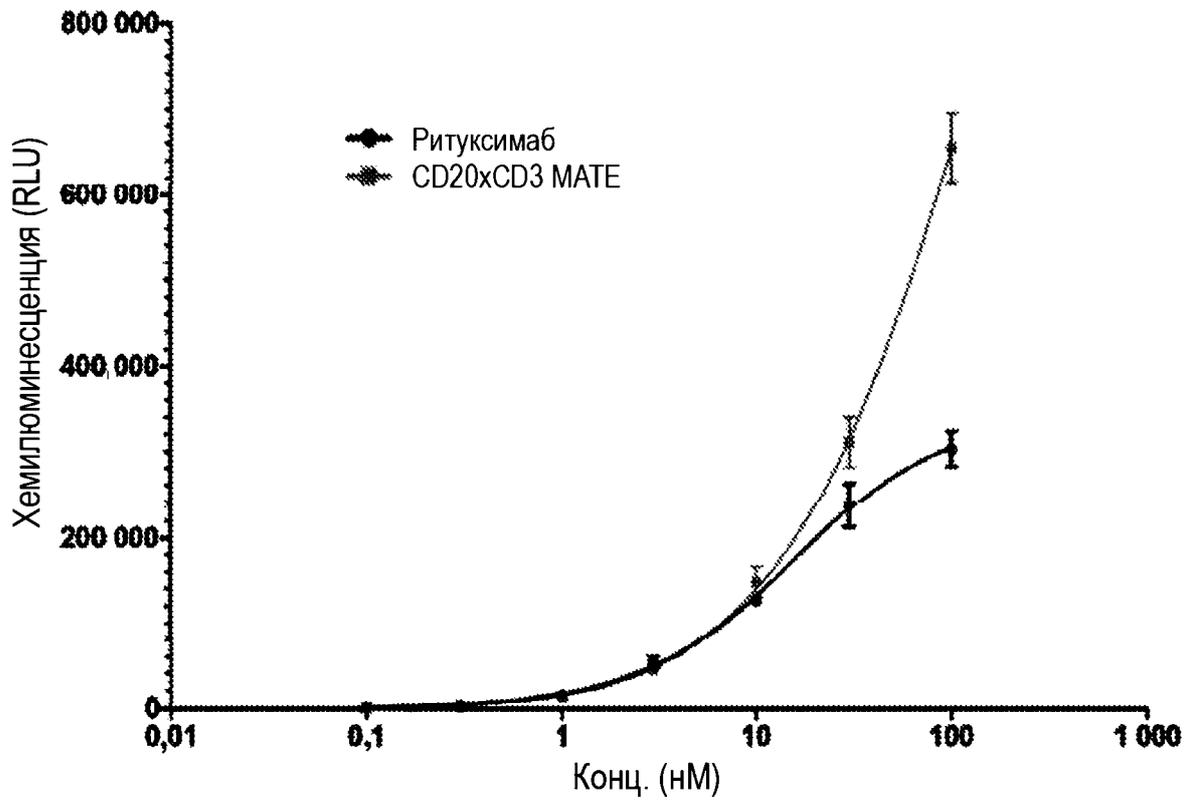
Фиг. 18



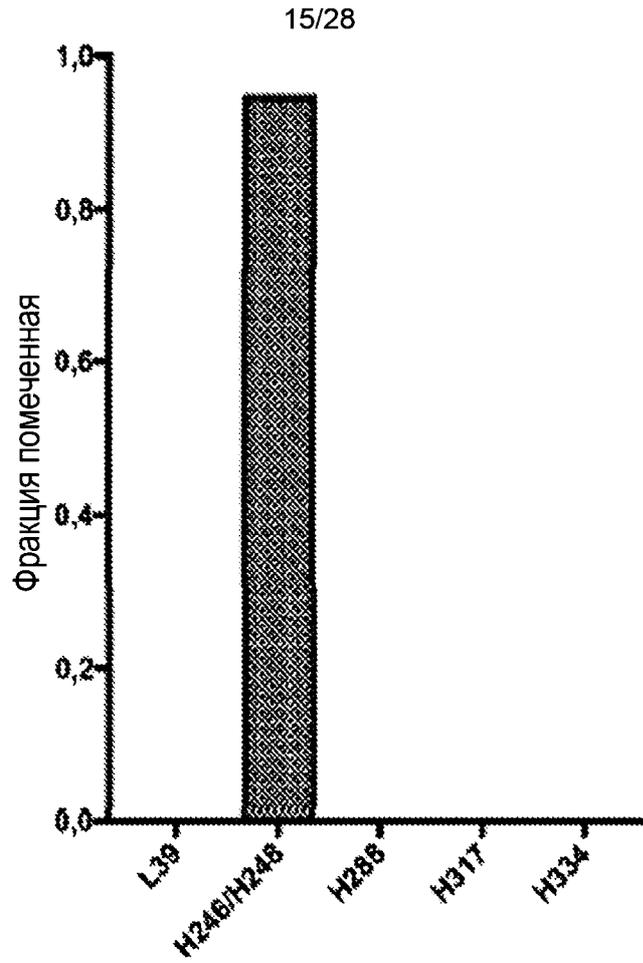
Фиг. 19



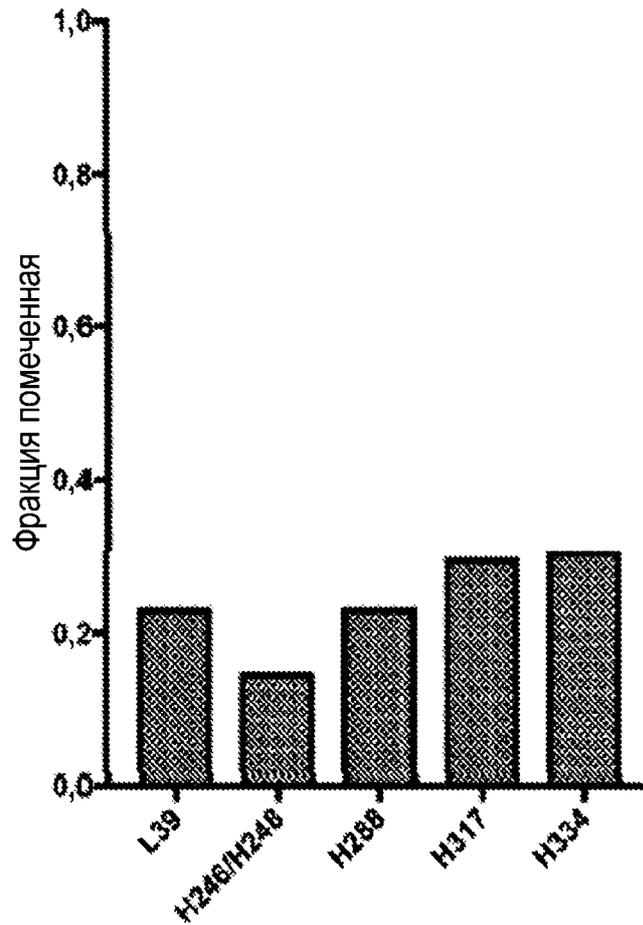
Фиг. 20



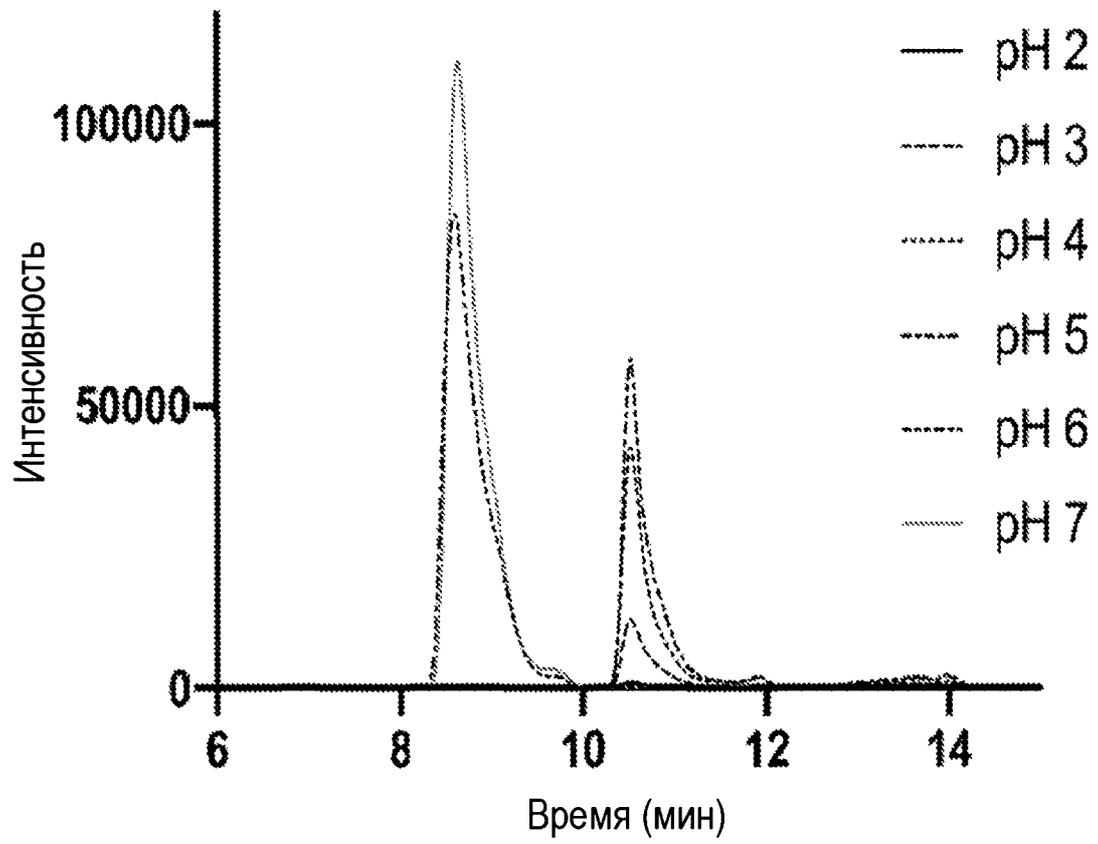
