

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 046742

(13) B1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2024.04.17

(51) Int. Cl. *A61K 47/68* (2017.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

(21) Номер заявки  
202191131

(22) Дата подачи заявки  
2019.10.25

(54) КОНЬЮГАТЫ АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО, СОДЕЖАЩИЕ  
ПРОИЗВОДНЫЕ ЭКТЕИНАСЦИДИНА

(31) 18382759.1

(32) 2018.10.25

(33) EP

(43) 2021.10.15

(86) PCT/EP2019/079188

(87) WO 2020/084115 2020.04.30

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
ФАРМА МАР, С.А. (ES)

(72) Изобретатель:  
Куэвас Марчанте Мария дель Кармен,  
Франсесч Сольосо Андрес, Латорре  
Лосано Альфонсо, Мартинес Барраса  
Валентин (ES)

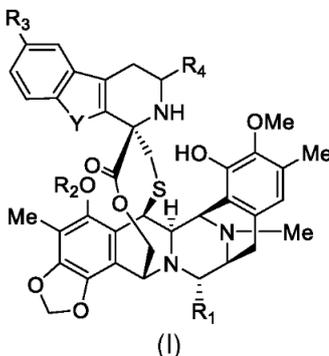
(74) Представитель:  
Медведев В.Н. (RU)

(56) DAN N ET AL.: "Antibody-Drug  
Conjugates for Cancer Therapy: Chemistry to Clinical  
Implications", PHARMACEUTICALS, vol. 11, no. 2,  
9 April 2018 (2018-04-09), page 32, XP55661009,  
DOI: 10.3390/ph11020032, the whole document  
WO-A1-03014127

LEAL JFM ET AL.: "PM01183, a new  
DNA minor groove covalent binder with potent in  
vitro and in vivo anti-tumour activity", BRITISH  
JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol. 161, no.  
5, 2 July 2010 (2010-07-02), pages 1099-1110,  
XP55013260, ISSN: 0007-1188, DOI:10.1111/  
j.1476-5381.2010.00945.xabstract

CALVO E ET AL.: "Antitumor activity  
of lurbinectin (PM01183) and doxorubicin in  
relapsed small-cell lung cancer: results from a  
phase I study", ANNALS OF ONCOLOGY, vol.  
28, no. 10, 1 October 2017 (2017-10-01), pages  
2559-2566, XP55659981, NL ISSN: 0923-7534,  
DOI:10.1093/annonc/mdx357abstract  
EP-A1-3395820

(57) Конъюгаты лекарственного средства имеют формулу  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n$ -Ab, где: D является группой лекарственного средства, имеющей следующую формулу (I), или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером,



где D ковалентно присоединен через гидрокси- или аминогруппу к  $(X)_b$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(T)_g$ , если имеется, или  $(L)$ ; которые применяют при лечении рака.

B1

046742

046742

B1

### Область техники

Настоящее изобретение относится к новым конъюгатам лекарственного средства, линкерным соединениям для лекарственного средства, к способам их получения, фармацевтическим композициям, содержащим такие конъюгаты лекарственных средств и их применению в качестве противоопухолевых агентов.

### Уровень техники

Международная заявка на патент номер PCT/EP2018/060868 относится к новым производным эктеинасцидина, которые демонстрируют очень многообещающую противоопухолевую активность. Одно из соединений, описанных в этой заявке на патент, в настоящее время проходит I фазу клинических испытаний для профилактики и лечения солидных опухолей.

В последние годы лечение рака значительно продвинулось благодаря разработке фармацевтических препаратов, которые более эффективно таргетно поражают и убивают раковые клетки. Исследователи использовали возможности рецепторов клеточной поверхности и антигенов, избирательно экспрессируемых клетками-мишенями, такими как раковые клетки, для разработки фармацевтических веществ на основе антител, которые связывают, на примере опухолей, опухолеспецифические или опухолеассоциированные антигены. Для достижения этого цитотоксические молекулы, такие как химиотерапевтические лекарственные средства, бактерии и растительные токсины, и радионуклиды, были химически связаны с моноклональными антителами, которые связывают опухолеспецифические или опухолеассоциированные антигены клеточной поверхности.

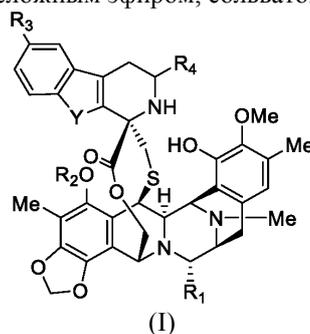
Таким образом, ADC представляют собой многообещающую область развития, учитывая комплексную полезную нагрузку, структуру линкера и антитела, но остается потребность в разработке других ADC.

### Сущность изобретения

Существует потребность в новых активных конъюгатах лекарственных средств. Настоящее изобретение удовлетворяет эту потребность. Кроме того, оно представляет новые линкерные соединения лекарственных средств для использования при получении конъюгатов лекарственных средств настоящего изобретения, способы получения новых конъюгатов лекарственных средств настоящего изобретения, фармацевтические композиции, содержащие указанные конъюгаты лекарственных средств, и их применение в качестве противоопухолевых агентов, а также набор, содержащий конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению для использования при лечении рака.

В первом аспекте настоящего изобретения представлен конъюгат лекарственного средства, содержащий группу лекарственного средства, ковалентно присоединенную к остатку конъюгата лекарственного средства, где конъюгат лекарственного средства имеет формулу  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n$ -Ab, где:

D является группой лекарственного средства, имеющей следующую формулу (I) или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером,



где: D ковалентно присоединен через гидрокси- или аминогруппу к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (L);

Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из водорода, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для amino,

с необязательным условием, что если R<sub>4</sub> является водородом, то Y является -O-;

X и T являются удлиняющими группами, которые могут быть одинаковыми или разными;

каждый AA независимо является аминокислотной единицей;

L является линкерной группой;

w является целым числом от 0 до 12;

b является целым числом 0 или 1;

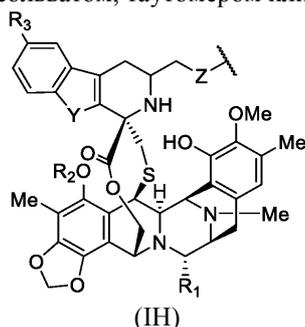
g является целым числом 0 или 1;

Ab является группой, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт; и

n является отношением группы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]$  к группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым числом от 1 до 20.

В другом аспекте настоящего изобретения представлен конъюгат лекарственного средства, содержащий группу лекарственного средства, ковалентно присоединенную к остатку конъюгата лекарственного средства, где соединение имеет формулу  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]_n-Ab$ , где:

D является группой лекарственного средства, имеющей формулу (II) или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером,



(II)

где: волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к  $(X)_b$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(T)_g$ , если имеется, или к  $(L)$ ;

каждый из Y и Z независимо выбирают из -NH- и -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила, где необязательными заместителями являются один или несколько заместителей R<sub>x</sub>;

R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила, где необязательными заместителями являются один или несколько заместителей R<sub>x</sub>;

заместители R<sub>x</sub> выбирают из группы, состоящей из C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкильных групп, которые могут быть необязательно замещены, по меньшей мере, одной группой R<sub>y</sub>, C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенильных групп, которые могут быть необязательно замещены, по меньшей мере, одной группой R<sub>y</sub>, C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинильных групп, которые могут быть необязательно замещены, по меньшей мере, одной группой R<sub>y</sub>, атомами галогена, оксогруппами, тиогруппами, цианогруппами, нитрогруппами, OR<sub>y</sub>, OCOR<sub>y</sub>, OCOOR<sub>y</sub>, COR<sub>y</sub>, COOR<sub>y</sub>, OCONR<sub>y</sub>R<sub>z</sub>, CONR<sub>y</sub>R<sub>z</sub>, S(O)R<sub>y</sub>, SO<sub>2</sub>R<sub>y</sub>, P(O)(R<sub>y</sub>)OR<sub>z</sub>, NR<sub>y</sub>R<sub>z</sub>, NR<sub>y</sub>COR<sub>z</sub>, NR<sub>y</sub>C(=O)NR<sub>y</sub>R<sub>z</sub>, NR<sub>y</sub>C(=NR<sub>y</sub>)NR<sub>y</sub>R<sub>z</sub>, арильными группами, имеющими от 6 до 18 атомов углерода в одном или нескольких кольцах, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями, которые могут быть одинаковыми или разными, выбранными из группы, состоящей из R<sub>y</sub>, OR<sub>y</sub>, OCOR<sub>y</sub>, OCOOR<sub>y</sub>, NR<sub>y</sub>R<sub>z</sub>, NR<sub>y</sub>COR<sub>z</sub> и NR<sub>y</sub>C(=NR<sub>y</sub>)NR<sub>y</sub>R<sub>z</sub>, аралкильными группами, содержащими алкильную группу, имеющую от 1 до 12 атомов углерода, замещенную необязательно замещенной арильной группой, как определено выше, аралкилоксигруппами, содержащими алкоксигруппу, имеющую от 1 до 12 атомов углерода, замещенную необязательно замещенной арильной группой, как определено выше, и 5-14-членную насыщенную или ненасыщенную гетероциклическую группу, имеющую одно или несколько колец и содержащую, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная гетероциклическая группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>y</sub>, и где имеется более одного необязательных заместителей на любой указанной группе, где необязательные заместители R<sub>y</sub> могут быть одинаковыми или разными;

каждый R<sub>y</sub> и R<sub>z</sub> независимо выбирают из группы, состоящей из водорода, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкильных групп, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкильных групп, которые замещены, по меньшей мере, одним атомом галогена, аралкильными группами, содержащими C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкильную группу, которая замещена арильной группой, имеющей от 6 до 18 атомов углерода в одном или нескольких кольцах, и гетероциклоалкильных групп, содержащих C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкильную группу, которая замещена 5-14-членной насыщенной или ненасыщенной гетероциклической группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах;

X и T являются удлиняющими группами, которые могут быть одинаковыми или разными;

каждый AA независимо является аминокислотной единицей;

L является линкерной группой;

w является целым числом от 0 до 12;

b является целым числом 0 или 1;

g является целым числом 0 или 1;

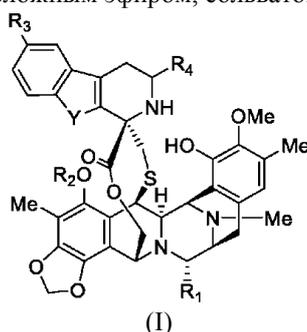
где  $b+g+w$  необязательно не равно 0;

Ab является группой, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт; и

n является отношением группы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]$  к группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым числом от 1 до 20.

В другом аспекте настоящего изобретения представлен конъюгат лекарственного средства, содержащий группу лекарственного средства, ковалентно присоединенную к остатку конъюгата лекарственного средства, где конъюгат лекарственного средства имеет формулу  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]_n-Ab$ , где:

D является группой лекарственного средства, имеющей следующую формулу (I) или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером,



где: D ковалентно присоединен через гидроксид- или аминогруппу к  $(X)_b$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(T)_g$ , если имеется, или (L);

Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из водорода, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина, с необязательным условием, что если R<sub>4</sub> является водородом, то Y является -O-;

X и T являются удлиняющими группами, которые могут быть одинаковыми или разными;

каждый AA независимо является аминокислотной единицей;

L является линкерной группой;

w является целым числом от 0 до 12;

b равен 1;

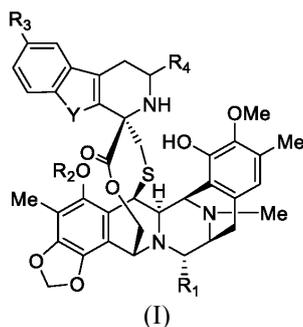
g является целым числом 0 или 1;

Ab является группой, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт; и

n является отношением группы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]$  к группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым числом от 1 до 20.

В другом аспекте настоящего изобретения представлен конъюгат лекарственного средства, содержащий группу лекарственного средства, ковалентно присоединенную к остатку конъюгата лекарственного средства, где конъюгат лекарственного средства имеет формулу  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]_n-Ab$ , где:

D является группой лекарственного средства, имеющей следующую формулу (I) или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером,



где: D ковалентно присоединен через гидрокси- или аминогруппу к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (L);

Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из водорода, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для amino, с необязательным условием, что если R<sub>4</sub> является водородом, то Y является -O-;

X и T являются удлинителями группами, которые могут быть одинаковыми или разными;

каждый AA независимо является аминокислотной единицей;

L является линкерной группой;

w равен 2;

b равен 1;

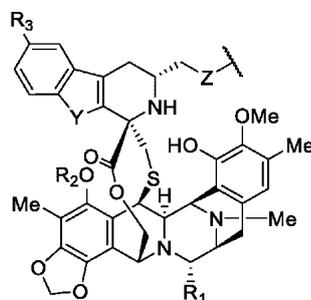
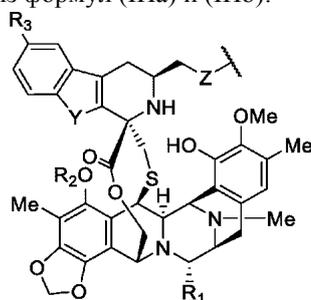
g является целым числом 0 или 1;

Ab является группой, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт; и

n является отношением группы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub> к группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым числом от 1 до 20.

Как будет более подробно объясняться и показываться на примерах ниже, конъюгаты лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab настоящего изобретения представляют прорыв в решении проблем, описанных выше, относящихся к потребности в других конъюгатах лекарственного средства в дополнение к тем, которые основаны на трех основных семействах цитотоксических лекарственных средств, которые применяют в качестве полезных нагрузок в настоящее время, которые показывают превосходную противоопухолевую активность.

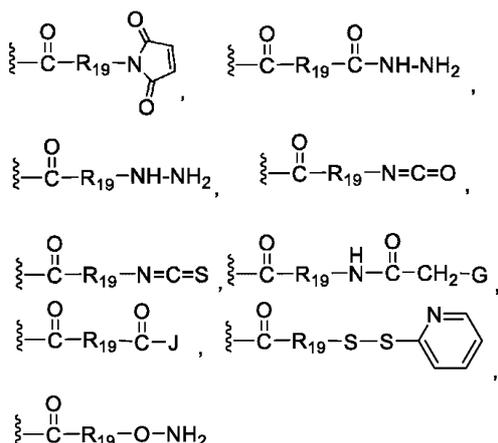
В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения, представлен конъюгат лекарственного средства, как определено в настоящем документе или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер, где D является группой лекарственного средства, выбранной из формул (IHa) и (IHb):



где волнистые линии, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, Y и Z такие, как определены для формулы (I).

В другом аспекте настоящего изобретения, представлено соединение формулы D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-L<sub>1</sub> или формулы D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-H, где:

L<sub>1</sub> является линкером, выбранным из группы формул, состоящей из:



каждая из волнистых линий указывает точку ковалентного присоединения к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или к D;

G выбирают из галогена, -O-мезила и -O-тозила;

J выбирают из галогена, гидроксид, -N-сукцинимидокси, -O-(4-нитрофенила), -O-пентафторфенила, -O-тетрафторфенила и -O-C(O)-OR<sub>20</sub>;

R<sub>19</sub> выбирают из -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, -C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> карбоцикло-, -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена), -C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> арилена в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилен-C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> арилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> арилен-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилен-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> карбоцикло)-, -(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> карбоцикло)-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, -C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub> гетероцикло-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилен-(C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub> гетероцикло)-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -(C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub> гетероцикло)-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>- и -CH<sub>2</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-, где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенные в другой группе углеродной цепи, может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>;

R<sub>20</sub> является C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкильной или арильной группой, имеющей от 6 до 18 атомов углерода в одном или нескольких ароматических кольцах, где указанные арильные группы необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>;

г является целым числом от 1-10;

g является целым числом 0 или 1;

b является целым числом 0 или 1;

w является целым числом от 0 до 12; и

каждый из D, R<sub>x</sub>, X, T и AA такой, как определены в первом аспекте изобретения.

В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения, b+g+w не равно 0. В других вариантах осуществления, b+w не равно 0. В еще дополнительных вариантах осуществления, если w не равен 0, то b равен 1. В дополнительном варианте осуществления, если w равен 0, то b равен 1.

В другом аспекте настоящего изобретения, представлено соединение формулы D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-L<sub>1</sub> или формулы D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-H или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер; где каждый из D, X, AA, T, L<sub>1</sub>, b, g и w такой, как определен в настоящем документе; но дополнительно, где если соединением является соединение формулы D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-H, то b+w+g≠0.

В предпочтительном варианте осуществления согласно аспектам настоящего изобретения, p является отношением группы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)-] к группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт и является целым числом от 1 до 20. В других вариантах осуществления, p находится в интервале от 1-12, 1-8, 3-8, 3-6, 3-5 или равен 1, 2, 3, 4, 5 или 6, предпочтительно, 3, 4 или 5 или 4.

В другом аспекте настоящего изобретения, представлена группа лекарственного средства D для

применения в конъюгате антитело-лекарственное средство. В другом аспекте настоящего изобретения, представлена группа лекарственного средства D для применения в качестве полезной нагрузки в конъюгате антитело-лекарственное средство. В другом аспекте настоящего изобретения, представлено применение группы лекарственного средства D, как описано в настоящем документе, в производстве конъюгата антитело-лекарственное средство.

В другом аспекте настоящего изобретения, представлен конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению, для применения в качестве лекарственного средства.

В другом аспекте настоящего изобретения, представлен конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению для применения в лечении рака, и более предпочтительно, рака, выбранного из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоз, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников. Наиболее предпочтительным раком является рак груди.

В другом аспекте настоящего изобретения, представлена фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте настоящего изобретения, представлен способ профилактики или лечения рака, включающий введение эффективного количества конъюгата лекарственного средства по настоящему изобретению пациенту, нуждающемуся в этом. Предпочтительно, рак выбирают из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоза, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников. Наиболее предпочтительным раком является рак груди.

В другом аспекте настоящего изобретения, представлено применение конъюгата лекарственного средства по настоящему изобретению в получении лекарственного средства для лечения рака, и более предпочтительно, рака, выбранного из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоза, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников. Наиболее предпочтительным раком является рак груди.

В другом аспекте настоящего изобретения, представлен набор, содержащий терапевтически эффективное количество конъюгата лекарственного средства по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. Набор предназначен для применения в лечении рака, и более предпочтительно, рака, выбранного из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоза, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников. Наиболее предпочтительным раком является рак груди. Набор по настоящему изобретению может содержать терапевтически эффективного количества конъюгата лекарственного средства по настоящему изобретению и, необязательно, инструкции по применению конъюгата лекарственного средства в лечении рака, в частности, рака, выбранного из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоза, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников; наиболее предпочтительно, для применения конъюгата лекарственного средства в лечении рака груди.

В другом аспекте настоящего изобретения представлен способ получения конъюгата лекарственного средства по настоящему изобретению, включающий конъюгирование группы Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и лекарственного средства D, где Ab и D такие, как определено в настоящем документе.

#### **Подробное описание предпочтительных вариантов осуществления**

Следующее применяется ко всем аспектам настоящего изобретения.

В соединениях настоящего изобретения алкильные группы могут быть разветвленными или неразветвленными и предпочтительно имеют от 1 до примерно 12 атомов углерода. Еще один предпочтительный класс алкильных групп имеет от 1 до примерно 6 атомов углерода. Еще более предпочтительными являются алкильные группы, имеющие 1, 2, 3 или 4 атома углерода. Метил, этил, н-пропил, изопропил и бутил, включая н-бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил, являются особенно предпочтительными алкильными группами в соединениях настоящего изобретения.

В соединениях настоящего изобретения алкенильные группы могут быть разветвленными или неразветвленными, имеют одну или несколько двойных связей и от 2 до примерно 12 атомов углерода. Еще один предпочтительный класс алкенильных групп имеет от 2 до примерно 6 атомов углерода. Еще более предпочтительны алкенильные группы, имеющие 2, 3 или 4 атома углерода. Этенил, 1-пропенил, 2-пропенил, 1-метилэтенил, 1-бутенил, 2-бутенил и 3-бутенил являются особенно предпочтительными алкенильными группами в соединениях по настоящему изобретению.

В соединениях настоящего изобретения алкинильные группы могут быть разветвленными или неразветвленными, имеют одну или несколько тройных связей и от 2 до примерно 12 атомов углерода. Еще один предпочтительный класс алкинильных групп имеет от 2 до примерно 6 атомов углерода. Еще более предпочтительны алкинильные группы, имеющие 2, 3 или 4 атома углерода.

Подходящие арильные группы соединений по настоящему изобретению включают соединения с одним и несколькими кольцами, включая соединения с несколькими кольцами, которые содержат

отдельные и/или конденсированные арильные группы. Типовые арильные группы имеют от 1 до 3 отдельных и/или конденсированных колец и от 6 до примерно 18 атомов углерода. Предпочтительно, арильные группы содержат от 6 до примерно 10 кольцевых атомов углерода. Особенно предпочтительные арильные группы включают замещенный или незамещенный фенил, замещенный или незамещенный нафтил, замещенный или незамещенный бифенил, замещенный или незамещенный фенантрин и замещенный или незамещенный антрин.

Подходящие гетероциклические группы включают гетероароматические и гетероалициклические группы, содержащие от 1 до 3 отдельных и/или конденсированных колец и от 5 до примерно 18 кольцевых атомов. Предпочтительно, гетероароматические и гетероалициклические группы содержат от 5 до примерно 10 кольцевых атомов, наиболее предпочтительно 5, 6 или 7 кольцевых атомов. Подходящие гетероароматические группы в соединениях настоящего изобретения содержат один, два или три гетероатома, выбранных из атомов N, O или S, и включают, например, кумаринил, включая 8-кумаринил, хинолил, включая 8-хинолил, изохинолил, пиридил, пирозинил, пиразолил, пиримидинил, фурил, пирролил, тиенил, тиазолил, изотиазолил, триазолил, тетразолил, изоксазолил, оксазолил, имидазолил, индолил, изоиндолил, индазолил, индолизинил, фталазинил, птеридил, пуринил, оксадиазолил, тиадиазолил, фуразанил, пиридазинил, триазинил, циннолинил, бензимидазолил, бензофуранил, бензофуразанил, бензотиофенил, бензотиазолил, бензоксазолил, хиназолинил, хиноксалинил, нафтиридинил и фуропиридил. Подходящие гетероалициклические группы в соединениях настоящего изобретения содержат один, два или три гетероатома, выбранных из N, O или S, и включают, например, пирролидинил, тетрагидрофуранил, тетрагидротиенил, тетрагидротиопиранил, пиперидил, морфолинил, тиоморфолинил, тиоксанил, пиперазинил, азетидинил, оксетанил, тиетанил, гомопиперидил, оксепанил, тиепанил, оксазепинил, диазепинил, тиазепинил, 1,2,3,6-тетрагидропиридил, 2-пирролинил, 3-пирролинил, индолинил, 2H-пиранил, 4H-пиранил, диоксанил, 1,3-диоксоланил, пиразолинил, дитианил, дитиоланил, дигидропиранил, дигидротиенил, дигидрофуранил, пиразолидинил, имидазолинил, имидазолидинил, 3-азабицикло[3.1.0]гексил, 3-азабицикло[4.1.0]гептил, 3H-индолил и хинолизинил.

Вышеупомянутые группы могут быть замещены в одном или нескольких доступных положениях одной или несколькими подходящими группами, такими как OR', =O, SR', SOR', SO<sub>2</sub>R', NO<sub>2</sub>, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', N(COR')<sub>2</sub>, NHSO<sub>2</sub>R', NR'C(=NR')NR'R', CN, галоген, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', защищенная OH, защищенная амина, защищенная SH, замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкил, замещенный или незамещенный C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенил, замещенный или незамещенный C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждую из R' групп независимо выбирают из группы, состоящей из водорода, OH, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, SH, CN, галогена, COH, COалкила, CO<sub>2</sub>H, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Если такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Кроме того, если на заместителе имеется более одной группы R', каждый R' может быть одинаковым или разным.

В соединениях для настоящего изобретения, галогеновые заместители включают F, Cl, Br и I.

Более конкретно, в соединениях настоящего изобретения, алкильные группы в определениях R<sub>20</sub>, R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>x</sub>, R<sub>y</sub> и R<sub>z</sub> могут быть прямыми или разветвленными алкильными группами, имеющими от 1 до 12 атомов углерода, и они предпочтительно являются алкильной группой, имеющей от 1 до 6 атомов углерода, более предпочтительно, метильной группой, этильной группой или изопропильной группой, и наиболее предпочтительно, метильной группой. В определениях M и Q они могут быть прямыми или разветвленными алкильными группами, имеющими от 1 до 6 атомов углерода. Метил, этил, n-пропил, изопропил и бутил, включая n-бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил, являются особенно предпочтительными алкильными группами в соединениях настоящего изобретения.

В соединениях настоящего изобретения, алкенильные группы определениях R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub> и R<sub>x</sub> являются разветвленными или неразветвленными и могут иметь одну или несколько двойных связей и от 2 до 12 атомов углерода. Предпочтительно, они имеют от 2 до 6 атомов углерода, более предпочтительно, они являются разветвленными или неразветвленными алкенильными группами, содержащими 2, 3 или 4 атомов углерода. Этенил, 1-пропенил, 2-пропенил, 1-метилэтенил, 1-бутенил, 2-бутенил и 3-бутенил являются особенно предпочтительными алкенильными группами в соединениях настоящего изобретения.

В соединениях настоящего изобретения, алкинильные группы определениях R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub> и R<sub>x</sub> являются разветвленными или неразветвленными и могут иметь одну или несколько тройных связей и от 2 до 12 атомов углерода. Предпочтительно, они имеют от 2 до 6 атомов углерода, более предпочтительно, они являются разветвленными или неразветвленными алкинильными группами, содержащими 2, 3 или 4 атомов углерода.

В соединениях настоящего изобретения, галогеновые заместители в определениях R<sub>x</sub>, R<sub>y</sub> и R<sub>z</sub> включают F, Cl, Br и I, предпочтительно, Cl.

В соединениях настоящего изобретения, 5-14-членной насыщенной или ненасыщенной гетероциклической группой в определениях  $R_x$  является гетероциклическая группа, имеющая одно или несколько колец, содержащих, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах. Гетероциклической группой является группа, которая может быть гетероароматической группой или гетероалициклической группой, последняя из которых может быть частично ненасыщенной, где и ароматическая, и алициклическая гетероциклическая группа содержит от 1 до 3 отдельных или конденсированных колец. Предпочтительно, гетероароматическая и гетероалициклическая группа содержат от 5 до 10 кольцевых атомов. Подходящие гетероароматические группы в соединениях настоящего изобретения содержат один, два или три гетероатома, выбранных из атомов N, O и S, и включают, например, хинолил, включая 8-хинолил, изохинолил, кумаринил, включая 8-кумаринил, пиридил, пирозинил, пирозолил, пиримидинил, фурил, пирролил, тиенил, тиазолил, изотиазолил, триазолил, тетразолил, изоксазолил, оксазолил, имидазолил, индолил, изоиндолил, индазолил, индолизинил, фталазинил, птеридинил, пуридил, оксадиазолил, тиадиазолил, фуразанил, пиридазинил, триазинил, циннолинил, бензимидазолил, бензофуранил, бензофуразанил, бензотиофенил, бензотиазолил, бензоксазолил, хиназолинил, хиноксалинил, нафтиридинил и фуропиридил. Подходящие гетероалициклические группы в соединениях настоящего изобретения содержат один, два или три гетероатома, выбранных из атомов N, O и S, и включают, например, пирролидинил, тетрагидрофуранил, дигидрофуранил, тетрагидротиенил, тетрагидротиопиранил, пиперидил, морфолинил, тиоморфолинил, тиоксанил, пиперазинил, азетидинил, оксетанил, тиетанил, гомопиперидил, оксепанил, тиепанил, оксазепинил, диазепинил, тиазепинил, 1,2,3,6-тетрагидропиридил, 2-пирролинил, 3-пирролинил, индолинил, 2Н-пиранил, 4Н-пиранил, диоксанил, 1,3-диоксоланил, пиразолинил, дитианил, дитиоланил, дигидропиранил, дигидротиенил, дигидрофуранил, пиразолидинил, имидазолинил, имидазолидинил, 3-азабицикло[3.1.0]гексил, 3-азабицикло[4.1.0]гептил, 3Н-индолил и хинолизинил.

В соединениях настоящего изобретения, арильная группа в определении  $R_x$  и  $R_{20}$  является одинарным или множественным кольцевым соединением, которое содержит отдельные и/или конденсированные арильные группы и имеет от 6 до 18 кольцевых атомов и необязательно является замещенным. Типовые арильные группы содержат от 1 до 3 отдельных или конденсированных колец. Предпочтительно, арильные группы содержат от 6 до 12 кольцевых атомов углерода. Особенно предпочтительные арильные группы включают замещенный или незамещенный фенил, замещенный или незамещенный нафтил, замещенный или незамещенный бифенил, замещенный или незамещенный фенантринил и замещенный или незамещенный антринил, и наиболее предпочтительно, замещенный или незамещенный фенил, где заместители такие, как указаны выше.

В соединениях настоящего изобретения, аралкильные группы в определениях  $R_x$ ,  $R_y$  и  $R_z$  содержат алкильную группу, как определено и представлено примерами выше, которые замещены одной или несколькими арильными группами, как определено и представлено примерами выше. Предпочтительные примеры включают необязательно замещенный бензил, необязательно замещенный фенилэтил и необязательно замещенный нафтилметил.

В соединениях настоящего изобретения, аралкилокси группы в определениях  $R_x$  содержат алкокси группу, имеющую от 1 до 12 атомов углерода, которые замещены одной или несколькими арильными группами, как определено и представлено примерами выше. Предпочтительно, алкокси группа имеет от 1 до 6 атомов углерода, и арильная группа содержит от 6 до примерно 12 кольцевых атомов углерода, и наиболее предпочтительно, аралкилокси группой является необязательно замещенная бензилокси, необязательно замещенная фенилэтокси и необязательно замещенная нафтилметокси.

В соединениях настоящего изобретения, гетероциклоалкильные группы в определениях  $R_y$  и  $R_z$  содержат алкильную группу, как определено и представлено примерами выше, которая замещена одной или несколькими гетероциклильными группами, как определено и представлено примерами выше. Предпочтительно, гетероциклоалкильные группы содержат алкильную группу, имеющую от 1 до 6 атомов углерода, которая замещена гетероциклильной группой, имеющей от 5 до 10 кольцевых атомов в 1 или 2 кольцевых атомах, и может быть ароматической, частично насыщенной или полностью насыщенной. Более предпочтительно, гетероциклоалкильные группы включают метильную или этильную группу, которая замещена гетероциклильной группой, выбранной из группы, состоящей из пирролидинила, имидазолидинила, пиперидинила, пиперазинила, морфолинила, тетрагидрофуранила, оксанила, тианила, 8-хинолила, изохинолила, пиридила, пиразинила, пиразолила, пиримидинила, фурила, пирролила, тиенила, тиазолила, изотиазолила, триазолила, тетразолила, изоксазолила, оксазолила и бензимидазола.

В соединениях настоящего изобретения, алкиленовые группы в определении  $R_{19}$  являются прямыми или разветвленными алкиленовыми группами, имеющими от 1 до 12 атомов углерода, и алкиленовые группы в определениях M, X, T и  $R_{30}$  являются прямыми или разветвленными алкиленовыми группами, имеющими от 1 до 6 атомов углерода. Предпочтительно, алкиленовые группы в определении  $R_{19}$  являются прямыми или разветвленными алкиленовыми группами, имеющими от 1 до 8 атомов углерода, более предпочтительно, прямыми или разветвленными алкиленовыми группами, имеющими от 1 до 6

атомов углерода. Для М предпочтительными являются прямые или разветвленные алкиленовые группы, имеющие от 1 до 3 атомов углерода. В определении Х алкиленовыми группами в определении Х являются, предпочтительно, прямые или разветвленные алкиленовые группы, имеющие от 2 до 4 атомов углерода. Для Т, предпочтительными являются прямые или разветвленные алкиленовые группы, имеющие от 2 до 4 атомов углерода. В определении R<sub>30</sub>, предпочтительными являются прямые или разветвленные алкиленовые группы, имеющие от 2 до 4 атомов углерода, наиболее предпочтительно, прямая алкиленовая группа, имеющая 3 атома углерода. Чтобы избежать сомнений, термин "алкилен" применяют для обозначения алкандиильных групп.

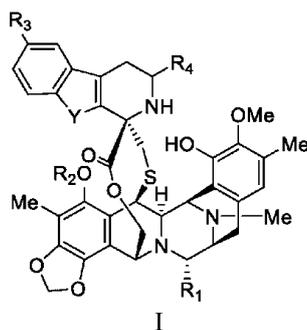
В соединениях настоящего изобретения, карбоциклогруппы в определениях R<sub>19</sub> и М являются циклоалкильными группами, имеющими от 3 до 8 атомов углерода, которые имеют две ковалентные связи в любом положении циклоалкильного кольца, соединяющие указанную циклоалкильную группу с остатком конъюгата лекарственного средства. Предпочтительно, карбоциклогруппы в определениях R<sub>19</sub> и М являются циклоалкильными группами, имеющими от 3 до 7 атомов углерода, и более предпочтительно, карбоциклогруппы, имеющие от 5 до 7 атомов углерода.

В соединениях настоящего изобретения, ариленовые группы в определении R<sub>19</sub> являются арильными группами, имеющими от 6 до 18 атомов углерода в одном или нескольких кольцах, которые имеют две ковалентные связи в любом положении на ароматической кольцевой системе, соединяющие указанные ариленовые группы с остатком конъюгата лекарственного средства. Предпочтительно, ариленовые группы в определении R<sub>19</sub> являются арильными группами, имеющими от 6 до 12 атомов углерода в одном или нескольких кольцах, которые имеют две ковалентные связи в любом положении на ароматической кольцевой системе, и наиболее предпочтительно, они являются фениленовыми группами.

В соединениях настоящего изобретения, гетероциклогруппы в определении R<sub>19</sub> являются гетероциклическими группами, содержащими от 1 до 3 отдельных или конденсированных колец, имеющих от 5 до 14 кольцевых атомов, и содержащих, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где имеется две ковалентные связи в любом положении кольцевой системы указанных гетероциклических групп. Гетероциклическими группами являются группы, которые могут быть гетероароматическими группами или гетероалициклическими группами (последние могут быть частично ненасыщены). Предпочтительно, гетероциклогруппы в определении R<sub>19</sub> являются гетероциклическими группами, содержащими от 1 до 3 отдельных или конденсированных колец, имеющих от 5 до 12 кольцевых атомов, и содержащими, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где имеются две ковалентные связи в любом положении на кольцевой системы указанных гетероциклических групп.

Если имеется, более одного необязательных заместителей R<sub>x</sub>, R<sub>y</sub> или R<sub>z</sub> на заместителе, каждый заместитель R<sub>x</sub> могут быть одинаковыми или разными, каждый заместитель R<sub>y</sub> могут быть одинаковыми или разными и каждый R<sub>z</sub> могут быть одинаковыми или разными.

В варианте осуществления, D может быть соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир:



где: Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из водорода, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

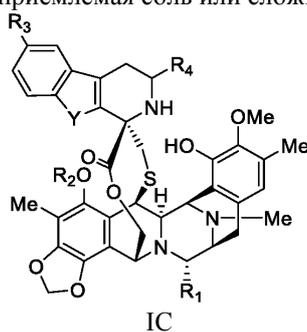
R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

В варианте осуществления, соединение формулы I имеет условие, что если R<sub>4</sub> является водородом, то Y является -O-.

В дополнительном варианте осуществления, соединением формулы I может быть соединение формулы IC или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир:



где: Y является -NH-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>O-(C=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

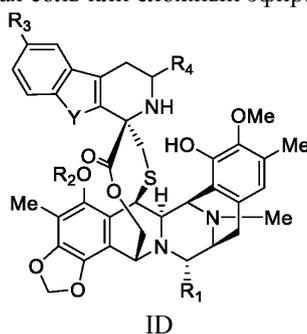
R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

В еще одном варианте осуществления, соединением формулы I может быть соединение формулы ID или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир:



где: Y является -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из водорода, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>O-(C=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

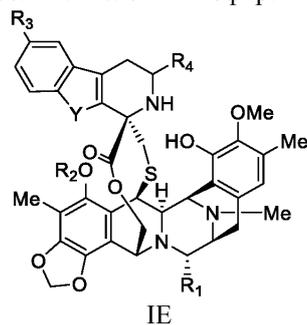
R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

В еще одном варианте осуществления, соединением формулы I может быть соединение формулы IE или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир:



где: Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

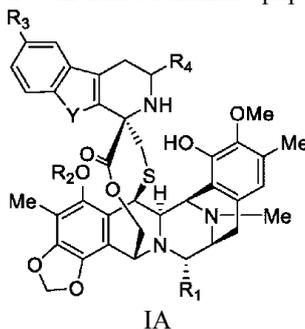
R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

В еще одном варианте осуществления, соединением формулы I может быть соединение формулы IA или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир:



IA

где: Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом;

R<sub>4</sub> выбирают из водорода, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>O-(C=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

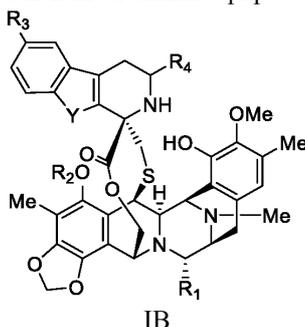
R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

В варианте осуществления, соединением формулы IA имеет условие, что если R<sub>4</sub> является водородом, то Y является -O-.

В еще одном варианте осуществления, соединением формулы I может быть соединение формулы IB или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир:



IB

где: Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из водорода, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>O-(C=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

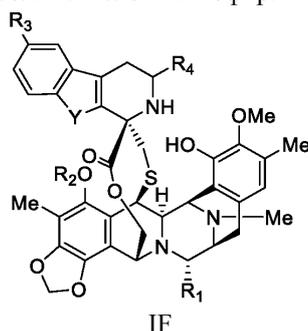
R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

В варианте осуществления, соединением формулы IB имеет условие, что если R<sub>4</sub> является водородом, то Y является -O-.

В еще одном варианте осуществления, соединением формулы I может быть соединение формулы IF или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир:



IF

где: Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из водорода, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

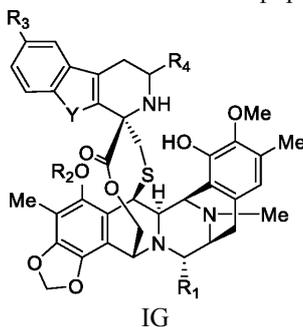
R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

В варианте осуществления, соединение формулы IF имеет условие, что если R<sub>4</sub> является водородом, то Y является -O-.

В еще одном варианте осуществления, соединением формулы I может быть соединение формулы IG или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир:



IG

где: Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является ацетилом;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из водорода, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

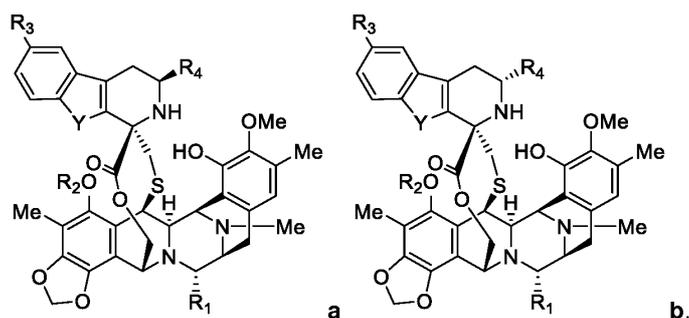
R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила;

R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина

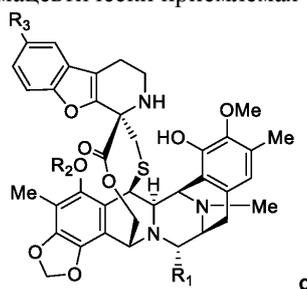
В варианте осуществления, соединение формулы IG имеет условие, что если R<sub>4</sub> является водородом, то Y является -O-.

Предпочтительными соединениями соединений формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF или IG являются такие, которые имеют общие формулы a или b или их фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир:



Необходимо отметить, что если соединения имеют общую формулу а или b, R<sub>4</sub> может не быть водородом.

Предпочтительными соединениями соединений формулы I, IA, IB, ID, IF или IG могут быть такие, которые имеют формулу с или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир:



где: R<sub>1</sub> является -ОН или -СN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода, замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила; и

R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкила, замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкенила и замещенного или незамещенного C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> алкинила.

Чтобы избежать сомнений, указанные выше соединения могут быть группами лекарственного средства D и ковалентно присоединены через гидроксильную или аминогруппу к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (L). Таким образом, при конъюгировании ковалентная связь заменяет протон на соединения гидроксильной- или аминогруппы.

Предпочтительные соединения включают соединения общей формулы I, IA, IB, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, IEb, IFb и IGb, где:

Y является -NH-;

и R<sub>1</sub>; R<sub>2</sub>; R<sub>3</sub>; R<sub>4</sub>; R<sub>a</sub>; R<sub>b</sub>; R<sub>c</sub>; и Prot<sup>NH</sup> такие, как определены выше.

Предпочтительные соединения включают соединения общей формулы I, IA, IB, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, IEb, IFb и IGb, где:

Y является -O-;

и R<sub>1</sub>; R<sub>2</sub>; R<sub>3</sub>; R<sub>4</sub>; R<sub>a</sub>; R<sub>b</sub>; R<sub>c</sub>; и Prot<sup>NH</sup> такие, как определены выше.

Другие предпочтительные соединения включают соединения общей формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb и IGb, где:

R<sub>1</sub> является -ОН;

и Y; R<sub>2</sub>; R<sub>3</sub>; R<sub>4</sub>; R<sub>a</sub>; R<sub>b</sub>; R<sub>c</sub>; и Prot<sup>NH</sup> такие, как определены выше.

Другие предпочтительные соединения включают соединения общей формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb и IFb, где:

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой, где R<sub>a</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом. Особенно предпочтительный R<sub>a</sub> выбирают из замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного n-пропила, замещенного или незамещенного изопропила, замещенного или незамещенного n-бутила, замещенного или незамещенного изобутила, замещенного или незамещенного втор-бутила и замещенного или незамещенного трет-бутила. Наиболее предпочтительно, R<sub>2</sub> является ацетилом;

и Y; R<sub>1</sub>; R<sub>3</sub>; R<sub>4</sub>; R<sub>b</sub>; R<sub>c</sub>; и Prot<sup>NH</sup> такие, как определены выше.

Другие предпочтительные соединения включают соединения общей формулы I, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb, где:

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы I, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, ICb, IDb, IEb, IFb или IGb; и R<sub>3</sub> является -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы IB, IBa или IBb; где R<sub>b</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом. Особенно предпочтительный R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила,

замещенного или незамещенного н-пропила, замещенного или незамещенного изопропила, замещенного или незамещенного н-бутила, замещенного или незамещенного изобутила, замещенного или незамещенного втор-бутила и замещенного или незамещенного трет-бутила. Более предпочтительным R<sub>3</sub> является водород и метокси, где водород является наиболее предпочтительной R<sub>3</sub> группой;

и Y; R<sub>1</sub>; R<sub>2</sub>; R<sub>4</sub>; R<sub>a</sub>; R<sub>c</sub>; и Prot<sup>NH</sup> такие, как определены выше.

Другие предпочтительные соединения включают соединения общей формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb, где:

R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup> для соединений формулы I, IA, IB, IC, ID, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IFb или IGb; и R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup> для соединений формулы IE, IEa или IEb; где R<sub>c</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом. Особенно предпочтительный R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного н-пропила, замещенного или незамещенного изопропила, замещенного или незамещенного н-бутила, замещенного или незамещенного изобутила, замещенного или незамещенного втор-бутила и замещенного или незамещенного трет-бутила. Наиболее предпочтительно, R<sub>c</sub> является метилом. Более предпочтительный R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>OH и -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>. Более предпочтительно, R<sub>4</sub> может быть -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>. Наиболее предпочтительно, R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>OH;

и Y; R<sub>1</sub>; R<sub>2</sub>; R<sub>3</sub>; R<sub>a</sub>; и R<sub>b</sub> такие, как определены выше.

Другие предпочтительные соединения включают соединения общей формулы I, IA, IB, IC, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IEb, IFb и IGb, где:

Y является -NH-;

R<sub>1</sub> является -OH;

и R<sub>2</sub>; R<sub>3</sub>; R<sub>4</sub>; R<sub>a</sub>; R<sub>b</sub>; R<sub>c</sub>; и Prot<sup>NH</sup> такие, как определены выше.

Другие предпочтительные соединения включают соединения общей формулы I, IA, IB, IC, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IEb, IFb и IGb, где:

Y является -NH-;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> для соединений формулы I, IA, IB, IC, IE, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IEa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IEb или IFb; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb; где R<sub>a</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом. Особенно предпочтительный R<sub>a</sub> выбирают из замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного н-пропила, замещенного или незамещенного изопропила, замещенного или незамещенного н-бутила, замещенного или незамещенного изобутила, замещенного или незамещенного втор-бутила и замещенного или незамещенного трет-бутила. Наиболее предпочтительно, R<sub>2</sub> является ацетилом;

и R<sub>1</sub>; R<sub>3</sub>; R<sub>4</sub>; R<sub>b</sub>; R<sub>c</sub>; и Prot<sup>NH</sup> такие, как определены выше.

Другие предпочтительные соединения включают соединения общей формулы I, IA, IB, IC, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IEb, IFb и IGb, где:

Y является -NH-;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы I, IC, IE, IF, IG, Ia, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, ICb, IEb, IFb или IGb; R<sub>3</sub> является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; и R<sub>3</sub> является -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы IB, IBa или IBb; где R<sub>b</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом. Особенно предпочтительный R<sub>b</sub> выбирают из замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного н-пропила, замещенного или незамещенного изопропила, замещенного или незамещенного н-бутила, замещенного или незамещенного изобутила, замещенного или незамещенного втор-бутила и замещенного или незамещенного трет-бутила. Более предпочтительный R<sub>3</sub> является водородом и метокси, где водород является наиболее предпочтительной R<sub>3</sub> группой;

и R<sub>1</sub>; R<sub>2</sub>; R<sub>4</sub>; R<sub>a</sub>; R<sub>c</sub>; и Prot<sup>NH</sup> такие, как определены выше.

Другие предпочтительные соединения включают соединения общей формулы I, IA, IB, IC, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IEb, IFb и IGb, где:

Y является -NH-;

R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sub>c</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup> для соединений формулы I, IA, IB, IC, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IFb или IGb; и R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup> для соединений формулы IE, IEa или IEb; где R<sub>c</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом. Особенно предпочтительный R<sub>c</sub> выбирают из замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного н-пропила, замещенного или незамещенного изопропила, замещенного или незамещенного н-бутила, замещенного или незамещенного изобутила, замещенного или незамещенного втор-бутила или замещенного или незамещенного трет-бутила. Наиболее предпочтительно, R<sub>c</sub> является метилом. Более предпочтительный R<sub>4</sub> выбирают из CH<sub>2</sub>OH и CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>. Более предпочтительно, R<sub>4</sub> может быть -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>. Наиболее предпочтительно, R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>OH;

и R<sub>1</sub>; R<sub>2</sub>; R<sub>3</sub>; R<sub>a</sub>; и R<sub>b</sub> такие, как определены выше.



















Следующие предпочтительные заместители (где позволено возможными группами заместителей) применяют для соединений формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb, Ic, IAc, IBc, IDc, IFc и IGc:

В соединениях настоящего изобретения, особенно предпочтительный  $R_1$  является -OH.

В соединениях настоящего изобретения, особенно предпочтительный  $R_2$  является  $-C(=O)R_a$  группой, где  $R_a$  является замещенным или незамещенным  $C_1$ - $C_6$  алкилом. Особенно предпочтительный  $R_a$  выбирают из замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *n*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила, замещенного или незамещенного *n*-бутила, замещенного или незамещенного изобутила, замещенного или незамещенного втор-бутила и замещенного или незамещенного трет-бутила. Наиболее предпочтительно,  $R_2$  является ацетилом.

В соединениях настоящего изобретения, особенно предпочтительный  $R_3$  является водородом или  $-OR_b$  группой, где  $R_b$  является замещенным или незамещенным  $C_1$ - $C_6$  алкилом. Особенно предпочтительный  $R_b$  выбирают из замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *n*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила, замещенного или незамещенного *n*-бутила, замещенного или незамещенного изобутила, замещенного или незамещенного втор-бутила и замещенного или незамещенного трет-бутила. Более предпочтительный  $R_3$  является водородом и метокси, где водород является наиболее предпочтительной  $R_3$  группой.

В соединениях настоящего изобретения, особенно предпочтительный  $R_4$  выбирают из H,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OC(=O)R_c$ ,  $-CH_2NH_2$  и  $-CH_2NHProt^{NH}$ , где  $R_c$  является замещенным или незамещенным  $C_1$ - $C_6$  алкилом. Особенно предпочтительный  $R_c$  выбирают из замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *n*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила, замещенного или незамещенного *n*-бутила, замещенного или незамещенного изобутила, замещенного или незамещенного втор-бутила и замещенного или незамещенного трет-бутила. Наиболее предпочтительно,  $R_c$  является метилом. Более предпочтительный  $R_4$  выбирают из H,  $CH_2OH$  и  $CH_2NH_2$ . Наиболее предпочтительно,  $R_4$  является  $-CH_2OH$ .

В соединениях общей формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb особенно предпочтительный  $R_4$  выбирают из  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OC(=O)R_c$ ,  $-CH_2NH_2$  и  $-CH_2NHProt^{NH}$  для соединений формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IFb или IGb; и  $R_4$  выбирают из  $-CH_2NH_2$  и  $-CH_2NHProt^{NH}$  для соединений формулы IE, IEa или IEb; где  $R_c$  является замещенным или незамещенным  $C_1$ - $C_6$  алкилом. Особенно предпочтительный  $R_c$  является замещенным или незамещенным метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *n*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила, замещенного или незамещенного *n*-бутила, замещенного или незамещенного изобутила, замещенного или незамещенного втор-бутила и замещенного или незамещенного трет-бутила. Наиболее предпочтительно,  $R_c$  является метилом. Более предпочтительный  $R_4$  выбирают из  $CH_2OH$  и  $CH_2NH_2$ . Наиболее предпочтительно,  $R_4$  является  $-CH_2OH$ .

Особенно предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, IGa, если  $R_4$  является  $-CH_2OH$  или  $-CH_2OC(=O)R_c$ , и соединения формулы Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb, если  $R_4$  является  $-CH_2NH_2$  или  $-CH_2NHProt^{NH}$ .

В соединениях настоящего изобретения, особенно предпочтительный Y является -NH-

Альтернативно, в соединениях настоящего изобретения, особенно предпочтительный Y является -O-

Предпочтительные соединения по настоящему изобретению включают.

Соединения формулы I, IA, IB, IC, ID, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IFb и IGb, где:

$R_4$  выбирают из  $-CH_2OH$  и  $-CH_2OC(=O)R_c$ ;

Особенно предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa и IGa и/или соединения, где  $R_4$  является  $-CH_2OH$ .

Соединения формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb, где

$R_4$  выбирают из  $-CH_2NH_2$  и  $-CH_2NHProt^{NH}$ , и

$Prot^{NH}$  является защитной группой для амина.

Особенно предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb и/или соединения, где  $R_4$  является  $-CH_2NH_2$ .

Соединения формулы Ic, IAc, IBc, IDc, IFc, IGc, где

$R_2$  является  $-C(=O)R_a$  группой для соединений формулы Ic, IAc, IBc, IDc или IFc; и  $R_2$  является ацетилом для соединений формулы IGc;

$R_3$  является водородом или  $-OR_b$  группой для соединений формулы Ic, IDc, IFc, IGc;  $R_3$  является водородом для соединений формулы IAc; или  $R_3$  является  $-OR_b$  группой для соединений формулы IBc;

$R_a$  выбирают из водорода и замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_6$  алкила; и

$R_b$  является замещенным или незамещенным  $C_1$ - $C_6$  алкилом.

Особенно предпочтительные соединения по настоящему изобретению включают:

Соединения формулы I, IA, IB, IC, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IFb и IGb, где Y является -NH-;

$R_4$  выбирают из - $CH_2OH$  и - $CH_2OC(=O)R_c$ ; и

$R_c$  выбирают из замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_{12}$  алкила, замещенного или незамещенного  $C_2$ - $C_{12}$  алкенила и замещенного или незамещенного  $C_2$ - $C_{12}$  алкинила.

Более предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, ICa, IFa, IGa и/или соединения, где  $R_4$  является - $CH_2OH$ .

Соединения формулы I, IA, IB, ID, IF, IG, Ia, IAa, IBa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, IDb, IFb и IGb, где Y является -O-;

$R_4$  выбирают из - $CH_2OH$  и - $CH_2OC(=O)R_c$ ; и

$R_c$  выбирают из замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_{12}$  алкила, замещенного или незамещенного  $C_2$ - $C_{12}$  алкенила и замещенного или незамещенного  $C_2$ - $C_{12}$  алкинила.

Более предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, IDa, IFa, IGa и/или соединения, где  $R_4$  является - $CH_2OH$ .

Соединения формулы I, IA, IB, IC, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IEb, IFb и IGb, где

Y является -NH-;

$R_4$  выбирают из - $CH_2NH_2$  и - $CH_2NHProt^{NH}$ ; и

$Prot^{NH}$  является защитной группой для амина.

Более предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IBb, ICb, IEb, IFb, IGb и/или соединения, где  $R_4$  является - $CH_2NH_2$ .

Соединения формулы I, IA, IB, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, IDb, IEb, IFb и IGb, где

Y является -O-;

$R_4$  выбирают из - $CH_2NH_2$  и - $CH_2NHProt^{NH}$ ; и

$Prot^{NH}$  является защитной группой для амина.

Более предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IBb, IDb, IEb, IFb, IGb и/или соединения, где  $R_4$  является - $CH_2NH_2$ .

Соединения формулы I, IA, IB, IC, ID, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IFb, IGb, где

$R_2$  является - $C(=O)R_a$  группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, ID, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb или IFb; и  $R_2$  является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

$R_3$  является водородом или - $OR_b$  группой для соединений формулы I, IC, ID, IF, IG, Ia, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, ICb, IDb, IFb или IGb;  $R_3$  является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или  $R_3$  является - $OR_b$  группой для соединений формулы IB, IBa или IBb;

$R_4$  выбирают из - $CH_2OH$  и - $CH_2OC(=O)R_c$ ;

$R_a$  выбирают из водорода и замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_6$  алкила;

$R_b$  является замещенным или незамещенным  $C_1$ - $C_6$  алкилом; и

$R_c$  является замещенным или незамещенным  $C_1$ - $C_6$  алкилом.

Более предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, IGa и/или соединения, где  $R_4$  является - $CH_2OH$ .

Соединения формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb, где

$R_2$  является - $C(=O)R_a$  группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, ID, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb или IFb; и  $R_2$  является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

$R_3$  является водородом или - $OR_b$  группой для соединений формулы I, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, ICb, IDb, IEb, IFb или IGb;  $R_3$  является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или  $R_3$  является - $OR_b$  группой для соединений формулы IB, IBa или IBb;

$R_4$  выбирают из - $CH_2NH_2$  и - $CH_2NHProt^{NH}$ ;

$R_a$  выбирают из водорода и замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_6$  алкила;

$R_b$  является замещенным или незамещенным  $C_1$ - $C_6$  алкилом; и

$Prot^{NH}$  является защитной группой для амина.

Более предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb и/или соединения, где  $R_4$  является - $CH_2NH_2$ .

Соединения формулы Ic, IAc, IBc, IDc, IFc, IGc, где

$R_2$  является - $C(=O)R_a$  группой для соединений формулы Ic, IAc, IBc, IDc или IFc; и  $R_2$  является ацетилом для соединений формулы IGc;

$R_3$  является водородом или - $OR_b$  группой для соединений формулы Ic, IDc, IFc, IGc;  $R_3$  является водородом для соединений формулы IAc; или  $R_3$  является - $OR_b$  группой для соединений формулы IBc;

$R_a$  является замещенным или незамещенным  $C_1$ - $C_6$  алкилом; и

R<sub>6</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом.

Более предпочтительные соединения по настоящему изобретению включают

Соединения формулы I, IA, IB, IC, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IFb и IGb, где Y является -NH-;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb или IFb; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы I, IC, IF, IG, Ia, ICa, IFa, IGa, Ib, ICb, IFb или IGb; R<sub>3</sub> является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или R<sub>3</sub> является -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы IB, IBa или IBb;

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>OH;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода и замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила; и

R<sub>b</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом.

Еще более предпочтительны соединения формулы Ia, IAa или IBa, ICa, IFa, IGa.

Соединения формулы I, IA, IB, ID, IF, IG, Ia, IAa, IBa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, IDb, IFb и IGb, где Y является -O-;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой для соединений формулы I, IA, IB, ID, IF, Ia, IAa, IBa, IDa, IFa, Ib, IAb, IBb, IDb или IFb; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы I, ID, IF, IG, Ia, IDa, IFa, IGa, Ib, IDb, IFb или IGb; R<sub>3</sub> является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или R<sub>3</sub> является -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы IB, IBa или IBb;

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>OH;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода и замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила; и

R<sub>b</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом.

Еще более предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, IDa, IFa или IGa.

Соединения формулы I, IA, IB, IC, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IEb, IFb и IGb, где

Y является -NH-;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, IE, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IEa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IEb или IFb; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы I, IC, IE, IF, IG, Ia, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, ICb, IEb, IFb или IGb; R<sub>3</sub> является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или R<sub>3</sub> является -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы IB, IBa или IBb;

R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода и замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила;

R<sub>b</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

Еще более предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IBb, ICb, IEb, IFb, IGb и/или соединения, где R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Соединения формулы I, IA, IB, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, IDb, IEb, IFb и IGb, где

Y является -O-;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой для соединений формулы I, IA, IB, ID, IE, IF, Ia, IAa, IBa, IDa, IEa, IFa, Ib, IAb, IBb, IDb, IEb или IFb; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы I, ID, IE, IF, IG, Ia, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IDb, IEb, IFb или IGb; R<sub>3</sub> является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или R<sub>3</sub> является -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы IB, IBa или IBb;

R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> выбирают из водорода и замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила;

R<sub>b</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

Еще более предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IBb, IDb, IEb, IFb, IGb и/или соединения, где R<sub>4</sub> является CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Соединения формулы I, IA, IB, IC, ID, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IFb и IGb, где

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, ID, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb или IFb; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы I, IC, ID, IF, IG, Ia, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, ICb, IDb, IFb или IGb; R<sub>3</sub> является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или R<sub>3</sub> является -OR<sub>b</sub> группой для соединений формулы IB, IBa или IBb;

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>OH;

R<sub>a</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом; и

R<sub>b</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом.

Еще более предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa или IGa.

Соединения формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb, где

$R_2$  является  $-C(=O)R_a$  группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb или IFb; и  $R_2$  является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

$R_3$  является водородом или  $-OR_b$  группой для соединений формулы I, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, ICb, IDb, IEb, IFb или IGb;  $R_3$  является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или  $R_3$  является  $-OR_b$  группой для соединений формулы IB, IBa или IBb;

$R_4$  выбирают из  $-CH_2NH_2$  и  $-CH_2NHProt^{NH}$ ;

$R_a$  является замещенным или незамещенным  $C_1-C_6$  алкилом;

$R_b$  является замещенным или незамещенным  $C_1-C_6$  алкилом; и

$Prot^{NH}$  является защитной группой для амина.

Еще более предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb и/или соединения, где  $R_4$  является  $-CH_2NH_2$ .

Соединения формулы I, IA, IB, IC, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IFb и IGb, где

Y является  $-NH-$ ;

$R_2$  является  $-C(=O)R_a$  группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb или IFb; и  $R_2$  является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

$R_3$  является водородом или  $-OR_b$  группой для соединений формулы I, IC, IF, IG, Ia, ICa, IFa, IGa, Ib, ICb, IFb или IGb;  $R_3$  является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или  $R_3$  является  $-OR_b$  группой для соединений формулы IB, IBa или IBb;

$R_4$  является  $-CH_2OC(=O)R_c$ ;

$R_a$  выбирают из водорода и замещенного или незамещенного  $C_1-C_6$  алкила;

$R_b$  является замещенным или незамещенным  $C_1-C_6$  алкилом; и

$R_c$  является замещенным или незамещенным  $C_1-C_6$  алкилом.

Более предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, ICa, IFa или IGa.

Соединения формулы Ic, IAc, IBc, IDc, IFc и IGc, где

$R_2$  является  $-C(=O)R_a$  группой для соединений формулы Ic, IAc, IBc, IDc или IFc; и  $R_2$  является ацетилом для соединений формулы IGc;

$R_3$  является водородом или метокси для соединений формулы Ic, IDc, IFc или IGc;  $R_3$  является водородом для соединений формулы IAc; или  $R_3$  является метокси для соединений формулы IBc; и

$R_a$  является замещенным или незамещенным  $C_1-C_6$  алкилом.

В частности, более предпочтительные соединения по настоящему изобретению включают:

Соединения формулы I, IA, IB, IC, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IFb и IGb, где Y является  $-NH-$ ;

$R_2$  является  $-C(=O)R_a$  группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb или IFb; и  $R_2$  является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

$R_3$  является водородом или метокси для соединений формулы I, IC, IF, IG, Ia, ICa, IFa, IGa, Ib, ICb, IFb или IGb;  $R_3$  является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; и  $R_3$  является метокси для соединений формулы IB, IBa или IBb;

$R_4$  является  $-CH_2OH$ ; и

$R_a$  является замещенным или незамещенным  $C_1-C_6$  алкилом.

Даже более предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, ICa, IFa, IGa.

Соединения формулы I, IA, IB, ID, IF, IG, Ia, IAa, IBa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, IDb, IFb и IGb, где

Y является  $-O-$ ;

$R_2$  является  $-C(=O)R_a$  группой для соединений формулы I, IA, IB, ID, IF, Ia, IAa, IBa, IDa, IFa, Ib, IAb, IBb, IDb или IFb; и  $R_2$  является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

$R_3$  является водородом или метокси для соединений формулы I, ID, IF, IG, Ia, IDa, IFa, IGa, Ib, IDb, IFb или IGb;  $R_3$  является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или  $R_3$  является метокси для соединений формулы IB, IBa или IBb;

$R_4$  является  $-CH_2OH$ ; и

$R_a$  является замещенным или незамещенным  $C_1-C_6$  алкилом.

Даже более предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, IDa, IEa, IFa, IGa.

Соединения формулы I, IA, IB, IC, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IEb, IFb и IGb, где

Y является  $-NH-$ ;

$R_2$  является  $-C(=O)R_a$  группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, IE, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IEa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IEb или IFb; и  $R_2$  является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

$R_3$  является водородом или метокси для соединений формулы I, IC, IE, IF, IG, Ia, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, ICb, IEb, IFb или IGb;  $R_3$  является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или  $R_3$  является метокси для соединений формулы IB, IBa или IBb;

R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

Даже более предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IBb, ICb, IEb, IFb, IGb и/или соединения, где R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Соединения формулы I, IA, IB, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, IDb, IEb, IFb и IGb, где

Y является -O-;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой для соединений формулы I, IA, IB, ID, IE, IF, Ia, IAa, IBa, IDa, IEa, IFa, Ib, IAb, IBb, IDb, IEb или IFb; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

R<sub>3</sub> является водородом или метокси для соединений формулы I, ID, IE, IF, IG, Ia, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IDb, IEb, IFb или IGb; R<sub>3</sub> является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или R<sub>3</sub> является метокси для соединений формулы IB, IBa или IBb;

R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> является замещенным или незамещенным C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилом; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

Даже более предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IBb, IDb, IEb, IFb, IGb и/или соединения, где R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Соединения формулы I, IA, IB, IC, ID, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IFb и IGb, где

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, ID, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb или IFb; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

R<sub>3</sub> является водородом или метокси для соединений формулы I, IC, ID, IF, IG, Ia, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, ICb, IDb, IFb и IGb; R<sub>3</sub> является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или R<sub>3</sub> является метокси для соединений формулы IB, IBa или IBb;

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>OH; и

R<sub>a</sub> выбирают из метила, этила, н-пропила, изопропила и бутила, включая н-бутил, втор-бутил, изобутил и трет-бутил.

Даже более предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa или IGa.

Соединения формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb, где

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой для соединений формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb или IFb; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IG, IGa или IGb;

R<sub>3</sub> является водородом или метокси для соединений формулы I, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb; R<sub>3</sub> является водородом для соединений формулы IA, IAa или IAb; или R<sub>3</sub> является метокси для соединений формулы IB, IBa или IBb;

R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> и -CH<sub>2</sub>NHProt<sup>NH</sup>;

R<sub>a</sub> выбирают из метила, этила, н-пропила, изопропила и бутила, включая н-бутил, втор-бутил, изобутил и трет-бутил; и

Prot<sup>NH</sup> является защитной группой для амина.

Даже более предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb и/или соединения, где R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Соединения формулы Ic или IAc, IDc, IFc и IGc где

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой для соединений формулы Ic, IAc, IDc или IFc; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IGc;

R<sub>3</sub> является водородом; и

R<sub>a</sub> выбирают из метила, этила, н-пропила, изопропила и бутила, включая н-бутил, втор-бутил, изобутил и трет-бутил.

Соединения формулы Ic, IBc, IDc, IFc и IGc, где

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой для соединений формулы Ic, IBc, IDc или IFc; и R<sub>2</sub> является ацетилом для соединений формулы IGc;

R<sub>3</sub> является метокси; и

R<sub>a</sub> выбирают из метила, этила, н-пропила, изопропила и бутила, включая н-бутил, втор-бутил, изобутил и трет-бутил.

Даже более предпочтительные соединения по настоящему изобретению включают:

Соединения формулы I, IA, IC, IF, IG, Ia, IAa, ICa, IFa, IGa, Ib, IAb, ICb, IFb и IGb, где

Y является -NH-;

R<sub>2</sub> является ацетилом;

R<sub>3</sub> является водородом; и

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>OH.

Наиболее предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, ICa, IFa или IGa.

Соединения формулы I, IA, ID, IF, IG, Ia, IAa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, IDb, IFb и IGb, где Y является -O-;

R<sub>2</sub> является ацетилом;

R<sub>3</sub> является водородом; и

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>OH.

Наиболее предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, IDa, IFa или IGa

Соединения формулы I, IA, IC, IE, IF, IG, Ia, IAa, ICa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, ICb, IEb, IFb и IGb, где Y является -NH-;

R<sub>2</sub> является ацетилом;

R<sub>3</sub> является водородом; и

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Наиболее предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, ICb, IEb, IFb или IGb.

Соединения формулы I, IA, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IDb, IEb, IFb и IGb, где Y является -O-;

R<sub>2</sub> является ацетилом;

R<sub>3</sub> является водородом; и

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Наиболее предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, IDb, IEb, IFb или IGb.

Соединения формулы I, IA, IC, ID, IF, IG, Ia, IAa, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, ICb, IDb, IFb и IGb, где R<sub>2</sub> является ацетилом;

R<sub>3</sub> является водородом; и

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>OH.

Наиболее предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, ICa, IDa, IFa или IGa.

Соединения формулы I, IA, IC, ID, IF, IG, Ia, IAa, ICa, IDa, IFa, IGa, Ib, IAb, ICb, IDb, IFb и IGb, где R<sub>1</sub> является -OH;

R<sub>2</sub> является ацетилом;

R<sub>3</sub> является водородом; и

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>OH.

Наиболее предпочтительны соединения формулы Ia, IAa, ICa, IDa, IFa или IGa.

Соединения формулы I, IA, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb, где

R<sub>2</sub> является ацетилом;

R<sub>3</sub> является водородом; и

R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Наиболее предпочтительны соединения формулы Ib, IAb, ICb, IDb, IEb, IFb или IGb.

Соединения формулы Ic или IAc, IDc, IFc, IGc, где

R<sub>2</sub> является ацетилом; и

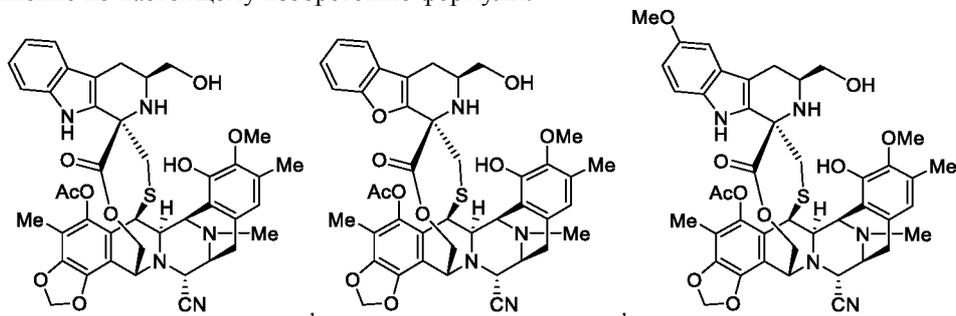
R<sub>3</sub> является водородом.

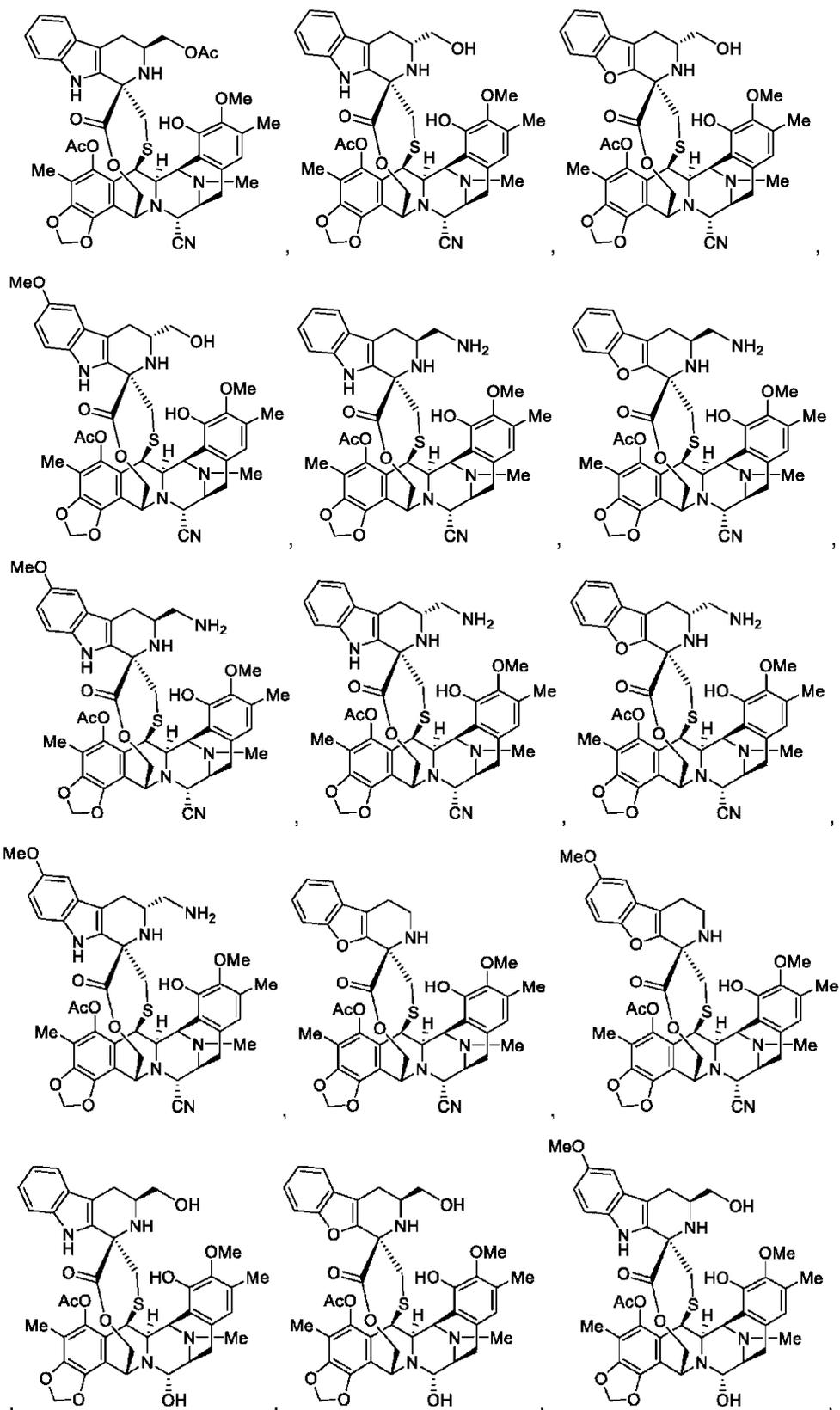
Соединения формулы Ic или IBc, IDc, IFc, IGc, где

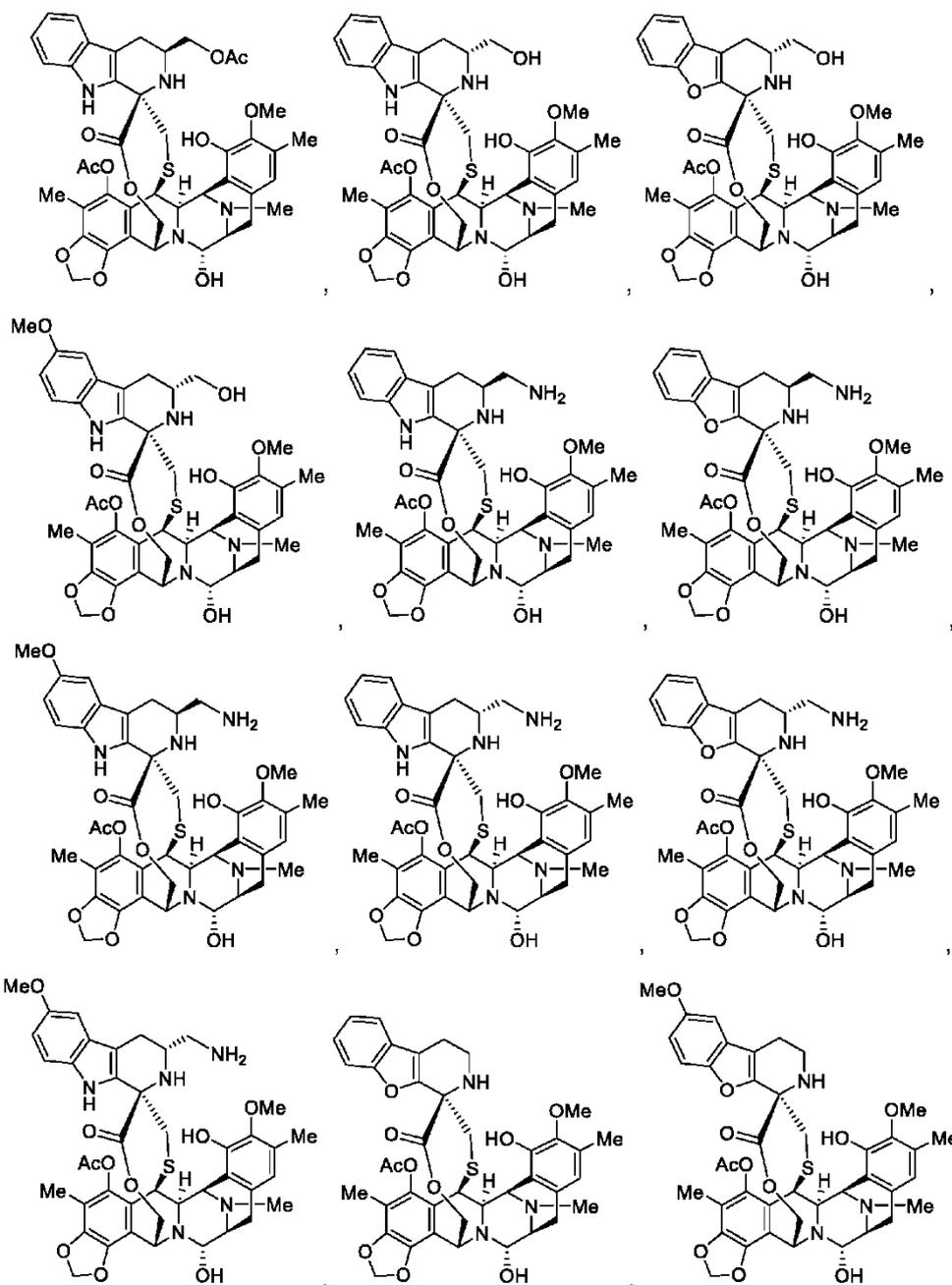
R<sub>2</sub> является ацетилом; и

R<sub>3</sub> является метокси.