Фиг. 21



Фиг. 22А



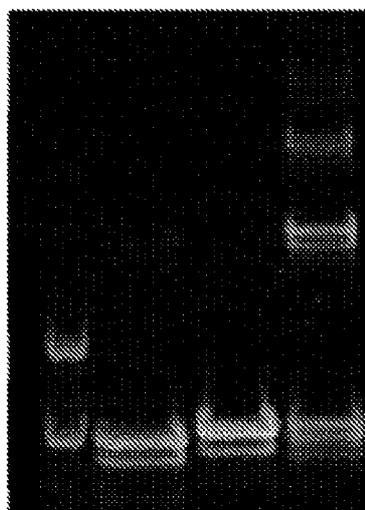
Фиг. 22В



Фиг. 23

17/28

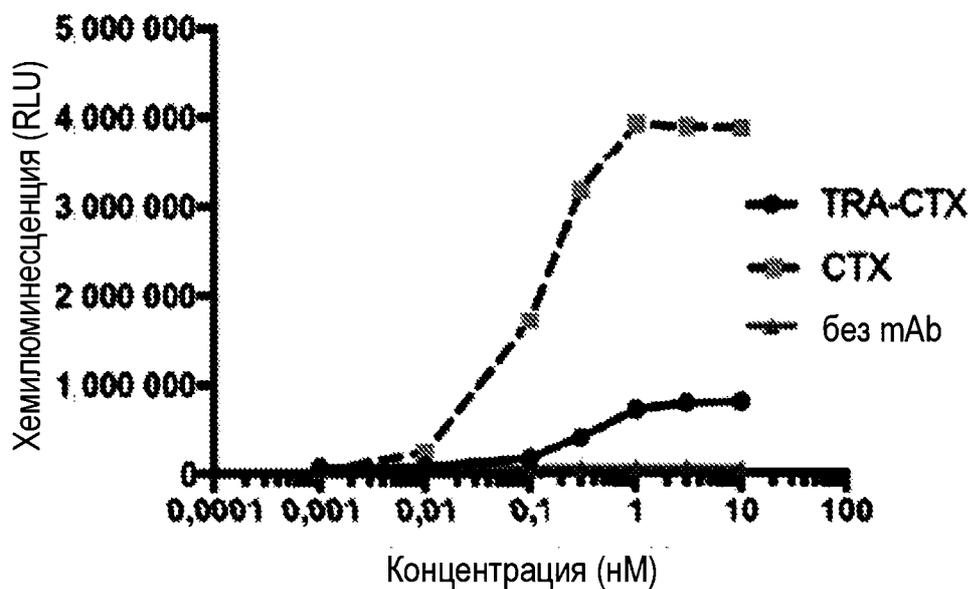
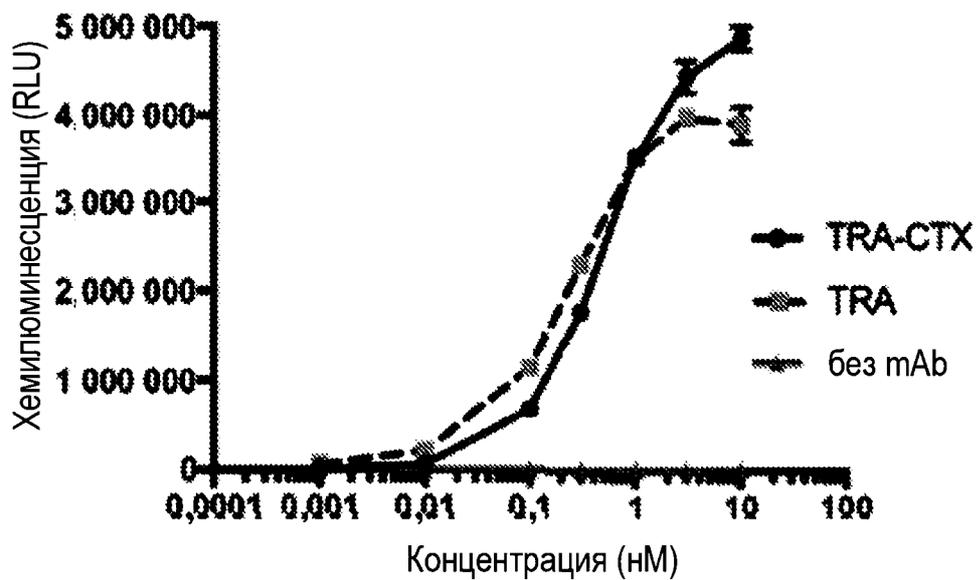
TRA CTX TRA-CTX



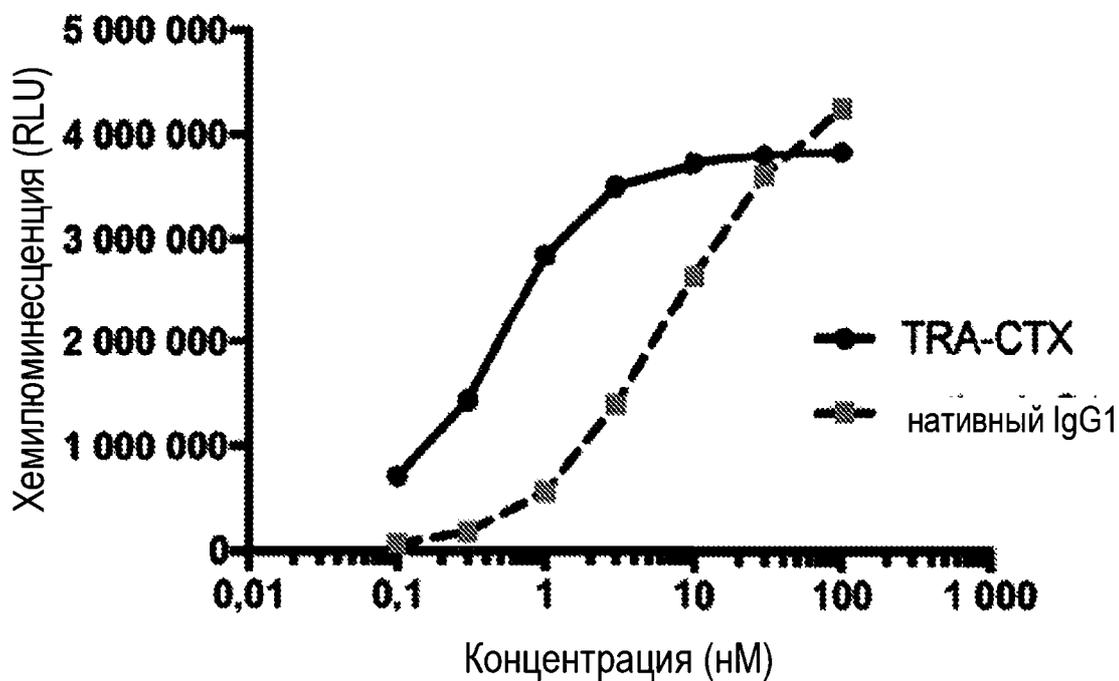
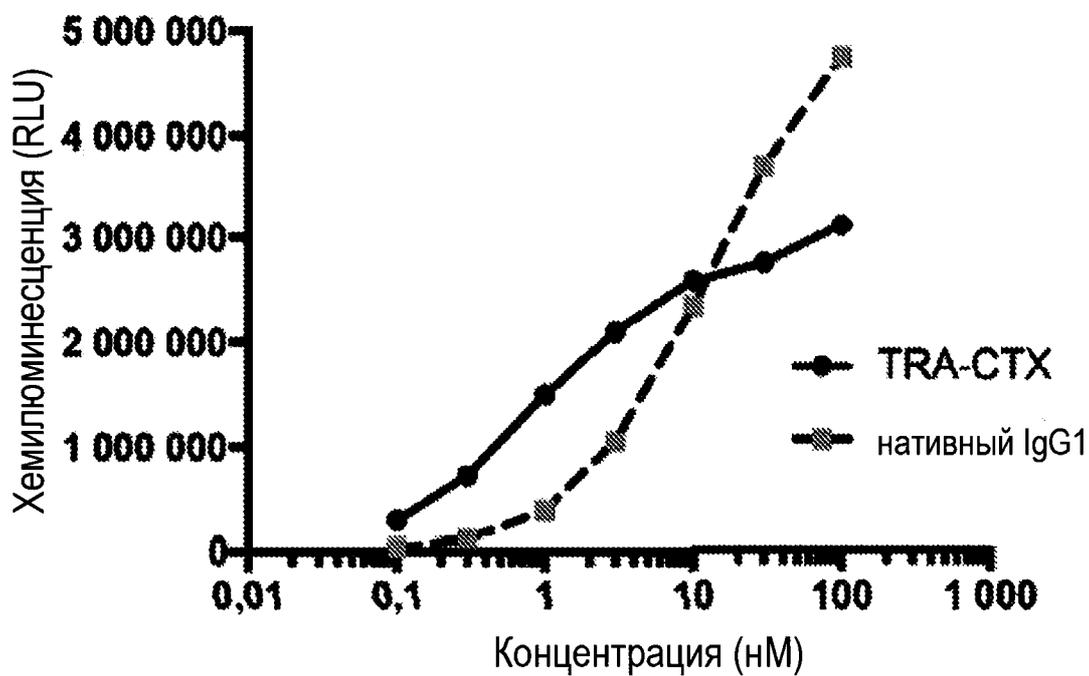
mAb-mAb-mAb
(TRA-CTX-TRA или CTX-TRA-CTX)
mAb-mAb (TRA-CTX)

mAb (TRA или CTX)