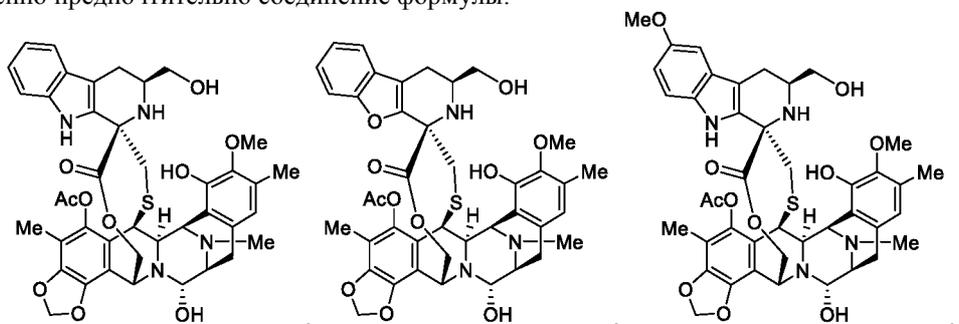
Соединение по настоящему изобретению формулы:

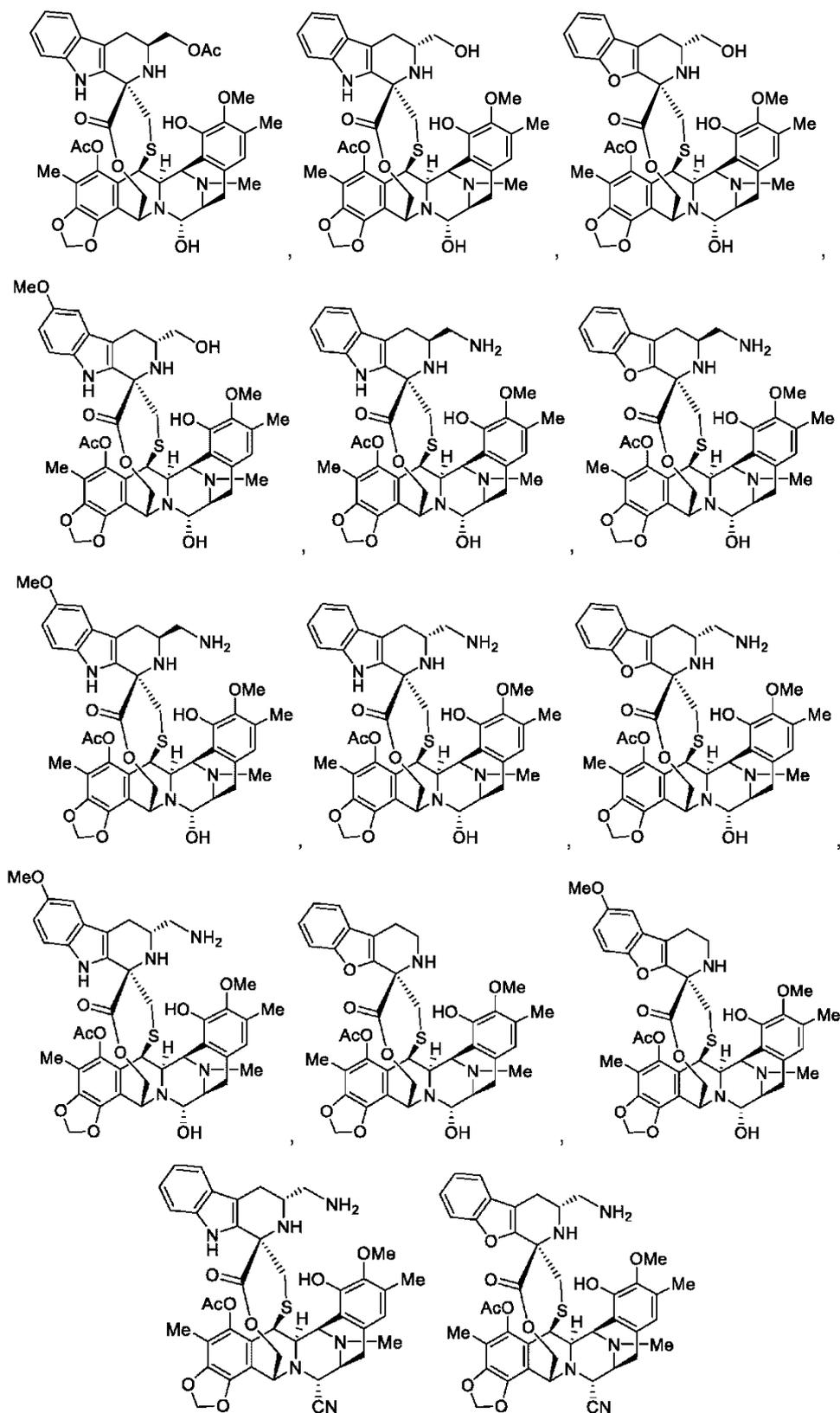




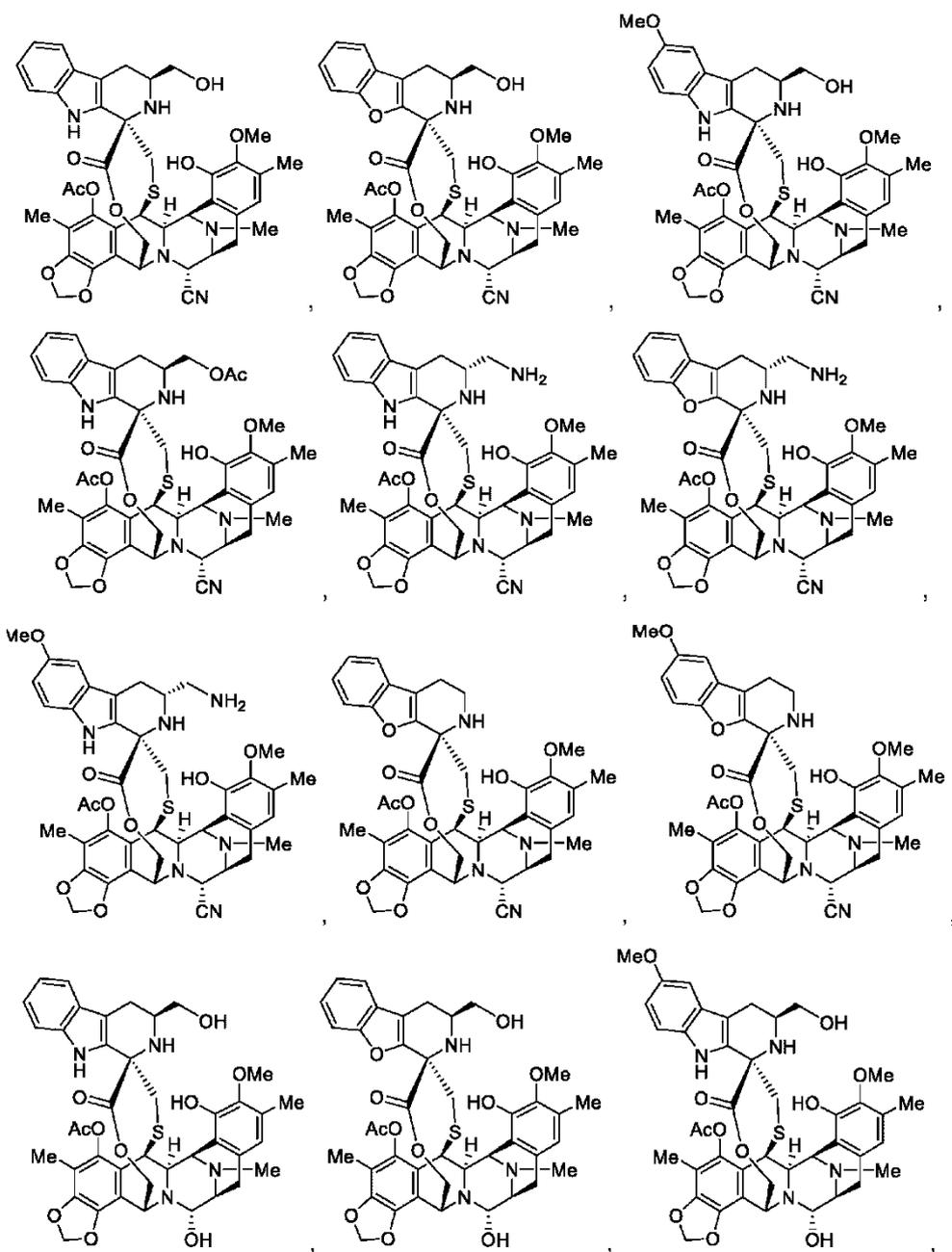


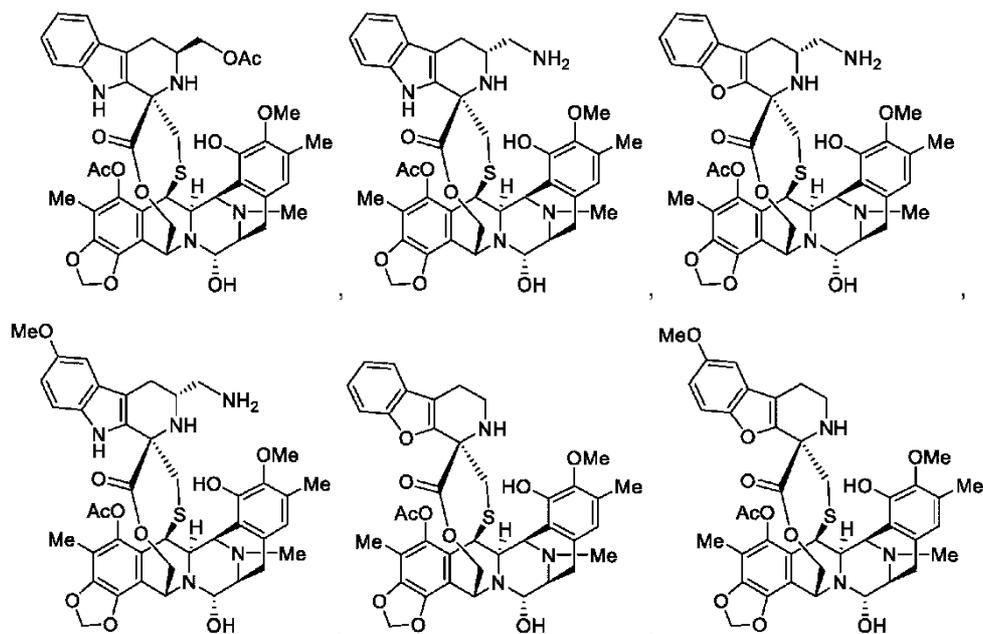
или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир.  
Особенно предпочтительно соединение формулы:



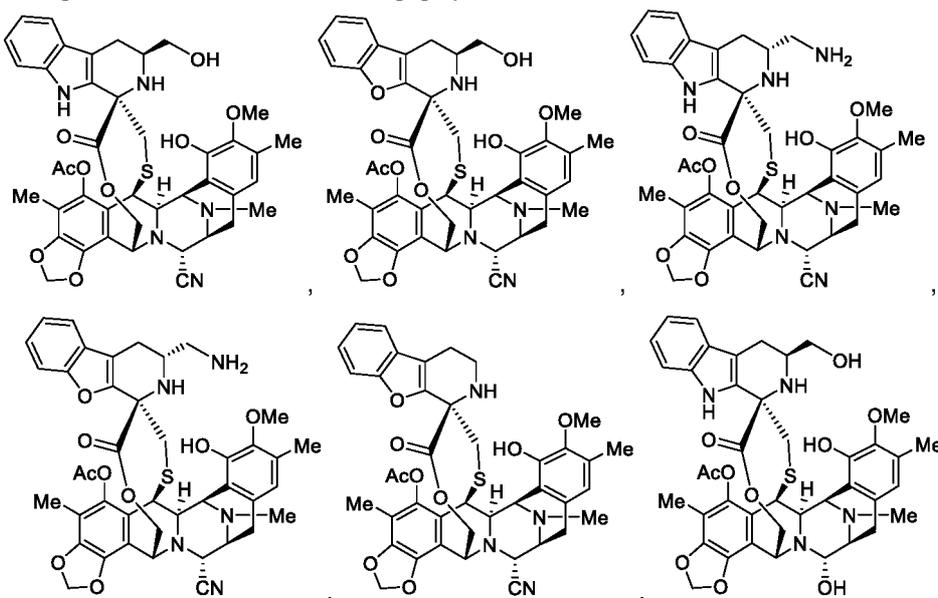


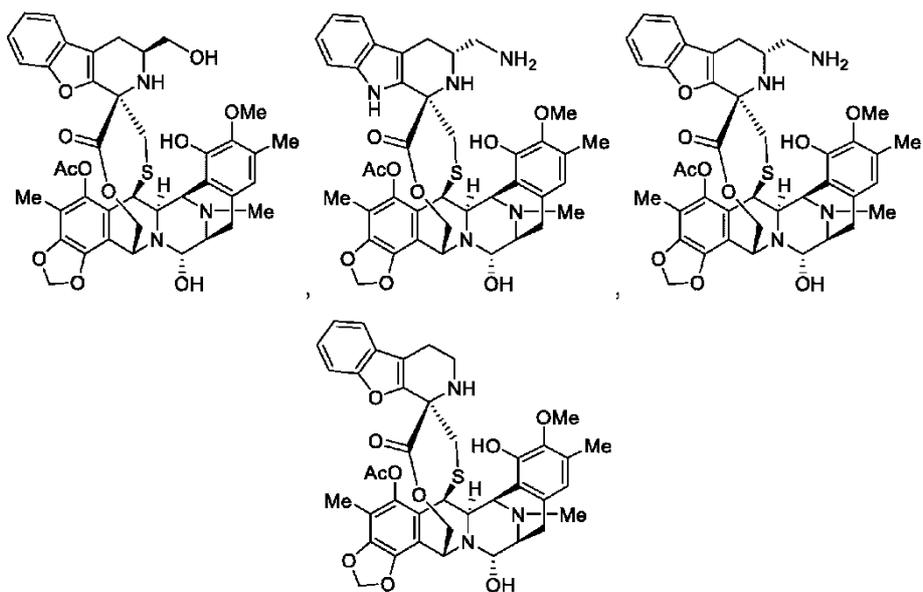
или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир.  
Соединение по настоящему изобретению формулы:



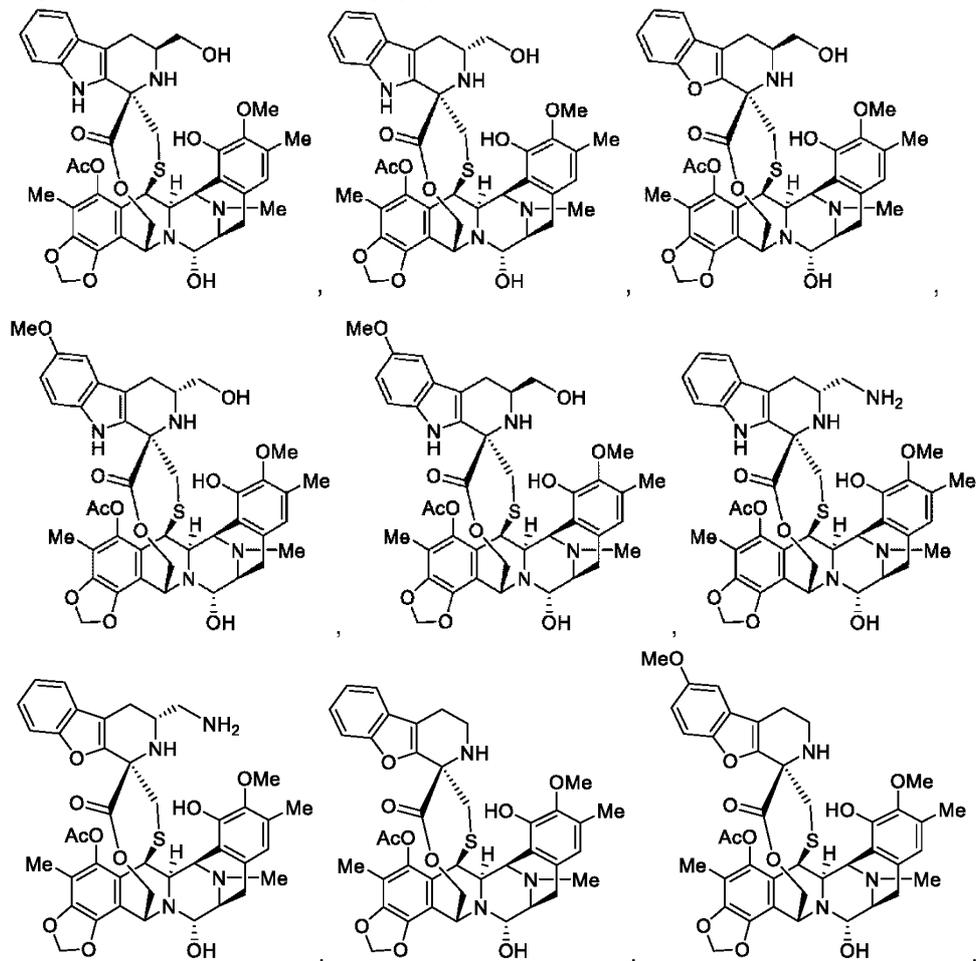


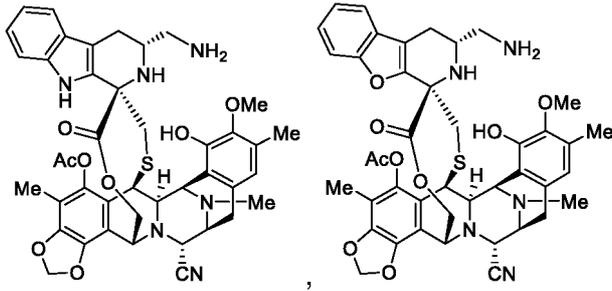
или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир.  
Особенно предпочтительно соединение формулы:





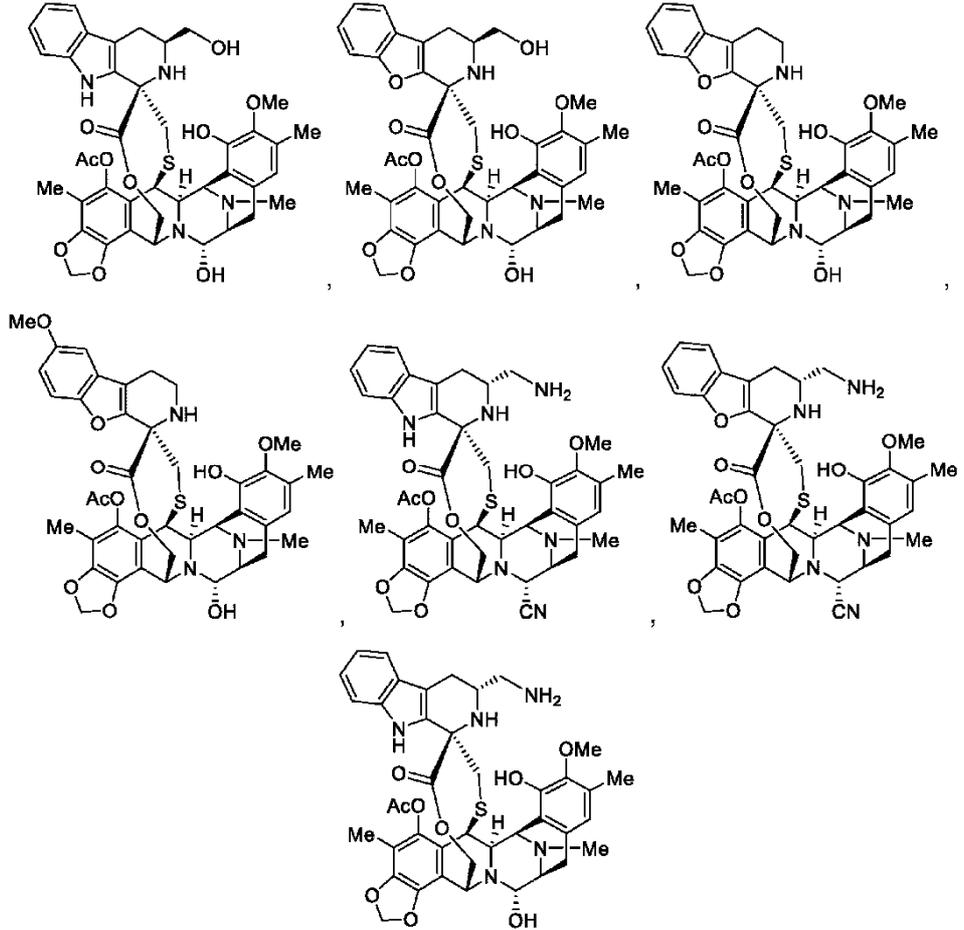
или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир.  
 Более предпочтительно соединение формулы:





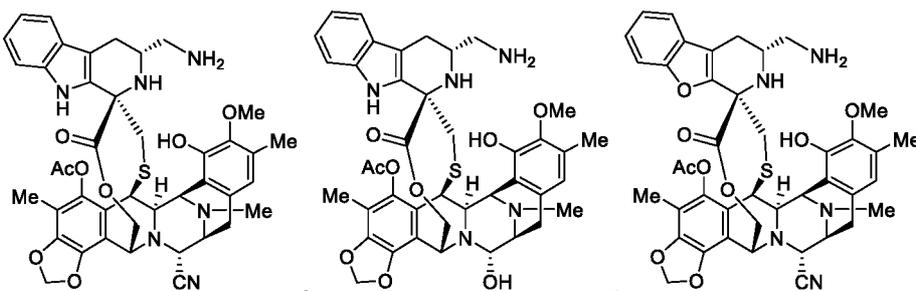
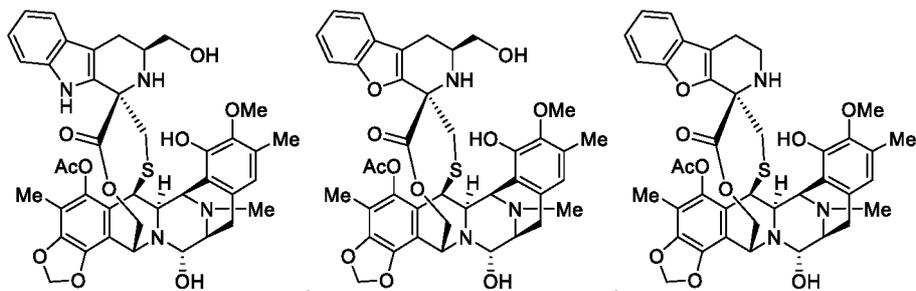
или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир.

Даже более предпочтительными соединениями по настоящему изобретению являются соединения формулы:



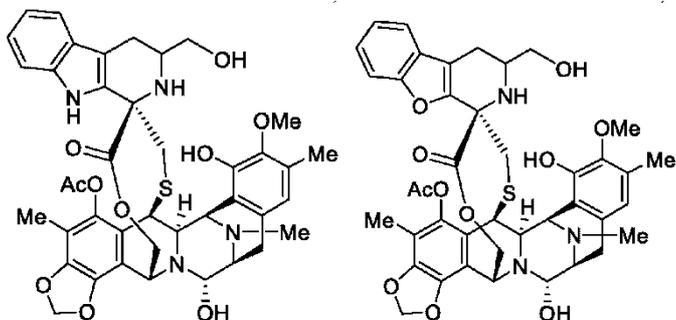
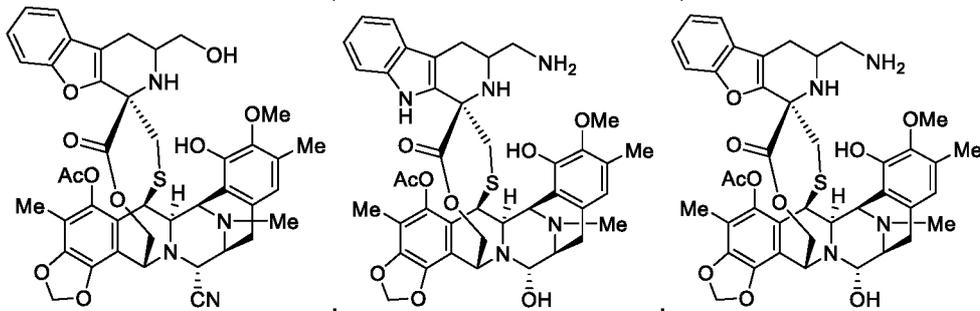
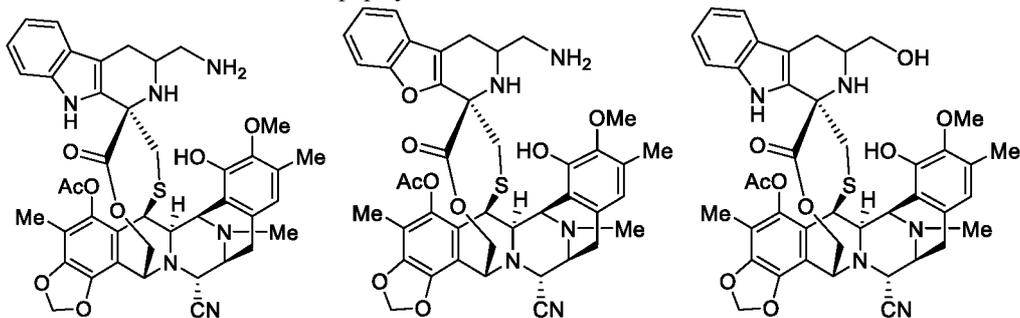
или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир.

Дополнительными предпочтительными соединениями по настоящему изобретению являются соединения формулы:



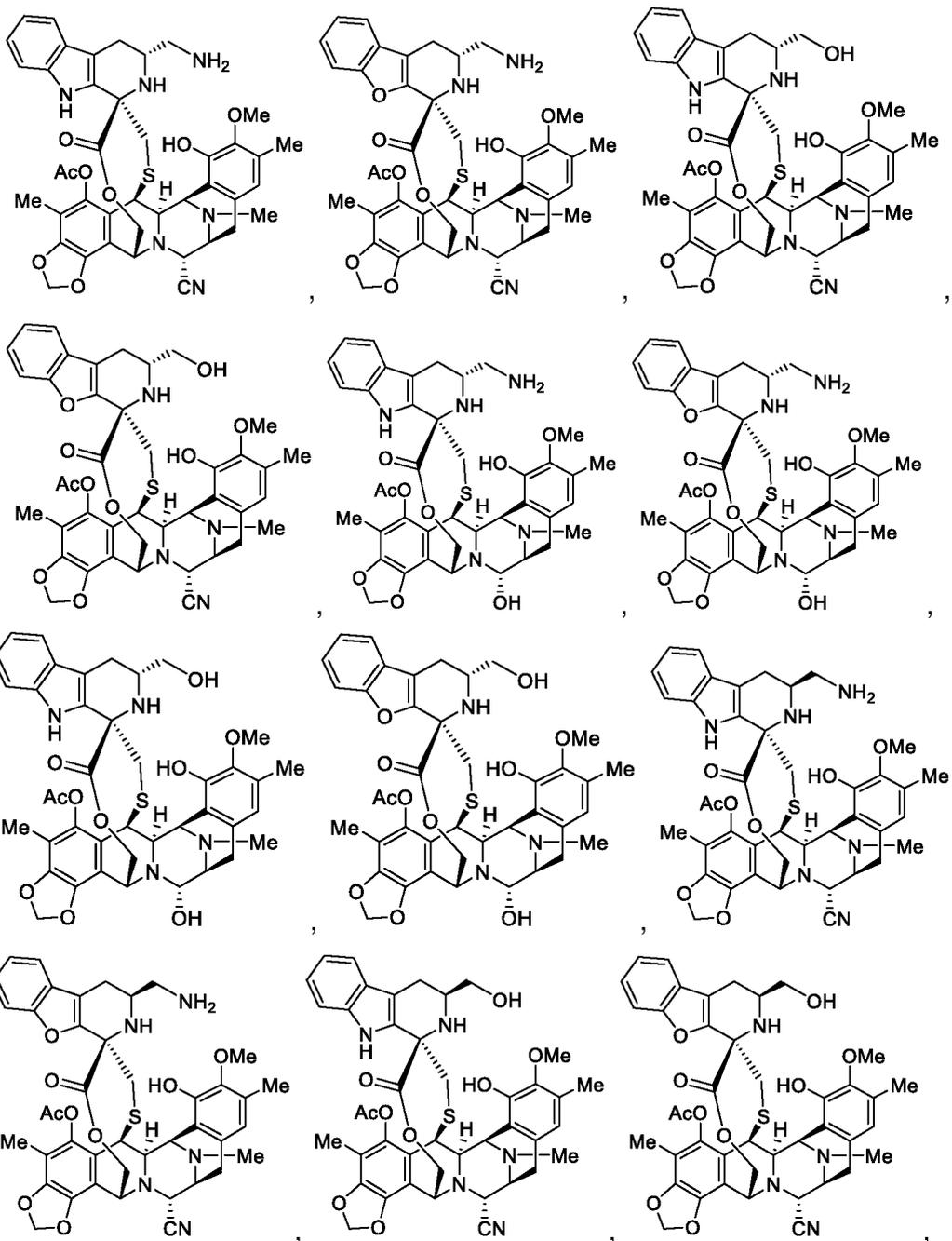
или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир.

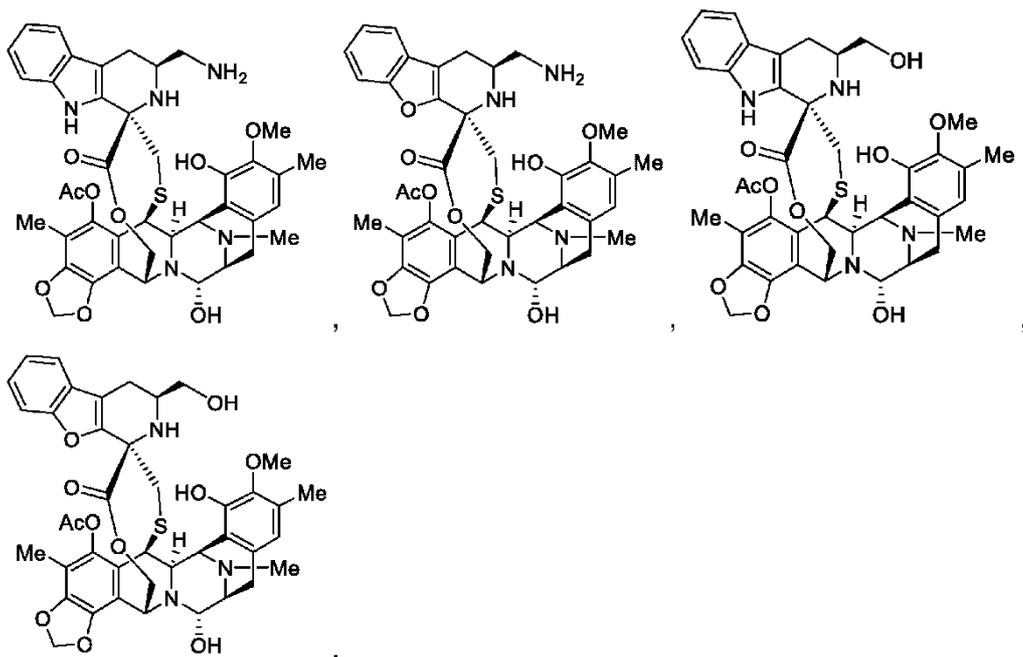
В дополнительном варианте осуществления по настоящему изобретению, предпочтительными соединениями являются соединения формулы:



или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир.

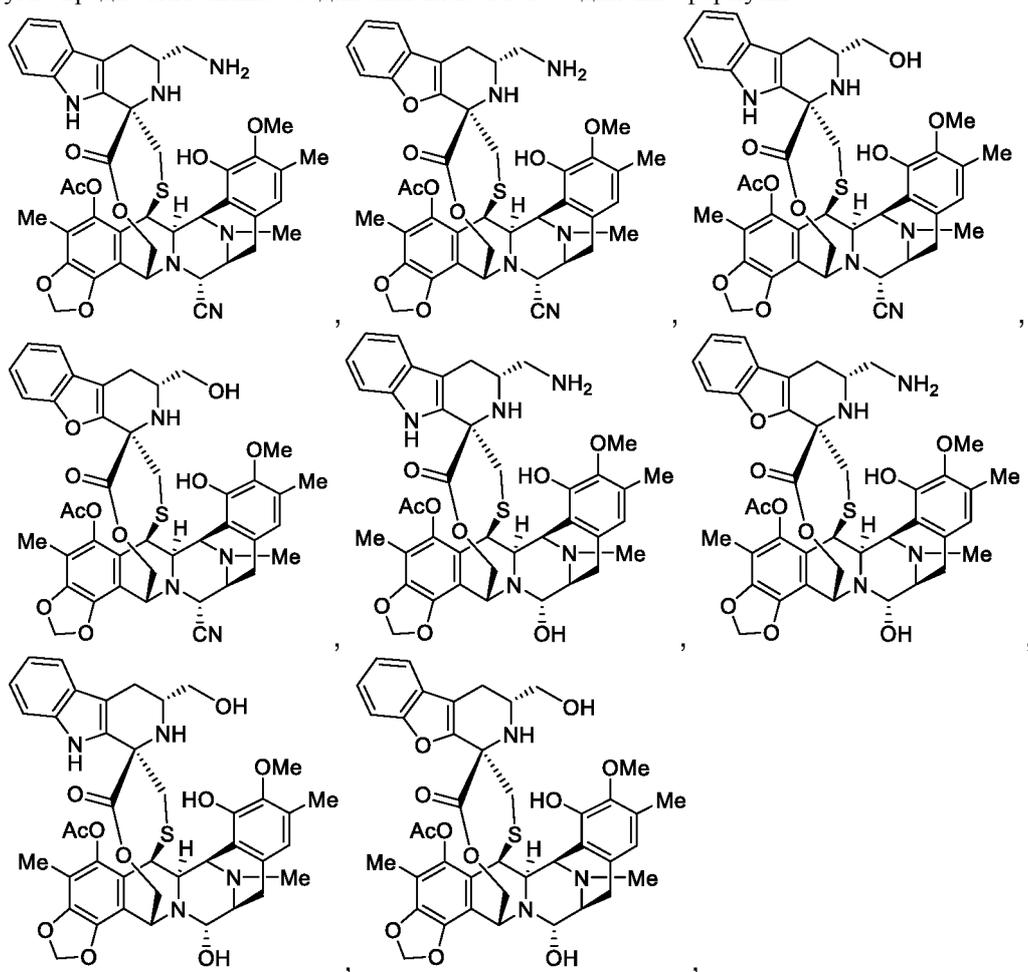
Другие предпочтительные соединения включают соединение формулы:





или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир.

Другие предпочтительные соединения включают соединения формулы:



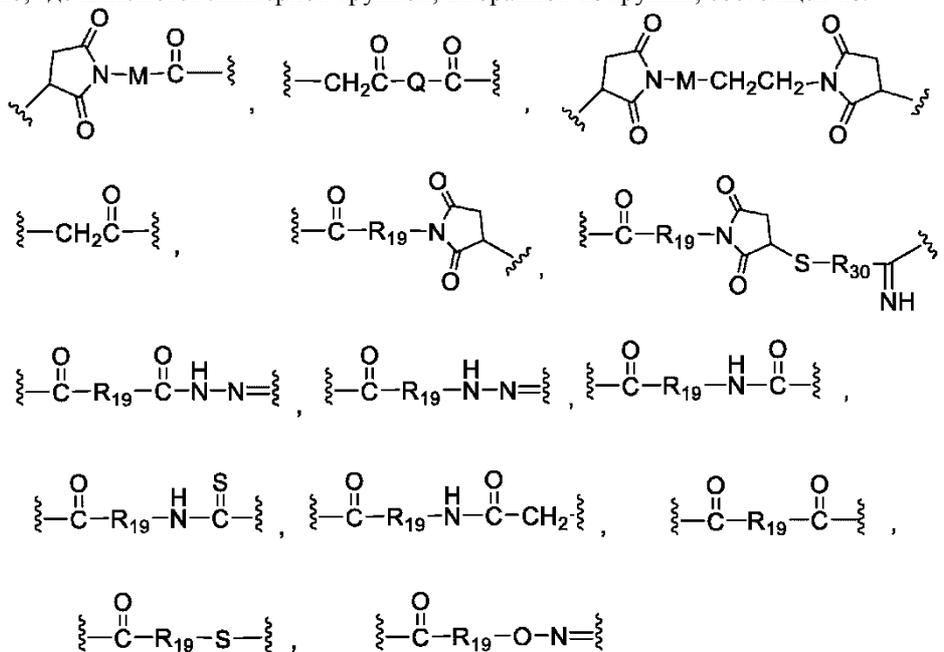
или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир.

В дополнительных предпочтительных вариантах, предпочтения, описанные выше для разных заместителей, объединены. Настоящее изобретения также относится к таким комбинациям предпочтительных замещений (где позволено возможными группами заместителей) в соединениях формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb, Ic, IAc, IBc, IDc, IFc или IGc по настоящему изобретению.

Чтобы избежать сомнений, соединения выше могут быть группой лекарственного средства D и ковалентно присоединены через гидроксид или аминную группу к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (L). Таким образом, если конъюгирована, ковалентная связь замещает протон на гидроксид или аминной группе соединения.

Предпочтительные конъюгаты лекарственного средства согласно настоящему изобретению даны ниже. Предпочтительные определения (X)<sub>b</sub>, (AA)<sub>w</sub>, (T)<sub>g</sub> и (L), приведенные ниже, применимы ко всем группам лекарственного средства D соединения, описанного выше. Предпочтительные конъюгаты лекарственного средства согласно настоящему изобретению включают:

конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению, где L является линкерной группой, выбранной из группы, состоящей из:



где волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к Ab (волнистая линия направо) и к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или к D (волнистая линия налево);

R<sub>19</sub> выбирают из -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, -C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> карбоцикло-, -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена), -C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> арилена в одном или нескольких кольцах, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилен-C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> арилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> арилен-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилен-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> карбоцикло)-, -(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> карбоцикло)-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, -C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub> гетероцикло-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилен-(C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub> гетероцикло)-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -(C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub> гетероцикло)-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>- и -CH<sub>2</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-, где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенных к другой группе углеродной цепи, может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>;

R<sub>30</sub> является -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкиленовой- группой;

M выбирают из группы, состоящей из -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилена-, -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> карбоцикло)-, -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>s</sub>-, -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> карбоцикло)-CON(Н или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкил)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилена-, фенолена, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, фенолен-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилена-, где феноленовая группа может быть необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, и -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен-CON(Н или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкил)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилена-;

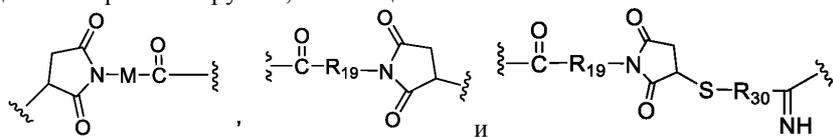
Q выбирают из группы, состоящей из -N(Н или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкил)фенилена- и -N(Н или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкил)-

$(CH_2)_s$ ;

г является целым числом от 1 до 10; и

s является целым числом от 1 до 10.

конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению, где L выбирают из группы, состоящей из:



где: волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к Ab (волнистая линия направо) и к  $(T)_g$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(X)_b$ , если имеется, или к D (волнистая линия налево);

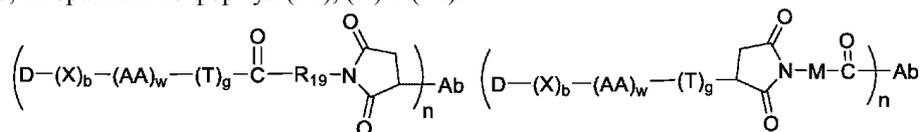
$R_{19}$  выбирают из  $-C_1-C_{12}$  алкилена-,  $-O-(C_1-C_{12}$  алкилена),  $-C_6-C_{12}$  арилена в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-C_1-C_{12}$  алкилен- $C_6-C_{12}$  арилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-C_6-C_{12}$  арилен- $C_1-C_{12}$  алкилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-C_5-C_{12}$  гетероцикло-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец, и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-C_1-C_{12}$  алкилен- $(C_5-C_{12}$  гетероцикло)-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец, и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-(C_5-C_{12}$  гетероцикло)- $C_1-C_{12}$  алкилена-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-(OCH_2CH_2)_r$  и  $-CH_2-(OCH_2CH_2)_r$ , где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенных к другой группе углеродной цепи, может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями  $R_x$ ;

$R_{30}$  является  $-C_1-C_6$  алкиленовой- группой;

M выбирают из группы, состоящей из  $-C_1-C_6$  алкилена-,  $-C_1-C_6$  алкилен- $(C_3-C_8$  карбоцикло)- и фенилена, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ ; и

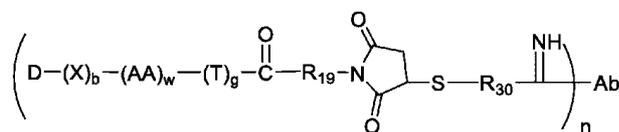
г является целым числом от 1-6.

конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению, выбранный из формул (IV), (V) и (VI):



(IV)

(V)



(VI)

где: X и T являются удлиняющими группами, как определено в настоящем документе; каждый AA независимо является аминокислотной единицей как определено в настоящем документе;

w является целым числом от 0 до 12;

b является целым числом 0 или 1;

g является целым числом 0 или 1;

где  $b+g+w$  необязательно не равно 0;

D является группой лекарственного средства;

Ab является группой, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт;

n является отношением группы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]$ , где L такой, как определен в формуле (IV), (V) или (VI) к группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым

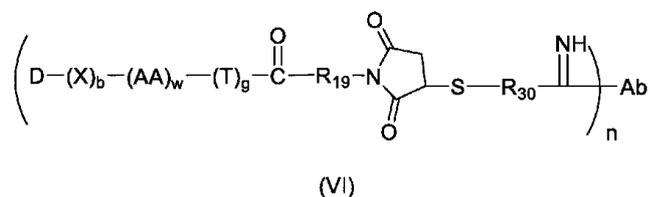
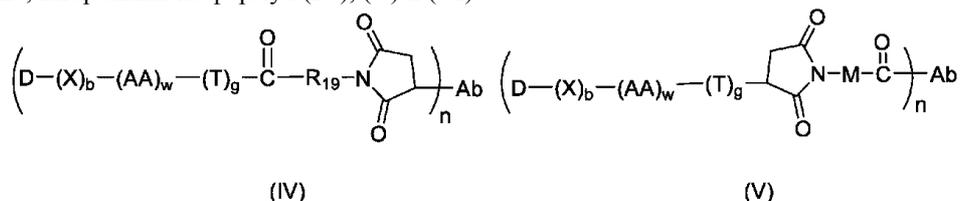
числом от 1 до 20;

$R_{19}$  выбирают из  $-C_1-C_8$  алкилена-,  $-O-(C_1-C_8$  алкилена),  $-C_1-C_8$  алкилен- $C_6-C_{12}$  арилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ , и  $-C_6-C_{12}$  арилен- $C_1-C_8$  алкилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ , где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенных к другой группе углеродной цепи, может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями  $R_x$ ;

$R_{30}$  является  $-C_2-C_4$  алкиленовой- группой; и

$M$  выбирают из группы, состоящей из  $-C_1-C_3$  алкилена- и  $-C_1-C_3$  алкилен- $(C_5-C_7$  карбоцикло)-.

конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]_n-Ab$  по настоящему изобретению, выбранный из формул (IV), (V) и (VI):



где: X и T являются удлиняющими группами, которые могут быть одинаковыми или разными;

каждый AA независимо является аминокислотной единицей;

w является целым числом от 0 до 12;

b является целым числом 0 или 1;

g является целым числом 0 или 1;

где  $b+g+w$  необязательно не равно 0;

D является группой лекарственного средства;

Ab является группой, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт;

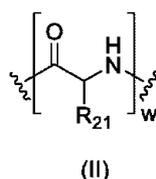
n является отношением группы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]$ , где L такой, как определен в формулах (IV), (V) или (VI), к группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт и является целым числом от 1 до 20;

$R_{19}$  выбирают из  $-C_1-C_6$  алкилена-, фенилен- $C_1-C_6$  алкилена-, где фениленовая группа необязательно может быть замещена одним или несколькими заместителями  $R_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп, где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенных к другой группе углеродной цепи, необязательно могут быть замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, арильных групп, имеющих от 6 до 12 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп и, предпочтительно,  $R_{19}$  является  $-C_1-C_6$  алкиленовой группой;

$R_{30}$  является  $-C_2-C_4$  алкиленовой- группой; и

M является  $-C_1-C_3$  алкилен- $(C_5-C_7$  карбоцикло)-.

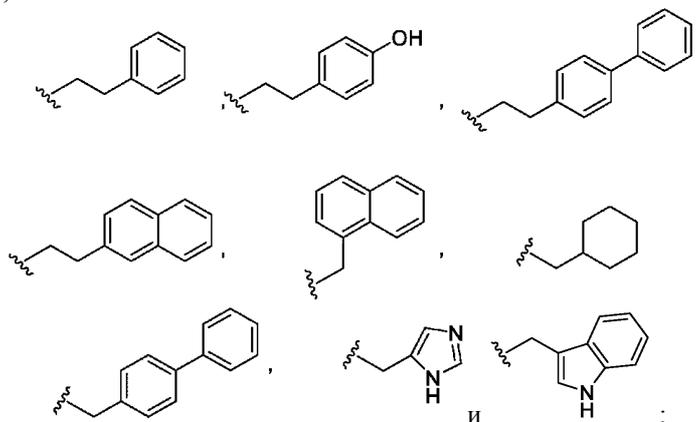
Предпочтительно, чтобы в определении конъюгата лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]_n-Ab$ , L такой, как определен в предпочтительных определениях для указанной группы выше, и  $(AA)_w$  имеет формулу (II):



где волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к  $(X)_b$ , если имеется, или к группе лекарственного средства (волнистая линия налево) и к  $(T)_g$ , если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо); и

$R_{21}$ , в каждом случае, выбирают из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, изобутила, втор-бутила, бензила, п-гидроксибензила,  $-CH_2OH$ ,  $-CH(OH)CH_3$ ,  $-CH_2CH_2SCH_3$ ,  $-CH_2CONH_2$ ,

-CH<sub>2</sub>COOH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOCH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCHO, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCOCH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCHO, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCONH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, 2-пиридилметила-, 3-пиридилметила-, 4-пиридилметила-, фенила, циклогексила,



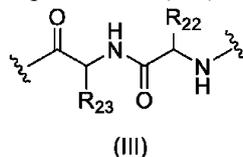
и  $w$  является целым числом от 0 до 12.

конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab согласно первому аспекту настоящего изобретения, где L такой, как определен в предпочтительных определениях для указанной группы выше, и (AA)<sub>w</sub> имеет формулу (II), где:

R<sub>21</sub> в каждом случае выбирают из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, втор-бутила, бензила, индолилметила, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCONH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub> и -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>; и

$w$  является целым числом от 0 до 6.

конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab согласно первому аспекту настоящего изобретения, где L такой, как определен в предпочтительных определениях для указанной группы выше, где  $w$  равен 0 или 2, и если  $w$  равен 2, то (AA)<sub>w</sub> имеет формулу (III), где:



(III)

волнистая линия означает точку ковалентных присоединений к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или к группе лекарственного средства (волнистая линия налево) и к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо);

R<sub>22</sub> выбирают из метила, бензила, изопропила, втор-бутила и индолилметила; и

R<sub>23</sub> выбирают из метила, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCONH<sub>2</sub> и -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>.

В вариантах осуществления настоящего изобретения  $b+g+w$  не равен 0. В других вариантах осуществления,  $b+w$  не равно 0. В еще дополнительных вариантах осуществления, если  $w$  не равно 0, то  $b$  равен 1. Кроме того, предпочтительно, чтобы в определении конъюгата лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab, L и (AA)<sub>w</sub> такие, как определены в предпочтительных определениях для указанной группы выше, и X является удлиняющей группой, выбранной из:

где D конъюгирован через аминную группу (например, где Z является -NH-):

-COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NH-;

-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>)-NH-;

-COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NH-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>)-NH-;

-COCH<sub>2</sub>NH-COCH<sub>2</sub>-NH-;

-COCH<sub>2</sub>NH-;

-COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)S-;

-COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)S-; или

где D конъюгирован через гидроксигруппу (например, где Z является -O-):

-CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NH-;

-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>)-NH-;

-CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NH-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>)-NH-;

-COCH<sub>2</sub>NH-COCH<sub>2</sub>-NH-;

-COCH<sub>2</sub>NH-;  
 -CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)S-;  
 -CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)S-; и  
 b равно 0 или 1, предпочтительно, 1.

конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению, где L и (AA)<sub>w</sub> такие, как определены в предпочтительных определениях для указанной группы выше, и X является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из:

где D конъюгирован через аминую группу (например, где Z является -NH-):

-COO-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)NH-;

-COO-CH<sub>2</sub>-фенилен-NH-, где указанная фениленовая группа необязательно может быть замещена от одного до четырех заместителями R<sub>x</sub>, выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп;

-COO-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)NH-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который необязательно может быть замещен от одного до четырех заместителями R<sub>x</sub>, выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп)-NH-;

-COCH<sub>2</sub>NH-COCH<sub>2</sub>-NH-;

-COO-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)S-;

-COO-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилен)S-; или

где D конъюгирован через гидроксигруппу (например, где Z является -O-):

-CONH-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)NH-;

-COO-CH<sub>2</sub>-фенилен-NH-, где указанная фениленовая группа необязательно может быть замещена от одного до четырех заместителями R<sub>x</sub>, выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп;

-CONH-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)NH-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который необязательно может быть замещен от одного до четырех заместителями R<sub>x</sub>, выбранных из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп)-NH-;

-COCH<sub>2</sub>NH-COCH<sub>2</sub>-NH-;

-CONH-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)S-;

-CONH-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилен)S-; и

b равен 0 или 1, предпочтительно, 1.

конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению, где L и (AA)<sub>w</sub> такие, как определены в предпочтительных определениях для указанной группы выше, и X является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из:

где D конъюгирован через аминую группу (например, где Z является -NH-):

-COO-CH<sub>2</sub>-фенилен-NH-

-COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOOCH<sub>2</sub>-фенилен-NH-;

-COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH-;

-COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-S-;

-COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S-; или

где D конъюгирован через гидроксигруппу (например, где Z является -O-):

-COO-CH<sub>2</sub>-фенилен-NH-

-CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOOCH<sub>2</sub>-фенилен-NH-;

-CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH-;

-CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-S-;

-CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S-; и

b равен 0 или 1, предпочтительно, 1.

- конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению, где L, (AA)<sub>w</sub> и (X)<sub>b</sub> такие, как определены в предпочтительных определениях для указанной группы выше, и T является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из:

-CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)-NH-;

-CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)]<sub>j</sub>-NH-;

-COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)]<sub>j</sub>-NH-;

где j является целым числом от 1 до 25, и

g равен 0 или 1.

конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению, где L, (AA)<sub>w</sub> и (X)<sub>b</sub> такие, как определены в предпочтительных определениях для указанной группы выше, и T является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из:

-CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)NH-

-CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)]<sub>j</sub>-NH-;  
 -COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)]<sub>j</sub>-NH-;  
 где j является целым числом от 1 до 10; и  
 g равен 0 или 1.

конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению, где L, (AA)<sub>w</sub> и (X)<sub>b</sub> такие, как определены в предпочтительных определениях для указанной группы выше, и T является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из:

-CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)NH-  
 -CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)]<sub>j</sub>-NH-;  
 -COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)]<sub>j</sub>-NH-;  
 где j является целым числом от 1 до 5; и  
 g равен 0 или 1.

предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению является таким, где L, (AA)<sub>w</sub>, (X)<sub>b</sub> и (T)<sub>g</sub> такие, как определено выше, и где D является соединением формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb, (IH), (IHa) или (IHb) или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером, где R<sub>1</sub> является CN или OH в соединениях формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IGb, (IH), (IHa) или (IHb); R<sub>1</sub> является OH в соединениях формулы IF, IFa и IFb, и более предпочтительно, R<sub>1</sub> является CN.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению является таким, где L, (AA)<sub>w</sub>, (X)<sub>b</sub> и (T)<sub>g</sub> такие, как определено выше, и где D является соединением формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, (IH), (IHa) или (IHb) или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер, где R<sub>2</sub> является C(=O)R<sub>a</sub>, где R<sub>a</sub> выбирают из водорода и замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, где необязательными заместителями являются один или несколько заместителей R<sub>x</sub>, и более предпочтительно, R<sub>2</sub> является ацетилом.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению является таким, где L, (AA)<sub>w</sub>, (X)<sub>b</sub> и (T)<sub>g</sub> такие, как определено выше, и где D является соединением формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb, (IH), (IHa) или (IHb) или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер, где R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой в соединениях формулы I, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb, (IH), (IHa) или (IHb); R<sub>3</sub> является водородом в соединениях формулы IA, IAa или IAb; R<sub>3</sub> является -OR<sub>b</sub> группой в соединениях формулы IB, IBa или IBb, где R<sub>b</sub> является замещенной или незамещенной C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкильной группой, где необязательными заместителями являются один или несколько заместителей R<sub>x</sub>, и более предпочтительно, R<sub>3</sub> является водородом или метокси. Наиболее предпочтительно, R<sub>3</sub> является водородом.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению является таким, где L, (AA)<sub>w</sub>, (X)<sub>b</sub> и (T)<sub>g</sub> такие, как определено выше, и где D является соединением формулы (IH), (IHa) или (IHb) или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер, где Y является -NH- или -O-.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению является таким, где L, (AA)<sub>w</sub>, (X)<sub>b</sub> и (T)<sub>g</sub> такие, как определено выше, и где D является соединением формулы (IH), (IHa) или (IHb), или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер, где Z является -NH- или -O- и более предпочтительно, Z является -NH-.

Еще более предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению является таким, где L, (AA)<sub>w</sub>, (X)<sub>b</sub> и (T)<sub>g</sub> такие, как определено выше, и где D является соединением формулы (IHa) или (IHb) или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер, где:

R<sub>1</sub> является -CN или -OH;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub>, где R<sub>a</sub> выбирают из водорода и замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, где необязательными заместителями являются один или несколько заместителей R<sub>x</sub>;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой, где R<sub>b</sub> является замещенной или незамещенной C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкильной группой, где необязательными заместителями являются один или несколько заместителей R<sub>x</sub>,

Y является -NH- или -O-; и

Z является -NH- или -O-.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению является таким, где L, (AA)<sub>w</sub>, (X)<sub>b</sub> и (T)<sub>g</sub> такие, как определено выше, и где D является соединением формулы (IHa) или (IHb), или его фармацевтически

приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер, где:

$R_1$  является -CN или -OH;

$R_2$  является ацетилом;

$R_3$  является водородом или метокси, более предпочтительно, водородом;

$Y$  является -NH- или -O-; и

$Z$  является -NH- или -O-.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению является таким, где L,  $(AA)_w$ ,  $(X)_b$  и  $(T)_g$  такие, как определено выше, и где D является соединением формулы (IHa) или (IHb) или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер, где:

$R_1$  является -CN;

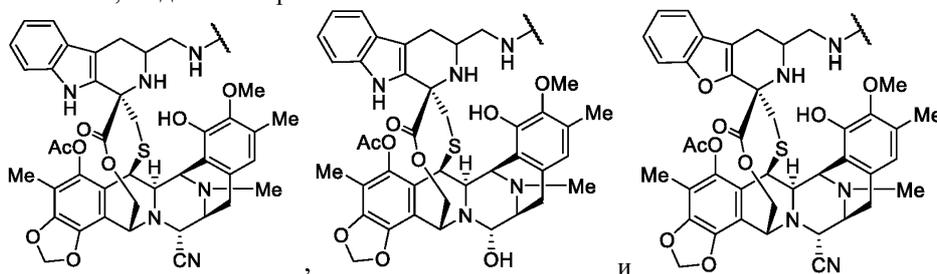
$R_2$  является ацетилом;

$R_3$  является водородом;

$Y$  является -NH- или -O-; и

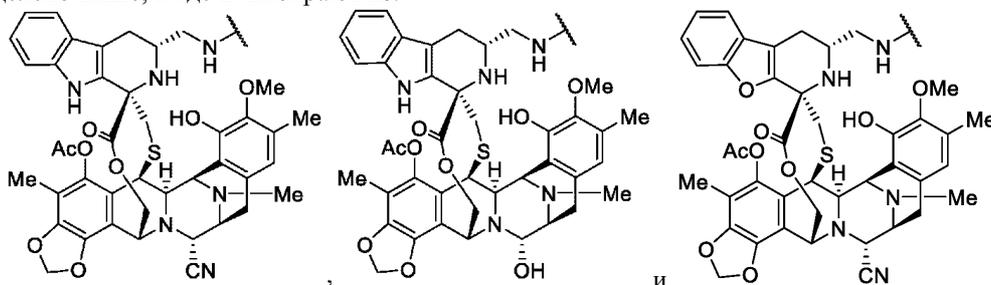
$Z$  является -NH-.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению является таким, где L,  $(AA)_w$ ,  $(X)_b$  и  $(T)_g$  такие, как определено выше, и где D выбирают из:



или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер; где волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к  $(X)_b$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(T)_g$ , если имеется, или к (L).

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению является таким, где L,  $(AA)_w$ ,  $(X)_b$  и  $(T)_g$  такие, как определено выше, и где D выбирают из:



или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, сольват, таутомер или стереоизомер; где волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к  $(X)_b$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(T)_g$ , если имеется, или к (L).

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению является таким, где L,  $(AA)_w$ ,  $(X)_b$ ,  $(T)_g$  и D такие, как определено выше, и где группа Ab, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является антигенсвязывающим пептидом.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению является таким, где L,  $(AA)_w$ ,  $(X)_b$ ,  $(T)_g$  и D такие, как определено выше, и группа Ab, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является антителом, однодоменным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению является таким, где L,  $(AA)_w$ ,  $(X)_b$ ,  $(T)_g$  и D такие, как определено выше, и группа Ab, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является моноклональным, поликлональным антителом или биспецифическим антителом, и где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент получают из любых видов, предпочтительно, человека, мыши или кролика.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению является таким, где L,  $(AA)_w$ ,  $(X)_b$ ,  $(T)_g$  и D

такие, как определено выше, и группа Ab, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которое выбирают из группы, состоящей из антитела человека, антигенсвязывающего фрагмента антитела человека, гуманизированного антитела, антигенсвязывающего фрагмента гуманизированного антитела, химерного антитела, антигенсвязывающего фрагмента химерного антитела, гликозилированного антитела и гликозиллированного антигенсвязывающего фрагмента.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению является таким, где L,  $(AA)_w$ ,  $(X)_b$ ,  $(T)_g$  и D такие, как определено выше, и группой Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антителом или его антигенсвязывающим фрагментом является антигенсвязывающий фрагмент, выбранный из группы, состоящей из Fab фрагмента, Fab' фрагмента,  $F(ab')_2$  фрагмента и Fv фрагмента.

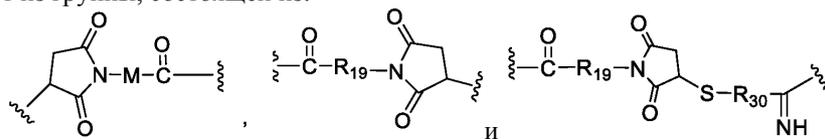
Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению является таким, где L,  $(AA)_w$ ,  $(X)_b$ ,  $(T)_g$  и D такие, как определено выше, и группой Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антитело или его антигенсвязывающим фрагментом является моноклональное антитело, которое иммуноспецифически связывается с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами, антигенами клеток, которые продуцируют аутоиммунные антитела, ассоциированные с аутоиммунным заболеванием, микробными антигенами и, предпочтительно, моноклональным антителом, которое иммуноспецифически связывается с антигенами раковой клетки.

Другой предпочтительный конъюгат лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  согласно настоящему изобретению является таким, где L,  $(AA)_w$ ,  $(X)_b$ ,  $(T)_g$  и D такие, как определено в настоящем документе, и группой Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является антитело, выбранное из группы, состоящей из абциксимаба, алемтузумаба, анетумаба, атезолизумаба, авелумаба, базиликсимаба, бевацизумаба, блинатомумаба, брентуксимаба, катумаксомаба, цетуксимаба, колтуксимаба, даклизумаба, даратумумаба, дениттузумаба, деносумаба, депатуксизумаба, динутуксимаба, дурвалумаба, элотузумаба, энфортумаба, глембатумумаба, гемтузумаба, ибритумумаба, индатуксимаба, индусатумаба, инотузумаба, ипилимумаба, лабетузумаба, ладиратузумаба, лапритуксимаба, лифастузумаба, лорвотузумаба, милатузумаба, мирветуксимаба, наратуксимаба, нецитумумаба, нимотузумаба, ниволумаба, обинутузумаба, офатумумаба, оларатумаба, омализумаба, паливизумаба, панитумумаба, пембролизумаба, пертузумаба, пинатузумаба, полатузумаба, рамуцирумаба, ровальпитузумаба, сацитузумаба, силтуксимаба, сиртратаумаба, софитузумаба, вадастуксимаба, ворсетузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитело, анти-CD5 антитело, анти-CD13 антитело и анти-CD 30 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или его иммунологически активная часть, где предпочтительно, антитело выбирают из абциксимаба, алемтузумаба, анетумаба, атезолизумаба, авелумаба, базиликсимаба, бевацизумаба, блинатомумаба, брентуксимаба, катумаксомаба, цетуксимаба, даклизумаба, даратумумаба, дениттузумаба, деносумаба, депатуксизумаба, динутуксимаба, дурвалумаба, элотузумаба, энфортумаба, глембатумумаба, гемтузумаба, ибритумумаба, индатуксимаба, индусатумаба, инотузумаба, ипилимумаба, лабетузумаба, ладиратузумаба, лапритуксимаба, мирветуксимаба, наратуксимаба, нецитумумаба, нимотузумаба, ниволумаба, обинутузумаба, офатумумаба, оларатумаба, омализумаба, паливизумаба, панитумумаба, пембролизумаба, пертузумаба, полатузумаба, рамуцирумаба, ровальпитузумаба, сацитузумаба, силтуксимаба, сиртратаумаба, вадастуксимаба, ворсетузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD 30 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или его иммунологически активной части, и еще более предпочтительно, абциксимаба, алемтузумаба, анетумаба, атезолизумаба, авелумаба, базиликсимаба, бевацизумаба, блинатомумаба, брентуксимаба, катумаксомаба, цетуксимаба, даклизумаба, даратумумаба, деносумаба, динутуксимаба, дурвалумаба, элотузумаба, гемтузумаба, ибритумумаба, инотузумаба, ипилимумаба, лабетузумаба, нецитумумаба, нимотузумаба, ниволумаба, обинутузумаба, офатумумаба, оларатумаба, омализумаба, паливизумаба, панитумумаба, пембролизумаба, пертузумаба, рамуцирумаба, ровальпитузумаба, силтуксимаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD 30 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или его иммунологически активной части. Из них, особенно предпочтительными являются брентуксимаб, гемтузумаб, инотузумаб, ровальпитузумаб, трастузумаб, анти-CD4 антитело, анти-CD5 антитело, анти-CD13 антитело и анти-CD 30 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или его иммунологически активная часть; или антитело выбирают из Трастузумаба и анти-CD13 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или его иммунологически активной части, в частности, Трастузумаба или его антигенсвязывающего фрагмента или его иммунологически активной части.

Особенно предпочтительные конъюгаты лекарственного средства формулы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$  по настоящему изобретению включают следующие:

(a) конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению где:

L выбирают из группы, состоящей из:



где: волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к Ab (волнистая линия направо) и к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или к (D) (волнистая линия налево);

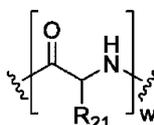
R<sub>19</sub> выбирают из -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена), -C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> арилена в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилен-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> арилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> арилен-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub> гетероцикло-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилен-(C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub> гетероцикло)-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -(C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub> гетероцикло)-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкилена-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>f</sub>- и -CH<sub>2</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>f</sub>-, где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенных к другой группе углеродной цепи, может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>;

R<sub>30</sub> является -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкиленовой- группой;

M выбирают из группы, состоящей из -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилена-, -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> карбоцикло)- и фенилена, которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>;

f является целым числом от 1-6;

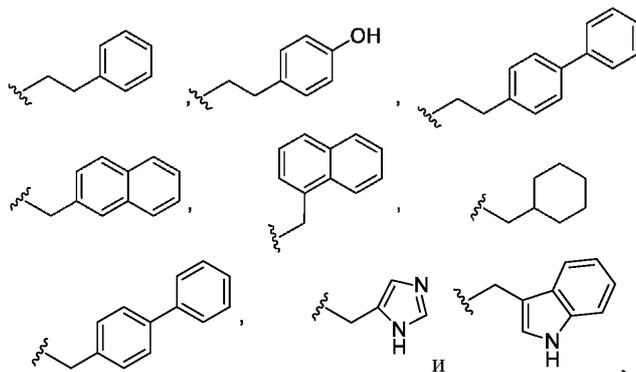
(AA)<sub>w</sub> имеет формулу (II):



(II)

где волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или к группе лекарственного средства (волнистая линия налево) и к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо);

R<sub>21</sub> в каждом случае выбран из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, изобутила, втор-бутила, бензила, п-гидроксibenзила, -CH<sub>2</sub>OH, -CH(OH)CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>COOH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOCH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCHO, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCOCH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCHO, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCONH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, 2-пиридилметила-, 3-пиридилметила-, 4-пиридилметила-, фенила, циклогексила,



w является целым числом от 0 до 12;

где X является удлиняющей группой, выбранной из

если D конъюгирован через аминую группу (например, где Z является -NH-): -COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NH-, -COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>)-NH-, -COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NH-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>)-NH-, -COCH<sub>2</sub>NH-COCH<sub>2</sub>-NH-, -COCH<sub>2</sub>-NH-, -COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)S-, -COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)S-; или

если D конъюгирован через гидроксигруппу (например, где Z является -O-): -CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NH-, -COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>)-NH-, -CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NH-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>)-NH-, -COCH<sub>2</sub>NH-COCH<sub>2</sub>-NH-, -COCH<sub>2</sub>-NH-, -CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)S- и -CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)S-;

b равен 0 или 1, предпочтительно, 1;

где T является удлиняющей группой, выбранной из -CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)-NH-, -CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)]<sub>j</sub>-NH- и -COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> алкилен)]<sub>j</sub>-NH-, где j является целым числом от 1 до 25;

g равен 0 или 1;

D является группой лекарственного средства формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, IH, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGA, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, IGB, (IHa) или (IHb) или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером, где:

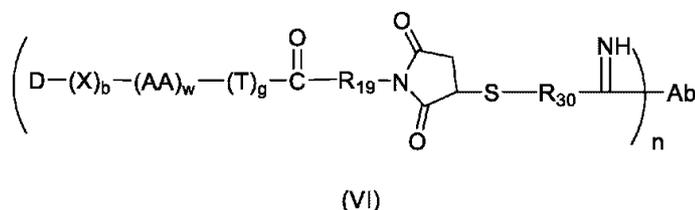
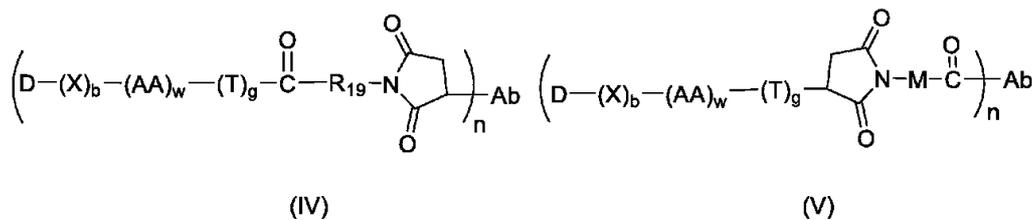
R<sub>2</sub> является C(=O)R<sub>a</sub>, в соединениях формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, (IH), (IHa) или (IHb); R<sub>2</sub> является ацетилом в соединениях формулы IG, IGA или IGB, где R<sub>a</sub> выбирают из водорода и замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, где необязательными заместителями являются один или несколько заместителей R<sub>x</sub>;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой в соединениях формулы I, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, ICa, IDa, IEa, IFa, IGA, Ib, ICb, IDb, IEb, IFb, IGB, (IH), (IHa) или (IHb); R<sub>3</sub> является водородом в соединениях формулы IA, IAa или IAb; R<sub>3</sub> является -OR<sub>b</sub> группой в соединениях формулы IB, IBa или IBb, где R<sub>b</sub> является замещенной или незамещенной C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкильной группой, где необязательными заместителями являются один или несколько заместителей R<sub>x</sub>;

группа Ab, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, и ее выбирают из группы, состоящей из антитела человека, антигенсвязывающ фрагмент антитела человека, гуманизированного антитела, антигенсвязывающего фрагмента гуманизированного антитела, химерного антитела, антигенсвязывающего фрагмента химерного антитела, гликозилированного антитела и гликозилированного антигенсвязывающего фрагмента; и

n является отношением группы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)] к группе Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым числом от 1 до 12.

(b) конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению, выбранный из формул (IV), (V) и (VI):

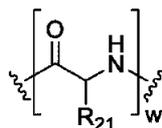


где: R<sub>19</sub> выбирают из -C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкилена-, -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкилена), -C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкилен-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> арилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, и -C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> арилен-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенных к другой группе углеродной цепи, может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>;

R<sub>30</sub> является -C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкиленовой- группой;

M выбирают из группы, состоящей из -C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилена- и -C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилен-(C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> карбоцикло)-;

(AA)<sub>w</sub> имеет формулу (II)



(II)

где: волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к  $(X)_b$ , если имеется, или к группе лекарственного средства (волнистая линия налево) и к  $(T)_g$ , если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо);

$R_{21}$  в каждом случае выбран из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, втор-бутила, бензила, индолилметила,  $-(CH_2)_3NHCONH_2$ ,  $-(CH_2)_4NH_2$ ,  $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$  и  $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ ;  $w$  является целым числом от 0 до 6;

$X$  является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из

если  $D$  конъюгирован через аминную группу (например, где  $Z$  является  $-NH-$ ):  $-COO-(C_2-C_4$  алкилен) $NH-$ ,  $-COO-CH_2$ -фенилен- $NH-$ , где указанная фениленовая группа необязательно может быть замещена от одного до четырех заместителями  $R_x$ , выбранных из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп,  $-COO-(C_2-C_4$  алкилен) $NH-COO-CH_2$ -(фенилен, который необязательно может быть замещен от одного до четырех заместителями  $R_x$ , выбранных из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп)- $NH-$ ,  $-COCH_2NH-COCH_2-NH-$ ,  $-COO-(C_2-C_4$  алкилен) $S-$  и  $-COO-(C_2-C_4$  алкилен) $NHCO(C_1-C_3$  алкилен) $S-$ ; или

если  $D$  конъюгирован через гидроксигруппу (например, где  $Z$  является  $-O-$ ):  $-CONH-(C_2-C_4$  алкилен) $NH-$ ,  $-COO-CH_2$ -фенилен- $NH-$ , где указанная фениленовая группа необязательно может быть замещена от одного до четырех заместителями  $R_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп,  $-CONH-(C_2-C_4$  алкилен) $NH-COO-CH_2$ -(фенилен, который необязательно может быть замещен от одного до четырех заместителями  $R_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп)- $NH-$ ,  $-COCH_2NH-COCH_2-NH-$ ,  $-CONH-(C_2-C_4$  алкилен) $S-$  и  $-CONH-(C_2-C_4$  алкилен) $NHCO(C_1-C_3$  алкилен) $S-$ ;

$b$  равен 0 или 1, предпочтительно, 1;

где  $T$  является удлиняющей группой, выбранной из  $-CO-(C_1-C_4$  алкилен)- $NH-$ ,  $-CO-(C_1-C_4$  алкилен)- $[O-(C_2-C_4$  алкилен)] $_j$ - $NH-$  и  $-COO-(C_1-C_4$  алкилен)- $[O-(C_2-C_4$  алкилен)] $_j$ - $NH-$ , где  $j$  является целым числом от 1 до 10;

$g$  равен 0 или 1;

$D$  является группой лекарственного средства формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, IH, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb, (IHa) или (IHb) или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером, где:

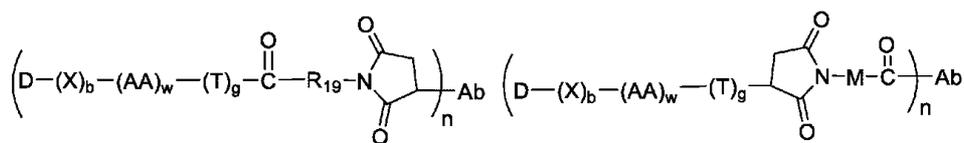
$R_2$  является ацетилом;

$R_3$  является водородом или метокси в соединениях формулы I, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, ICb, IDb, IEb, IFb, IGb, (IH) (IHa) или (IHb);  $R_3$  является водородом в соединениях формулы IA, IAa или IAb;  $R_3$  является метоксигруппой в соединениях формулы IB, IBa или IBb, предпочтительно,  $R_3$  является водородом;

группа Ab, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент является моноклональным антителом, которое иммуноспецифически связывается с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами, антигенами клеток, которые продуцируют аутоиммунные антитела, ассоциированные с аутоиммунным заболеванием, микробными антигенами и, предпочтительно, моноклональным антителом, которое иммуноспецифически связывается с антигенами раковой клетки; и

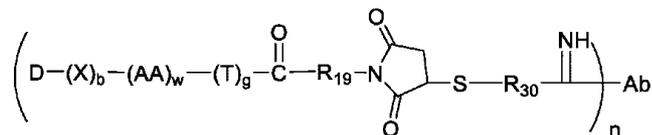
$n$  является отношением группы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]$  где L такой, как определен в формулах (IV), (V) или (VI), с группой Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым числом от 3 до 8.

(c) конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению, выбранный из формул (IV), (V) и (VI):



(IV)

(V)



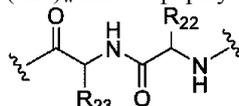
(VI)

где:  $\text{R}_{19}$  выбирают из  $-\text{C}_1-\text{C}_6$  алкилена-, -фенилен- $-\text{C}_1-\text{C}_6$  алкилена-, где фениленовая группа может быть необязательно замещена одним или несколькими заместителями  $\text{R}_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп, где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенных к другой группе в углеродной цепи, необязательно может быть замещен одним или несколькими заместителями  $\text{R}_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, арильных групп, имеющих от 6 до 12 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп, и предпочтительно,  $\text{R}_{19}$  является  $\text{C}_1-\text{C}_6$  алкиленовой группой;

$\text{R}_{30}$  является  $-\text{C}_2-\text{C}_4$  алкиленовой- группой;

$\text{M}$  является  $-\text{C}_1-\text{C}_3$  алкилен- $(\text{C}_5-\text{C}_7$  карбоцикло)-;

$w$  равен 0 или 2, и если  $w$  равен 2, то  $(\text{AA})_w$  имеет формулу (III):



(III)

где волнистая линия означает точку ковалентных присоединений к  $(\text{X})_b$ , если имеется, или к группе лекарственного средства (волнистая линия налево) и к  $(\text{T})_g$ , если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо);

$\text{R}_{22}$  выбирают из метила, бензила, изопропила, втор-бутила и индолилметила;

$\text{R}_{23}$  выбирают из метила,  $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ ,  $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$  и  $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ ;

$\text{X}$  является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из  $-\text{COO}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{NH}$ -,  $-\text{COO}-\text{CH}_2$ -фенилен- $\text{NH}$ -, где указанная фениленовая группа необязательно может быть замещена от одного до четырех заместителями  $\text{R}_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп,  $-\text{COO}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{NH}-\text{COO}-\text{CH}_2$ -(фенилен, который необязательно может быть замещен от одного до четырех заместителями  $\text{R}_x$ , выбранных из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп или цианогрупп)- $\text{NH}$ -,  $-\text{COCH}_2\text{NH}-\text{COCH}_2-\text{NH}$ -,  $-\text{COO}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{S}$ - и  $-\text{COO}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_3$  алкилен) $\text{S}$ -;

$b$  равен 0 или 1, предпочтительно, 1;

где  $\text{T}$  является удлиняющей группой, выбранной из  $-\text{CO}-(\text{C}_1-\text{C}_4$  алкилен)- $\text{NH}$ -,  $-\text{CO}-(\text{C}_1-\text{C}_4$  алкилен)- $[\text{O}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен)] $_j$ - $\text{NH}$ - и  $-\text{COO}-(\text{C}_1-\text{C}_4$  алкилен)- $[\text{O}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен)] $_j$ - $\text{NH}$ -, где  $j$  является целым числом от 1 до 5;

$g$  равен 0 или 1;

$\text{D}$  является группой лекарственного средства формулы I, IA, IC, ID, IE, IG, IH, Ia, IAa, ICa, IDa, IEa, IGa, Ib, IAb, ICb, IDb, IEb, IGb, (IHa) или (IHb) или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером где:

$\text{R}_1$  является CN;

$\text{R}_2$  является ацетилом;

$\text{R}_3$  является водородом;

$\text{Y}$  является  $-\text{NH}$ - или  $-\text{O}$ -;

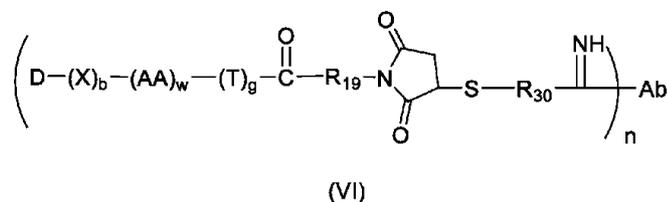
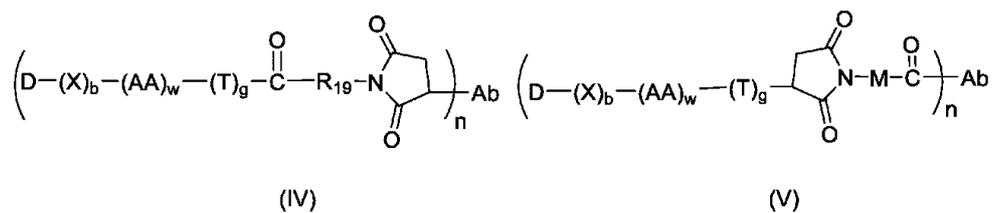
$\text{Z}$  является  $-\text{NH}$ -;

группа  $\text{Ab}$ , содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является моноклональным антителом, выбранным из группы, состоящей из абциксимаба, алемтузумаба, анетумаба, атезолизумаба, авелумаба, базиликсимаба, бевацизумаба, блинатумаба, брентуксимаба, катумаксумаба, цетуксимаба, колтуксимаба, даклизумаба, даратумаба, денинтузумаба, деносумаба,

депатуксизумаба, динутуксимаба, дурвалумаба, элотузумаба, энфортумаба, глембатумумаба, гемтузумаба, ибритумомаба, индатуксимаба, индусатумаба, инотузумаба, ипилимумаба, лабетузумаба, ладиратузумаба, лапритуксимаба, лифастузумаба, лорвотузумаба, милатузумаба, мирветуксимаба, наратуксимаба, нецитумумаба, нимотузумаба, ниволумаба, обинутузумаба, офатумумаба, оларатумаба, омализумаба, паливизумаба, панитумумаба, пембролизумаба, пертузумаба, пинатузумаба, полатузумаба, рамуцирумаба, ровальпитузумаба, сацитузумаба, силтуксимаба, сиртратумаба, софитузумаба, вадастуксимаба, ворсетузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD 30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, где предпочтительно, антитело выбирают из абциксимаба, алемтузумаба, анетумаба, атезолизумаба, авелумаба, базиликсимаба, бевацизумаба, блинатомумаба, брентуксимаба, катумаксомаба, цетуксимаба, даклизумаба, даратумумаба, денинтузумаба, деносумаба, депатуксизумаба, динутуксимаба, дурвалумаба, элотузумаба, энфортумаба, глембатумумаба, гемтузумаба, ибритумомаба, индатуксимаба, индусатумаба, инотузумаба, ипилимумаба, лабетузумаба, ладиратузумаба, лапритуксимаба, мирветуксимаба, наратуксимаба, нецитумумаба, нимотузумаба, ниволумаба, обинутузумаба, офатумумаба, оларатумаба, омализумаба, паливизумаба, панитумумаба, пембролизумаба, пертузумаба, полатузумаба, рамуцирумаба, ровальпитузумаба, сацитузумаба, силтуксимаба, сиртратумаба, вадастуксимаба, ворсетузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD 30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, и еще более предпочтительно, абциксимаба, алемтузумаба, анетумаба, атезолизумаба, авелумаба, базиликсимаба, бевацизумаба, блинатомумаба, брентуксимаба, катумаксомаба, цетуксимаба, даклизумаба, даратумумаба, деносумаба, динутуксимаба, дурвалумаба, элотузумаба, гемтузумаба, ибритумомаба, инотузумаба, ипилимумаба, лабетузумаба, нецитумумаба, нимотузумаба, ниволумаба, обинутузумаба, офатумумаба, оларатумаба, омализумаба, паливизумаба, панитумумаба, пембролизумаба, пертузумаба, рамуцирумаба, ровальпитузумаба, силтуксимаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD 30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части. Из них особенно предпочтительными являются брентуксимаб, гемтузумаб, инозутумаб, ровальпитузумаб, трастузумаб, анти-CD4 антитело, анти-CD5 антитело, анти-CD13 антитело и анти-CD 30 антитело или их антигенсвязывающ фрагмент или иммунологически активная часть; или антитело выбирают из Трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активная часть, в частности, трастузумаба или его антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; и

n является отношением группы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]$ , где L такой, как определен в формулах (IV), (V) или (VI) к группе Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым числом от 3 до 5.

(d) конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению, выбранный из формул (IV), (V) и (VI):

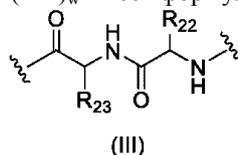


где:  $R_{19}$  является  $-C_2-C_6$  алкиленом-;

$R_{30}$  является  $-C_2-C_4$  алкиленом-;

M является  $-C_1-C_3$  алкилен- $(C_5-C_7$  карбоцикло)-;

w равен 0 или 2, и если w равен 2, то  $(AA)_w$  имеет формулу (III):



где  $R_{22}$  является изопропиллом,  $R_{23}$  выбирают из метила и  $-(CH_2)_3NHCONH_2$ , где волнистая линия

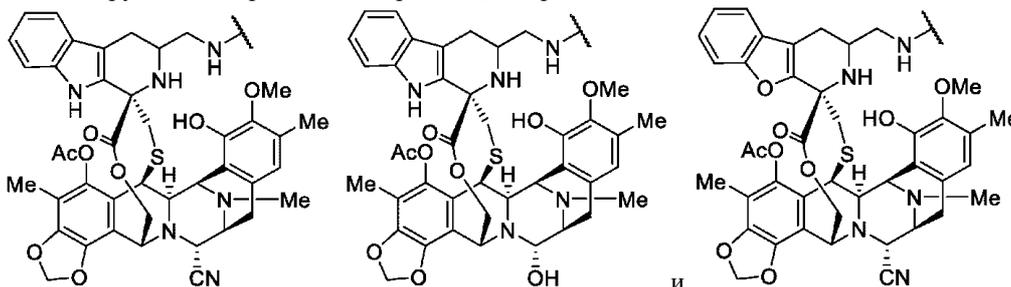
означает точку ковалентных присоединений к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или к группе лекарственного средства (волнистая линия налево) и к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо);

X является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из -COO-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)NH-, -COO-CH<sub>2</sub>-фенилен-NH-, где указанная фениленовая группа необязательно может быть замещена от одного до четырех заместителями R<sub>x</sub>, выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп, -COO-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)NH-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен, который необязательно может быть замещен от одного до четырех заместителями R<sub>x</sub>, выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп)-NH-, -COCH<sub>2</sub>NH-COCH<sub>2</sub>-NH-, -COO-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)S- и -COO-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилен)S-;

b равен 0 или 1, предпочтительно, 1; где T является удлиняющей группой, выбранной из -CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)-NH-, -CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)]<sub>j</sub>-NH- и -COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен)]<sub>j</sub>-NH-, где j является целым числом от 1 до 5;

g равен 0 или 1;

D является группой лекарственного средства, выбранной из:

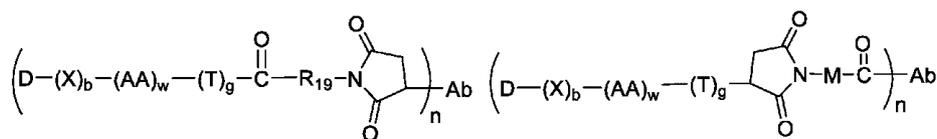


или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером; где волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или к (L);

группа Ab, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, выбранный из Brentuxимаба, Гемтузумаба, Инозугумаба, Ровалпитузумаба, Трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD 30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, и более предпочтительно, его выбирают из Трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, в частности, Трастузумаба или его антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; и

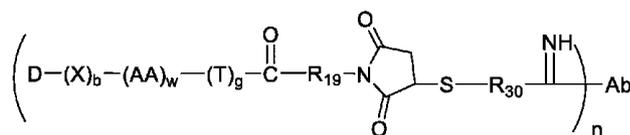
n является отношением группы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)-], где L такой, как определен в формулах (IV), (V) или (VI) к группе Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым числом от 3 до 5.

(e) конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению, выбранный из формул (IV), (V) и (VI):



(IV)

(V)



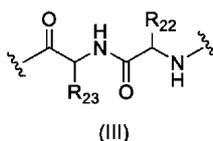
(VI)

где: R<sub>19</sub> является -C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> алкиленом-;

R<sub>30</sub> является -C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкиленом-;

M является -C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилен-(C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> карбоцикло)-;

w равен 0 или 2, и если w равен 2, то (AA)<sub>w</sub> имеет формулу (III):



где  $R_{22}$  является изопропилом,  $R_{23}$  выбирают из метила и  $-(CH_2)_3NHCONH_2$ , и волнистая линия означает точку ковалентных присоединений к  $(X)_b$ , если имеется, или к группе лекарственного средства (волнистая линия налево) и к  $(T)_g$ , если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо);

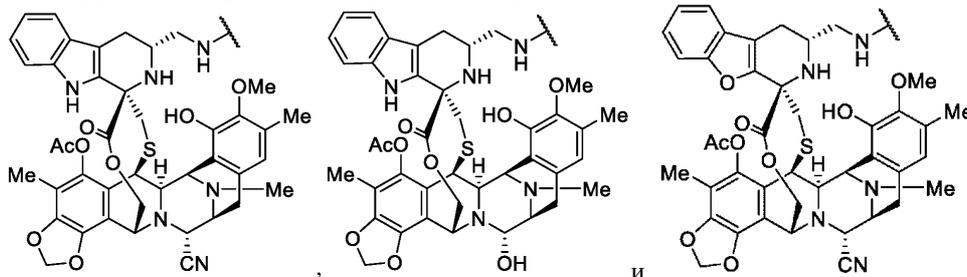
$X$  является удлинняющей группой, выбранной из группы, состоящей из  $-COO-(C_2-C_4 \text{ алкилен})NH-$ ,  $-COO-CH_2$ -фенилен- $NH-$ , где указанная фениленовая группа необязательно может быть замещена от одного до четырех заместителями  $R_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп,  $-COO-(C_2-C_4 \text{ алкилен})NH-COO-CH_2$ -(фенилен, который необязательно может быть замещен от одного до четырех заместителями  $R_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп)- $NH-$ ,  $-COCH_2NH-COCH_2-NH-$ ,  $-COO-(C_2-C_4 \text{ алкилен})S-$  и  $-COO-(C_2-C_4 \text{ алкилен})NHCO(C_1-C_3 \text{ алкилен})S-$ ;

$b$  равен 0 или 1, предпочтительно, 1;

где  $T$  является удлинняющей группой, выбранной из  $-CO-(C_1-C_4 \text{ алкилен})-NH-$ ,  $-CO-(C_1-C_4 \text{ алкилен})-[O-(C_2-C_4 \text{ алкилен})]_j-NH-$  и  $-COO-(C_1-C_4 \text{ алкилен})-[O-(C_2-C_4 \text{ алкилен})]_j-NH-$ , где  $j$  является целым числом от 1 до 5;

$g$  равен 0 или 1;

$D$  является группой лекарственного средства, выбранной из:

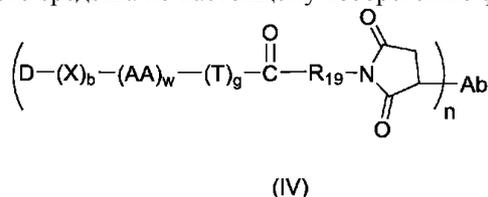


или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером; где волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к  $(X)_b$ , если имеется, или  $(AA)_w$  если имеется, или к  $(T)_g$ , если имеется, или к  $(L)$ ;

группу  $Ab$ , содержащую, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, выбирают из брентуксимаба, гемтузумаба, инозутумаба, ровалпитузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD 30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, и более предпочтительно, ее выбирают из Трастузумаба и анти-CD13 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; и

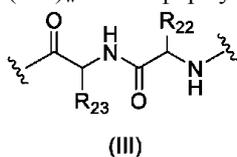
$n$  является отношением группы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]$ , где  $L$  такой, как определен в формулах (IV), (V) или (VI) к группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым числом от 3 до 5.

(f) конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению формулы (IV):



где  $R_{19}$  является  $C_2-C_5$  алкиленом-;

$w$  равен 0 или 2, и если  $w$  равен 2, то  $(AA)_w$  имеет формулу (III):



где  $R_{22}$  является изопропилом,  $R_{23}$  выбирают из метила и  $-(CH_2)_3NHCONH_2$  и волнистая линия означает точку ковалентных присоединений к  $(X)_b$  (волнистая линия налево) и к  $(T)_g$ , если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо); и

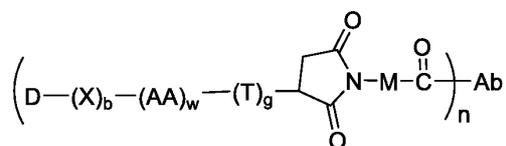
X является  $-\text{COOCH}_2$ -фенилен-NH группой;

b равен 1;

T является удлиняющей группой формулы  $-\text{CO}-(\text{C}_1-\text{C}_4\text{алкилен})-[\text{O}-(\text{C}_2-\text{C}_4\text{алкилен})]_4-\text{NH}-$ ;

g равен 0 или 1;

или формулы (V)



(V)

где M является -метилциклогексиленом-;

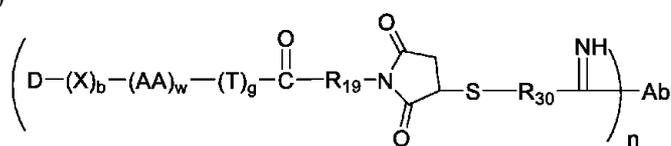
b равен 1;

w равен 0;

X является удлиняющей группой, выбранной из  $-(\text{CH}_2)_3\text{S}-$  и  $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCO}(\text{CH}_2)_2\text{S}-$ ;

g равен 0;

или формулы (VI)

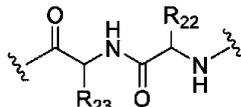


(VI)

где  $R_{19}$  является  $-\text{C}_2-\text{C}_5$  алкиленом-;

$R_{30}$  является  $-\text{C}_3$  алкиленом-;

w равен 0 или 2, и если w равен 2, то  $(AA)_w$  имеет формулу (III):



(III)

где  $R_{22}$  является изопропилом,  $R_{23}$  выбирают из метила и  $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$  и волнистая линия означает точку ковалентных присоединений к  $(X)_b$  (волнистая линия налево) и к  $(T)_g$ , если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо); и

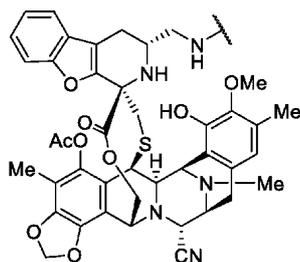
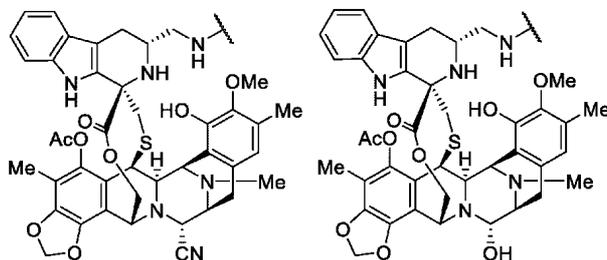
X является  $-\text{COOCH}_2$ -фенилен-NH группой;

b равен 1;

T является удлиняющей группой формулы  $-\text{CO}-(\text{C}_1-\text{C}_4\text{ алкилен})-[\text{O}-(\text{C}_2-\text{C}_4\text{ алкилен})]_4-\text{NH}-$ ;

g равен 0 или 1;

D является группой лекарственного средства, выбранной из:

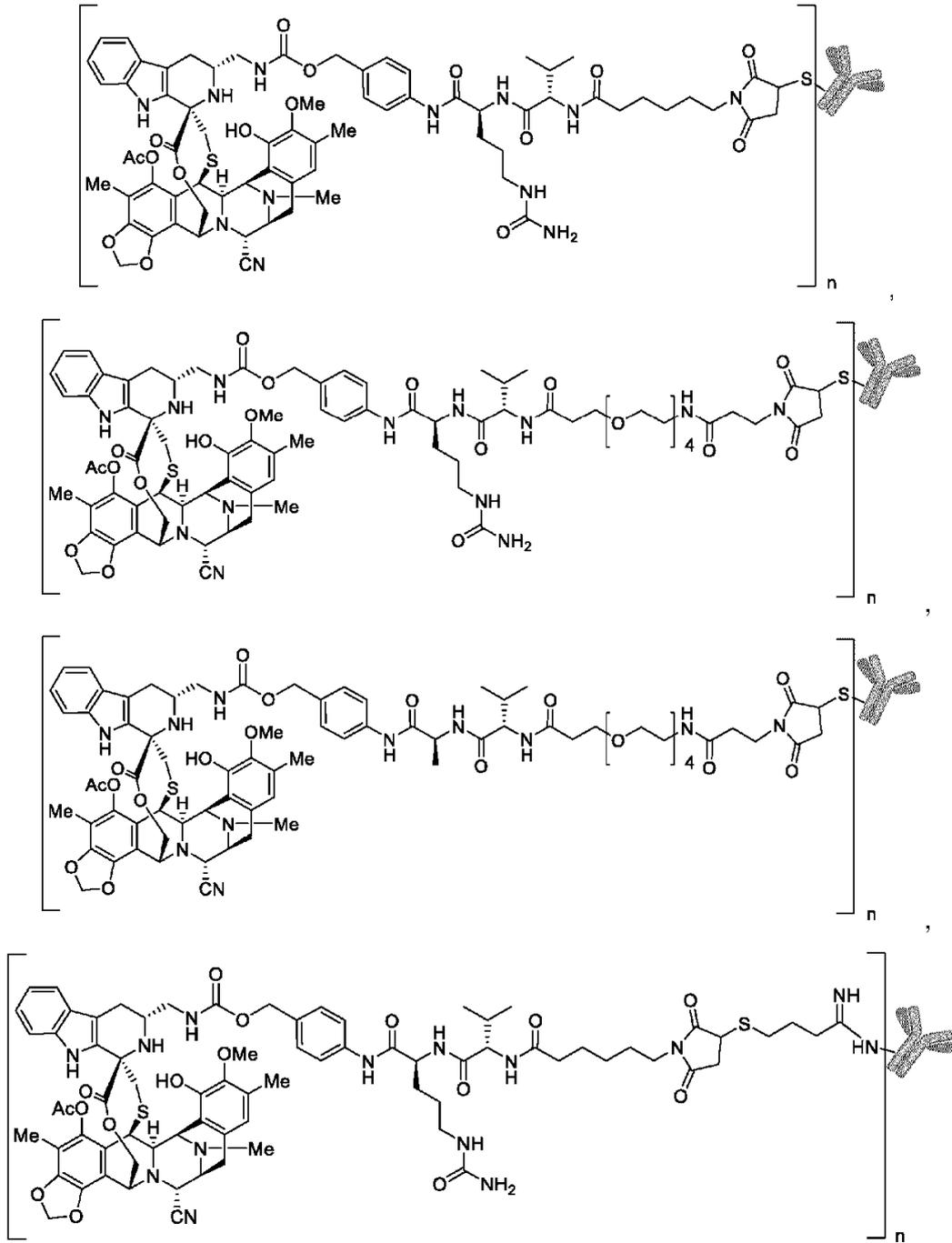


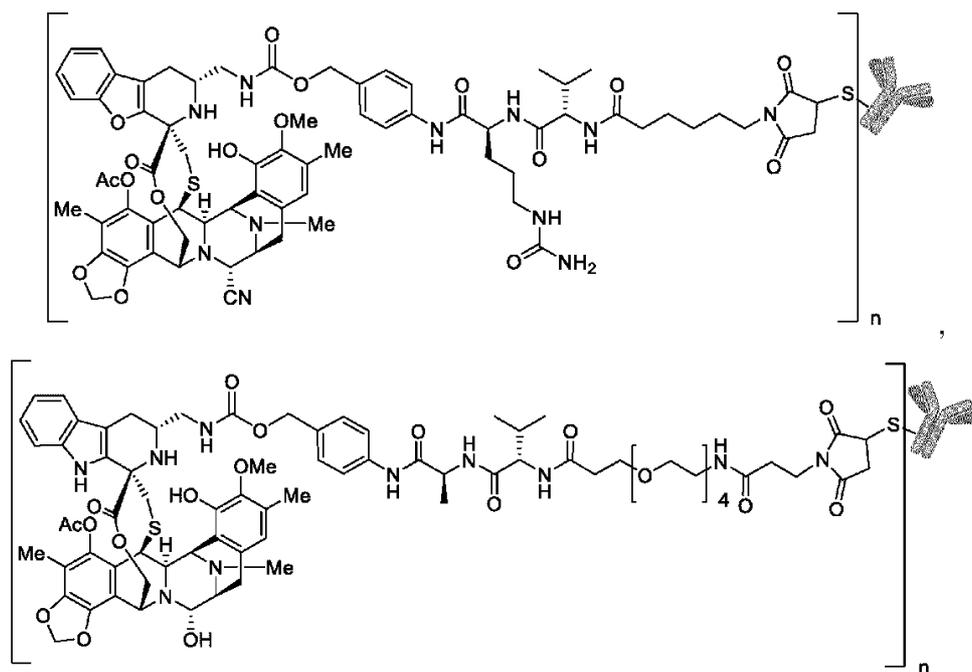
или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером; где волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к  $(X)_b$ ;

группой Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, является брентуксимаб, гемтузумаб, инозутумаб, ровалпитузумаб, трастузумаб, анти-CD4 антитело, анти-CD5 антитело, анти-CD13 антитело и анти-CD30 антитело или их антигенсвязывающий фрагмент или иммунологически активная часть, и более предпочтительно, ее выбирают из Трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, в частности, Трастузумаба или его антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; и

n является отношением группы  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)-]$ , где L такой, как определен в формуле (IV), к группе Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и является целым числом от 3 до 5 и, предпочтительно, 4.