Фиг. 24

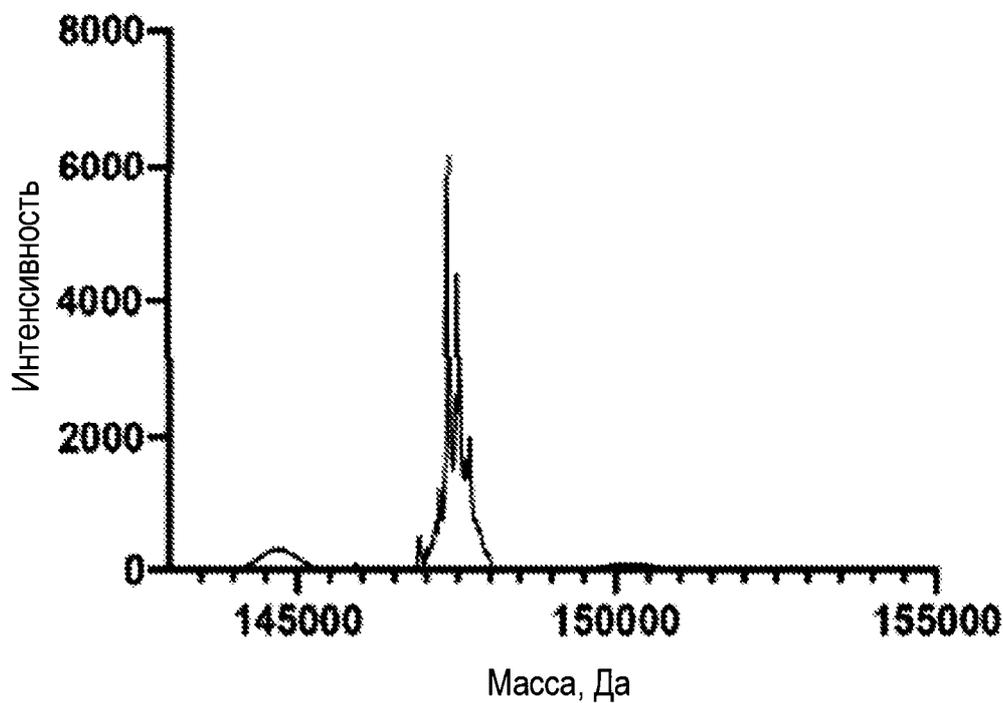


Фиг. 25



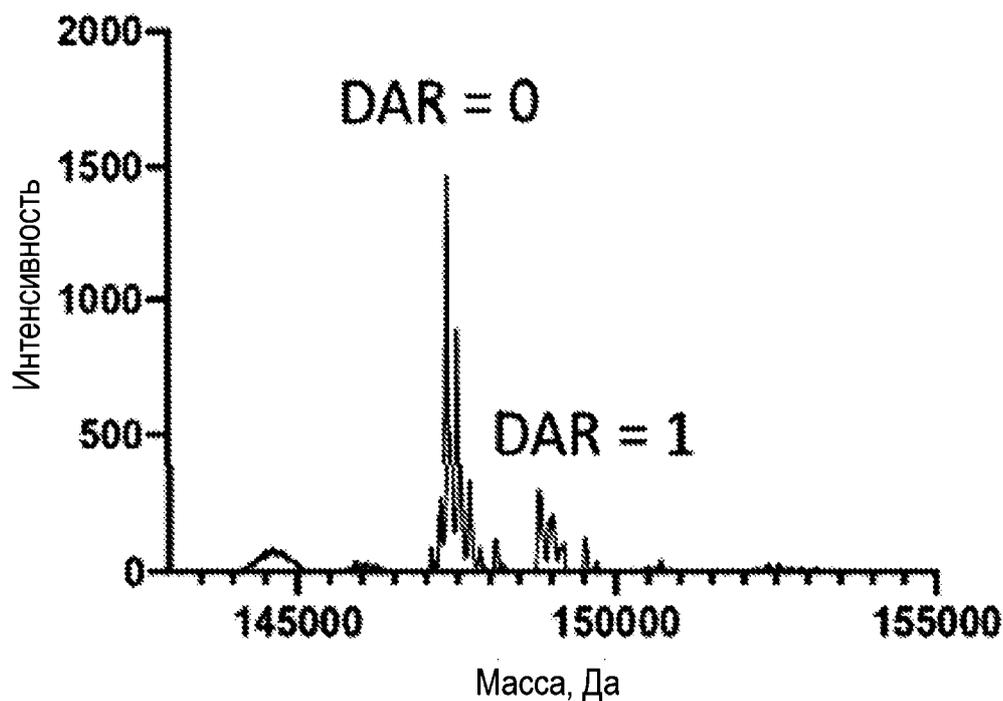
Фиг. 26

Деносумаб



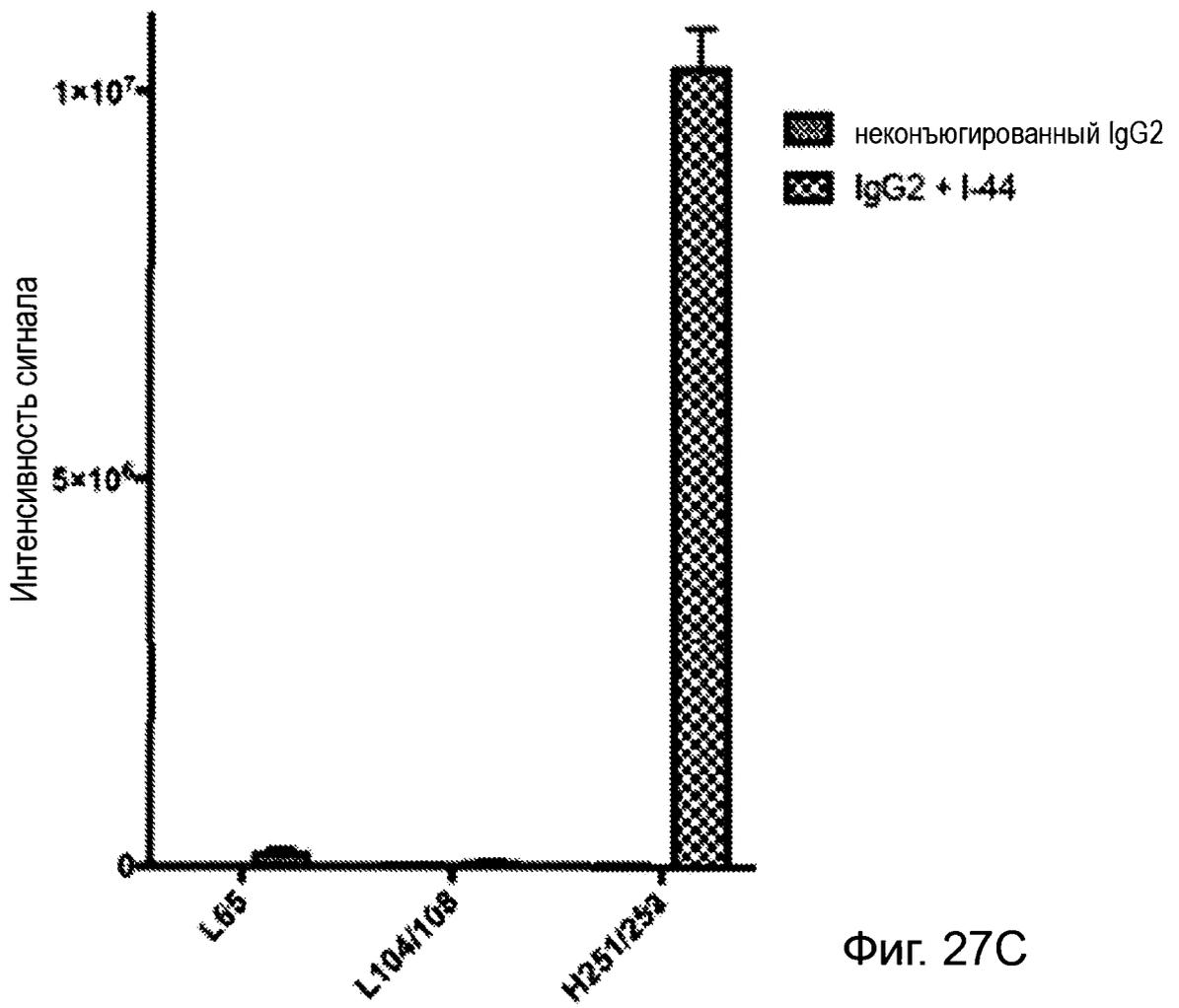
Фиг. 27А

Деносумаб + I-44



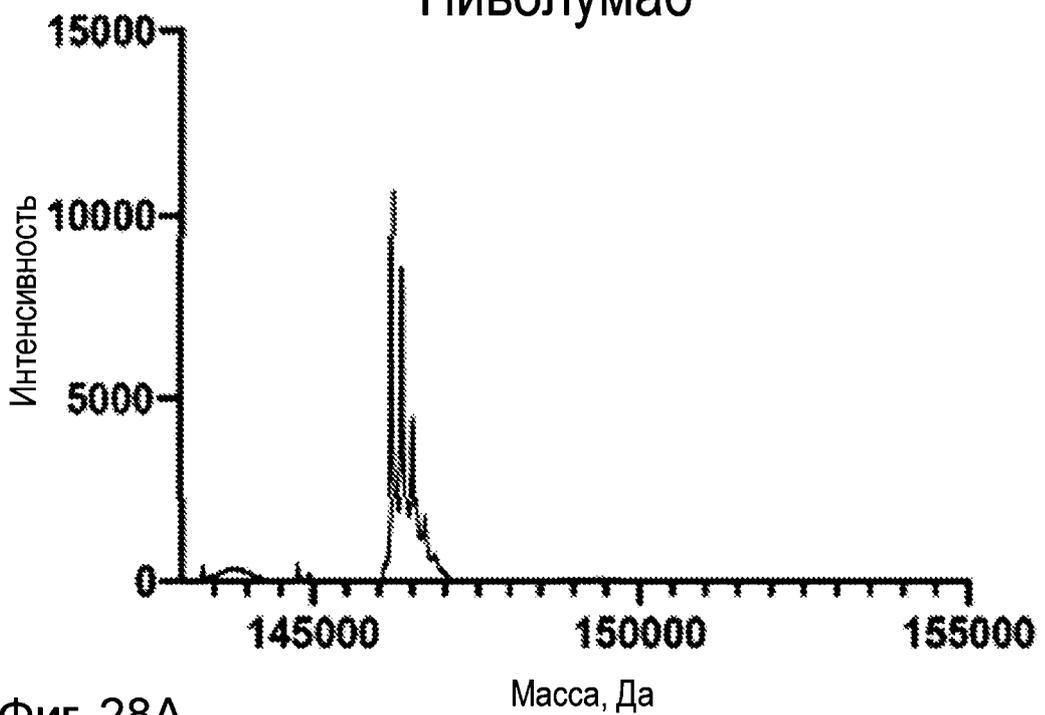
Фиг. 27В

20/28



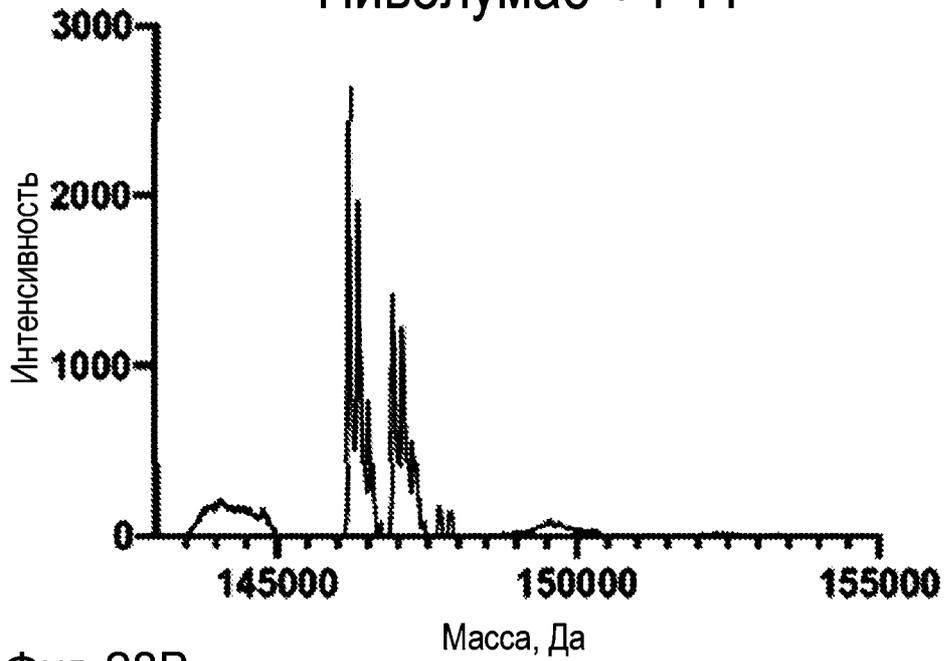
Фиг. 27С

Ниволумаб

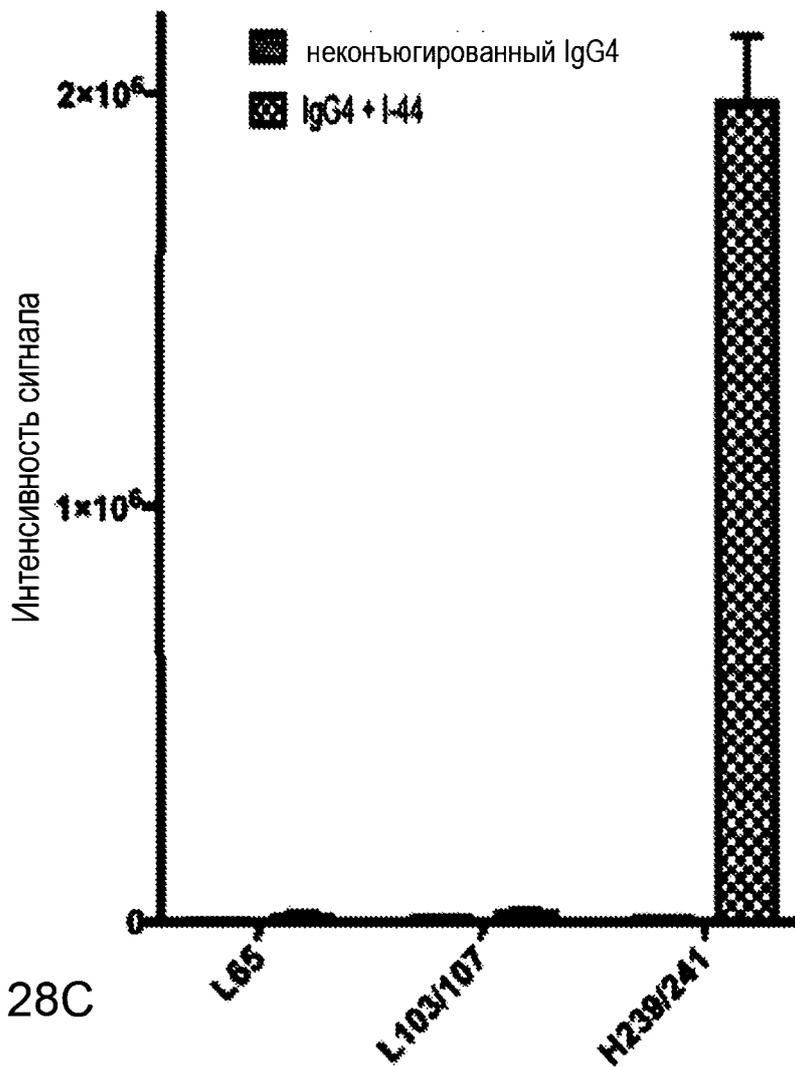


Фиг. 28А

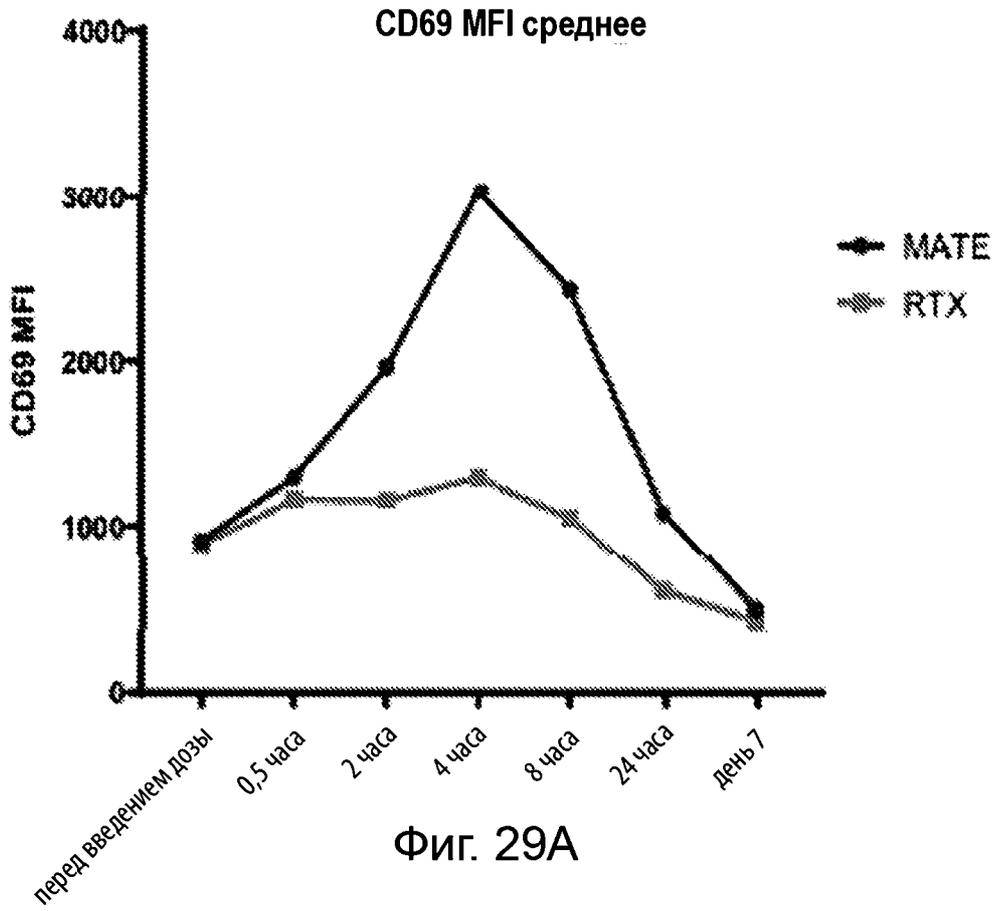
Ниволумаб + I-44