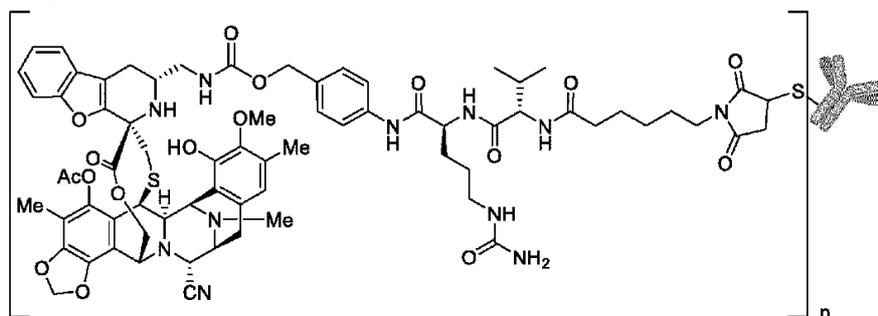
г) конъюгат антитело-лекарственное средство по настоящему изобретению, выбранный из группы, состоящей из:



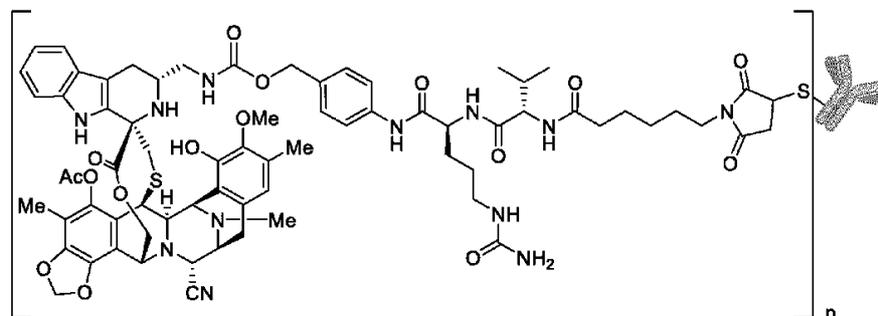


где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и каждый  и  независимо выбирают из брентуксимаба, гемтузумаба, инозутумаба, ровалпитузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, и более предпочтительно, его выбирают из трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, в частности, трастузумаба или его антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части.

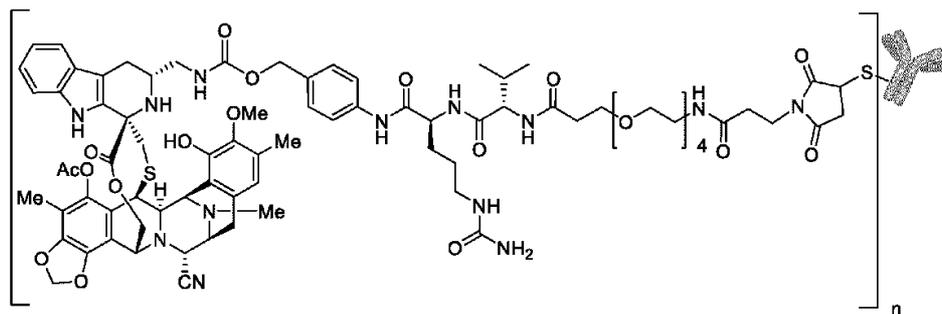
В варианте осуществления, конъюгаты антитело-лекарственное средство по настоящему изобретению исключают:



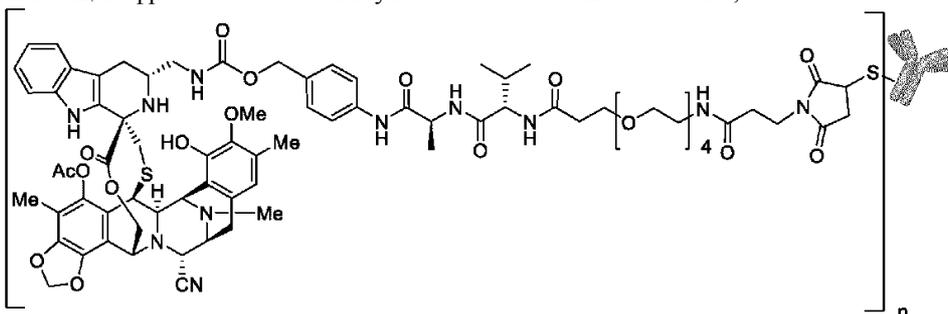
Более предпочтительно, конъюгат антитело-лекарственное средство выбирают из группы, состоящей из:



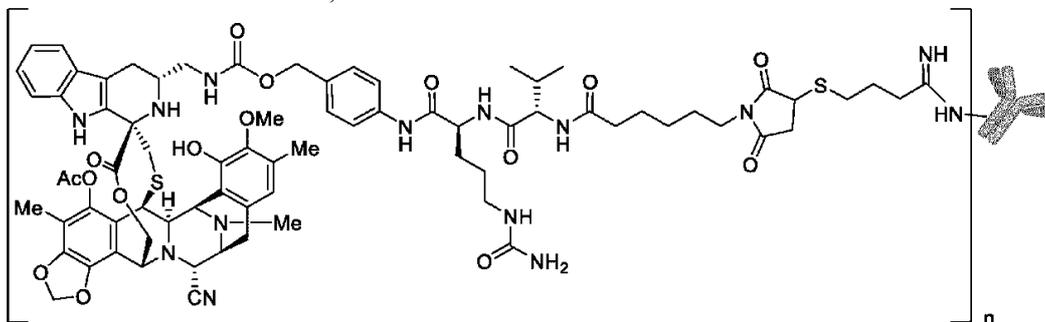
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5 и  выбирают из трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, более предпочтительно, является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



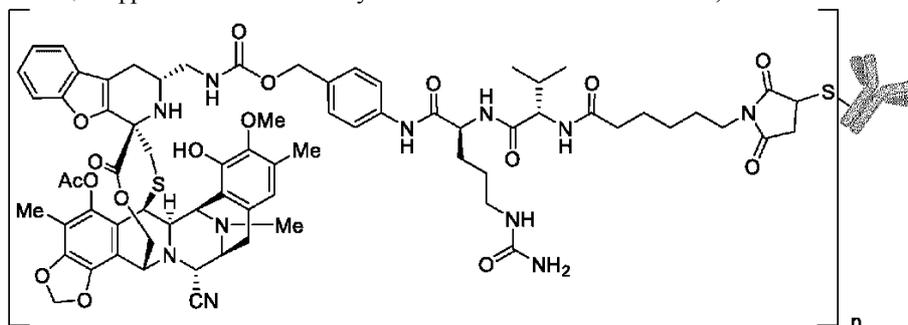
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5 и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



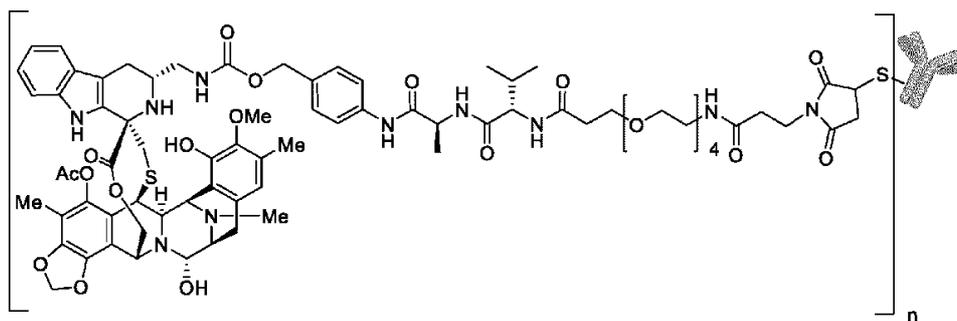
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5 и  выбирают из трастузумаба и анти-CD13 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, более предпочтительно, является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5 и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,

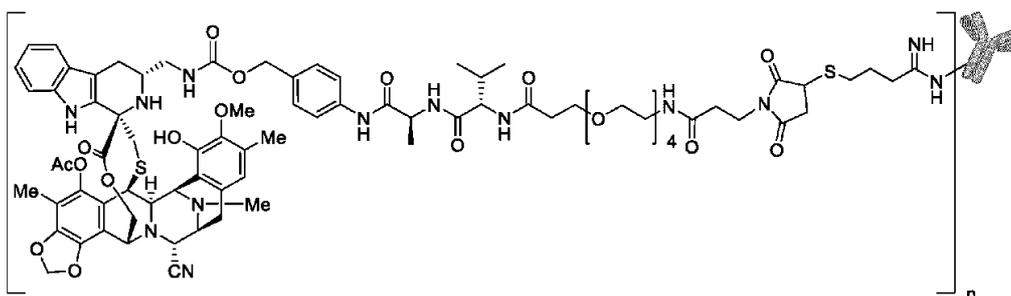
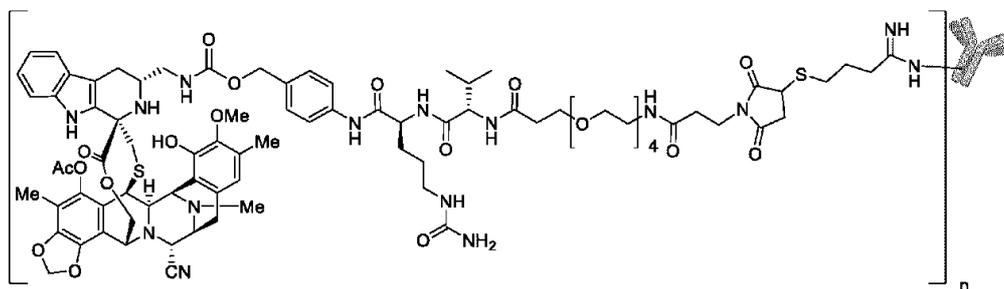
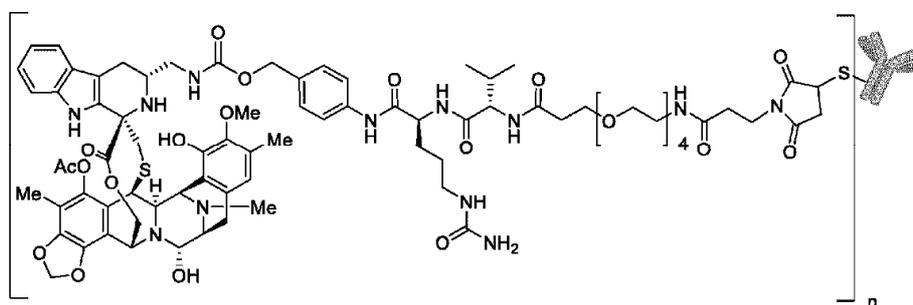
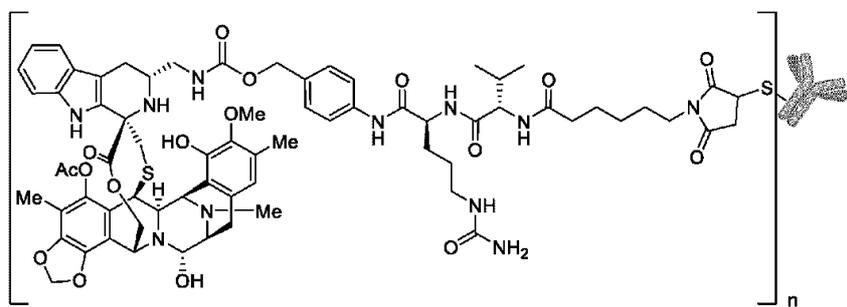


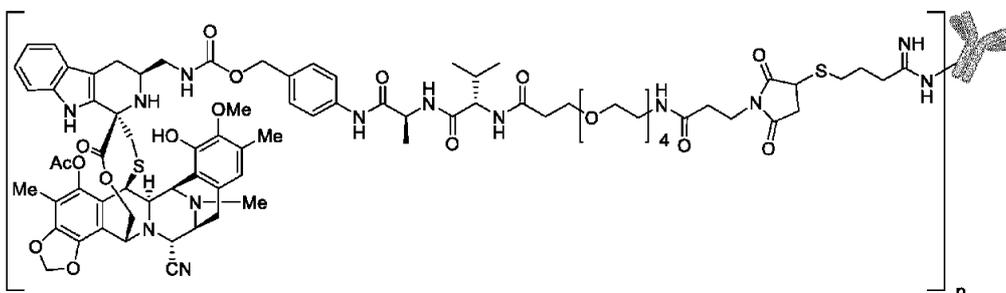
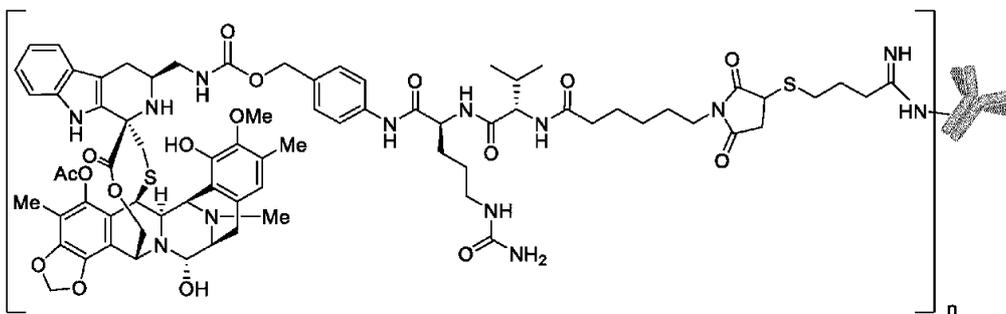
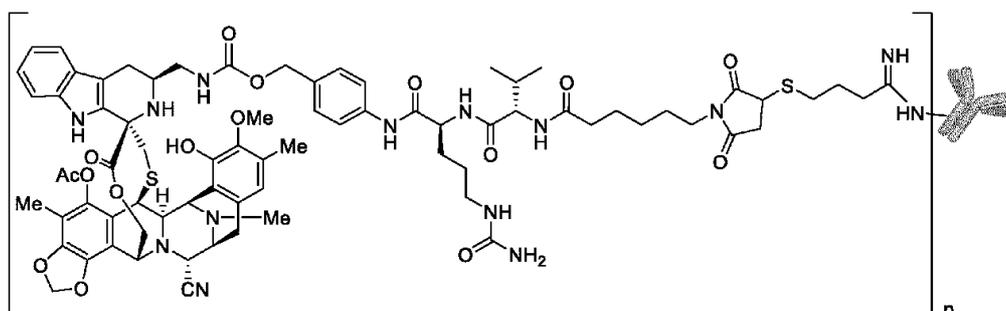
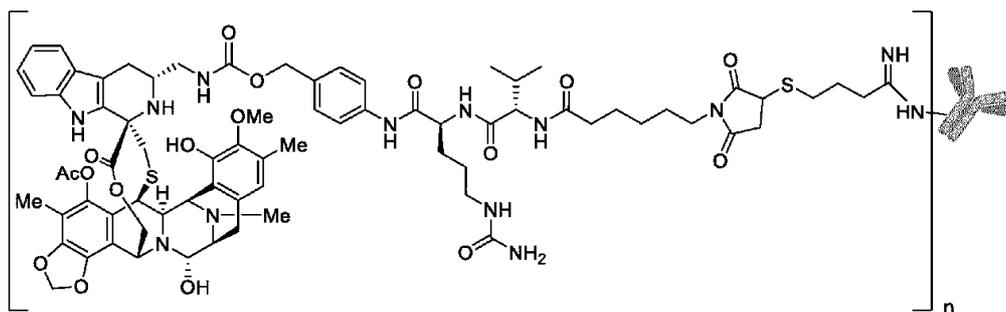
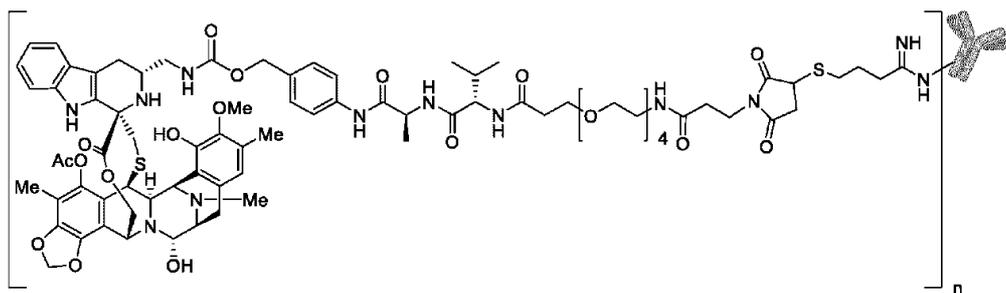
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5 и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью, и

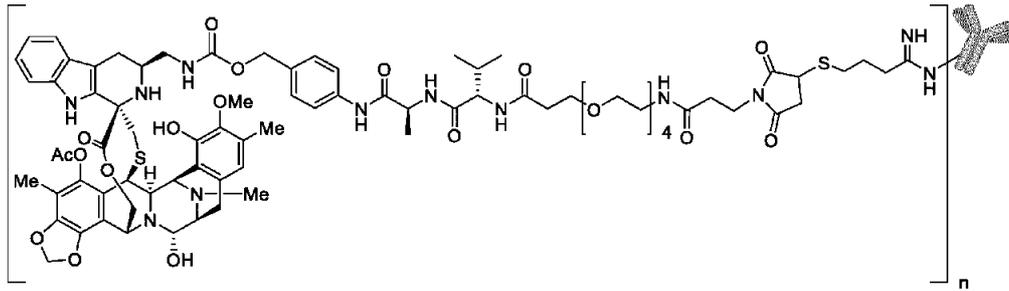


где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5 и  выбирают из трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, более предпочтительно, является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью.

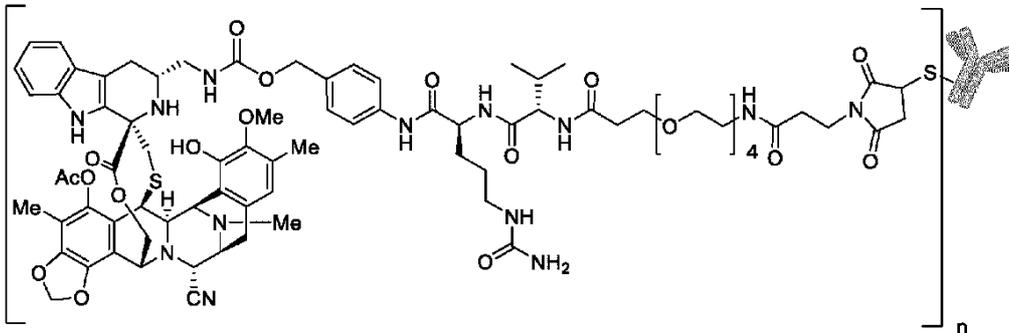
h) конъюгат антитело-лекарственное средство по настоящему изобретению, выбран из группы, состоящей из:





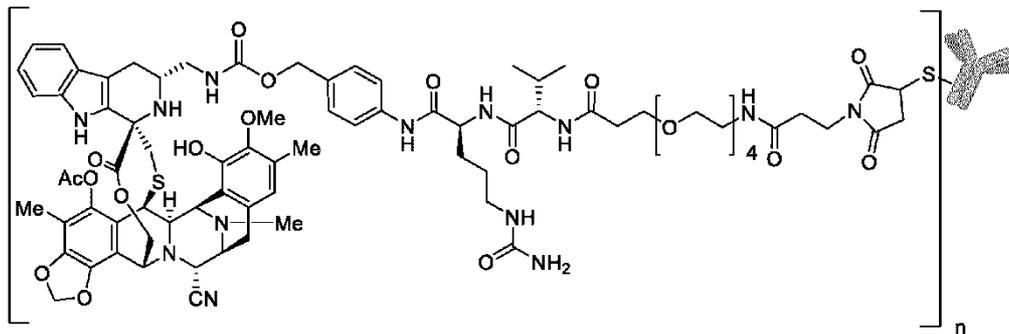


где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и каждый S- и HN- независимо выбирают из брентуксимаба, гемтузумаба, инозугумаба, ровалпитузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, и более предпочтительно, его выбирают из трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, в частности, Трастузумаба или его антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; или

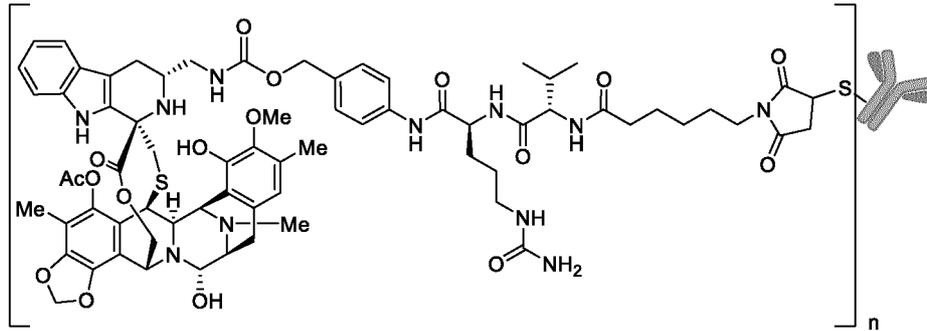


где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и S- является анти-CD13 антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью.

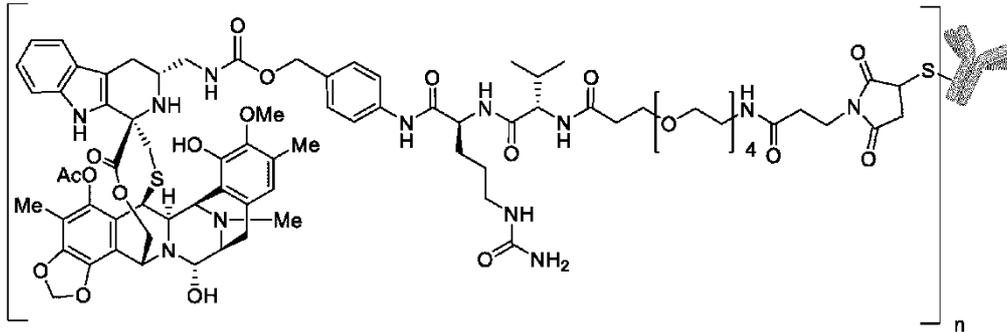
Более предпочтительно, конъюгат антитело-лекарственное средство выбирают из группы, состоящей из:



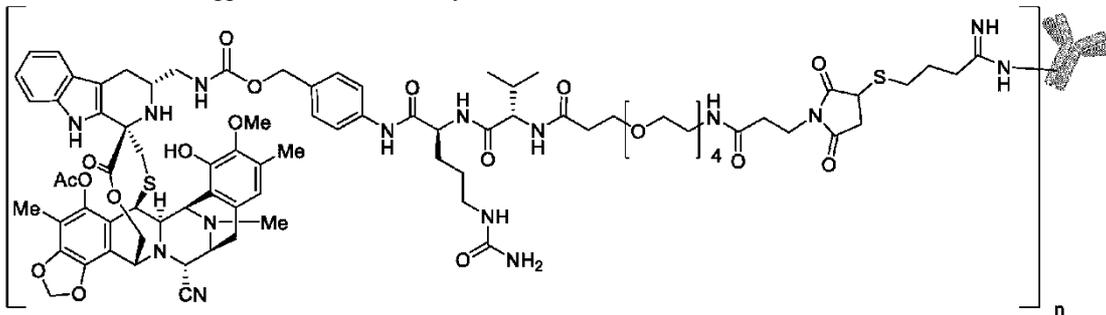
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и S- является анти-CD13 антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью.



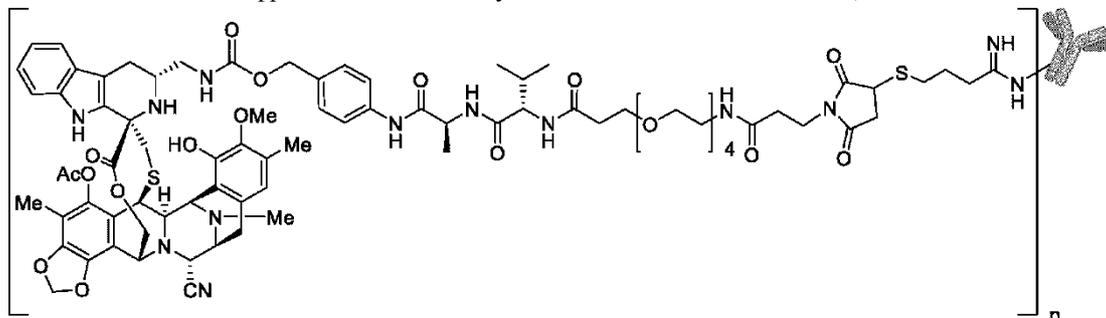
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



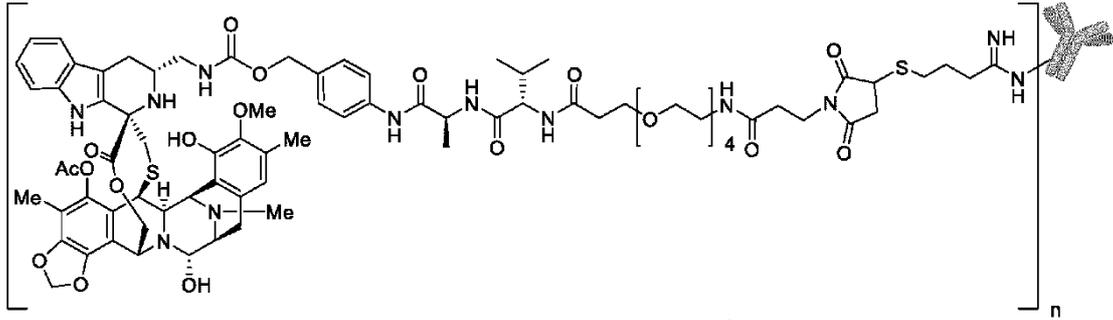
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



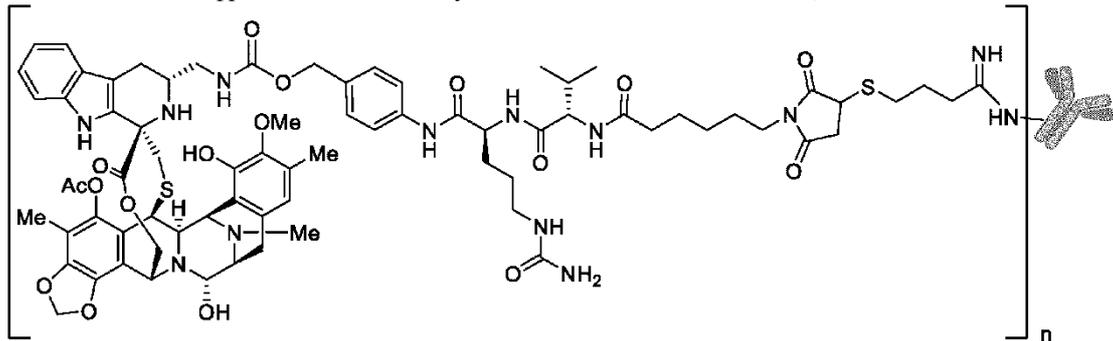
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



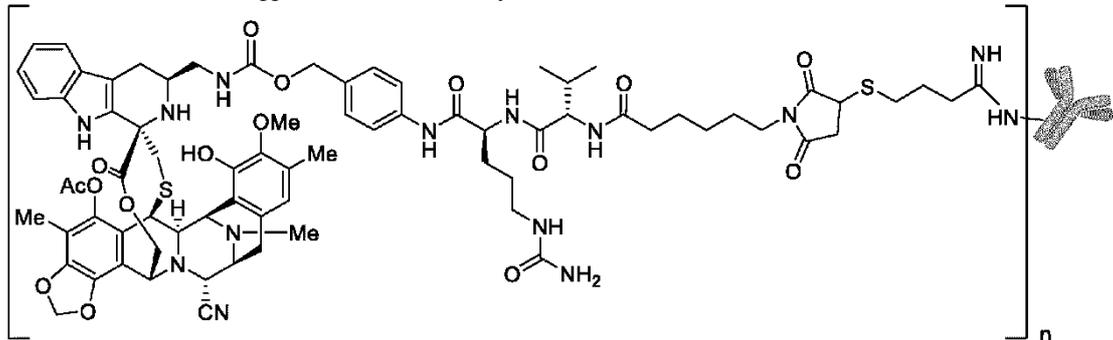
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



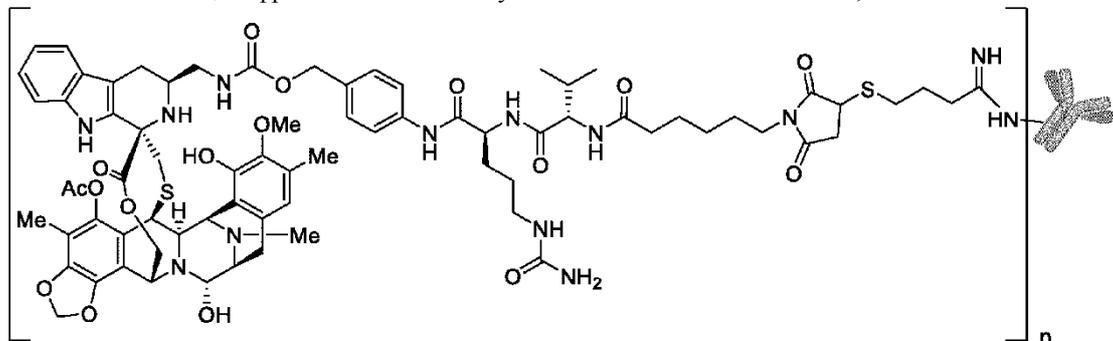
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



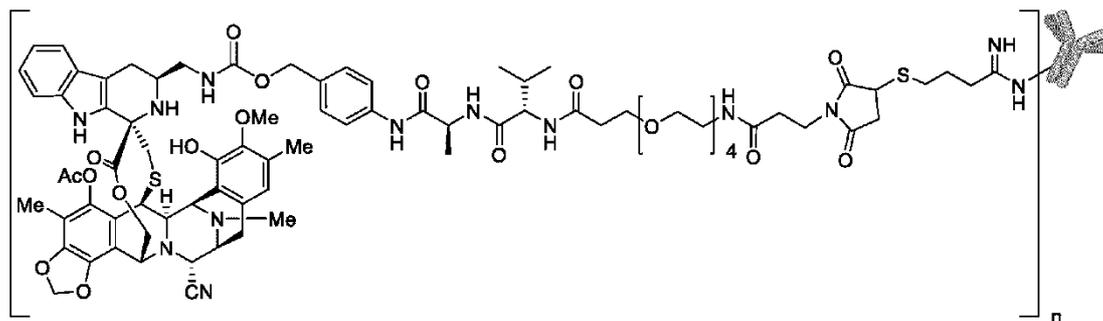
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



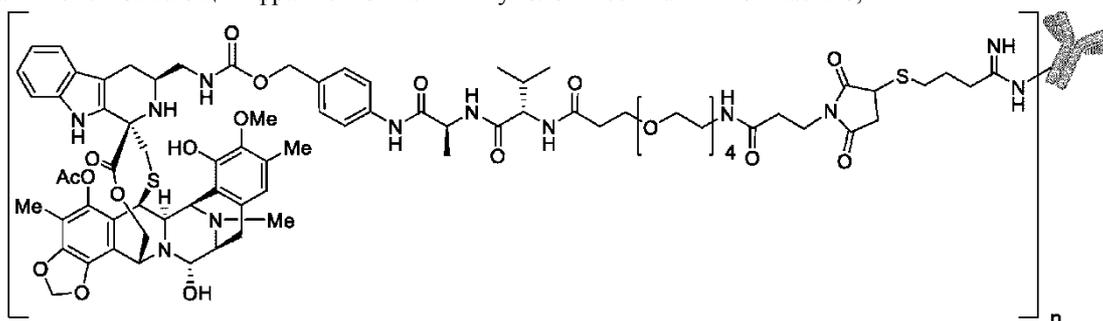
где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью,



где  $n$  равен от 2 до 6, более предпочтительно, 3, 4 или 5, и  является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью.

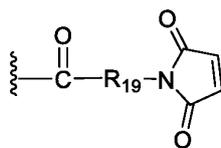
Особенно предпочтительно, конъюгаты антитело-лекарственное средство по настоящему изобретению должны быть в выделенной или очищенной форме.

Предпочтительные соединения формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-L_1$  или формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$  по настоящему изобретению включают:

соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-L_1$  или формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$ , где каждый из  $D$ ,  $X$ ,  $AA$ ,  $T$ ,  $L_1$ ,  $b$ ,  $g$  и  $w$  такие, определено в настоящем документе в настоящем изобретении; но дополнительно, где если соединением является соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$ , то  $b+w+g \neq 0$ .

соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-L_1$  или формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$  по настоящему изобретению где:

$L_1$  является линкером формулы:



где: волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к  $(T)_g$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(X)_b$ , если имеется, или к  $D$ ;

$R_{19}$  выбирают из  $-C_1-C_{12}$  алкилена-,  $-O-(C_1-C_{12}$  алкилена),  $-C_6-C_{12}$  арилена в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-C_1-C_{12}$  алкилен- $C_6-C_{12}$  арилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-C_6-C_{12}$  арилен- $C_1-C_{12}$  алкилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-C_5-C_{12}$  гетероцикло-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-C_1-C_{12}$  алкилен- $(C_5-C_{12}$  гетероцикло)-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-(C_5-C_{12}$  гетероцикло)- $C_1-C_{12}$  алкилена-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, имеющей одно или несколько колец и содержащей, по меньшей мере, один атом кислорода, азота или серы в указанных кольцах, где указанная группа необязательно замещена одним или несколькими заместителями  $R_x$ ,  $-(OCH_2CH_2)_f$ - и

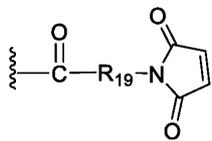
$-\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-$ , где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенных к другой группе углеродной цепи, может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями  $R_x$ ;

$g$  является целым числом от 1-6; и

каждый из  $D$ ,  $R_x$ ,  $X$ ,  $AA$ ,  $T$ ,  $b$ ,  $g$  и  $w$  такой, как определен в настоящем изобретении; но где если соединением является соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$ , то  $b+w+g \neq 0$ .

соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-L_1$  или формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$  по настоящему изобретению, где:

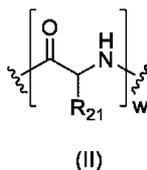
$L_1$  является линкером формулы:



где: волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к  $(T)_g$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(X)_b$ , если имеется, или к  $D$ ;

$R_{19}$  выбирают из  $-\text{C}_1-\text{C}_8$  алкилена-,  $-\text{O}-(\text{C}_1-\text{C}_8$  алкилена),  $-\text{C}_1-\text{C}_8$  алкилен- $\text{C}_6-\text{C}_{12}$  арилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$  и  $-\text{C}_6-\text{C}_{12}$  арилен- $\text{C}_1-\text{C}_8$  алкилена-, где ариленовая группа находится в одном или нескольких кольцах которые могут быть необязательно замещены одним или несколькими заместителями  $R_x$ , где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенных к другой группе углеродной цепи, может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями  $R_x$ ;

$(AA)_w$  имеет формулу (II):



где волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к  $(X)_b$ , если имеется, или к  $D$  (волнистая линия налево) и к  $(T)_g$ , если имеется, или  $L_1$  или к атому водорода (волнистая линия направо);

где  $R_{21}$  в каждом случае выбирают из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, втор-бутила, бензила, индолилметила,  $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ ,  $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ ,  $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$  и  $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$  и  $w$  является целым числом от 0 до 6;

$X$  является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из

если  $D$  конъюгирован через аминную группу (например, где  $Z$  является  $-\text{NH}-$ ):  $-\text{COO}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{NH}-$ ,  $-\text{COO}-\text{CH}_2$ -фенилен- $\text{NH}$ , где указанная фениленовая группа необязательно может быть замещена от одного до четырех заместителями  $R_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп,  $-\text{COO}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{NH}-\text{COO}-\text{CH}_2$ -(фенилен, который необязательно может быть замещен от одного до четырех заместителями  $R_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп)- $\text{NH}-$ ,  $-\text{COCH}_2\text{NH}-\text{COCH}_2-\text{NH}-$ ,  $-\text{COO}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{S}-$  и  $-\text{COO}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен)- $\text{NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_3$  алкилен) $\text{S}-$ , или

если  $D$  конъюгирован через гидроксигруппу (например, где  $Z$  является  $-\text{O}-$ ):  $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{NH}-$ ,  $-\text{COO}-\text{CH}_2$ -фенилен- $\text{NH}$ , где указанная фениленовая группа необязательно может быть замещена от одного до четырех заместителями  $R_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп,  $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{NH}-\text{COO}-\text{CH}_2$ -(фенилен, который необязательно может быть замещен от одного до четырех заместителями  $R_x$ , выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп)- $\text{NH}-$ ,  $-\text{COCH}_2\text{NH}-\text{COCH}_2-\text{NH}-$ ,  $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{S}-$  и  $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен) $\text{NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_3$  алкилен) $\text{S}-$ ;

$T$  является удлиняющей группой, выбранной из  $-\text{CO}-(\text{C}_1-\text{C}_4$  алкилен)- $\text{NH}-$ ;  $-\text{CO}-(\text{C}_1-\text{C}_4$  алкилен)- $[\text{O}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен)] $_j$ - $\text{NH}-$  и  $-\text{COO}-(\text{C}_1-\text{C}_4$  алкилен)- $[\text{O}-(\text{C}_2-\text{C}_4$  алкилен)] $_j$ - $\text{NH}-$ , где  $j$  является целым числом от 1 до 10;

$b$  равен 0 или 1;

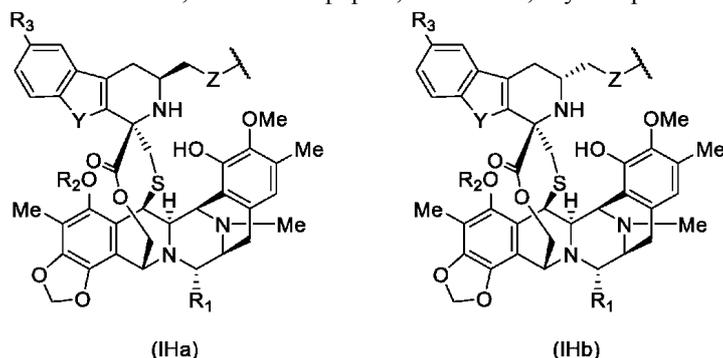
$g$  равен 0 или 1;

где если соединением является соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$ , то  $b+w+g \neq 0$ ; и

$D$  является группой лекарственного средства формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb; и ковалентно присоединен через гидроксид или

аминовую группу; или

является группой лекарственного средства формулы (IHa) или формулы (IHb) или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером где:



где волнистые линии (IHa) и (IHb) означают точку ковалентного присоединения к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или к L<sub>1</sub>;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой, где R<sub>a</sub> выбирают из водорода и замещенного или незамещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, где необязательными заместителями являются один или несколько заместителей R<sub>x</sub>;

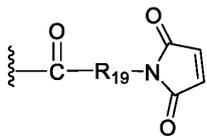
R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой, где R<sub>b</sub> является замещенной или незамещенной C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкильной группой, где необязательными заместителями являются один или несколько заместителей R<sub>x</sub>.

Y является -NH- или -O-; и

Z является -NH- или -O-.

- соединение формулы D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-L<sub>1</sub> или формулы D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-H по настоящему изобретению, где:

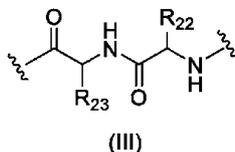
L<sub>1</sub> является группой формулы:



где: волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или к D;

R<sub>19</sub> выбирают из -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилена-, фенилен-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилена-, где фениленовая группа может быть необязательно замещена одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп, где каждый из вышеуказанных алкиленовых заместителей, по отдельности или присоединенных к другой группе в углеродной цепи, необязательно может быть замещен одним или несколькими заместителями R<sub>x</sub>, выбранными из группы, состоящей из алкильных групп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, алкоксигрупп, имеющих от 1 до 6 атомов углерода, арильных групп, имеющих от 6 до 12 атомов углерода, атомов галогена, нитрогрупп и цианогрупп, и, предпочтительно, R<sub>19</sub> является C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкиленовой группой;

w равен 0 или 2, и если w равен 2, то (AA)<sub>w</sub> имеет формулу (III):



где волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к X (волнистая линия налево) и к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или L<sub>1</sub> или к атому водорода (волнистая линия направо);

R<sub>22</sub> выбирают из метила, бензила, изопропила, втор-бутила и индолилметила;

R<sub>23</sub> выбирают из метила, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCONH<sub>2</sub> и -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>;

X является удлиняющей группой, выбранной из

если D конъюгирован через аминокислотную группу (например, где Z является -NH-): -COO-CH<sub>2</sub>-фенилен-NH-, -COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOO-CH<sub>2</sub>-фенилен-NH-, -COO-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH-, -COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-S- и -COO-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S-, или

если D конъюгирован через гидроксигруппу (например, где Z является -O-): -COO-CH<sub>2</sub>-фенилен-NH-, -CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOOCH<sub>2</sub>-фенилен-NH-, -CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH-, -CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-S- и -CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S-,

где T является удлиняющей группой, выбранной из -CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)-NH-, -CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)]<sub>j</sub>-NH- и -COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> алкилен)]<sub>j</sub>-NH-, где j является целым числом

от 1 до 5;

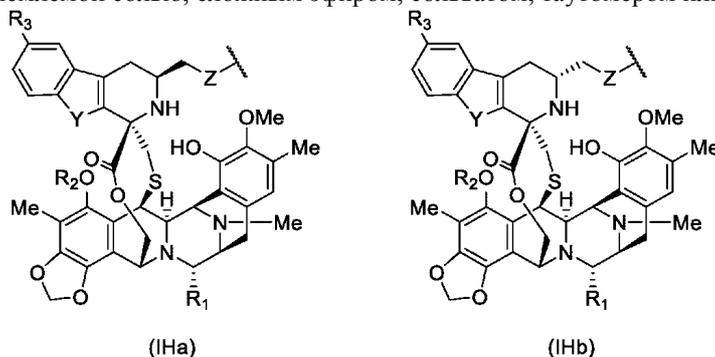
b равен 0 или 1;

g равен 0 или 1;

где, если соединением является соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$ , то  $b+w+g \neq 0$ ; и

D является группой лекарственного средства формулы I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG, Ia, IAa, IBa, ICa, IDa, IEa, IFa, IGa, Ib, IAb, IBb, ICb, IDb, IEb, IFb и IGb; и ковалентно присоединен через гидроксильную или аминную группу; или

является группой лекарственного средства формулы (IHa) или формулы (IHb) или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером:



где волнистые линии (IHa) и (IHb) означают точку ковалентного присоединения;

$R_1$  является  $-CN$  или  $-OH$ ;

$R_2$  является ацетилом;

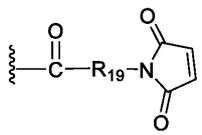
$R_3$  является водородом или метокси, предпочтительно, водородом;

Y является  $-NH-$  или  $-O-$ , и

Z является  $-NH-$  или  $-O-$ .

Соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-L_1$  или формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$  по настоящему изобретению, где:

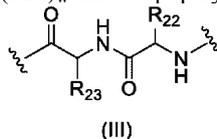
$L_1$  является линкером формулы:



где: волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к  $(T)_g$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(X)_b$ , если имеется, или к D;

$R_{19}$  является  $-C_2-C_6$  алкиленом-;

w равен 0 или 2, и если w равен 2, то  $(AA)_w$  имеет формулу (III):



$R_{22}$  является изопропилом,  $R_{23}$  выбирают из метила и  $-(CH_2)_3NHCONH_2$ , где волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к X (волнистая линия налево) и к  $(T)_g$ , если имеется, или  $L_1$  или к атому водорода (волнистая линия направо);

X является удлиняющей группой, выбранной из  $-COO-CH_2$ -фенилен- $NH-$ ,  $-COO(CH_2)_3NHCOO-CH_2$ -фенилен- $NH-$ ,  $-COO-(CH_2)_3NH-$ ,  $-COO(CH_2)_3-S-$  и  $-COO-(CH_2)_3NHCO-(CH_2)_2S-$ ;

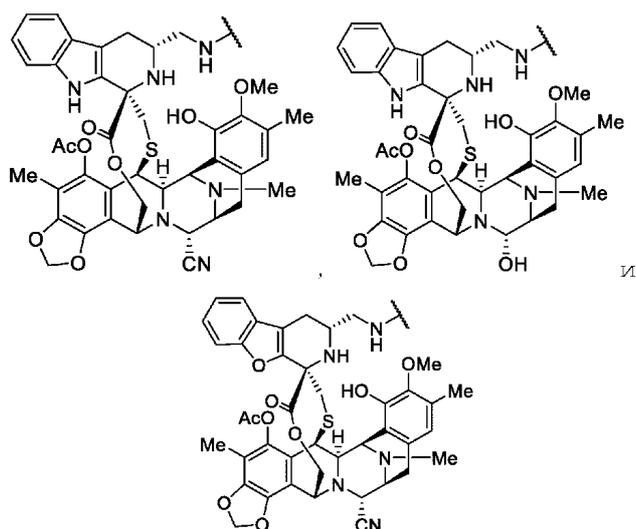
где T является удлиняющей группой, выбранной из  $-CO-(C_1-C_4$  алкилен)- $NH-$ ,  $-CO-(C_1-C_4$  алкилен)- $[O-(C_2-C_4$  алкилен)]- $NH-$  и  $-COO-(C_1-C_4$  алкилен)- $[O-(C_2-C_4$  алкилен)]- $NH-$ , где j является целым числом от 1 до 5;

b равен 0 или 1;

g равен 0 или 1;

где если соединением является соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$ , то  $b+w+g \neq 0$ ; и

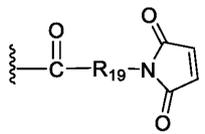
D является группой лекарственного средства, выбранной из:



или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером; где волнистая линия означает точку ковалентного присоединения.

соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-L_1$  или формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$  по настоящему изобретению, где:

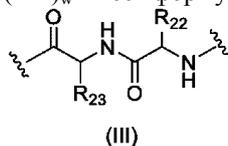
$L_1$  является группой формулы:



где: волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к  $(T)_g$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(X)_b$ , если имеется, или к D;

$R_{19}$  является  $-C_2-C_5$  алкиленом-;

w равен 0 или 2, и если w равен 2, то  $(AA)_w$  имеет формулу (III):



где  $R_{22}$  является изопропиллом,  $R_{23}$  выбирают из метила и  $-(CH_2)_3NHCONH_2$ , где волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к X (волнистая линия налево) и к  $(T)_g$ , если имеется, или  $L_1$  или к атому водорода (волнистая линия направо);

X является  $-COO-CH_2$ -фенилен-NH- группой;

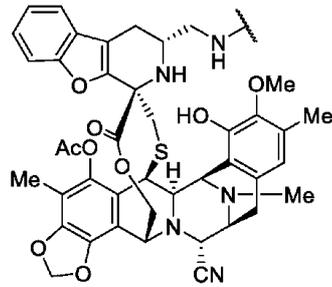
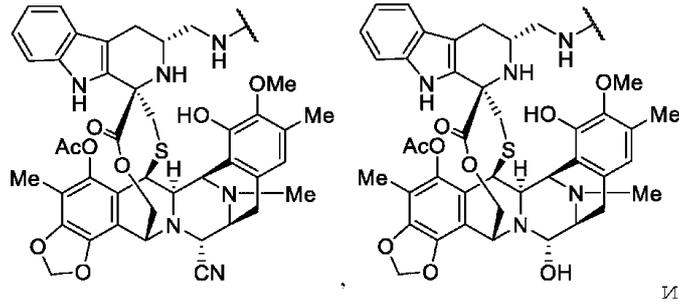
T является  $-CO-(CH_2)_2-[O-(CH_2)_2]_4-NH$ - группой;

b равен 0 или 1;

g равен 0 или 1;

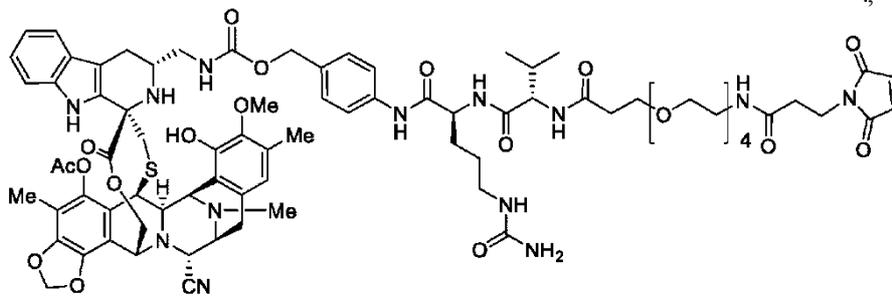
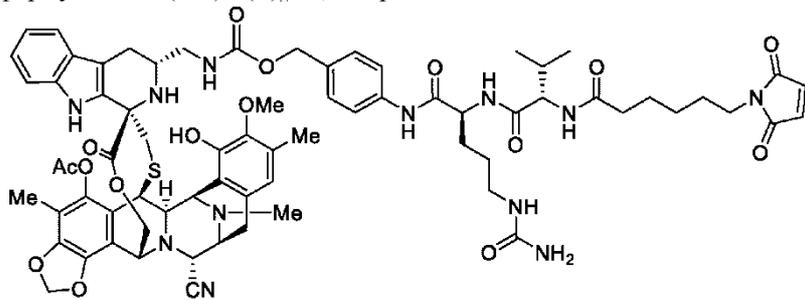
где, если соединением является соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-H$ , то  $b+w+g \neq 0$ ; и

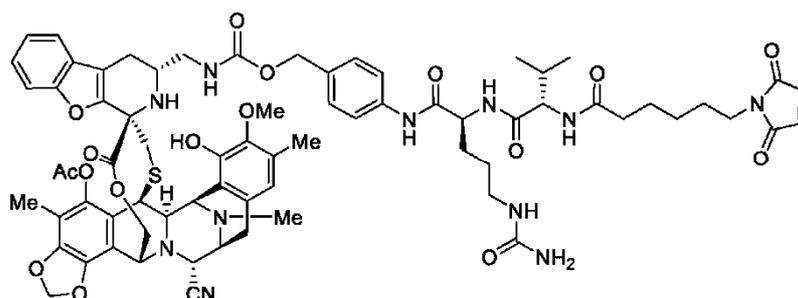
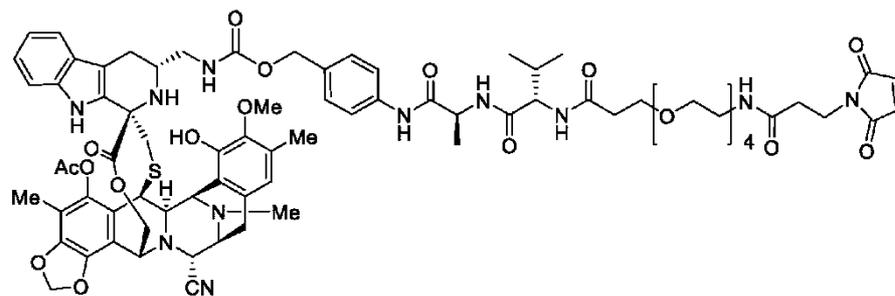
D является группой лекарственного средства, выбранной из:



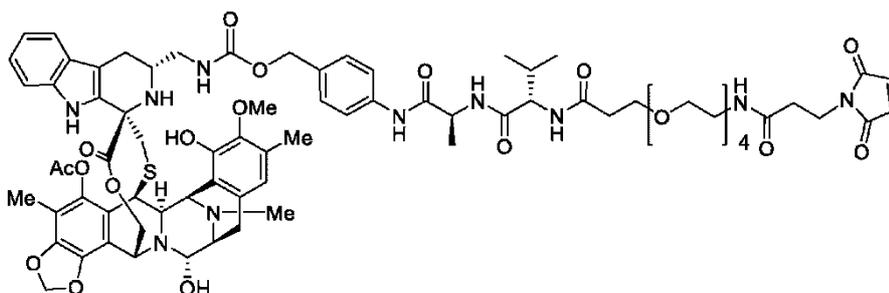
или ее фармацевтически приемлемой солью, сложным эфиром, сольватом, таутомером или стереоизомером; где волнистая линия означает точку ковалентного присоединения.

соединение формулы D-X-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-L<sub>1</sub>, выбранное из:

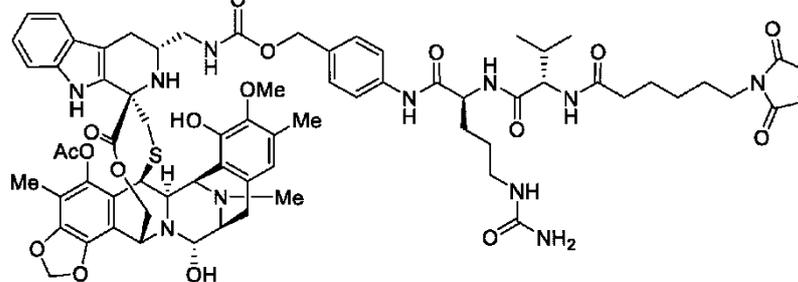


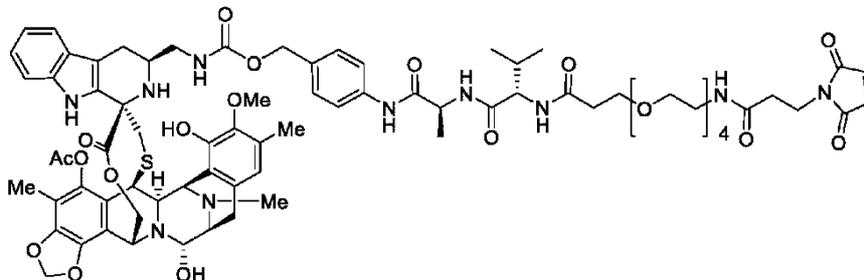
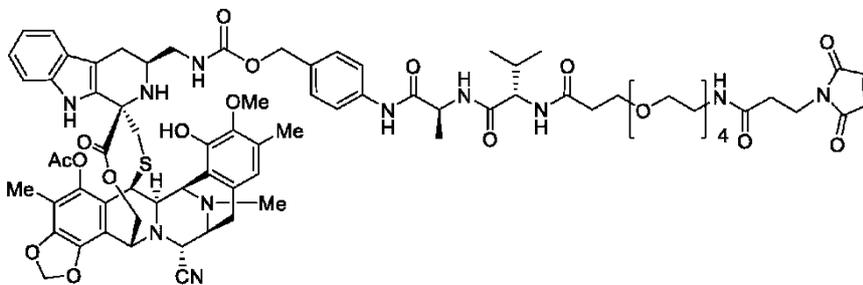
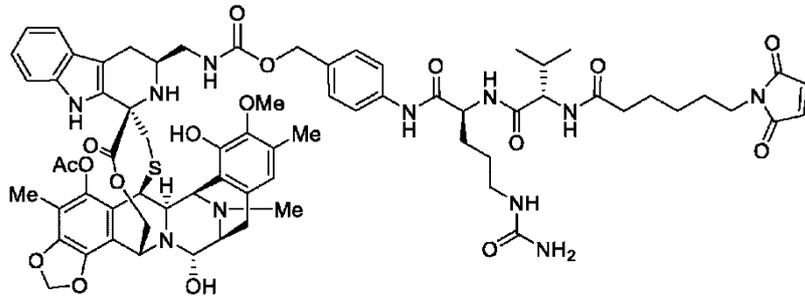
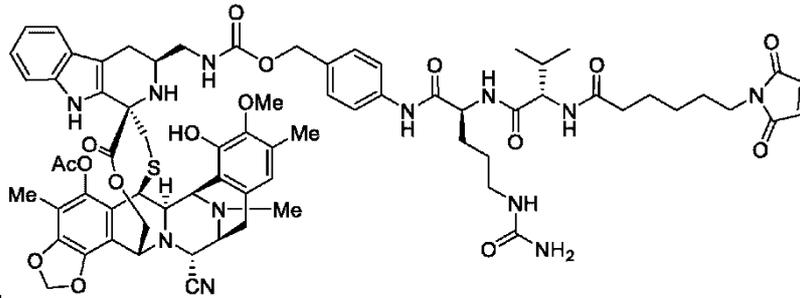
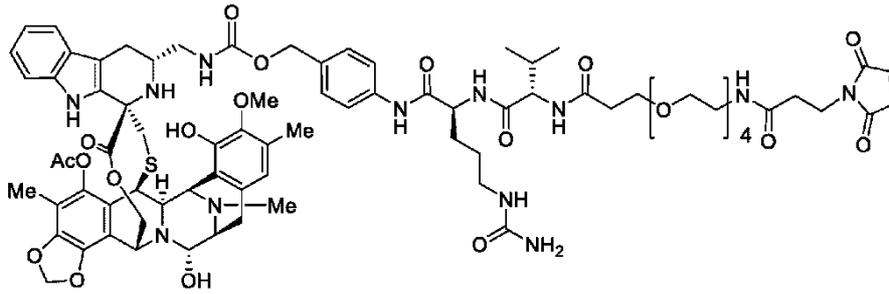


И



соединение формулы D-X-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-L<sub>1</sub>, выбранное из:





Термин "фармацевтически приемлемые соли, сложные эфиры, сольваты, таутомеры или стереоизомеры" в конъюгатах лекарственного средства настоящего изобретения относится к любой фармацевтически приемлемой соли, сложному эфиру, сольвату, гидрату или стереоизомерной форме или любому другому соединению, которое, при введении пациенту, способно предоставлять соединение, как описано в настоящем документе, прямо или косвенно. Однако следует принимать во внимание, что не фармацевтически приемлемые соли также подпадают в объем изобретения, поскольку они могут быть полезны при получении фармацевтически приемлемых солей. Получение солей, пролекарств и производных может осуществляться способами, известными в данной области техники.

Например, фармацевтически приемлемые соли соединений, представленных в настоящем документе, синтезируют из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную группу, обычными химическими способами. Обычно такие соли получают, например, путем взаимодействия свободных кислотных или основных форм этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе или в их смеси. Обычно предпочтительны не водные среды, такие как простой эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Примеры кислотно-аддитивных солей включают аддитивные соли минеральных кислот, такие как, например, гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, сульфат, нитрат, фосфат, и аддитивные соли органических кислот, такие как, например, ацетат, трифторацетат, малеат, фумарат, цитрат, оксалат, сукцинат, тартрат, малат, миндалат, метансульфонат и *p*-толуолсульфонат. Примеры аддитивных солей щелочных металлов включают неорганические соли, такие как, например, соли натрия, калия, кальция и аммония, и соли органических щелочных металлов, такие как, например, этилендиамин, этаноламин, *N,N*-диалкилэтанолламин, триэтанолламин и соли основных аминокислот.

Конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению может быть в кристаллической форме, либо в виде свободных соединений, либо в виде сольватов (например, гидратов), и предполагается, что обе формы входят в объем настоящего изобретения. Способы сольватации обычно известны в данной области техники.

Любое соединение, которое является пролекарством конъюгата лекарственного средства настоящего изобретения, находится в пределах объема и сути изобретения. Термин "пролекарство" используется в самом широком смысле и охватывает те производные, которые превращаются *in vivo* в соединения по настоящему изобретению. Такие производные могут быть очевидны специалистам в данной области техники и включают, например, соединения, где свободная гидроксигруппа превращается в производное сложного эфира. Многие подходящие пролекарства хорошо известны специалистам в данной области техники, и их можно найти, например, в Burger "Medicinal Chemistry and Drug Discovery 6<sup>th</sup> ed. (Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley) и "Design and Applications of Prodrugs" (H. Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers), содержания которых включены в настоящий документ в качестве ссылки.

Что касается соединений настоящего изобретения, фармакологически приемлемые сложные эфиры особо не ограничены и могут быть выбраны специалистом в данной области техники. В случае указанных сложных эфиров предпочтительно, чтобы такие сложные эфиры можно было расщеплять биологическим способом, таким как гидролиз *in vivo*. Группой, составляющей указанные сложные эфиры (группой, показанной как R, если ее сложные эфиры выражены как -COOR), может быть, например, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкокси C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как метоксиэтил, 1-этоксиэтил, 1-метил-1-метоксиэтил, 1-(изопропокси)этил, 2-метоксиэтил, 2-этоксиэтил, 1,1-диметил-1-метоксиметил, этоксиметил, пропоксиметил, изопропоксиметил, бутоксиметил или трет-бутоксиметил; C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкоксилированная C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкокси C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как 2-метоксиэтоксиметил; C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> арилкокси C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как феноксиметил; галогенированная C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкокси C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как 2,2,2-трихлорэтоксиметил или бис(2-хлорэтокси)метил; C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкоксикарбонил C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как метоксикарбонилметил; циано C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как цианометил или 2-цианоэтил; C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкилтиометильная группа, такая как фенилтиометил или нафтилтиометил; C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкилсульфонил C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> низшая алкильная группа, которая может быть необязательно замещена атомом (атомами) галогена, такая как 2-метансульфонилэтил или 2-трифторметансульфонилэтил; C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> арилсульфонил C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как 2-бензолсульфонилэтил или 2-толуолсульфонилэтил; C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> алифатический ацилокси C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как формилоксиметил, ацетоксиметил, пропионилоксиметил, бутурилоксиметил, пивалоилоксиметил, валерилоксиметил, изовалерилоксиметил, гексаноилоксиметил, 1-формилоксиэтил, 1-ацетоксиэтил, 1-пропионилоксиэтил, 1-бутурилоксиэтил, 1-пивалоилоксиэтил, 1-валерилоксиэтил, 1-изовалерилоксиэтил, 1-гексаноилоксиэтил, 2-формилоксиэтил, 2-ацетоксиэтил, 2-пропионилоксиэтил, 2-бутурилоксиэтил, 2-пивалоилоксиэтил, 2-валерилоксиэтил, 2-изовалерилоксиэтил, 2-гексаноилоксиэтил, 1-формилоксипропил, 1-ацетоксипропил, 1-пропионилоксипропил, 1-бутурилоксипропил, 1-пивалоилоксипропил, 1-валерилоксипропил, 1-изовалерилоксипропил, 1-гексаноилоксипропил, 1-ацетоксибутил, 1-пропионилоксибутил, 1-бутурилоксибутил, 1-пивалоилоксибутил, 1-ацетоксипентил, 1-пропионилоксипентил, 1-бутурилоксипентил, 1-пивалоилоксипентил или 1-пивалоилоксигексил; C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub> циклоалкилкарбонилокси C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как циклопентилкарбонилоксиметил, циклогексилкарбонилоксиметил, 1-циклопентилкарбонилоксиэтил, 1-циклогексилкарбонилоксиэтил, 1-циклопентилкарбонилоксипропил, 1-циклогексилкарбонилоксипропил, 1-циклопентилкарбонилоксибутил или 1-циклогексилкарбонилоксибутил; C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> арилкарбонилокси C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как бензоилоксиметил; C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкоксикарбонилокси C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как метоксикарбонилоксиметил, 1-(метоксикарбонилокси)этил, 1-(метоксикарбонилокси)пропил, 1-(метоксикарбонилокси)бутил, 1-(метоксикарбонилокси)пентил, 1-(метоксикарбонилокси)гексил, этоксикарбонилоксиметил, 1-(этоксикарбонилокси)этил, 1-(этоксикарбонилокси)пропил, 1-(этоксикарбонилокси)бутил, 1-(этоксикарбонилокси)пентил, 1-(этоксикарбонилокси)гексил,

пропоксикарбонилоксиметил, 1-(пропоксикарбонилокси)этил, 1-(пропоксикарбонилокси)пропил, 1-(пропоксикарбонилокси)бутил, изопропоксикарбонилоксиметил, 1-(изопропоксикарбонилокси)этил, 1-(изопропоксикарбонилокси)бутил, бутоксикарбонилоксиметил, 1-(бутоксикарбонилокси)этил, 1-(бутоксикарбонилокси)пропил, 1-(бутоксикарбонилокси)бутил, изобутоксикарбонилоксиметил, 1-(изобутоксикарбонилокси)этил, 1-(изобутоксикарбонилокси)пропил, 1-(изобутоксикарбонилокси)бутил, трет-бутоксикарбонилоксиметил, 1-(трет-бутоксикарбонилокси)этил, пентилоксикарбонилоксиметил, 1-(пентилоксикарбонилокси)этил, 1-(пентилоксикарбонилокси)пропил, гексилоксикарбонилоксиметил, 1-(гексилоксикарбонилокси)этил или 1-(гексилоксикарбонилокси)пропил; C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub> циклоалкилоксикарбонилокси C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильная группа, такая как циклопентилоксикарбонилоксиметил, 1-(циклопентилоксикарбонилокси)этил, 1-(циклопентилоксикарбонилокси)пропил, 1-(циклопентилоксикарбонилокси)бутил, циклогексилоксикарбонилоксиметил, 1-(циклогексилоксикарбонилокси)этил, 1-(циклогексилоксикарбонилокси)пропил или 1-(циклогексилоксикарбонилокси)бутил; [5-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкил)-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил]метильная группа, такая как (5-метил-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил)метил, (5-этил-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил)метил, (5-пропил-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил)метил, (5-изопропил-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил)метил или (5-бутил-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил)метил; [5-(фенил, который может быть необязательно замещен C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкилом, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкокси или атомами галогена)-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил]метильная группа, такая как (5-фенил-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил)метил, [5-(4-метилфенил)-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил]метил, [5-(4-метоксифенил)-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил]метил, [5-(4-фторфенил)-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил]метил или [5-(4-хлорфенил)-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил]метил; или фталидильная группа, которая может быть необязательно замещена C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильной или C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкоксигруппами, такая как фталидил, диметилфталидил или диметоксифталидил и, предпочтительно, является пивалоилоксиметильной группой, фталидильной группой или (5-метил-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил)метильной группой, и более предпочтительно, (5-метил-2-оксо-1,3-диоксолен-4-ил)метильной группой.

Подразумевается, что любое соединение, упомянутое в настоящем документе, представляет такое конкретное соединение, а также определенные варианты или формы. В частности, соединения, упомянутые в настоящем документе, могут иметь асимметричные центры и, следовательно, существовать в различных энантиомерных формах. Все оптические изомеры и стереоизомеры соединений, упомянутых в настоящем документе, и их смеси рассматриваются в пределах объема настоящего изобретения. Таким образом, любое данное соединение, упомянутое в настоящем документе, предназначено для представления любого из рацемата, одной или нескольких энантиомерных форм, одной или нескольких диастереомерных форм, одной или нескольких атропизомерных форм и их смесей. В частности, конъюгаты лекарственного средства формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab и соединения формулы D-X-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-L<sub>1</sub> или D-X-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-H могут включать энантиомеры в зависимости от их асимметрии, или диастереоизомеры. Стереоиomerия вокруг двойной связи также возможна, поэтому в некоторых случаях молекула могла существовать как (E)-изомер или (Z)-изомер. Если молекула содержит несколько двойных связей, каждая двойная связь будет иметь свою собственную стереоизомерию, которая может быть такой же или отличной от стереоизомерии других двойных связей молекулы. Одинарные изомеры и смеси изомеров подпадают в объем настоящего изобретения.

Кроме того, соединения, упомянутые в настоящем документе, могут существовать в виде геометрических изомеров (т.е. цис- и транс-изомеров), в виде таутомеров или в виде атропизомеров. В частности, термин таутомер относится к одному из двух или нескольких структурных изомеров соединения, которые существуют в равновесии и легко превращаются из одной изомерной формы в другую. Обычными таутомерными парами являются амин-имин, амид-имид, кето-енол, лактам-лактим и т.д. Кроме того подразумевается, что любое соединение, указанное в настоящем документе, представляет гидраты, сольваты и полиморфы и их смеси, когда такие формы существуют в среде. Кроме того, соединения, указанные в настоящем документе, могут существовать в изотопно меченых формах. Все геометрические изомеры, таутомеры, атропизомеры, гидраты, сольваты, полиморфы и изотопно меченые формы соединений, упомянутых в настоящем документе, и их смеси, рассматриваются в объеме настоящего изобретения.

Защищенные формы соединений, описанных в настоящем документе, рассматриваются в объеме настоящего изобретения. Подходящие защитные группы хорошо известны специалистам в данной области техники. Общий обзор защитных групп в органической химии представлен Wuts, PGM и Greene TW в Protecting Groups in Organic Synthesis, 4<sup>th</sup> Ed. Wiley-Interscience и Kocienski PJ в Protecting Groups, 3<sup>rd</sup> Ed. Georg Thieme Verlag. В этих ссылках представлены разделы, посвященные защитным группам для групп OH, amino и SH. Все эти ссылки полностью включены в качестве ссылки.

В объеме настоящего изобретения, защитная группа OH определена как O-связанная группа, возникающая в результате защиты OH посредством образования подходящей защищенной OH группы. Примеры таких защищенных OH-групп включают простые эфиры, простые силиловые эфиры, сложные эфиры, сульфонаты, сульфенаты и сульфинаты, карбонаты и карбаматы. В случае простых эфиров, защитная группа для OH может быть выбрана из метила, метоксиметила, метилтиометила, (фенилдиметилсилил)метоксиметила, бензилоксиметила, п-метоксибензилоксиметила, [(3,4-

диметоксибензил)окси]метила, п-нитробензилоксиметила, о-нитробензилоксиметила, [(R)-1-(2-нитрофенил)этокси]метила, (4-метоксифенокси)метила, гваяколметила, [(п-фенилфенил)окси]метила, трет-бутоксиметила, 4-пентенилоксиметила, силоксиметила, 2-метоксиэтоксиметила, 2-цианоэтоксиметила, бис(2-хлорэтокси)метила, 2,2,2-трихлорэтоксиметила, 2-(триметилсилил)этоксиметила, метоксиметила, О-бис(2-ацетоксиэтокси)метила, тетрагидропиранила, фтористого тетрагидропиранила, 3-бромтетрагидропиранила, тетрагидротиопиранила, 1-метоксициклогексила, 4-метокситетрагидропиранила, 4-метокситетрагидротиопиранила, S, S-диоксида 4-метокситетрагидротиопиранила, 1-[(2-хлор-4-метил)фенил]-4-метоксипиперидин-4-ила, 1-(2-фторфенил)-4-метоксипиперидин-4-ила, 1-(4-хлорфенил)-4-метоксипиперидин-4-ила, 1,4-диоксан-2-ила, тетрагидрофуранила, тетрагидротиофуранила, 2,3,3а,4,5,6,7,7а-октагидро-7,8,8-триметил-4,7-метанбунзофуран-2-ила, 1-этоксиэтила, 1-(2-хлорэтокси)этила, 2-гидроксиэтила, 2-бромэтила, 1-[2-(триметилсилил)этокси]этила, 1-метил-1-метоксиэтила, 1-метил-1-бензилоксиэтила, 1-метил-1-бензилокси-2-фторэтила, 1-метил-1-феноксиэтила, 2,2,2-трихлорэтила, 1,1-дианизил-2,2,2-трихлорэтила, 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-фенилизопропила, 1-(2-цианоэтокси)этила, 2-триметилсилилэтила, 2-(бензилтио)этила, 2-(фенилселенил)этила, трет-бутила, циклогексила, 1-метил-1'-циклопропилметила, аллила, пренила, циннамила, 2-феналлила, пропаргила, п-хлорфенила, п-метоксифенила, п-нитрофенила, 2,4-динитрофенила, 2,3,5,6-тетрафтор-4-(трифторметил)фенила, бензила, п-метоксибензила, 3,4-диметоксибензила, 2,6-диметоксибензила, о-нитробензила, п-нитробензила, пентадиенилнитробензила, пентадиенилнитропиперонила, галобензила, 2,6-дихлорбензила, 2,4-дихлорбензила, 2,6-дифторбензила, п-цианобензила, фтористого бензила, 4-фтористого алкоксибензила, триметилсилилксилсила, п-фенилбензила, 2-фенил-2-пропила, п-ацетиламинобензил, п-азидобензила, 4-азидо-3-хлорбензила, 2-трифторметилбензила, 4-трифторметилбензила, п-(метилсульфинил)бензила, п-силетанилбензила, 4-ацетоксибензила, 4-(2-триметилсилил)этоксиметоксибензила, 2-нафтилметила, 2-пиколила, 4-пиколила, N-оксида 3-метил-2-пиколила, 2-хинолинилметила, 6-метокси-2-(4-метилфенил)-4-хинолинметила, 1-пиренилметила, дифенилметила, 4-метоксидифенилметила, 4-фенилдифенилметила, p,p'-динитробензгидрила, 5-дибензосуберила, трифенилметил, трис(4-трет-бутилфенил)метила, α-нафтилдифенилметила, п-метоксифенилдифенилметила, ди(п-метоксифенил)фенилметила, три(п-метоксифенил)метила, 4-(4'-бромфенацилокси)фенилдифенилметила, 4,4',4''-трис(4,5-дихлорфталимидофенил)метила, 4,4',4''-трис(левулиноилоксифенил)метила, 4,4',4''-трис(бензоилоксифенил)метила, 4,4'-диметокси-3''-[N-(имидазолилметил)]третила, 4,4'-диметокси-3''-[N-(имидазолилэтил)карбамоил]третила, бис(4-метоксифенил)-1'-пиренилметила, 4-(17-тетрабензо[a,c,g,i]флуоренилметил)-4,4''-диметокситретила, 9-антрила, 9-(9-фенил)ксантенила, 9-фенилтиоксантила, 9-(9-фенил-10-оксо)антрила, 1,3-бензодитиолан-2-ила, 4,5-бис(этоксикарбонил)-[1,3]-диоксолан-2-ила, S, S-диоксида бензизотиазолила. В случае простых эфиров силила, защитная группа для ОН может быть выбрана из триметилсилила, триэтилсилила, триизопропилсилила, диметилизопропилсилила, диэтилизопропилсилила, лиметилгексилсилила, 2-норборнилдиметилсилила, трет-бутилдиметилсилила, трет-бутилдифенилсилила, трибензилсилила, три-п-ксилилсилила, трифенилсилила, дифенилметилсилила, ди-трет-бутилметилсилила, бис(трет-бутил)-1-пиренилметоксисилила, трис(триметилсилил)силила, (2-гидроксистирил)диметилсилила, (2-гидроксистирил)диизопропилсилила, трет-бутилметоксифенилсилила, трет-бутоксидифенилсилила, 1,1,3,3-тетраизопропил-3-[2-(трифенилметокси)этокси]дисилоксан-1-ила и фтористого силила. В случае сложных эфиров, защитная группа для ОН вместе с атомом кислорода незащищенной ОН, к которому она присоединена, образуют сложный эфир, который может быть выбран из формиата, бензоилформиата, ацетата, хлорацетата, дихлорацетата, трихлорацетата, трихлорацетамидата, трифторацетата, метоксиацетата, трифенилметоксиацетата, феноксиацетата, п-хлорфеноксиацетата, фенилацетата, дифенилацетата, 3-фенилпропионата, пропаноила с бисфтористым типом цепи, 4-пентеноата, 4-оксопентаноата, 4,4-(этилендитио)пентаноата, 5[3-бис(4-метоксифенил)гидроксиметилфенокси]левулината, пивалоата, 1-адамантоата, кротоната, 4-метоксикротоната, бензоата, п-фенилбензоата, 2,4,6-триметилбензоата, 4-бромбензоата, 2,5-дифторбензоата, п-нитробензоата, пиколината, никотината, 2-(азидометил)бензоата, 4-азидобутирата, (2-азидометил)фенилацетата, 2-[[[тримилтио]окси]метил]бензоата, 2-[[[4-метокситритилтио]окси]метил]бензоата, 2-[[[метил(тримилтио)амино]метил]бензоата, 2-[[[4-метокситритилтио]метиламино]метил]бензоата, 2-(аллилокси)фенилацетата, 2-(пренилоксиметил)бензоата, 6-(левулилоксиметил)-3-метокси-2-нитробензоата, 6-(левулилоксиметил)-3-метокси-4-нитробензоата, 4-бензилоксибутирата, 4-триалкилсилилоксибутирата, 4-ацетокси-2,2-диметилбутирата, 2,2-диметил-4-пентеноата, 2-йодбензоата, 4-нитро-4-метилпентаноата, о-(дибромметил)бензоата, 2-формилбензолсульфоната, 4-(метилтиометокси)бутирата, 2-(метилтиометоксиметил)бензоата, 2-(хлорацетоксиметил)бензоата, 2-[(2-хлорацетокси)этил]бензоата, 2-[2-(бензилокси)этил]бензоата, 2-[2-(4-метоксибензил-окси)этил]бензоата, 2,6-дихлор-4-метилфеноксиацетата, 2,6-дихлор-4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)феноксиацетата, 2,4-бис(1,1-диметилпропил)феноксиацетата, хлордифенилацетата, изобутирата, моносукцината, (E)-2-метил-2-бутеноата, о-(метоксикарбонил)бензоата, α-нафтоата, нитрата, алкил N,N,N',N'-тетраметилфосфородиамидата и 2-хлорбензоата. В случае сульфонов, сульфенатов и сульфидатов,

защитная группа для ОН вместе с атомом кислорода незащищенной ОН, к которому она присоединена, образуют сульфат, сульфенат или сульфинаты, которые могут быть выбраны из сульфата, аллилсульфоната, метансульфоната, бензилсульфоната, тозилата, 2-[(4-нитрофенил)этил]сульфоната, 2-трифторметилбензолсульфоната, 4-монометокситригилсульфената, алкил 2,4-динитрофенилсульфената, 2,2,5,5-тетраметилпирролидин-3-он-1-сульфината и диметилфосфинотиоила. В случае карбонатов, защитная группа для ОН вместе с атомом кислорода незащищенной ОН, к которому она присоединена, образуют карбонат, который может быть выбран из метилкарбоната, метоксиметилкарбоната, 9-флуоренилметилкарбоната, этилкарбоната, бромэтилкарбоната, 2-(метилтиометокси)этилкарбоната, 2,2,2-трихлорэтилкарбоната, 1,1-диметил-2,2,2-трихлорэтилкарбоната, 2-(триметилсилил)этилкарбоната, 2-[диметил(2-нафтилметил)силил]этилкарбоната, 2-(фенилсульфонил)этилкарбоната, 2-(трифенилфосфоно)этилкарбоната, цис-[4-[[метокситригил]сульфенил]окси]тетрагидрофуран-3-ил]оксикарбоната, изобутилкарбоната, трет-бутилкарбоната, винилкарбоната, аллилкарбоната, циннамилкарбоната, пропаргилкарбоната, п-хлорфенилкарбоната, п-нитрофенилкарбоната, 4-этокси-1-нафтилкарбоната, 6-бром-7-гидроксикумарин-4-илметилкарбоната, бензилкарбоната, о-нитробензилкарбоната, п-нитробензилкарбоната, п-метоксибензилкарбоната, 3,4-диметоксибензилкарбоната, антрахинон-2-илметилкарбоната, 2-дансилэтилкарбоната, 2-(4-нитрофенил)этилкарбоната, 2-(2,4-динитрофенил)этилкарбоната, 2-(2-нитрофенил)пропилкарбоната, 2-(3,4-метилендиокси-6-нитрофенил)пропилкарбоната, 2-циано-1-фенилэтилкарбоната, 2-(2-пиридил)амино-1-фенилэтилкарбоната, 2-[N-метил-N-(2-пиридил)амино-1-фенилэтилкарбоната, фенацилкарбоната, 3',5'-диметоксибензоилкарбоната, метилдитиокарбоната и S-бензилтиокарбоната. И в случае карбаматов, защитная группа для ОН вместе с атомом кислорода незащищенной ОН, к которому она присоединена, образуют карбамат, который может быть выбран из диметилтиокарбамата, N-фенилкарбамата и N-метил-N-(о-нитрофенил)карбамата.

В объеме настоящего изобретения аминокзащитная группа определена как N-связанная группа, возникающая в результате защиты аминокзащитной группы посредством образования подходящей защищенной аминокзащитной группы. Примеры защищенных аминокзащитных групп включают карбаматы, мочевины, амиды, гетероциклические системы, N-алкиламины, N-алкениламины, N-алкиниламины, N-ариламины, имины, енамины, производные N-металлов, производные N-N, производные N-P, Производные N-Si и производные N-S. В случае карбаматов, защитная группа для аминокзащитной группы вместе с аминокзащитной группой, к которой она присоединена, образуют карбамат, который может быть выбран из метилкарбамата, этилкарбамата, 9-флуоренилметилкарбамата, 2,6-ди-трет-бутил-9-флуоренилметилкарбамата, 2,7-бис(триметилсилил)флуоренилметилкарбамата, 9-(2-сульфо)флуоренилметилкарбамата, 9-(2,7-дибром)флуоренилметилкарбамата, 17-тетрабензо[a,c,g,i]флуоренилметилкарбамата, 2-хлор-3-инденилметилкарбамата, бенз[f]инден-3-илметилкарбамата, 1,1-диоксобензо[b]тиофен-2-илметилкарбамата, 2-метилсульфонил-3-фенил-1-проп-2-енилкарбамата, 2,7-ди-трет-бутил-[9,(10,10-диоксо-10,10,10-тетрагидроксиантранил)]метилкарбамата, 2,2,2-трихлорэтилкарбамата, 2-триметилсилилэтилкарбамата, (2-фенил-2-триметилсилил)этилкарбамата, 2-фенилэтилкарбамата, 2-хлорэтилкарбамата, 1,1-диметил-2-галозэтилкарбамата, 1,1-диметил-2,2-дибромэтилкарбамата, 1,1-диметил-2,2,2-трихлорэтилкарбамата, 2-(2'-пиридил)этилкарбамата, 2-(4'-пиридил)этилкарбамата, 2,2-бис(4'-нитрофенил)этилкарбамата, 2-[(2-нитрофенил)дитио]-1-фенилэтилкарбамата, 2-(N,N-дициклогексилкарбоксамидо)этилкарбамата, трет-бутилкарбамата, фтористого ВОС карбамата, 1-адамантилкарбамата, 2-адамантилкарбамата, 1-(1-адамантил)-1-метилэтилкарбамата, 1-метил-1-(4-бифенилил)этилкарбамата, 1-(3,5-ди-трет-бутилфенил)-1-метилэтилкарбамата, триизопропилсилилоксикарбамата, винилкарбамата, аллилкарбамата, пренилкарбамата, 1-изопропилаллилкарбамата, циннамилкарбамата, 4-нитроциннамилкарбамата, 3-(3'-пиридил)проп-2-енилкарбамата, гексаденилкарбамата, пропаргилкарбамата, 1,4-бут-2-инилбискарбамата, 8-хинолилкарбамата, N-гидроксипиперидинилкарбамата, алкилдитиокарбамата, бензилкарбамата, 3,5-ди-трет-бутилбензилкарбамата, п-метоксибензилкарбамата, п-нитробензилкарбамата, п-бромбензилкарбамата, п-хлорбензилкарбамата, 2,4-дихлорбензилкарбамата, 4-метилсульфинилбензилкарбамата, 4-трифторметилбензилкарбамата, фтористого бензилкарбамата, 2-нафтилметилкарбамата, 9-антрилметилкарбамата, дифенилметилкарбамата, 4-фенилацетоксибензилкарбамата, 4-азидобензилкарбамата, 4-азидометоксибензилкарбамата, м-хлор-п-ацетоксибензилкарбамата, п-(дигидроксиборил)бензилкарбамата, 5-бензизоксазолилметилкарбамата, 2-(трифторметил)-6-хромонилметилкарбамата, 2-метилтиоэтилкарбамата, 2-метилсульфонилэтилкарбамата, 2-(п-толуолсульфонил)этилкарбамата, 2-(4-нитрофенилсульфонил)этилкарбамата, 2-(2,4-динитрофенилсульфонил)этилкарбамата, 2-(4-трифторметилфенилсульфонил)этилкарбамата, [2-(1,3-дистирил)]метилкарбамата, 2-фосфоноэтилкарбамата, 2-[фенил(метил)сульфоно]этилкарбамата, 1-метил-1-(трифенилфосфоно)этилкарбамата, 1,1-диметил-2-цианоэтилкарбамата, 2-дансилэтилкарбамата, 2-(4-нитрофенил)этилкарбамата, 4-метилтиофенилкарбамата, 2,4-диметилтиофенилкарбамата, м-нитрофенилкарбамата, 3,5-диметоксибензилкарбамата, 1-метил-1-(3,5-диметоксифенил)этилкарбамата, α-метилнитропиперолинкарбамата, о-нитробензилкарбамата, 3,4-диметокси-6-нитробензилкарбамата,

фенил(о-нитрофенил)метилкарбамата, 2-нитрофенилэтилкарбамата, 6-нитровератрилкарбамата, 4-метоксифенацилкарбамата, 3',5'-диметоксибензоинкарбамата, 9-ксантенилметилкарбамата, N-метил-N-(о-нитрофенил)карбамата, трет-амилкарбамата, 1-метилциклобутилкарбамата, 1-метилциклогексилкарбамата, 1-метил-1-циклопропилметилкарбамата, циклобутилкарбамата, циклопентилкарбамата, циклогексилкарбамата, изобутилкарбамата, изоборнилкарбамата, циклопропилметилкарбамата, п-децилоксибензилкарбамата, диизопропилметилкарбамата, 2,2-диметоксикарбонилвинилкарбамата, о-(N,N-диметилкарбоксамидо)бензилкарбамата, 1,1-диметил-3-(N,N-диметил-карбоксамидо)пропилкарбамата, бутилкарбамата, 1,1-диметилпропинилкарбамата, 2-йодэтилкарбамата, 1-метил-1-(4'-пиридил)этилкарбамата, 1-метил-1-(п-фенилазофенил)этилкарбамата, п-(п'-метоксифенилазо)бензилкарбамата, п-(фенилазо)бензилкарбамата, 2,4,6-триметилбензилкарбамата, изоникотинилкарбамата, 4-(триметиламмоний)бензилкарбамата, п-цианобензилкарбамата, ди(2-пиридил)метилкарбамата, 2-фуранилметилкарбамата, фенилкарбамата, 2,4,6-три-трет-бутилфенилкарбамата, 1-метил-1-фенилэтилкарбамата и S-бензилтиокарбамата. В случае мочевины, защитные группы для аминогруппы могут быть выбраны из фенотиазинил-(10)-карбонила, N'-ртолуолсульфониламинокарбонила, N'-фениламинотиокарбонила, 4-гидроксифениламинокарбонила, 3-гидрокситриптаминокарбонила и N'-фениламинотиокарбонила. В случае амидов, защитная группа для амина вместе с аминогруппой, к которой она присоединена, образуют амид, который может быть выбран из формамида, ацетамида, хлорацетамида, трихлорацетамида, трифторацетамида, фенилацетамида, 3-фенилпропанамида, пент-4-енамида, пиколинамида, 3-пиридилкарбоксамид, N-бензоилфенилаланиламида, бензамида, п-фенилбензамида, о-нитрофенилацетамида, 2,2-диметил-2-(о-нитрофенил)ацетамида, о-нитрофеноксиацетамида, 3-(о-нитрофенил)пропанамида, 2-метил-2-(о-нитрофенокси)пропанамида, 3-метил-3-нитробутанамида, о-нитроциннамида, о-нитробензамида, 3-(4-трет-бутил-2,6-динитрофенил)-2,2-диметилпропанамида, о-(бензоилоксиметил)бензамида, 2-(ацетоксиметил)бензамида, 2-[(трет-бутилдифенилсилокси)метил]бензамида, 3-(3',6'-диоксо-2',4',5'-триметилциклогекса-1',4'-диен)-3,3-диметилпропионамида, о-гидрокси-транс-циннамида, 2-метил-2-(о-фенилазофенокси)пропанамида, 4-хлорбутанамида, ацетоацетамида, 3-(п-гидроксифенил)пропанамида, (N'-дитиобензилоксикарбониламино)ацетамида и N-ацетилметиллинамида. В случае гетероциклических систем, защитная группа для аминогруппы вместе с аминогруппой, к которой она присоединена, образуют гетероциклическую систему, которая может быть выбрана из 4,5-дифенил-3-оксазолин-2-она, N-фталимида, N-дихлорфталимида, N-тетрахлорфталимида, N-4-нитрофталимида, N-тиодигликолоила, N-дитаасукцинимид, N-2,3-дифенилмалеимида, N-2,3-диметилмалеимида, N-2,5-диметилпиррола, N-2,5-бис(триизопропилсилокси)пиррола, N-1,1,4,4-тетраметилдисицилазациклопентанового аддукта, N-1,1,3,3-тетраметил-1,3-дисицилазоиндолина, N-дифенилсилилдиэтилена, N-5-замещенного-1,3-диметил-1,3,5-триазацклогексан-2-она, N-5-замещенного-1,3-бензил-1,3,5-триазацклогексан-2-она, 1-замещенного 3,5-динитро-4-пиридона и 1,3,5-диоксазина. В случае N-алкил-, N-алкенил-, N-алкинили или N-ариламинов, защитная группа для аминогруппы может быть выбрана из N-метила, N-трет-бутила, N-аллила, N-пренила, N-циннамила, N-фенилаллила, N-пропаргила, N-метоксиметила, N-[2-(триметилсилил)этокси]метила, N-3-ацетоксипропила, N-цианометила, N-2-азанорборненов, N-бензила, N-4-метоксибензила, N-2,4-диметоксибензила, N-2-гидроксибензила, N-ферроценилметила, N-2,4-динитрофенила, о-метоксифенила, п-метоксифенила, N-9-фенилфлуоренила, N-флуоренила, N'-оксида N-2-пиколиламина, N-7-метоксикумар-4-илметила, N-дифенилметила, N-бис(4-метоксифенил)метила, N-5-дибензосуберила, N-трифенилметила, N-(4-метилфенил)дифенилметила и N-(4-метоксифенил)дифенилметила. В случае иминов, защитная группа для аминогруппы может быть выбрана из N-1,1-диметилтиометилен, N-бензилидена, N-п-метоксибензилидена, N-дифенилметилен, N-[2-пиридил]мезитил]метилен, N-(N',N'-диметиламинометилен), N-(N',N'-дибензиламинометилен), N-(N'-трет-бутиламинометилен), N, N'-изопропилидена, N-п-нитробензилидена, N-салицилидена, N-5-хлорсалицилидена, N-(5-хлор-2-гидроксифенил)фенилметилен, N-циклогексидилен и N-трет-бутилидена. В случае енаминов, защитная группа для аминогруппы может быть выбрана из N-(5,5-диметил-3-оксо-1-циклогексенила), N-2,7-дихлор-9-флуоренилметилен, N-1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогексидилен)этила, N-(1,3-диметил-2,4,6-(1H,3H,5H)-триоксопиримидин-5-илиден)метилен, N-4,4,4-трифтор-3-оксо-1-бутенила и N-(1-изопропил-4-нитро-2-оксо-3-пирролин-3-ила). В случае производных N-металла, защитная группа для аминогруппы может быть выбрана из N-борана, N-дифенилборинового эфира, N-диэтилборинового эфира, N-9-борабициклононана, N-дифторборинового эфира и 3,5-бис(трифторметил)фенилбороновой кислоты; и также включая N-фенил(пентакарбонилхром)карбенил, N-фенил(пентакарбонилвольфрам)карбенил, N-метил(пентакарбонилхром)карбенил, N-метил(пентакарбонилвольфрам)карбенил, хелат N-меди, хелат N-цинка и 18-краун-6-производное. В случае N-N производных, защитная группа для аминогруппы вместе с аминогруппой, к которой она присоединена, образуют N-N производное, которое может быть выбрано из N-нитроамино, N-нитрозоамино, N-оксида амина, азида, производного триазена и N-триметилсиллилметил-N-бензилгидразина. В случае N-P производных, защитная группа для аминогруппы вместе с аминогруппой, к которой она присоединена, образуют N-P производное, которое может быть выбрано из дифенилфосфонамида, диметилтиофосфонамида, дифенилтиофосфонамида,

диалкилфосфоамида, дибензилфосфоамида, дифенилфосфоамида и иминотрифенилфосфорана. В случае N-Si производных, защитная группа для NH<sub>2</sub> может быть выбрана из трет-бутилдифенилсилила и трифенилсилила. В случае N-S производных, защищенная аминогруппа может быть выбрана из производных N-сульфенила или N-сульфонилла. Производные N-сульфенила могут быть выбраны из бензолсульфенамида, 2-нитробензолсульфенамида, 2,4-динитробензолсульфенамида, пентахлорбензолсульфенамида, 2-нитро-4-метоксибензолсульфенамида, трифенилметилсульфенамида, 1-(2,2,2-трифтор-1,1-дифенил)этилсульфенамида и N-3-нитро-2-пиридинсульфенамида. Производные N-сульфонилла могут быть выбраны из метансульфонамида, трифторметансульфонамида, трет-бутилсульфонамида, бензилсульфонамида, 2-(триметилсилил)этансульфонамида, п-толуолсульфонамида, бензолсульфонамида, о-анизилсульфонамида, 2-нитробензолсульфонамида, 4-нитробензолсульфонамида, 2,4-динитробензолсульфонамида, 2-нафталинсульфонамида, 4-(4',8'-диметоксинафтилметил)бензолсульфонамида, 2-(4-метилфенил)-6-метокси-4-метилсульфонамида, 9-антраценсульфонамида, пиридин-2-сульфонамида, бензотиазол-2-сульфонамида, фенацилсульфонамида, 2,3,6-триметил-4-метоксибензолсульфонамида, 2,4,6-триметоксибензолсульфонамида, 2,6-диметил-4-метоксибензолсульфонамида, пентаметилбензолсульфонамида, 2,3,5,6-тетраметил-4-метоксибензолсульфонамида, 4-метоксибензолсульфонамида, 2,4,6-триметилбензолсульфонамида, 2,6-диметокси-4-метилбензолсульфонамида, 3-метокси-4-трет-бутилбензолсульфонамида и 2,2,5,7,8-пентаметилхроман-6-сульфонамида.

В объеме настоящего изобретения аминозащитная группа определена как S-связанная группа, возникающая в результате защиты SH группы посредством образования подходящей защищенной SH группы. Примеры таких защищенных SH групп включают простые тиоэфиры, дисульфиды, силилтиоэфиры, сложные тиоэфиры, тиокарбонаты и тиокарбаматы. В случае простых тиоэфиров, защитная группа для SH может быть выбрана из S-алкила, S-бензила, S-п-метоксибензила, S-о-гидроксибензила, S-п-гидроксибензила, S-о-ацетоксибензила, S-п-ацетоксибензила, S-п-нитробензила, S-о-нитробензила, S-2,4,6-триметилбензила, S-2,4,6-триметоксибензила, S-4-пиколила, S-2-пиколил-N-оксида, S-2-хинолинилметила, S-9-антриметила, S-9-флуоренилметила, S-ксантенила, S-ферроценилметила, S-дифенилметила, S-бис(4-метоксифенил)метила, S-5-добензосуберила, S-трифенилметила, 4-метокситритила, S-дифенил-4-пиридилметила, S-фенила, S-2,4-динитрофенила, S-2-хинолила, S-трет-бутила, S-1-адамантила, S-метоксиметила, S-изобутоксиметила, S-бензилоксиметила, S-1-этоксизтила, S-2-тетрагидропиранила, S-бензилтиометила, S-фенилтиометила, S-ацетамидометила (Acм), S-триметилацетамидометила, S-бензамидометила, S-аллилоксикарбониламинометила, S-N-[2,3,5,6-тетрафтор-4-(N'-пиперидино)фенил-N-аллилоксикарбониламинометила, S-фталимидометила, S-фенилацетамидометила, S-ацетилметила, S-карбоксиметила, S-цианометила, S-(2-нитро-1-фенил)этила, S-2-(2,4-динитрофенил)этила, S-2-(4'-пиридил)этила, S-2-цианоэтила, S-2-(триметилсилил)этила, S-2-бис(карбозтокси)этила, S-(1-м-нитрофенил-2-бензоил)этила, S-2-фенилсульфонилэтила, S-1-(4-метилфенилсульфонил)-2-метилпроп-2-ила и S-п-гидроксифенацила. В случае дисульфидов, защищенная SH группа может быть выбрана из S-этилдисульфида, S-трет-бутилдисульфида, S-2-нитрофенилдисульфида, S-2,4-динитрофенилдисульфида, S-2-фенилазофенилдисульфида, S-2-карбоксифенилдисульфида и S-3-нитро-2-пиридилдисульфида. В случае силилтиоэфиров, защитная группа для SH может быть выбрана из списка групп, которые перечислены выше для защиты OH простыми эфирами силила. В случае тиоэфиров, защитная группа для SH может быть выбрана из S-ацетила, S-бензоила, S-2-метоксиизобутирила, S-трифторацетила, S-N-[[п-бифенилил]изопропилокси]карбонил]-N-метил-γ-аминотиобутирата и S-N-(трет-бутоксикарбонил)-N-метил-γ-аминотиобутирата. В случае тиокарбоната, защитная группа для SH может быть выбрана из S-2,2,2-трихлорэтоксикарбонила, S-трет-бутоксикарбонила, S-бензилоксикарбонила, S-п-метоксибензилоксикарбонила и S-флуоренилметилкарбонила. В случае тиокарбамата, защищенная SH группа может быть выбрана из S-(N-этилкарбамата) и S-(N-метоксиметилкарбамата).

Упоминание этих групп не следует интерпретировать как ограничение объема изобретения, поскольку они были упомянуты как простая иллюстрация защитных групп для групп OH, амина и SH, но другие группы, имеющие указанную функцию, могут быть известны специалисту в данной области техники, и следует понимать, что они также охватываются настоящим изобретением.

Для более лаконичного описания, некоторые количественные выражения, приведенные в настоящем документе, не дополнены термином "примерно". Подразумевается, что независимо от того, используется ли термин "примерно" явным образом или нет, каждая величина, указанная в настоящем документе, предназначена для ссылки на фактическое данное значение, а также подразумевается, что оно относится к приближению к такому заданному значению, которое разумно выводится на основе обычных навыков в данной области техники, включая эквиваленты и приближения, обусловленные условиями эксперимента и/или измерения для такого заданного значения.

"Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC)" представляют собой таргетную стратегию доставки цитотоксической молекулы к раковой клетке (см., например, международные заявки на патент WO-A-2004/010957, WO-A-2006/060533 и WO-A-2007/024536). Такие соединения обычно называют

"конъюгатами" лекарственного средства, токсина и радионуклида. Уничтожение опухолевой клетки происходит при связывании конъюгата лекарственного средства с опухолевой клеткой и выделении и/или активации цитотоксической активности группы лекарственного средства. Селективность, обеспечиваемая конъюгатами лекарственного средства, минимизирует токсичность для нормальных клеток, тем самым повышая переносимость лекарственного средства у пациента. Три примера конъюгатов лекарственного средства-антитела этого типа, получивших одобрение на рынке, включают: Гемтузумаб озогомицин для острого миелогенного лейкоза, Брентуксимаб ведотинфор для рецидивирующей и устойчивой к лечению лимфомы Ходжкина или анапластической крупноклеточной лимфомы и адо-Трастузумаб эмтанзин для рака груди, особенно HER2<sup>+</sup>.

Эффективность лекарственных средств для химиотерапии рака обычно зависит от различий в скорости роста, биохимических путях и физиологических характеристиках между раковыми и нормальными тканями. Следовательно, большинство стандартных химиотерапевтических агентов относительно неспецифичны и проявляют ограничивающую дозу токсичность, которая способствует субоптимальным терапевтическим эффектам. Один из подходов к избирательному нацеливанию на злокачественные клетки, а не на здоровые ткани, заключается в использовании специфических моноклональных антител (mAb), которые распознают опухолеассоциированные антигены, экспрессируемые на поверхности опухолевых клеток [Meyer, D.L. & Senter, P.D. (2003) Recent advances in antibody drug conjugates for cancer therapy. *Annu. Rep. Med. Chem.*, 38, 229-237; Chari, R.V. (2008) Targeted cancer therapy: conferring specificity to cytotoxic drugs. *Acc. Chem. Res.* 41, 98-107]. Более чем 30 иммуноглобулинов G-типа (IgG) и родственных агентов было одобрено в течение последних 25 лет в основном для рака и воспалительных заболеваний.

Альтернативной стратегией является поиск химического конъюгата малых антинеопластических молекул с mAb, используемыми как в качестве носителей (увеличенный период полужизни), так и в качестве таргетных агентов (селективность). Значительные усилия были направлены на использование моноклональных антител (mAb) для таргетной доставки лекарственных средств благодаря их высокой селективности в отношении опухолеассоциированных антигенов, благоприятной фармакокинетики и относительно низкой свойственной токсичности.

Конъюгаты mAb-лекарственное средство (ADC) получают ковалентным связыванием противораковых лекарственных средств с mAb, обычно через условно стабильную линкерную систему. После связывания с антигенами клеточной поверхности, mAb, используемые для большинства ADC, активно транспортируются в лизосомы или другие внутриклеточные компартменты, где ферменты, низкий pH или восстанавливающие агенты способствуют высвобождению лекарственного средства. Однако в настоящее время в разработке находятся ограниченные ADC.

Антигены должны иметь высокую селективность к опухолевым клеткам, чтобы ограничить токсичность и нецелевые эффекты. Множество опухолеассоциированных антигенов было исследовано в доклинических моделях и в клинических испытаниях, включая антигены, сверхэкспрессируемые в В-клетках (например, CD20, CD22, CD40, CD79), Т-клетках (CD25, CD30), клетках карциномы (HER2, EGFR, ЕрсАМ, ЕрhВ2, PSMA), эндотелиальных (эндоглин) или стромальных клетках (фибробласт-активированный белок), чтобы назвать несколько [Teicher ВА. *Antibody-drug conjugate targets. Curr Cancer Drug Targets* 9(8):982-1004, 2009]. Важным свойством мишеней ADC является их способность к интернализации; это может быть присущей особенностью самого антигена или может быть вызвано связыванием антитела с его антигеном. Действительно, интернализация ADC имеет решающее значение для снижения токсичности, связанной с внеклеточной доставкой полезной нагрузки лекарственного средства.

Что касается конъюгированных малых молекул и в отличие от огромного разнообразия предполагаемых антигенных мишеней, ограниченное количество семейств цитотоксических препаратов, используемых в качестве полезной нагрузки в ADC, в настоящее время активно исследуются в клинических испытаниях: калихеамицин (Pfizer), дуокармицины (Synthon), пирролобензодиазепины (Spirogen), иринотекан (Immunomedics), майтанзиноиды (DM1 и DM4; ImmunoGen+Genentech/Roche, Sanofi-Aventis, Biogen Idec, Centocor/Johnson & Johnson, Millennium/Takeda) и ауристатины (MMAE и MMAF; Seattle Genetics+Genentech/Roche, MedImmune/AstraZeneca, Bayer-Schering, Celldex, Progenics, Genmab). Калихеамицин, дуокармицины и пирролобензодиазепины являются белками, связывающимися с малой бороздой ДНК, иринотекан является ингибитором топоизомеразы I, а майтанзиноиды и ауристатины являются агентами деполимеризации тубулина.

Интересно, что представитель трех из этих цитотоксических ADC достиг поздней стадии клинических испытаний. Трастузумаб эмтанзин (Т-DM1), трастузумаб, связанный с майтанзиноидным полусинтетическим лекарственным средством стабильным линкером (одобрение FDA от 22 февраля 2013 для распространенного HER2 положительного рака груди); Инотузумаб озогомицин (СМС-544), гуманизированное анти-CD22 mAb (G5/44, IgG4), конъюгированное с калихеамицином кислотолабильным линкером (ацетилфенокси-бутановым) (В-клеточная неходжкинская лимфома); Брентуксимаб ведотин, гуманизированное анти-CD30 mAb, связанное с монометилауристатином Е (MMAE) через малеимидкапроил-валил-цитруллин-п-аминобензилкарбаматный линкер (одобрение

FDA от 19 августа 2011 для анапластической крупноклеточной лимфомы и лимфомы Ходжкина).

Линкеры представляют ключевой компонент ADC структур. Было исследовано несколько классов линкеров второго поколения, включая кислотолабильные гидразоновые линкеры (лизосомы) (например гемтузумаб и инотузумаб озогамидин); линкеры на основе дисульфида (восстановительная внутриклеточная среда); не расщепляемые тиоэфирные линкеры (катаболическое разложение в лизосомах) (например, трастузумаб эмтанзин); пептидные линкеры (например, цитрулин-валин) (подобный лизосомальным протеазам катепсин-В) (например брентуксимаб ведотин): см, например, WO-A-2004/010957, WO-A-2006/060533 и WO-A-2007/024536. Очистка конъюгатов антитело-лекарственное средство эксклюзионной хроматографией по размеру (ЭХР) также описана [см., например, Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 8618-8623 (1996) и Chari et al., Cancer Research, 52: 127-131 (1992)].

Трастузумаб (Герцептин) представляет собой моноклональное антитело, которое взаимодействует с рецептором HER2/neu. Его основным применением является лечение определенных раков груди. Рецепторами HER являются белки, которые встроены в клеточную мембрану и передают молекулярные сигналы извне клетки (молекулы, называемые EGF) внутрь клетки и включают и выключают гены. Белки HER стимулируют пролиферацию клеток. При некоторых формах рака, особенно при некоторых типах рака груди, HER2 сверхэкспрессируется и вызывает неконтролируемое размножение раковых клеток.

Ген HER2 амплифицирован в 20-30% ранней стадии рака груди, что заставляет его сверхэкспрессировать рецепторы эпидермального фактора роста (EGF) в клеточной мембране. При некоторых типах рака, HER2 может посылать сигналы без прибытия факторов роста и их связывания с рецептором, что делает его действие в клетке конститутивным; однако трастузумаб в этом случае не эффективен.

Путь HER2 способствует росту и делению клеток, когда он функционирует нормально; однако, когда он сверхэкспрессируется, рост клеток ускоряется сверх нормальных пределов. При некоторых типах рака этот путь используется для ускорения роста и пролиферации клеток и, следовательно, образования опухолей. В раковых клетках белок HER2 может экспрессироваться в 100 раз больше, чем в нормальных клетках (2 миллиона против 20000 на клетку). Эта сверхэкспрессия приводит к сильной и постоянной передаче сигналов пролиферации и, следовательно, к образованию опухоли. Сверхэкспрессия HER2 также вызывает деактивацию контрольных точек, что способствует еще большему увеличению пролиферации.

В соединениях настоящего изобретения Аб является группой, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт. В альтернативном варианте осуществления, Аб может быть любым подходящим агентом, который способен связываться с клеткой мишенью, предпочтительно, клеткой животного, и более предпочтительно, клеткой человека. Примеры таких агентов включают лимфокины, гормоны, факторы роста и молекулы, переносящие питательные вещества (например, трансферрин). В другом примере, Аб может быть аптамером и может включать нуклеиновую кислоту или пептидный аптамер.

Если Аб является группой, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, группа предпочтительно является антигенсвязывающим пептидом или полипептидом. В предпочтительном варианте осуществления, группой является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Термин "антитело" в конъюгатах лекарственного средства настоящего изобретения относится к любому иммуноглобулину, предпочтительно полноразмерному иммуноглобулину. Предпочтительно, термин охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела, такие как биспецифические антитела, и их фрагменты, пока они проявляют желаемую биологическую активность. Антитела могут быть получены от любого вида, но, предпочтительно, происходят от грызунов, например крысы или мыши, человека или кролика. Альтернативно, антитела, предпочтительно, моноклональные антитела, могут быть гуманизированными, химерными или фрагментами антитела. Термин "химерные антитела" может также включать "приматизированные" антитела, содержащие антигенсвязывающие последовательности переменного домена, полученные от приматов, не относящихся к человеку (например, старосветской мартышки, обезьян и т.д.) и последовательности константной области человека. Иммуноглобулины также могут быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса молекулы иммуноглобулина.

Термин "моноклональное антитело" относится к по существу гомогенной популяции молекул антитела (т.е. где отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах), продуцируемой одним клоном В клеточной линии, часто гибридомой. Важно отметить, что каждое моноклональное антитело имеет одинаковую антигенную специфичность - то есть оно направлено против одной детерминанты антигена.

Получение моноклональных антител может проводиться способами, известными в данной области техники. Однако, в качестве примера, моноклональные антитела могут быть получены способом гибридомы (Kohler et al (1975) Nature 256:495), методом В-клеточной гибридомы человека (Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4: 72) или методом EBV-гибридомы (Cole et al., 1985, Monoclonal Antibodies и

Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96). Альтернативно, моноклональное антитело может быть получено с применением способов рекомбинантной ДНК (см., US 4816567) или выделено из фаговых библиотек антител с применением методов, описанных в Clackson et al. (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks et al (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597.

Поликлональными антителами являются антитела, направленные против различных детерминант (эпитопов). Эта гетерогенная популяция антитела может быть получена из сыворотки иммунизированных животных с использованием различных методов, хорошо известных в данной области техники.

Термин "биспецифическое антитело" относится к искусственному антителу, состоящему из двух разных моноклональных антител. Они могут быть сконструированы для связывания либо с двумя соседними эпитопами на одном антигене, тем самым увеличивая avidность и специфичность, либо для связывания двух разных антигенов для множества применений, но особенно для привлечения цитотоксических Т-клеток и естественных киллеров (NK) или перенацеливания токсинов, радионуклидов или цитотоксических лекарственных средств для лечения рака (Holliger & Hudson, *Nature Biotechnology*, 2005, 23(9), 1126-1136). Биспецифическое антитело может иметь гибридную тяжелую цепь иммуноглобулина с первой специфичностью связывания в одном плече, и гибридную пару тяжелая цепь-легкая цепь иммуноглобулина (обеспечивающую вторую специфичность связывания) в другом плече. Эта асимметричная структура облегчает отделение желаемого биспецифического соединения от нежелательных комбинаций цепей иммуноглобулина, поскольку присутствие легкой цепи иммуноглобулина только в одной половине биспецифической молекулы обеспечивает простой способ разделения (WO 94/04690; Suresh et al., *Methods in Enzymology*, 1986, 121:210; Rodrigues et al., 1993, *J. of Immunology* 151:6954-6961; Carter et al., 1992, *Bio/Technology* 10:163-167; Carter et al., 1995, *J. of Hematotherapy* 4:463-470; Merchant et al., 1998, *Nature Biotechnology* 16:677-681).

Способы получения гибридных или биспецифических антител известны в данной области техники. В одном способе, биспецифические антитела могут быть получены слиянием двух гибридов в единую "квадрому" путем химического перекрестного связывания или генетического слияния двух разных модулей Fab или scFv (Holliger & Hudson, *Nature Biotechnology*, 2005, 23(9), 1126-1136).

Термин "химерное" антитело относится к антителу, разные части которого получены от разных видов животных. Например, химерное антитело может получить вариабельную область от мыши и константную область от человека. Напротив, "гуманизованное антитело" происходит преимущественно от человека, даже если оно содержит не человеческие части. В частности, гуманизованные антитела представляют собой иммуноглобулины человека (реципиентное антитело), в которых остатки из гипервариабельной области реципиента заменены остатками из гипервариабельных областей видов, не относящихся к человеку (донорное антитело), таких как мышь, крыса, кролик или примат, не относящийся к человеку, имеющими желаемую специфичность, аффинность и емкость. В некоторых случаях, остатки каркасной области (FR) иммуноглобулина человека заменяются соответствующими не человеческими остатками. Более того, гуманизованные антитела могут содержать остатки, которые не найдены в реципиентном антителе или в донорном антителе. Эти модификации делают для дальнейшего улучшения эффективности антитела. В общем, гуманизованное антитело будет включать по существу все из, по меньшей мере, одного и, обычно, двух вариабельных доменов, в которых все или по существу все гипервариабельные петли соответствуют петлям не человеческого иммуноглобулина, и все или по существу все FR принадлежат к последовательностям иммуноглобулина человека. Гуманизованное антитело необязательно также будет включать, по меньшей мере, часть константной области иммуноглобулина (Fc), обычно иммуноглобулина человека.

Рекомбинантные антитела, такие как химерные и гуманизованные моноклональные антитела, могут быть получены методами рекомбинантной ДНК, известными в данной области техники. Полностью человеческие антитела могут быть получены с использованием трансгенных мышей, которые неспособны экспрессировать гены тяжелой и легкой цепей эндогенного иммуноглобулина, но которые могут экспрессировать гены тяжелой и легкой цепей человека. Трансгенных мышей иммунизируют обычным способом выбранным антигеном. Моноклональные антитела, направленные против антигена, могут быть получены с применением обычного метода гибридомы. Трансгены человеческого иммуноглобулина, содержащиеся в трансгенных мышях, перестраиваются во время дифференциации В-клеток и впоследствии претерпевают переключение классов и соматическую мутацию. Таким образом, используя такой метод, можно получить терапевтически полезные антитела IgG, IgA, IgM и IgE. Для обзора этого метода получения антител человека см. Lonberg и Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93). Подробное обсуждение этого метода получения антител человека и моноклональных антител человека и протоколы получения таких антител см., например, патенты США №№ 5625126; 5633425; 5569825; 5661016; 5545806; каждый из которых включен в настоящий документ в качестве ссылки полностью. Другие антитела человека могут быть получены коммерчески, например, от Abgenix, Inc. (Freemont, CA) и Genpharm (San Jose, CA).

Термин "антигенсвязывающий фрагмент" в конъюгате лекарственного средства настоящего изобретения относится к части полноразмерного антитела, где такие антигенсвязывающие фрагменты

антител сохраняют антигенсвязывающую функцию соответствующего полноразмерного антитела. Антигенсвязывающий фрагмент может включать часть вариабельной области антитела, где указанная часть содержит, по меньшей мере, один, два, предпочтительно, три CDR, выбранных из CDR1, CDR2 и CDR3. Антигенсвязывающий фрагмент может также включать часть легкой и тяжелой цепи иммуноглобулина. Примеры фрагментов антитела включают Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, scFv, di-scFv, sdAb и BiTE (привлекающие Т-клетки биспецифические активаторы), Fv фрагменты, включая нанотела, диатела, слияния диатело-Fc, триатела и тетратела; минитела; линейные антитела; фрагменты, продуцируемые библиотекой экспрессии Fab, анти-идиотипические (анти-Id) антитела, CDR- (определяющую комплементарность область) и эпитоп-связывающие фрагменты любых из вышеперечисленных, которые иммуноспецифически связываются с антигеном-мишенью, таким как антигены раковых клеток, вирусные антигены или микробные антигены, молекулы одноцепочечных или однодоменных антител, включая антитела, имеющие только тяжелые цепи, например, домены V<sub>H</sub> верблюда и V-NAR акулы; и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. Для сравнения, полноразмерным антителом, называемым "антитело", является антитело, содержащее домены VL и VH, а также полные константные домены легкой и тяжелой цепи.

Антитело может также иметь одну или несколько эффекторных функций, которые относятся к биологической активности, приписываемой Fc области (Fc области с нативной последовательностью или Fc области варианта аминокислотной последовательности, сконструированной способами, известными в данной области техники, для изменения связывания рецептора) антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают связывание C1q; комплементзависимую цитотоксичность; связывание с рецептором Fc; антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; подавление рецепторов клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора; BCR) и т. д.

Антитело также может быть функционально активным фрагментом (также именуемым в настоящем документе как иммунологически активная часть), производным или аналогом антитела, которое иммуноспецифически связывается с целевым антигеном, таким как антиген раковой клетки, вирусный антиген или микробный антиген, или другими антителами, связанными с опухолевыми клетками. В этом отношении, функционально активный означает, что фрагмент, производное или аналог способен вызывать анти-идиотипические антитела, которые распознают тот же антиген, который распознает антитело, из которого получен фрагмент, производное или аналог. В частности, в типовом варианте осуществления, антигенность идиотипа молекулы иммуноглобулина может быть усилена делецией последовательностей каркаса и CDR, которые являются С-концевыми по отношению к последовательности CDR, которая специфически распознает антиген. Чтобы определить, какие последовательности CDR связывают антиген, синтетические пептиды, содержащие последовательности CDR, могут применяться в анализах связывания с антигеном любым методом анализа связывания, известным в данной области техники (например, анализом BIAcore), см, например, Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md; Kabat E et al., 1980, J. of Immunology 125(3):961-969).

Термин "антитело" может также включать слитый белок антитела или его функционально активный фрагмент, например, в котором антитело слито через ковалентную связь (например, пептидную связь) либо на N-конце, либо на C-конце, с аминокислотной последовательностью другого белка (или ее частью, такой как, по меньшей мере, часть белка из 10, 20 или 50 аминокислот), которая не является антителом. Антитело или его фрагмент может быть ковалентно связано с другим белком на N-конце константного домена.

Кроме того, антитело или антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению может включать аналоги и производные антител или их антигенсвязывающие фрагменты, которые либо модифицированы, например, путем ковалентного присоединения любого типа молекулы, до тех пор, пока такое ковалентное присоединение позволяет антителу сохранять иммуноспецифичность связывания с антигеном. Примеры модификаций включают гликозилирование, ацетилирование, пегилирование, фосфорилирование, амидирование, дериватизацию известными защитными/блокирующими группами, протеолитическое расщепление, связывание с единицей клеточного антитела или другим белком, и т. д. Любая из многочисленных химических модификаций может быть проведена известными методами, включая, но не ограничиваясь ими, специфическое химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез в присутствии туникамицина и т. д. Кроме того, аналог или производное могут содержать одну или несколько аминокислот, не существующих в природе.

Антитела или антигенсвязывающие фрагменты настоящего изобретения могут также иметь модификации (например, замены, делеции или добавления) в Fc домене антитела. В частности, модификации могут быть в Fc-шарнирной области и приводить к усиленному связыванию рецептора FcRn.(WO 97/34631).

В одном варианте осуществления, антителом в конъюгате лекарственного средства настоящего изобретения может быть любое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предпочтительно, моноклональное антитело, которое применяется в лечении заболевания, предпочтительно, рака. Раком может быть рак груди, колоректальный рак, рак эндометрия, рак почек меланомы, лейкозы, рак легких,

множественная миелома, лимфомы (например, болезнь Ходжкина и неходжкинская лимфома), солидные опухоли, такие как саркома и карциномы, меланома, мезотелиома, остеосаркома, рак яичников и рак почек. В предпочтительном варианте осуществления, раком является рак легких, колоректальный рак, рак груди, карцинома поджелудочной железы, рак почек, лейкоз, множественная миелома, лимфома, рак ЖКТ и яичников. В более предпочтительном варианте осуществления, раком является колоректальный рак, рак груди, лейкоз, лимфома и рак яичников.

Антитела, которые могут применяться в лечении рака, включают, но не ограничены ими, антитела против следующих антигенов: CA125 (яичники), CA15-3 (карциномы), CA19-9 (карциномы), L6 (карциномы), Lewis Y (карциномы), Lewis X (карциномы), альфа фетопротейна (карциномы), CA 242 (колоректальный), плацентарной щелочной фосфатазы (карциномы), специфического антигена простаты (простата), простатической кислой фосфатазы (простата), эпидермального фактора роста (карциномы), например, белка EGF рецептора 2 (рак груди), MAGE-I (карциномы), MAGE-2 (карциномы), MAGE-3 (карциномы), MAGE-4 (карциномы), анти-трансферринового рецептора (карциномы), p97 (меланома), MUC1-KLN (рак груди), SEA (колоректальный), gp100 (меланома), MART1 (меланома), PSA (простата), IL-2 рецептора (Т-клеточный лейкоз и лимфомы), CD20 (неходжкинская лимфома), CD52 (лейкоз), CD33 (лейкоз), CD22 (лимфома), хорионического гонадотропина человека (карцинома), CD38 (множественная миелома), CD40 (лимфома), муцина (карциномы), P21 (карциномы), MPG (меланома) и Neu онкогенного продукта (карциномы). Некоторые конкретные полезные антитела включают, но не ограничены ими, BR96 mAb (Trail, P. A., et al. Science (1993) 261, 212-215), BR64 (Trail, PA, et al. Cancer Research (1997) 57, 100-105), mAb против CD40 антигена, такие как S2C6 mAb (Francisco, J. A., et al. Cancer Res. (2000) 60:3225-3231), mAb против CD70 антигена, такие как 1F6 mAb, и mAb против CD30 антигена, такие как AC10 (Bowen, M. A., et al. (1993) J. Immunol., 151:5896- 5906; Wahl et al., 2002 Cancer Res. 62(13):3736-3742). Многие другие интернализирующие антитела, которые связываются с опухолеассоциированными антигенами, могут применяться и были описаны (Franke, A. E., et al. Cancer Biother Radiopharm. (2000) 15:459-476; Murray, J. L., (2000) Semin Oncol, 27:64-70; Breitling, F. и Dubel, S., Recombinant Antibodies, John Wiley and Sons, New York, 1998).

Настоящее изобретение охватывает лечения раков, ассоциированных с этими антителами.

Другие опухолеассоциированные антигены включают, но не ограничены ими, BMPR1B, E16, STEAP1, STEAP2, 0772P, MPF, Napi3b, Sema5b, PSCA hlg, ETBR, MSG783, TrpM4, CRIPTO, CD21, CD79b, FcRH2, HER2, NCA, MDP, IL20R $\alpha$ , Бревикан, EphB2R, ASLG659, PSCA, GEDA, BAFF-R, CD79A, CXCR5, HLA-DOB, P2X5, CD72, LY64, FCRH1, IRTA2 и TENB2.

В альтернативном варианте осуществления, антителом в конъюгате лекарственного средства настоящего изобретения может быть антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предпочтительно, моноклональное антитело, которое иммуноспецифически связывается с вирусным антигеном, микробным антигеном или антигеном клетки, которая продуцирует аутоиммунные антитела, ассоциированные с аутоиммунным заболеванием.

Вирусный антиген может включать, но не ограничен ими, любой вирусный пептид, полипептид или белок, такой как HIV gp120, HIV nef, F RSV гликопротеин, нейраминидазу вируса гриппа, гемагглютинин вируса гриппа, HTLV tax, гликопротеин вируса простого герпеса (например, Gb, Gc, Gd и Ge) и поверхностный антиген гепатита В, способный вызывать иммунный ответ.

Микробный антиген может включать, но не ограничен ими, любой микробный пептид, полипептид, белок, сахарид, полисахарид или молекулу жира (например, бактериальный, грибковый, патогенный простейший или дрожжевой полипептид, включая, например, LPS и капсульный полисахарид), который способен вызывать иммунный ответ.

В дополнительном варианте осуществления, антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с эпитопом, который присутствует на клетке, такой как опухолевая клетка. Предпочтительно, если клеткой является опухолевая клетка, эпитоп опухолевой клетки отсутствует на неопухолевых клетках или присутствует в более низкой концентрации или в другой пространственной конфигурации, чем в опухолевых клетках.

В одном варианте осуществления, антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с эпитопом, присутствующим в контексте одного из следующих антигенов: CA125, CA15-3, CA19-9 L6, Lewis Y, Lewis X, альфа фетопротейн, CA 242, плацентарная щелочная фосфатаза, специфический антиген простаты, простатическая кислая фосфатаза, эпидермальный фактор роста, например, белок EGF рецептора 2, MAGE-I, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, анти-трансферриновый рецептор, p97, MUC1-KLN, SEA, gp100, MART1, PSA, IL-2 рецептор, CD20, CD52, CD33, CD22, хорионический гонадотропин человека, CD38, CD40, муцин, P21, MPG, Neu онкогенный продукт, BMPR1B, E16, STEAP1, STEAP2, 0772P, MPF, Napi3b, Sema5b, PSCA hlg, ETBR, MSG783, TrpM4, CRIPTO, CD21, CD79b, FcRH2, HER2, NCA, MDP, IL20R $\alpha$ , Бревикан, EphB2R, ASLG659, PSCA, GEDA, BAFF-R, CD79A, CXCR5, HLA-DOB, P2X5, CD72, LY64, FCRH1, IRTA2, TENB2, вирусный антиген (такой как вирусный пептид, полипептид или белок, такой как HIV gp120, HIV nef, RSV F гликопротеин, нейраминидаза вируса гриппа, гемагглютинин вируса гриппа, HTLV tax, гликопротеин вируса простого герпеса (например, Gb, Gc, Gd и Ge) и поверхностный антиген гепатита В), которые способны вызывать иммунный ответ), микробный

антиген (любой микробный пептид, полипептид, белок, сахарид, полисахарид и молекула жира (например, бактериальный, грибковый, патогенный простейший или дрожжевой полипептид, включая, например, LPS и капсульный полисахарид), который способен вызывать иммунный ответ) или антиген клетки, которая продуцирует аутоиммунные антитела, ассоциированные с аутоиммунным заболеванием.

В одном варианте осуществления, если антигеном является EгBB2 (также известный как ERBB2, CD340 или HER2; эти термины могут применяться взаимозаменяемо), антитело или антигенсвязывающий фрагмент может связываться с одним или несколькими из следующих эпитопов: ARHC L (SEQ ID NO: 1), QNGS (SEQ ID NO: 2) и PPFCVARC PSG (SEQ ID NO: 3). Эти эпитопы соответствуют положениям 557-561, 570-573 и 593-603, соответственно, полипептидной последовательности HER2 человека (Доступ: NM\_004448, Версия: NM\_004448.3).

В другом варианте осуществления, антителом может быть любое антитело, известное для лечения или профилактики вирусной или микробной инфекции - т.е. инфекционного заболевания. Примеры таких антител включают, но не ограничены ими, PRO542 (Progenies), которое является CD4 слитым антителом, применяемым для лечения ВИЧ инфекции; OsTAVIR (Protein Design Labs, Inc., CA), которое является антителом человека, применяемым для лечения вируса гепатита В; PROTOVIR. (Protein Design Labs, Inc., CA), которое является гуманизированным IgG1 антителом, применяемым для лечения цитомегаловируса (CMV); и анти-LPS антитела.

Другие антитела, применяемые в лечении инфекционных заболеваний, включают, но не ограничены ими, антитела против антигенов из патогенных штаммов бактерий (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenas*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter (Vibrio) fetus*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Edwardsiella tarda*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Treponema pallidum*, *Treponema pertenue*, *Treponema carateum*, *Borrelia vincentii*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira icterohemorrhagiae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pneumocystis carinii*, *Francisella tularensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella melitensis*, *Mycoplasma spp.*, *Rickettsia prowazeki*, *Rickettsia tsutsugumushi*, *Chlamydia spp.*); патогенных грибов (*Coccidioides immitis*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*); простейших (*Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*, *Trichomonas tenax*, *Trichomonas hominis*, *Trichomonas vaginalis*, *Trypanosoma gambiense*, *Trypanosoma rhodesiense*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania braziliensis*, *Pneumocystis pneumonia*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*); или гельминтов (*Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichinella spiralis*, *Strongyloides stercoralis*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium* и анкилостом).

Другие антитела, применяемые для лечения вирусных заболеваний, включают, но не ограничены ими, антитела против антигенов патогенных вирусов, включая, в качестве примеров и не для ограничения: Poxviridae, Herpesviridae, Вирус простого герпеса 1, Вирус простого герпеса 2, Adenoviridae, Papovaviridae, Enteroviridae, Picornaviridae, Parvoviridae, Reoviridae, Retroviridae, вирусы гриппа, вирусы парагриппа, паротиты, корь, респираторно-синцитиальный вирус, краснуху, Arboviridae, Rhabdoviridae, Arenaviridae, вирус гепатита А, вирус гепатита В, вирус гепатита С, вирус гепатита Е, вирус гепатита не-А/не-В, Rhinoviridae, Coronaviridae, Rotoviridae и вирус иммунодефицита человека.

В альтернативном варианте осуществления, антителом конъюгата лекарственного средства настоящего изобретения может быть любое антитело, известное для лечения и профилактики аутоиммунных заболеваний, таких как, но не ограниченных ими, болезни, связанные с Th2 лимфоцитами (например, atopический дерматит, atopическая астма, риноконъюнктивит, аллергический ринит, синдром Оменна, системный склероз и болезнь трансплантат против хозяина); расстройства, связанные с Th1 лимфоцитами (например, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, псориаз, синдром Шергрена, тиреоидит Хашимото, болезнь Грейвса, первичный билиарный цирроз печени, гранулематоз Вегенера и туберкулез); расстройства, связанные с активированными В-лимфоцитами (например, системная красная волчанка, синдром Гудпастура, ревматоидный артрит и диабет I типа); и активный хронический гепатит, болезнь Аддисона, аллергический альвеолит, аллергическая реакция, аллергический ринит, синдром Альпорта, анафилаксия, анкилозирующий спондилит, анти-фосфолипидный синдром, артрит, аскаридоз, аспергиллез, atopическая аллергия, atopический дерматит, atopический ринит, болезнь Бехчета, легочная аллергия птицеведа, бронхиальная астма, синдром Каплана, кардиомиопатия, глютенная болезнь, болезнь Шагаса, хронический гломерулонефрит, синдром Когана, болезнь холодового агглютинина, врожденная инфекционная краснуха, синдром криоглобулиноза, CREST-синдром, болезнь Крона, криоглобулинемия, синдром Кушинга, дерматомиозит, дискоидная волчанка, синдром Дрессера, синдром Итона-Ламберта, эховирусная инфекция, энцефаломиелит, эндокринная офтальмопатия, инфекция вирусом Эпштейн-Барр, лошадиный запал, эритематоз, синдром Эвана, синдром Фелти, фибромиалгия, циклит Фуха, атрофия желудка, желудочно-кишечная аллергия, гигантоклеточный артериит, гломерулонефрит, синдром Гудпастура, болезнь трансплантат против хозяина, болезнь

Грейвса, острый полирадикулоневрит, тиреодит Хашимото, гемолитическая анемия, пурпура Геноха-Шонлейна, идиопатическая атрофия надпочечников, идиопатический легочный фибрит, IgA нефропатия, воспалительные заболевания кишечника, инсулинозависимый сахарный диабет, ювенильный артрит, ювенильный сахарный диабет (I типа), синдром Ламберта-Итона, ламинит, красный плоский лишай, волчаночный гепатит, волчаночная лимфопения, болезнь Менъера, смешанное заболевание соединительной ткани, рассеянный склероз, миастения гравис, злокачественная анемия, полигландулярные синдромы, пресенильная деменция, первичная агаммаглобулинемия, первичный билиарный цирроз, псориаз, псориатический артрит, феномен Рейно, привычный выкидыш, синдром Рейтера, ревматическая лихорадка, ревматоидный артрит, синдром Самптера, шистосомоз, синдром Шмидта, склеродермия, синдром Шульмана, синдром Сьоргена, синдром скованного человека, симпатическая офтальмия, системная красная волчанка, артериит Такаюсу, височный артериит, тиреодит, тромбоцитопения, тиреотоксикоз, токсический эпидермальный некролиз, инсулинорезистентность типа В, сахарный диабет I типа, язвенный колит, увеит, витилиго, макроглобулемия Вальденстрема и гранулематоз Вегенера.

Антитела, иммуноспецифические в отношении антигена клетки, ответственной за продуцирование аутоиммунных антител, могут быть получены любым способом, известным специалисту в данной области техники, таким как, например, методы химического синтеза или рекомбинантной экспрессии. Примеры аутоиммунных антител включают, но не ограничены ими, анти-ядерное антитело; анти ds ДНК; анти ss ДНК, анти-кардиолипиновое антитело IgM, IgG; анти-фосфолипидное антитело IgM, IgG; анти-SM антитело; анти-митохондриальное антитело; тиреодное антитело; микросомальное антитело; тироглобулиновое антитело; анти-SCL-70; анти-Jo; анти-U1RNP; анти-La/SSB; анти-SSA; анти-SSB; антитело против перитальных клеток; анти-гистоны; анти-RNP; C-ANCA; P-ANCA; анти-центромер; анти-фибрилларин и анти-GBM антитело.

В другом варианте осуществления, антителом конъюгата лекарственного средства по настоящему изобретению может быть антитело, которое связывается как с рецептором, так и с рецепторным комплексом, экспрессируемым на активированном лимфоците, таком как лимфоцит, связанный с аутоиммунным заболеванием. Рецептор или рецепторный комплекс может содержать член суперсемейства генов иммуноглобулинов, член суперсемейства рецепторов TNF, интегрин, интерлейкин, цитокиновый рецептор, хемокиновый рецептор, главный белок гистосовместимости, лектин или белок контроля комплемента. Неограничивающими примерами подходящих членов суперсемейства иммуноглобулинов являются CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD13, CD19, CD22, CD28, CD79, CD90, CD152/CTLA-4, PD-I и ICOS. Неограничивающими примерами подходящих членов суперсемейства рецептора TNF являются CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, TNF-R1, TNFR-2, RANK, TAC1, BCMA, остеопротегерин, Apo2/TRAEL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRABL-R4 и APO-3. Неограничивающими примерами подходящих интегринов являются CD1 Ia, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD41, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD103 и CD104. Неограничивающими примерами подходящих лектинов являются лектин С-типа, S-типа и I-типа.

Антителом, которое связывает молекулярную мишень или антиген, представляющий интерес, например, антиген ErbB2, является антитело, способное связывать этот антиген с достаточной аффинностью, так что антитело полезно для нацеливания на клетку, экспрессирующую антиген. Если антителом является такое, которое связывает ErbB2, оно обычно предпочтительно связывает ErbB2 в отличие от других рецепторов ErbB и может быть таким, которое не вступает в значительную перекрестную реакцию с другими белками, такими как EGFR, ErbB 3 или ErbB4. В таких вариантах осуществления, степень связывания антитела с этими не-ErbB2 белками (например, связывания клеточной поверхности с эндогенным рецептором), будет менее 10%, по данным анализа сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS) или радиоиммунопреципитации (RIA). Иногда анти-ErbB2 антитело не будет значительно перекрестно реагировать с белком neu крысы, например, как описано в Schecter et al., Nature 312:513-516 (1984) и Drebin et al., Nature 312:545-548 (1984).

В другом варианте осуществления, антитело конъюгата лекарственного средства или мишень настоящего изобретения может быть выбрано из антитела или мишени в таблице ниже. Такие антитела являются иммуноспецифическим для антиген-мишени, и могут быть получены коммерчески или получены любым способом, известным в данной области техники, таким как, например, методы рекомбинантной экспрессии.

Таблица 1

## Терапевтические моноклональные антитела

Наименование	Торговое наименование	Мишень
3F8		GD2 ганглиозид
8H9		B7-H3
Абаговомаб		CA-125 (имитация)
Абциксимаб	ReoPro	CD41 7E3

Наименование	Торговое наименование	Мишень
Абитузумаб		CD51
Абрилумаб		Интегрин $\alpha 4\beta 7$
Актоксумаб		Clostridium difficile
Адалимумаб	Humira	TNF- $\alpha$
Адекатумумаб		EpCAM
Атидортоксумаб		Staphylococcus aureus альфа токсин
Адуканумаб		Бета-амилоид
Афасевикумаб		IL17A и IL17F
Афутузумаб		CD20
Алемтузумаб	Campath, Lemtrada	CD52
Алирокумаб	Praluent	PCSK9
Алтумомаб	Hybri-ceaker	CEA
Аматуксимаб		Мезотелин
Андекаликсимаб		желатиназа В
Анетумаб		MSLN
Анифролумаб		рецептор интерферона $\alpha/\beta$
Анрукинзумаб		IL-13
Аполизумаб		HLA-DR $\beta$ -цепь
Апрутумаб		FGFR2
Аскринвакумаб		Активин-рецептороподобная киназа 1
Аселизумаб		L-селектин (CD62L)
Атезолизумаб	Tecentriq	PD-L1
Атидортоксумаб		Staphylococcus aureus альфа токсин
Аетинумаб		RTN4
Аторолимумаб		Резус фактор
Авелумаб	Bavencio	PD-L1
Азинтуксизумаб		CD319
Бапинеузумаб		бета амилоид
Басиликсимаб	Simulect	CD25 ( $\alpha$ цепь IL-2 рецептора)
Бавитуксимаб		фосфатидилсерин
BСD-100		PD-1
Бектумомаб	LymphoScan	CD22
Бегеломаб		DPP4
Белантамаб		BCMA
Белимумаб	Benlysta	BAFF
Бемаритузумаб		FGFR2
Бентрализумаб	Fasenra	CD125
Берлимаатоксумаб		Staphylococcus aureus бикомпонентный лейкоцидин
Берсанлимаб		ICAM-1
Бертилимумаб		CCL11 (эотаксин-1)
Бесилесомаб	Scintimun	CEA-родственный антиген
Бевацизумаб	Avastin	VEGF-A
Безлотоксумаб	Zinplava	Clostridium difficile
Блинатомумаб	Blinicyto	CD19, CD3
Бимагрумаб		ACVR2B
Бимекизумаб		IL17A и IL17F
Биргамимаб		сывороточный амилоидный А белок
Биватузумаб		CD44 v6
BIVV009		C1s
Блеселумаб		CD40
Блонтуветмаб	Blontress	CD20
Блосозумаб		SOST
Бокоцизумаб		Невральный апоптоз-регулируемая протеиназа 1
Бразикумаб		IL23
Брентуксимаб	Adcentris	CD30 (TNFRSF8)
Бриакинумаб		IL-12, IL-23

Наименование	Торговое наименование	Мишень
Бродалумаб	Siliz	IL-17
Бронтиктрузумаб		Notch 1
Буросумаб	Crysvita	FGF 23
Кабирализумаб		CSF1R
Камиданлумаб		CD25
Камрелизумаб		Запрограммированная гибель клеток 1
Канакинумаб	Paris	IL-1
Кантузумаб		MUC-1
Капромаб	Prostascint	клетки карциномы простаты
Карлумаб		MCP-1
Каротуксимаб		эндоглин
Катумаксомаб	Removab	EpCAM, CD3
СС49		TAG-72
cBR96		Lewis-Y антиген
Цеделизумаб		CD4
Цемиплимаб		PCDC1
Цергутузумаб		IL2
Цетрелимаб		Запрограммированная гибель клетки 1
Цетуксимаб	Erbitux	EGFR
Цибисатамаб		CEACAM5
Циксутумумаб		IGF-1 рецептор (CD221)
Клазакизумаб		IL6
Кленоликсимаб		CD4
Кливатузумаб	hPAM4-Cide	MUC1
Кодритузумаб		глипикан 3
Кофетузумаб		PTK7
Колтуксимаб		CD19
Конатумумаб		TRAIL-R2
Концизумаб		TFPI
Косфровиксимаб	ZMapp	Гликопротеин вируса Эбола
CR6261		Influenza A hemagglutinin
Кренезумаб		1-40-β-амилоид
Кризанлизумаб		Селектин Р
Кротедумаб		GCCR
Кузатузумаб		CD70
Дацетузумаб		CD40
Дактизумаб	Zenapax	CD25 (α цепь IL-2 рецептора)
Далотузумаб		IGF-1 рецептор (CD221)
Дапиролизумаб пегол		CD154 (CD40L)
Даратумумаб	Darzalex	CD38
Дектрекумаб		IL-13
Демцизумаб		DLL4
Денинтузумаб		CD19
Деносумаб	Prolia	RANKL
Депатуксизумаб		EGFR
Дерлотуксимаб		Гистоновый комплекс
Дегумомаб		В-клетки лимфомы
Дезамизумаб		сывороточный амилоидный Р компонент
Динутуксимаб	Unituxin	GD2 ганглиозид
Диридавумаб		гемагглютинин
Домагрозумаб		GDF-8
Дрозитумаб		DR5
Дулиготузумаб		ERBB3 (HER3)
Дупилумаб	Dupixent	IL4
Дурвалумаб	Imfinzi	PD-L1
Дусигитумаб		ILGF2
Экромексимаб		GD3 ганглиозид

Наименование	Торговое наименование	Мишень
Экулизумаб	Soliris	C5
Эдобакомаб		эндотоксин
Эдреколомаб	Panorex	EpCAM
Эфализумаб	Raptiva	LFA-1 (CD11a)
Элделумаб		белок, индуцируемый интерфероном гамма
Элезанумаб		RGMA
Элгемтумаб		ERBB3 (HER3)
Элотузумаб	Empliciti	SLAMF7
Элсилимомаб		IL-6
Эмактузумаб		CSF1R
Эмапалумаб	Gamifant	Интерферон гамма
Эмибетузумаб		HNGFR
Эмицизумаб	Hemlibra	Активированный F9, F10
Энапотамаб		AXL
Энаватузумаб		TWEAK рецептор
Энфортумаб		нектин-4
Энлимомаб пегол		ICAM-1 (CD54)
Эноблитузумаб		CD276
Энокизумаб		IL9
Энотикумаб		DLL4
Энситуксимаб		5AC
Эпитумомаб		эписиалин
Эпратузумаб		CD22
Эптинезумаб		Пептид, родственный гену кальцитонина
Эренумаб	Aimovig	CGRP
Эртумаксомаб	Rexomun	HER2/neu, CD3
Этарацизумаб	Abegrin	интегрин $\alpha\beta3$
Этигилимаб		TIGIT
Этролизумаб		интегрин $\beta7$
Эвинакумаб		Ангиопоэтин 3
Эволокумаб	Repatha	PCSK9
Эксбиврумаб		поверхностный антиген гепатита В
Фанолесомаб	NeutroSpec	CD15
Фаралимомаб		рецептор интерферона
Фарицимаб		VEGF-A и Ang-2
Фарлетузумаб		фолатный рецептор1
Фасинумаб		HNGF
FBTA05	Lymphomun	CD20
Фелвизумаб		респираторно-синцитиальный вирус
Фезакинумаб		IL-22
Фибатузумаб		Эфриновый рецептор A3
Фиклатузумаб		HGF
Фигитумумаб		IGF-1 рецептор (CD221)
Фиривумаб		гемагглютинин вируса гриппа А
Фланвотумаб		TYRP1 (гликопротеин 75)
Флетикумаб		IL-20
Фонтолизумаб	HuZAF	IFN- $\gamma$
Формалумаб		CD3 эпсилон
Формапирумаб		гликопротеин вируса бешенства
Фреманезумаб		пептид альфа, родственный гену кальцитонина
Фрезолимумаб		TGF- $\beta$
Фруневетмаб		NGF
Фулранумаб		NGF
Футуксимаб		EGFR
Галканезумаб		кальцитонин
Галиксимаб		CD80
Ганитумаб		1 рецептор (CD221)

Наименование	Торговое наименование	Мишень
Гангенерумаб		бета амилоид
Гатипотузумаб		MUC1
Гавилимомаб		CD147 (базигин)
Гедивумаб		Гемагглютинин НА
Гемтузумаб	Mylotarg	CD33
Гевокизумаб		IL-1 $\beta$
Гилветмаб		PCDC1
Гимсилумаб		CSF2
Гирентуксимаб	Rencarex	карбоангидраза 9 (CA-IX)
Глембатумумаб		GPNMB
Голимумаб	Simponi	TNF- $\alpha$
Гомиликсимаб		CD23 (IgE рецептор)
Госуранемаб		tau белок
Гуселкумаб	Tremfya	IL23
Ианалумаб		BAFF-R
Ибализумаб	Trogarzo	CD4
Ибритумомаб	Zevalin	CD20
Икрукумаб		VEGFR-1
Идаруцизумаб	Praxbind	дабигагран
Ифаботузумаб		EPHA3
Иладатузумаб		CD97B
ИМАВ362		CLDN18.2
Ималумаб		MIF
Имапрелимаб		MCAM
Имциромаб	Myoscint	сердечный миозин
Имгатузумаб		EGFR
Инклакумаб		селектин Р
Индатуксимаб		SDC1
Индусатумаб		GUCY2C
Инебилизумаб		CD19
Инфликсимаб	Remicade	TNF- $\alpha$
Инолимомаб		CD25 ( $\alpha$ цепь IL-2 рецептора)
Инотузумаб	Besponsa	CD22
Интетумумаб		CD51
Ипилимумаб	Yervoy	CD152
Иомаб-В		CD45
Иратумумаб		CD30 (TNFRSF8)
Изатуксимаб		CD38
Искалимаб		CD40
Истиратумаб		IGF1R, CD221
Итолизумаб	Алзумаб	CD6
Иксекизумаб	Taltz	IL-17A
Келиксимаб		CD4
Лабетузумаб	CEA-Cide	CEA
Лакнотузумаб		CSF1, MCSF
Ладиратузумаб		LIV-1
Ланаделумаб		калликреин
Ландогрозумаб		GDF-8
Лапритуксимаб		EGFR
Ларкавиксимаб		Гликопротеин вируса Эбола
Лебрикизумаб		IL-13
Лемалесомаб		NCA-90 (гранулоцитарный антиген)
Лендализумаб		C5
Ленвервимаб		Поверхностный антиген гепатита В
Лензилумаб		CSF2
Лерделимумаб		TGF beta 2
Леронлимаб		CCR5

Наименование	Торговое наименование	Мишень
Лезофавумаб		Гемагглютинин HA
Лексатумумаб		TRAIL-R2
Либивирумаб		Поверхностный антиген гепатита В
Лифастузумаб		Котранспортер фосфата-натрия
Лигелизумаб		IGHE
Лилотомаб		CD37
Линтузумаб		CD33
Лирилумаб		KIR2D
Лоделцизумаб		PCSK9
Локиветмаб	Cytopoint	Canis lupus familiaris IL31
Лонкастуксимаб		CD19
Лосатуксизумаб		EGFR, ERBB1 HER1
Лорвотузумаб		CD56
Лукатумумаб		CD40
Лулизумаб пегол		CD28
Лумиликсимаб		CD23 (IgE рецептор)
Лумретузумаб		ERBB3 (HER3)
Лупартумаб		LYPD3
Лутикизумаб		Интерлейкин 1 альфа
МАВp1	Xilonix	IL1A
Мапатумумаб		TRAIL-R1
Маргетуксимаб		HER2
Марстацимаб		TFPI
Маслимомаб		T-клеточный рецептор
Маврилимумаб		$\alpha$ -цепь GMCSF рецептора
Матузумаб		EGFR
Меполизумаб	Bosatria	IL-5
Метелимумаб		TGF бета 1
Милатузумаб		CD74
Минретумомаб		TAG-72
Мирикизумаб		IL23A
Мирветуксимаб		Фолатный рецептор альфа
Митумомаб		GD3 ганглиозид
Модотуксимаб		EGFR внеклеточный домен III
Могаулизумаб	Poteligeo	CCR4
Монализумаб		NKG2A
Моролимумаб		Резус фактор
Мосунетузумаб		CD3E, MS4A1, CD20
Мотавизумаб	Numax	респираторно-синцитиальный вирус
Моксетумомаб		CD22
Муромонаб-CD3	Orthoclone OKT3	CD3
Намилумаб		CSF2
Наратуксимаб		CD37
Нарнатумаб		RON
Натализумаб	Tysabri	интегрин $\alpha_4$
Навицксизумаб		DLL4
Навивумаб		гемагглютинин HA вируса гриппа А
Накситамаб		C-Met
Небакумаб		эндотоксин
Нецитумумаб	Portrazza	EGFR
Немолизумаб		IL31RA
Нерелимомаб		TNF- $\alpha$
Несвакумаб		ангиопоэтин 2
Нетакимаб		Интерлейкин 17A
Нимотузумаб	Theracim, Theraloc	EGFR
Нирсевимаб		RSVFR
Ниволумаб	Opdivo	PD-1

Наименование	Торговое наименование	Мишень
Обилтоксаксимаб	Anthim	Bacillus anthracis антракс
Обинутузумаб	Gazyva	CD20
Окаратузумаб		CD20
Окрелизумаб	Ocrevus	CD20
Одулимомаб		LFA-1 (CD11a)
Офатумумаб	Arzerra	CD20
Оларатумаб	Lartruvo	PDGF-R $\alpha$
Олеклумаб		5'-нуклеотидаза
Олендализумаб		Комплемент C5a
Олокизумаб		IL6
Омализумаб	Xolair	Fc область IgE
OMS721		MASP-2
Онартузумаб		Рецепторная киназа фактора роста гепатоцитов человека
Онтуксизумаб		TEM1
Онватилимаб		VSIR
Опицинумаб		LINGO-1
Ореговомаб	OvaRex	CA-125
Ортикумаб		oxLDL
Отеликсизумаб		CD3
Отилимаб		GMCSF
Отлртузумаб		CD37
Окселумаб		OX-40
Озанезумаб		NOGO-A
Озорализумаб		TNF- $\alpha$
Пагибаксимаб		липотейхоевая кислота
Паливизумаб	Synagis, Abbosynagis	F белок респираторно-синцитиального вируса
Памревлумаб		CTGF
Панитумумаб	Vectibix	EGFR
Панкомаб		Опухольспецифическое гликолизирование MUC1
Панобакумаб		Pseudomonas aeruginosa
Парсатузумаб		EGFL7
Пасколизумаб		IL-4
Пазотуксизумаб		Фолатная гидролаза
Патеклизумаб		LTA
Патритумаб		ERBB3 (HER3)
Пембролизумаб	Keytruda	PD1
Пемтумомаб	Theragyn	MUC1
Пераклизумаб		IL17A
Пертузумаб	Omnitarg	HER2/neu
Пидилизумаб		PD-1
Пинатузумаб		CD22
Пинтумомаб		антиген аденокарциномы
Плакулумаб		TNF человека
Плозализумаб		CCR2
Погализумаб		Член 4 суперсемейства TNFR
Полатузумаб		CD79B
Понезумаб		бета-амилоид человека
Поргавиксимаб		Гликопротеин Заир эволавируса
Празинезумаб		NACP
Презализумаб		ICOSL
Приликсимаб		CD4
Притоксаксимаб		E. colishiga токсин типа 1
Притумумаб		ВИМЕНТИН
PRO 140		CCR5
Квилизумаб		IGHE

Наименование	Торговое наименование	Мишень
Ракотумомаб	Vaxira	Ганглиозид NGNA
Радретумаб		экстра домен-В фибронектина
Рафивирумаб		Гликопротеин вируса бешенства
Ралпанцизумаб		Невральная апоптоз-регулируемая протеиназа 1
Рамуцирумаб	Syramza	VEGFR2
Раневетмаб		NGF
Равагалимаб		CD40
Равулизумаб		C5
Раксипакумаб		сиирезвенный токсин, защитный антиген
Рефанезумаб		Миелин-ассоциированный гликопротеин
Регавирумаб		Гликопротеин В цитомегаловируса В
Релатлимаб		LAG3
Ремтолумаб		Интерлейкин 17 альфа, TNF
Реслизумаб	Cinqair	IL-5
Рилотумумаб		HGF
Ринкумаб		Рецептор бета фактора роста тромбоцитов
Рисанкизумаб		IL23A
Ритуксимаб	MabThera, Rituxan	CD20
Ривабазумаб пегол		Система секретирования Pseudomonas aeruginosa типа III
Робатумумаб		IGF-1 рецептор (CD221)
Rmab	Rabishield	Гликопротеин вируса бешенства G
Роледумаб		RHD
Ромилкимаб		Интерлейкин 13
Ромосозумаб	Evenity	склеростин
Ронгализумаб		IFN-α
Росмантузумаб		Корневой тромбоцит-специфический спондин 3
Ровалпитузумаб		DLL3
Ровелизумаб	LeukArrest	CD11, CD18
Розаноликсизумаб		FCGRT
Руплизумаб	Antova	CD154 (CD40L)
SA237		IL-6R
Сацитизумаб		TROP-2
Самализумаб		CD200
Самротумаб		LRRC15
Сапелизумаб		IL6R
Сарилумаб	Kevzara	IL6
Сатрализумаб		IL6 рецептор
Сатумомаб		TAG-72
Секукинумаб	Cosentyx	IL-17A
Селикрелумаб		CD40
Серибантумаб		ERBB3 (HER3)
Сетоксаксимаб		E. coli шига-токсин типа 2
Сетрусумаб		SOST
Севирумаб		цитомегаловирус
Сибротузумаб		FAP
SGN-CD19A		CD19
SHP647		Молекула клеточной адгезии типа "адрессин" в слизистых оболочках
Сифалимумаб		IFN-α
Силтуксимаб	Sylvant	IL-6
Симтузумаб		LOXL2
Синтилимаб		PD-1
Сиплизумаб		CD2
Сиртратумаб		SLITRK6
Сирукумаб		IL-6
Софитузумаб		CA-125

Наименование	Торговое наименование	Мишень
Соланезумаб		бета амилоид
Сонепцизумаб		сфингозин-1-фосфат
Сонтузумаб		эписиалин
Спартализумаб		PDCD1, CD279
Стамулумаб		миостатин
Суптавумаб		RSVFR
Сутимлимаб		C1S
Сувизумаб		HIV-1
Сувратоксумаб		Staphylococcus aureus альфа токсин
Табалумаб		BAFF
Такатузумаб	AFP-Cide	альфа-фетопротеин
Талакотузумаб		CD123
Тализумаб		IgE
Тамтуветмаб	Tactress	CD52
Танезумаб		NGF
Таплитумомаб		CD19
Тарекстумаб		Notch рецептор
Таволимаб		CD134
Тефибазумаб	Aurexis	агглютинин А
Телизотузумаб		HGFR
Тенатумомаб		тенасцин С
Тенеликсимаб		CD40
Теплизумаб		CD3
Теподитамаб		Ассоциированный с дендритными клетками лектин 2
Тепротумумаб		IGF-1 рецептор (CD221)
Тезидолумаб		C5
Тетуломаб		CD37
Тезепелумаб		TSLP
Тибулизумаб		BAFF
Тиддракизумаб	Plumya	IL23
Тигатузумаб		TRAIL-R2
Тимигутузумаб		HER2
Тимолумаб		AOC3
Тираготумаб		TIGIT
Тислелизумаб		PCDC1, CD279
Тизотумаб		Фактор коагуляции III
Тоцилизумаб	Actemra, RoActemra	IL-6 рецептор
Томузотуксимаб		EGFR, HER1
Торализумаб		CD154 (CD40L)
Тозатоксумаб		Staphylococcus aureus
Тозитумомаб	Веххар	CD20
Товетумаб		CD140a
Тралокинумаб		IL-13
Трастузумаб	Herceptin	HER2/neu
TRBS07	Ektomab	GD2 ganglioside
Трегализумаб		CD4
Тремелимумаб		CTLA-4
Тревогрумаб		Фактор роста/дифференцировки 8
Тукотузумаб		EpCAM
Тувирумаб		Вирус гепатита В
Ублигуксимаб		MS4A1
Улокуплумаб		CXCR4 (CD184)
Урелумаб		4-1BB (CD137)
Уртоксазумаб		Escherichia coli
Устекинумаб	Stelara	IL-12, IL-23
Утомилумаб		4-1BB (CD137)

Наименование	Торговое наименование	Мишень
Вадастуксимаб		CD33
Ваналимаб		CD40
Вандортузумаб		STEAP1
Вантиктумаб		Связанный с ожогом рецептор
Ваникузумаб		ангиопоэтин 2
Вапаликсимаб		AOC3 (VAP-1)
Вартсакумаб		VEGF-A
Варлилумаб		CD27
Вателизумаб		ITGA2 (CD49b)
Ведолизумаб	Entyvio	интегрин $\alpha_4\beta_7$
Велтузумаб		CD20
Вепалимомаб		AOC3 (VAP-1)
Везенкумаб		NRP1
Визилизумаб	Nuvion	CD3
Волоциксимаб		интегрин $\alpha_3\beta_1$
Вонлеролизумаб		CD134
Вопрателимаб		ICOS
Ворсетузумаб		CD70
Вотумумаб	HumaSPECT	опухолевый антиген СТАА16.88
Вунакизумаб		Интерлейкин 17 альфа
Ксентузумаб		IGF1, IGF2
ХМАВ-5574		CD19
Залутумумаб	HuMax-EGFr	EGFR
Занолимумаб	HuMax-CD4	CD4
Затуксимаб		HER1
Зенокутузумаб		ERBB3, HER3
Зиралимумаб		CD147 (basigin)
Золбетуксимаб		CLDN18
Золимомаб		CD5

В дополнение к вышесказанному, антителом конъюгата лекарственное средство-антитело настоящего изобретения может быть Витаксин, который является гуманизированным антителом для лечения саркомы; Smart IDIO, который является гуманизированным анти-HLA-DR антителом для лечения неходжкинской лимфомы; Онколим, который является анти-HLA-Dr10 антителом мышцы с радиоактивной меткой для лечения неходжкинской лимфомы; и Алломун, которое является гуманизированным анти-CD2 mAb для лечения болезни Ходжкина или неходжкинской лимфомы.

Антителом конъюгата лекарственного средства настоящего изобретения также может быть любое антитело-фрагмент, известное для лечения любого заболевания, предпочтительно, рака. Опять же, такие фрагменты антитела являются иммуноспецифическими в отношении антигена-мишени и могут быть получены коммерчески или получены любым способом, известным в данной области техники, таким как, например, методы рекомбинантной экспрессии. Примеры таких доступных антител включают любые из приведенной ниже таблицы.

Таблица 2

Фрагменты терапевтических моноклональных антител

Тип/формат фрагмента	Наименование	Торговое наименование	Мишень
Fab/химерное	абциксимаб	ReoPro	CD41 (интегрин альфа-IIb)
Fab/ гуманизированное	абрезекимаб		Интерлейкин 13
F(ab') <sub>2</sub> /мышь	афелимомаб		TNF- $\alpha$
F(ab') <sub>2</sub> / гуманизированное	алацизумаб пегол		VEGFR2
Fab/мышь	анатумомаб		TAG-72
Fab/овцы		CroFab	Змеиный яд
Fab/овцы		DigiFab	Дигоксин
Fab/овцы		Digibind	Дигоксин
Fab'/мышь	арцитумомаб	CEA-scan	CEA
Fab'/мышь	бектумомаб	LymphoScan	CD22
Fab'/мышь	бициромаб	FibriScint	фибрин II, бета цепь

Тип/формат фрагмента	Наименование	Торговое наименование	Мишень
BiTE/мыши	блинатумомаб	Blincyto	CD19
scFv/ гуманизированное	бролуцизумаб		VEGFA
sdAb/ гуманизированное	каплацизумаб	Cablivi	VWF
Fab/ ПЭГилированное гуманизированное	сертолизумаб пегол	Cimzia	TNF- $\alpha$
Fab/ гуманизированное	цитатузумаб		EpCAM
F(ab') <sub>2</sub> /мыши	дорлимомаб		неизвестна
scFv/химерное гуманизированное	дувортуксизумаб		CD19, CD3E
scFv/человека	эфунгумаб	Mycograb	Hsp90
F(ab') <sub>2</sub> / гуманизированное	эрлизумаб		ITGB2 (CD18)
Di-scFv	флотетузумаб		IL-3 рецептор
scFv/человека	ганкотамаб		неизвестна
F(ab') <sub>2</sub> /мыши	иговомаб	Indimacis-125	CA-125
Fab/ гуманизированное	лампализумаб		CFD
scFv/ гуманизированное	летолизумаб		TRAP
Fab/мыши	наколомаб		C242 антиген
Fab/мыши	наптумомаб		5T4
Fab/мыши	нофетумомаб		неизвестна
scFv/ гуманизированное	опортузумаб	Vicinium	EpCAM
Fab/ гуманизированное	ранибизумаб	Lucentis	VEGF-A
BiTE/мыши	солитомаб		EpCAM
Fab'/мыши	сулесомаб	LeukoScan	NCA-90 (гранулоцитарный антиген)
Fab	тадоцизумаб		интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$
Fab/мыши	телимомаб		неизвестна
scFv/ гуманизированное	вобарилизумаб		IL6R
Fab/ гуманизированное		Thromboview	D-димер
Fab/ ПЭГилированное гуманизированное	CDP791		VEGF
Fab/ биспецифическое гуманизированное	MDX-H210		Her2/Neu & CD64 ( $\gamma$ FcR1)
scFv/ гуманизированное	пекселизумаб		комплемент C5
(ScFv) <sub>4</sub> мыши слитое со стрептавидином	CC49		антиген TAG-72 панкарциномы
ScFv человека слитое с $\beta$ - лактамазой	SGN-17		P97 антиген
ScFv человека слитое с ПЭГ	F5 scFv-ПЭГ Иммунолипосома		Her2
Диатело (V <sub>H</sub> -V <sub>L</sub> ) <sub>2</sub> человека	C6.5K-A		Her2/Neu
Диатело (V <sub>H</sub> -V <sub>L</sub> ) <sub>2</sub> человека	L19 L19- $\gamma$ IFN		EDB домен фибронектина
Диатело (V <sub>L</sub> -V <sub>H</sub> ) <sub>2</sub> человека	T84.66		CEA
Минитело (scFv-C <sub>H</sub> 3) <sub>2</sub> , химера мыши-человека (минитело)	T84.66		CEA
Минитело, химера мыши- человека (минитело)	10H8		Her2
S <sub>c</sub> F <sub>v</sub> димер Fc (S <sub>c</sub> F <sub>v</sub> ) <sub>2</sub> -Fc, химера мыши-человека (минитело)	T84.66		CEA

Тип/формат фрагмента	Наименование	Торговое наименование	Мишень
Биспецифическое scFv (V <sub>L</sub> -V <sub>H</sub> -V <sub>H</sub> -V <sub>L</sub> ), мыши	r28M		CD28 и MAP
Биспецифическое (V <sub>L</sub> -V <sub>H</sub> -V <sub>H</sub> -V <sub>L</sub> ), происхождение неизвестно	BiTE MT103		CD19 и CD3
Биспецифическое scFv (V <sub>L</sub> -V <sub>H</sub> -V <sub>H</sub> -V <sub>L</sub> ), происхождение неизвестно	BiTE		Er-CAM и CD3
Биспецифическое тандемное диатело (VH-VL-VH-VL) (мыши)	тандаб		CD19 & CD3
VhH-β-лактамаза, слитое, верблюжье	нанотело		CEA
Dab/человека	анти-TNFα dAb		TNFα
VhH/верблюжье	нанотело		TNFα
VhH/верблюжье	нанотело		фактор фон Виллебранда

Fab фрагмент, антигенсвязывающий (одно плечо);  
 F(ab')<sub>2</sub> фрагмент, антигенсвязывающий, включая шарнирную область (оба плеча);  
 Fab' фрагмент, антигенсвязывающий, включая шарнирную область (одно плечо);  
 scFv одноцепочечный переменный фрагмент;  
 ди-scFv димерный одноцепочечный переменный фрагмент;  
 (Holliger & Hudson, Nature Biotechnology, 2005, 23(9), 1126-1136).

В предпочтительном варианте осуществления, антитело в конъюгатах лекарственного средства настоящего изобретения целенаправленно воздействует на антиген клеточной поверхности.

В предпочтительных вариантах осуществления, антитело в конъюгатах лекарственного средства настоящего изобретения может связываться с рецептором, кодированным ErbB геном. Антитело может специфически связываться с ErbB рецептором, выбранным из EGFR, HER2, HER3 и HER4. Предпочтительно, антитело в конъюгате лекарственного средства может специфически связываться с внеклеточным доменом HER2 рецептора и ингибировать рост опухолевых клеток, которые сверхэкспрессируют HER2 рецептор. Антитело конъюгата лекарственного средства может быть моноклональное антитело, например, моноклональное антитело мыши, химерное антитело или гуманизированное антитело. Предпочтительно, гуманизированным антителом может быть huMAb4D5-1, huMAb4D5-2, huMAb4D5-3, huMAb4D5-4, huMAb4D5-5, huMAb4D5-6, huMAb4D5-7 или huMAb4D5-8 (Трастузумаб), особенно предпочтительно, Трастузумаб. Антителом также может быть фрагмент антитела, например, Fab фрагмент.

Другие предпочтительные антитела включают:

(i) анти-CD4 антитела. Антителом конъюгата лекарственного средства может быть моноклональное антитело, например, моноклональное антитело мыши, химерное антитело или гуманизированное антитело;

(ii) анти-CD5 антитела. Антителом конъюгата лекарственного средства может быть моноклональное антитело, например, моноклональное антитело мыши, химерное антитело или гуманизированное антитело;

(iii) анти-CD13 антитела. Антителом конъюгата лекарственного средства может быть моноклональное антитело, например, моноклональное антитело мыши, химерное антитело или гуманизированное антитело;

(iv) анти-CD20 антитела. Антителом конъюгата лекарственного средства может быть моноклональное антитело, например, моноклональное антитело мыши, химерное антитело или гуманизированное антитело. Предпочтительно, гуманизированным антителом является ритуксимаб или его фрагмент антитела, например, Fab фрагмент; и

(v) анти-CD30 антитела. Антителом конъюгата лекарственного средства может быть моноклональное антитело, например, моноклональное антитело мыши, химерное антитело или гуманизированное антитело. Предпочтительно, гуманизированным антителом является брентуксимаб ведотин или его фрагмент антитела.

В одном варианте осуществления изобретения, конъюгат лекарственного средства-антитело может демонстрировать одно или несколько из следующих действий: (i) повышенная цитотоксичность (или снижение выживаемости клеток), (ii) повышенная цитостатическая активность (цитостаз), (iii) повышенная аффинность связывания с антигеном или эпитопом - мишенями, (iv) повышенная

интернализация конъюгата, (v) уменьшение побочных эффектов у пациента, и/или (vi) улучшенный профиль токсичности. Такое увеличение может быть в сравнении с известным в данной области конъюгатом лекарственного средства-антитела, который связывает тот же или другой эпитоп или антиген.

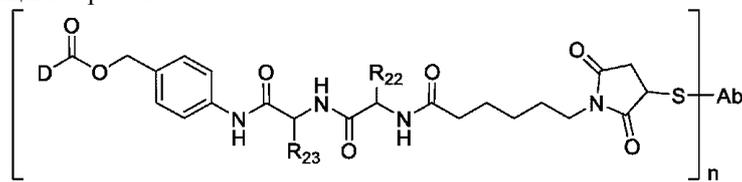
Способы получения конъюгатов лекарственное средство-антитело.

Конъюгаты лекарственное средство-антитело по настоящему изобретению могут быть получены по методикам, хорошо известным в данной области техники. Способы конъюгирования групп, содержащих антитела с, по меньшей мере, одним антигенсвязывающим сайтом, например антитела к ряду различных лекарственных средств, с использованием различных процессов, были описаны и проиллюстрированы ранее в, например, WO-A-2004/010957, WO-A-2006/060533 и WO-A-2007/024536, содержания которых включены в настоящий документ в качестве ссылки. Они включают использование линкерной группы, которая дериватизирует лекарственное средство, токсин или радионуклид таким образом, чтобы затем его можно было присоединить к такой группе, как антитело. Присоединение к такой группе, как антитело, обычно осуществляется одним из трех путей: через свободные тиольные группы в цистеинах после частичного восстановления дисульфидных групп в антителе; через свободные аминогруппы в лизинах в антителе; и через свободные гидроксильные группы в серинах и/или треонинах в антителе. Способ присоединения варьируется в зависимости от сайта присоединения фрагмента, такого как антитело. Также описана очистка конъюгата антитело-лекарственное средство с помощью эксклюзионной хроматографии по размеру (ЭХР) [см., например, Liu et al., Proc. Natl. Acad. Set (USA), 93: 8618-8623 (1996) и Chari et al., Cancer Research, 52: 127-131 (1992)].

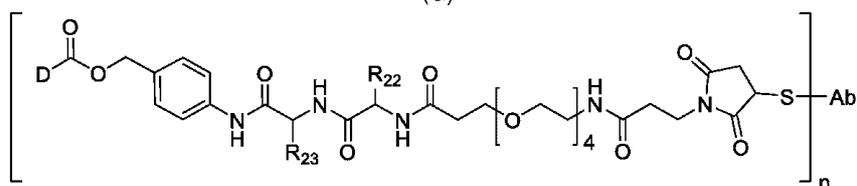
Как отмечалось ранее, полезные лекарственные нагрузки конъюгатов лекарственного средства по настоящему изобретению представляют собой производные эктеинасцидина, описанные в международной заявке на патент № PCT/EP2018/060868, содержания которых включены в настоящий документ в качестве ссылки. Эти соединения синтезируют способами, описанными в настоящем изобретении.

Как отмечено выше, представлен способ получения конъюгата лекарственного средства по настоящему изобретению, включающий конъюгирование группы Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и лекарственного средства D формулы (IH), (IHa) или (IHb), где Ab и D такие, как определено в настоящем документе.

Один из примеров получения конъюгата лекарственного средства настоящего изобретения включает получение конъюгатов лекарственное средство-антитело формулы (G) или (G') настоящего изобретения следующим образом:



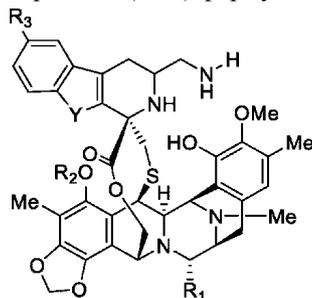
(G)



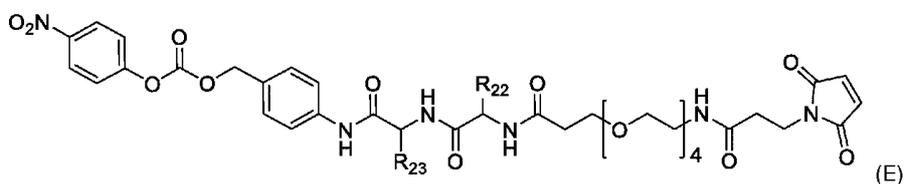
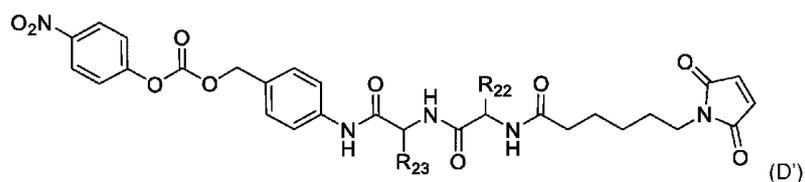
(G')

где указанный способ включает следующие стадии:

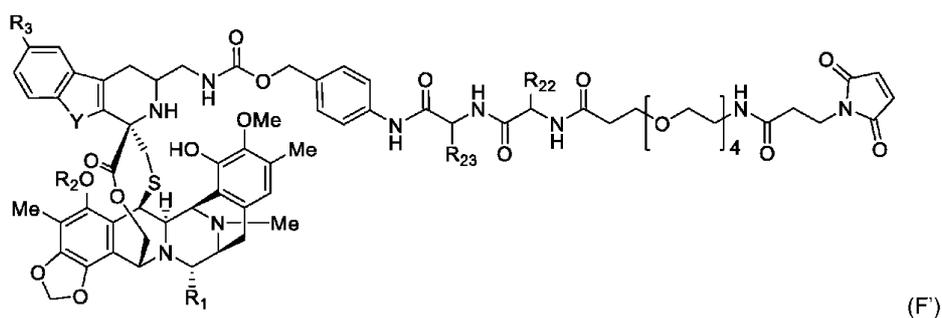
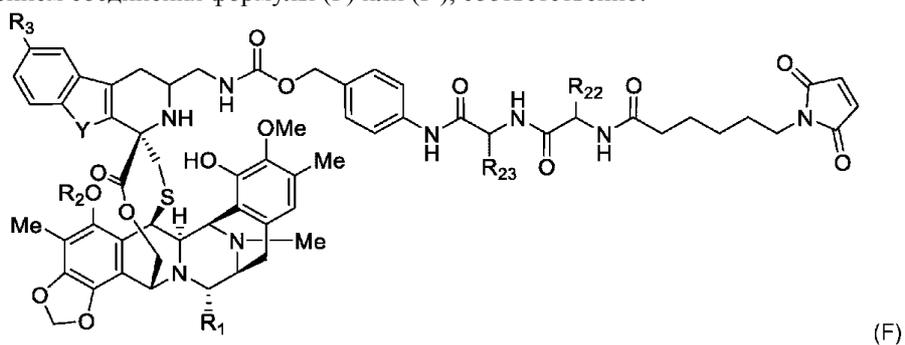
(i) взаимодействия лекарственного средства (D-H) формулы (IH)-H:



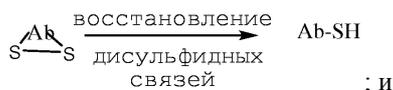
где заместители в определениях (IH)-H такие, как определено выше для формулы (IH), с соединением формулы (D') или (E):



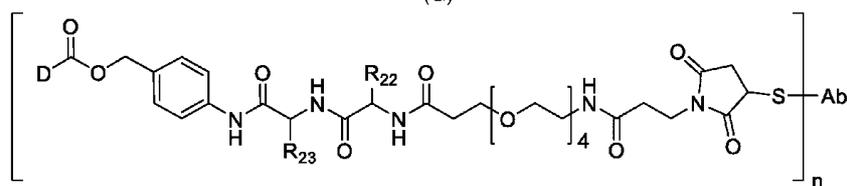
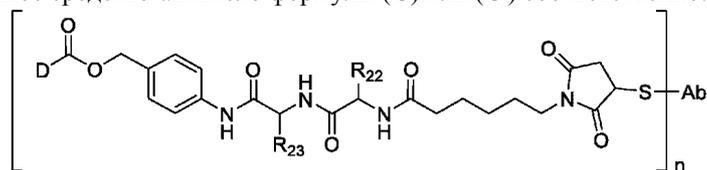
с получением соединения формулы (F) или (F'), соответственно:



(ii) частичного восстановления одной или нескольких дисульфидных связей в антителе, предназначенном для конъюгирования, с получением восстановленного антитела Ab-SH, имеющего свободные тиольные группы:



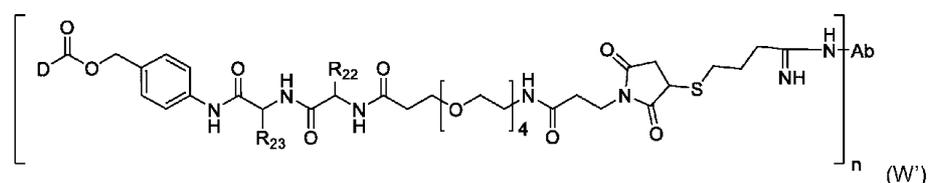
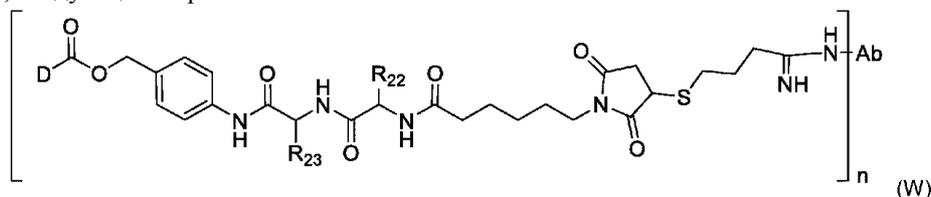
(iii) взаимодействия частично восстановленного антитела Ab-SH, имеющего свободные тиольные группы, с соединением формулы (F) или (F'), полученным на стадии (i), с получением желаемого конъюгата лекарственное средство-антитело формулы (G) или (G') соответственно:



В другом предпочтительном варианте осуществления этого способа, антитело выбирают из

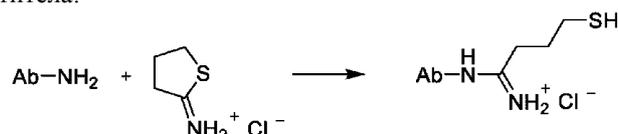
брентуксимаба, гемтузумаба, инозутумаба, ровалпитузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, или его выбирают из трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, и наиболее предпочтительно, оно является трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью. Более того, частичное восстановление этого моноклонального антитела проводят с применением гидрохлорида трис[2-карбоксиэтил]фосфина (ТСЕР).