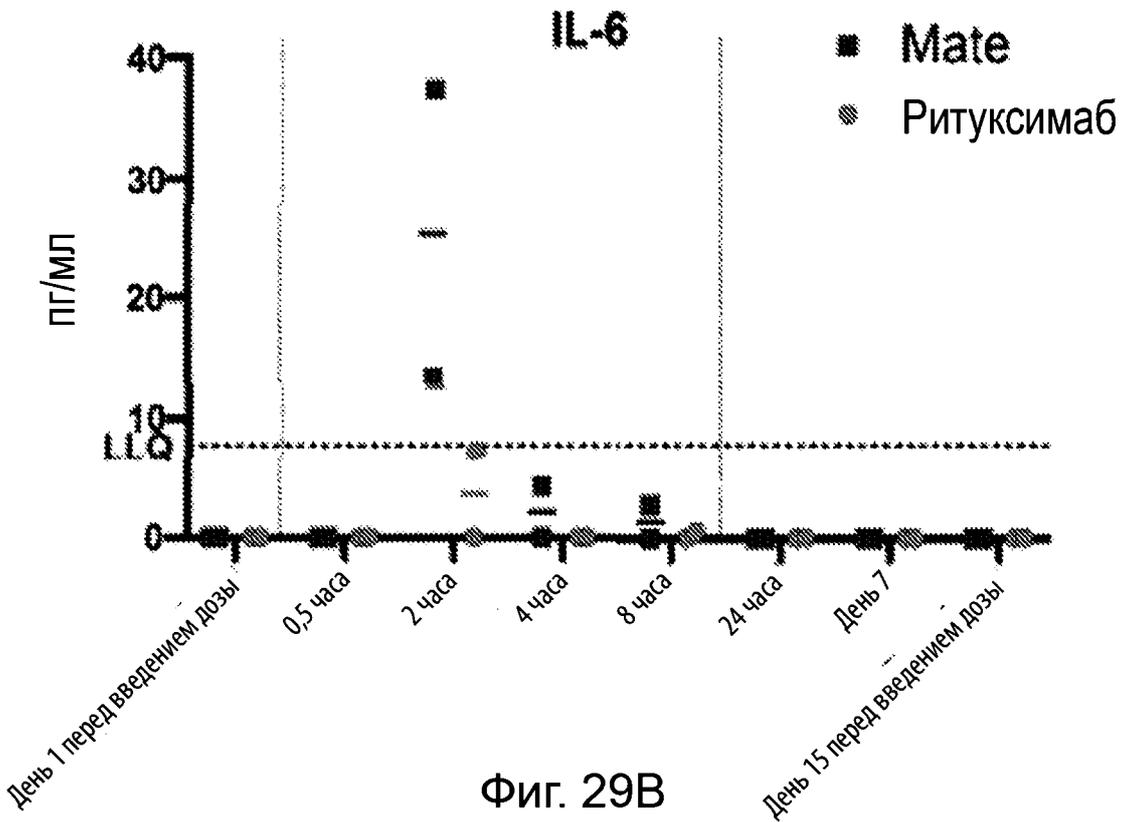
Фиг. 28В



Фиг. 28С

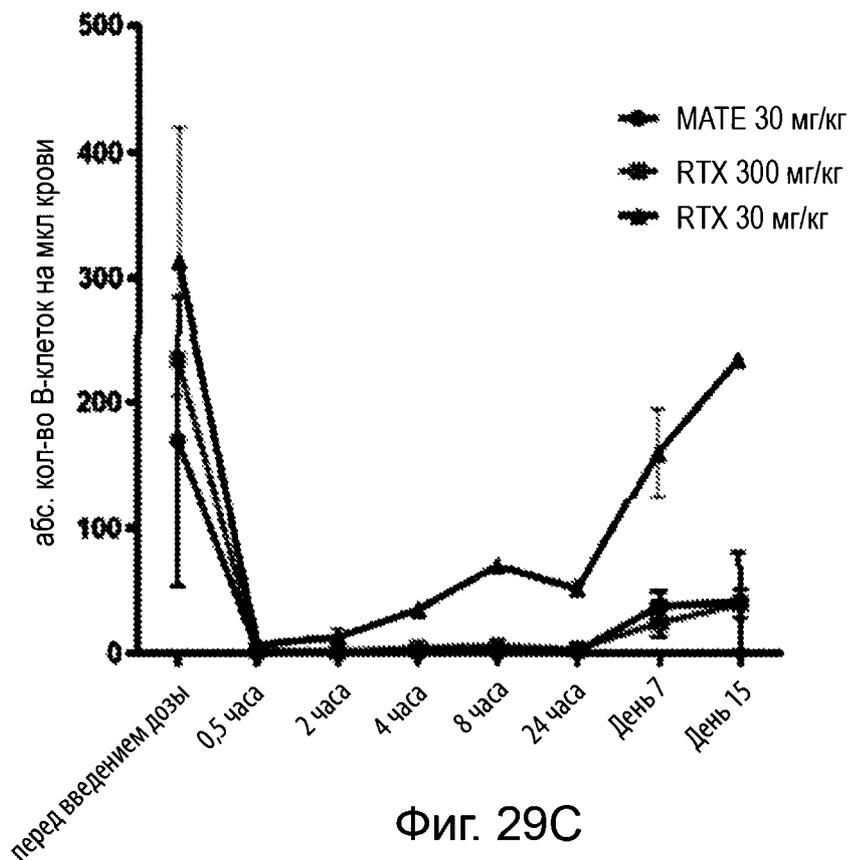


Фиг. 29А

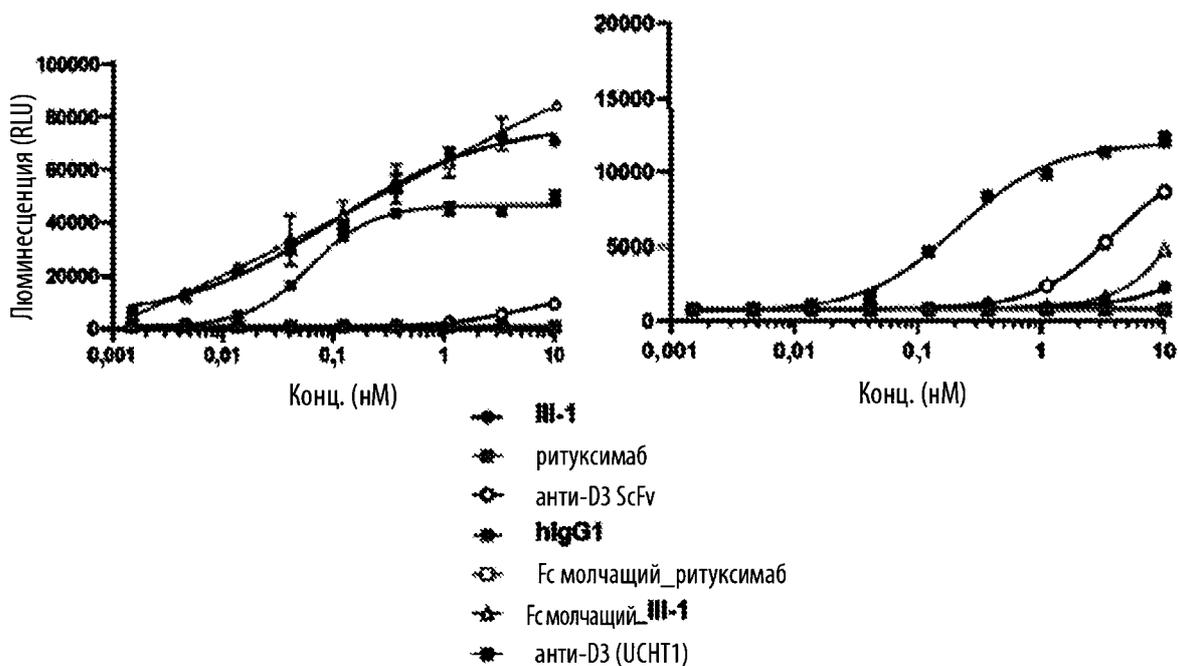


Фиг. 29В

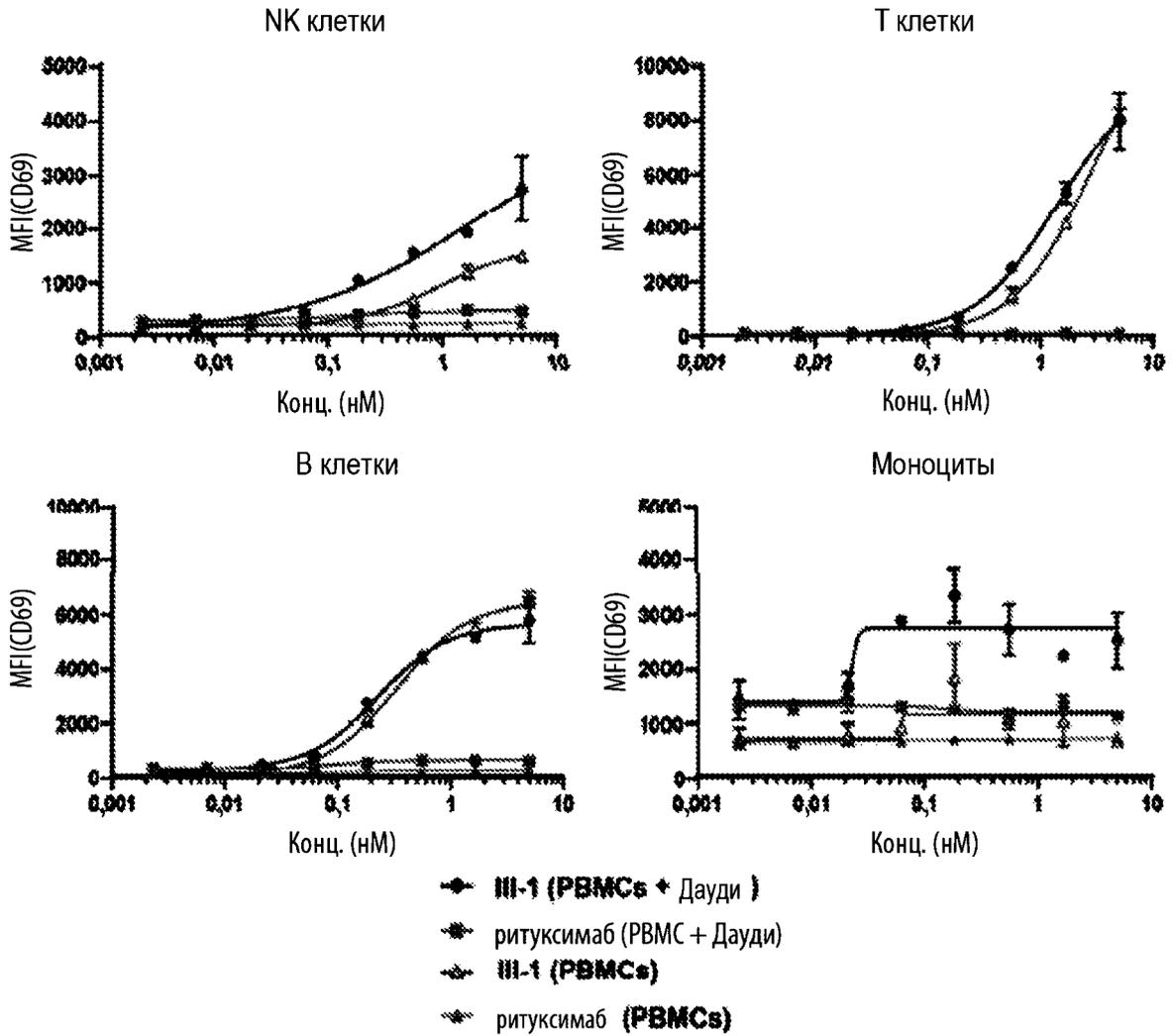
абс. кол-во В-клеток на мкл крови



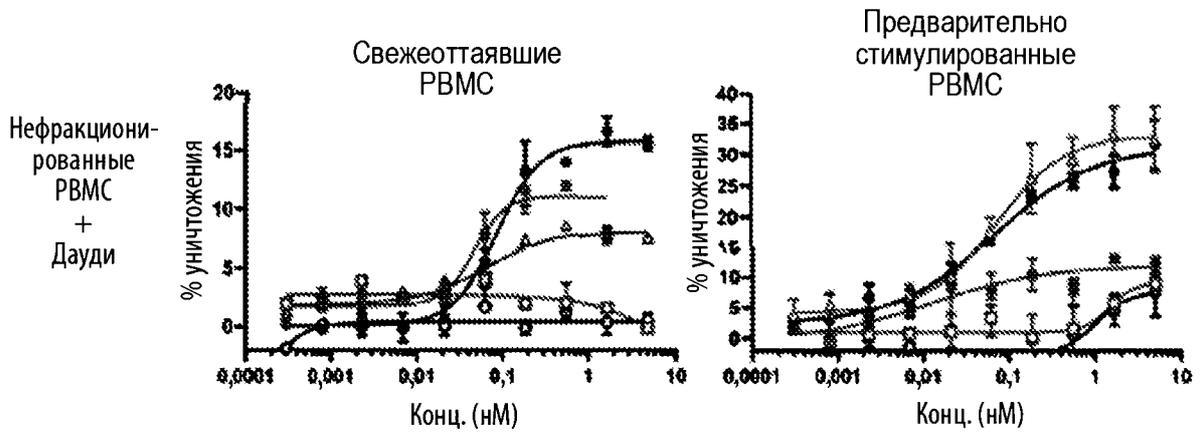
Фиг. 29С



Фиг. 30А

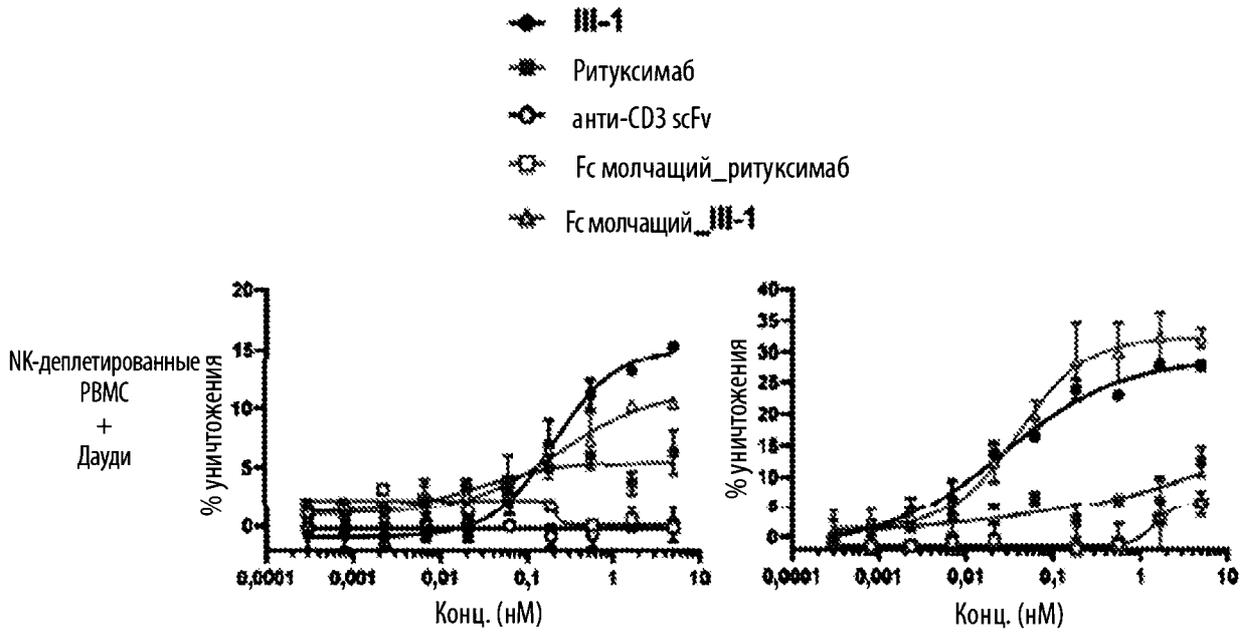


Фиг. 30В

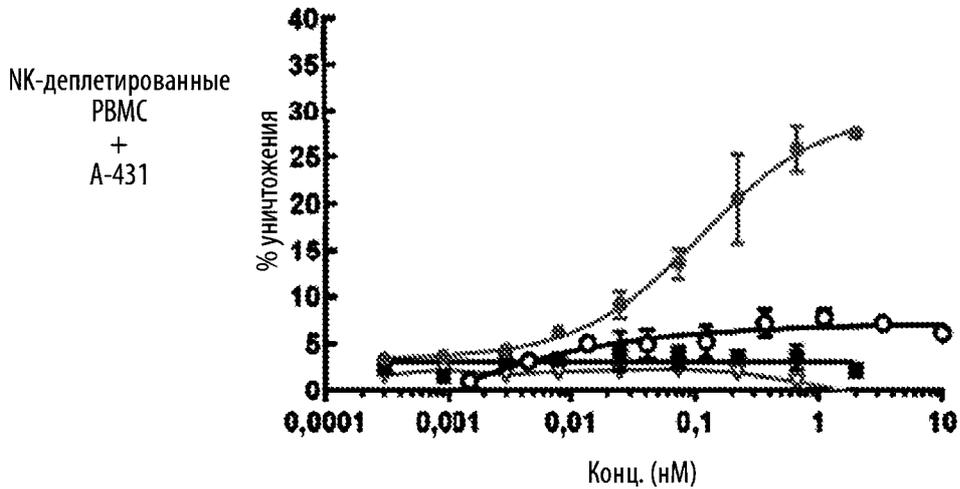
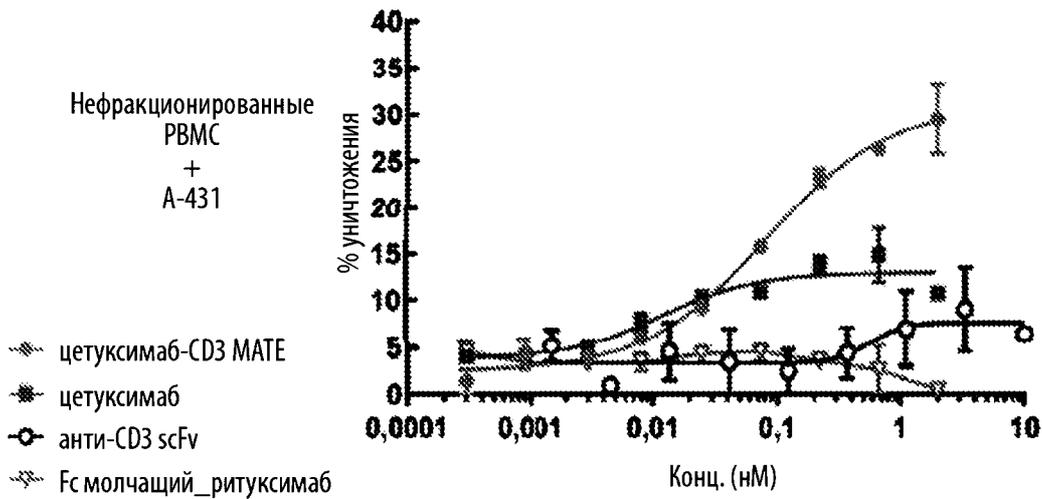