Другой пример способа получения конъюгата лекарственного средства настоящего изобретения включает получение конъюгатов лекарственное средство-антитело формулы (W) или (W') настоящего изобретения, следующим образом:

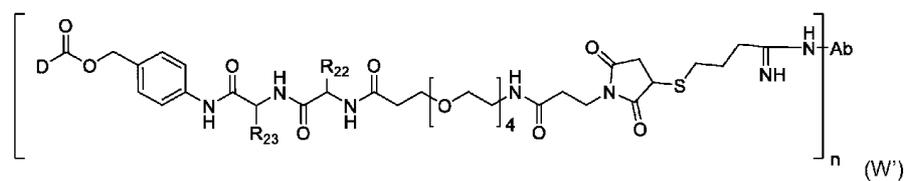
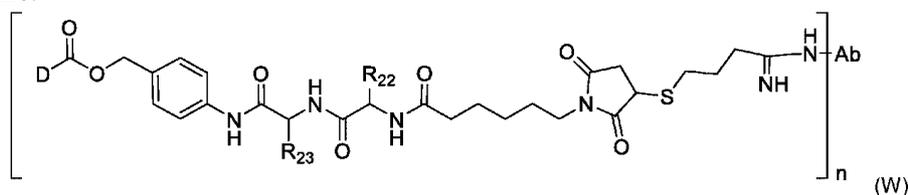


где указанный способ включает следующие стадии:

(i) взаимодействия антитела с гидрохлоридом 2-иминотиолана (реагентом Трота) с получением тиол-активированного антитела:

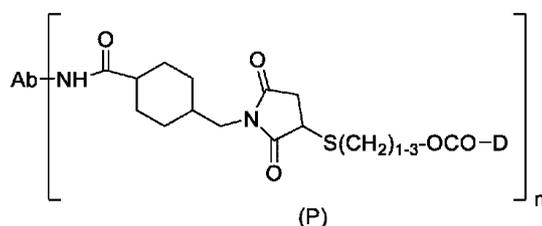
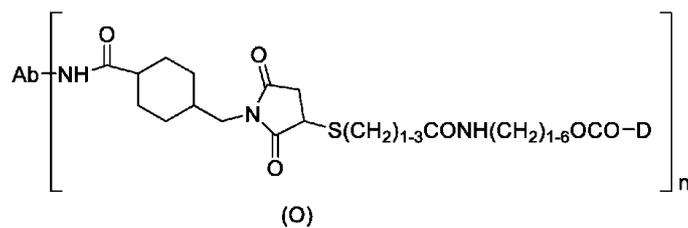


(ii) взаимодействия тиол-активированного антитела с соединением формулы (F) или (F'), с получением желаемого конъюгата лекарственное средство-антитело формулы (W) или (W'), соответственно.



В другом предпочтительном варианте осуществления этого способа, антитело выбирают из Брентуксимаба, Гемтузумаба, Инозутумаба, Ровалпитузумаба, Трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, или его выбирают из Трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части, и наиболее предпочтительно, он является Трастузумабом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью.

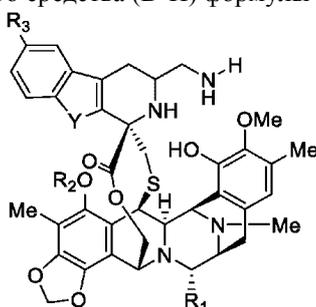
Другой пример способа получения конъюгата лекарственного средства настоящего изобретения включает получение конъюгатов лекарственное средство-антитело формулы (O) или (P) следующим образом:



где указанный способ включает следующие стадии:

(i) либо:

(a) взаимодействия лекарственного средства (D-H) формулы (ИН)-Н:

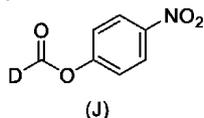


где заместители в определениях (ИН)-Н такие, как определено выше, с соединением формулы  $X_2\text{-C(O)-X}_1$  где  $X_1$  и  $X_2$  являются уходящими группами, с получением соединения формулы (B):



и точкой присоединения  $\text{-C(O)X}_1$  группы является свободная  $\text{-NH}_2$  группа соединения формулы D-Н, либо

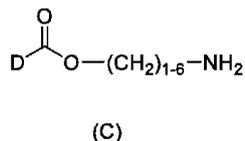
(b) взаимодействия указанного лекарственного средства (D-H) формулы (ИН)-Н, как определено выше, с 4-нитрофенилхлорформиатом с получением соединения формулы (J):



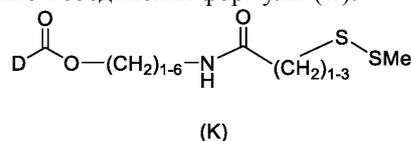
и точкой присоединения (4-нитрофенил)-O-CO- группы является такой же, как для  $X_1(\text{CO})$  группы в (a) выше;

(ii) либо:

(c) взаимодействия соединения формулы (B), полученного на стадии (i), с гидрокси соединением формулы  $\text{HO-(CH}_2\text{)}_{1-6}\text{NHProt}^{\text{NH}}$  и удаления  $\text{Prot}^{\text{NH}}$  группы из сопряженного соединения с получением соединения формулы (C):

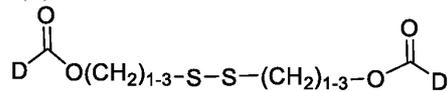


с последующим взаимодействием полученного соединения формулы (C) с соединением формулы  $\text{Me-S-S-(CH}_2\text{)}_{1-3}\text{-CO}_2\text{H}$  с получением соединения формулы (K):



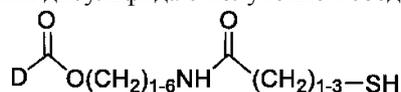
(d) взаимодействия соединения (J), полученного на стадии (i), с соединением формулы  $\text{HO-(CH}_2\text{)}_{1-3}\text{SProt}^{\text{SH}}$  и удаления  $\text{Prot}^{\text{NH}}$  группы из сопряженного соединения с получением соединения с

получением соединения формулы (L):

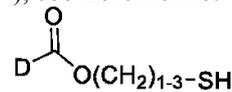


(L)

(iii) взаимодействия (K) или (L), полученной на стадии (ii), с дитиотретиолом в условиях восстановления дисульфида с получением соединения формулы (M) и (N), соответственно:

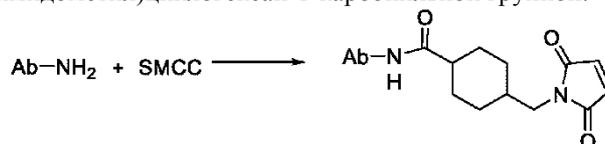


(M)

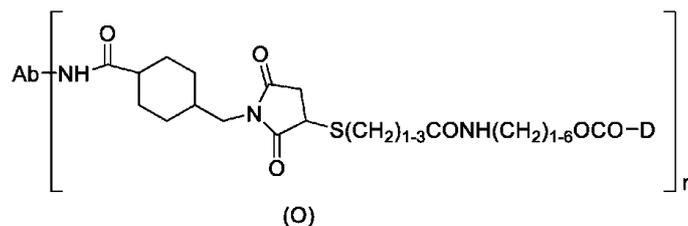


(N)

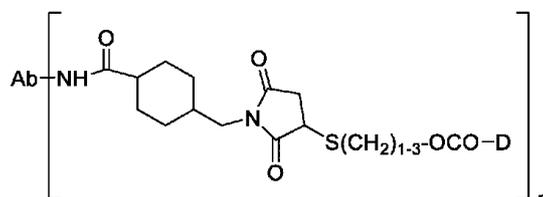
(iv) взаимодействия конъюгируемого антитела с сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилатом для дериватизации указанного антитела в одной или нескольких лизиновых группах с сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбонильной группой:



(v) взаимодействия дериватизированного антитела, полученного на стадии (iv), либо с (M), либо с (N), полученными на стадии (iii), с получением желаемого конъюгата лекарственное средство-антитело формулы (O) или (P):



(O)



(P)

Соединением формулы  $\text{X}_2-\text{C}(\text{O})-\text{X}_1$  предпочтительно является 1,1'-карбонилдиимидазол. Аналогично, гидроксисоединением, взаимодействующим с соединением формулы (B), предпочтительно является  $\text{HO}-(\text{CH}_2)_{2,4}-\text{NHProt}^{\text{NH}}$ , и более предпочтительно,  $\text{HO}-(\text{CH}_2)_3-\text{NHProt}^{\text{NH}}$ .

В одном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения, соединением, взаимодействующим с соединением формулы (C) с получением соединения формулы (K), является 3-(метилдисульфанил)пропановая кислота.

В другом предпочтительном варианте осуществления, соединением  $\text{HO}-(\text{CH}_2)_{1,3}\text{SProt}^{\text{SH}}$ , которое взаимодействует с соединением формулы (J) с получением соединения формулы (L), является  $\text{HO}-(\text{CH}_2)_3\text{SProt}^{\text{SH}}$ .

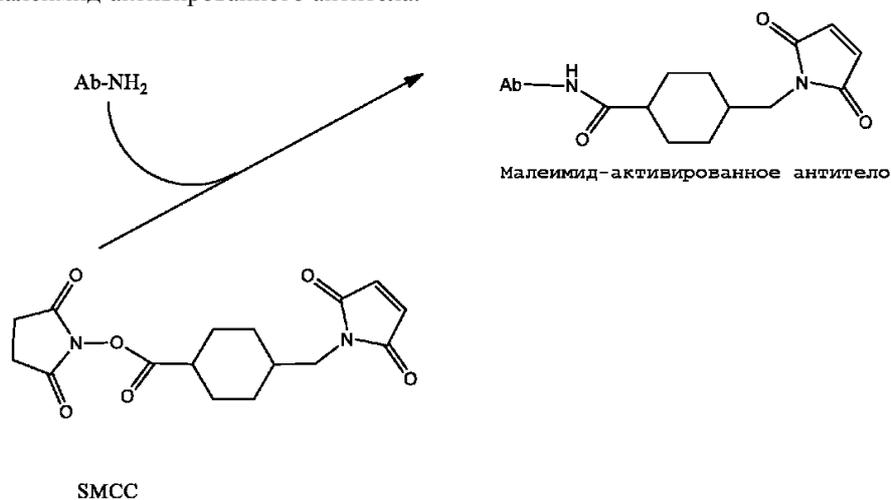
Если присоединение к линкерной группе лекарственного средства осуществляется через свободные тиольные группы в цистеинах после частичного восстановления дисульфидных групп в группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, такой как моноклональное антитело, частичное восстановление обычно проводят сначала разбавлением до подходящей концентрации и буферизацией раствора перед частичным восстановлением дисульфидных связей путем добавления подходящего восстанавливающего агента, такого как гидрохлорид трис[2-карбоксиэтил]фосфина (ТСЕР) или дитиотретиол (ДТТ). Путем выбора подходящих соотношений группы, подлежащей восстановлению, такой как моноклональное антитело, и восстанавливающего агента, условий реакции и времени восстановления, возможно получить желаемое соотношение свободного тиола к группе, например четыре свободных тиольных группы на моноклональное антитело.

Частично восстановленную группу, такую как частично восстановленное моноклональное антитело, имеющую свободные тиольные группы, полученную, как описано выше, затем подвергают взаимодействию с соединением лекарственное средство-линкер по изобретению формулы  $\text{D}-(\text{X})_b-(\text{AA})_w-$

(T)<sub>g</sub>-L<sub>1</sub> (где группой L<sub>1</sub> в таком соединении является малеимидная группа, которая может свободно взаимодействовать с тиольными группами). Полученные конъюгаты лекарственное средство-антитело очищают любыми подходящими средствами, известными в данной области техники, например, эксклюзионной хроматографией по размеру (ЭХР) [см., например, Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 8618-8623 (1996) и Chari et al., Cancer Research, 52: 127-131 (1992)].

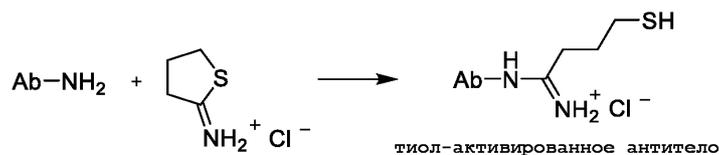
В одном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения, частично восстановленным моноклональным антителом является трастузумаб или анти-CD13 антитело или их антигенсвязывающий фрагмент или иммунологически активная часть, предпочтительно, трастузумаб или его антигенсвязывающий фрагмент или иммунологически активная часть; или, предпочтительно, анти-CD13 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или иммунологически активная часть.

В альтернативном варианте осуществления изобретения, лизины в группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, такой как моноклональное антитело, сначала могут взаимодействовать с сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилатом. Свободная аминная группа на антителе может взаимодействовать со сложным эфиром N-гидроксисукцинимидом с получением малеимид-активированного антитела:



Малеимид-активированное антитело затем может взаимодействовать с соединением формулы D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-H, имеющим реакционноспособную тиольную группу.

В альтернативном варианте осуществления изобретения, лизины в группе, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, такой как моноклональное антитело, сначала могут взаимодействовать с гидрохлоридом 2-иминотиола (реагентом Трота). Свободная аминная группа антитела может взаимодействовать с имидным тиолактоном с получением тиол-активированного антитела.



Один конкретный пример способов получения конъюгатов лекарственное средство-антитело формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab настоящего изобретения конъюгированием через свободные тиольные группы в цистеинах после частичного восстановления дисульфидных групп в антителе показан на фигуре 1.

Другой конкретный пример способов получения конъюгатов лекарственное средство-антитело формулы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab настоящего изобретения конъюгированием через свободные аминные группы в лизинах после взаимодействия антитела с реагентом Трота показан на фигуре 2.

Композиции, содержащие конъюгат лекарственное средство-антитело по изобретению, и их применение

Также представлена фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. Примеры форм введения конъюгата лекарственного средства, имеющего общую формулу [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)]<sub>n</sub>-Ab по настоящему изобретению, включают, без ограничений, пероральную, местную, парентеральную, подъязычную, ректальную, вагинальную, глазную и интраназальную. Парентеральное введение включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные, внутригрудные методы инъекции или инфузии. Предпочтительно, композиции вводят парентерально. Фармацевтические композиции по изобретению могут быть составлены таким образом, чтобы позволить конъюгату лекарственного средства настоящего изобретения быть биодоступным при введении композиции животному, предпочтительно, человеку. Композиции могут принимать форму одной или более дозированных

единиц, где, например, таблетка может представлять единичную дозированную единицу, а контейнер с конъюгатом лекарственное средство-антитело по настоящему изобретению в аэрозольной форме может содержать множество дозированных единиц.

Фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель может быть в виде частиц, так что композиции имеют, например, таблетированную или порошковую форму. Носитель (носители) может быть жидкостью, при этом композиции представляют собой, например, пероральный сироп или жидкость для инъекций. Кроме того, носитель (носители) может быть газообразным, чтобы обеспечить аэрозольную композицию, полезную, например, при ингаляционном введении. Термин "носитель" относится к разбавителю, адьюванту или эксципиенту, с которым вводят конъюгате лекарственное средство-антитело по настоящему изобретению. Такие фармацевтические носители могут быть жидкостями, такими как вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и подобные. Носителями могут быть солевой раствор, аравийская камедь, желатин, крахмальная паста, тальк, кератин, коллоидный диоксид кремния, мочевины и подобные. Кроме того, могут использоваться вспомогательные, стабилизирующие, загущающие, смазывающие и красящие агенты. В одном варианте осуществления, при введении животному, конъюгаты лекарственное средство-антитело настоящего изобретения или композиции и фармацевтически приемлемые носители являются стерильными. Вода является предпочтительным носителем, если конъюгаты лекарственное средство-антитело по настоящему изобретению вводят внутривенно. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также могут использоваться в качестве жидких носителей, особенно для растворов для инъекций. Подходящие фармацевтические носители также включают эксципиенты, такие как крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, солод, рис, мука, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропилен, гликоль, вода, этанол и подобные. Настоящие композиции, при желании, могут также содержать небольшие количества смачивающих или эмульгирующих агентов или pH буферных агентов.

Когда композиция предназначена для перорального введения, композиция предпочтительно имеет твердую или жидкую форму, где полутвердые, полужидкие, суспензионные и гелевые формы включены в формы, рассматриваемые в настоящем документе как твердые или жидкие.

В качестве твердой композиции для перорального введения, композиция может быть составлена в виде порошка, гранулы, прессованной таблетки, пилюли, капсулы, жевательной резинки, вафли или подобной формы. Такая твердая композиция обычно содержит один или несколько инертных разбавителей. Кроме того, может присутствовать один или несколько из следующих: связующие, такие как карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза или желатин; эксципиенты, такие как крахмал, лактоза или декстрины, разрыхлители, такие как альгиновая кислота, альгинат натрия, кукурузный крахмал и подобные; смазывающие вещества, такие как стеарат магния; глиданты, такие как коллоидный диоксид кремния; подсластители, такие как сахароза или сахарин; ароматизатор, такой как мята перечная, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор; и краситель.

Когда композиция имеет форму капсулы (например, желатиновой капсулы), она может содержать, помимо материалов вышеуказанного типа, жидкий носитель, такой как полиэтиленгликоль, циклодекстрины или жирное масло.

Композиция может быть в форме жидкости, например эликсира, сиропа, раствора, эмульсии или суспензии. Жидкость может быть полезной для перорального введения или для доставки путем инъекции. Когда композиция предназначена для перорального введения, она может содержать один или несколько подсластителей, консервантов, красителей/пигментов и усилителей вкуса. В композицию для введения инъекцией, также могут быть включены один или несколько из поверхностно-активного вещества, консерванта, смачивающего агента, диспергирующего агента, суспендирующего агента, буфера, стабилизатора и изотонического агента.

Предпочтительным путем введения является парентеральное введение, включая, но не ограниченное ими, внутрикожное, внутримышечное, внутривенное, подкожное, интраназальное, эпидуральное, интраназальное, внутримозговое, внутрижелудочковое, интратекальное, интравaginaльное или трансдермальное. Предпочтительный способ введения оставлен на усмотрение практикующего врача и будет частично зависеть от места заболевания (такого как очаг рака). В более предпочтительном варианте осуществления, настоящие конъюгаты лекарственное средство-антитело по настоящему изобретению вводят внутривенно.

Жидкие композиции по изобретению, независимо от того, являются ли они растворами, суспензиями или другой подобной формой, также могут включать один или несколько из следующих: стерильные разбавители, такие как вода для инъекций, физиологический раствор, предпочтительно, солевой раствор, раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, нелетучие масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, полиэтиленгликоли, глицерин или другие растворители; антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; и агенты для коррективы тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Парентеральная композиция может быть заключена в ампулу, одноразовый шприц или флакон для многократных доз из стекла, пластика или другого

материала. Предпочтительным адъювантом является солевой раствор.

Количество конъюгата лекарственного средства настоящего изобретения, которое эффективно при лечении конкретного расстройства или состояния, будет зависеть от природы расстройства или состояния и может быть определено стандартными клиническими методами. Кроме того, необязательно могут применяться *in vitro* или *in vivo* анализы, чтобы помочь определить оптимальные диапазоны доз. Точная доза, используемая в композициях, также будет зависеть от пути введения и серьезности заболевания или расстройства, и должна определяться в соответствии с мнением практикующего врача и обстоятельствами каждого пациента.

Композиции содержат эффективное количество конъюгата лекарственного средства настоящего изобретения, так чтобы получить подходящую дозировку. Правильная дозировка соединения будет варьироваться в зависимости от конкретного состава, способа применения и конкретного участка применения, хозяина и болезни, которую лечат, например, рака и, если это так, то типа опухоли. Следует принимать во внимание другие факторы, такие как возраст, масса тела, пол, диета, время введения, скорость выведения, состояние хозяина, комбинации лекарственных средств, чувствительность реакции и тяжесть заболевания. Введение может проводиться непрерывно или периодически в пределах максимально переносимой дозы.

Конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению или композиции можно вводить любым удобным путем, например, путем инфузии или болюсной инъекции, путем абсорбции через эпителиальные или кожно-слизистые оболочки.

В конкретных вариантах осуществления, может быть желательно вводить одно или несколько конъюгатов лекарственного средства настоящего изобретения или композиций локально в область, нуждающуюся в лечении. В одном варианте осуществления, введение может осуществляться путем прямой инъекции в место (или прежнее место) рака, опухоль или неопластическую или предопухолевую ткань. В другом варианте осуществления, введение может осуществляться прямой инъекцией в место (или прежнее место) проявления аутоиммунного заболевания.

Также может применяться легочное введение, например, с помощью ингалятора или небулайзера и состава с аэрозолизирующим агентом, или путем перфузии во фторуглероде или синтетическом легочном поверхностно-активном веществе. В некоторых вариантах осуществления, конъюгат лекарственного средства-антитело по настоящему изобретению или композиции могут быть составлены в виде суппозиториев с традиционными связующими агентами и носителями, такими как триглицериды.

Настоящие композиции могут иметь форму растворов, суспензий, эмульсий, таблеток, пилюль, пеллетов, капсул, капсул, содержащих жидкости, порошков, составов с замедленным высвобождением, суппозиториев, эмульсий, аэрозолей, спреев, суспензий или любой другой формы, подходящей для использования. Другие примеры подходящих фармацевтических носителей описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E. W. Martin.

Фармацевтические композиции могут быть приготовлены с использованием методологии, хорошо известной в области фармацевтики. Например, композиция, предназначенная для введения путем инъекции, может быть приготовлена путем объединения конъюгата лекарственного средства по настоящему изобретению с водой с образованием раствора. Поверхностно-активное вещество может быть добавлено для облегчения составления гомогенного раствора или суспензии.

Мы обнаружили, что конъюгаты лекарственного средства и композиции настоящего изобретения особенно эффективны при лечении рака.

Таким образом, как описано ранее, настоящее изобретение представляет способ лечения пациента, нуждающегося в этом, особенно человека, пораженного раком, который включает введение больному индивидууму терапевтически эффективного количества конъюгата лекарственного средства или композиции по настоящему изобретению. Настоящее изобретение представляет конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению для применения в лечении рака и, более предпочтительно, рака, выбранного из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоза, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников. Наиболее предпочтительно, раком является рак груди.

Конъюгаты лекарственного средства и композиции по настоящему изобретению полезны для ингибирования размножения опухолевой клетки или раковой клетки или для лечения рака у животного. Конъюгат лекарственного средства и композиции настоящего изобретения могут применяться соответственно во множестве условий для лечения рака животных. Конъюгаты по изобретению, содержащие группу лекарственное средство-линкер, содержащую, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, могут применяться для доставки лекарственного средства или единицы лекарственного средства к опухолевой клетке или раковой клетке. Не будучи связанными теорией, в одном варианте осуществления группа, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, конъюгата лекарственного средства по настоящему изобретению, связывается или ассоциирует с раковой клеткой или антигеном, ассоциированным с опухолевой клеткой, и конъюгат лекарственного средства по настоящему изобретению может быть поглощен внутрь опухолевой клетки или раковой клетки через рецептор-опосредованный эндоцитоз. Антиген может быть присоединен к опухолевой клетке или

раковой клетке, или может быть белком внеклеточного матрикса, связанным с опухолевой клеткой или раковой клеткой. Попав внутрь клетки, одна или несколько специфических последовательностей в линкере гидролитически расщепляются одной или несколькими ассоциированными с опухолевой клеткой или раковой клеткой протеазами или гидролазами, что приводит к высвобождению лекарственного средства или соединения лекарственное средство-линкер. Высвободившееся лекарственное средство или соединение лекарственное средство-линкер затем свободно мигрирует в клетке и индуцирует цитотоксическую активность. В альтернативном варианте осуществления, лекарственное средство или единица лекарственного средства отщепляется от конъюгата лекарственного средства настоящего изобретения вне опухолевой клетки или раковой клетки, и лекарственное средство или соединение лекарственное средство-линкер впоследствии проникает в клетку.

В одном варианте осуществления, группа, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, связывается с опухолевой клеткой или раковой клеткой. В другом варианте осуществления, группа, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, связывается с антигеном опухолевой клетки или раковой клетки, который находится на поверхности опухолевой клетки или раковой клетки. В еще одном варианте осуществления, группа, содержащая, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, связывается с антигеном опухолевой клетки или раковой клетки, который является белком внеклеточного матрикса, ассоциированным с опухолевой клеткой или раковой клеткой.

Специфичность группы, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, к определенной опухолевой клетке или раковой клетке может быть важной для определения тех опухолей или раков, которые лечатся наиболее эффективно. Например, конъюгаты лекарственного средства по настоящему изобретению, имеющие единицу трастузумаба, могут быть полезны для лечения антиген-положительных карцином, включая лейкозы, рак легких, рак толстой кишки, лимфомы (например, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому), солидные опухоли, такие как саркома и карциномы, множественную миелому, рак почек и меланому. Раком может быть рак легких, колоректальный рак, рак груди, карцинома поджелудочной железы, рак почек, лейкоз, множественная миелома, лимфома или рак яичников. Например, конъюгаты лекарственного средства по настоящему изобретению, имеющие единицу ритуксимаба, могут быть полезны для лечения опухолей, экспрессирующих CD-20, таких как гематологические раки, включая лейкозы и лимфомы. Например, конъюгаты лекарственного средства по настоящему изобретению, имеющие единицу анти-CD4-антитела, могут быть полезны для лечения опухолей, экспрессирующих CD-4, таких как гематологические раки, включая лимфомы. Например, конъюгаты лекарственного средства по настоящему изобретению, имеющие единицу анти-CD5 антитела, могут быть полезны для лечения опухолей, экспрессирующих CD-5, таких как гематологические раки, включая лейкозы и лимфомы. Например, конъюгаты лекарственного средства по настоящему изобретению, имеющие единицу анти-CD13 антитела, могут быть полезны для лечения опухолей, экспрессирующих CD-13, таких как гематологические раки, включая лейкозы и лимфомы.

Другие конкретные типы рака, которые можно лечить конъюгатами лекарственного средства по настоящему изобретению, включают, но не ограничены ими: раки системы кровотока, включая все формы лейкоза; лимфомы, такие как болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома и множественная миелома.

В частности, конъюгаты лекарственного средства и композиции настоящего изобретения проявляют превосходную активность при лечении рака груди.

Конъюгаты лекарственного средства и композиции настоящего изобретения обеспечивают специфическое к конъюгированию таргетирование опухоли или рака, тем самым снижая общую токсичность этих конъюгатов. Линкерные единицы стабилизируют конъюгат лекарственное средство-антитело в крови, но расщепляются опухолеспецифическими протеазами и гидролазами внутри клетки, высвобождая лекарственное средство.

Конъюгаты лекарственного средства и композиции настоящего изобретения могут вводиться животному, которое также получает хирургию в качестве лечения рака. В одном варианте осуществления настоящего изобретения, дополнительным способом лечения является радиационная терапия.

В конкретном варианте осуществления настоящего изобретения, конъюгат лекарственного средства или композиция настоящего изобретения может вводиться с радиотерапией. Радиотерапия может вводиться одновременно, до или после лечения конъюгатом лекарственного средства или композицией настоящего изобретения. В варианте осуществления, конъюгат лекарственного средства или композицию настоящего изобретения вводят одновременно с радиационной терапией. В другом конкретном варианте осуществления, радиационную терапию вводят до или после введения конъюгата лекарственного средства или композиции настоящего изобретения, предпочтительно, по меньшей мере, через час, пять часов, 12 часов, день, неделю, месяц, более предпочтительно, несколько месяцев (например, вплоть до трех месяцев), до или после введения конъюгата лекарственное средство-антитело или композиции настоящего изобретения.

Что касается радиационной терапии, можно использовать любой протокол радиационной терапии в зависимости от типа рака, подлежащего лечению. Пример, но не в качестве ограничения, можно

применять рентгеновское излучение; в частности, высокоэнергетическое мегавольтное излучение (излучение с энергией более 1 МэВ) может использоваться для лечения глубоких опухолей, а электронно-лучевое и ортовольтное рентгеновское излучение может использоваться при раке кожи. Также можно вводить радиоизотопы, испускающие гамма-лучи, такие как радиоактивные изотопы радия, кобальта и других элементов.

В настоящем изобретении представлен набор, содержащий терапевтически эффективное количество конъюгата лекарственного средства по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. В варианте осуществления, представлен набор, включающий композицию по настоящему изобретению и, необязательно, инструкции по применению при лечении рака и, более конкретно, рака, выбранного из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоза, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников.

В одном варианте осуществления, набор согласно этому аспекту предназначен для использования при лечении рака и более предпочтительно, рака, выбранного из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников. Наиболее предпочтительно, набор предназначен для использования при лечении рака груди.

#### Краткое описание чертежей

Изобретение иллюстрировано диаграммами, например, в прилагаемых чертежах, в которых:

на фиг. 1 представлена схематическая иллюстрация одного способа по настоящему изобретению, где конъюгирование антитела осуществляется через свободные тиольные группы;

на фиг. 2 представлена схематическая иллюстрация одного способа по настоящему изобретению, где конъюгирование антитела осуществляется через свободные аминогруппы;

фиг. 3 - дозозависимые кривые, соответствующие одному типовому эксперименту, проведенному для оценки антипролиферативного потенциала ADC1 в HER2-положительных (черные символы) или HER2-отрицательных (полые символы) клеточных линиях. Точки соответствуют средним для трех значений с "усами", обозначающими CO, линии на чертеже соответствуют наилучшей подгонке путем нелинейной регрессии экспериментальных точек к четырехпараметрической логистической кривой, используемой для получения значений IC<sub>50</sub>, представленных в табл. 13;

фиг. 4 - гистограммы, показывающие действие на выживание клеток либо трастузумаба в дозе 20 мкг/мл, либо ADC1 в дозе 16 или 2,5 мкг/мл в нескольких клеточных линиях, либо HER2-положительных (SK-BR-3 и HCC-1954), либо HER2-отрицательных (MDA-MB-231 и MCF-7). Столбики соответствуют среднему для трех определений с "усами", обозначающими CO. Статистическую значимость измеряют с применением непарного двустороннего t-критерия, значения p суммируют следующим образом: \*\*\*, p<0,001; \*\*, p<0,01; \*, p<0,05;

фиг. 5 - Дозозависимые кривые, показывающие антипролиферативный потенциал ADC2 в HER2-положительных (черные символы) или HER2-отрицательных (полые символы) клеточных линиях. Точки соответствуют средним для трех значений с "усами", обозначающими CO, линии на чертеже соответствуют наилучшей подгонке путем нелинейной регрессии экспериментальных точек к четырехпараметрической логистической кривой, используемой для получения значений IC<sub>50</sub>, представленных в табл. 15;

фиг. 6 - гистограммы, показывающие действие на выживание клеток либо Трастузумаба в дозе 20 мкг/мл, либо ADC2 в дозе 16 или 2,5 мкг/мл в нескольких клеточных линиях, либо HER2-положительных (SK-BR-3 и HCC-1954), либо HER2-отрицательных (MDA-MB-231 и MCF-7). Столбики соответствуют среднему для трех определений с "усами", обозначающими CO. Статистическую значимость измеряют с применением непарного двустороннего t-критерия, значения p суммируют следующим образом: \*\*\*, p<0,001; \*\*, p<0,01; \*, p<0,05;

фиг. 7 - дозозависимые кривые, показывающие антипролиферативный потенциал ADC3 в HER2-положительных (черные символы) или HER2-отрицательных (полые символы) клеточных линиях. Точки соответствуют средним для трех значений с "усами", обозначающими CO, линии на чертеже соответствуют наилучшей подгонке путем нелинейной регрессии экспериментальных точек к четырехпараметрической логистической кривой, используемой для получения значений IC<sub>50</sub>, представленных в табл. 17;

фиг. 8 - гистограммы, показывающие действие на выживание клеток либо трастузумаба в дозе 20 мкг/мл, либо ADC3 в дозе 20 или 3 мкг/мл в нескольких клеточных линиях, либо HER2-положительных (SK-BR-3 и HCC-1954), либо HER2-отрицательных (MDA-MB-231 и MCF-7). Столбики соответствуют среднему для трех определений с "усами", обозначающими CO. Статистическую значимость измеряют с применением непарного двустороннего t-критерия, значения p суммируют следующим образом: \*\*\*, p<0,001; \*\*, p<0,01; \*, p<0,05;

фиг. 9 - дозозависимые кривые, показывающие антипролиферативный потенциал ADC4 в HER2-положительных (черные символы) или HER2-отрицательных (полые символы) клеточных линиях. Точки соответствуют средним для трех значений с "усами", обозначающими CO, линии на чертеже соответствуют наилучшей подгонке путем нелинейной регрессии экспериментальных точек к четырехпараметрической логистической кривой, используемой для получения значений IC<sub>50</sub>,

представленных в табл. 18;

фиг. 10 - гистограммы, показывающие действие на выживание клеток либо трастузумаба в дозе 3 мкг/мл, либо ADC4 в дозе 3 или 0,2 мкг/мл в нескольких клеточных линиях, либо HER2-положительных (SK-BR-3 и HCC-1954), либо HER2-отрицательных (MDA-MB-231 и MCF-7). Столбики соответствуют среднему для трех определений с "усами", обозначающими CO. Статистическую значимость измеряют с применением непарного двустороннего t-критерия, значения p суммируют следующим образом: \*\*\*,  $p < 0,001$ ; \*\*,  $p < 0,01$ ; \*,  $p < 0,05$ ;

фиг. 11 - дозозависимые кривые, показывающие антипролиферативный потенциал ADC6 в HER2-положительных (черные символы) или HER2-отрицательных (полые символы) клеточных линиях. Точки соответствуют средним для трех значений с "усами", обозначающими CO, линии на чертеже соответствуют наилучшей подгонке путем нелинейной регрессии экспериментальных точек к четырехпараметрической логистической кривой, используемой для получения значений IC<sub>50</sub>, представленных в табл. 21;

фиг. 12 - оценка объема опухоли опухолей BT-474 у мышей, леченных плацебо, 11-R (в дозе 5 мг/кг), ADC 1 (2.2 TCEP) (в дозе 1,6 и 6,5 мг/кг) и ADC 1 (в дозе 2,24 мг/кг);

фиг. 13 - оценка объема опухоли опухолей JIMT-1 у мышей, леченных плацебо, 11-R (в дозе 5,0 мг/кг) и ADC 1 (в дозе 5, 10 и 30 мг/кг);

фиг. 14 - оценка объема опухоли опухолей SKOV3 у мышей, леченных плацебо, 11-R (в дозе 5,0 мг/кг) и ADC 1 (в дозе 5, 10 и 30 мг/кг);

фиг. 15 - оценка объема опухоли опухолей N87 у мышей, леченных плацебо, 11-R (в дозе 5,0 мг/кг) и ADC 1 (2.2 TCEP) (в дозе 5, 10 и 30 мг/кг);

фиг. 16 - оценка объема опухоли опухолей Gastric-008 (PDX) у мышей, леченных плацебо, 11-R (в дозе 5,0 мг/кг) и ADC-1 (в дозе 5, 10 и 30 мг/кг).

#### Примеры

Настоящее изобретение даже иллюстрировано с помощью следующих не ограничивающих примеров. В примерах, применяют следующие сокращения:

КДИ - 1,1'-карбонилдиимидазол;

ДИПЭА - N,N'-диизопропилэтиламин;

Hex - гексан;

EtOAc - этилацетат;

ДХМ - дихлорметан;

NMP - N-метил-2-пирролидон;

ДМФ - диметилформамид;

ЭДК - гидрохлорид N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид;

ЭДТК - этилендиаминтетрауксусная кислота;

MeOH - метанол;

ДТТ - дитиотреитол;

Pu - пиридин;

ТГФ - тетрагидрофуран;

ТКЭФ - гидрохлорид трис[2-карбоксиэтил]фосфина;

МК - 6-малеимидокапроил;

Fmoc - 9-флуоренилметоксикарбонил;

Cit - цитруллин;

Val - валин;

DMCO - диметилсульфоксид;

Trt - трифенилметил;

NOBt - 1-гидроксибензотриазол;

ДИПКДИ - N,N'-диизопропилкарбодиимид;

ТФК - трифторуксусная кислота;

РАВОH - 4-аминобензиловый спирт;

бис-PNP - бис(4-нитрофенил)карбонат;

НАС - N-ацетилцистеин;

ЭХР - эксклюзионная хроматография по размеру;

ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография;

ADC - конъюгат антитело-лекарственное средство;

АТСС - American Type Culture Collection;

DMEM - среда Игла, модифицированная по Дульбекко;

RPMI - среда Rossmell Park Memorial Institute Medium;

ITS - инсулин-трансферрин-селенит натрия добавка к среде;

ФТС - фетальная телячья сыворотка;

SRB - сульфородамин В;

ФРФБ - физиологический раствор с фосфатным буфером;

ДЗ - дозозависимый;

УФ - ультрафиолет;

СМЦК - сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат;

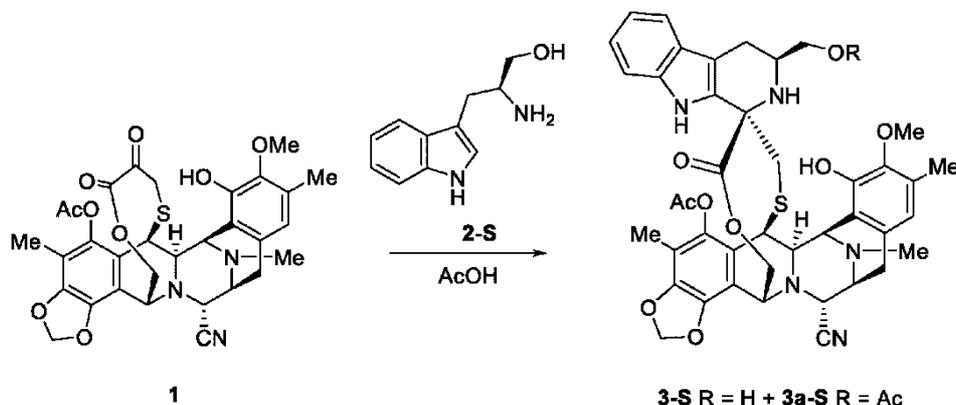
LAR - отношение линкера к антигелу.

Синтез соединений.

Соединение 1 получают как описано в примере 20 из WO 01/87895.

Пример 0-1.

А)



К раствору 1 (0,5 г, 0,80 ммоль) в уксусной кислоте (20 мл, 0,04 М) добавляют L-триптофанол (2-S) (533 мг, 3,0 ммоль, Sigma-Aldrich). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 16 ч и затем уксусную кислоту выпаривают. Водный насыщенный раствор NaHCO<sub>3</sub> добавляют, и смесь экстрагируют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (Гексан:EtOAc, 1:1) дает соединения 3-S (616 мг, 97%) и 3a-S (12 мг, 2%).

3-S

R<sub>f</sub>=0,50 (гексан:EtOAc, 1:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,71 (с, 1H), 7,36 (дд, J=7,9, 1,0 Гц, 1H), 7,27 (дд, J=8,2, 0,9 Гц, 1H), 7,13 (ддд, J=8,3, 7,0, 1,2 Гц, 1H), 7,03 (ддд, J=8,0, 7,0, 1,0 Гц, 1H), 6,62 (с, 1H), 6,26 (д, J=1,4 Гц, 1H), 6,04 (д, J=1,3 Гц, 1H), 5,75 (с, 1H), 5,14 (дд, J=11,7, 1,2 Гц, 1H), 4,60 (с, 1H), 4,41 (с, 1H), 4,36-4,24 (м, 2H), 4,21 (д, J=2,7 Гц, 1H), 3,82 (с, 3H), 3,52 (с, 1H), 3,50-3,47 (м, 1H), 3,45 (дкв, J=8,4, 2,2 Гц, 1H), 3,35 (т, J=10,1 Гц, 1H), 3,01-2,78 (м, 5H), 2,62 (дд, J=15,3, 4,7 Гц, 1H), 2,41 (с, 1H), 2,38 (с, 3H), 2,37-2,31 (м, 1H), 2,28 (с, 3H), 2,17 (с, 3H), 2,06 (с, 3H).

ИЭР-МС m/z: 794,2 (M+H)<sup>+</sup>.

3a-S.

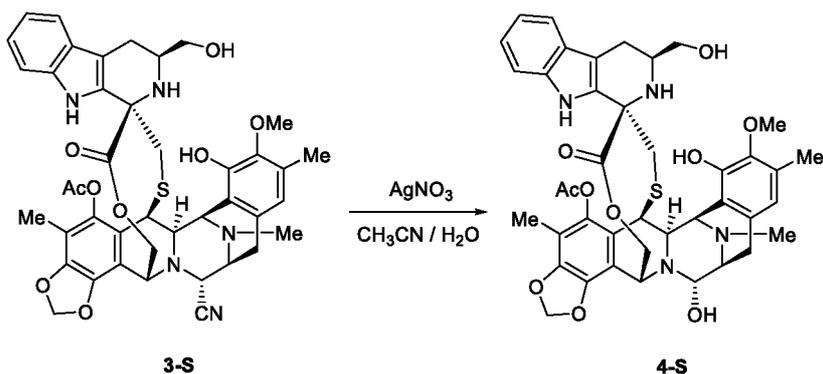
R<sub>f</sub>=0,70 (гексан:EtOAc, 1:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,83 (с, 1H), 7,38 (дт, J=7,9, 0,9 Гц, 1H), 7,25 (дт, J=8,3, 0,9 Гц, 1H), 7,11 (ддд, J=8,2, 7,1, 1,2 Гц, 1H), 7,02 (ддд, J=8,0, 7,0, 1,0 Гц, 1H), 6,62 (с, 1H), 6,24 (д, J=1,4 Гц, 1H), 6,03 (д, J=1,3 Гц, 1H), 5,79 (с, 1H), 5,13 (д, J=11,7 Гц, 1H), 4,60 (с, 1H), 4,39 (с, 1H), 4,36-4,22 (м, 3H), 4,17-4,09 (м, 1H), 3,91 (дд, J=10,5, 8,6 Гц, 1H), 3,83 (с, 3H), 3,51-3,41 (м, 2H), 3,04-2,92 (м, 3H), 2,72 (дд, J=15,1, 4,0 Гц, 1H), 2,54-2,41 (м, 2H), 2,38 (с, 3H), 2,35-2,30 (м, 1H), 2,29 (с, 3H), 2,21-2,16 (м, 1H), 2,18 (с, 3H), 2,12 (с, 3H); 2,05 (с, 3H).

<sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 171,2, 170,7, 168,6, 147,5, 145,8, 143,0, 141,1, 140,4, 135,6, 130,1, 129,5, 126,7, 122,2, 121,2, 120,9, 119,4, 118,4, 118,2, 118,2, 113,6, 113,5, 110,9, 110,0, 109,1, 102,1, 91,4, 67,2, 63,4, 61,3, 60,4, 59,7, 59,1, 54,8, 54,6, 47,7, 42,0, 41,6, 31,6, 24,0, 22,6, 21,0, 15,9, 14,2, 9,7.

ИЭР-МС m/z: 836,2 (M+H)<sup>+</sup>.

В)



К раствору 3-S (616 мг, 0,77 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 51 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (3,40 г, 23,3 ммоль). Через 3 ч при 23°C, реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением 4-S (471 мг, 78%).

$R_f=0,50$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

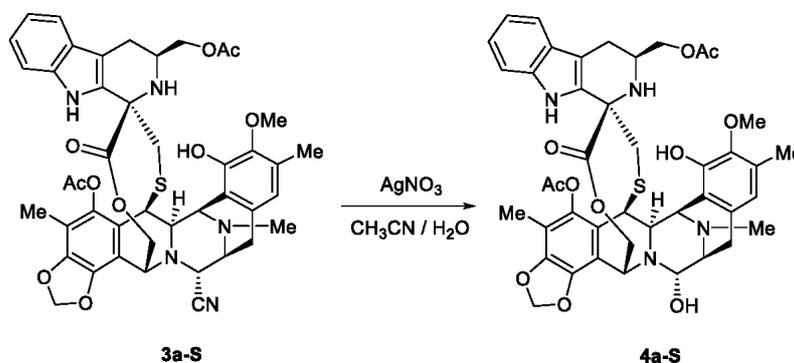
$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,71 (с, 1H), 7,36 (дд,  $J=7,8$ , 1,1 Гц, 1H), 7,26 (дд,  $J=7,8$ , 1,1 Гц, 1H), 7,12 (ддд,  $J=8,2$ , 7,0, 1,2 Гц, 1H), 7,03 (ддд,  $J=8,0$ , 7,1, 1,0 Гц, 1H), 6,64 (с, 1H), 6,23 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 6,01 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 5,75 (с, 1H), 5,25 (д,  $J=11,4$  Гц, 1H), 4,92 (с, 1H), 4,52 (шс, 3H), 4,22 (дд,  $J=11,4$ , 2,2 Гц, 1H), 4,19 (с, 1H), 3,83 (с, 3H), 3,54 (шс, 2H), 3,35 (т,  $J=10,2$  Гц, 1H), 3,26 (с, 1H), 3,01-2,93 (м, 3H), 2,88 (шс, 3H), 2,63 (дд,  $J=15,2$ , 4,8 Гц, 1H), 2,38 (с, 3H), 2,36-2,31 (м, 2H), 2,28 (с, 3H), 2,05 (с, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171,9, 168,6, 147,5, 145,4, 142,9, 141,2, 140,7, 135,5, 130,4, 126,8, 122,3, 122,0, 121,3, 119,4, 118,4, 115,2, 112,8, 111,0, 110,0, 109,6, 101,8, 81,9, 76,8, 65,2, 62,8, 62,5, 60,4, 58,1, 57,9, 55,9, 55,1, 53,4, 51,6, 41,8, 41,3, 39,6, 24,1, 23,8, 20,5, 15,8, 9,7.

ИЭР-МС  $m/z$ : 767,3 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$  767,2788 [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ] $^+$  (Рассч. для  $\text{C}_{41}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ : 767,2745).

В)



К раствору 3a-S (30 мг, 0,035 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 2,4 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (180 мг, 1,07 ммоль). Через 3 ч при 23°C, реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением 4a-S (24 мг, 83%).

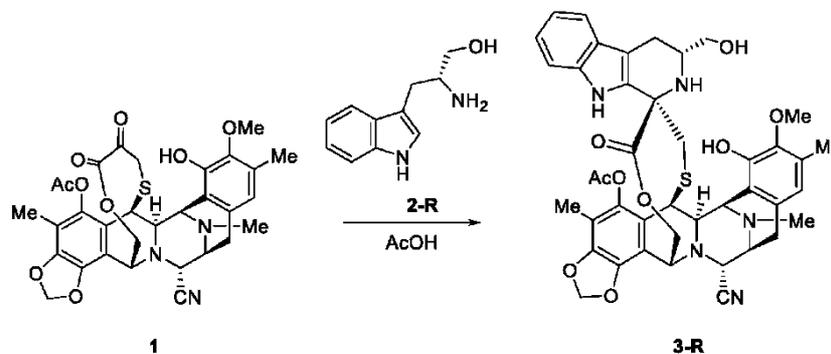
$R_f=0,60$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,81 (с, 1H), 7,37 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 7,30-7,21 (м, 1H), 7,06 (дддт,  $J=34,7$ , 8,0, 7,1, 1,1 Гц, 2H), 6,63 (с, 1H), 6,22 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 6,02 (дд,  $J=12,9$ , 1,4 Гц, 1H), 5,74 (с, 1H), 5,25-5,21 (м, 1H), 4,89 (д,  $J=8,7$  Гц, 1H), 4,55-4,45 (м, 2H), 4,30-4,18 (м, 1H), 4,14 (дд,  $J=10,5$ , 4,2 Гц, 1H), 4,00-3,88 (м, 2H), 3,82 (с, 3H), 3,56-3,44 (м, 2H), 3,23 (д,  $J=9,0$  Гц, 1H), 2,95 (д,  $J=15,7$  Гц, 2H), 2,87-2,78 (м, 2H), 2,71 (дд,  $J=15,0$ , 3,9 Гц, 1H), 2,48 (дд,  $J=15,1$ , 9,6 Гц, 1H), 2,37 (с, 3H), 2,35-2,29 (м, 1H), 2,28 (с, 3H), 2,22-2,16 (м, 1H), 2,15 (с, 3H), 2,12 (с, 3H), 2,03 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 809,2 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

Пример 0-2.

А)



К раствору 1 (0,5 г, 0,80 ммоль) в уксусной кислоте (20 мл, 0,04 М) добавляют D-триптофан (2-R) (533 мг, 3,0 ммоль, Sigma-Aldrich). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 16 ч и затем уксусную кислоту выпаривают. Водный насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  добавляют и смесь экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют

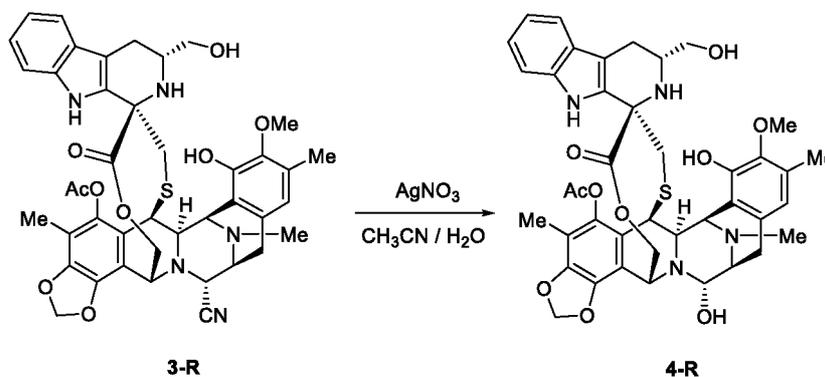
под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, 1:1) дает соединение 3-R (479 мг, 75%).

$R_f=0,44$  (Гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,61 (с, 1H), 7,39 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 7,29 (д,  $J=9,6$  Гц, 1H), 7,12 (т,  $J=7,3$  Гц, 1H), 7,03 (т,  $J=7,3$  Гц, 1H), 6,60 (с, 1H), 6,25 (с, 1H), 6,03 (с, 1H), 5,75 (с, 1H), 5,04 (д,  $J=11,7$  Гц, 1H), 4,62 (с, 1H), 4,37 (с, 1H), 4,32-4,25 (м, 1H), 4,22 (д,  $J=2,7$  Гц, 1H), 4,19-4,09 (м, 1H), 3,82 (с, 3H), 3,77 (с, 1H), 3,64 (д,  $J=9,0$  Гц, 1H), 3,49-3,41 (м, 2H), 3,02-2,90 (м, 2H), 2,60-2,52 (м, 2H), 2,45 (д,  $J=14,7$  Гц, 2H), 2,40 (с, 3H), 2,28 (с, 3H), 2,22-2,14 (м, 2H), 2,18 (с, 3H), 2,10 (м, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 794,3 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

В)



К раствору 3-R (479 мг, 0,60 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 40 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (3,03 г, 18,1 ммоль). Через 3 ч при 23°C, реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением 4-R (428 мг, 91%).

$R_f=0,45$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

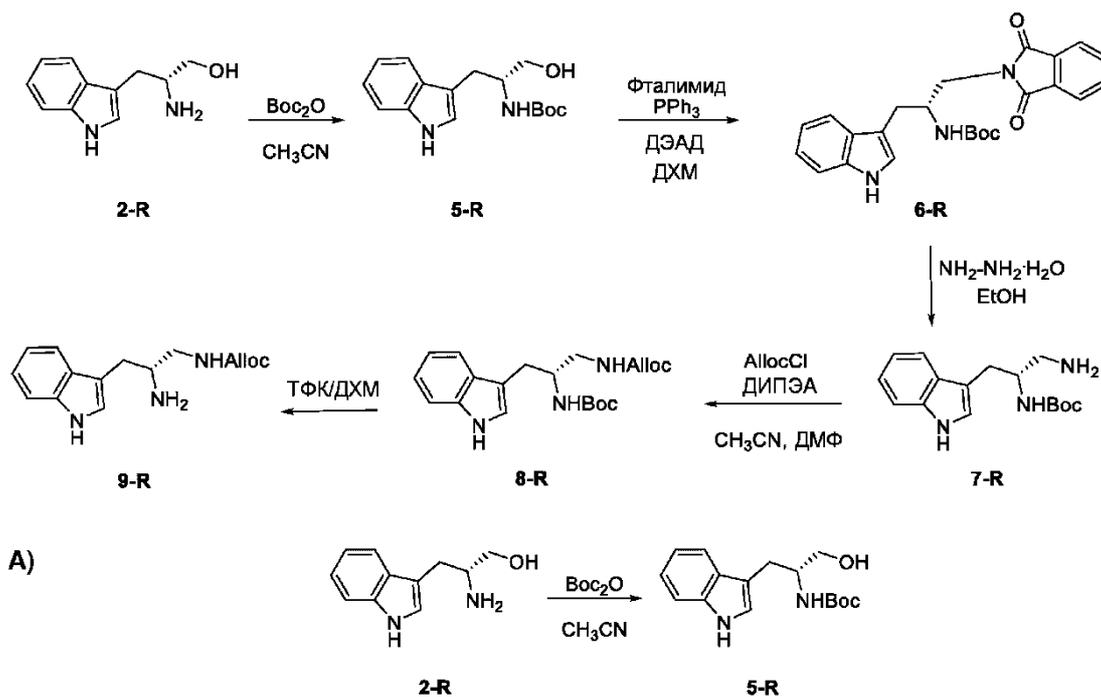
$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,62 (с, 1H), 7,39 (д,  $J=8,1$  Гц, 1H), 7,28 (д,  $J=8,1$  Гц, 1H), 7,11 (ддд,  $J=8,2, 7,0, 1,2$  Гц, 1H), 7,02 (ддд,  $J=7,9, 7,1, 1,0$  Гц, 1H), 6,61 (с, 1H), 6,22 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 5,99 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 5,73 (с, 1H), 5,17 (дд,  $J=11,5, 1,2$  Гц, 1H), 4,86 (с, 1H), 4,56-4,47 (м, 2H), 4,17 (дд,  $J=5,1, 1,6$  Гц, 1H), 4,08 (дд,  $J=11,5, 2,1$  Гц, 1H), 3,81 (с, 3H), 3,78 (д,  $J=3,8$  Гц, 1H), 3,64 (дд,  $J=10,8, 3,8$  Гц, 2H), 3,51 (д,  $J=5,1$  Гц, 1H), 3,48-3,43 (м, 2H), 3,24 (д,  $J=8,6$  Гц, 1H), 3,00-2,80 (м, 2H), 2,57 (с, 1H), 2,55-2,43 (м, 1H), 2,40 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,19-2,12 (м, 1H), 2,16 (с, 3H), 2,08 (с, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171,8, 168,6, 147,6, 145,4, 143,0, 141,3, 140,7, 136,0, 131,1, 130,0, 129,6, 126,6, 122,1, 121,6, 121,2, 119,4, 118,4, 115,6, 112,9, 111,1, 110,6, 101,8, 81,7, 65,8, 62,7, 61,8, 60,4, 60,3, 57,9, 57,8, 56,1, 55,0, 52,1, 42,2, 41,3, 41,1, 23,8, 23,4, 20,5, 15,7, 9,8.

ИЭР-МС  $m/z$ : 767,6 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$ : 767,2799 [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ] $^+$  (рассч. для  $\text{C}_{41}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ : 767,2745).

Пример 0-3. Синтез аллил N-[(R)-(2-амино-3-(1H-индол-3-ил)пропил)]карбамата (9-R)

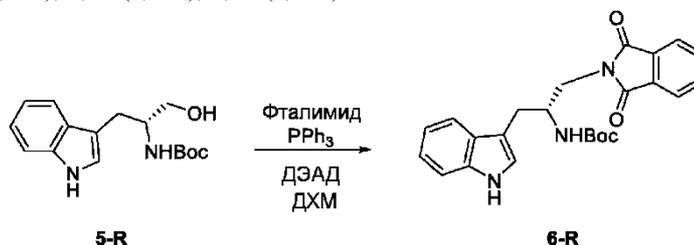


К раствору D-триптофанола (2-R) (2,0 г, 10,4 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (42 мл, 4 мл/ммоль) добавляют ди-трет-бутил дикарбонат (4,6 г, 20,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 3 ч и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  от 99:1 до 85:15) с получением 5-R (2,2 г, 73%).

$R_f=0,5$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,13 (с, 1H), 7,67 (дд,  $J=7,8$ , 1,1 Гц, 1H), 7,38 (дд,  $J=8,1$ , 1,3 Гц, 1H), 7,29-7,10 (м, 2H), 7,06 (с, 1H), 4,82 (с, 1H), 4,00 (с, 1H), 3,71 (дд,  $J=11,0$ , 3,8 Гц, 1H), 3,62 (дд,  $J=11,0$ , 5,5 Гц, 1H), 3,01 (д,  $J=6,7$  Гц, 2H), 2,14 (с, 1H), 1,44 (с, 9H).

**B)**

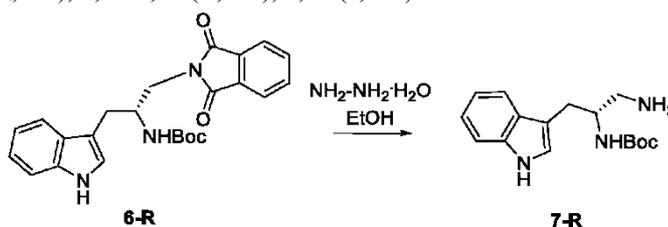


К раствору 5-R (2,4 г, 8,2 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 мл, 6 мл/ммоль) добавляют фталимид (2,7 г, 18,2 ммоль), трифенилфосфин (4,8 г, 18,2 ммоль) и смесь охлаждают при 0°C. Раствор диэтилазодикарбоксилата (ДЭАД) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (25 мл, 3 мл/ммоль) добавляют в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 16 ч, концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением 6-R (3,3 г, 96%).

$R_f=0,7$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,50 (с, 1H), 7,81 (дд,  $J=5,5$ , 3,1 Гц, 2H), 7,66 (дд,  $J=5,6$ , 3,2 Гц, 2H), 7,60 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 7,35 (д,  $J=8,0$  Гц, 1H), 7,19-7,04 (м, 3H), 4,81 (с, 1H), 4,40 (с, 1H), 3,83 (дд,  $J=13,9$ , 3,7 Гц, 1H), 3,72 (дд,  $J=13,9$ , 9,9 Гц, 1H), 3,08-3,01 (м, 2H), 1,23 (с, 9H).

**C)**



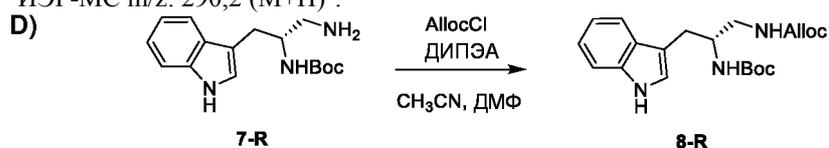
К раствору 6-R (3,25 г, 7,74 ммоль) в этаноле (231 мл, 30 мл/ммоль) добавляют моногидрат гидразина (37 мл, 774 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 80°C в герметично закрытой пробирке в течение 2,25 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{EtOAc}:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 50:50) дает 7-R (2,15 г, 96%).

$R_f=0,2$  ( $\text{EtOAc}:\text{CH}_3\text{OH}$ , 6:4).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,60 (д,  $J=7,9$  Гц, 1H), 7,33 (д,  $J=8,1$  Гц, 1H), 7,13-7,04 (м, 2H), 7,05-

6,96 (м, 1H), 4,02-3,94 (м, 1H), 2,99-2,87 (м, 3H), 2,78 (дд, J=13,1, 9,7 Гц, 1H), 1,39 (с, 9H).

ИЭР-МС m/z: 290,2 (M+H)<sup>+</sup>.

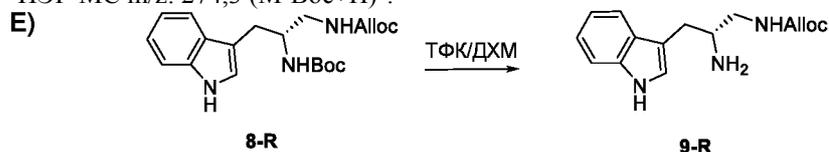


К раствору 7-R (2,15 г, 7,4 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN (74 мл, 10 мл/ммоль) и ДМФ (7,4 мл, 1 мл/ммоль) добавляют N,N-диизопропилэтиламин (1,06 мл, 5,9 ммоль) и аллил хлорформиат (7,9 мл, 74 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 16 ч. Смесь разбавляют EtOAc, NH<sub>4</sub>Cl добавляют и смесь экстрагируют EtOAc. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (гексан:EtOAc, от 100:1 до 1:100) с получением 8-R (1,69 г, 61%).

R<sub>f</sub>=0,4 (гексан:EtOAc, 1:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,25 (с, 1H), 7,62 (д, J=7,8 Гц, 1H), 7,35 (дд, J=8,1, 0,9 Гц, 1H), 7,16 (ддд, J=27,8, 8,0, 7,0, 1,1 Гц, 2H), 7,04 (д, J=2,4 Гц, 1H), 5,90 (ддт, J=17,3, 10,7, 5,6 Гц, 1H), 5,34-5,22 (м, 1H), 5,20 (дт, J=10,5, 1,4 Гц, 1H), 5,12 (с, 1H), 4,82 (с, 1H), 4,55 (дкв, J=5,4, 1,7 Гц, 2H), 4,02 (с, 1H), 3,35 (дт, J=10,0, 4,7 Гц, 1H), 3,21 (с, 1H), 2,95 (ддд, J=21,6, 15,4, 9,1 Гц, 2H), 1,42 (с, 9H).

ИЭР-МС m/z: 274,3 (M-Boc+H)<sup>+</sup>.



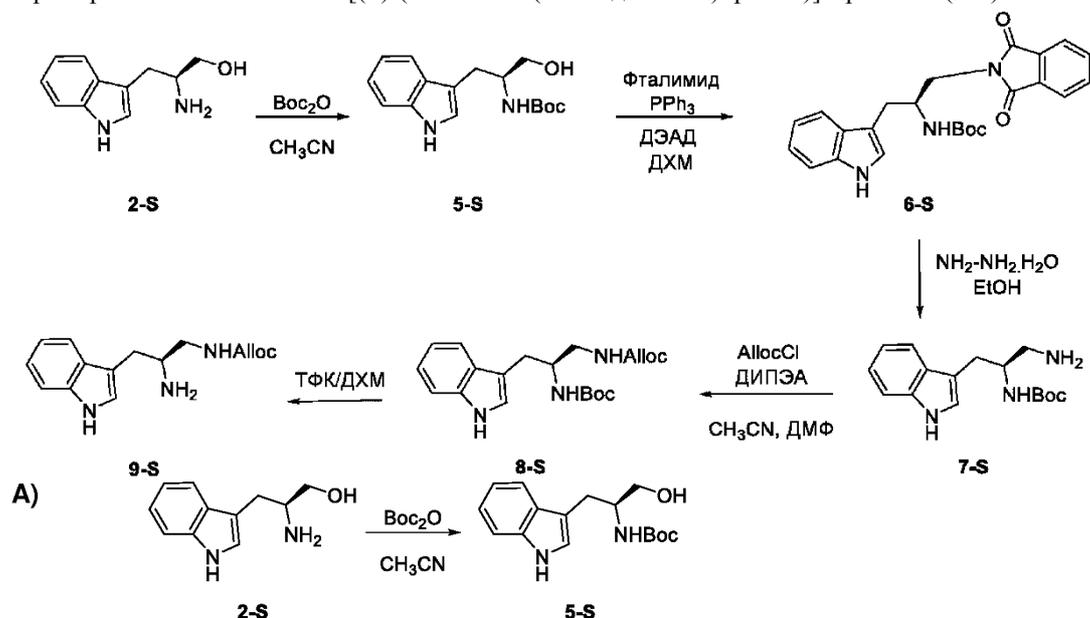
К раствору 8-R (1,30 г, 3,50 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (58 мл, 16,6 мл/ммоль) добавляют трифторуксусную кислоту (30 мл, 8,3 мл/ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 1,5 ч, концентрируют под вакуумом с получением неочищенного 9-R, который применяют на следующих стадиях без дальнейшей очистки.

R<sub>f</sub>=0,2 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 9:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,95 (с, 1H), 7,53 (д, J=7,8 Гц, 1H), 7,36 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,17 (с, 1H), 7,09 (т, J=7,5 Гц, 1H), 7,03 (т, J=7,5 Гц, 1H), 5,87 (ддт, J=16,4, 10,8, 5,6 Гц, 1H), 5,34-5,13 (м, 2H), 4,50 (д, J=5,5 Гц, 2H), 3,62 (шс, 1H), 3,42 (дд, J=14,9, 3,9 Гц, 1H), 3,36-3,20 (м, 1H), 3,11-3,00 (м, 2H).

ИЭР-МС m/z: 274,3 (M+H)<sup>+</sup>.

Пример 0-4. Синтез аллил N-[(S)-(2-амино-3-(1H-индол-3-ил)пропил)]карбамата (9-S)

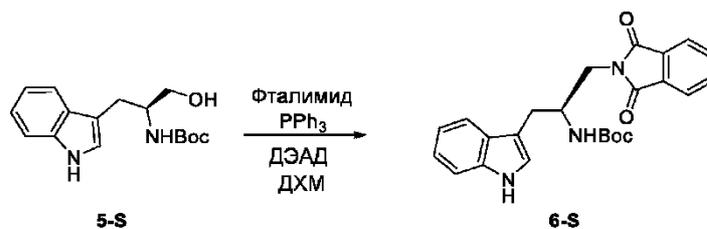


К раствору L-триптофанола (2-S) (2,0 г, 10,4 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN (42 мл, 4 мл/ммоль) добавляют ди-трет-бутил дикарбонат (4,6 г, 20,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 3 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, от 99:1 до 85:15) с получением 5-S (2,24 г, 73%).

R<sub>f</sub>=0,5 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 9:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,10 (с, 1H), 7,65 (дд, J=7,8, 1,1 Гц, 1H), 7,37 (дд, J=8,1, 1,3 Гц, 1H), 7,23-7,11 (м, 2H), 7,06 (с, 1H), 4,81 (с, 1H), 3,99 (с, 1H), 3,70 (дд, J=11,0, 3,8 Гц, 1H), 3,61 (дд, J=11,0, 5,5 Гц, 1H), 3,00 (д, J=6,7 Гц, 2H), 2,01 (с, 1H), 1,42 (с, 9H).

В)

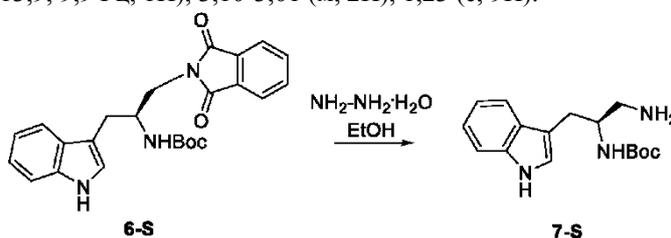


К раствору 5-S (1,2 г, 4,13 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (24,8 мл, 6 мл/ммоль) добавляют фталиимид (1,33 г, 9,1 ммоль), трифенилфосфин (2,4 г, 9,1 ммоль) и смесь охлаждают при  $0^\circ\text{C}$ . Раствор диэтилазодикарбоксилата (ДЭАД) (3 мл, 10,32 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (12,4 мл, 3 мл/ммоль) добавляют в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивают при  $23^\circ\text{C}$  в течение 16 ч, концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением 6-S (2,8 г, >100%).

$R_f=0,7$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,49 (с, 1H), 7,80 (дд,  $J=5,4, 3,1$  Гц, 2H), 7,66 (дд,  $J=5,6, 3,2$  Гц, 2H), 7,60 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 7,34 (д,  $J=8,0$  Гц, 1H), 7,21-7,04 (м, 3H), 4,74 (с, 1H), 4,42 (с, 1H), 3,83 (дд,  $J=13,9, 3,7$  Гц, 1H), 3,72 (дд,  $J=13,9, 9,9$  Гц, 1H), 3,10-3,01 (м, 2H), 1,23 (с, 9H).

С)



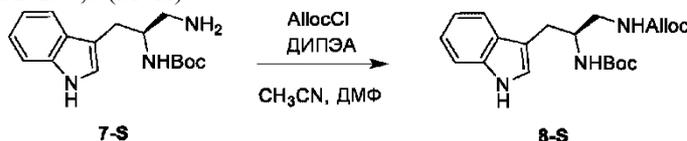
К раствору 6-S (0,86 г, 2,07 ммоль) в этаноле (72 мл, 36 мл/ммоль) добавляют моногидрат гидразина (10 мл, 207 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $80^\circ\text{C}$  в герметично закрытой пробирке в течение 2,25 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{EtOAc}:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 50:50) с получением 7-S (1,0 г, 84%).

$R_f=0,2$  ( $\text{EtOAc}:\text{CH}_3\text{OH}$ , 6:4).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,61 (д,  $J=7,9$  Гц, 1H), 7,35 (д,  $J=8,1$  Гц, 1H), 7,13-6,97 (м, 2H), 7,09 (с, 1H), 4,06-3,96 (м, 1H), 3,01-2,76 (м, 4H), 1,38 (с, 9H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 290,3 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

D)



К раствору 7-S (0,95 г, 3,3 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (33 мл, 10 мл/ммоль) и ДМФ (3,3 мл, 1 мл/ммоль) добавляют  $N,N$ -диизопропилэтиламин (0,5 мл, 2,6 ммоль) и аллилхлорформиат (3,5 мл, 33 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $23^\circ\text{C}$  в течение 20 ч. Смесь разбавляют  $\text{EtOAc}$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  добавляют и смесь экстрагируют  $\text{EtOAc}$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (гексан: $\text{EtOAc}$ , от 100:1 до 1:100) с получением 8-S (0,88 г, 73%).

$R_f=0,5$  (гексан: $\text{EtOAc}$ , 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,17 (с, 1H), 7,63 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 7,20 (дд,  $J=8,1, 0,9$  Гц, 1H), 7,13 (ддд,  $J=27,8, 8,0, 7,0, 1,1$  Гц, 2H), 7,06 (д,  $J=2,4$  Гц, 1H), 5,90 (ддт,  $J=17,3, 10,7, 5,6$  Гц, 1H), 5,31-5,18 (м, 2H), 5,09 (с, 1H), 4,80 (с, 1H), 4,59-4,52 (м, 2H), 4,03 (с, 1H), 3,37 (дт,  $J=10,0, 4,7$  Гц, 1H), 3,21 (с, 1H), 3,05-2,87 (м, 2H), 1,42 (с, 9H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 274,3 ( $\text{M}-\text{Boc}+\text{H}^+$ ).

E)



К раствору 8-S (0,875 г, 2,3 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (38 мл, 16,6 мл/ммоль) добавляют трифторуксусную кислоту (19 мл, 8,3 мл/ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $23^\circ\text{C}$  в течение 2 ч, концентрируют под вакуумом с получением неочищенного 9-S который применяют на следующих стадиях без дальнейшей очистки.

$R_f=0,2$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

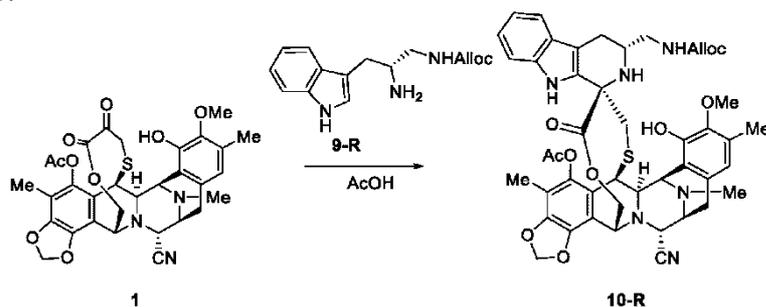
$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,56 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 7,37 (д,  $J=8,1$  Гц, 1H), 7,21 (с, 1H), 7,13 (т,  $J=7,5$  Гц, 1H), 7,05 (т,  $J=7,5$  Гц, 1H), 5,94 (ддт,  $J=16,4, 10,8, 5,6$  Гц, 1H), 5,34-5,16 (м, 2H), 4,56 (д,  $J=5,5$  Гц, 2H),

3,60 (шс, 1H), 3,43 (дд,  $J=14,9$ , 3,9 Гц, 1H), 3,37-3,31 (м, 1H), 3,14-2,99 (м, 2H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 274,3 (M+H)<sup>+</sup>.

Пример 0-5.

**A)**



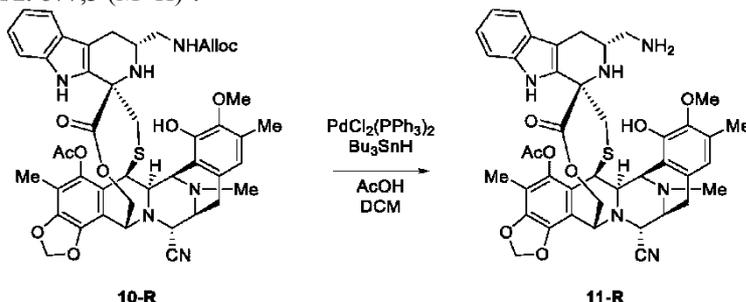
К раствору 1 (1,45 г, 2,33 ммоль) в уксусной кислоте (58 мл, 0,08 М) добавляют 9-R (0,95 г, 3,50 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 50°C в течение 18 ч и затем уксусную кислоту выпаривают. Водный насыщенный раствор NaHCO<sub>3</sub> добавляют и смесь экстрагируют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, 1:1) дает соединение 10-R (1,3 г, 64%).

$R_f=0,5$  (гексан:EtOAc, 1:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,66 (с, 1H), 7,36 (д,  $J=7,9$  Гц, 1H), 7,27 (д,  $J=7,9$  Гц, 1H), 7,10 (ддд,  $J=8,3$ , 7,0, 1,3 Гц, 1H), 7,01 (тд,  $J=7,5$ , 7,0, 1,0 Гц, 1H), 6,62 (с, 1H), 6,23 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,01 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 5,99-5,89 (м, 1H), 5,79 (с, 1H), 5,44-5,21 (м, 2H), 5,14-4,99 (м, 2H), 4,63 (ддд,  $J=7,3$ , 4,4, 1,5 Гц, 2H), 4,36 (с, 1H), 4,33-4,24 (м, 1H), 4,29-4,26 (м, 1H), 4,21 (д,  $J=2,7$  Гц, 1H), 4,19-4,13 (м, 3H), 3,80 (с, 3H), 3,56 (с, 1H), 3,48-3,43 (м, 3H), 3,27 (дт,  $J=13,2$ , 4,0 Гц, 1H), 3,04-2,88 (м, 2H), 2,56 (дд,  $J=15,2$ , 3,8 Гц, 1H), 2,49-2,35 (м, 2H), 2,31 (с, 3H), 2,28 (с, 3H), 2,17 (с, 3H), 2,07 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 877,3 (M+H)<sup>+</sup>.

**B)**



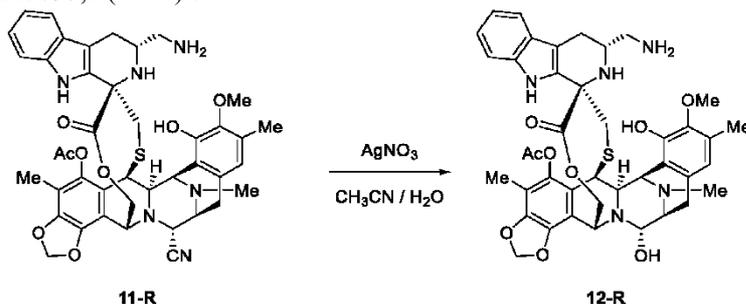
К раствору 10-R (600 мг, 0,68 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (12 мл, 18 мл/ммоль) добавляют дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (77 мг, 0,1 ммоль) и уксусную кислоту (0,4 мл, 6,8 ммоль). Гидрид трибутилолова (1,1 мл, 4,08 ммоль) добавляют при 0°C, реакционную смесь перемешивают при 0°C в течение 0,5 ч и концентрируют под вакуумом. Полученный неочищенный продукт разбавляют EtOAc, насыщенный водный раствор NH<sub>4</sub>Cl добавляют и смесь экстрагируют EtOAc. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, от 100:1 до 1:100 и EtOAc:CH<sub>3</sub>OH, от 100:1 до 1:100) с получением 11-R (440 мг, 82%).

$R_f=0,5$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 1:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,64 (с, 1H), 7,38 (д,  $J=7,9$  Гц, 1H), 7,29 (д,  $J=8,1$  Гц, 1H), 7,11 (ддт,  $J=8,3$ , 7,0, 1,4 Гц, 1H), 7,03 (ддт,  $J=8,3$ , 7,0, 1,4 Гц, 1H), 6,58 (с, 1H), 6,24 (д,  $J=1,5$  Гц, 1H), 6,02 (д,  $J=1,5$  Гц, 1H), 5,02 (д,  $J=11,8$  Гц, 1H), 4,63 (с, 1H), 4,36 (с, 1H), 4,28 (д,  $J=5,1$  Гц, 1H), 4,21 (д,  $J=2,2$  Гц, 1H), 4,16 (с, 1H), 3,80 (с, 3H), 3,51-3,39 (м, 4H), 3,32-3,13 (м, 3H), 2,95 (д,  $J=8,9$  Гц, 2H), 2,89-2,76 (м, 2H), 2,73-2,57 (м, 1H), 2,42 (д,  $J=14,8$  Гц, 1H), 2,36 (с, 3H), 2,25 (с, 3H), 2,16 (с, 3H), 2,09 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 793,2 (M+H)<sup>+</sup>.

**C)**



К раствору 11-R (850 мг, 1,07 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (1,39:1, 70 мл, 0,015 М) добавляют AgNO<sub>3</sub> (3,64

г, 21,4 ммоль). Через 17 ч при 23°C, реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов NaCl и NaHCO<sub>3</sub>, перемешивают в течение 15 мин, разбавляют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, от 99:1 до 85:15) с получением 12-R (553 мг, 66%).

R<sub>f</sub>=0,3 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 9:1).

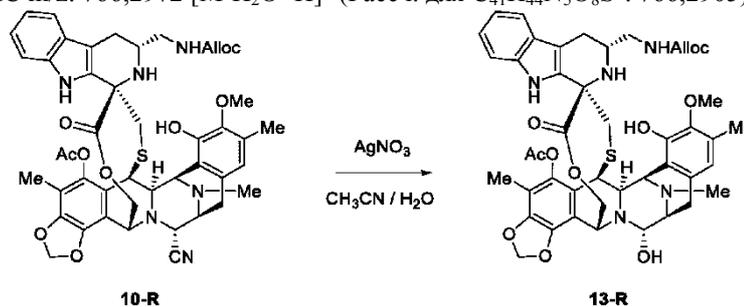
<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,60 (с, 1H), 7,38 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,28 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,11 (ддт, J=8,3, 7,1, 1,2 Гц, 1H), 7,02 (ддт, J=8,3, 7,1, 1,2 Гц, 1H), 6,58 (с, 1H), 6,22 (с, 1H), 6,00 (с, 1H), 5,16 (д, J=11,5 Гц, 1H), 4,87 (с, 1H), 4,54 (с, 1H), 4,51 (д, J=3,3 Гц, 1H), 4,17 (д, J=5,4 Гц, 1H), 4,07 (дд, J=11,3, 2,2 Гц, 1H), 3,81 (с, 3H), 3,52 (д, J=5,1 Гц, 1H), 3,24 (д, J=8,8 Гц, 2H), 2,99-2,78 (м, 4H), 2,66 (дд, J=14,9, 3,5 Гц, 1H), 2,49-2,39 (м, 2H), 2,38 (с, 3H), 2,28 (м, 2H), 2,25 (с, 3H), 2,21-2,16 (м, 2H), 2,15 (с, 3H), 2,08 (с, 3H).

<sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 171,7, 169,4, 148,7, 145,9, 143,7, 141,4, 140,9, 136,9, 130,8, 130,0, 129,7, 126,0, 121,4, 121,0, 119,7, 119,1, 118,4, 117,5, 114,9, 110,8, 107,5, 106,4, 102,1, 91,3, 63,2, 60,0, 59,0, 58,6, 55,3, 54,6, 52,7, 52,4, 48,4, 45,8, 42,5, 40,2, 24,5, 23,2, 19,2, 15,0, 8,2.

ИЭР-МС m/z: 766,2 (M-H<sub>2</sub>O+H)<sup>+</sup>.

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС m/z: 766,2972 [M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup> (Рассч. для C<sub>41</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>: 766,2905).

**C')**



К раствору 10-R (700 мг, 0,8 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (1,39:1, 52,5 мл, 0,015 М) добавляют AgNO<sub>3</sub> (2,66 г, 16 ммоль). Через 20 ч при 23°C, реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов NaCl и NaHCO<sub>3</sub>, перемешивают в течение 15 мин, разбавляют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, от 99:1 до 85:15) с получением 13-R (438 мг, 63%).

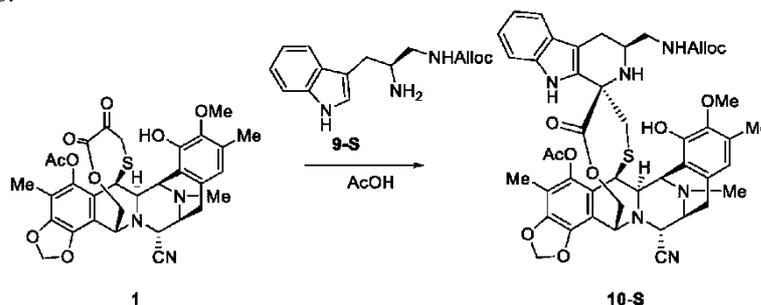
R<sub>f</sub>=0,40 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 9:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,64 (с, 1H), 7,37 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,32-7,20 (м, 1H), 7,11 (т, J=7,7 Гц, 1H), 7,01 (т, J=7,4 Гц, 1H), 6,62 (с, 1H), 6,21 (с, 1H), 6,05-5,90 (м, 1H), 5,99 (с, 1H), 5,75 (д, J=6,0 Гц, 1H), 5,40-5,07 (м, 4H), 4,88 (д, J=14,7 Гц, 1H), 4,68-4,50 (м, 3H), 4,28-4,13 (м, 1H), 4,08 (дт, J=11,4, 2,4 Гц, 1H), 3,83 (с, 3H), 3,68-3,40 (м, 4H), 3,37-3,19 (м, 2H), 2,98-2,79 (м, 2H), 2,59-2,36 (м, 3H), 2,29 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,14 (с, 3H), 2,10-2,16 (м, 1H), 2,08 (с, 3H).

ИЭР-МС m/z: 850,3 (M-H<sub>2</sub>O+H)<sup>+</sup>.

Пример 0-6.

**A)**



К раствору 1 (955 мг, 1,5 ммоль) в уксусной кислоте (37,5 мл, 0,08 М) добавляют 9-S (627 мг, 2,29 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 50°C в течение 18 ч и затем уксусную кислоту выпаривают. Водный насыщенный раствор NaHCO<sub>3</sub> добавляют и смесь экстрагируют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, 1:1) дает соединение 10-S (756 мг, 58%).

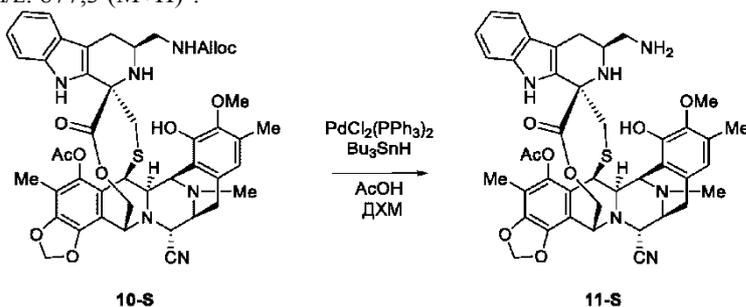
R<sub>f</sub>=0,4 (гексан:EtOAc, 1:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,78 (с, 1H), 7,36 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,24 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,10 (ддд, J=8,3, 7,0, 1,3 Гц, 1H), 7,01 (дд, J=7,5, 7,0, 1,0 Гц, 1H), 6,68 (с, 1H), 6,23 (д, J=1,4 Гц, 1H), 6,01 (д, J=1,4 Гц, 1H), 6,07-5,93 (м, 1H), 5,82 (с, 1H), 5,41-5,19 (м, 2H), 5,1 (д, J=11,7 Гц, 1H), 4,66 (дт, J=5,9, 1,3 Гц, 1H), 4,57 (с, 1H), 4,37 (с, 1H), 4,33-4,20 (м, 3H), 3,81 (с, 3H), 3,46 (д, J=4,2 Гц, 2H), 3,22-3,13 (м, 1H), 3,11-2,88 (м, 4H), 2,66 (дд, J=15,2, 4,2 Гц, 1H), 2,51 (дд, J=15,3, 6,0 Гц, 1H), 2,43-2,32 (м, 2H), 2,31 (с, 3H), 2,26 (с,

3H), 2,19 (с, 3H), 2,04 (с, 3H).

ИЭР-МС m/z: 877,3 (M+H)<sup>+</sup>.

**B)**



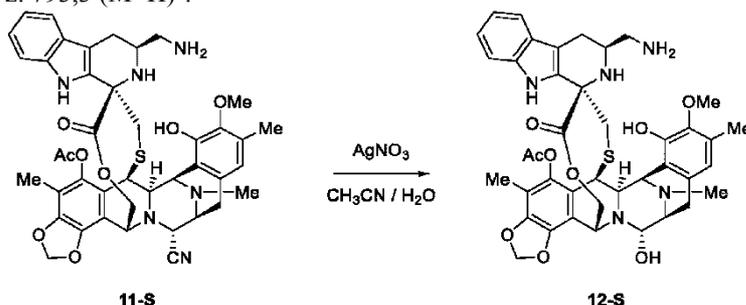
К раствору 10-S (650 мг, 0,72 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (13,3 мл, 18 мл/ммоль) добавляют дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (83 мг, 0,11 ммоль) и уксусную кислоту (0,42 мл, 7,4 ммоль). Гидрид трибутилолова (1,2 мл, 4,4 ммоль) добавляют при 0°C, реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 0,5 ч и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, от 100:1 до 1:100 и EtOAc:CH<sub>3</sub>OH, от 100:1 до 1:100) с получением 11-S (445 мг, 78%).

R<sub>f</sub>=0,5 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 1:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,74 (с, 1H), 7,36 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,26 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,12 (ддт, J=8,3, 7,0, 1,4 Гц, 1H), 7,02 (ддт, J=8,3, 7,0, 1,4 Гц, 1H), 6,62 (с, 1H), 6,26 (д, J=1,5 Гц, 1H), 6,04 (д, J=1,5 Гц, 1H), 5,12 (д, J=11,8 Гц, 1H), 4,59 (с, 1H), 4,42 (с, 1H), 4,36-4,17 (м, 3H), 3,81 (с, 3H), 3,51-3,39 (м, 3H), 2,98-2,75 (м, 4H), 2,69-2,60 (м, 2H), 2,47 (д, J=16,1 Гц, 1H), 2,38 (с, 3H), 2,35-2,17 (м, 2H), 2,28 (с, 3H), 2,13 (с, 3H), 2,04 (с, 3H).

ИЭР-МС m/z: 793,3 (M+H)<sup>+</sup>.

**C)**



К раствору 11-S (435 мг, 0,55 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (1,39:1, 38,5 мл, 0,015 М) добавляют AgNO<sub>3</sub> (1,84 г, 11 ммоль). Через 24 ч при 23°C, реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов NaCl и NaHCO<sub>3</sub>, перемешивают в течение 15 мин, разбавляют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, от 99:1 до 85:15) с получением 12-S (152 мг, 35%).

R<sub>f</sub>=0,2 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 9:1).

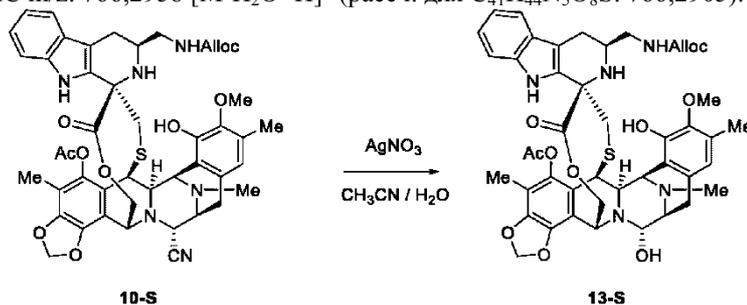
<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,34 (дд, J=7,7, 1,5 Гц, 1H), 7,28 (дд, J=7,7, 1,5 Гц, 1H), 7,04 (ддт, J=8,2, 7,0, 1,1 Гц, 1H), 6,95 (ддт, J=8,2, 7,0, 1,2 Гц, 1H), 6,55 (с, 1H), 6,31-6,25 (м, 1H), 6,15-6,05 (м, 1H), 5,31 (д, J=11,4 Гц, 1H), 4,91 (с, 1H), 4,64 (с, 1H), 4,40-4,19 (м, 3H), 3,76 (с, 3H), 3,64 (д, J=5,2 Гц, 1H), 3,44 (д, J=9,0 Гц, 1H), 3,03-2,85 (м, 4H), 2,85-2,65 (м, 2H), 2,59 (д, J=15,6 Гц, 1H), 2,52-2,39 (м, 2H), 2,37 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 2,00 (с, 3H).

<sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 171,4, 169,3, 148,6, 145,8, 143,5, 141,2, 140,8, 136,5, 131,2, 130,3, 129,5, 126,3, 121,6, 121,2, 119,8, 119,4, 118,6, 117,5, 114,9, 111,0, 107,5, 107,4, 102,2, 91,1, 63,5, 60,5, 59,2, 58,5, 55,3, 54,7, 53,4, 52,7, 48,6, 44,7, 42,7, 39,9, 24,3, 23,4, 19,2, 15,1, 8,2.

ИЭР-МС m/z: 766,2 (M-H<sub>2</sub>O+H)<sup>+</sup>.

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС m/z: 766,2958 [M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup> (рассч. для C<sub>41</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub>S: 766,2905).

**C')**



К раствору 10-S (5 мг, 0,006 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (1,39:1, 0,5 мл, 0,015 М) добавляют AgNO<sub>3</sub> (29 мг,

0,17 ммоль). Через 20 ч при 23°C, реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов NaCl и NaHCO<sub>3</sub>, перемешивают в течение 15 мин, разбавляют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, от 99:1 до 85:15) с получением 13-S (5 мг, 100%).

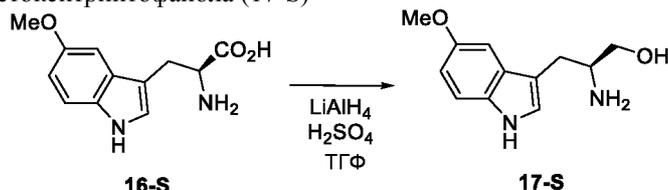
R<sub>f</sub>=0,40 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 9:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,75 (с, 1H), 7,37 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,32-7,20 (м, 1H), 7,12 (т, J=7,7 Гц, 1H), 7,02 (т, J=7,4 Гц, 1H), 6,84 (с, 1H), 6,24 (с, 1H), 6,08-5,97 (м, 1H), 6,01 (с, 1H), 5,87 (с, 1H), 5,42-5,19 (м, 4H), 4,88 (с, 1H), 4,69-4,65 (м, 2H), 4,58 (с, 1H), 4,28-4,13 (м, 2H), 3,84 (с, 3H), 3,68-3,40 (м, 2H), 3,24-3,15 (м, 2H), 3,08-2,90 (м, 2H), 2,73-2,57 (м, 2H), 2,53-2,37 (м, 3H), 2,34 (с, 3H), 2,25 (с, 3H), 2,14 (с, 3H), 2,10-2,16 (м, 1H), 2,03 (с, 3H).

ИЭР-МС m/z: 850,3 (M-H<sub>2</sub>O+H)<sup>+</sup>.

Пример 0-7.

А) Синтез (S)-5-метокситриптофанола (17-S)



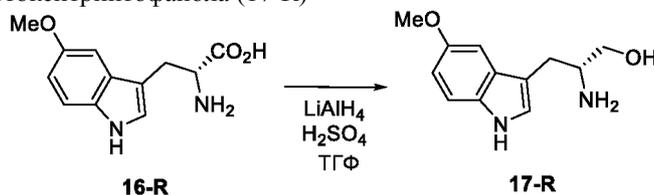
К раствору LiAlH<sub>4</sub> (23,4 мл, 1,0 М в ТГФ, 23,4 ммоль) при -40°C осторожно добавляют H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,31 мл, 5,57 ммоль) и суспензию 5-метокси-L-триптофана (16-S) (1,0 г, 4,26 ммоль, Chem-Imprex) в ТГФ (13,4 мл, 0,3 М). Реакционную смесь оставляют выделять газ при 23°C, нагревают в течение 3 ч при 80°C и 18 ч при 23°C. Охлаждают при -21°C, реакционную смесь осторожно гасят NaOH 2N до щелочного pH. EtOAc добавляют, и смесь фильтруют через Celite® и промывают CH<sub>3</sub>OH. Неочищенный продукт концентрируют под вакуумом с получением 17-S в виде неочищенного продукта, который применяют на следующей стадии без дальнейшей очистки.

R<sub>f</sub>=0,2 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 4:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,19 (дт, J=8,8, 0,7 Гц, 1H), 7,06-7,00 (м, 2H), 6,72 (дд, J=8,8, 2,4 Гц, 1H), 3,77 (с, 3H), 3,63-3,48 (м, 1H), 3,42-3,33 (м, 1H), 3,17-3,06 (м, 1H), 2,86 (ддт, J=14,3, 6,1, 0,8 Гц, 1H), 2,66 (дд, J=14,3, 7,5 Гц, 1H).

ИЭР-МС m/z: 221,4 (M+H)<sup>+</sup>.

В) Синтез (R)-5-метокситриптофанола (17-R)



К раствору LiAlH<sub>4</sub> (11,7 мл, 1,0 М в ТГФ, 11,7 ммоль) при -40°C добавляют осторожно H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,31 мл, 5,75 ммоль) и суспензию 5-метокси-D-триптофана (16-R) (0,5 г, 2,13 ммоль, Aldrich) в ТГФ (6,7 мл, 0,3 М). Реакционную смесь оставляют выделять газ при 23°C, нагревают в течение 3,5 ч при 80°C и 18 ч при 23°C. Охлаждают при -21°C, реакционную смесь осторожно гасят NaOH 2N до щелочного pH. EtOAc добавляют и смесь фильтруют через Celite® и промывают CH<sub>3</sub>OH. Неочищенный продукт концентрируют под вакуумом с получением 17-R в виде неочищенного продукта, который применяют на следующей стадии без дальнейшей очистки.

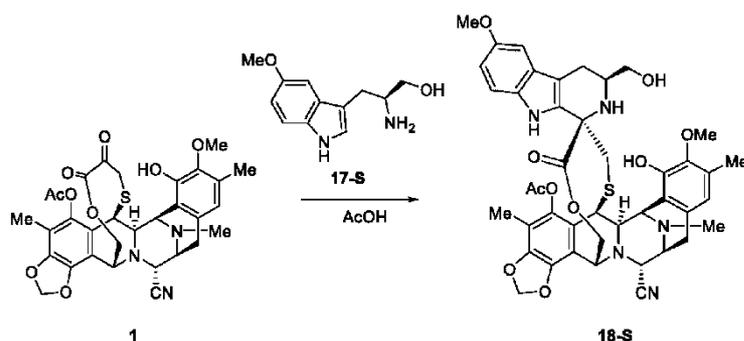
R<sub>f</sub>=0,2 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 4:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,20 (д, J=8,9 Гц, 1H), 7,06-6,96 (м, 2H), 6,71 (дд, J=8,8, 2,5 Гц, 1H), 3,75 (с, 3H), 3,62-3,52 (м, 1H), 3,37 (дд, J=10,8, 7,0 Гц, 1H), 3,09 (шс, 1H), 2,82 (дд, J=14,3, 5,9 Гц, 1H), 2,62 (дд, J=14,4, 7,6 Гц, 1H).

ИЭР-МС m/z: 221,6 (M+H)<sup>+</sup>.

Пример 0-8.

A)



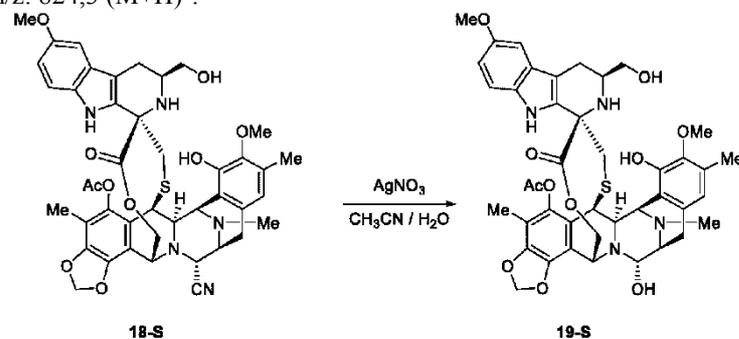
К раствору 1 (530 мг, 0,85 ммоль) в уксусной кислоте (10,6 мл, 0,08 М) добавляют 17-S (469 мг, 2,13 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 50°C в течение 18 ч и затем уксусную кислоту выпаривают. Водный насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  добавляют, и смесь экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, 1:1) дает соединение 18-S (420 мг, 60%).

$R_f=0,3$  (гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,13 (д,  $J=8,8$  Гц, 1H), 6,80 (д,  $J=2,4$  Гц, 1H), 6,66 (дд,  $J=8,8$ , 2,5 Гц, 1H), 6,51 (с, 1H), 6,27 (с, 1H), 6,11 (с, 1H), 5,21 (д,  $J=11,7$  Гц, 1H), 4,67 (с, 1H), 4,49-4,29 (м, 4H), 3,75 (с, 3H), 3,73 (с, 3H), 3,47 (т,  $J=5,8$  Гц, 3H), 3,37 (д,  $J=5,1$  Гц, 1H), 3,01-2,81 (м, 2H), 2,75 (д,  $J=7,4$  Гц, 1H), 2,66 (дд,  $J=15,1$ , 4,1 Гц, 1H), 2,55-2,35 (м, 4H), 2,34 (с, 3H), 2,28 (с, 3H), 2,11 (с, 3H), 1,99 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 824,3 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

B)



К раствору 18-S (420 мг, 0,519 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 36 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (2,60 г, 15,3 ммоль). Через 3 ч при 23°C, реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением 19-S (250 мг, 60%).

$R_f=0,45$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,15 (дд,  $J=8,9$ , 0,6 Гц, 1H), 6,82 (дд,  $J=2,4$ , 0,6 Гц, 1H), 6,68 (дд,  $J=8,8$ , 2,5 Гц, 1H), 6,54 (с, 1H), 6,27 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 6,08 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 5,30 (д,  $J=11,5$  Гц, 1H), 4,62 (с, 1H), 4,34 (дд,  $J=11,4$ , 2,0 Гц, 1H), 4,31-4,27 (м, 2H), 3,76 (с, 3H), 3,75 (с, 3H), 3,66-3,58 (м, 1H), 3,55-3,45 (м, 2H), 3,42 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 2,93-2,73 (м, 3H), 2,68 (дд,  $J=15,1$ , 4,2 Гц, 1H), 2,54 (д,  $J=15,4$  Гц, 1H), 2,42 (дд,  $J=15,1$ , 10,1 Гц, 2H), 2,35 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 2,00 (с, 3H).

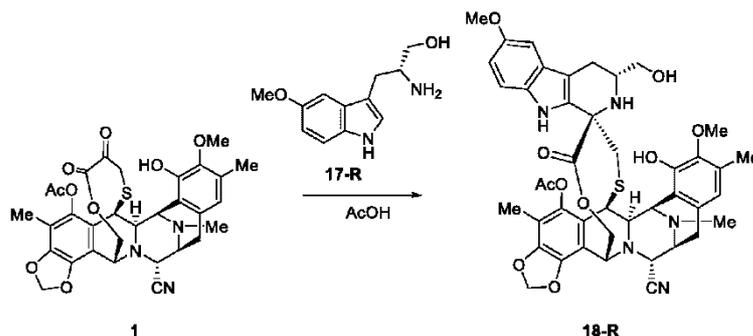
$^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  172,7, 170,8, 155,1, 149,9, 147,2, 145,0, 142,6, 142,2, 133,1, 132,4, 132,1, 131,3, 128,1, 122,5, 121,6, 120,3, 116,4, 113,0, 112,9, 111,4, 109,0, 103,6, 100,8, 92,5, 66,6, 65,0, 61,7, 60,4, 59,9, 56,7, 56,1, 54,8, 54,1, 51,7, 44,1, 41,3, 30,7, 25,4, 24,7, 20,6, 16,3, 9,5.

ИЭР-МС  $m/z$ : 798,1 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$ : 797,2899 [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ] $^+$  (Рассч. для  $\text{C}_{42}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$  797,2851).

Пример 0-9.

A)



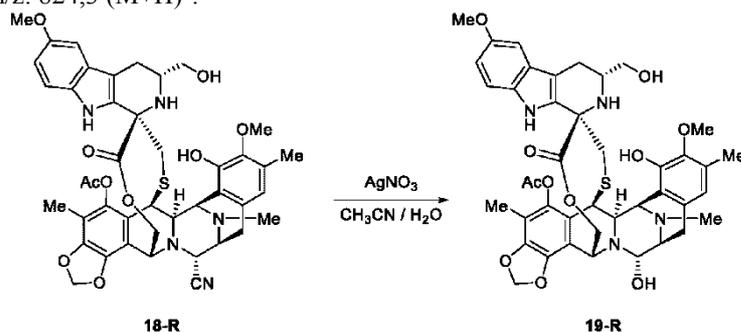
К раствору 1 (311 мг, 0,50 ммоль) в уксусной кислоте (6,25 мл, 0,08 М) добавляют 17-R (220 мг, 1,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 50°C в течение 18 ч и затем уксусную кислоту выпаривают. Водный насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  добавляют и смесь экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, 1:1) дает соединение 18-R (280 мг, 68%).

$R_f=0,3$  (гексан: EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,53 (с, 1H), 7,18 (д,  $J=8,7$  Гц, 1H), 6,82 (д,  $J=2,4$  Гц, 1H), 6,78 (дд,  $J=8,6, 2,3$  Гц, 1H), 6,60 (с, 1H), 6,23 (с, 1H), 6,02 (с, 1H), 5,76 (с, 1H), 5,04 (д,  $J=11,7$  Гц, 1H), 4,62 (с, 1H), 4,36 (с, 1H), 4,28 (д,  $J=5,0$  Гц, 1H), 4,24-4,09 (м, 3H), 3,81 (с, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,64 (с, 1H), 3,47-3,40 (м, 3H), 3,01-2,90 (м, 2H), 2,53 (д,  $J=6,9$  Гц, 2H), 2,45-2,41 (м, 1H), 2,40 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,22-2,14 (м, 1H), 2,18 (с, 3H), 2,06 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 824,3 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

**B)**



К раствору 18-R (330 мг, 0,40 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 28 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (2,04 г, 12,0 ммоль). Через 3 ч при 23°C, реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением 19-R (224 мг, 69%).

$R_f=0,44$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

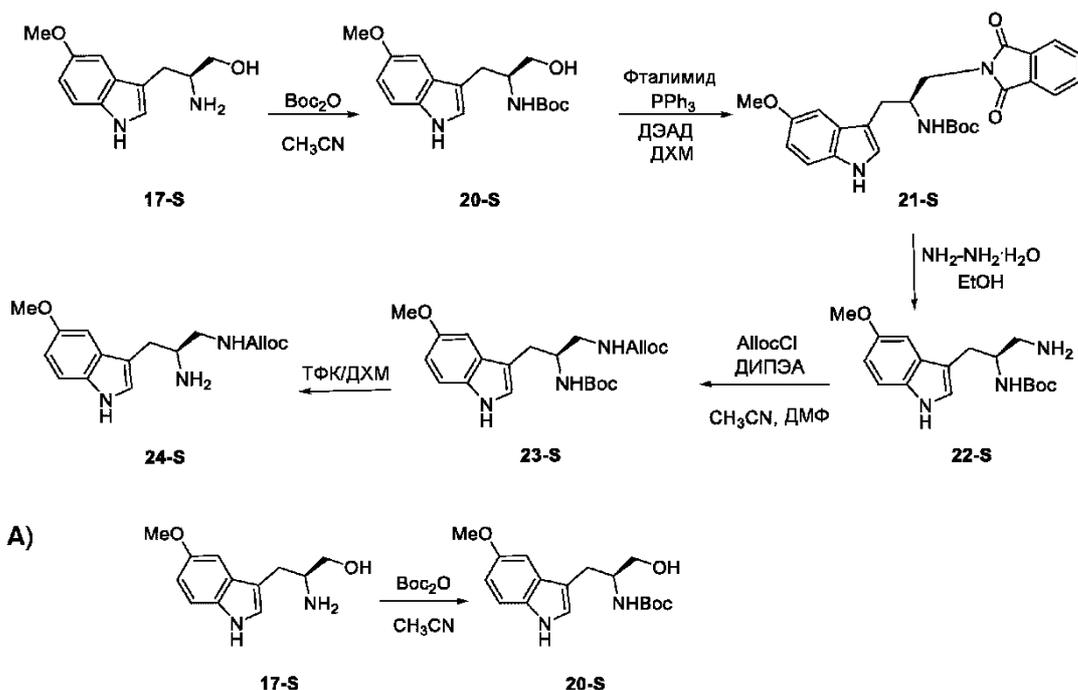
$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,14 (дд,  $J=8,8, 0,5$  Гц, 1H), 6,83 (д,  $J=2,5$  Гц, 1H), 6,68 (дд,  $J=8,8, 2,5$  Гц, 1H), 6,59 (с, 1H), 6,26 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,07 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 5,21 (д,  $J=11,5$  Гц, 1H), 4,68-4,55 (м, 1H), 4,32-4,25 (м, 2H), 4,12 (дд,  $J=11,5, 2,1$  Гц, 1H), 3,75 (с, 3H), 3,74 (с, 3H), 3,60 (д,  $J=5,2$  Гц, 1H), 3,57-3,45 (м, 3H), 3,41 (д,  $J=8,8$  Гц, 1H), 2,97-2,83 (м, 3H), 2,73 (дд,  $J=15,0, 3,4$  Гц, 1H), 2,69 (д,  $J=14,9$  Гц, 1H), 2,34 (с, 3H), 2,30 (с, 3H), 2,20 (дд,  $J=15,1, 10,4$  Гц, 1H), 2,12 (с, 3H), 2,11-2,08 (м, 1H), 2,05 (с, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  173,0, 170,8, 155,0, 149,8, 147,3, 145,0, 142,8, 142,3, 133,5, 133,1, 132,2, 132,1, 131,1, 130,5, 127,8, 122,5, 121,7, 120,0, 116,4, 113,5, 112,9, 111,4, 110,2, 103,5, 100,9, 92,6, 66,8, 64,5, 61,3, 60,4, 60,0, 56,8, 56,1, 55,9, 54,1, 44,1, 41,3, 25,6, 24,5, 20,6, 16,2, 9,6.

ИЭР-МС  $m/z$ : 797,4 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$ : 797,2896 [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ] $^+$  (рассч. для  $\text{C}_{42}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$  797,2851).

Пример 0-10. Синтез аллил N-[(S)-2-амино-3-(5-метокси-1H-индол-3-ил)пропил]карбамата (24-S)

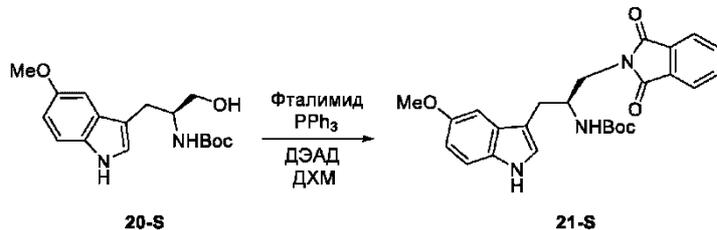


К раствору 17-S (6,9 г, 31,4 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (126 мл, 4 мл/ммоль) добавляют ди-трет-бутил дикарбонат (13,7 г, 62,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 5,5 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) дает 20-S (4,5 г, 45%).

$R_f=0,6$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,04 (с, 1H), 7,25 (д,  $J=8,4$  Гц, 1H), 7,10 (д,  $J=2,4$  Гц, 1H), 7,03 (с, 1H), 6,87 (дд,  $J=8,8, 2,5$  Гц, 1H), 4,83 (с, 1H), 3,98 (с, 1H), 3,87 (с, 3H), 3,73-3,58 (м, 2H), 2,96 (д,  $J=6,6$  Гц, 2H), 1,42 (с, 9H).

**B)**

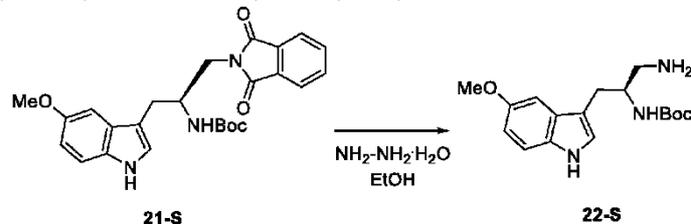


К раствору 20-S (4,5 г, 14 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (84 мл, 6 мл/ммоль) добавляют фталимид (4,5 г, 30,9 ммоль), трифенилфосфин (8,1 г, 30,9 ммоль) и смесь охлаждают при 0°C. Раствор 40% диэтилазодикарбоксилата (ДЭАД) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10,4 мл, 35 ммоль) добавляют в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 18 ч, концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (гексан:EtOAc, от 99:1 до 85:15) с получением 21-S (5,8 г, 92%).

$R_f=0,55$  (гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,48 (с, 1H), 7,78 (дд,  $J=5,5, 3,1$  Гц, 2H), 7,69-7,61 (м, 2H), 7,21 (д,  $J=8,8$  Гц, 1H), 7,06 (дд,  $J=18,5, 2,4$  Гц, 2H), 6,81 (дд,  $J=8,8, 2,4$  Гц, 1H), 4,87 (с, 1H); 4,39 (с, 1H), 3,87 (с, 3H), 3,83-3,66 (м, 2H), 2,98 (д,  $J=6,1$  Гц, 2H), 1,20 (с, 9H).

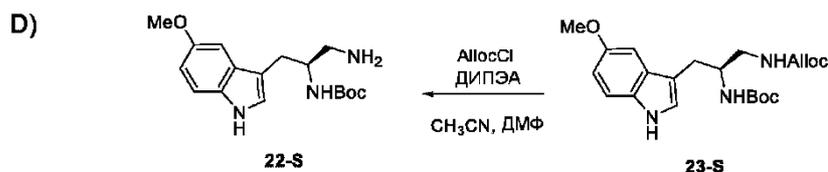
**C)**



К раствору 21-S (6,29 г, 14 ммоль) в этаноле (420 мл, 30 мл/ммоль) добавляют моногидрат гидразина (61,1 мл, 1260 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 80°C в герметично закрытой пробирке в течение 2 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 50:50) дает 22-S (4,2 г, 95%).

$R_f=0,1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 8:2).

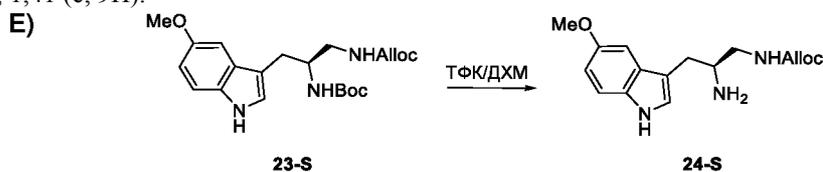
$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,22 (д,  $J=8,8$  Гц, 1H), 7,12 (д,  $J=2,4$  Гц, 1H), 7,06 (с, 1H), 6,76 (дд,  $J=8,8, 2,4$  Гц, 1H), 4,06-3,97 (м, 1H), 3,82 (с, 3H), 3,06-2,82 (м, 4H), 1,37 (с, 9H).



К раствору 22-S (4,0 г, 12,52 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (125 мл, 10 мл/ммоль) и ДМФ (12 мл, 1 мл/ммоль) добавляют *N,N*-диизопропилэтиламин (1,8 мл, 10 ммоль) и аллилхлорформиат (13,3 мл, 125 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 5 ч. Смесь разбавляют EtOAc и  $\text{NH}_4\text{Cl}$  добавляют, и смесь экстрагируют EtOAc. Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (Гексан:EtOAc, от 100:1 до 1:100) с получением 23-S (2,65 г, 52%).

$R_f=0,5$  (гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,11 (с, 1H), 7,28-7,20 (м, 1H), 7,04 (д,  $J=13,1$  Гц, 2H), 6,85 (дд,  $J=8,9, 2,4$  Гц, 1H), 5,97-5,82 (м, 1H), 5,33-5,24 (м, 1H), 5,19 (дт,  $J=10,4, 1,3$  Гц, 1H), 5,11 (с, 1H), 4,82 (с, 1H), 4,55 (д,  $J=5,6$  Гц, 2H), 4,01 (с, 1H), 3,86 (с, 3H), 3,37 (д,  $J=13,7$  Гц, 1H), 3,21 (с, 1H), 2,89 (дд,  $J=14,5, 7,0$  Гц, 1H), 1,41 (с, 9H).



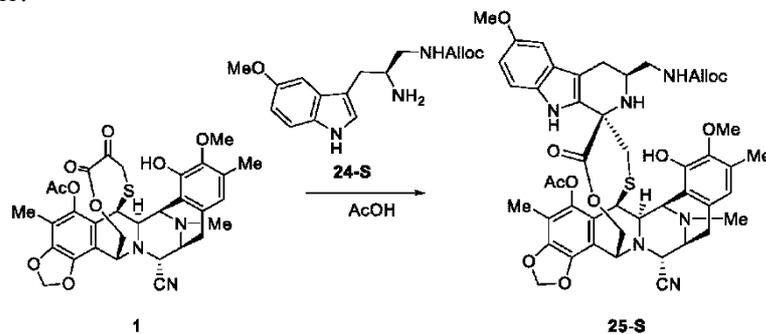
К раствору 23-S (2,60 г, 6,44 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (106 мл, 16,6 мл/ммоль) добавляют трифторуксусную кислоту (54 мл, 8,3 мл/ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 1,5 ч, концентрируют под вакуумом с получением 24-S (3,9 г, 100%).

$R_f=0,1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8,27 (с, 1H), 7,25 (дд,  $J=9,0, 2,4$  Гц, 1H), 7,10 (с, 1H), 6,96 (д,  $J=2,3$  Гц, 1H), 6,87 (дд,  $J=9,0, 2,4$  Гц, 1H), 5,81 (ддт,  $J=16,3, 10,9, 5,7$  Гц, 1H), 5,23 (дд,  $J=19,3, 13,6$  Гц, 2H), 4,49 (д,  $J=5,9$  Гц, 2H), 3,82 (с, 3H), 3,81-3,55 (м, 1H), 3,62-3,39 (м, 2H), 3,08 (квд,  $J=15,1, 7,3$  Гц, 2H).

Пример 0-11г.

A)

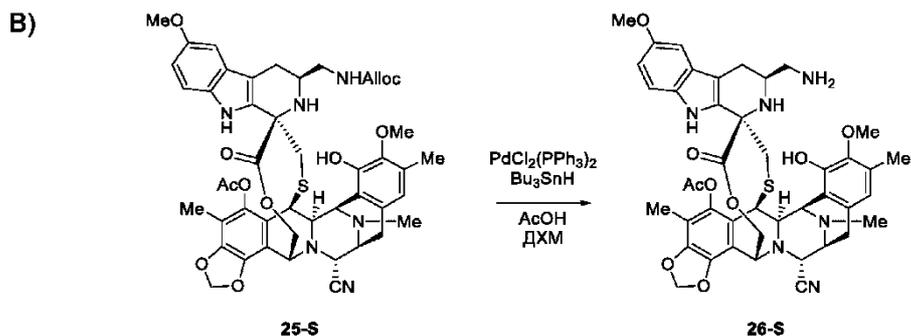


К раствору 1 (120 мг, 0,19 ммоль) в уксусной кислоте (6 мл, 0,08 М) добавляют 24-S (117 мг, 0,35 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 18 ч и затем уксусную кислоту выпаривают. Водный насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  добавляют и смесь экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, 1:1) дает соединение 25-S (95 мг, 54%).

$R_f=0,4$  (гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,64 (с, 1H), 7,14 (д,  $J=8,8$  Гц, 1H), 6,80 (с, 1H), 6,77 (д,  $J=8,8$  Гц, 1H), 6,68 (с, 1H), 6,24 (с, 1H), 6,03 (с, 1H), 6,02-5,93 (м, 1H), 5,76 (с, 1H), 5,38 (д,  $J=10,5$  Гц, 1H), 5,26 (д,  $J=10,5$  Гц, 1H), 5,11 (д,  $J=11,7$  Гц, 1H), 4,66 (д,  $J=5,6$  Гц, 2H), 4,57 (с, 1H), 4,37 (с, 1H), 4,33-4,19 (м, 3H), 3,82 (с, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,46 (с, 2H), 3,17 (с, 1H), 3,10-2,90 (м, 3H), 2,68-2,45 (м, 2H), 2,38-2,33 (м, 1H), 2,32 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,16 (с, 3H), 2,04 (с, 2H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 907,1 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

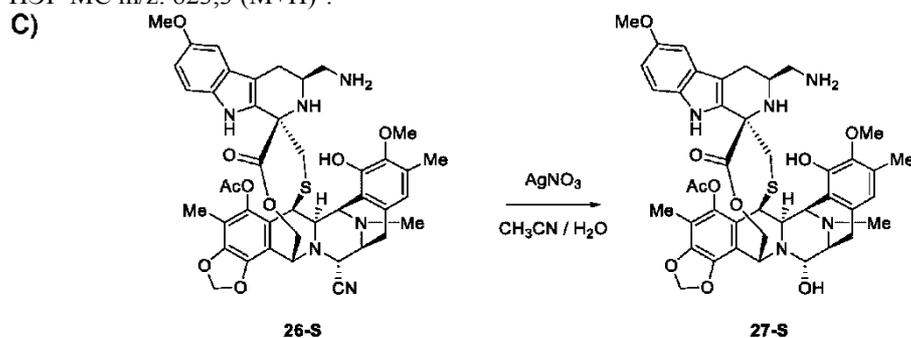


К раствору 25-S (90 мг, 0,1 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 мл, 18 мл/ммоль) добавляют дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (12 мг, 0,1 ммоль) и уксусную кислоту (0,056 мл, 0,99 ммоль). Гидрид трибутилолова (0,16 мл, 0,60 ммоль) добавляют при  $0^\circ\text{C}$ , реакционную смесь перемешивают при  $0^\circ\text{C}$  в течение 0,5 ч и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, от 100:1 до 1:100 и EtOAc: $\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 1:100) с получением 26-S (75 мг, 92%).

$R_f=0,25$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,62 (с, 1H), 7,15 (д,  $J=9,3$  Гц, 1H), 6,81-6,76 (м, 2H), 6,72 (с, 1H), 6,25 (д,  $J=1,2$  Гц, 1H), 6,03 (д,  $J=1,2$  Гц, 1H), 5,12 (д,  $J=11,7$  Гц, 1H), 4,57 (с, 1H), 4,41 (с, 1H), 4,36-4,24 (м, 2H), 4,20 (д,  $J=11,7$  Гц, 1H), 3,82 (с, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,44 (дд,  $J=22,0$ , 7,1 Гц, 2H), 3,08-2,78 (м, 4H), 2,73-2,64 (м, 2H), 2,41-2,22 (м, 3H), 2,28 (с, 3H), 2,25-2,15 (м, 1H), 2,14 (с, 3H), 2,08 (с, 3H), 2,04 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 823,3 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .



К раствору 26-S (70 мг, 0,085 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 6 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (335 мг, 1,7 ммоль). Через 18 ч при  $23^\circ\text{C}$ , реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением 27-S (23 мг, 33%).

$R_f=0,2$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

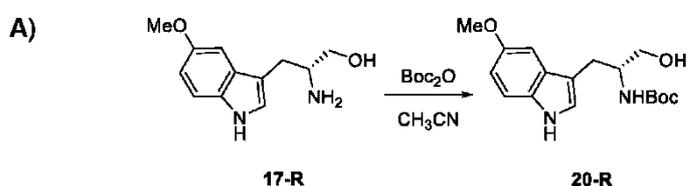
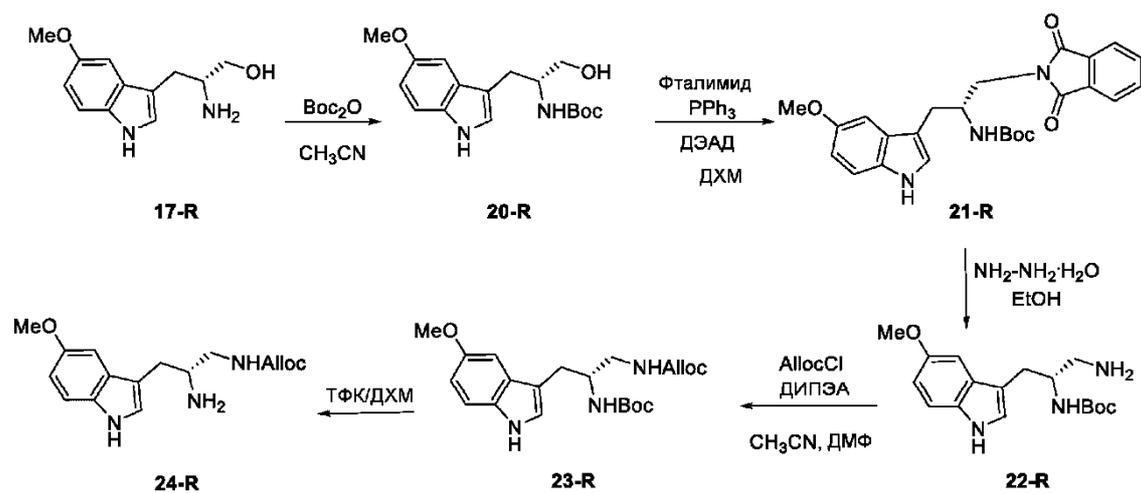
$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,62 (с, 1H), 7,15 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 6,78 (с, 1H), 6,75 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 6,21 (д,  $J=1,5$  Гц, 1H), 6,01 (д,  $J=1,5$  Гц, 1H), 5,78 (с, 1H), 5,22 (д,  $J=11,5$  Гц, 1H), 4,90 (с, 1H), 4,58-4,42 (м, 3H), 4,29-4,10 (м, 2H), 3,84-3,80 (м, 1H), 3,83 (с, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,53-3,48 (м, 2H), 3,22 (д,  $J=8,7$  Гц, 1H), 3,12 (с, 1H), 3,02 (д,  $J=12,8$  Гц, 1H), 2,89-2,64 (м, 3H), 2,46 (с, 3H), 2,42-2,34 (м, 2H), 2,27 (с, 3H), 2,12 (с, 3H), 2,03 (с, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172,1, 168,7, 154,0, 147,6, 145,6, 143,0, 141,2, 140,8, 131,6, 130,6, 129,6, 127,1, 121,8, 120,9, 118,4, 115,2, 112,5, 111,8, 101,8, 100,2, 81,5, 62,6, 60,6, 58,0, 57,8, 56,0, 55,8, 55,0, 42,3, 41,4, 31,9, 29,7, 27,8, 26,9, 25,6, 24,0, 22,7, 20,5, 16,0, 14,1, 13,6, 9,7.

ИЭР-МС  $m/z$ : 796,3 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$ : 796,3062 [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ] $^+$  (Рассч. для  $\text{C}_{42}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}$  796,3011).

Пример 0-12. Синтез аллил N-[(R)-2-амино-3-(5-метокси-1H-индол-3-ил)пропил]карбамата (24-R)

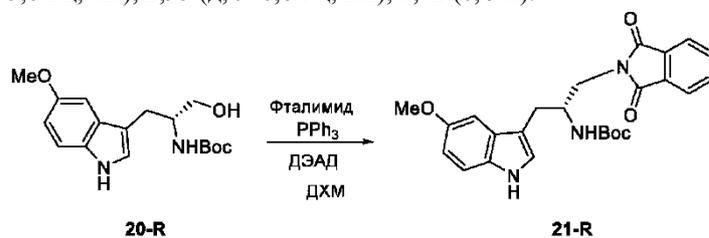


К раствору 17-R (2,35 г, 10,7 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (43 мл, 4 мл/ммоль) добавляют ди-трет-бутилдикарбонат (4,67 г, 21,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $23^\circ\text{C}$  в течение 2,5 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) дает 20-R (1,7 г, 50%).

$R_f=0,6$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,05 (с, 1H), 7,25 (д,  $J=8,9$  Гц, 1H), 7,09 (д,  $J=2,4$  Гц, 1H), 7,02 (д,  $J=2,4$  Гц, 1H), 6,86 (дд,  $J=8,8, 2,4$  Гц, 1H), 4,83 (с, 1H), 3,98 (с, 1H), 3,87 (с, 3H), 3,69 (тд,  $J=9,2, 7,5, 5,3$  Гц, 1H), 3,61 (дд,  $J=10,9, 5,6$  Гц, 1H), 2,95 (д,  $J=6,8$  Гц, 2H), 1,42 (с, 9H).

**B)**

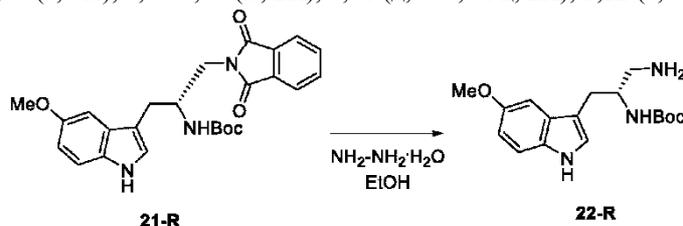


К раствору 20-R (1,7 г, 5,3 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (32 мл, 6 мл/ммоль) добавляют фталиимид (1,72 г, 11,7 ммоль), трифенилфосфин (3,06 г, 11,7 ммоль) и смесь охлаждают при  $0^\circ\text{C}$ . Раствор 40% диэтилазодикарбоксилата (ДЭАД) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4,0 мл, 13,2 ммоль) добавляют в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивают при  $23^\circ\text{C}$  в течение 16 ч, концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (гексан:EtOAc, от 99:1 до 85:15) с получением 21-R (2,0 г, 84%).

$R_f=0,45$  (гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,31 (с, 1H), 7,80 (дд,  $J=5,4, 3,0$  Гц, 2H), 7,67 (дд,  $J=5,4, 3,0$  Гц, 2H), 7,30-7,12 (м, 2H), 7,08 (дд,  $J=15,2, 2,4$  Гц, 1H), 6,84 (дд,  $J=8,8, 2,4$  Гц, 1H), 4,85 (д,  $J=9,2$  Гц, 1H), 4,43 (кв,  $J=5,3$  Гц, 1H), 3,86 (с, 3H), 3,83-3,68 (м, 2H), 3,01 (д,  $J=5,4$  Гц, 2H), 1,22 (с, 9H).

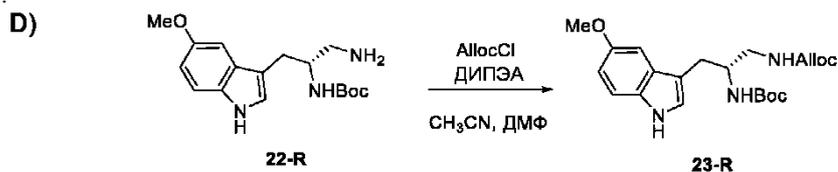
**C)**



К раствору 21-R (2,0 г, 4,45 ммоль) в этаноле (133 мл, 30 мл/ммоль) добавляют моногидрат гидразина (21,6 мл, 445 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $80^\circ\text{C}$  в герметично закрытой пробирке в течение 2 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 50:50) с получением 22-R (1,15 г, 81%).

$R_f=0,1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 8:2).

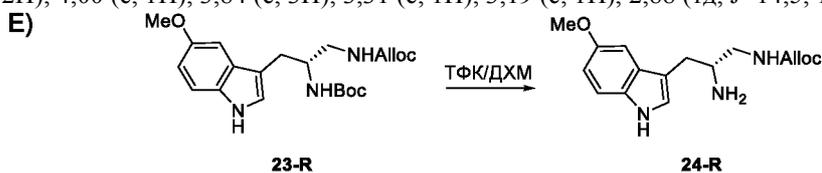
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,21 (д, J=8,8 Гц, 1H), 7,12 (с, 1H), 7,05 (с, 1H), 6,75 (дд, J=8,8, 2,4 Гц, 1H), 3,95 (ддд, J=10,7, 8,7, 5,4 Гц, 1H), 3,82 (с, 3H), 2,98-2,79 (м, 3H), 2,75 (дд, J=13,1, 9,4 Гц, 1H), 1,37 (с, 9H).



К раствору 22-R (1,1 г, 3,4 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN (34 мл, 10 мл/ммоль) и ДМФ (3,4 мл, 1 мл/ммоль) добавляют N,N-диизопропилэтиламин (0,5 мл, 2,7 ммоль) и аллилхлорформиат (3,7 мл, 34 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 19 ч. Смесь разбавляют EtOAc и NH<sub>4</sub>Cl добавляют и смесь экстрагируют EtOAc. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (гексан:EtOAc, от 100:1 до 1:100) с получением 23-R (0,95 г, 69%).

R<sub>f</sub>=0,5 (гексан:EtOAc, 1:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,55 (с, 1H), 7,20 (д, J=8,8 Гц, 1H), 7,05 (с, 1H), 6,98-6,87 (м, 1H), 6,82 (дт, J=8,8, 1,8 Гц, 1H), 5,96-5,81 (м, 1H), 5,37-5,22 (м, 2H), 5,22-5,14 (м, 1H), 5,02-4,97 (м, 1H), 4,60-4,47 (м, 2H), 4,00 (с, 1H), 3,84 (с, 3H), 3,31 (с, 1H), 3,19 (с, 1H), 2,88 (тд, J=14,5, 13,3, 5,9 Гц, 2H), 1,40 (с, 9H).

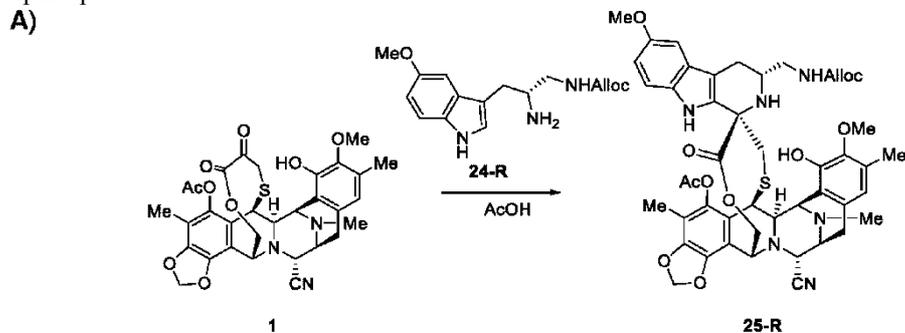


К раствору 23-R (0,94 г, 2,3 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (39 мл, 16,6 мл/ммоль) добавляют трифторуксусную кислоту (19 мл, 8,3 мл/ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 1,5 ч, концентрируют под вакуумом с получением 24-R (0,72 г, 100%).

R<sub>f</sub>=0,1 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 9:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,27 (д, J=8,8, 1H), 7,18 (с, 1H), 7,04 (д, J=2,4 Гц, 1H), 6,80 (ддд, J=8,8, 2,4, 0,9 Гц, 1H), 5,95 (ддт, J=16,4, 10,8, 5,5 Гц, 1H), 5,32 (д, J=17,1 Гц, 1H), 5,20 (д, J=10,5 Гц, 1H), 4,60-4,53 (м, 2H), 3,83 (с, 3H), 3,59 (дт, J=11,4, 5,5 Гц, 1H), 3,47-3,30 (м, 2H), 3,13-2,94 (м, 2H).

Пример 0-13.

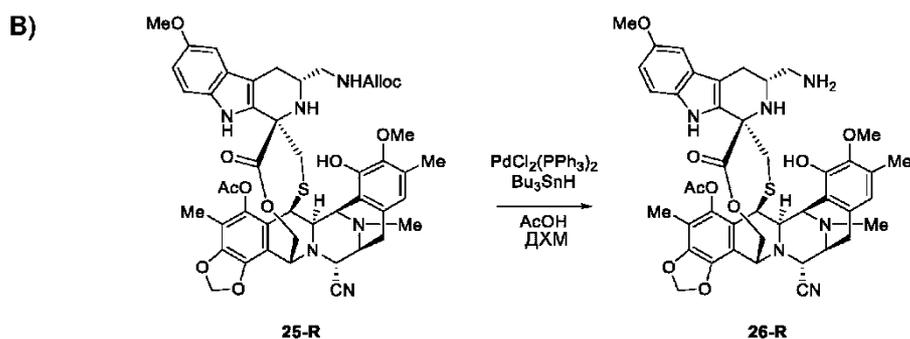


К раствору 1 (0,71 г, 1,14 ммоль) в уксусной кислоте (45 мл, 0,08 М) добавляют 24-R (0,54 мг, 1,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 7 ч и затем уксусную кислоту выпаривают. Водный насыщенный раствор NaHCO<sub>3</sub> добавляют и смесь экстрагируют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, 1:1) дает соединение 25-R (670 мг, 65%).

R<sub>f</sub>=0,4 (гексан: EtOAc, 1:1).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,52 (с, 1H), 7,17 (д, J=8,8 Гц, 1H), 6,83-6,73 (м, 2H), 6,61 (с, 1H), 6,23 (д, J=1,0 Гц, 1H), 6,02 (д, J=1,0 Гц, 1H), 6,05-5,89 (м, 1H), 5,75 (с, 1H), 5,44-5,30 (м, 1H), 5,25 (д, J=10,4 Гц, 1H), 5,13-4,99 (м, 2H), 4,71-4,59 (м, 2H), 4,36 (с, 1H), 4,30-4,07 (м, 3H), 3,80 (с, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,61-3,53 (м, 1H); 3,48-3,41 (м, 3H), 3,26 (дт, J=13,3, 3,8 Гц, 1H), 3,04-2,88 (м, 2H), 2,52 (дд, J=14,9, 3,7 Гц, 1H), 2,46-2,35 (м, 2H), 2,31 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 2,16 (с, 3H), 2,12-2,02 (м, 1H), 2,09 (с, 3H).

ИЭР-МС m/z: 907,3 (M+H)<sup>+</sup>.

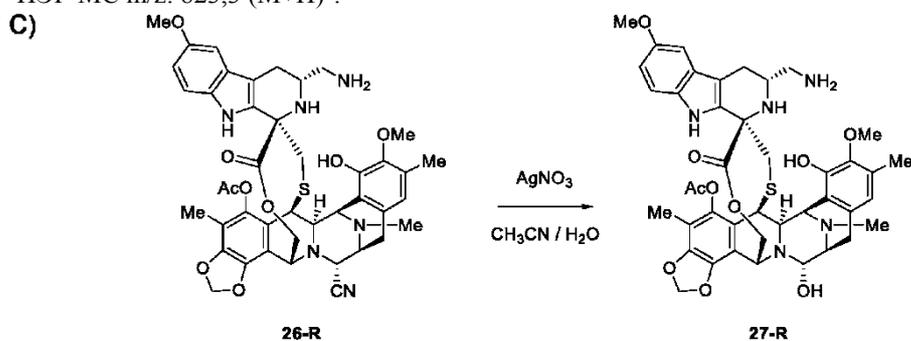


К раствору 25-R (745 мг, 0,82 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 мл, 18 мл/ммоль) добавляют дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (92 мг, 0,1 ммоль) и уксусную кислоту (0,47 мл, 8,2 ммоль). Гидрид трибутилолова (1,33 мл, 4,9 ммоль) добавляют при  $0^\circ\text{C}$ , реакционную смесь перемешивают при  $0^\circ\text{C}$  в течение 0,75 ч и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, от 100:1 до 1:100 и EtOAc: $\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 1:100) с получением 26-R (680 мг, >100%).

$R_f=0,25$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,57 (с, 1H), 7,16 (д,  $J=8,8$  Гц, 1H), 6,85-6,72 (м, 2H), 6,57 (с, 1H), 6,21 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,00 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 5,05-4,97 (м, 1H), 4,63 (с, 1H), 4,35 (с, 1H), 4,31-4,09 (м, 4H), 3,80 (с, 3H), 3,78 (с, 3H), 3,50-3,40 (м, 3H), 3,24 (дкв,  $J=9,9$ , 5,3 Гц, 1H), 2,95 (с, 1H), 2,91-2,75 (м, 2H), 2,62 (дд,  $J=14,8$ , 3,6 Гц, 1H), 2,43-2,28 (м, 2H), 2,36 (с, 3H), 2,25 (с, 3H), 2,22-2,14 (м, 1H), 2,15 (с, 3H), 2,08 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 823,3 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .



К раствору 26-R (660 мг, 0,80 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 56 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (2,70 г, 16,0 ммоль). Через 16,5 ч при  $23^\circ\text{C}$ , реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением 27-R (271 мг, 42%).

$R_f=0,1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,46 (с, 1H), 7,16 (д,  $J=8,9$  Гц, 1H), 6,83 (с, 1H), 6,72 (д,  $J=8,9$  Гц, 1H), 6,58 (с, 1H), 6,20 (д,  $J=1,8$  Гц, 1H), 5,99 (д,  $J=1,8$  Гц, 1H), 5,76 (с, 1H), 5,15 (д,  $J=11,4$  Гц, 1H), 4,86 (с, 1H), 4,52 (м, 2H), 4,17 (д,  $J=5,3$  Гц, 1H), 4,07 (д,  $J=11,4$  Гц, 1H), 3,80 (с, 3H), 3,78 (с, 3H), 3,55-3,43 (м, 2H), 3,32-3,20 (м, 2H), 3,01-2,82 (м, 4H), 2,68-2,59 (м, 1H), 2,44-2,31 (м, 1H), 2,38 (с, 3H), 2,30-2,19 (м, 1H), 2,26 (с, 3H), 2,15 (с, 3H), 2,07 (с, 3H).

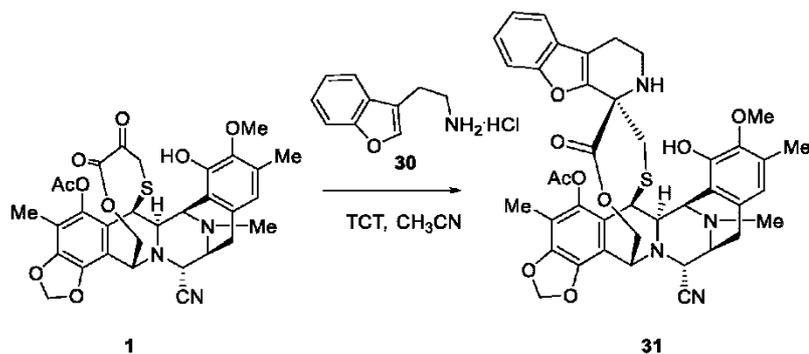
$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  171,7, 171,3, 153,8, 153,3, 148,0, 147,6, 145,4, 145,4, 143,1, 141,3, 140,7, 131,6, 131,4, 131,2, 129,3, 126,8, 121,6, 120,9, 118,3, 115,6, 112,2, 111,8, 101,8, 100,2, 81,7, 63,5, 63,1, 61,7, 58,0, 57,8, 56,1, 55,8, 55,0, 42,2, 42,1, 41,4, 41,0, 25,1, 23,8, 20,5, 16,0, 9,7.

ИЭР-МС  $m/z$ : 796,3 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$ : 796,3045 [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ] $^+$  (рассч. для  $\text{C}_{42}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}$  796,3011).

Пример 0-14.

А)



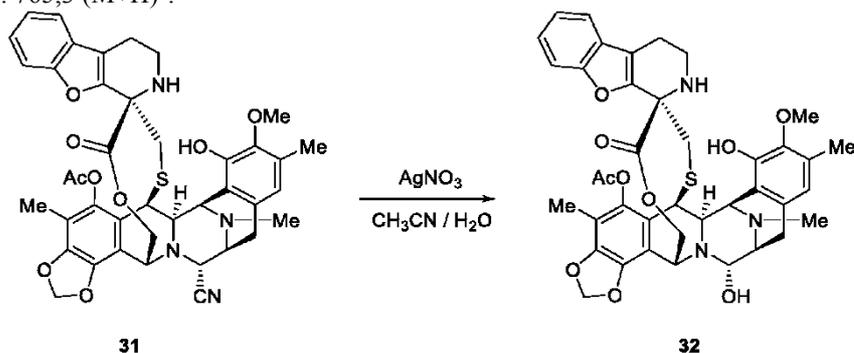
К раствору соединения 1 (2,0 г, 3,21 ммоль) в ацетонитриле (200 мл, 0,01 М) добавляют гидрохлорид 2-бензофуран-3-ил-этиламина (30) (1,90 г, 9,65 ммоль, Sigma Aldrich) и циануровый хлорид (ТСТ) (200 мг, 10%). Реакционную смесь перемешивают при 85°C в течение 24 ч и затем добавляют водный насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  и смесь экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, от 9:1 до 1:9) дает соединение 31 (1,95 г, 79%).

$R_f=0,5$  (гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,38-7,36 (м, 2H), 7,19-7,10 (м, 2H), 6,64 (с, 1H), 6,20 (д,  $J=1,5$  Гц, 1H), 6,05 (д,  $J=1,5$  Гц, 1H), 5,76 (с, 1H), 5,05 (д,  $J=11,7$  Гц, 1H), 4,54 (с, 1H), 4,33-4,24 (м, 2H), 4,23-4,16 (м, 2H), 3,81 (с, 3H), 3,49-3,38 (м, 2H), 3,28-3,21 (м, 1H), 3,06-2,78 (м, 5H), 2,57-2,50 (м, 2H), 2,37 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,21 (м, 3H), 2,08 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 765,3 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

В)



К раствору соединения 31 (380 мг, 0,49 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 25 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (1,30 г, 7,45 ммоль). Через 5 ч при 23°C, добавляют смесь 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением соединения 32 (175 мг, 47%).

$R_f=0,40$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,35 (ддд,  $J=10,7, 7,6, 1,1$  Гц, 2H), 7,14 (дтд,  $J=19,7, 7,3, 1,3$  Гц, 2H), 6,65 (с, 1H), 6,16 (д,  $J=1,5$  Гц, 1H), 6,01 (д,  $J=1,5$  Гц, 1H), 5,75 (с, 1H), 5,15 (дд,  $J=11,5, 1,2$  Гц, 1H), 4,80 (с, 1H), 4,48 (д,  $J=3,2$  Гц, 1H), 4,44 (с, 1H), 4,20-4,06 (м, 2H), 3,81 (с, 1H), 3,50 (д,  $J=18,8$  Гц, 1H), 3,30 (ддд,  $J=12,6, 7,9, 5,1$  Гц, 1H), 3,22 (д,  $J=9,1$  Гц, 1H), 2,99 (д,  $J=17,9$  Гц, 1H), 2,84 (дд,  $J=19,2, 12,0$  Гц, 3H), 2,59-2,49 (м, 2H), 2,36 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,21-2,14 (м, 1H), 2,18 (с, 3H), 2,06 (с, 3H).

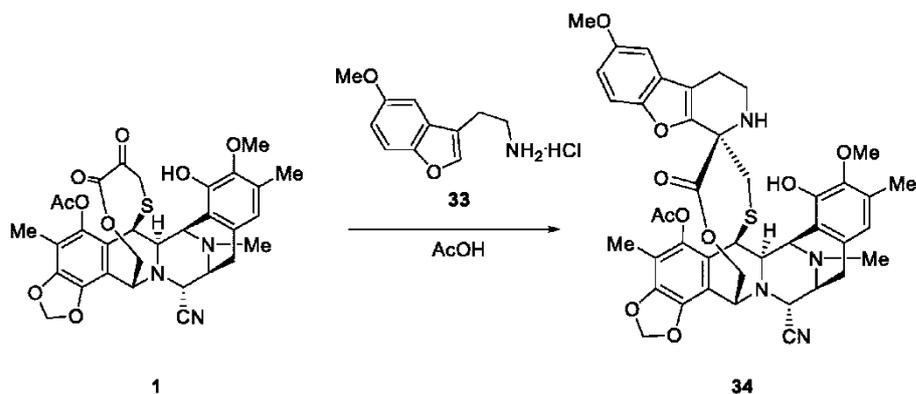
$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171,2, 168,7, 154,4, 150,0, 147,9, 145,5, 142,9, 140,9, 140,8, 131,3, 129,0, 127,7, 123,7, 122,2, 121,2, 120,8, 118,9, 118,3, 115,5, 113,5, 111,7, 101,7, 82,1, 62,7, 61,7, 60,3, 57,8, 57,4, 55,9, 55,0, 42,2, 41,3, 39,7, 38,2, 29,7, 23,7, 21,3, 20,6, 15,9, 9,7.

ИЭР-МС  $m/z$ : 738,6 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}^+$ ).

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$ : 756,2654 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ] (рассч. для  $\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$  756,2585).

Пример 0-15.

A)



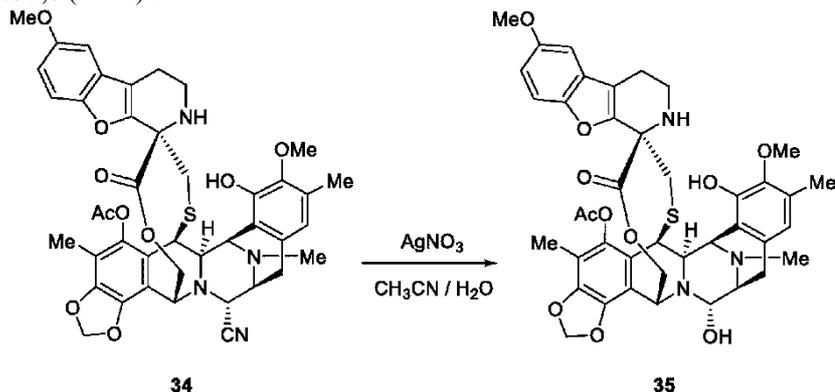
К раствору 1 (500 мг, 0,80 ммоль) в уксусной кислоте (10 мл, 0,08 М) добавляют гидрохлорид 2-(5-метоксибензофуран-3-ил)этиламина (33) (Diverchim, ref: DW04590) (444 мг, 1,60 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 50°C в течение 6 дней и затем уксусную кислоту выпаривают. Водный насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  добавляют и смесь экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, 1:1) дает 34 (270 мг, 43%).

$R_f=0,3$  (гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,25 (д,  $J=9,1$  Гц, 1H), 6,80-6,73 (м, 2H), 6,63 (с, 1H), 6,18 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,03 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 5,78 (с, 1H), 5,03 (дд,  $J=11,5, 1,3$  Гц, 1H), 4,52 (с, 1H), 4,29 (с, 1H), 4,26 (дд,  $J=4,7, 1,5$  Гц, 1H), 4,23-4,16 (м, 2H), 3,80 (с, 3H), 3,78 (с, 3H), 3,46-3,43 (м, 1H), 3,43-3,37 (м, 1H), 3,24 (с, 1H), 3,03 (д,  $J=18,0$  Гц, 1H), 2,91 (дд,  $J=17,9, 9,2$  Гц, 1H), 2,87-2,72 (м, 2H), 2,53-2,47 (м, 2H), 2,36 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,20 (с, 3H), 2,06 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 795,8 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

B)



К раствору 34 (345 мг, 0,43 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 30 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (2,20 г, 13,0 ммоль). Через 3 ч при 23°C, смесь 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$  добавляют, перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением 35 (175 мг, 51%).

$R_f=0,35$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

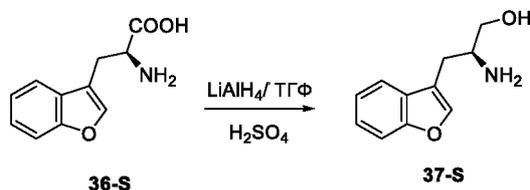
$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,27 (д,  $J=9,0$  Гц, 1H), 6,90 (д,  $J=2,6$  Гц, 1H), 6,80 (дд,  $J=9,0, 2,6$  Гц, 1H), 6,57 (с, 1H), 6,23 (д,  $J=1,2$  Гц, 1H), 6,05 (д,  $J=1,2$  Гц, 1H), 5,23 (д,  $J=11,5$  Гц, 1H), 4,27-4,08 (м, 4H), 3,77 (с, 3H), 3,75 (с, 3H), 3,63 (д,  $J=14,1$  Гц, 2H), 3,40-3,34 (м, 2H), 2,93-2,87 (м, 5H), 2,80 (д,  $J=15,5$  Гц, 1H), 2,57-2,54 (м, 2H), 2,34 (с, 3H), 2,30 (с, 3H), 2,14 (с, 3H), 2,05 (с, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  171,9, 170,6, 157,5, 147,0, 145,0, 142,3, 141,0, 132,2, 131,1, 129,1, 122,2, 120,9, 120,2, 116,3, 115,1, 114,0, 112,7, 111,4, 103,5, 102,7, 92,9, 62,0, 60,3, 59,8, 59,4, 56,5, 56,2, 56,0, 54,0, 43,8, 41,2, 40,7, 30,8, 30,3, 28,7, 24,5, 21,6, 20,6, 16,2, 9,6.

ИЭР-МС  $m/z$ : 768,6 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$ : 768,2630 [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ] $^+$  (рассч. для  $\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$  768,2585).

Пример 0-16.

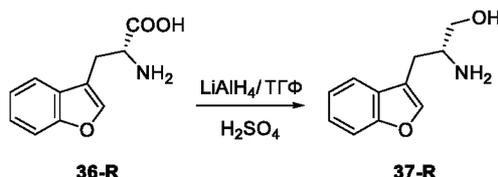


К раствору  $\text{LiAlH}_4$  (148 мл, 1,0 М в ТГФ, 148 ммоль) при  $-40^\circ\text{C}$  осторожно добавляют  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (7,14 мл, 72,9 ммоль) и суспензию (S)-2-амино-3-(бензофуран-3-ил)пропановой кислоты (36-S) (получена как описано в *Tetrahedron Asymmetry* 2008, 19, 500-511) (5,54 г, 26,9 ммоль) в ТГФ (85 мл, 0,003 М). Реакционную смесь оставляют выделять газ  $23^\circ\text{C}$ , нагревают при  $80^\circ\text{C}$  в течение 3 ч и 18 ч при  $23^\circ\text{C}$ . Охлаждают при  $-21^\circ\text{C}$  реакционную смесь осторожно гасят  $\text{NaOH}$  2N до щелочного pH.  $\text{EtOAc}$  добавляют и смесь фильтруют через Celite® и промывают  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Неочищенный продукт концентрируют под вакуумом с получением соединения 37-S (3,93 г, >100%).

$R_f=0,1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 4:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,67-7,62 (м, 1H), 7,61 (с, 1H), 7,51-7,41 (м, 1H), 7,34-7,18 (м, 2H), 3,69-3,48 (м, 1H), 3,44 (дд,  $J=10,8, 6,6$  Гц, 1H), 3,18 (дтд,  $J=7,4, 6,4, 4,6$  Гц, 1H), 2,88 (ддд,  $J=14,4, 6,1, 1,0$  Гц, 1H), 2,68 (ддд,  $J=14,4, 7,5, 0,9$  Гц, 1H).

Пример 0-17.



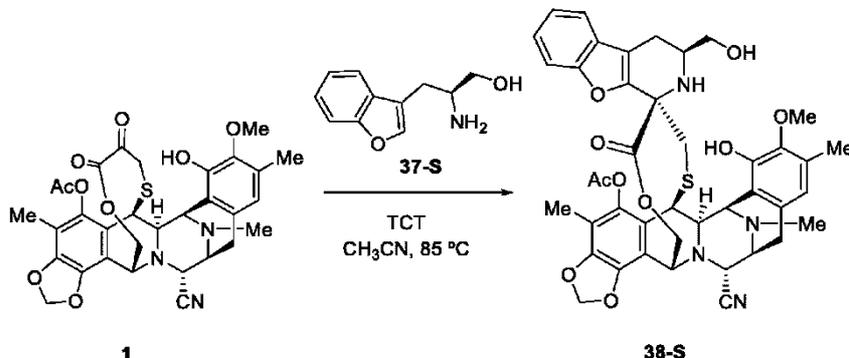
К раствору  $\text{LiAlH}_4$  (118 мл, 1,0 М в ТГФ, 118 ммоль) при  $-40^\circ\text{C}$  добавляют осторожно  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (3,1 мл, 57,8 ммоль) и суспензию (R)-2-амино-3-(бензофуран-3-ил)пропановой кислоты (36-R) (полученную как описано в *Tetrahedron Asymmetry* 2008, 19, 500-511) (4,4 г, 21,4 ммоль) в ТГФ (67,4 мл, 0,003 М). Реакционную смесь оставляют выделять газ  $23^\circ\text{C}$ , нагревают при  $80^\circ\text{C}$  в течение 3 ч и 18 ч при  $23^\circ\text{C}$ . Охлаждают при  $-21^\circ\text{C}$  реакционную смесь осторожно гасят  $\text{NaOH}$  2N до щелочного pH.  $\text{EtOAc}$  добавляют и смесь фильтруют через Celite® и промывают  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Неочищенный продукт концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15, кремнезем амин) с получением соединения 37-R (2,77 г, 68%).

$R_f=0,1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 4:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,63-7,52 (м, 1H), 7,56 (с, 1H), 7,46-7,33 (м, 1H), 7,21 (дтд,  $J=19,9, 7,3, 1,3$  Гц, 2H), 3,57 (дд,  $J=10,7, 4,6$  Гц, 1H), 3,42 (дд,  $J=10,8, 6,6$  Гц, 1H), 3,15 (дтд,  $J=7,6, 6,3, 4,6$  Гц, 1H), 2,84 (ддд,  $J=14,4, 6,0, 1,0$  Гц, 1H), 2,64 (ддд,  $J=14,4, 7,5, 0,9$  Гц, 1H).

Пример 0-18.

**A)**

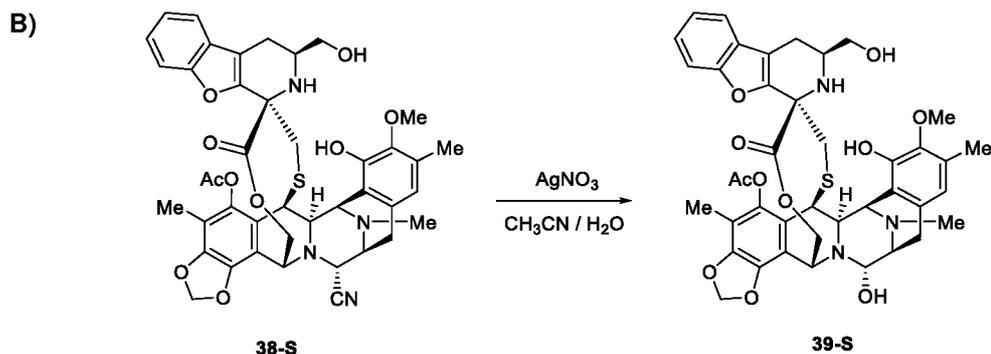


К раствору соединения 1 (850 мг, 1,36 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (136 мл, 0,01 М) добавляют (S)-2-амино-3-(бензофуран-3-ил)пропан-1-ол (37-S) (1,30 г, 6,83 ммоль) и циануровый хлорид (ТСТ) (170 мг, 20%). Реакционную смесь перемешивают при  $85^\circ\text{C}$  в течение 24 ч и затем добавляют водный насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  и смесь экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан: $\text{EtOAc}$ , от 9:1 до 1:9) дает соединение 38-S (750 мг, 69%).

$R_f=0,25$  (гексан: $\text{EtOAc}$ , 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,39-7,33 (м, 1H), 7,33-7,29 (м, 1H), 7,20 (ддд,  $J=8,3, 7,2, 1,4$  Гц, 1H), 7,14 (тд,  $J=7,4, 1,0$  Гц, 1H), 6,61 (с, 1H), 6,21 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,06 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 5,74 (с, 1H), 5,08 (д,  $J=11,2$  Гц, 1H), 4,58 (с, 1H), 4,37 (с, 1H), 4,32-4,23 (м, 2H), 4,19 (д,  $J=2,7$  Гц, 1H), 3,81 (с, 3H), 3,52-3,41 (м, 3H), 3,36-3,29 (м, 1H), 3,13 (д,  $J=9,8$  Гц, 1H), 3,00-2,81 (м, 3H), 2,57 (дд,  $J=15,7, 4,9$  Гц, 1H), 2,50 (д,  $J=15,2$  Гц, 1H), 2,37 (с, 3H), 2,31-2,25 (м, 1H), 2,29 (с, 3H), 2,16 (с, 3H), 2,10 (д,  $J=7,2$  Гц, 1H), 2,05 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 795,2 ( $\text{M}^+$ ).



К раствору соединения 38-S (890 мг, 1,12 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 75 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (4,70 г, 28,0 ммоль). Через 18 ч при 23°C, добавляют смесь 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением соединения 39-S (500 мг, 57%).

$R_f=0,30$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,38-7,33 (м, 1H), 7,33-7,28 (м, 1H), 7,23-7,16 (м, 1H), 7,16-7,09 (м, 1H), 6,62 (с, 1H), 6,18 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,03 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 5,71 (с, 1H), 5,19 (д,  $J=11,2$  Гц, 1H), 4,85 (с, 1H), 4,49 (с, 2H), 4,24-4,10 (м, 3H), 3,81 (с, 3H), 3,54 (д,  $J=4,9$  Гц, 1H), 3,49 (д,  $J=2,3$  Гц, 3H), 3,33 (т,  $J=10,1$  Гц, 2H), 3,22 (с, 1H), 2,98 (с, 1H), 2,84 (д,  $J=7,6$  Гц, 2H), 2,62-2,53 (м, 2H), 2,37 (с, 3H), 2,30-2,24 (м, 1H), 2,28 (с, 3H), 2,14 (с, 3H), 2,04 (с, 3H).

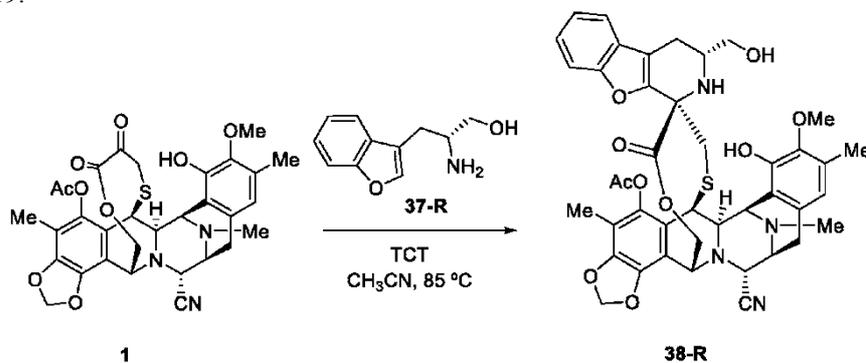
$^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172,0, 170,7, 156,1, 150,6, 149,9, 147,1, 145,0, 142,4, 142,2, 132,0, 131,4, 128,7, 125,5, 123,8, 122,6, 121,6, 120,1, 116,5, 114,4, 112,3, 103,5, 92,6, 66,0, 65,1, 62,2, 60,4, 59,7, 56,6, 56,1, 54,8, 54,1, 51,6, 44,0, 41,3, 38,3, 30,8, 24,8, 20,6, 16,3, 9,6.

ИЭР-МС  $m/z$ : 768,2 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$ : 768,2652 [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ] $^+$  (рассч. для  $\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$  768,2585)

Пример 0-19.

**A)**

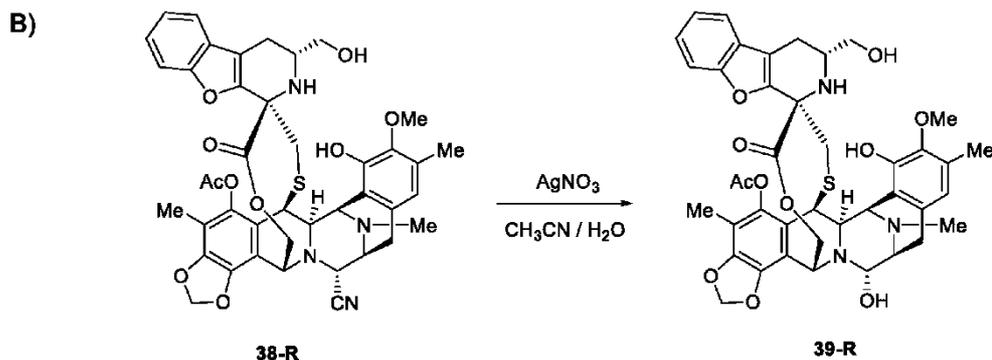


К раствору соединения 1 (100 мг, 0,16 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (16 мл, 0,01 М) добавляют (R)-2-амино-3-(бензофуран-3-ил)пропан-1-ол (37-R) (307 мг, 1,6 ммоль) и циануровый хлорид (ТСТ) (40 мг, 40%). Реакционную смесь перемешивают при 85°C в течение 44 ч и затем добавляют водный насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  и смесь экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, от 9:1 до 1:9) дает соединение 38-R (95 мг, 75%).

$R_f=0,3$  (гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,42-7,27 (м, 2H), 7,28-7,09 (м, 2H), 6,58 (с, 1H), 6,20 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,05 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 5,79 (с, 1H), 5,00 (д,  $J=11,4$  Гц, 1H), 4,59 (с, 1H), 4,34 (с, 1H), 4,31-4,16 (м, 4H), 3,80 (с, 3H), 3,79-3,76 (м, 1H), 3,63 (с, 1H), 3,54-3,40 (м, 4H), 2,99-2,87 (м, 2H), 2,68 (д,  $J=15,0$  Гц, 1H), 2,56-2,47 (м, 1H), 2,38 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,17 (с, 3H), 2,07 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 795,2 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .



К раствору соединения 38-R (95 мг, 0,11 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 11 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (601 мг, 3,58 ммоль). Через 18 ч при 23°C, добавляют смесь 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением соединения 39-R (66 мг, 70%).

$R_f=0,3$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

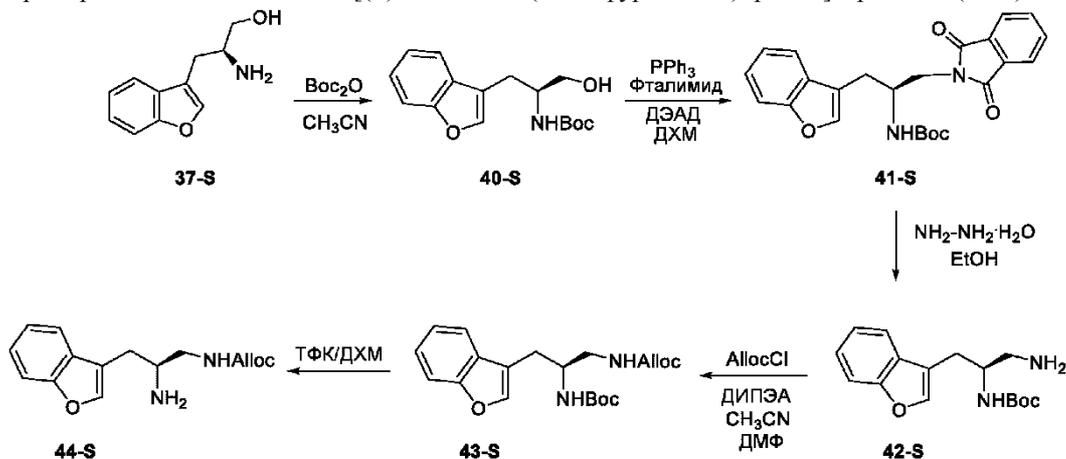
$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,39-7,31 (м, 2H), 7,23-7,07 (м, 2H), 6,59 (с, 1H), 6,17 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,01 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 5,75 (с, 1H), 5,12 (дд,  $J=11,3, 1,2$  Гц, 1H), 4,84 (с, 1H), 4,56-4,43 (м, 2H), 4,19-4,07 (м, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,83-3,74 (м, 1H), 3,66-3,51 (м, 3H), 3,24 (с, 1H), 2,99-2,79 (м, 2H), 2,75-2,64 (м, 1H), 2,59-2,43 (м, 2H), 2,38 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,16 (с, 3H), 2,07 (с, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  170,5, 169,1, 154,9, 148,9, 148,5, 145,7, 143,6, 141,1, 140,8, 130,6, 129,9, 127,1, 124,1, 122,4, 122,4, 121,2, 120,3, 118,7, 118,2, 115,1, 113,6, 110,9, 102,1, 91,1, 65,0, 63,3, 60,2, 59,0, 58,4, 55,4, 54,5, 52,7, 52,3, 42,5, 38,7, 29,4, 23,5, 23,2, 19,1, 14,8, 8,3.

ИЭР-МС  $m/z$ : 768,2 ( $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ ).

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$ : 767,2628 [ $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ ] (рассч. для  $\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$  768,2585).

Пример 0-20. Синтез аллил-N-[(S)-2-амино-3-(бензофуран-3-ил)пропил]карбамата (44-S).

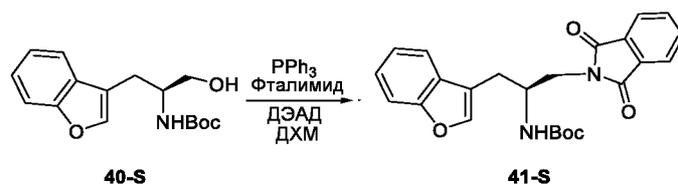


К раствору соединения 37-S (1,0 г, 5,22 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (21 мл, 4 мл/ммоль) добавляют ди-трет-бутил дикарбонат (2,28 г, 10,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 2 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением соединения 40-S (0,5 г, 33%).

$R_f=0,7$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,64 (д,  $J=7,6$  Гц, 1H), 7,49 (с, 1H), 7,46 (д,  $J=7,6$  Гц, 1H), 7,36-7,19 (м, 2H), 4,94 (с, 1H), 3,98 (с, 1H), 3,71-3,56 (м, 2H), 2,93 (д,  $J=6,9$  Гц, 2H), 1,41 (с, 9H).

B)

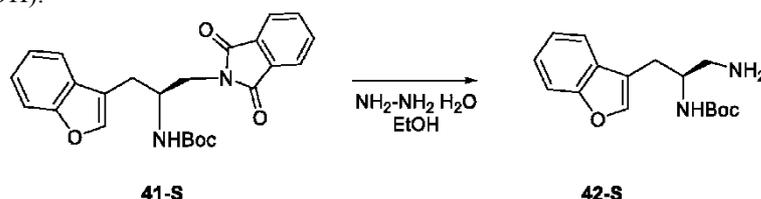


К раствору соединения 40-S (0,5 г, 1,71 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (11 мл, 6 мл/ммоль) добавляют фталиимид (0,55 г, 3,77 ммоль), трифенилфосфин (0,99 г, 3,77 ммоль) и смесь охлаждают при  $0^\circ\text{C}$ . Раствор 40% диэтилазодикарбоксилата (ДЭАД) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1,26 мл, 4,29 ммоль) добавляют в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивают при  $23^\circ\text{C}$  в течение 18 ч, концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (гексан:EtOAc, от 99:1 до 40:60) с получением соединения 41-S (0,68 г, 94%).

$R_f=0,8$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,89-7,79 (м, 2H), 7,83-7,62 (м, 2H), 7,65-7,55 (м, 2H), 7,49-7,42 (м, 1H), 7,33-7,20 (м, 2H), 4,83 (д,  $J=9,0$  Гц, 1H), 4,39 (ддт,  $J=12,1, 6,3, 2,9$  Гц, 1H), 3,88-3,70 (м, 2H), 2,96 (д,  $J=6,4$  Гц, 2H), 1,24 (с, 9H).

C)

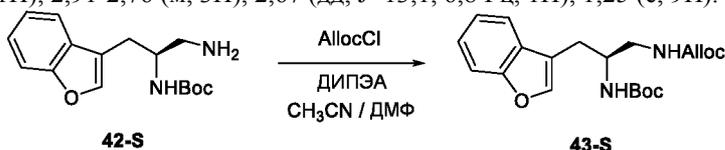


К раствору соединения 41-S (345 мг, 0,82 ммоль) в этаноле (25 мл, 30 мл/ммоль) добавляют моногидрат гидразина (3,6 мл, 73,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $80^\circ\text{C}$  в герметично закрытой пробирке в течение 2 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 50:50) с получением соединения 42-S (233 мг, 98%).

$R_f=0,1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 8:2).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,62 (д,  $J=7,5$  Гц, 1H), 7,49-7,42 (м, 2H), 7,33-7,18 (м, 2H), 4,85 (д,  $J=8,8$  Гц, 1H), 3,91 (с, 1H), 2,91-2,76 (м, 3H), 2,67 (дд,  $J=13,1, 6,8$  Гц, 1H), 1,25 (с, 9H).

D)

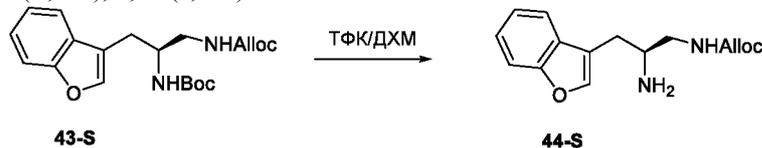


К раствору соединения 42-S (280 мг, 0,96 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (10 мл, 10 мл/ммоль) и ДМФ (16 мл, 1 мл/ммоль) добавляют  $N,N$ -диизопропилэтиламин (0,14 мл, 0,77 ммоль) и аллилхлорформиат (1,02 мл, 9,64 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $23^\circ\text{C}$  в течение 2 ч. Смесь разбавляют EtOAc и добавляют  $\text{NH}_4\text{Cl}$  и смесь экстрагируют EtOAc. Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (гексан:EtOAc, от 100:1 до 1:100) с получением соединения 43-S (445 мг, >100%).

$R_f=0,5$  (гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,60 (д,  $J=7,6$  Гц, 1H), 7,52-7,43 (м, 2H), 7,34-7,20 (м, 2H), 5,90 (ддт,  $J=16,4, 10,8, 5,6$  Гц, 1H), 5,32-5,17 (м, 2H), 4,93-4,86 (м, 1H), 4,56 (д,  $J=5,6$  Гц, 2H), 4,08-3,98 (м, 1H), 3,40-3,21 (м, 2H), 2,88 (м, 2H), 1,25 (с, 9H).

E)

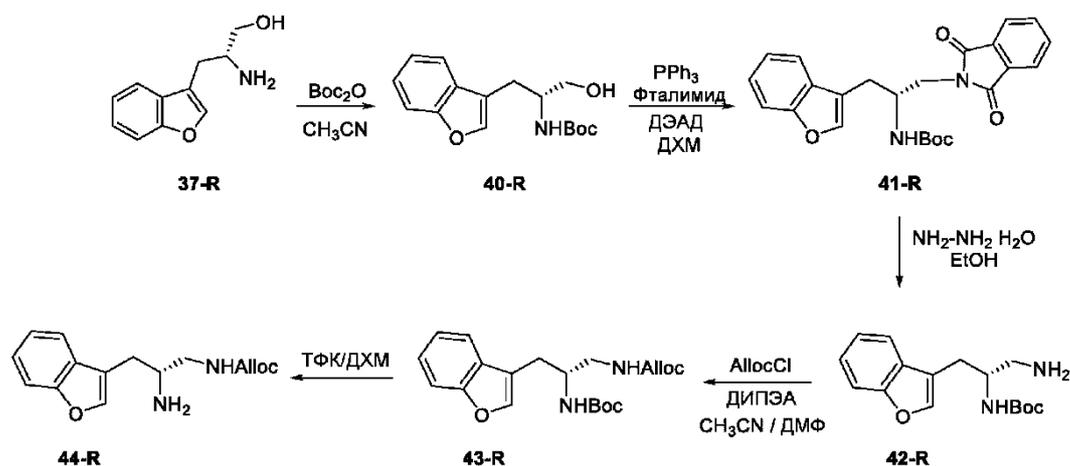


К раствору соединения 43-S (160 мг, 0,43 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (8 мл, 16,6 мл/ммоль) добавляют трифторуксусную кислоту (4 мл, 8,3 мл/ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $23^\circ\text{C}$  в течение 1,5 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 50:50) с получением соединения 44-S (175 мг, >100%).