Фиг. 31А.1

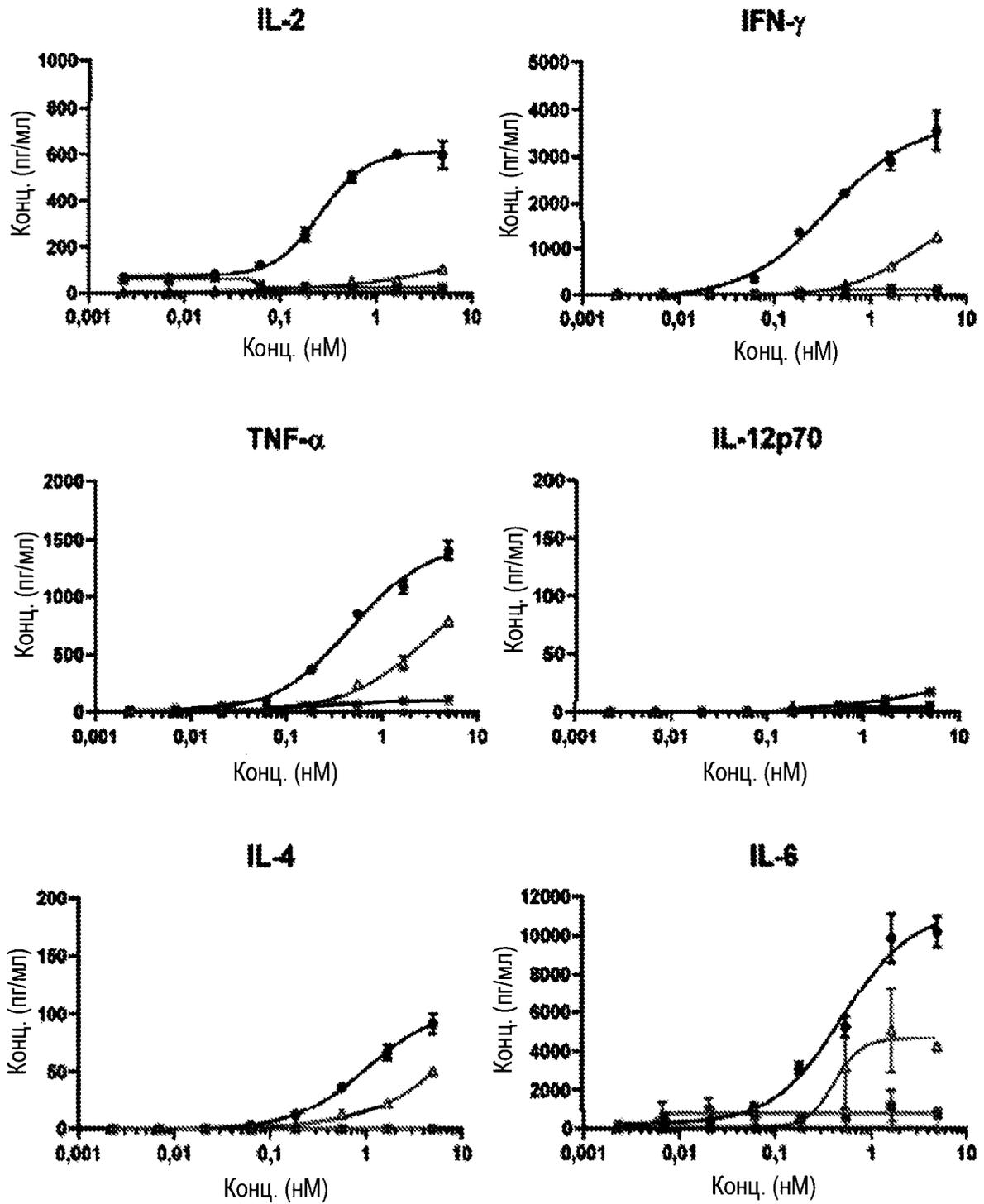
25/28



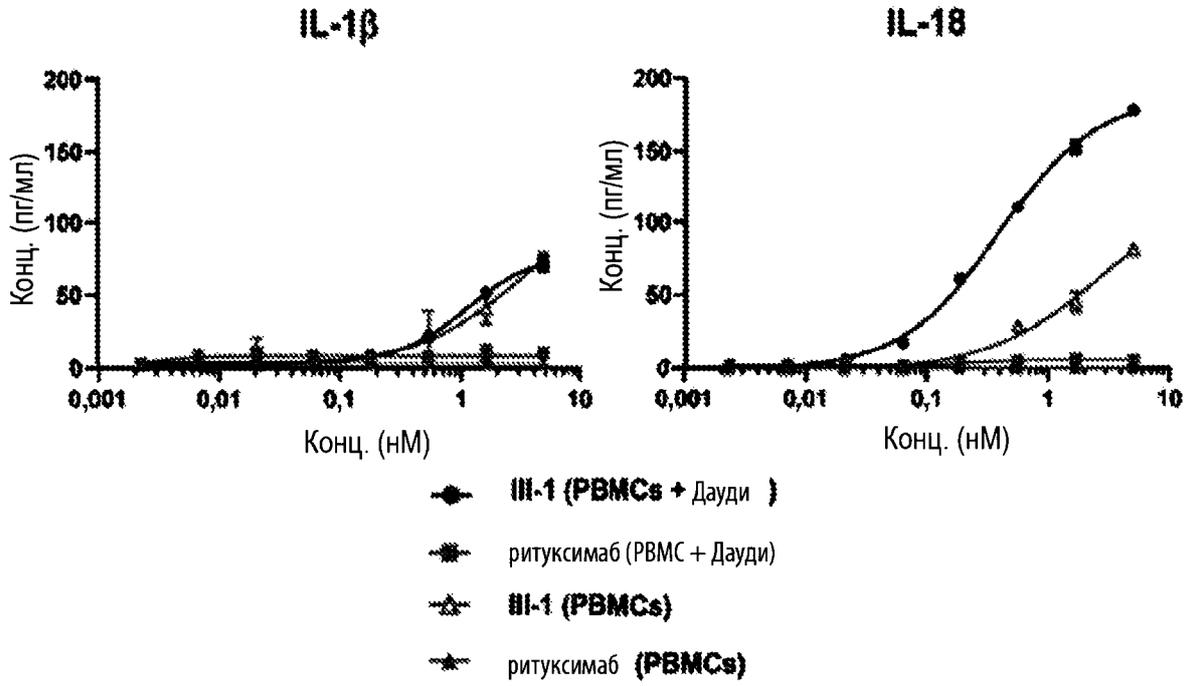
Фиг. 31А.2



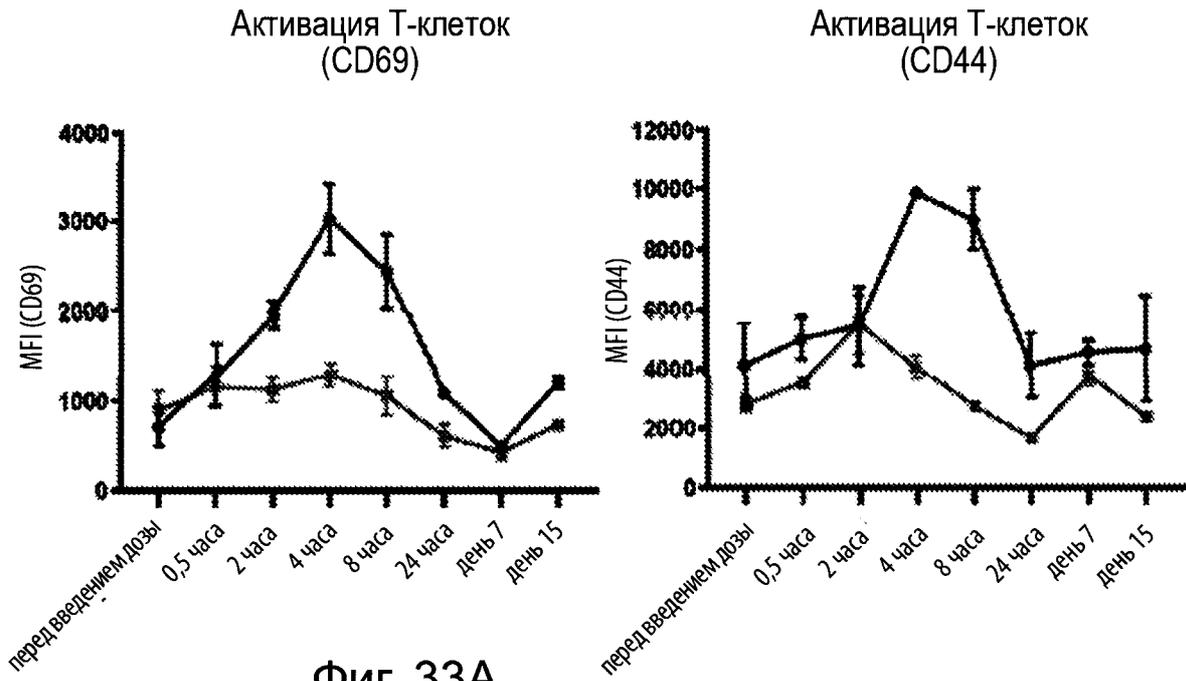
Фиг. 31В



Фиг. 32



ФИГ. 32 (продолжение)



ФИГ. 33А