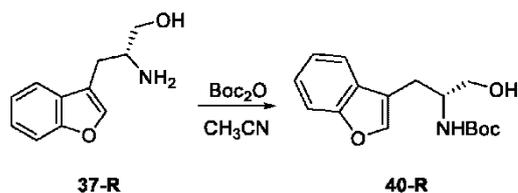
$R_f=0,2$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,72 (с, 1H), 7,64 (дт,  $J=8,4, 0,9$  Гц, 1H), 7,49 (дт,  $J=8,4, 0,9$  Гц, 1H), 7,37-7,22 (м, 2H), 5,94 (ддт,  $J=16,3, 10,7, 5,5$  Гц, 1H), 5,32 (дкв,  $J=17,3, 1,7$  Гц, 1H), 5,19 (дкв,  $J=10,6, 1,5$  Гц, 1H), 4,56 (дт,  $J=5,7, 1,5$  Гц, 2H), 3,56 (квд,  $J=7,0, 4,4$  Гц, 1H), 3,46-3,32 (м, 1H), 3,32-3,24 (м, 1H), 3,03 (дд,  $J=14,8, 6,9$  Гц, 1H), 2,91 (ддд,  $J=14,8, 7,1, 0,9$  Гц, 1H).

Пример 0-21. Синтез аллил-N-[(R)-2-амино-3-(бензофуран-3-ил)пропил]карбамата (44-R).



А)

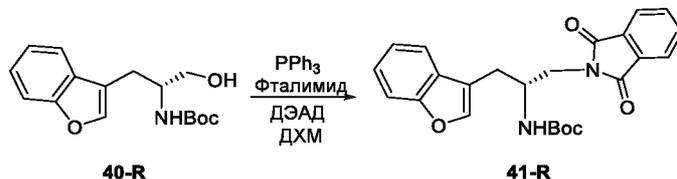


К раствору соединения 37-R (2,75 г, 14,4 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (58 мл, 4 мл/ммоль) добавляют ди-трет-бутилдикарбонат (6,27 г, 28,76 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 2,5 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением соединения 40-R (3,7 г, 88%).

$R_f=0,6$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,64 (д,  $J=7,6$  Гц, 1H), 7,52-7,43 (м, 2H), 7,35-7,20 (м, 2H), 4,85 (д,  $J=8,2$  Гц, 1H), 4,00 (шс, 1H), 3,69 (дд,  $J=11,0, 4,0$  Гц, 1H), 3,62 (дд,  $J=10,9, 5,1$  Гц, 1H), 2,94 (д,  $J=6,9$  Гц, 2H), 1,42 (с, 9H).

В)

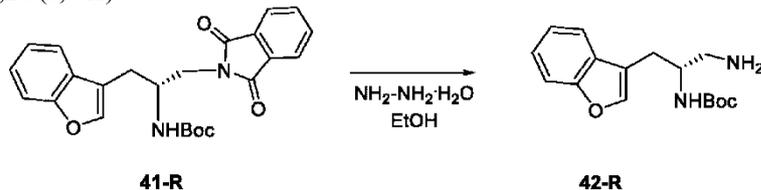


К раствору соединения 40-R (3,7 г, 12,7 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (76 мл, 6 мл/ммоль) добавляют фталиимид (4,1 г, 28 ммоль), трифенилфосфин (7,3 г, 28 ммоль) и смесь охлаждают при 0°C. Раствор 40% диэтилазодикарбоксилата (ДЭАД) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (9,4 мл, 31,7 ммоль) добавляют в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивают при 23°C в течение 16 ч, концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением соединения 41-R (4,05 г, 76%).

$R_f=0,8$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,67-7,68 (м, 4H), 7,61 (д,  $J=7,5$  Гц, 1H), 7,58 (с, 1H), 7,46 (д,  $J=7,5$  Гц, 1H), 7,27 (дтд,  $J=17,2, 7,3, 1,4$  Гц, 2H), 4,84 (д,  $J=9,0$  Гц, 1H), 4,46-4,30 (м, 1H), 3,89-3,66 (м, 2H), 2,97 (д,  $J=6,4$  Гц, 2H), 1,24 (с, 9H).

С)

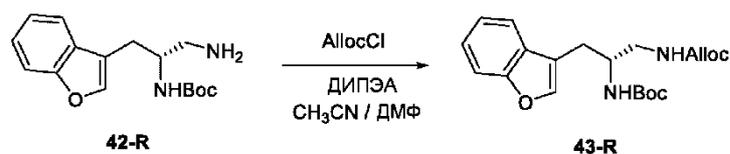


К раствору соединения 41-R (4,0 г, 9,5 ммоль) в этаноле (285 мл, 30 мл/ммоль) добавляют моногидрат гидразина (41,5 мл, 856 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 80°C в герметично закрытой пробирке в течение 2 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 50:50) с получением соединения 42-R (2,2 г, 80%).

$R_f=0,1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 8:2).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,60 (д,  $J=7,5$  Гц, 1H), 7,45 (с, 1H), 7,44 (д,  $J=7,1$  Гц, 1H), 7,25 (дтд,  $J=18,8, 7,3, 1,3$  Гц, 2H), 4,94 (д,  $J=8,8$  Гц, 1H), 3,98-3,78 (м, 1H), 2,90-2,77 (м, 2H), 2,65 (дд,  $J=13,1, 7,0$  Гц, 1H), 1,40 (с, 9H).

D)



К раствору соединения 42-R (2,2 г, 7,6 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (76 мл, 10 мл/ммоль) и ДМФ (7,6 мл, 1 мл/ммоль) добавляют  $N,N$ -диизопропилэтиламин (1,1 мл, 6,08 ммоль) и аллилхлорформиат (8,05 мл, 76 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $23^\circ\text{C}$  в течение 7 ч. Смесь разбавляют  $\text{EtOAc}$  и добавляют  $\text{NH}_4\text{Cl}$  и смесь экстрагируют  $\text{EtOAc}$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией (гексан: $\text{EtOAc}$ , от 100:1 до 1:100) с получением соединения 43-R (2,3 г, 81%).

$R_f=0,7$  (гексан: $\text{EtOAc}$ , 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,60 (д,  $J=7,5$  Гц, 1H), 7,52-7,43 (м, 2H), 7,34-7,20 (м, 2H), 5,90 (ддт,  $J=17,3, 10,8, 5,6$  Гц, 1H), 5,29 (д,  $J=17,2$ , 1H), 5,20 (д,  $J=10,4$ , 1H), 5,10 (т,  $J=6,2$  Гц, 1H), 4,86 (д,  $J=8,4$  Гц, 1H), 4,56 (д,  $J=5,4$ , 2H), 4,08-3,97 (м, 1H), 3,36 (дт,  $J=10,7, 4,7$  Гц, 1H), 3,30-3,23 (м, 1H), 2,87 (тд,  $J=14,8, 6,5$  Гц, 2H), 1,41 (с, 9H).

E)



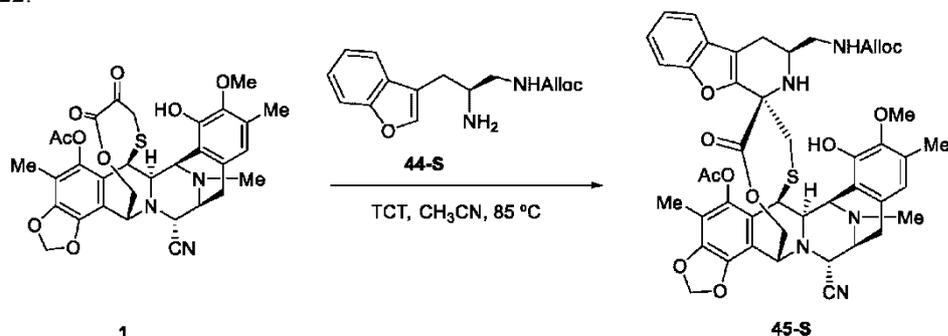
К раствору соединения 43-R (1,32 г, 3,52 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (60 мл, 16,6 мл/ммоль) добавляют трифторуксусную кислоту (30 мл, 8,3 мл/ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $23^\circ\text{C}$  в течение 1,5 ч, концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 50:50) с получением соединения 44-R (0,90 г, 94%).

$R_f=0,2$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,75 (с, 1H), 7,69-7,61 (м, 1H), 7,54-7,46 (м, 1H), 7,39-7,24 (м, 2H), 5,95 (ддт,  $J=16,3, 10,8, 5,5$  Гц, 1H), 5,32 (дд,  $J=17,3, 1,8$  Гц, 1H), 5,24-5,16 (м, 1H), 4,57 (дт,  $J=5,7, 1,5$  Гц, 2H), 3,68 (квд,  $J=7,1, 4,2$  Гц, 1H), 3,48 (дд,  $J=14,8, 4,2$  Гц, 1H), 3,42-3,30 (м, 1H), 3,14-2,95 (м, 2H).

Пример 0-22.

A)

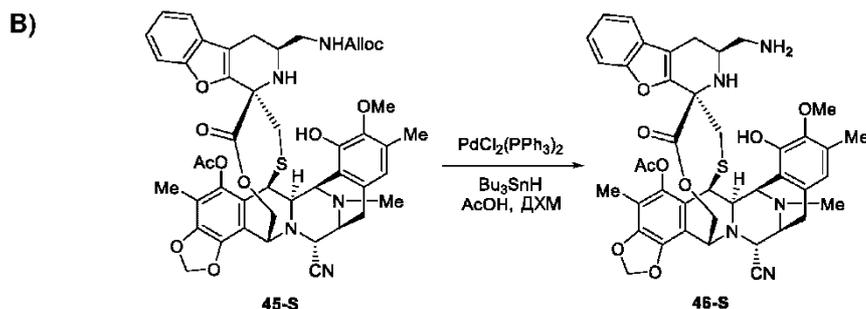


К раствору соединения 1 (750 мг, 1,2 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (120 мл, 0,01 М) добавляют соединение 44-S (1370 мг, 6 ммоль) и циануровый хлорид (ТСТ) (184 мг, 20%). Реакционную смесь перемешивают при  $85^\circ\text{C}$  в течение 23 ч и затем добавляют водный насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  и смесь экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан: $\text{EtOAc}$ , от 9:1 до 1:9) дает соединение 45-S (755 мг, 72%).

$R_f=0,36$  (гексан: $\text{EtOAc}$ , 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,38-7,28 (м, 2H), 7,23-7,08 (м, 2H), 6,67 (с, 1H), 6,19 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,09-5,95 (м, 1H), 6,04 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 5,92 (с, 1H), 5,80 (с, 1H), 5,44-5,34 (м, 1H), 5,26 (дкв,  $J=10,4, 1,3$  Гц, 1H), 5,08 (дд,  $J=11,4, 1,1$  Гц, 1H), 4,70-4,63 (м, 2H), 4,56 (с, 1H), 4,34 (с, 1H), 4,31-4,18 (м, 3H), 3,80 (с, 3H), 3,50-3,39 (м, 2H), 3,24-3,15 (м, 1H), 3,00 (дт,  $J=12,2, 6,0$  Гц, 2H), 2,95 (д,  $J=5,2$  Гц, 2H), 2,60 (дд,  $J=15,4, 4,5$  Гц, 2H), 2,44 (дд,  $J=15,6, 5,2$  Гц, 1H), 2,29 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,25-2,20 (м, 1H), 2,18 (с, 3H), 2,12 (с, 1H), 2,04 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 878,2 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>.

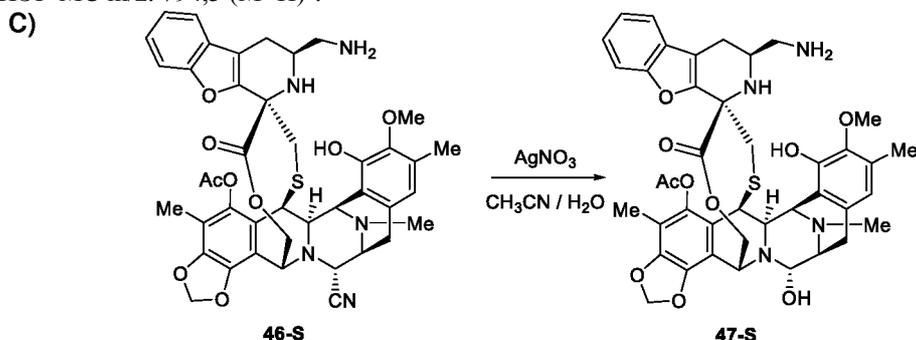


К раствору соединения 45-S (750 мг, 0,85 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15,3 мл, 18 мл/ммоль) добавляют дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (96 мг, 0,14 ммоль) и уксусную кислоту (0,5 мл, 8,5 ммоль). Гидрид трибутиллолова (1,4 мл, 5,1 ммоль) добавляют при  $0^\circ\text{C}$  и реакционную смесь перемешивают при  $0^\circ\text{C}$  в течение 30 минут и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (Гексан:EtOAc, от 100:1 до 1:100 и  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 1:100) с получением соединения 46-S (430 мг, 64%).

$R_f=0,3$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,37-7,29 (м, 2H), 7,22-7,11 (м, 2H), 6,57 (с, 1H), 6,21 (д,  $J=1,5$  Гц, 1H), 6,06 (д,  $J=1,5$  Гц, 1H), 5,07 (д,  $J=11,5$  Гц, 1H), 4,57 (с, 1H), 4,37 (с, 1H), 4,29-4,23 (м, 2H), 4,14 (с, 1H), 3,79 (с, 3H), 3,50-3,47 (м, 2H), 3,38 (д,  $J=8,7$  Гц, 1H), 2,95-2,71 (м, 4H), 2,68-2,52 (м, 2H), 2,51-2,38 (м, 1H), 2,35 (с, 3H), 2,33-2,26 (м, 1H), 2,29 (с, 3H), 2,17-2,08 (м, 1H), 2,10 (с, 3H), 2,04 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 794,3 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).



К раствору соединения 46-S (550 мг, 0,7 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 49 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (2,4 г, 14 ммоль). Через 16 ч при  $23^\circ\text{C}$ , реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением соединения 47-S (53 мг, 10%).

$R_f=0,1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,36 (д, 7,9 Гц, 1H), 7,33 (д, 7,4 Гц, 1H), 7,23 (т,  $J=7,4$  Гц, 1H), 7,16 (т,  $J=7,4$  Гц, 1H), 6,77 (с, 1H), 6,20 (с, 1H), 6,04 (с, 1H), 5,92 (с, 1H), 5,20 (д,  $J=11,1$  Гц, 1H), 4,90 (с, 1H), 4,50 (с, 1H), 4,46-4,39 (м, 1H), 4,25 (д,  $J=11,1$  Гц, 1H), 4,20 (с, 1H), 3,84 (с, 3H), 3,81 (д,  $J=4,2$  Гц, 1H), 3,58 (с, 1H), 3,40-3,14 (м, 3H), 2,90 (т,  $J=13,0$  Гц, 1H), 2,76 (м, 3H), 2,50 (с, 3H), 2,46-2,37 (м, 1H), 2,32-2,26 (м, 2H), 2,30 (с, 3H), 2,15 (с, 3H), 2,04 (с, 3H).

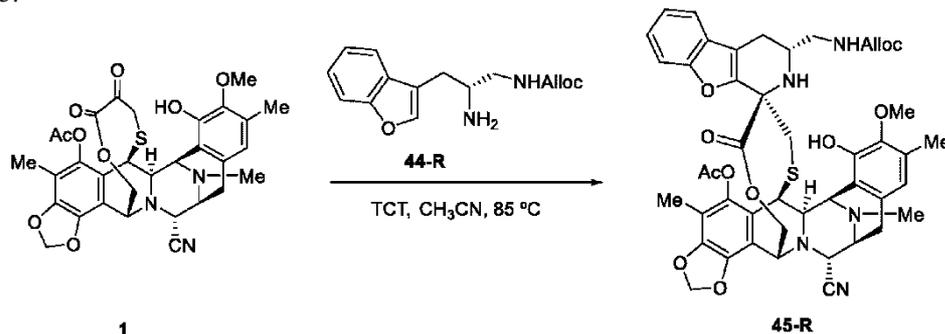
$^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  170,5, 169,2, 154,6, 149,1, 148,7, 145,7, 143,5, 141,0, 140,9, 131,2, 129,6, 126,9, 124,4, 122,5, 121,4, 119,7, 118,7, 115,0, 112,7, 111,0, 110,7, 102,1, 91,2, 63,5, 61,2, 59,2, 58,5, 55,3, 54,7, 53,4, 52,7, 43,3, 42,5, 39,9, 36,9, 29,3, 24,1, 23,6, 19,1, 15,0, 8,2.

ИЭР-МС  $m/z$ : 767,2 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}^+$ ).

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС  $m/z$ : 767,2794 [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}^+$ ] (Рассч. для  $\text{C}_{41}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$  767,2745).

Пример 0-23.

**A)**



К раствору соединения 1 (621 мг, 1 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (100 мл, 0,01 М) добавляют соединение 44-R

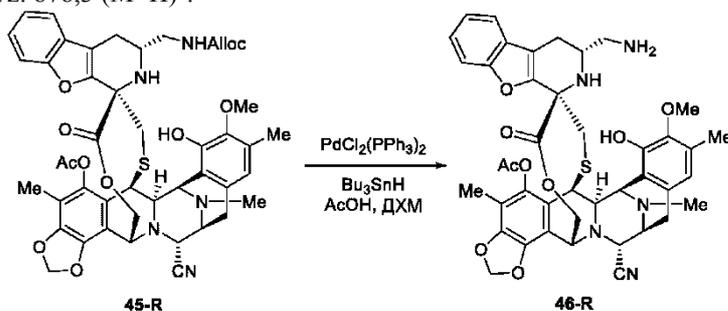
(825 мг, 3 ммоль) и циануровый хлорид (ТСТ) (248 мг, 40%). Реакционную смесь перемешивают при 85°C в течение 66 ч и затем добавляют водный насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  и смесь экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, от 9:1 до 1:9) дает соединение 45-R (530 мг, 58%).

$R_f=0,4$  (гексан:EtOAc, 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,42-7,28 (м, 2H), 7,23-7,08 (м, 2H), 6,60 (с, 1H), 6,20 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,04 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,01-5,92 (м, 1H), 5,77 (с, 1H), 5,44-5,20 (м, 2H), 5,09 (с, 1H), 5,04-4,96 (м, 1H), 4,71-4,55 (м, 2H), 4,34 (с, 1H), 4,30-4,18 (м, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,53 (дд,  $J=10,2, 4,4$  Гц, 1H), 3,46 (м, 2H), 3,50-3,40 (м, 1H), 3,03-2,87 (м, 2H), 2,67 (д,  $J=15,0$  Гц, 1H), 2,47 (дд,  $J=15,6, 3,7$  Гц, 1H), 2,40-2,32 (м, 2H), 2,30 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 2,19-2,12 (м, 2H), 2,16 (с, 3H), 2,09 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 878,3 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

**B)**



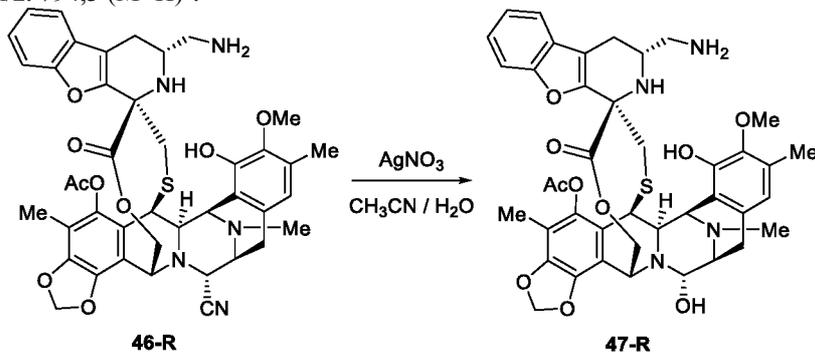
К раствору соединения 45-R (552 мг, 0,63 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (11,3 мл, 18 мл/ммоль) добавляют дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (70,7 мг, 0,1 ммоль) и уксусную кислоту (0,36 мл, 6,3 ммоль). Гидрид трибутилолова (1,02 мл, 3,8 ммоль) добавляют при 0°C и реакционную смесь перемешивают при 0°C в течение 0,5 ч и концентрируют под вакуумом. Полученный неочищенный продукт разбавляют EtOAc, добавляют насыщенный водный раствор  $\text{NH}_4\text{Cl}$  и смесь экстрагируют EtOAc. Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Флэш-хроматография (гексан:EtOAc, от 100:1 до 1:100 и EtOAc: $\text{CH}_3\text{OH}$ , от 100:1 до 1:100) с получением соединения 46-R (423 мг, 85%).

$R_f=0,3$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , 1:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,45-7,28 (м, 2H), 7,23-7,08 (м, 2H), 6,56 (с, 1H), 6,19 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,05 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 4,98 (д,  $J=11,5$  Гц, 1H), 4,59 (с, 1H), 4,34 (с, 1H), 4,27 (дд,  $J=5,1, 1,7$  Гц, 1H), 4,22-4,16 (м, 2H), 3,80 (с, 3H), 3,49-3,39 (м, 2H), 3,31 (дкв,  $J=9,8, 5,5, 4,5$  Гц, 2H), 2,95 (с, 1H), 2,83 (д,  $J=5,6$  Гц, 2H), 2,74-2,51 (м, 3H), 2,35 (с, 3H), 2,32-2,21 (м, 2H), 2,26 (с, 3H); 2,16 (с, 3H), 2,06 (с, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 794,3 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

**C)**



К раствору соединения 46-R (412 мг, 0,52 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 36 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (1,76 г, 10,4 ммоль). Через 22 ч при 23°C, реакционную смесь гасят смесью 1:1 насыщенных водных растворов  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивают в течение 15 мин, разбавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , перемешивают в течение 5 мин и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 85:15) с получением соединения 47-R (175 мг, 43%).

$R_f=0,1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,34 (дд,  $J=11,1, 7,9$  Гц, 2H), 7,22-7,07 (м, 2H), 6,57 (с, 1H), 6,17 (д,  $J=1,2$  Гц, 1H), 6,01 (д,  $J=1,2$  Гц, 1H), 5,11 (д,  $J=11,2$  Гц, 1H), 4,84 (с, 1H), 4,53-4,47 (м, 2H), 4,21-4,07 (м, 2H), 3,80 (с, 3H), 3,56 (д,  $J=5,1$  Гц, 1H), 3,43 (с, 1H), 3,24 (д,  $J=9,1$  Гц, 1H), 2,98-2,78 (м, 4H), 2,72-2,58 (м, 2H), 2,38 (с, 3H), 2,35-2,27 (м, 2H), 2,28 (с, 3H), 2,14 (с, 3H), 2,08 (с, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  170,6, 169,1, 155,0, 148,8, 145,6, 143,7, 141,1, 140,8, 130,9, 129,7, 126,9, 124,2, 122,4, 121,1, 119,6, 118,9, 118,7, 115,0, 113,2, 112,5, 111,0, 102,1, 91,3, 63,3, 60,4, 59,0, 58,4, 55,3, 54,6, 52,6, 51,1, 44,9, 42,4, 39,8, 38,7, 29,4, 24,0, 23,2, 19,1, 15,0, 8,3.

ИЭР-МС  $m/z$ : 767,2 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}^+$ ).

(+)-ВР-ИЭР-ВП-МС m/z: 767,2806[M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup> (Рассч. для C<sub>41</sub>H<sub>43</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>S 767,2745).

Пример биоактивности полезных нагрузок

Целью этого анализа является оценка *in vitro* цитостатической (способность задерживать или останавливать рост опухолевых клеток) или цитотоксической (способность убивать опухолевые клетки) активности тестируемых образцов.

#### Клеточные линии

Наименование	N ATCC	Виды	Ткань	Характеристика
A549	CCL-185	человек	Легкие	карцинома легкого (NSCLC)
HT29	HTB-38	человек	Толстая кишка	колоректальная аденокарцинома
MDA-MB-231	HTB-26	человек	Грудь	аденокарцинома груди
PSN1	CRM-CRL-3211	человек	Поджелудочная железа	аденокарцинома поджелудочной железы
PC-3	CRL-1435	человек	Простата	аденокарцинома простаты
22Rv1	CRL-2505	человек	Простата	карцинома простаты

Оценка цитотоксической активности с применением SRB и МТТ колориметрических анализов.

Колориметрический анализ с применением реакции Сульфородамина В (SRB) адаптируют для проведения количественного измерения роста и жизнеспособности клеток (следуя методике, описанной у Skehan et al. J. Natl. Cancer Inst. 1990, 82, 1107-1112). Другой колориметрический анализ на основе восстановления бромиды 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ) до пурпурного формазана также применяют для оценки антипролиферативной активности (следуя методике, описанной у Mosmann et al. J. Immunol. Meth. 1983, 65, 55-63).

В этих формах анализов применяют 96-луночные микропланшеты для культивирования клеток, следуя стандартам American National Standards Institute и Society for Laboratory Automation and Screening (ANSI SLAS 1-2004 (R2012) 10/12/2011). Все клеточные линии, применяемые в этом исследовании, получают от American Type Culture Collection (ATCC) и получают из разных типов рака человека.

A549, HT29, MDA-MB-231 и PSN1 клетки выдерживают в среде Игла, модифицированной по Дульбекко (DMEM), в PC-3 и 22Rv1 клетки выдерживают в среде Roswell Park Memorial Institute Medium (RPMI). Ко всем клеточным линиям добавляют 10% фетальную телячью сыворотку (ФТС), 2 мМ L-глутамин, 100 Ед/мл пенициллина и 100 Ед/мл стрептомицина при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> и 98% влажности. Для экспериментов клетки собирают из субконфлюентных культур с применением трипсинизации и ресуспендируют в свежей среде перед подсчетом и высеванием на планшеты.

A549, HT29, MDA-MB-231 и PSN1 клетки высевают в 96-луночные микропланшеты в количестве 5000 клеток на лунку в аликвотах по 150 мкл и оставляют присоединиться к поверхности планшета в течение 18 ч (в течение ночи) в среде, не содержащей лекарственное средство. После этого один контрольный (необработанный) планшет для каждой клеточной линии фиксируют (как описано ниже) и применяют для эталонной оценки в нулевой момент времени. Культуральные планшеты затем обрабатывают тестируемыми соединениями (50 мкл аликвоты 4X исходных растворов в полной среде плюс 4% ДМСО) с применением десяти 2/5 серийных разведений (концентрации варьируются от 10 до 0,003 мкг/мл) и тройных культур (1% конечная концентрация в ДМСО). Через 72 ч обработки, противоопухолевый эффект измеряют с применением методики SRB: коротко, клетки дважды промывают ФРФБ, фиксируют в течение 15 мин в 1% растворе глутаральдегида при комнатной температуре, промывают дважды в ФРФБ и окрашивают в 0,4% растворе SRB в течение 30 мин при комнатной температуре. Затем клетки промывают несколько раз 1% раствором уксусной кислоты и сушат на воздухе при комнатной температуре. Затем SRB экстрагируют в 10 мМ растворе основания trizma, и абсорбцию измеряют в автоматизированном спектрофотометрическом планшетном ридере при 490 нм.

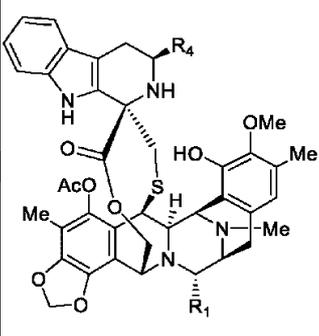
Подходящее количество PC-3 и 22Rv1 клеток, для достижения конечной плотности в анализе от 5000 до 15000 клеток на лунку в зависимости от клеточной линии, высевают в 96-луночные планшеты и окрашивают в культуральной среде в течение 24 ч при 37°C при 5% CO<sub>2</sub> и 98% влажности. Затем в культуральную среду добавляют соединения или ДМСО для достижения конечного объема 200 мкл и предполагаемой концентрации соединения в интервале, охватывающем десять серийных 2/5 разведений, начиная от 0,1 мкг/мл в 1% об./об. ДМСО. В этот момент ряд "контрольных планшетов в нулевой момент времени", обработанных 1% об./об. ДМСО, обрабатывают МТТ как описано ниже. Остальные планшеты инкубируют в течение 72 ч в вышеуказанных условиях окружающей среды. Затем 50 мкл 1 мг/мл раствора МТТ в культуральной среде добавляют в лунки и инкубируют в течение 6-8 ч при 37°C, позволяя образоваться кристаллам формазана. Затем культуральную среду удаляют и 100 мкл чистого ДМСО добавляют в каждую лунку для растворения продукта формазана в окрашенном растворе, абсорбцию которого при 540 нм наконец измеряют в многоканальном микропланшетном ридере PolarStar Omega (BMG Labtech, Ortenberg, Germany).

Действие на рост и выживание клеток оценивают с применением алгоритма NCI (Boyd MR и Paull

KD. Drug Dev. Res. 1995, 34, 91-104). Значения, полученные в тройных культурах, подгоняют нелинейной регрессией к четырехпараметрической логистической кривой через нелинейный анализ регрессии. Три эталонных параметра рассчитывают (согласно вышеупомянутому алгоритму NCI) через автоматическую интерполяцию кривых, полученных такой подгонкой: GI<sub>50</sub>=концентрация соединения, которая дает 50% ингибирование роста клеток, по сравнению с контрольными культурами; TGI=общее ингибирование роста клеток (цитостатический эффект), по сравнению с контрольными культурами, и LC<sub>50</sub>=концентрация соединения, которая дает 50% чистый цитотоксический эффект по уничтожению клеток).

В табл. 3-9 показаны данные биологической активности соединений настоящего изобретения.

Таблица 3

		Биологическая активность (молярная)					
Соединение							
							
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1	PC-3	22Rv1
GI <sub>50</sub>		4,03E-10	2,77E-10	4,91E-10	9,95E-10		
TGI	3-S	6,17E-10	>1,26E-07	5,29E-10	1,64E-09		
LC <sub>50</sub>		>1,26E-07	>1,26E-07	6,17E-10	>1,26E-07		
GI <sub>50</sub>		3,11E-09	2,99E-09	2,87E-09	2,15E-09		
TGI	3a-S	3,23E-09	3,23E-09	3,59E-09	3,59E-09		
LC <sub>50</sub>		>1,20E-07	>1,20E-07	4,90E-09	1,20E-08		
GI <sub>50</sub>		2,05E-08	1,14E-08	4,79E-09	7,64E-09		
TGI	10-S	3,08E-08	1,25E-08	8,44E-09	1,25E-08		
LC <sub>50</sub>		7,53E-08	>1,14E-06	1,60E-08	2,39E-08		
GI <sub>50</sub>		8,45E-09	3,41E-09	2,27E-09	3,28E-09		
TGI	11-S	2,65E-08	>1,26E-07	3,41E-09	4,54E-09		
LC <sub>50</sub>		>1,26E-07	>1,26E-07	6,43E-09	8,07E-09		
GI <sub>50</sub>		1,27E-09	1,27E-09	1,22E-09	1,78E-09	8,08E-10	3,58E-10
TGI	4-S	1,40E-09	1,40E-09	2,55E-09	2,29E-09		
LC <sub>50</sub>		>1,27E-07	>1,27E-07	6,50E-09	3,44E-09		
GI <sub>50</sub>		3,99E-09	3,14E-09	3,39E-09	3,02E-09		
TGI	4a-S	6,17E-09	3,39E-09	5,44E-09	3,27E-09		
LC <sub>50</sub>		>1,21E-07	>1,21E-07	1,00E-08	3,51E-09		
GI <sub>50</sub>		2,04E-08	4,85E-09	5,23E-09	3,44E-09		
TGI	12-S	5,61E-08	8,42E-09	8,42E-09	5,49E-09		
LC <sub>50</sub>		>1,28E-07	>1,28E-07	1,53E-08	1,21E-08		
GI <sub>50</sub>		1,15E-08	1,15E-08	1,15E-08	1,96E-08		
TGI	13-S	1,61E-08	1,27E-08	1,27E-08	2,88E-08		
LC <sub>50</sub>		2,42E-08	>1,15E-06	1,38E-08	4,61E-08		

## Биологическая активность (молярная)

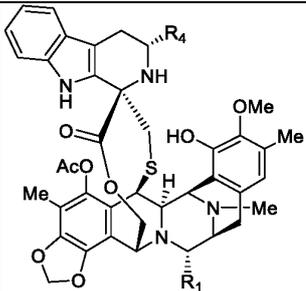
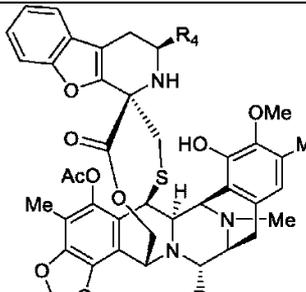
Соединение					
		3-R R <sub>1</sub> =CN, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> OH 10-R R <sub>1</sub> =CN, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> NHAlloc 11-R R <sub>1</sub> =CN, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> 4-R R <sub>1</sub> =OH, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> OH 12-R R <sub>1</sub> =OH, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> 13-R R <sub>1</sub> =OH, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> NHAlloc			
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI <sub>50</sub>		4,03E-10	2,77E-10	2,77E-10	3,90E-10
TGI	3-R	5,79E-10	>1,26E-07	5,04E-10	6,05E-10
LC <sub>50</sub>		>1,26E-07	>1,26E-07	1,25E-09	>1,26E-07
GI <sub>50</sub>		3,76E-09	3,08E-09	2,85E-09	2,62E-09
TGI	10-R	5,93E-09	>1,14E-07	4,33E-09	3,88E-09
LC <sub>50</sub>		>1,14E-07	>1,14E-07	7,18E-09	6,61E-09
GI <sub>50</sub>		1,77E-09	1,39E-09	1,01E-09	1,39E-09
TGI	11-R	4,54E-09	>1,26E-07	1,51E-09	1,89E-09
LC <sub>50</sub>		>1,26E-07	>1,26E-07	2,65E-09	>1,26E-07
GI <sub>50</sub>		1,27E-09	1,26E-09	1,27E-09	4,59E-10
TGI	4-R	1,40E-09	1,40E-09	1,40E-09	8,54E-10
LC <sub>50</sub>		>1,27E-07	>1,27E-07	1,53E-09	2,55E-09
GI <sub>50</sub>		1,40E-09	5,74E-10	3,19E-10	4,98E-10
TGI	12-R	2,93E-09	1,10E-09	6,76E-10	1,22E-09
LC <sub>50</sub>		1,22E-08	2,93E-09	1,40E-09	>1,28E-07
GI <sub>50</sub>		7,26E-09	6,91E-09	4,95E-09	2,88E-09
TGI	13-R	7,72E-09	7,60E-09	7,95E-09	3,11E-09
LC <sub>50</sub>		>1,15E-07	>1,15E-07	1,38E-08	3,46E-09

Таблица 5

## Биологическая активность (молярная)

Соединение							
		38-S R <sub>1</sub> =CN, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> OH 45-S R <sub>1</sub> =CN, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> NHAlloc 46-S R <sub>1</sub> =CN, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> 39-S R <sub>1</sub> =OH, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> OH 47-S R <sub>1</sub> =OH, R <sub>4</sub> =-CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>					
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1	PC-3	22Rv1
GI <sub>50</sub>		8,05E-09	4,53E-09	2,52E-09	5,03E-09		
TGI	38-S	8,55E-09	7,05E-09	4,28E-09	8,18E-09		
LC <sub>50</sub>		9,44E-09	>1,26E-07	7,80E-09	1,51E-08		
GI <sub>50</sub>		1,82E-08	1,82E-08	1,71E-08	1,94E-08		
TGI	45-S	1,94E-08	1,94E-08	2,16E-08	2,62E-08		
LC <sub>50</sub>		2,16E-08	>1,14E-07	2,96E-08	3,64E-08		
GI <sub>50</sub>		8,19E-09	2,77E-09	3,65E-09	3,15E-09		
TGI	46-S	2,14E-08	6,17E-09	6,80E-09	4,79E-09		
LC <sub>50</sub>		>1,26E-07	>1,26E-07	1,26E-08	9,20E-09		

GI <sub>50</sub>		4,84E-09	3,94E-09	3,44E-09	8,02E-09	2,78E-09	4,81E-10
TGI	39-S	8,27E-09	6,74E-09	7,13E-09	1,02E-08		
LC <sub>50</sub>		1,65E-08	>1,27E-07	1,78E-08	1,27E-08		
GI <sub>50</sub>		1,40E-08	4,33E-09	6,24E-09	5,99E-09		
TGI	47-S	2,80E-08	6,75E-09	9,68E-09	8,54E-09		
LC <sub>50</sub>		>1,27E-07	>1,27E-07	1,66E-08	1,27E-08		

Таблица 6

## Биологическая активность (молярная)

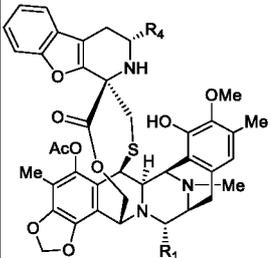
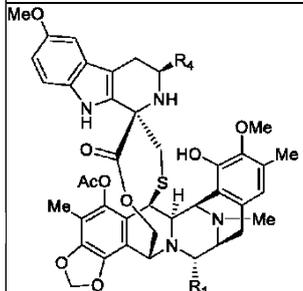
Соединение					
 <p>38-R R<sub>1</sub>=CN, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>OH            45-R R<sub>1</sub>=CN, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>NHAlloc            46-R R<sub>1</sub>=CN, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>            39-R R<sub>1</sub>=OH, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>OH            47-R R<sub>1</sub>=OH, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub></p>					
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI <sub>50</sub>		6,54E-10	5,41E-10	4,53E-10	6,54E-10
TGI	38-R	1,04E-09	5,91E-10	8,43E-10	9,94E-10
LC <sub>50</sub>		>1,26E-07	>1,26E-07	2,01E-09	1,76E-09
GI <sub>50</sub>		1,82E-08	1,25E-08	9,57E-09	1,06E-08
TGI	45-R	1,94E-08	2,28E-08	1,94E-08	1,94E-08
LC <sub>50</sub>		2,39E-08	>1,14E-07	4,33E-08	3,76E-08
GI <sub>50</sub>		1,51E-09	1,21E-09	1,23E-09	9,95E-10
TGI	46-R	2,77E-09	1,39E-09	1,39E-09	1,51E-09
LC <sub>50</sub>		>1,26E-07	>1,26E-07	1,51E-09	2,65E-09
GI <sub>50</sub>		2,67E-10	2,93E-10	2,04E-10	3,65E-10
TGI	39-R	4,33E-10	6,24E-10	5,98E-10	5,73E-10
LC <sub>50</sub>		>1,27E-07	>1,27E-07	2,80E-09	1,06E-09
GI <sub>50</sub>		2,04E-09	8,03E-10	5,99E-10	1,40E-09
TGI	47-R	3,82E-09	1,40E-09	1,17E-09	2,04E-09
LC <sub>50</sub>		1,40E-08	>1,27E-07	2,55E-09	3,31E-09

Таблица 7

## Биологическая активность (молярная)

Соединение					
 <p>18-S R<sub>1</sub>=CN, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>OH            25-S R<sub>1</sub>=CN, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>NHAlloc            26-S R<sub>1</sub>=CN, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>            19-S R<sub>1</sub>=OH, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>OH            27-S R<sub>1</sub>=OH, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub></p>					
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI <sub>50</sub>	18-S	1,70E-09	1,21E-09	1,21E-09	9,59E-10
TGI		3,03E-09	1,34E-09	1,34E-09	1,34E-09

LC <sub>50</sub>		>1,21E-07	>1,21E-07	1,58E-09	>1,21E-07
GI <sub>50</sub>		7,17E-09	7,17E-09	5,84E-09	6,84E-09
TGI	25-S	7,61E-09	7,72E-09	9,04E-09	9,26E-09
LC <sub>50</sub>		>1,10E-07	>1,10E-07	1,54E-08	1,43E-08
GI <sub>50</sub>		1,12E-08	2,79E-09	1,34E-09	3,04E-09
TGI	26-S	2,19E-08	3,16E-09	1,94E-09	3,28E-09
LC <sub>50</sub>		>1,22E-07	>1,22E-07	3,89E-09	3,52E-09
GI <sub>50</sub>		3,07E-09	1,35E-09	1,96E-09	2,95E-09
TGI	19-S	3,31E-09	1,60E-09	3,31E-09	3,19E-09
LC <sub>50</sub>		>1,23E-07	>1,23E-07	1,10E-08	>1,23E-07
GI <sub>50</sub>		6,02E-09	1,23E-09	1,19E-09	1,97E-09
TGI	27-S	1,12E-08	1,35E-09	1,23E-09	2,83E-09
LC <sub>50</sub>		>1,23E-07	>1,23E-07	1,35E-09	4,55E-09

Таблица 8

## Биологическая активность (молярная)

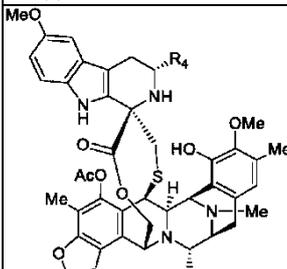
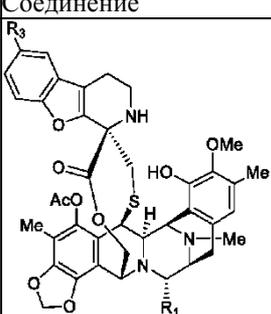
Соединение					
 <p>18-R R<sub>1</sub>=CN, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>OH  25-R R<sub>1</sub>=CN, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>NHAlloc  26-R R<sub>1</sub>=CN, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>  19-R R<sub>1</sub>=OH, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>OH  27-R R<sub>1</sub>=OH, R<sub>4</sub>=-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub></p>		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI <sub>50</sub>	18-R	1,21E-09	1,21E-09	1,21E-09	5,70E-10
TGI		1,34E-09	1,34E-09	1,34E-09	1,06E-09
LC <sub>50</sub>		>1,21E-07	>1,21E-07	1,46E-09	>1,21E-07
GI <sub>50</sub>	25-R	1,32E-09	1,54E-09	1,21E-09	1,21E-09
TGI		2,43E-09	2,76E-09	2,54E-09	2,32E-09
LC <sub>50</sub>		9,92E-09	>1,10E-07	8,38E-09	6,73E-09
GI <sub>50</sub>	26-R	1,94E-09	7,29E-10	1,17E-09	9,72E-10
TGI		3,40E-09	1,58E-09	1,22E-09	1,70E-09
LC <sub>50</sub>		>1,22E-07	>1,22E-07	1,46E-09	3,52E-09
GI <sub>50</sub>	19-R	1,47E-09	1,72E-09	1,23E-09	1,23E-09
TGI		3,56E-09	1,72E-09	1,35E-09	1,35E-09
LC <sub>50</sub>		>1,23E-07	>1,23E-07	>1,23E-07	1,47E-09
GI <sub>50</sub>	27-R	2,09E-09	5,04E-10	3,07E-10	6,39E-10
TGI		3,93E-09	5,53E-10	5,41E-10	1,17E-09
LC <sub>50</sub>		1,01E-08	>1,23E-07	8,60E-10	2,46E-09

Таблица 9

## Биологическая активность (молярная)

Соединение	
 <p>31 R<sub>1</sub>=CN, R<sub>3</sub>=H</p>	

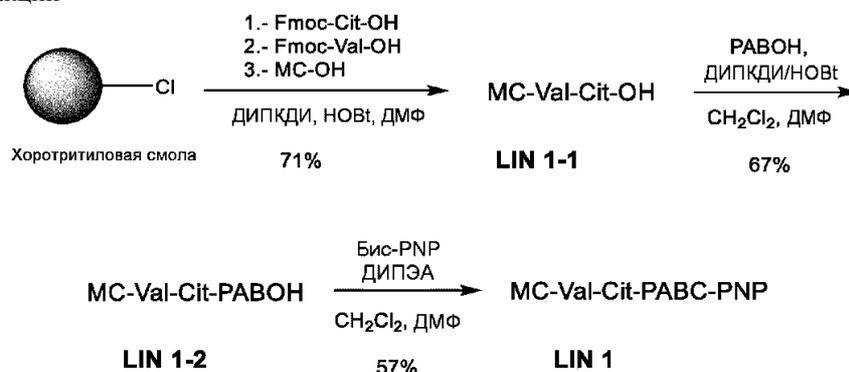
		32 R <sub>1</sub> =OH, R <sub>3</sub> =H	34 R <sub>1</sub> =CN, R <sub>3</sub> =OMe	35 R <sub>1</sub> =OH, R <sub>3</sub> =OMe	
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI <sub>50</sub>	31	1,96E-08	1,05E-08	8,89E-09	6,80E-09
TGI		2,09E-08	1,57E-08	1,70E-08	1,57E-08
LC <sub>50</sub>		2,35E-08	>1,31E-07	3,53E-08	4,31E-08
GI <sub>50</sub>	32	6,88E-09	6,88E-09	4,76E-09	6,09E-09
TGI		>1,32E-08	>1,32E-08	1,05E-08	8,34E-09
LC <sub>50</sub>		>1,32E-08	>1,32E-08	>1,32E-08	1,20E-08
GI <sub>50</sub>	34	5,91E-08	5,41E-08	4,53E-08	5,41E-08
TGI		8,05E-08	8,55E-08	7,67E-08	5,91E-08
LC <sub>50</sub>		>1,26E-07	1,25E-07	1,12E-07	>1,26E-07
GI <sub>50</sub>	35	8,14E-09	7,89E-09	4,58E-09	6,24E-09
TGI		8,78E-09	8,65E-09	8,27E-09	9,03E-09
LC <sub>50</sub>		>1,27E-07	>1,27E-07	1,65E-08	1,40E-08

Эти данные демонстрируют, что полезные нагрузки, применяемые в настоящем изобретении, обладают высокой эффективностью *in vitro*.

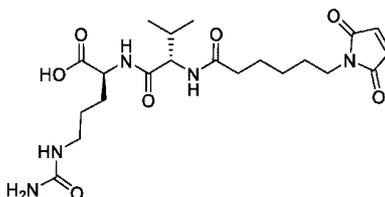
Синтез линкеров.

Получение LIN1: MC-Val-Cit-PABC-PNP.

Схема реакции



(а) Получение LIN 1-1: MC-Val-Cit-OH.  
LIN 1-1



Cl-TrtCl-смола (20 г, 1,49 ммоль/г) (Iris Biotech, Ref.: BR-1065, 2-Хлортритилхлоридная смола (200-400 меш, 1% DVB, 1,0-1,6 ммоль/г), CAS 42074-68-0) помещают на пластину фильтпресса. 100 мл ДХМ добавляют к смоле и смесь перемешивают в течение 1 ч. Растворитель удаляют фильтрацией в вакууме. Раствор Fmoc-Cit-OH (11,83 г, 29,78 ммоль) и ДИПЭА (17,15 мл, 98,45 ммоль) в ДХМ (80 мл) добавляют и смесь перемешивают в течение 10 мин. После этого добавляют ДИПЭА (34,82 ммоль, 199,98 ммоль) и смесь перемешивают в течение 1 ч. Реакцию останавливают добавлением MeOH (30 мл) после перемешивания в течение 15 минут. Смола Fmoc-Cit-O-TrtCl-, полученную в результате, подвергают следующим промывкам/обработкам: ДХМ (5×50 мл×0,5 мин), ДМФ (5×50 мл×0,5 мин), пиперидин:ДМФ (1:4, 1×1 мин, 2×10 мин), ДМФ (5×50 мл×0,5 мин), ДХМ (5×50 мл×0,5 мин). Конечная промывка пиперидином дает NH<sub>2</sub>-Cit-O-TrtCl-смола. Рассчитывают нагрузку: 1,15 ммоль/г.

NH<sub>2</sub>-Cit-O-TrtCl-смола, полученную выше, промывают ДМФ (5×50 мл×0,5 мин) и раствор Fmoc-Val-OH (31,22 г, 91,98 ммоль), НОВт (11,23 г, 91,98 ммоль) в ДМФ (100 мл) добавляют к NH<sub>2</sub>-Cit-O-TrtCl-смоле, перемешивают и добавляют ДИПКДИ (14,24 мл, 91,98 ммоль), и смесь перемешивают в течение 1,5 ч. Реакцию останавливают промыванием ДМФ (5×50 мл×0,5 мин). Fmoc-Val-Cit-O-TrtCl-смола, полученную таким образом, обрабатывают пиперидином:ДМФ (1:4, 1×1 мин, 2×10 мин) и промывают ДМФ (5×50 мл×0,5 мин). Конечная промывка пиперидином дает NH<sub>2</sub>-Val-Cit-O-TrtCl-смола.

Раствор 6-малеимидакапроновой кислоты (MC-OH) (9,7 г, 45,92 ммоль), НОВт (6,21 г, 45,92 ммоль) в ДМФ (100 мл) добавляют к NH<sub>2</sub>-Val-Cit-O-TrtCl-смоле, полученной выше, перемешивают и добавляют ДИПКДИ (7,12 мл, 45,92 ммоль), и смесь перемешивают в течение 1,5 ч. Реакцию останавливают

промыванием ДМФ (5×50 мл×0,5 мин) и ДХМ (5×50 мл×0,5 мин).

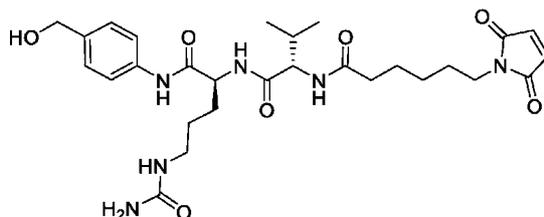
Пептид отщепляют от смолы обработками ТФК:ДХМ (1:99, 5×100 мл). Смолу промывают ДХМ (7×50 мл×0,5 мин). Объединенные фильтраты выпаривают досуха при пониженном давлении и полученное твердое вещество растирают с Et<sub>2</sub>O и фильтруют с получением LIN 1-1 (7,60 г, 71%) в виде белого твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): δ 12,47 (с, 1H), 8,13 (д, J=7,3 Гц, 1H), 7,74 (д, J=9,0 Гц, 1H), 6,99 (с, 2H), 5,93 (с, 1H), 5,35 (с, 2H), 4,20 (дд, J=9,0, 6,8 Гц, 1H), 4,15-4,07 (м, 1H), 3,36 (т, J=7,0 Гц, 2H), 3,00-2,88 (м, 2H), 2,21-2,12 (м, 1H), 2,11-2,03 (м, 1H), 1,98-1,86 (м, 1H), 1,74-1,62 (м, 1H), 1,61-1,50 (м, 1H), 1,50-1,31 (м, 6H), 1,21-1,11 (м, 2H), 0,84 (д, J=6,8 Гц, 3H), 0,80 (д, J=6,8 Гц, 3H).

ИЭР-МС m/z: Рассч. для C<sub>21</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>: 467,2. Найдено: 468,3 (M+H)<sup>+</sup>.

(b) Получение LIN 1-2: MC-Val-Cit-PAВОН.

LIN 1-2



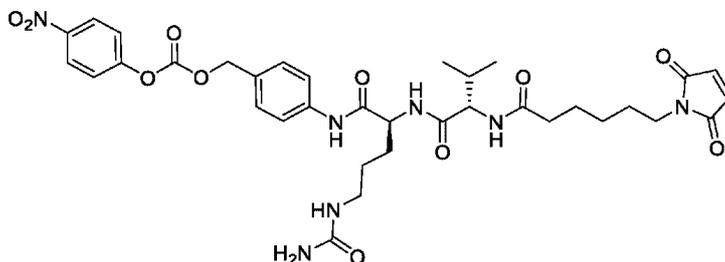
К раствору LIN 1-1 (1,6 г, 3,42 ммоль) и 4-аминобензилового спирта (PAВОН) (0,84 г, 6,84 ммоль) в ДХМ (60 мл) добавляют раствор НОВт (0,92 г, 6,84 ммоль) в ДМФ (5 мл). Добавляют ДИПКДИ (1,05 мл, 6,84 ммоль), реакционную смесь перемешивают в течение 2 ч при 23°C, добавляют Et<sub>2</sub>O (150 мл) и полученное твердое вещество фильтруют в фильтрпрессе в вакууме с получением LIN 1-2 (1,31 г, 67%).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): δ 9,88 (с, 1H), 8,03 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,77 (дд, J=12,2, 8,5 Гц, 1H), 7,53 (д, J=8,2 Гц, 2H), 7,21 (д, J=8,2 Гц, 2H), 6,99 (с, 3H), 6,01-5,92 (м, 1H), 5,39 (с, 2H), 5,07 (с, 1H), 4,41 (с, 2H), 4,39-4,31 (м, 1H), 4,23-4,12 (м, 1H), 3,36 (т, J=7,0 Гц, 2H), 3,06-2,97 (м, 1H), 2,96-2,90 (м, 1H), 2,22-2,03 (м, 2H), 2,01-1,88 (м, 1H), 1,76-1,62 (м, 1H), 1,63-1,28 (м, 6H), 1,25-1,11 (м, 2H), 0,84 (д, J=6,9 Гц, 3H), 0,81 (д, J=6,8 Гц, 3H).

ИЭР-МС m/z: Рассч. для C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>: 572,3. Найдено: 573,3 (M+H)<sup>+</sup>.

(с) Получение LIN 1: MC-Val-Cit-PAВ-PNP.

LIN 1



К раствору LIN 1-2 (500 мг, 0,87 ммоль) и бис(4-нитрофенил) карбоната (бис-PNP) (2,64 г, 8,72 ммоль) в ДХМ:ДМФ (8:2, 25 мл) добавляют ДИПЭА (0,45 мл, 2,61 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 20 ч при 23°C и выливают на колонку с силикагелем (ДХМ:CH<sub>3</sub>OH, от 50:1 до 10:1) с получением чистого целевого LIN 1 (364 мг, 57%).

R<sub>f</sub>=0,40 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 9:1).

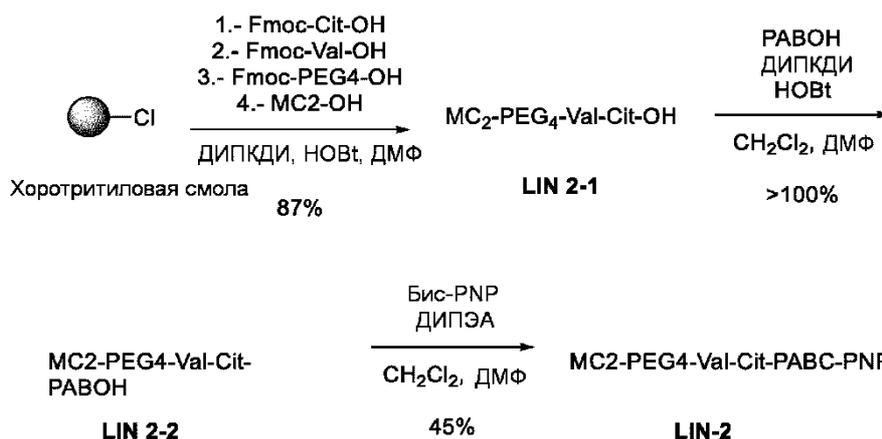
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD): δ 9,45 (с, 1H), 8,23 (д, J=8,3 Гц, 2H), 7,59 (д, J=8,5 Гц, 2H), 7,35 (д, J=8,3 Гц, 2H), 7,34 (д, J=8,5 Гц, 2H), 6,65 (с, 2H), 5,20 (с, 2H), 4,56 (дт, J=10,5, 5,4 Гц, 1H), 4,15 (д, J=7,2 Гц, 1H), 3,46 (дд, J=8,0, 6,4 Гц, 2H), 3,16-2,89 (м, 2H), 2,21 (дд, J=8,3, 6,6 Гц, 2H), 2,06-1,97 (м, 1H), 1,90-1,83 (м, 1H), 1,73-1,46 (м, 7H), 1,34-1,20 (м, 2H), 0,91 (д, J=6,7 Гц, 3H), 0,90 (д, J=6,7 Гц, 3H).

<sup>13</sup>C ЯМР (125 МГц, CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) δ 174,4, 172,4, 171,1, 170,6, 160,5, 155,5, 152,5, 145,3, 138,7, 134,1, 129,9, 129,5, 125,2, 121,8, 120,0, 70,6, 59,0, 53,2, 37,5, 35,8, 30,6, 29,6, 29,3, 28,1, 26,2, 26,2, 25,1, 19,1, 18,1.

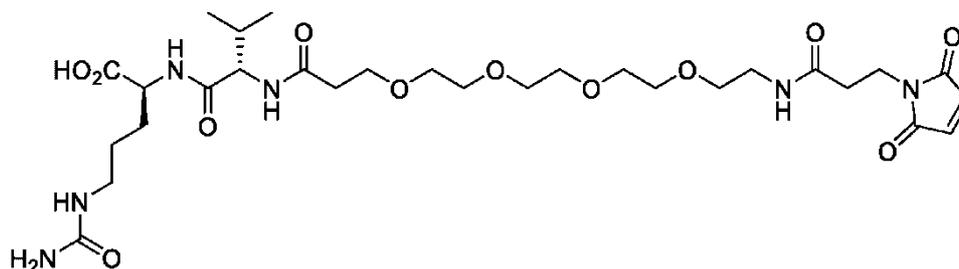
ИЭР-МС m/z: Рассч. для C<sub>35</sub>H<sub>43</sub>N<sub>7</sub>O<sub>11</sub>: 737,3. Найдено: 738,3 (M+H)<sup>+</sup>.

Получение LIN-2: MC2-PEG4-Val-Cit-PAВC-PNP.

Схема реакции



а) Получение LIN 2-1: MC<sub>2</sub>-PEG<sub>4</sub>-Val-Cit-OH  
LIN 2-1



Cl-TrtCl-смолу (5 г, 1,49 ммоль/г) помещают на пластину фильтрпресса. К смоле добавляют CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 мл) и смесь перемешивают в течение 1 ч при 23°C. Растворитель удаляют фильтрацией в вакууме. Раствор Fmoc-Cit-OH (2,95 г, 7,44 ммоль) и ДИПЭА (4,29 мл, 24,61 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 мл) добавляют и смесь перемешивают в течение 10 мин при 23°C. Добавляют еще ДИПЭА (8,70 мл, 49,99 ммоль) и смесь перемешивают в течение 1 ч при 23°C. Реакцию останавливают добавлением MeOH (10 мл) и перемешивают 15 мин при 23°C. Fmoc-Cit-O-TrtCl-смолу подвергают следующим промывкам/обработкам: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5×15 мл×0,5 мин), ДМФ (5×15 мл×0,5 мин), пиперидин:ДМФ (1:4, 15 мл, 1×1 мин, 2×10 мин), ДМФ (5×15 мл×0,5 мин), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5×15 мл×0,5 мин). Рассчитывают нагрузку: 1,17 ммоль/г.

NH<sub>2</sub>-Cit-O-TrtCl-смолу промывают ДМФ (5×15 мл×0,5 мин) и добавляют раствор Fmoc-Val-OH (7,80 г, 22,99 ммоль) и НОВт (2,80 г, 24,5 ммоль) в ДМФ (25 мл) к NH<sub>2</sub>-Cit-O-TrtCl-смоле, затем добавляют ДИПКДИ (3,56 мл, 24,5 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 1,5 ч при 23°C. Реакцию останавливают промыванием ДМФ (5×15 мл×0,5 мин). Fmoc-Val-Cit-O-TrtCl-смолу обрабатывают пиперидином:ДМФ (1:4, 15 мл, 1×1 мин, 2×10 мин) и промывают ДМФ (5×15 мл×0,5 мин).

Раствор 15-(9-флуоренилметилоксикарбонил)амино-4,7,10,13-тетраоксапентадекановой кислоты (Fmoc-NH-PEG<sub>4</sub>-OH) (4,27 г, 8,75 ммоль) и НОВт (1,18 г, 8,72 ммоль) в ДМФ (30 мл) добавляют к NH<sub>2</sub>-Val-Cit-O-TrtCl-смоле, затем добавляют ДИПКДИ (1,35 мл, 8,72 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 24 ч при 23°C. Реакцию останавливают промыванием ДМФ (5×15 мл×0,5 мин). Fmoc-NH-PEG<sub>4</sub>-Val-Cit-O-TrtCl-смолу обрабатывают пиперидином:ДМФ (1:4, 15 мл, 1×1 мин, 2×10 мин) и промывают ДМФ (5×15 мл×0,5 мин).

Раствор 3-(малеимида)пропионовой кислоты (MC<sub>2</sub>-OH) (3,95 г, 23,35 ммоль) и НОВт (3,16 г, 23,37 ммоль) в ДМФ (30 мл) добавляют к NH<sub>2</sub>-PEG<sub>4</sub>-Val-Cit-O-TrtCl-смоле, затем добавляют ДИПКДИ (3,62 мл, 23,37 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 2 ч при 23°C. Реакцию останавливают промыванием ДМФ (5×15 мл×0,5 мин) и CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5×15 мл×0,5 мин).

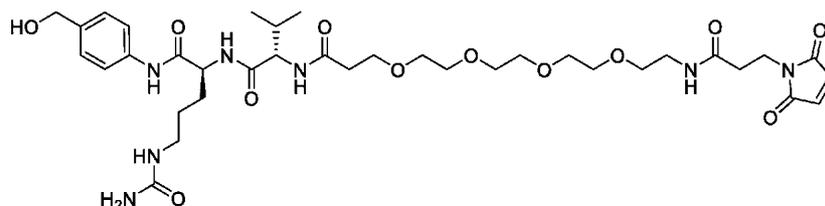
Пептид отщепляют от смолы обработками ТФК:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99, 5×50 мл). Смолу промывают CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (7×50 мл×0,5 мин). Объединенные фильтраты выпаривают досуха при пониженном давлении, полученное твердое вещество растирают с Et<sub>2</sub>O и фильтруют с получением LIN 2-1 (4,59 г, 87% выход) в виде белого твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,67-7,57 (м, 1H), 7,44 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,11 (т, J=5,4 Гц, 1H), 6,73 (с, 2H), 4,49 (д, J=7,2 Гц, 1H), 4,35 (т, J=7,7 Гц, 1H), 3,82 (т, J=7,0 Гц, 2H), 3,74 (т, J=6,2 Гц, 2H), 3,68-3,56 (м, 13H), 3,56-3,45 (м, 2H), 3,39 (кв, J=5,4 Гц, 2H), 3,17 (с, 2H), 2,55 (кв, J=7,0, 6,0 Гц, 4H), 2,16-1,99 (м, 1H), 1,91 (с, 1H), 1,75 (с, 1H), 1,43 (с, 2H), 0,94 (д, J=9,7 Гц, 3H), 0,93 (д, J=9,7 Гц, 3H).

ИЭР-МС m/z: 673,3 (M+H)<sup>+</sup>.

(b) Получение LIN 2-2: MC<sub>2</sub>-PEG<sub>4</sub>-Val-Cit-РАВОН.

LIN 2-2

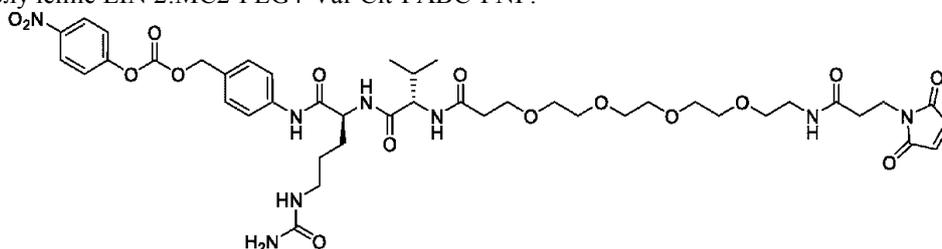


К раствору LIN 2-1 (1,5 г, 2,22 ммоль) и 4-аминобензилового спирта (РАВОН) (0,55 г, 4,45 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (60 мл) добавляют раствор НОВт (0,60 г, 4,45 ммоль) в ДМФ (5 мл), затем добавляют ДИПКДИ (0,69 мл, 4,45 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 5 ч при 23°C, добавляют  $\text{Et}_2\text{O}$  (150 мл) и полученное твердое вещество фильтруют в вакууме с получением неочищенного LIN 2-2 (2,37 г, >100% выход) который применяют на следующей стадии без дальнейшей очистки.

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,57 (д,  $J=8,6$  Гц, 2H), 7,30 (д,  $J=8,6$  Гц, 2H), 6,81 (с, 2H), 4,58 (с, 1H), 4,56 (с, 2H), 4,50 (дд,  $J=9,1, 5,1$  Гц, 1H), 4,21 (д,  $J=7,0$  Гц, 1H), 3,80-3,68 (м, 4H), 3,65-3,59 (м, 12H), 3,55-3,47 (м, 1H), 3,20 (дд,  $J=13,6, 6,9$  Гц, 1H), 3,12 (дт,  $J=13,5, 6,7$  Гц, 1H), 2,55 (тд,  $J=6,1, 2,1$  Гц, 2H), 2,46 (т,  $J=6,9$  Гц, 2H), 2,15-2,07 (м, 1H), 1,95-1,88 (м, 1H), 1,79-1,70 (м, 1H), 1,67-1,50 (м, 2H), 0,99 (д,  $J=7,0$  Гц, 3H), 0,98 (д,  $J=7,0$  Гц, 3H).

ИЭР-МС  $m/z$ : 778,4 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

(с) Получение LIN 2:MC2-PEG4-Val-Cit-PABC-PNP.



К раствору LIN 2-2 (1,73 г, 2,22 ммоль) и бис(4-нитрофенил) карбоната (бис-PNP) (3,38 г, 11,12 ммоль) в ДХМ:ДМФ (8:2, 75 мл) добавляют ДИПЭА (1,16 мл, 6,07 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 19 ч при 23°C и выливают на колонку с силикагелем ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 50:1 до 10:1) с получением чистого LIN 2 (945 мг, 45% выход).

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8,22 (д,  $J=9,2$  Гц, 2H), 7,61 (д,  $J=8,6$  Гц, 2H), 7,34 (д,  $J=9,2$  Гц, 2H), 7,33 (д,  $J=8,6$  Гц, 2H), 6,67 (с, 2H), 4,57-4,47 (м, 1H), 4,23-4,12 (м, 1H), 3,78-3,76 (м, 12H), 3,63-3,50 (м, 16H), 3,49-3,41 (м, 2H), 3,34-3,25 (м, 2H), 3,18-3,03 (м, 2H), 2,51 (т,  $J=5,9$  Гц, 2H), 2,45 (т,  $J=7,2$  Гц, 2H), 2,13-1,99 (м, 1H), 1,92-1,84 (м, 1H), 1,73-1,62 (м, 1H), 1,55-1,45 (м, 2H), 0,92 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H), 0,90 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H).

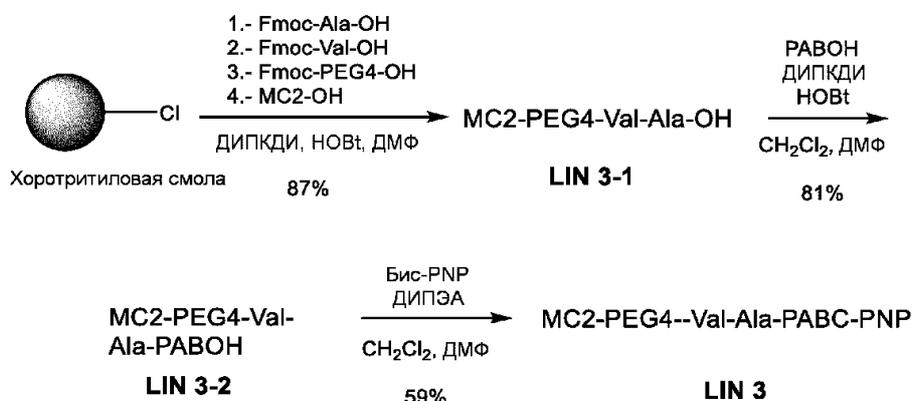
$^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  174,4, 172,9, 172,4, 172,4, 171,6, 170,9, 170,8, 170,7, 163,7, 155,8, 155,7, 152,5, 145,4, 138,8, 134,1, 131,3, 130,4, 129,2, 128,7, 125,7, 124,9, 121,8, 119,8 (x2), 115,1, 70,2 (x2), 70,1 (x2), 70,0, 69,9, 69,8, 69,0, 66,9, 59,2, 53,5, 39,0, 36,0, 34,4, 34,1, 30,4, 29,0, 18,5, 17,5.

ИЭР-МС  $m/z$ : 943,4 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

$R_f = 0,20$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

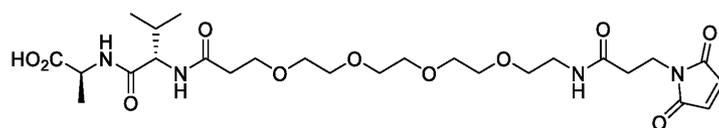
Получение LIN 3: MC2-PEG4-Val-Ala-PABC-PNP.

Схема реакции



(a) Получение LIN 3-1: MC2-PEG4-Val-Ala-OH.

LIN 3-1



Cl-TrtCl-смола (5 г, 1,49 ммоль/г) помещают на пластину фильтрпресса. К смоле добавляют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (25 мл) и смесь перемешивают в течение 1 ч при 23°C. Растворитель удаляют фильтрацией в вакууме. Раствор Fmoc-Ala-OH (2,31 г, 7,41 ммоль) и ДИПЭА (4,28 мл, 24,61 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 мл) добавляют, и смесь перемешивают в течение 10 мин при 23°C. Добавляют еще ДИПЭА (8,60 мл, 49,37 ммоль) и реакционную смесь перемешивают в течение 1 ч при 23°C. Реакцию останавливают добавлением MeOH (10 мл) и перемешивают 15 мин при 23°C. Fmoc-Ala-O-TrtCl-смола подвергают следующим промывкам/обработкам:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5×15 мл×0,5 мин), ДМФ (5×15 мл×0,5 мин), пиперидин:ДМФ (1:4, 15 мл, 1×1 мин, 2×10 мин), ДМФ (5×15 мл×0,5 мин),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5×15 мл×0,5 мин). Рассчитывают нагрузку: 1,34 ммоль/г.

$\text{NH}_2$ -Ala-O-TrtCl-смола промывают ДМФ (5×15 мл×0,5 мин) и раствор Fmoc-Val-OH (9,09 г, 26,79 ммоль) и НОВт (3,62 г, 26,79 ммоль) в ДМФ (25 мл) добавляют к  $\text{NH}_2$ -Ala-O-TrtCl-смоле, затем добавляют ДИПЭА (4,14 мл, 26,79 ммоль) при 23°C. Смесь перемешивают в течение 1,5 ч при 23°C. Реакцию останавливают промыванием ДМФ (5×15 мл×0,5 мин). Fmoc-Val-Ala-O-TrtCl-смола обрабатывают пиперидином:ДМФ (1:4, 15 мл, 1×1 мин, 2×10 мин) и промывают ДМФ (5×15 мл×0,5 мин).

Раствор 15-(9-флуоренилметилоксикарбонил)амино-4,7,10,13-тетраоксапентадекановой кислоты (Fmoc-NH-PEG4-OH) (4,90 г, 8,75 ммоль) и НОВт (1,35 г, 9,98 ммоль) в ДМФ (30 мл) добавляют к  $\text{NH}_2$ -Val-Ala-O-TrtCl-смоле, затем добавляют ДИПЭА (1,55 мл, 10,0 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 22 ч при 23°C. Реакцию останавливают промыванием ДМФ (5×15 мл×0,5 мин). Fmoc-NH-PEG4-Val-Ala-O-TrtCl-смола обрабатывают пиперидином:ДМФ (1:4, 15 мл, 1×1 мин, 2×10 мин) и промывают ДМФ (5×15 мл×0,5 мин).

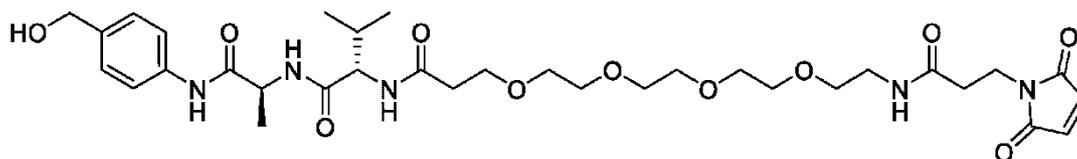
Раствор 3-(малеимида)пропионовой кислоты (MC2-OH) (4,53 г, 26,78 ммоль) и НОВт (3,62 г, 26,77 ммоль) в ДМФ (30 мл) добавляют к  $\text{NH}_2$ -PEG4-Val-Ala-O-TrtCl-смоле, затем добавляют ДИПЭА (4,15 мл, 26,80 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 2 ч при 23°C. Реакцию останавливают промыванием ДМФ (5×15 мл×0,5 мин) и  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5×15 мл×0,5 мин).

Пептид отщепляют от смолы обработками ТФК: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:99, 5×50 мл). Смола промывают  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (7×50 мл×0,5 мин). Объединенные фильтраты выпаривают досуха при пониженном давлении, полученное твердое вещество растирают с  $\text{Et}_2\text{O}$  и фильтруют с получением L 3-1 (4,73 г, 87% выход) в виде белого твердого вещества.

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,67 (шс, 1H), 7,31 (д, J=8,9 Гц, 1H), 7,17 (д, J=7,0 Гц, 1H), 6,85 (т, J=5,6 Гц, 1H), 6,72 (с, 2H), 4,51 (кв, J=7,1 Гц, 1H), 4,38 (дд, J=8,9, 6,9 Гц, 1H), 3,84 (т, J=7,1 Гц, 2H), 3,75 (т, J=5,9 Гц, 2H), 3,69-3,59 (м, 12H), 3,55 (т, J=5,1 Гц, 2H), 3,41 (квд, J=5,0, 1,7 Гц, 2H), 2,62-2,49 (м, 4H), 2,19-2,01 (м, 1H), 1,44 (д, J=7,2 Гц, 3H), 0,95 (д, J=11,9 Гц, 1H), 0,94 (д, J=11,9 Гц, 1H).

(b) Получение LIN 3-2: MC2-PEG4-Val-Ala-PAВОН

LIN 3-2

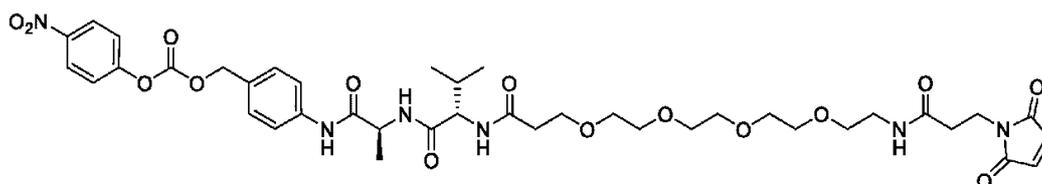


К раствору LIN 3-1 (1,84 г, 3,13 ммоль) и 4-аминобензилового спирта (PAВОН) (0,77 г, 6,27 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (70 мл) добавляют раствор НОВт (0,84 г, 6,27 ммоль) в ДМФ (5 мл) затем добавляют ДИПЭА (0,97 мл, 6,27 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 5 ч при 23°C, добавляют  $\text{Et}_2\text{O}$  (150 мл) и полученное твердое вещество фильтруют в вакууме с получением неочищенного LIN 3-2 (1,74 г, 81% выход) который применяют на следующей стадии без дальнейшей очистки.

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,58 (д, J=8,5 Гц, 2H), 7,30 (д, J=8,5 Гц, 2H), 6,81 (с, 2H), 4,56 (с, 2H), 4,52-4,41 (м, 1H), 4,21 (д, J=6,7 Гц, 1H), 3,91 (п, J=6,5 Гц, 1H), 3,81-3,67 (м, 4H), 3,65-3,54 (м, 12H), 3,49 (т, J=5,5 Гц, 2H), 2,56 (дд, J=6,6, 5,5 Гц, 2H), 2,46 (т, J=6,9 Гц, 2H), 2,12 (г, J=6,8 Гц, 1H), 1,45 (д, J=7,2 Гц, 3H), 1,00 (д, J=12,1 Гц, 3H), 0,98 (д, J=12,1 Гц, 3H).

(c) Получение LIN 3: MC2-PEG4-Val-Ala-PAВC-PPN.

LIN 3



К раствору LIN 3-2 (1,74 г, 2,51 ммоль) и бис(4-нитрофенил) карбоната (бис-PNP) (3,82 г, 12,57 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :DMF (8:1, 70 мл) добавляют ДИПЭА (1,31 мл, 7,54 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 20 ч при 23°C и выливают на колонку с силикагелем ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , от 50:1 до 10:1) с получением чистого LIN 3 (1,26 г, 59% выход).

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,82 (с, 1H), 8,27 (д,  $J=9,2$  Гц, 2H), 7,73 (д,  $J=8,6$  Гц, 2H), 7,38 (д,  $J=9,1$  Гц, 4H), 7,15 (дд,  $J=21,8, 7,2$  Гц, 2H), 6,69 (с, 2H), 6,62 (т,  $J=5,7$  Гц, 1H), 5,24 (с, 2H), 4,67 (п,  $J=7,2$  Гц, 1H), 4,24 (дд,  $J=6,8, 5,7$  Гц, 1H), 3,91-3,76 (м, 2H), 3,71 (ддд,  $J=10,1, 6,1, 4,3$  Гц, 1H), 3,66-3,54 (м, 14H), 3,53 (т,  $J=5,1$  Гц, 1H), 3,46-3,33 (м, 2H), 2,76-2,57 (м, 1H), 2,57-2,42 (м, 2H), 2,33-2,19 (м, 1H), 1,46 (д,  $J=7,1$  Гц, 3H), 1,01 (д,  $J=12,1$  Гц, 3H), 1,00 (д,  $J=12,1$  Гц, 3H).

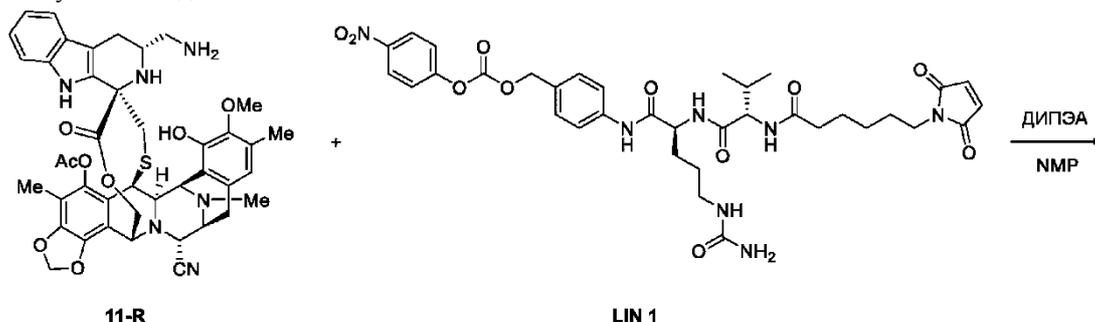
$^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  173,0, 172,1, 171,6 (x2), 170,7, 163,8, 155,7, 152,5, 145,4, 140,3, 138,9, 134,1, 130,4, 129,1, 125,6, 124,8, 121,9, 119,7, 115,1, 70,2, 70,1 (x3), 70,0, 69,9, 69,8, 69,0, 66,9, 59,1, 53,4, 49,7, 39,0, 36,0, 34,3, 34,1, 30,4, 18,3, 17,3, 16,6.

ИЭР-МС  $m/z$ : 857,3 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

$R_f=0,45$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1).

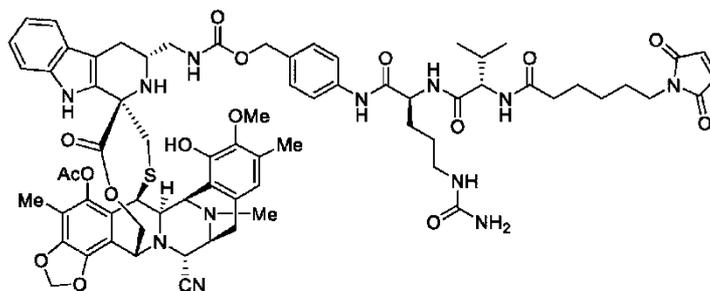
Пример 1: Синтез соединения формулы D-X-(AA) $_w$ -(T) $_g$ -L $_1$ .

Получение соединения DL-1



11-R

LIN 1



DL 1

К раствору 11-R (100 мг, 0,12 ммоль) и LIN 1 (465 мг, 0,63 ммоль) в N-Метил-2-пирролидоне (NMP) (15 мл) добавляют N,N-диизопропилэтиламин (ДИПЭА) (111 мл, 0,63 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 дней при 23°C, разбавляют  $\text{EtOAc}$  (50 мл) и промывают  $\text{H}_2\text{O}$  (4×30 мл) и насыщенным водным раствором  $\text{NaCl}$  (30 мл). Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Остаток очищают флэш-хроматографией на силикагеле ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ , от 99:1 до 90:10) с получением DL 1, который очищают препаративной ВЭЖХ с получением чистого DL 1 (69 мг, 40% выход).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,85 (д,  $J=7,9$  Гц, 1H), 7,59 (д,  $J=8,1$  Гц, 2H), 7,36 (д,  $J=8,2$  Гц, 2H), 7,30 (д,  $J=7,9$  Гц, 1H), 7,22 (д,  $J=8,2$  Гц, 1H), 7,01 (т,  $J=7,6$  Гц, 1H), 6,91 (т,  $J=7,5$  Гц, 1H), 6,72 (с, 2H), 6,58 (с, 1H), 6,26 (с, 1H), 6,07 (с, 1H), 5,25-5,14 (м, 2H), 5,14-5,01 (м, 2H), 4,67 (шс, 1H), 4,51 (д,  $J=6,7$  Гц, 2H), 4,28 (дд,  $J=16,2, 7,1$  Гц, 4H), 4,21-4,05 (м, 3H), 3,71 (с, 3H), 3,51-3,40 (м, 2H), 3,36-3,32 (м, 2H), 3,23-2,99 (м, 2H), 2,99-2,72 (м, 2H), 2,65 (д,  $J=14,9$  Гц, 2H), 2,28 (с, 3H), 2,25 (с, 3H), 2,10 (с, 3H), 2,04 (с, 3H), 1,96-1,83 (м, 1H), 1,80-1,68 (м, 2H), 1,65-1,50 (м, 10H), 1,35-1,23 (м, 2H), 0,95 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H), 0,94 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H).

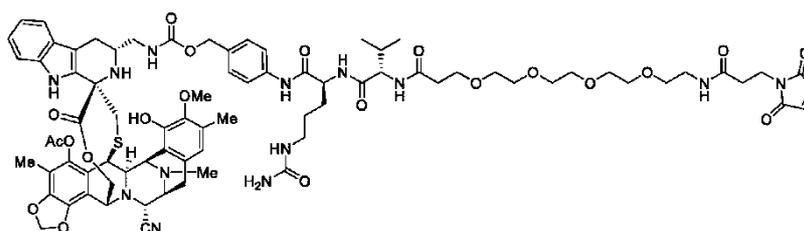
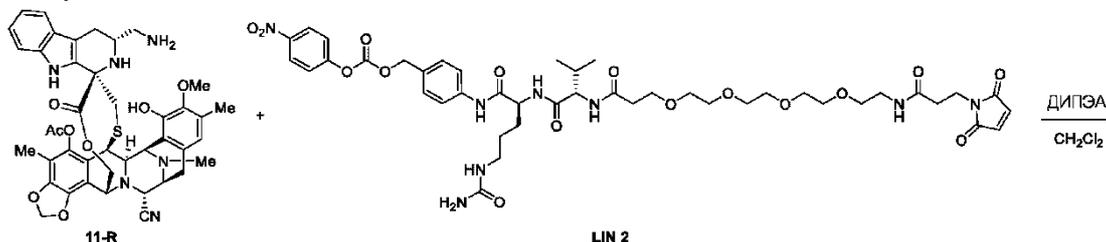
$^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CD}_3\text{OH}/\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174,9, 172,5, 171,5, 171,1, 170,7, 169,5, 160,8, 157,4, 148,6, 146,1, 143,6, 141,1, 140,9, 138,0, 136,8, 133,9, 132,6, 130,5, 129,8, 129,6, 128,6, 126,0, 121,6, 120,4, 119,8, 119,0, 118,6, 118,0, 117,8, 116,7, 113,5, 112,8, 110,9, 109,1, 102,3, 66,0, 63,1, 62,9, 61,6, 60,2, 59,9, 59,2, 59,1, 58,9,

54,6, 54,6, 53,5, 50,7, 45,3, 42,1, 40,5, 37,1, 35,3, 30,3, 29,1, 27,9, 26,3, 26,0, 25,0, 24,5, 23,6, 19,4, 18,6, 17,7, 15,1, 8,6.

ИЭР-МС  $m/z$ : 1391,4 (M+H)<sup>+</sup>.

$R_f=0,40$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 9:1).

Получение соединения DL 2



DL 2

К раствору 11-R (50 мг, 0,063 ммоль) и LIN 2 (118 мг, 0,12 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 мл) добавляют N,N-диизопропилэтиламин (ДИПЭА) (22 мл, 0,12 ммоль) при 23°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 18 ч при 23°C и выливают на колонку с силикагелем (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, от 99:1 до 90:10) с получением DL 2, который очищают препаративной ВЭЖХ с получением чистого DL 2 (30 мг, 30% выход).

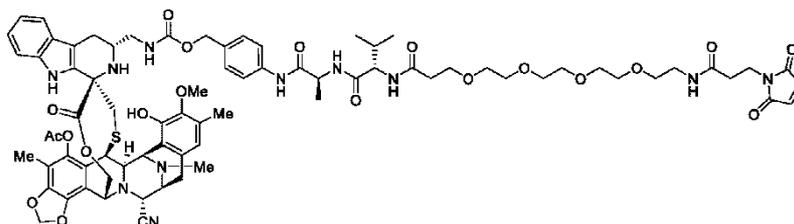
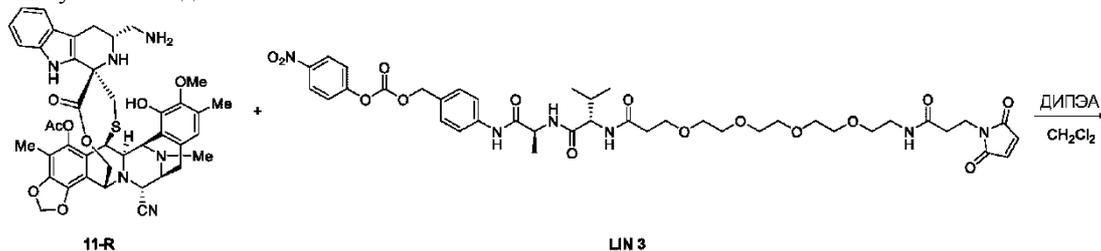
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,63 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,59 (д, J=8,1 Гц, 2H), 7,39 (д, J=8,2 Гц, 2H), 7,30 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,23 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,01 (т, J=7,6 Гц, 1H), 6,92 (т, J=7,5 Гц, 1H), 6,76 (с, 2H), 6,58 (с, 1H), 6,28 (с, 1H), 6,09 (с, 1H), 5,25-5,14 (м, 2H), 5,14-5,01 (м, 2H), 4,67 (шс, 1H), 4,51 (д, J=6,7 Гц, 2H), 4,36-4,24 (м, 4H), 4,23-4,15 (м, 3H), 3,73 (с, 3H), 3,75-3,69 (м, 3H), 3,58-3,50 (м, 14H), 3,51-3,40 (м, 2H), 3,36-3,32 (м, 2H), 3,23-3,05 (м, 2H), 2,99-2,88 (м, 2H), 2,68 (д, J=14,9 Гц, 2H), 2,56-2,41 (м, 2H), 2,29 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,10 (с, 3H), 2,05 (с, 3H), 1,96-1,83 (м, 1H), 1,80-1,68 (м, 2H), 1,65-1,50 (м, 10H), 1,35-1,23 (м, 2H), 0,96 (д, J=6,8 Гц, 3H), 0,95 (д, J=6,8 Гц, 3H).

<sup>13</sup>C ЯМР (75 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 173,0, 172,34, 171,6, 171,5 (x2), 170,8 (x2), 170,7, 169,4, 160,8, 157,4, 155,8, 148,7, 148,5, 146,2, 146,1, 143,7, 141,2, 141,1, 140,9, 138,4, 136,9, 134,0, 131,3, 129,8, 128,7, 128,5, 126,0, 121,5, 120,5, 119,9, 119,7, 118,5, 117,7, 112,7, 102,4, 70,1 (x5), 70,0 (x2), 69,9, 69,8, 69,7, 69,0, 68,9, 66,8, 61,6, 59,9, 59,2, 54,6, 54,0, 53,5, 40,4, 40,0, 39,0, 36,0, 35,1, 34,4, 34,1, 30,4, 29,0, 26,4, 24,6, 23,6, 19,3, 18,5, 17,4, 15,1, 8,4.

ИЭР-МС  $m/z$ : 1596,6 (M+H)<sup>+</sup>.

$R_f=0,48$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 9:1).

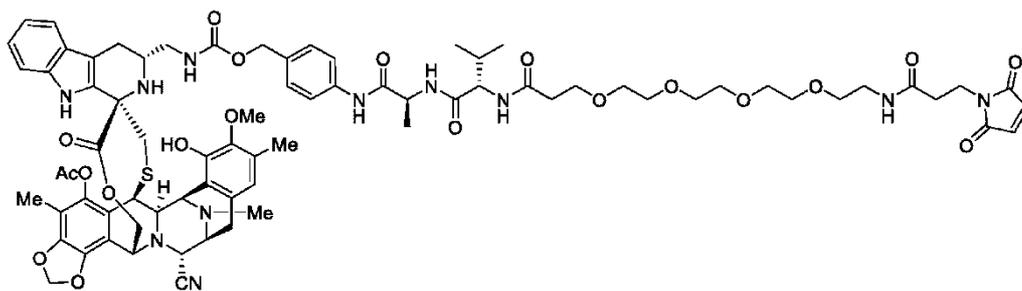
Получение соединения DL 3



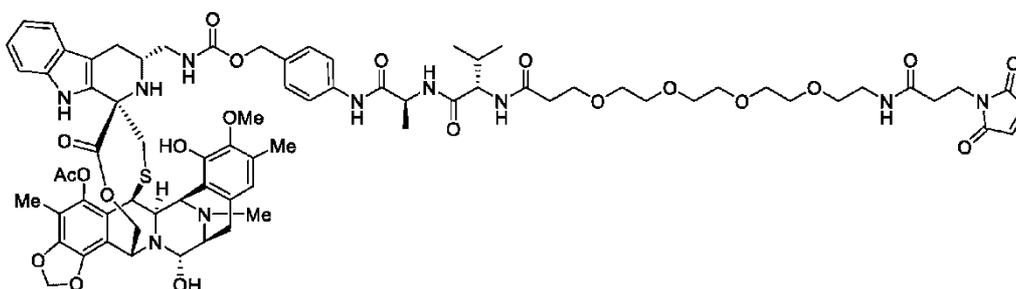
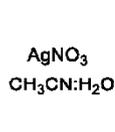
DL 3

К раствору 11-R (50 мг, 0,063 ммоль) и LIN 3 (108 мг, 0,12 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 мл) добавляют N,N-





DL 3



DL 5

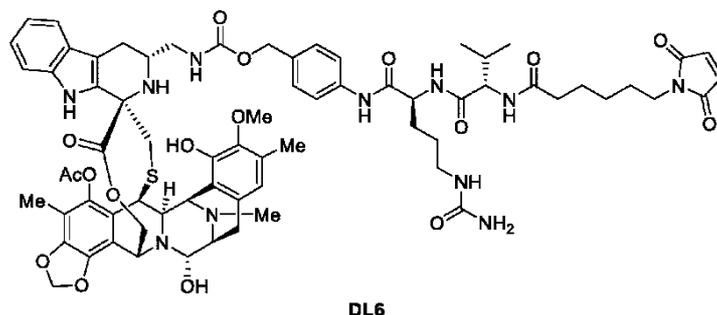
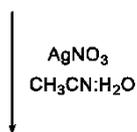
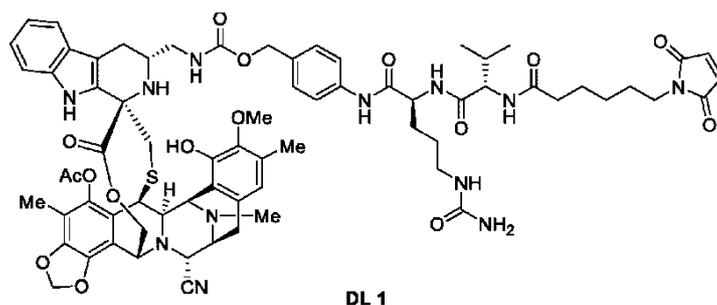
К раствору DL 3 (30 мг, 0,026 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 6 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (132 мг, 0,79 ммоль). Через 18 ч при 23°C, реакционную смесь гасят водным раствором  $\text{NaHCO}_3$  и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (x3). Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают в автоматической системе для флэш-хроматографии ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 95:5 до 50:50) с получением чистого DL 5 (34 мг, 87%).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 7,64 (д,  $J=8,4$  Гц, 2H), 7,38 (д,  $J=8,3$  Гц, 2H), 7,29 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 7,22 (д,  $J=8,1$  Гц, 1H), 7,00 (ддд,  $J=8,2, 7,0, 1,2$  Гц, 1H), 6,91 (ддд,  $J=8,0, 7,0, 1,1$  Гц, 1H), 6,75 (с, 2H), 6,64 (с, 1H), 6,25 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 6,06 (д,  $J=1,4$  Гц, 1H), 5,23-5,06 (м, 3H), 4,60 (с, 1H), 4,47 (кв,  $J=7,1$  Гц, 1H), 4,31 (дд,  $J=16,3, 4,1$  Гц, 2H), 4,18 (д,  $J=6,6$  Гц, 1H), 4,12 (д,  $J=11,6$  Гц, 1H), 3,76-3,66 (м, 2H), 3,61 (д,  $J=5,3$  Гц, 1H), 3,57-3,48 (м, 16H), 3,44 (т,  $J=7,2$  Гц, 4H), 3,27 (т,  $J=5,3$  Гц, 3H), 3,13 (дд,  $J=13,4, 6,7$  Гц, 1H), 2,96 (д,  $J=18,0$  Гц, 1H), 2,85 (дд,  $J=18,1, 9,3$  Гц, 1H), 2,75-2,61 (м, 2H), 2,56-2,48 (м, 2H), 2,43 (т,  $J=6,9$  Гц, 2H), 2,28 (с, 6H), 2,24 (с, 1H), 2,14 (с, 3H), 2,12-2,05 (м, 2H), 2,04 (с, 3H), 1,43 (д,  $J=7,2$  Гц, 3H), 0,99 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H), 0,96 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  173,1, 172,1, 171,7, 171,6, 171,5, 170,7, 169,3, 162,5, 157,5, 148,9, 146,1, 144,1, 141,4, 140,9, 138,2, 136,9, 134,0, 132,7, 131,2, 129,7, 128,4, 126,0, 121,4, 120,1, 119,8, 119,7, 118,5, 117,6, 114,3, 112,5, 110,8, 102,3, 90,5, 70,1 (x2), 70,0 (x2), 69,9, 69,8, 69,0, 66,8, 65,9, 63,1, 60,2, 59,2, 59,1, 57,9, 55,6, 55,1, 53,6, 50,8, 49,6, 45,4, 42,1, 40,3, 39,5, 39,0, 35,9, 34,3, 34,0 (x2), 29,3, 24,7, 23,2, 19,1, 18,3, 17,3, 16,5, 15,0, 8,2.

ИЭР-МС  $m/z$ : 1483,4 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ )<sup>+</sup>.

Получение соединения DL 6



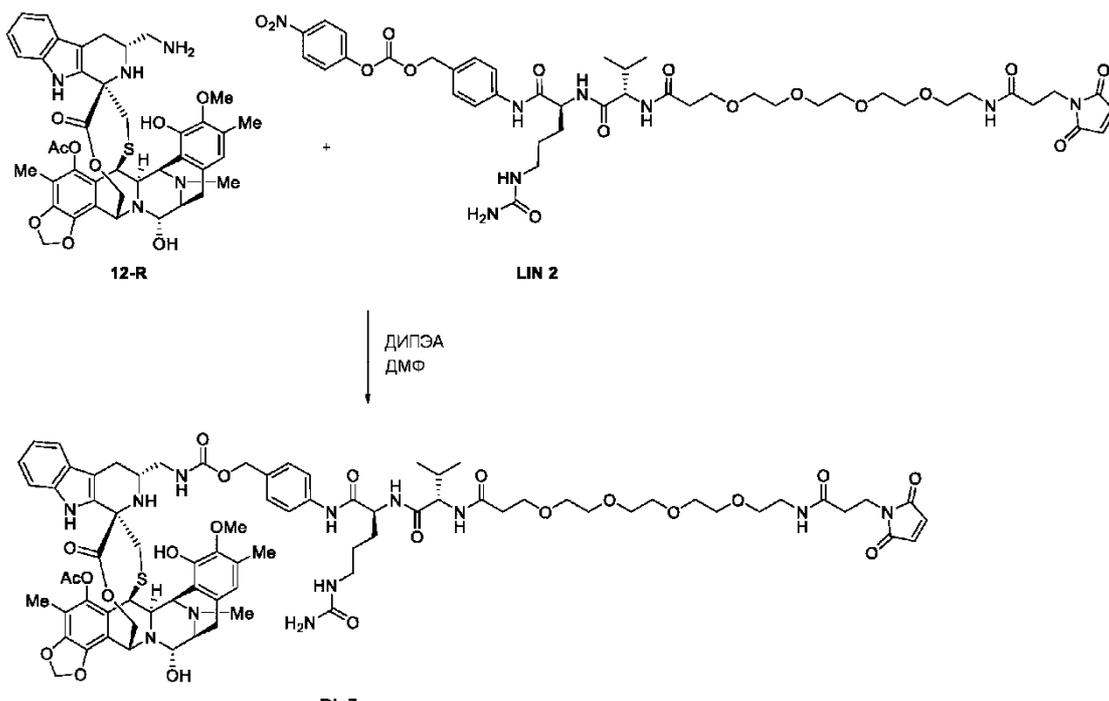
К раствору DL 1 (50 мг, 0,035 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (1,39:1, 2,39 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (181 мг, 1,07 ммоль). Через 18 ч при 23°C, реакционную смесь гасят водным раствором  $\text{NaHCO}_3:\text{NaCl}$  (1:1) и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (x3). Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают препаративной ВЭЖХ с получением чистого DL 6 (23 мг, 47% выход).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,62 (д,  $J=8,1$  Гц, 2H), 7,41 (д,  $J=8,1$  Гц, 2H), 7,39 (д,  $J=8,2$  Гц, 1H), 7,29 (д,  $J=8,2$  Гц, 1H), 7,12 (ддд,  $J=8,0, 7,0, 0,9$  Гц, 1H), 7,01 (ддд,  $J=8,0, 7,0, 0,9$  Гц, 1H), 6,82 (с, 1H), 6,75 (с, 2H), 6,32 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 6,12 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 5,32 (д,  $J=11,8$  Гц, 1H), 5,24-5,12 (м, 3H), 4,81 (м, 2H), 4,65 (с, 1H), 4,47 (с, 1H), 4,31 (д,  $J=11,6$  Гц, 1H), 4,18 (д,  $J=9,0$  Гц, 1H), 4,12 (д,  $J=7,4$  Гц, 1H), 3,93-3,83 (м, 2H), 3,76 (с, 3H), 3,65 (д,  $J=12,3$  Гц, 1H), 3,44 (т,  $J=7,1$  Гц, 2H), 3,23-2,99 (м, 2H), 2,92 (д,  $J=15,9$  Гц, 1H), 2,62 (с, 3H), 2,45 (д,  $J=15,5$  Гц, 1H), 2,35 (с, 3H), 2,30 (с, 3H), 2,28 (д,  $J=13,3$  Гц, 6H), 2,07 (с, 3H), 2,13-2,00 (м, 2H), 1,90 (м, 1H), 1,80-1,70 (м, 2H), 1,65-1,50 (м, 4H), 1,34-1,22 (м, 2H), 0,96 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H), 0,95 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  175,0, 172,6, 171,1, 170,9, 169,2, 169,1, 160,9, 157,7, 149,5, 147,0, 146,0, 144,8, 141,7, 141,2, 137,3, 136,8, 133,9, 132,5, 130,5, 129,8, 129,6, 128,5, 127,9, 122,6, 120,3, 119,8, 119,2, 118,4, 117,9, 116,7, 113,1, 112,8, 111,1, 108,4, 102,7, 101,5, 89,1, 66,2, 63,1, 62,9, 61,6, 59,3, 56,9, 56,1, 55,5, 54,7, 53,6, 50,7, 45,3, 42,2, 39,0, 38,9, 37,0, 35,1, 30,1, 29,3, 27,9, 26,5, 26,3, 26,0, 25,0, 23,1, 19,1, 18,4, 17,6, 15,2, 8,3.

ИЭР-МС  $m/z$ : 1364,4 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ )<sup>+</sup>.

Получение соединения DL 7



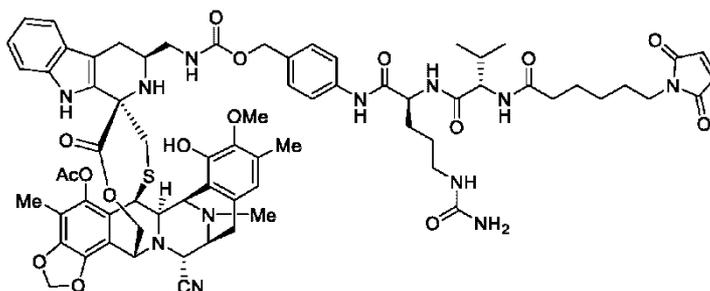
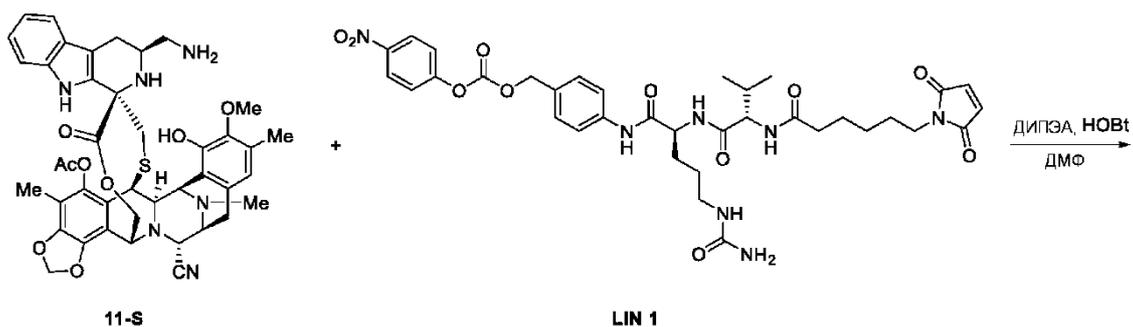
К раствору 12-R (100 мг, 0,12 ммоль) и LIN 2 (180 мг, 0,19 ммоль) в диметилформамиде (ДМФ) (2 мл, 0,06 М) добавляют N,N-диизопропилэтиламин (ДИПЭА) (90 мл, 0,51 ммоль) при 23°C. Через 18 ч реакционную смесь очищают препаративной ВЭЖХ с получением чистого DL 7 (125 мг, 62% выход).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,65 (д,  $J=8,1$  Гц, 2H), 7,41 (д,  $J=8,1$  Гц, 2H), 7,39 (д,  $J=8,2$  Гц, 1H), 7,29 (д,  $J=8,2$  Гц, 1H), 7,13 (ддд,  $J=8,2, 7,0, 1,1$  Гц, 1H), 7,01 (ддд,  $J=8,2, 7,0, 1,1$  Гц, 1H), 6,82 (с, 1H), 6,76 (с, 2H), 6,32 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 6,12 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 5,32 (д,  $J=11,8$  Гц, 1H), 5,18 (д,  $J=5,7$  Гц, 2H), 4,82 (м, 2H), 4,64 (д,  $J=2,8$  Гц, 1H), 4,47 (с, 1H), 4,33 (дд,  $J=12,0, 2,1$  Гц, 1H), 4,22-4,12 (м, 2H), 3,96 (шс, 1H), 3,88 (д,  $J=5,0$  Гц, 1H), 3,78-3,67 (м, 8H), 3,60-3,52 (м, 14H), 3,56-3,41 (м, 3H), 3,27 (т,  $J=5,4$  Гц, 2H), 3,22-3,04 (м, 4H), 2,93 (д,  $J=16,0$  Гц, 1H), 2,70-2,58 (м, 3H), 2,55 (т,  $J=6,9$  Гц, 2H), 2,43 (т,  $J=6,9$  Гц, 2H), 2,36 (с, 3H), 2,30 (с, 3H), 2,15-2,07 (м, 1H), 2,06 (с, 3H), 2,02 (с, 2H), 1,95-1,87 (м, 1H), 1,80-1,70 (м, 1H), 1,65-1,50 (м, 2H), 0,97 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H), 0,96 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (125 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  173,1, 172,5, 171,6, 171,0, 170,7 (x2), 169,3, 168,5, 160,9, 160,0, 149,6, 147,1, 144,9, 141,8, 141,3, 138,2, 137,4, 134,1, 132,4, 128,6, 127,9, 125,2, 122,9, 120,2, 119,9, 119,4, 118,1 (x2), 117,1, 114,8, 113,2, 112,7, 111,3, 108,3, 102,7, 89,0, 70,2, 70,1 (x2), 70,0, 69,9, 69,8, 69,0, 66,9, 66,3, 65,5, 65,4, 61,9, 59,4, 56,9, 56,1, 55,4 (x2), 54,6, 53,7, 43,7, 42,4, 39,1, 39,0, 36,0, 34,4, 34,1, 31,4, 30,3, 28,9, 26,5, 23,1, 22,3, 19,2, 18,5, 17,5, 15,3, 13,2, 8,5.

ИЭР-МС  $m/z$ : 1570,4 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

Получение соединения DL 8



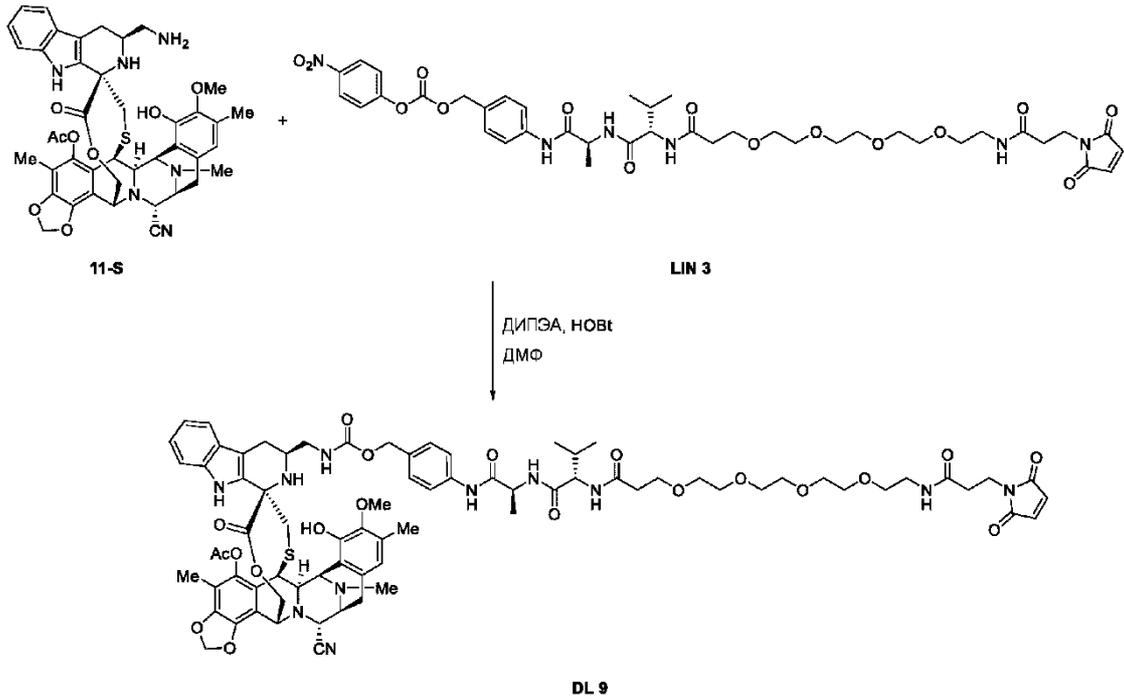
К раствору 11-S (30 мг, 0,037 ммоль) и LIN 1 (56 мг, 0,075 ммоль) в диметилформамиде (DMF) (2 мл, 0,018 М) добавляют *N,N*-диизопропилэтиламин (ДИПЭА) (26 мл, 0,15 ммоль) и 1-гидроксибензотриазол (HOBT, 10 мг, 0,075 ммоль) при 23°C. Через 18 ч реакционную смесь очищают препаративной ВЭЖХ с получением чистого DL 8 (30 мг, 58% выход).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,59 (д,  $J=8,1$  Гц, 2H), 7,36 (д,  $J=8,2$  Гц, 2H), 7,28 (д,  $J=7,9$  Гц, 1H), 7,23 (д,  $J=8,2$  Гц, 1H), 7,00 (т,  $J=7,6$  Гц, 1H), 6,91 (т,  $J=7,5$  Гц, 1H), 6,74 (с, 2H), 6,50 (с, 1H), 6,27 (с, 1H), 6,09 (с, 1H), 5,20-5,03 (м, 2H), 4,65 (шс, 1H), 4,54-4,46 (м, 1H), 4,43-4,37 (м, 1H), 4,34-4,30 (м, 1H), 4,17-4,12 (м, 1H), 3,75 (с, 3H), 3,45 (т,  $J=7,0$  Гц, 4H), 3,32-3,23 (м, 2H), 3,38 (д,  $J=7,6$  Гц, 2H), 3,23-2,99 (м, 2H), 3,21-2,97 (м, 3H), 2,94-2,83 (м, 3H), 2,61-2,53 (м, 2H), 2,48-2,34 (м, 2H), 2,28 (с, 3H), 2,27-2,22 (м, 1H), 2,21 (с, 3H), 2,11 (с, 3H), 2,08-2,02 (м, 1H), 1,99 (с, 3H), 1,91-1,82 (м, 1H), 1,77-1,68 (м, 1H), 1,65-1,50 (м, 6H), 1,31-1,24 (м, 2H), 0,94 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H), 0,93 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  174,9, 174,8, 172,5, 172,0, 171,2, 170,8, 169,4, 160,8, 157,5, 148,6, 146,0, 143,6, 140,9, 140,8, 138,0, 136,6, 136,5, 134,0, 132,7, 130,2, 129,9, 129,7, 128,7, 128,4, 126,3, 121,6, 120,5, 120,0, 119,8, 119,3, 118,7, 118,0, 117,7, 113,5, 112,9, 111,0, 107,8, 102,4, 65,9, 63,5, 61,4, 60,6, 59,7, 59,3, 59,2, 59,1, 58,8, 54,6, 54,6, 53,4, 44,8, 42,3, 40,6, 38,3, 37,1, 35,3 (x2), 30,3, 29,1, 28,0, 26,3, 26,0, 25,1, 24,0, 23,7, 19,5, 18,6, 17,7, 15,2, 8,6.

ИЭР-МС  $m/z$ : 1391,4 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

Получение соединения DL 9



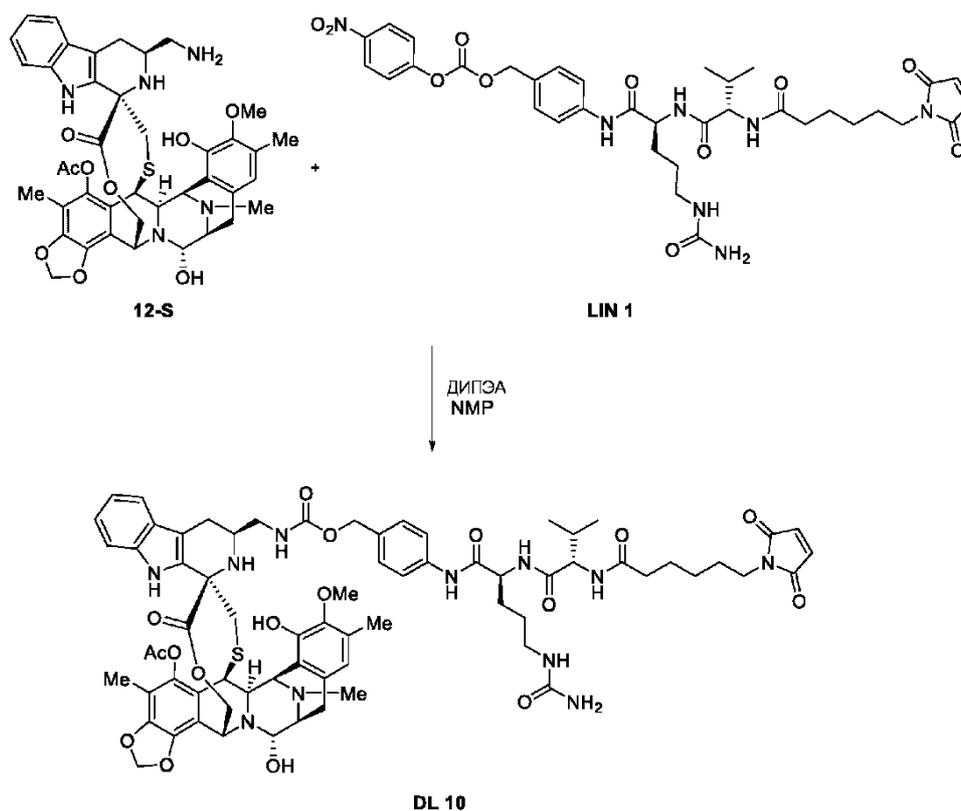
К раствору 11-S (110 мг, 0,13 ммоль) и LIN-3 (119 мг, 0,13 ммоль) в диметилформамиде (ДМФ) (4 мл, 0,032 М) добавляют *N,N*-диизопропилэтиламин (ДИПЭА) (97 мл, 0,55 ммоль) и 1-гидроксибензотриазол (HOBT, 38 мг, 0,27 ммоль) при 23°C. Через 18 ч реакционную смесь очищают препаративной ВЭЖХ с получением чистого DL 9 (120 мг, 57% выход).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,62 (д, J=8,6 Гц, 2H), 7,36 (д, J=8,5 Гц, 2H), 7,28 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,23 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,00 (ддд, J=8,2, 7,0, 1,2 Гц, 1H), 6,91 (тд, J=7,5, 7,0, 1,1 Гц, 1H), 6,75 (с, 2H), 6,50 (с, 1H), 6,26 (д, J=1,3 Гц, 1H), 6,08 (д, J=1,4 Гц, 1H), 5,19 (д, J=11,4 Гц, 1H), 5,09 (д, J=10,4 Гц, 2H), 4,65 (с, 1H), 4,48 (п, J=6,9 Гц, 1H), 4,42-4,38 (м, 2H), 4,34-4,30 (м, 2H), 4,22-4,14 (м, 1H), 3,78-3,64 (м, 5H), 3,61-3,50 (м, 8H), 3,45 (т, J=5,4 Гц, 2H), 3,38 (д, J=5,1 Гц, 1H), 3,33-3,23 (м, 3H), 3,02 (дд, J=13,5, 5,5 Гц, 1H), 2,89 (д, J=9,4 Гц, 2H), 2,62-2,33 (м, 7H), 2,27 (с, 3H), 2,22 (с, 3H), 2,12 (с, 3H), 2,15-2,05 (м, 1H), 1,99 (м, 3H), 1,42 (д, J=7,1 Гц, 3H), 0,97 (дд, J=6,8 Гц, 3H), 0,95 (дд, J=6,8 Гц, 3H).

<sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 173,1 (x2), 172,1, 171,9, 171,6, 171,5, 171,5, 170,7, 169,3, 148,6, 146,0, 143,6, 140,9, 140,8, 138,1, 136,5, 134,1, 132,8, 130,3, 129,8, 128,4, 126,3, 121,6, 120,5, 120,0, 119,7, 119,3, 118,7, 118,0, 117,7, 113,5, 112,9, 111,0, 107,8, 102,4, 70,2, 70,1 (x2), 70,0 (x2), 69,8, 69,1, 66,9, 65,9, 63,5, 61,4, 60,6, 59,7, 59,3, 59,2, 59,1, 58,8, 54,7, 54,6, 49,6, 42,3, 40,5, 39,1, 39,0, 36,0, 34,4 (x2), 34,1, 30,4, 24,0, 23,7, 19,4, 18,5, 17,4, 16,8, 15,1, 8,5.

ИЭР-МС m/z: 1511,4 (M+H)<sup>+</sup>.

Получение соединения DL 10



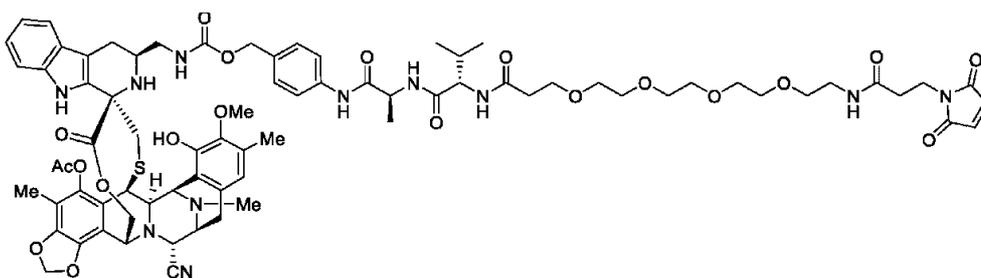
К раствору 12-S (30 мг, 0,058 ммоль) и LIN 1 (98 мг, 0,13 ммоль) в N-метил-2-пирролидоне (NMP) (4 мл, 0,014 М) добавляют N,N-диизопропилэтиламин (ДИПЭА) (83 мл, 0,13 ммоль) при 23°C. Через 18 ч реакционную смесь разбавляют EtOAc (25 мл) и промывают H<sub>2</sub>O (4×25 мл) и водным насыщенным раствором NaCl. Объединенные органические слои сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Остаток очищают флэш-хроматографией на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, от 99:1 до 90:10) и полученное соединение очищают препаративной ВЭЖХ с получением чистого DL 10 (11 мг, 21% выход).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,61 (д, J=8,1 Гц, 2H), 7,39 (д, J=8,1 Гц, 2H), 7,35 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,29 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,08 (ддд, J=8,0, 7,0, 0,9 Гц, 1H), 6,98 (ддд, J=8,0, 7,0, 0,9 Гц, 1H), 6,76 (с, 2H), 6,66 (с, 1H), 6,29 (д, J=1,3 Гц, 1H), 6,14 (д, J=1,3 Гц, 1H), 5,13 (кв, J=12,3 Гц, 2H), 4,93 -4,81 (м, 3H), 4,69 (с, 1H), 4,48 (с, 1H), 4,23 (д, J=10,0 Гц, 1H), 4,13 (дд, J=7,5, 4,0 Гц, 1H), 3,90 (д, J=5,0, 1H), 3,76 (с, 3H), 3,49-3,41 (м, 2H), 3,40-3,27 (м, 1H), 3,28-3,24 (м, 4H), 3,22-3,05 (м, 4H), 2,80-2,65 (м, 3H), 2,63 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 2,28 (с, 3H), 2,13-2,00 (м, 2H), 2,03 (с, 3H), 1,93-1,83(м, 1H), 1,79-1,69 (м, 2H), 1,65-1,51 (м, 6H), 1,34-1,22 (м, 2H), 0,96 (д, J=6,8 Гц, 3H), 0,95 (д, J=6,8 Гц, 3H).

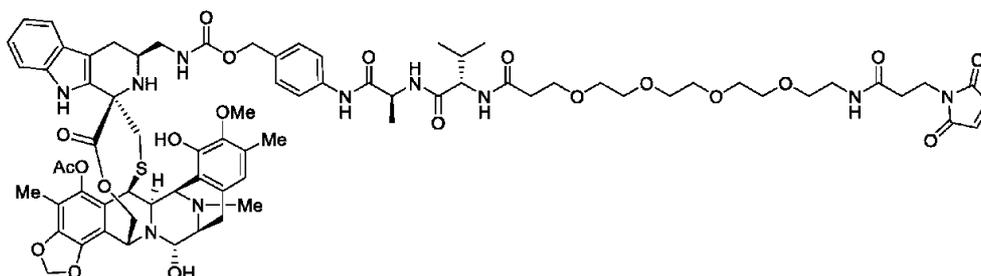
<sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 174,9, 172,7, 172,6, 171,1, 170,8 (x2), 169,1, 160,9, 149,4, 146,6, 144,7, 142,3, 141,5, 141,0, 138,1, 136,8, 133,9, 133,5, 132,6, 128,5, 127,5, 125,9, 122,2, 120,9, 119,8, 117,8, 113,2, 113,0, 111,2, 107,3, 102,6, 89,2, 66,2, 61,7, 61,3, 60,2, 59,4, 59,3, 57,4, 56,9, 55,8, 55,7, 55,2, 54,8, 53,5, 42,0, 39,1, 37,1, 35,2, 31,7, 30,2, 29,4, 29,1, 29,0 (x2), 27,9, 26,4, 26,0, 25,0, 23,3, 22,4, 19,2, 18,5, 17,7, 15,2, 13,2, 8,5.

ИЭР-МС m/z: 1364,4 (M-H<sub>2</sub>O+H)<sup>+</sup>.

Получение соединения DL 11



DL 9



DL 11

К раствору DL 9 (90 мг, 0,059 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN:H}_2\text{O}$  (1,39:1, 4 мл, 0,015 М) добавляют  $\text{AgNO}_3$  (298 мг, 1,78 ммоль). Через 21 ч при  $23^\circ\text{C}$ , реакционную смесь гасят водным раствором  $\text{NaHCO}_3:\text{NaCl}$  (1:1) и экстрагируют  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (x3). Объединенные органические слои сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтруют и концентрируют под вакуумом. Полученный остаток очищают в автоматической системе для флэш-хроматографии ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , от 95:5 до 50:50) с получением чистого DL 11 (65 мг, 73% выход).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,62 (д,  $J=8,6$  Гц, 1H), 7,37 (д,  $J=8,5$  Гц, 2H), 7,28 (д,  $J=7,8$  Гц, 1H), 7,23 (д,  $J=8,2$  Гц, 1H), 6,99 (дд,  $J=8,2, 7,0, 1,2$  Гц, 1H), 6,90 (дд,  $J=8,0, 7,0, 1,1$  Гц, 1H), 6,76 (с, 2H), 6,52 (с, 1H), 6,25 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 6,06 (д,  $J=1,3$  Гц, 1H), 5,28 (д,  $J=11,4$  Гц, 1H), 5,09 (д,  $J=10,4$  Гц, 1H), 4,59 (с, 1H), 4,47 (кв,  $J=7,1$  Гц, 1H), 4,33 (дд,  $J=11,5, 1,9$  Гц, 1H), 4,33-4,25 (м, 2H), 4,19 (д,  $J=6,6$  Гц, 1H), 3,75 (с, 3H), 3,75-3,67 (м, 3H), 3,61 (д,  $J=5,3$  Гц, 1H), 3,58-3,51 (м, 12H), 3,45 (дд,  $J=10,6, 5,2$  Гц, 2H), 3,34 (с, 3H), 3,27 (т,  $J=5,5$  Гц, 3H), 3,04 (дд,  $J=13,4, 6,7$  Гц, 1H), 2,88-2,82 (м, 3H), 2,64-2,35 (м, 7H), 2,27 (с, 3H), 2,23 (с, 3H), 2,17-2,04 (м, 1H), 2,09 (с, 3H), 2,01 (д,  $J=7,2$  Гц, 1H), 1,98 (с, 3H), 1,42 (д,  $J=7,2$  Гц, 3H), 0,98 (дд,  $J=6,8$  Гц, 3H), 0,95 (дд,  $J=6,8$  Гц, 3H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  173,1, 172,1, 172,0, 171,6, 171,5, 170,7, 169,4, 157,6, 148,6, 145,8, 143,7, 141,1, 140,8, 138,1, 136,5, 134,1, 132,8, 130,4, 130,0, 129,8, 128,4, 126,4, 126,2, 121,5, 120,9, 120,1, 119,8, 118,6, 117,7, 114,9, 112,4, 111,0, 107,7, 102,1, 91,0, 70,2, 70,1 (x2), 70,0 (x2), 69,8, 69,1, 66,9, 65,9, 63,5, 60,5, 59,3, 59,1, 58,2, 55,2, 54,7, 52,9, 49,6, 44,9, 42,6, 40,0, 39,0, 38,3, 36,0, 34,4, 34,1, 30,4, 29,4, 24,0, 23,3, 19,4, 18,5, 17,4, 16,8, 15,1, 8,4.

ИЭР-МС  $m/z$ : 1483,4 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$ ) $^+$ .

Пример 2. Получение конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC).

В этом примере описан синтез конъюгатов антитело-лекарственное средство по настоящему изобретению. Следует отметить, что эти синтезы являются типовыми, и что описанные процессы могут применяться ко всем соединениям и антителам, описанным в настоящем документе.

Пример 2а. Получение анти-CD13 моноклонального антитела.

Анти-CD13 моноклональные антитела получают хорошо известными методами, широко применяемыми в данной области техники. Коротко, мышей BALB/c иммунизируют эндотелиальными клетками человека, выделенными из пуповины. Для этого  $1,5 \times 10^7$  клеток вводят инъекцией мышам внутривенно в дни -45 и -30 и внутривенно в день -3. В день 0 селезенку этих животных вынимают, и клетки селезенки сливают с SP2 клетками миеломы мыши в отношении 4:1 согласно стандартной методике получения гибридомы, и распределяют по 96-луночному планшету для культивирования ткани (Costar Corp., Cambridge, MA). Через 2 недели супернатанты культуры гибридомы собирают, и их реакционную способность в отношении клеточной линии, использованной на стадии иммунизации, тестируют проточной цитометрией. Положительные супернатанты анализируют иммунофлуоресцентным окрашиванием соответствующих клеток, применяемых в качестве антигенов. Гибридомы, демонстрирующие специфическое окрашивание, шаблон иммунопреципитации и распределение клеток выбирают и клонируют и субклонируют предельным разведением.

Как только клоны выбраны, клетки культивируют в среде RPMI-1640 с добавлением 10% об./об. фетальной телячьей сыворотки, 2 мМ глутамина, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина при 37°C в течение 3-4 дней до тех пор, пока среда не станет бледно-желтой. На этой стадии две трети объема среды удаляют, центрифугируют при 1000xg в течение 10 мин для осаждения клеток, и супернатант либо центрифугируют снова для дальнейшей очистки при 3000xg в течение 10 мин, либо фильтруют через мембраны с размером пор 22 мкм. Очищенный супернатант подвергают преципитации с 55% насыщением сульфатом аммония, и полученный пеллет ресуспендируют в 100 мМ Трис-НСl pH 7,8 (1 мл на 100 мл исходного очищенного супернатанта) и диализируют при 4°C в течение 16-24 ч против 5 л 100 мМ Трис-НСl pH 7,8 с 150 мМ NaCl, меняя диализирующий раствор, по меньшей мере, три раза. Диализированный продукт наконец загружают в колонку Protein A-Sepharose, и соответствующее моноклональное антитело элюируют с 100 мМ цитрата натрия при pH 3,0 или, альтернативно, с 1М глицином при pH 3,0. Фракции, содержащие антитело, нейтрализуют с 2М Трис-НСl pH 9,0 и затем диализируют против ФРФБ и хранят при -80°C до применения.

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC1 с трастузумабом и DL 1.

(a) Частичное восстановление трастузумаба с получением частично восстановленного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, pH 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, pH 8,0). Концентрацию трастузумаба (13,9 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (0,33 мл, 4,6 мг, 30,6 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, pH 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбоксиэтил]фосфина (ТКЭФ) (17,5 мл, 87,6 нмоль, 3 экв.). Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 4,0.

(b) Получение ADC 1.

К раствору частично восстановленного трастузумаба (140 мл, 1,4 мг, 9 нмоль), добавляют N,N-диметилацетамид (ДМА) (28,2 мл) затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 1 (10 мМ в ДМА, 6,8 мл, 67,5 нмоль, 7,5 экв.). При добавлении DL 1, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 30 мин при 20°C, и мутность исчезает во время реакции конъюгирования. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 6,8 мл, 67,5 нмоль), с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 1 концентрируют до конечной концентрации 6,05 мг/мл по данным УФ, и получают 232 мл (1,4 мг, 9,3 нмоль, 103%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (89%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC 2 с трастузумабом и DL 2.

(a) Частичное восстановление трастузумаба с получением частично восстановленного трастузумаба.

Раствор Трастузумаба (0,33 мл, 4,6 мг, 30,6 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, pH 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбоксиэтил]фосфин (ТКЭФ) (17,5 мл, 87,6 нмоль, 3 экв.) Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 3,9.

(b) Получение ADC 2.

К раствору частично восстановленного трастузумаба (140 мл, 1,4 мг, 9 нмоль), добавляют N,N-диметилацетамид (ДМА) (28,2 мл) затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 2 (10 мМ в ДМА, 6,8 мл, 67,5 нмоль, 7,5 экв.). При добавлении DL 2 раствор перемешивают в течение 30 мин при 20°C. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 6,8 мл, 67,5 нмоль) с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 2 концентрируют до конечной концентрации 5,19 мг/мл по данным УФ и получают 270 мл (1,4 мг, 9,3 нмоль, 103%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (65%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC 3 с трастузумабом и соединением DL 3.

(a) Частичное восстановление трастузумаба с получением частично восстановленного Трастузумаба.

Раствор трастузумаба (0,33 мл, 4,6 мг, 30,6 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, pH 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбоксиэтил]фосфина (ТКЭФ) (17,5 мл, 87,6 нмоль, 3 экв.) Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 3,9.

(b) Получение ADC 3.

К раствору частично восстановленного трастузумаба (140 мл, 1,4 мг, 9 нмоль), добавляют N,N-диметилацетамид (ДМА) (28,2 мл) затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 3 (10 мМ в ДМА, 6,8 мл, 67,5 нмоль, 7,5 экв.) При добавлении DL 3 раствор перемешивают в течение 30 мин при 20°C. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 6,8 мл, 67,5 нмоль) с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 3 концентрируют до конечной концентрации 5,15 мг/мл по данным УФ и получают 280 мл (1,44 мг, 9,6 нмоль, 107%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (93%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC 4 м Трот-модифицированным трастузумабом и соединением DL 1

(а) Реакция трастузумаба с гидрохлоридом 2-иминотиолана (реагент Трота) с получением тиол-активированного трастузумаба.

Раствор трастузумаба (0,65 мл, 9 мг, 60 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл с применением фосфатного буфера (50 мМ фосфата, 2 мМ ЭДТК, pH 8). Добавляют реагент Трота (64,4 мл, 900 нмоль, 15 экв.), и реакционную смесь перемешивают в течение 2 ч при 25°C. Меняют буфер смеси с применением двух колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере и концентрируют до объема 1,2 мл (7,5 мг/мл). Сразу же после проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 7,9.

(b) Получение ADC 4.

К раствору тиол-активированного трастузумаба (300 мл, 2,25 мг, 15 нмоль) добавляют ДМА (59,8 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 1 (10 мМ в ДМА, 22,5 мл, 225 нмоль, 15 экв.). При добавлении DL 1, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 2 ч при 25°C и очищают обессоливанием с применением колонки Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 4 концентрируют до конечной концентрации 3,49 мг/мл по данным УФ и получают 252 мл (0,88 мг, 5,86 нмоль, 39%) раствора ADC.

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC 5 с трастузумабом и соединением DL 4.

(а) Частичное восстановление трастузумаба с получением частично восстановленного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, pH 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, pH 8,0). Концентрацию трастузумаба (17,1 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (0,5 мл, 8,55 мг, 57 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, pH 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбоксиэтил]фосфина (ТКЭФ) (24,5 мл, 122,4 нмоль, 2,2 экв.) Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 3,4.

(b) Получение ADC 5.

К раствору частично восстановленного трастузумаба (200 мл, 1,9 мг, 13,2 нмоль), добавляют N,N-диметилацетамид (ДМА) (42,1 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 4 (10 мМ в ДМА, 7,9 мл, 79,2 нмоль, 6 экв.). При добавлении DL 4, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 30 мин при 20°C и мутность исчезает во время реакции конъюгирования. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 7,9 мл, 79,2 нмоль) с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 5 концентрируют до конечной концентрации 5,30 мг/мл по данным УФ и получают 290 мл (1,54 мг, 1,0 нмоль, 81%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (91%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC 6 с трастузумабом и соединением DL 5.

(а) Частичное восстановление трастузумаба с получением частично восстановленного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, pH 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, pH 8,0). Концентрацию Трастузумаба (17,6 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (0,55 мл, 9,7 мг, 64,6 нмоль) разводят до концентрации 12,8 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, pH 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбоксиэтил]фосфина (ТКЭФ) (29,2 мл, 146 нмоль, 2,2 экв.) Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 3,4.

## (b) Получение ADC 6.

К раствору частично восстановленного трастузумаба (140 мл, 1,8 мг, 12 нмоль), добавляют N,N-диметилацетамид (ДМА) (28,2 мл) затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 5 (10 мМ в ДМА, 6,8 мл, 67,5 нмоль, 5,6 экв.). При добавлении DL 5 раствор перемешивают в течение 30 мин при 20°C. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 6,8 мл, 67,5 нмоль) с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 6 концентрируют до конечной концентрации 4,29 мг/мл по данным УФ и получают 320 мл (1,37 мг, 9,1 нмоль, 76%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (83%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC 7 с анти-CD13 и соединением DL 1.

## (a) Частичное восстановление анти-CD13 с получением частично восстановленного анти-CD13.

Раствор анти-CD13 (0,5 мл, 8,2 мг, 54,6 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, pH 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбокситил]фосфина (ТКЭФ) (31,9 мл, 159 нмоль, 3 экв.). Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 4,7.

## (b) Получение ADC 7.

К раствору частично восстановленного анти-CD13 (200 мл, 2,0 мг, 13,3 нмоль), добавляют N,N-диметилацетамид (ДМА) (40 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 1 (10 мМ в ДМА, 10 мл, 100 нмоль, 7,5 экв.) При добавлении DL 1 раствор перемешивают в течение 30 мин при 20°C. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 10 мл, 100 нмоль) с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 7 концентрируют до конечной концентрации 5,58 мг/мл по данным УФ и получают 350 мл (1,95 мг, 13 нмоль, 98%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (90%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC 8 с анти-CD13 и соединением DL 3.

## (a) Частичное восстановление анти-CD13 с получением частично восстановленного анти-CD13.

Раствор анти-CD13 (0,5 мл, 8,2 мг, 54,6 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, pH 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбокситил]фосфина (ТКЭФ) (31,9 мл, 159 нмоль, 3 экв.) Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 4,7.

## (b) Получение ADC 8.

К раствору частично восстановленного анти-CD13 (200 мл, 2,0 мг, 13,3 нмоль), добавляют N,N-диметилацетамид (ДМА) (40 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 3 (10 мМ в ДМА, 10 мл, 100 нмоль, 7,5 экв.). При добавлении DL 3 раствор перемешивают в течение 30 мин при 20°C. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 10 мл, 100 нмоль) с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 8 концентрируют до конечной концентрации 5,83 мг/мл по данным УФ и получают 380 мл (2,21 мг, 14,7 нмоль, 111%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (94%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC 9 с анти-CD13 и соединением DL 5

## (a) Частичное восстановление анти-CD13 с получением частично восстановленного анти-CD13.

Раствор анти-CD13 (0,5 мл, 8,2 мг, 54,6 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, pH 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбокситил]фосфина (ТКЭФ) (31,9 мл, 159 нмоль, 3 экв.). Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 4,7.

## (b) Получение ADC 9.

К раствору частично восстановленного анти-CD13 (200 мл, 2,0 мг, 13,3 нмоль), добавляют N,N-диметилацетамид (ДМА) (40 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 5 (10 мМ в ДМА, 10 мл, 100 нмоль, 7,5 экв.). При добавлении DL 5 раствор перемешивают в течение 30 мин при 20°C. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 10 мл, 100 нмоль) с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 9 концентрируют до конечной концентрации 5,82 мг/мл по данным УФ и получают 380 мл (2,21 мг, 14,7 нмоль, 111%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (89%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC 10 с анти-CD13 и соединением DL 2.

(a) Частичное восстановление анти-CD13 с получением частично восстановленного анти-CD13.

Раствор анти-CD13 (0,5 мл, 8,2 мг, 54,6 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, рН 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбоксиитил]фосфина (ТКЭФ) (31,9 мл, 159,6 нмоль, 3 экв.). Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 4,7.

(b) Получение ADC 10.

К раствору частично восстановленного анти-CD13 (200 мл, 2 мг, 13,3 нмоль), добавляют ДМА (40 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 2 (10 мМ в ДМА, 10 мл, 100 нмоль, 7,5 экв.). При добавлении DL 2, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 30 мин при 20°C. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 10 мл, 100 нмоль) с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 10 концентрируют до конечной концентрации 6,61 мг/мл по данным УФ и получают 250 мл (1,65 мг, 11 нмоль, 85%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (23%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC 11 с трастузумабом и соединением DL 6.

(a) Частичное восстановление трастузумаба с получением частично восстановленного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, рН 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, рН 8,0). Концентрацию Трастузумаба (13,9 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор Трастузумаба (0,33 мл, 4,6 мг, 30,6 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, рН 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбоксиитил]фосфина (ТКЭФ) (17,5 мл, 87,6 нмоль, 3 экв.). Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 4,0.

(b) Получение ADC 11.

К раствору частично восстановленного трастузумаба (140 мл, 1,4 мг, 9 нмоль), добавляют ДМА (28,2 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 6 (10 мМ в ДМА, 6,8 мл, 67,5 нмоль, 7,5 экв.). При добавлении DL 6, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 30 мин при 20°C. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 6,8 мл, 67,5 нмоль) с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 11 концентрируют до конечной концентрации 6,14 мг/мл по данным УФ и получают 218 мл (1,33 мг, 8,9 нмоль, 99%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (38%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC12 с трастузумабом и соединением DL7

(a) Частичное восстановление трастузумаба с получением частично восстановленного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, рН 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, рН 8,0). Концентрацию трастузумаба (17,1 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (0,5 мл, 8,5 мг, 57 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером (50 мМ, рН 8). Частичное восстановление дисульфидных связей в антителе проводят добавлением 5,0 мМ раствора гидрохлорида трис[2-карбоксиитил]фосфина (ТКЭФ) (24,5 мл, 122,4 нмоль, 2,2 экв.) Реакцию восстановления перемешивают в течение 90 мин при 20°C. Сразу после восстановления, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 3,4.

(b) Получение ADC 12.

К раствору частично восстановленного трастузумаба (200 мл, 2 мг, 13,2 нмоль), добавляют ДМА (42,1 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 7 (10 мМ в ДМА, 7,9 мл, 79 нмоль, 6 экв.). При добавлении DL 7, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 30 мин при 20°C. Избыток лекарственного средства гасят добавлением N-ацетилцистеина (НАС) (10 мМ, 7,9 мл, 79 нмоль) с последующим перемешиванием раствора в течение 20 мин. Погашенную реакцию конъюгирования очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 12 концентрируют до конечной концентрации 5,38 мг/мл по данным УФ и получают 270 мл (1,45 мг, 9,6 нмоль, 72%) раствора ADC. ГИХ ВЭЖХ проводят для определения доли реакции конъюгирования (76%).

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC13 с Трот-модифицированным трастузумабом и соединением DL 2.

(а) Взаимодействие трастузумаба с 2-иминотиолоном (реагент Трота) с получением тиол-активированного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, рН 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, рН 8,0). Концентрацию трастузумаба (16,1 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (0,5 мл, 8,0 мг, 53,7 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл с применением фосфатного буфера (50 мМ фосфат, 2 мМ ЭДТК, рН 8). Реагент Трота добавляют (14 мМ, 46,0 мкл, 644 нмоль, 12 экв.) и реакционную смесь перемешивают в течение 2 ч при 20°C. Буфер в смеси меняют с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере и концентрируют до объема 0,8 мл. Сразу же после, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 4,4.

(b) Получение ADC 13.

К раствору тиол-активированного трастузумаба (200 мл, 2,0 мг, 13 нмоль), добавляют ДМА (37 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 2 (10 мМ в ДМА, 13 мл, 130 нмоль, 10 экв.). При добавлении DL 2, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 2 ч при 25°C и очищают обессоливанием с применением колонки Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 13 концентрируют до конечной концентрации 2,83 мг/мл по данным УФ и получают 340 мл (0,96 мг, 6,4 нмоль, 49%) раствора ADC.

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC14 с Трот-модифицированным трастузумабом и соединением DL 3.

(а) Взаимодействие трастузумаба с 2-иминотиолоном (реагент Трота) с получением тиол-активированного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, рН 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, рН 8,0). Концентрацию трастузумаба (16,1 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (0,5 мл, 8,0 мг, 53,7 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл с применением фосфатного буфера (50 мМ фосфат, 2 мМ ЭДТК, рН 8). Добавляют реагент Трота (14 мМ, 46,0 мкл, 644 нмоль, 12 экв.) и реакцию перемешивают в течение 2 ч при 20°C. Буфер в смеси меняют с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере и концентрируют до объема 0,8 мл. Сразу же после, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 4,4.

(b) Получение ADC 14.

К раствору тиол-активированного трастузумаба (200 мл, 2,0 мг, 13 нмоль), добавляют ДМА (37 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 3 (10 мМ в ДМА, 13 мл, 130 нмоль, 10 экв.). При добавлении DL 3, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 2 ч при 25°C и очищают обессоливанием с применением колонки Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 14 концентрируют до конечной концентрации 0,75 мг/мл по данным УФ и получают 380 мл (0,28 мг, 1,9 нмоль, 15%) раствора ADC.

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC15 с Трот-модифицированным трастузумабом и соединением DL 5.

(а) Взаимодействие трастузумаба с 2-иминотиолоном (реагент Трота) с получением тиол-активированного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, рН 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, рН 8,0). Концентрацию трастузумаба (16,1 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (0,5 мл, 8,0 мг, 53,7 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл с применением фосфатного буфера (50 мМ фосфат, 2 мМ ЭДТК, рН 8). Реагент Трота добавляют (14 мМ, 46,0 мкл, 644 нмоль, 12 экв.) и реакционную смесь перемешивают в течение 2 ч при 20°C. Буфер в смеси меняют с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере и концентрируют до объема 0,8 мл. Сразу же после, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 4,4.

(b) Получение ADC 15.

К раствору тиол-активированного трастузумаба (200 мл, 2,0 мг, 13 нмоль) добавляют ДМА (37 мл) затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 5 (10 мМ в ДМА, 13 мл, 130 нмоль, 10 экв.). При добавлении DL 5, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 2 ч при 25°C и очищают обессоливанием с применением колонки Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 15 концентрируют до конечной концентрации 1,79 мг/мл по данным УФ и получают 440 мл (0,79 мг, 5,2 нмоль, 40%) раствора ADC.

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC16 с Трот-модифицированным трастузумабом и соединением DL 6.

(a) Реакция трастузумаба с гидрохлоридом 2-иминотиолана (реагент Трота) с получением тиол-активированного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, pH 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, pH 8,0). Концентрацию трастузумаба (17,1 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (0,25 мл, 4,3 мг, 28,5 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл с применением фосфатного буфера (50 мМ фосфат, 2 мМ ЭДТК, pH 8). Добавляют реагент Трота (14 мМ, 24,4 мл, 342 нмоль, 12 экв.) и реакционную смесь перемешивают в течение 2 ч при 20°C. Буфер в смеси меняют с применением колонок Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере и концентрируют до объема 0,43 мл. Сразу же после, проводят анализ Эллмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 4,6.

(b) Получение ADC 16.

К раствору тиол-активированного трастузумаба (200 мл, 2,0 мг, 13 нмоль), ДМА добавляют (37 мл) затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 6 (10 мМ в ДМА, 13 мл, 130 нмоль, 10 экв.). При добавлении DL 6, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 2 ч при 25°C и очищают обессоливанием с применением колонки Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 16 концентрируют до конечной концентрации 5,63 мг/мл по данным УФ и получают 230 мл (1,29 мг, 8,6 нмоль, 66%) раствора ADC.

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC17 с Трот-модифицированным трастузумабом и соединением DL 8.

(a) Взаимодействие трастузумаба с 2-иминотиолом (реагент Трота) с получением тиол-активированного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, pH 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, pH 8,0). Концентрацию трастузумаба (17,7 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (1,5 мл, 26,5 мг, 177 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл с применением фосфатного буфера (50 мМ фосфат, 2 мМ ЭДТК, pH 8) и фракционируют в две пробирки (1,3 мл каждая). Добавляют реагент Трота (14 мМ, 61,8 мл, 866 нмоль, 10 экв.) в каждую пробирку, и реакционные смеси перемешивают в течение 2 ч при 20°C. Реакционные смеси смешивают и меняют буфер с применением колонок Sephadex G25 NAP-10 в ФРФБ буфере и концентрируют до объема 2,6 мл. Сразу же после, проводят анализ Эллмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 5,6.

(b) Получение ADC 17.

К раствору тиол-активированного трастузумаба (500 мл, 5,0 мг, 33 нмоль), добавляют ДМА (98,6 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 8 (10 мМ в ДМА, 26,4 мл, 264 нмоль, 8 экв.). При добавлении DL 8, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 2 ч при 25°C и очищают обессоливанием с применением колонки Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 17 концентрируют до конечной концентрации 3,21 мг/мл по данным УФ и получают 390 мл (1,25 мг, 8,3 нмоль, 25%) раствора ADC.

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC18 с Трот-модифицированным Трастузумабом и соединением DL 9.

(a) Взаимодействие трастузумаба с 2-иминотиолом (реагент Трота) с получением тиол-активированного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, pH 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, pH 8,0). Концентрацию трастузумаба (17,7 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (1,5 мл, 26,5 мг, 177 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл с применением фосфатного буфера (50 мМ фосфат, 2 мМ ЭДТК, pH 8) и фракционируют в две пробирки (1,3 мл каждая). Добавляют реагент Трота (14 мМ, 61,8 мл, 866 нмоль, 10 экв.) в каждую пробирку, и реакционные смеси перемешивают в течение 2 ч при 20°C. Реакционные смеси смешивают и меняют буфер с применением колонок Sephadex G25 NAP-10 в ФРФБ буфере и концентрируют до объема 2,6 мл. Сразу же после, проводят анализ Эллмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 5,6.

(b) Получение ADC 18.

К раствору тиол-активированного трастузумаба (500 мл, 5,0 мг, 33 нмоль) добавляют ДМА (98,6 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 9 (10 мМ в ДМА, 26,4 мл, 264 нмоль, 8 экв.). При добавлении DL 9, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 2

ч при 25°C и очищают обессоливанием с применением колонки Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 18 концентрируют до конечной концентрации 3,16 мг/мл по данным УФ и получают 390 мл (1,23 мг, 8,2 нмоль, 25%) раствора ADC.

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC19 с Трот-модифицированным Трастузумабом и соединением DL 10.

(а) Взаимодействие трастузумаба с 2-иминотиолоном (реагент Трота) с получением тиол-активированного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, pH 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, pH 8,0). Концентрацию трастузумаба (17,7 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (1,5 мл, 26,5 мг, 177 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл с применением фосфатного буфера (50 мМ фосфат, 2 мМ ЭДТК, pH 8) и фракционируют в две пробирки (1,3 мл каждая). Добавляют реагент Трота (14 мМ, 61,8 мл, 866 нмоль, 10 экв.) в каждую пробирку, и реакционные смеси перемешивают в течение 2 ч при 20°C. Реакционные смеси смешивают и меняют буфер с применением колонок Sephadex G25 NAP-10 в ФРФБ буфере и концентрируют до объема 2,6 мл. Сразу же после, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 5,6.

(b) Получение ADC 19.

К раствору тиол-активированного трастузумаба (500 мл, 5,0 мг, 33 нмоль) добавляют ДМА (98,6 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 10 (10 мМ в ДМА, 26,4 мл, 264 нмоль, 8 экв.). При добавлении DL 10, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 2 ч при 25°C и очищают обессоливанием с применением колонки Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 19 концентрируют до конечной концентрации 11,3 мг/мл по данным УФ и получают 290 мл (3,2 мг, 21,3 нмоль, 64%) раствора ADC.

Получение конъюгата антитело-лекарственное средство ADC20 с Трот-модифицированным Трастузумабом и соединением DL 11.

(а) Взаимодействие трастузумаба с 2-иминотиолоном (реагент Трота) с получением тиол-активированного трастузумаба.

Трастузумаб (трастузумаб, купленный у Roche, белый лиофилизированный порошок для получения концентрированного раствора для инфузий) растворяют в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ, pH 8,0) и очищают обессоливанием с применением колонок Sephadex G25 PD-10 в фосфатном буфере (50 мМ, pH 8,0). Концентрацию трастузумаба (17,7 мг/мл) определяют через измерение абсорбции при 280 нм.

Раствор трастузумаба (1,5 мл, 26,5 мг, 177 нмоль) разводят до концентрации 10 мг/мл с применением фосфатного буфера (50 мМ фосфат, 2 мМ ЭДТК, pH 8) и фракционируют в две пробирки (1,3 мл каждая). Добавляют реагент Трота (14 мМ, 61,8 мл, 866 нмоль, 10 экв.) в каждую пробирку, и реакционные смеси перемешивают в течение 2 ч при 20°C. Реакционные смеси смешивают и меняют буфер с применением колонок Sephadex G25 NAP-10 в ФРФБ буфере и концентрируют до объема 2,6 мл. Сразу же после, проводят анализ Элмана с получением отношения свободного тиола к антителу (FTAR) 5,6.

(b) Получение ADC 20.

К раствору тиол-активированного трастузумаба (500 мл, 5,0 мг, 33 нмоль) добавляют ДМА (98,6 мл), затем добавляют свежеприготовленный раствор DL 11 (10 мМ в ДМА, 26,4 мл, 264 нмоль, 8 экв.). При добавлении DL 11, раствор становится мутным. Реакцию конъюгирования перемешивают в течение 2 ч при 25°C и очищают обессоливанием с применением колонки Sephadex G25 NAP-5 в ФРФБ буфере. Конечный целевой продукт ADC 20 концентрируют до конечной концентрации 3,73 мг/мл по данным УФ и получают 440 мл (1,6 мг, 10,6 нмоль, 32%) раствора ADC.

Пример 3. Демонстрация цитотоксичности конъюгатов антитело-лекарственное средство настоящего изобретения.

Биоанализы для определения противоопухолевой активности.

Целью этого анализа является оценка *in vitro* цитостатической (способность задерживать или останавливать рост опухолевых клеток) или цитотоксической (способность убивать опухолевые клетки) активности тестируемых образцов.

Клеточные линии и клеточная культура.

Следующие клеточные линии человека получают от American Type Culture Collection (ATCC): SK-BR-3 (ATCC HTB-30), HCC-1954 (ATCC CRL-2338) (Рак груди, HER2+); MDA-MB-231 (ATCC HTB-26) и MCF-7 (ATCC HTB-22) (Рак груди, HER2-), HT-1080 (ATCC CCL-121, фибросаркома, CD13+), Raji (ATCC CCL-86, лимфома Буркитта, CD13-) и RPMI 8226 (ATCC CRM-CCL-155, миелома, CD13-). Клеточную линию острого промиелоцитарного лейкоза человека NB 4 (ACC 207, CD13+) получают от Leibniz-Institut DSMZ (Braunschweig, Germany). Клетки выдерживают при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> и 95% влажности в среде Игла, модифицированной по Дульбекко (DMEM) (для SK-BR-3, MDA-MB-231 и MCF-7 клеток), Минимальной эссенциальной среде Игла (EMEM) (для HT-1080 клеток) или RPMI-1640

(для остальных клеточных линий), все среды с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (ФТС), 2 мМ L-глутамин и 100 единиц/мл пенициллина и стрептомицина.

Анализ цитотоксичности.

Для SK-BR-3, HCC-1954, MDA-MB-231 и MCF-7 клеток, колориметрический анализ с применением Сульфородамина В (SRB) адаптируют для количественного измерения роста клеток и цитотоксичности, как описано у V. Vichai и K. Kirtikara. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. Nature Protocols, 2006, 1, 1112-1116. Коротко, клетки высевают в 96-луночные титровальные микропланшеты и выдерживают в течение 24 ч в среде без лекарственного средства, затем обрабатывают только носителем или тестируемыми веществами в течение 72 ч. Для количественного анализа, клетки промывают дважды физиологическим раствором с фосфатным буфером (ФРФБ), фиксируют в течение 15 мин в 1% растворе глутаральдегида, промывают дважды ФРФБ, окрашивают в 0,4% мас./об. SRB с 1% об./об. раствором уксусной кислоты в течение 30 мин, промывают несколько раз 1% раствором уксусной кислоты и сушат на воздухе. Затем SRB экстрагируют в 10 мМ раствора основания Trizma, и оптическую плотность измеряют при 490 нм в микропланшетном спектрофотометре.

Для HT-1080, NB 4, Raji и RPMI-8226 клеток, применяют альтернативный колориметрический анализ на основе восстановления бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ) для количественного измерения жизнеспособности клеток, как описано у T. Mosmann в "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays", J Immunol Methods, 1983, 65: 55-63. Коротко, клетки высевают в 96-луночные планшеты и обрабатывают, как описано выше, и через 72 ч воздействия тестируемых соединений оценивают жизнеспособность клеток из превращения МТТ (Sigma, St Louis, MO, USA) в его окрашенный продукт реакции, МТТ-формазан, который растворяют в ДМСО для измерения его абсорбции при 540 нм в микропланшетном спектрофотометре.

Выживаемость клеток выражают как долю от выживания контрольных необработанных клеток. Все оценки проводят трижды, и полученные данные подгоняют с помощью нелинейной регрессии к четырехпараметрической логистической кривой, по которой рассчитывают значение  $IC_{50}$  (концентрация соединения, вызывающая 50% гибель клеток по сравнению с выживаемостью контрольных клеток).

Пример биоактивности 1 - цитотоксичность конъюгата ADC 1 и родственных реагентов против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

In vitro цитотоксичность ADC 1 вместе с исходными цитотоксическими соединениями DL 1 и 11-R и Трастузумабом оценивают против четырех разных клеточных линий рака груди человека, сверхэкспрессирующих или нет HER2 рецептор, включая SK-BR-3, HCC-1954 (HER2-положительные клетки), а также MDA-MB-231 и MCF-7 (HER2-отрицательные клетки). Получают стандартные дозозависимые кривые (ДЗ) для 72-часового инкубирования с тестируемыми соединениями.

Цитотоксичность Трастузумаба

In vitro цитотоксичность Трастузумаба оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 50 до 0,01 мкг/мл (3,33E-07-8,74E-11 М). Трастузумаб был полностью неактивным, не достигал  $IC_{50}$  в любых из тестируемых клеточных линий, независимо от их HER 2 статуса, как показано в табл. 10, где представлены результаты среднего геометрического значений  $IC_{50}$ , полученных в трех независимых экспериментах.

Таблица 10

Краткое описание in vitro цитотоксичности трастузумаба

	HER2 положительные		HER2 отрицательные	
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7
$IC_{50}$ , мкг/мл	> 50	> 50	> 50	> 50
$IC_{50}$ , М	> 3,4E-07	> 3,4E-07	> 3,4E-07	> 3,4E-07

Цитотоксичность 11-R.

Цитотоксичность промежуточного соединения 11-R оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 до 0,03 нг/мл (1,26E-07-3,3E-11 М).

Как показано в табл. 11, где представлены результаты среднего геометрического значений  $IC_{50}$  полученных в трех независимых экспериментах, цитотоксичность этого соединения была аналогичной во всех линиях опухолевых клеток независимо от их экспрессии HER 2, со значениями  $IC_{50}$  в нижнем наномолярном диапазоне, от 0,4 до 1,4 нг/мл (5,04E-10 до 1,70E-09 М). Средние геометрические значения  $IC_{50}$  по всей клеточной панели составляют 0,79 нг/мл (9,94E-10 М), при стандартном геометрическом отклонении, составляющем 1,8 в соответствии с гомогенностью результатов для четырех клеточных линий.

Таблица 11

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности 11-R

	HER2 положительные		HER2 отрицательные	
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7
IC <sub>50</sub> , мкг/мл	5,76E-04	1,35E-03	3,99E-04	1,24E-03
IC <sub>50</sub> , М	7,27E-10	1,70E-09	5,04E-10	1,57E-09

Цитотоксичность DL 1.

Цитотоксичность промежуточного соединения DL 1 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 10 мкг/мл до 2,6 нг/мл (7,58E-06-1,99E-09 М).

Как показано в табл. 12, где представлены результаты среднего геометрического значений IC<sub>50</sub> полученных в трех независимых экспериментах, цитотоксичность этого соединения была аналогичной во всех линиях опухолевых клеток независимо от их экспрессии HER 2, со значениями IC<sub>50</sub> в высоком наномолярном диапазоне, от 0,07 до 0,43 мкг/мл (5,23E-08 до 3,11E-07 М). Средние геометрические значения IC<sub>50</sub> по всей клеточной панели составляли 0,16 мкг/мл (1,15E-07 М), при стандартном геометрическом отклонении, составляющем 2,1 в соответствии с гомогенностью результатов для четырех клеточных линий.

Таблица 12

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности DL 1

	HER2 положительные		HER2 отрицательные	
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7
IC <sub>50</sub> , мкг/мл	1,16E-01	1,80E-01	7,28E-02	4,33E-01
IC <sub>50</sub> , М	8,31E-08	1,29E-07	5,23E-08	3,11E-07

Цитотоксичность ADC 1.

Цитотоксичность ADC 1 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 М). Оценку проводят в трех независимых экспериментах, на фиг. 3 показана типовая ДЗ кривая, соответствующая одному из этих трех экспериментов, и в табл. 13 суммированы результаты, соответствующие средним геометрическим значениям значений IC<sub>50</sub>, полученных в трех независимых экспериментах.

Как показано в табл. 13, ADC 1 показал цитотоксичность, аналогичную исходному лекарственному средству 11-R только в HER2-положительных клетках. Однако в HER2-отрицательных клетках такая токсичность значительно меньше: около 40 раз ниже согласно индексу селективности, полученному делением среднего значения IC<sub>50</sub> в HER2-отрицательных клетках на таковое в HER2-положительных клетках. Такая селективность позволяет сделать вывод, что конъюгат действует через взаимодействие антитела с мембраноассоциированным HER2 рецептором на опухолевых клетках, с последующей внутриклеточной доставкой цитотоксического лекарственного средства.

Таблица 13

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности ADC 1

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	3,20E-01	1,38E+00	1,36E+01	4,90E+01	6,64E-01	2,58E01	38,8
IC <sub>50</sub> (М)	2,14E-09	9,20E-09	9,04E-08	3,27E-07	4,44E-09	1,72E-07	

Для графического сравнения цитотоксичности моноклонального антитела Трастузумаба отдельно с таковой для конъюгата ADC 1, гистограммы, показывающие долю выживания клеток после обработки разных клеточных линий отдельным моноклональным антителом (20 мкг/мл) или ADC 1 в дозе 16 или 2,5 мкг/мл, показаны на фиг. 4. По наблюдениям, при аналогичных концентрациях (20 к 16 мкг/мл) Трастузумаб демонстрирует незначительную цитотоксичность независимо от уровней экспрессии HER2 клеточными линиями (выживаемость клеток от 68 до 100%), в то время как ADC 1 демонстрирует

значительное антипролиферативное действие против HER2-экспрессирующих клеток HCC-1954 и SK-BR-3 (выживаемость клеток 23% и 8% соответственно) и незначительное против HER2-отрицательных клеточных линий MCF-7 (100% выживаемость клеток). Действие ADC на MDA-MB-231 заметно при этой концентрации (22% выживаемость клеток), но является очень умеренным при низких концентрациях (83% выживаемость клеток при 2,5 мкг/мл), в то время как оно довольно значительно в HER2-экспрессирующих клетках (30% выживаемость клеток для обеих SK-BR-3 и HCC-1954).

Эти результаты ясно демонстрируют значительную цитотоксичность и специфичность ADC 1 против HER2-экспрессирующих опухолевых клеток человека *in vitro*.

Пример биоактивности 2 - цитотоксичность конъюгата ADC 2 и родственных реагентов против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

*In vitro* цитотоксичность ADC2 вместе с исходным цитотоксическим соединением DL 2 оценивают против четырех разных клеточных линий рака груди, сверхэкспрессирующих или нет HER2 рецептор, включая SK-BR-3, HCC-1954 (HER2 положительные клетки), а также MDA-MB-231 и MCF-7 (HER2 отрицательные клетки). Получают стандартные дозозависимые (ДЗ) кривые для 72 инкубирования с тестируемыми соединениями. Результаты также сравнивают с исходным цитотоксическим соединением 11-R и моноклональным антителом трастузумабом, описанным выше.

Цитотоксичность DL 2.

Цитотоксичность промежуточного соединения DL 2 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 10 мкг/мл до 2,6 нг/мл (6,26E-06-1,64E-09 М).

Как показано в табл. 14, цитотоксичность этого соединения была аналогичной во всех линиях опухолевых клеток независимо от их экспрессии HER 2, со значениями  $IC_{50}$  в субмикромольном диапазоне, от 0,2 до 0,47 мкг/мл (1,25E-07 до 2,94E-07 М). Средние геометрические значения  $IC_{50}$  по всей клеточной панели составляют 0,28 мкг/мл (1,73E-07 М), при стандартном геометрическом отклонении, составляющем 1,5 в соответствии с гомогенностью результатов для четырех клеточных линий.

Таблица 14

Краткое описание *in vitro* цитотоксичность DL 2

	HER2 положительные		HER2 отрицательные	
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7
$IC_{50}$ , мкг/мл	2,00E-01	3,10E-01	2,00E-01	4,69E-01
$IC_{50}$ , М	1,25E-07	1,94E-07	1,25E-07	2,94E-07

Цитотоксичность ADC 2.

Цитотоксичность ADC 2 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 М). На фиг. 5 показана ДЗ кривая, соответствующая этому эксперименту, и в табл. 15 суммированы полученные значения  $IC_{50}$ .

Как видно из табл. 15, ADC 2 показал более высокую цитотоксичность в HER2-положительных клетках, чем в HER2-отрицательных клетках: ADC почти в 10 раз эффективнее в первых, согласно индексу селективности, полученному делением среднего значения  $IC_{50}$  в HER2-отрицательных клетках на таковое в HER2-положительных клетках. Хотя указанная селективность довольно умеренная, все еще можно сделать вывод, что конъюгат действует через взаимодействие антитела с мембраноассоциированным HER2 рецептором на опухолевых клетках, с последующей внутриклеточной доставкой цитотоксического лекарственного средства.

Таблица 15

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности ADC 2

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		$IC_{50}$ в HER2+ (ср. геом.)	$IC_{50}$ в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
$IC_{50}$ (мкг/мл)	2,00E+00	5,60E+00	1,70E+01	4,01E+01	3,34E+00	2,61E+01	7,8
$IC_{50}$ (М)	1,33E-08	3,73E-08	1,13E-07	2,67E-07	2,23E-08	1,74E-07	

Для графического сравнения цитотоксичности моноклонального антитела Трастузумаба отдельно с таковой для конъюгата ADC 2, гистограммы, показывающие долю выживания клеток после обработки разных клеточных линий отдельным моноклональным антителом (20 мкг/мл) или ADC 2 в дозе 16 или 2,5 мкг/мл, показаны на фиг. 6. По наблюдениям, при аналогичных концентрациях (20 к 16 мкг/мл)

Трастузумаб демонстрирует незначительную цитотоксичность независимо от уровней экспрессии HER2 клеточными линиями (выживаемость клеток от 68% до 100%), в то время как ADC 2 демонстрирует значительное антипролиферативное действие против HER2-экспрессирующих клеток HCC-1954 и SK-BR-3 (выживаемость клеток 31% и 40%, соответственно), где такое действие является незначительным против HER2-отрицательной клеточной линии MCF-7 (94% выживаемость клеток). Действие ADC на HER2-отрицательную клеточную линию MDA-MB-231 также является значительными в этой концентрации (58% выживаемость клеток), но практически нулевым при более низких концентрациях (100% выживаемость клеток при 2,5 мкг/мл), в то время как она остается все еще заметной в HER2-экспрессирующих клетках (63% выживаемость клеток для HCC-1954 и 51% for SK-BR-3).

Пример биоактивности 3 - цитотоксичность конъюгата ADC 3 и родственных реагентов против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

In vitro цитотоксичность ADC 3 вместе с исходным цитотоксическим соединением DL 3 оценивают против четырех разных клеточных линий рака груди, сверхэкспрессирующих или нет HER2 рецептор, включая SK-BR-3, HCC-1954 (HER2 положительные клетки) а также MDA-MB-231 и MCF-7 (HER2 отрицательные клетки). Получают стандартные дозозависимые (ДЗ) кривые для 72 инкубирования с тестируемыми соединениями. Результаты также сравнивают с исходным цитотоксическим соединением 11-R и моноклональным антителом трастузумаб, описанным выше.

Цитотоксичность DL 3.

Цитотоксичность промежуточного соединения DL 3 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 10 мкг/мл до 2,6 нг/мл (6,62E-06-1,74E-09 M).

Как показано в табл. 16, цитотоксичность этого соединения была аналогичной во всех линиях опухолевых клеток независимо от их экспрессии HER 2, со значениями IC<sub>50</sub> в субмикромольном диапазоне, от 0,15 до 0,28 мкг/мл (9,93E-08 до 1,85E-07 M). Средние геометрические значения IC<sub>50</sub> по всей клеточной панели составляют 0,2 мкг/мл (1,33E-07 M), при стандартном геометрическом отклонении, составляющем 1,4 в соответствии с гомогенностью результатов для четырех клеточных линий.

Таблица 16

Краткое описание in vitro цитотоксичности DL 3

	HER2 положительные		HER2 отрицательные	
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7
IC <sub>50</sub> , мкг/мл	1,60E-01	2,40E-01	1,50E-01	2,79E-01
IC <sub>50</sub> , M	1,06E-07	1,59E-07	9,93E-08	1,85E-07

Цитотоксичность ADC 3.

Цитотоксичность ADC3 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 50 мкг/мл до 13 нг/мл (3,33E-07-8,74E-11 M). На фиг. 7 показана ДЗ кривая, соответствующая этому эксперименту, и в табл. 17 суммированы полученные значения IC<sub>50</sub>.

Как видно из табл. 17, ADC 3 демонстрирует цитотоксичность, которая только в HER2-положительных клетках аналогична таковой, показанной исходным лекарственным средством 11-R. Однако в HER2-отрицательных клетках такая цитотоксичность значительно ниже: в 23 раза ниже согласно индексу селективности, полученному делением среднего значения IC<sub>50</sub> в HER2-отрицательных клетках на таковое в HER2-положительных клетках. Такая селективность позволяет сделать вывод, что конъюгат действует через взаимодействие антитела с мембраноассоциированным HER2 рецептором на опухолевых клетках, с последующей внутриклеточной доставкой цитотоксического лекарственного средства, как ранее установлено для ADC 1 и ADC 2.

Таблица 17

Краткое описание in vitro цитотоксичности ADC 3

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (сп. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (сп. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	6,71E-01	8,10E-01	1,30E+01	2,21E+01	7,37E-01	1,70E+01	23,0
IC <sub>50</sub> (M)	4,47E-09	5,40E-09	8,67E-08	1,47E-07	4,91E-09	1,13E-07	

Для графического сравнения цитотоксичности моноклонального антитела трастузумаба отдельно с

таковой для конъюгата ADC 3, гистограммы, показывающие долю выживания клеток после обработки разных клеточных линий отдельным моноклональным антителом (20 мкг/мл) или ADC 3 в дозе 20 или 3 мкг/мл, показаны на фигуре 8. Как видно, при 20 мкг/мл Трастузумаб показал незначительную цитотоксичность независимо от уровней экспрессии HER2 у клеточных линиях (выживаемость клеток от 68% до 100%), в то время как ADC 3 демонстрирует мощное антипролиферативное действие против HER2-экспрессирующих клеток HCC-1954 и SK-BR-3 (выживаемость клеток 23% и 32%, соответственно) и только незначительное против HER2-отрицательной клеточной линии MCF-7 (88% выживаемость клеток). Действие ADC на MDA-MB-231 заметно в этой концентрации (32% выживаемость клеток), но незначительно при более низких концентрациях (91% выживаемость клеток при 3 мкг/мл) в то время как, она остается все еще заметной в HER2-экспрессирующих клетках (34% выживаемость клеток для HCC-1954 и 45% для SK-BR-3).

Пример биоактивности 4 - цитотоксичность конъюгата ADC 4 против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

In vitro цитотоксичность ADC ADC 4 оценивают против четырех разных клеточных линий рака груди сверхэкспрессирующих или нет HER2 рецептор, включая SK-BR-3, HCC-1954 (HER2 положительные клетки) а также MDA-MB-231 и MCF-7 (HER2 отрицательные клетки). Получают стандартные дозозависимые (ДЗ) кривые для 72 инкубирования с ADC. Результаты также сравнивают с исходными цитотоксическими соединениями 11-R и DL 1 а также моноклональным антителом Трастузумабом, описанным выше.

Цитотоксичность ADC 4.

Цитотоксичность ADC 4 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 50 мкг/мл до 13 нг/мл (3,33E-07-8,74E-11 М). На фигуре 9 показана ДЗ кривая, соответствующая этому эксперименту, и в таблице 18 суммированы полученные значения IC<sub>50</sub>.

Как видно из таблицы 18, ADC 4 демонстрирует цитотоксичность, которая только в HER2-положительных клетках аналогична таковой, показанной исходным лекарственным средством 11-R. Однако в HER2-отрицательных клетках такая цитотоксичность практически в 100 раз ниже согласно индексу селективности, полученному делением среднего значения IC<sub>50</sub> в HER2-отрицательных клетках на таковое в HER2-положительных клетках. Как уже установлено для ADC 1, такая селективность позволяет сделать вывод, что конъюгат действует через взаимодействие антитела с мембраноассоциированным HER2 рецептором на опухолевых клетках, с последующей внутриклеточной доставкой цитотоксического лекарственного средства. Более того, эти результаты, полученные с ADC 4, демонстрируют, что противоопухолевый потенциал, обеспечиваемый полезной нагрузкой, является аналогичным независимо от остатка антитела, вовлеченного в ковалентную связь, либо Cys, либо Lys.

Таблица 18

Краткое описание in vitro цитотоксичности ADC 4

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	3,20E-02	1,50E-01	3,50E+00	8,10E+00	6,92E-02	5,32E+00	76,86
IC <sub>50</sub> (М)	2,13E-10	1,00E-09	2,33E-08	5,40E-08	4,62E-10	3,55E-08	

Для графического сравнения цитотоксичности моноклонального антитела трастузумаба отдельно с таковой для конъюгата ADC 4, гистограммы, показывающие долю выживания клеток после обработки разных клеточных линий отдельным моноклональным антителом в дозе 3 мкг/мл или с ADC в дозе 3 или 0,2 мкг/мл, показаны на фиг. 10. Как можно увидеть, при 3 мкг/мл трастузумаб показал недостаточную цитотоксичность независимо от уровней экспрессии HER2 в клеточных линиях (выживаемость клеток от 60% до 90%), в то время как ADC 4 показан мощное антипролиферативное действие против HER-2 экспрессирующих клеток HCC-1954 и SK-BR-3 (выживаемость клеток 11% и 23%, соответственно) и практически отсутствие действия на HER2-отрицательную клеточную линию MCF-7. Действие ADC на клеточную линию MDA-MB-231 было заметным в этой концентрации (55% выживаемость клеток), но незначительно при более низких концентрациях (97-100% выживаемость клеток при 0,2 мкг/мл), в то время как оно явно заметно в HER2-экспрессирующих клетках (38% выживаемость клеток для HCC-1954 и 26% для SK-BR-3).

Пример биоактивности 5 - цитотоксичность конъюгата ADC 6 и родственных реагентов против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

In vitro цитотоксичность ADC 6 вместе с исходными цитотоксическими соединениями DL 5 и 12 R оценивают против четырех разных клеточных линий рака груди, сверхэкспрессирующих или нет HER2 рецептор, включая SK-BR-3, HCC-1954 (HER2-положительные клетки) а также MDA-MB-231 и MCF-7

(HER2-отрицательные клетки). Получают стандартные дозозависимые (ДЗ) кривые для 72 инкубирования с тестируемыми соединениями.

Цитотоксичность 12-R.

Цитотоксичность промежуточного соединения 12-R оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 до 0,03 нг/мл (1,28E-07-3,83E-11 М).

Как показано в табл. 19, где представлены результаты среднего геометрического значений  $IC_{50}$  полученных в трех независимых экспериментах, цитотоксичность этого соединения была аналогичной во всех линиях опухолевых клеток независимо от их экспрессии HER 2, со значениями  $IC_{50}$  в нижнем наномолярном диапазоне, от 0,4 до 1,3 нг/мл (5,62E-10 до 1,62E-09 М). Средние геометрические значения  $IC_{50}$  по всей клеточной панели составляют 0,71 нг/мл (9,06E-10 М), при стандартном геометрическом отклонении, составляющем 1,7 в соответствии с гомогенностью результатов для четырех клеточных линий.

Таблица 19

Краткое описание in vitro цитотоксичности 12-R

	HER2 положительные		HER2 отрицательные	
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7
$IC_{50}$ , мкг/мл	4,41E-04	1,27E-03	4,93E-04	9,24E-04
$IC_{50}$ , М	5,62E-10	1,62E-09	6,29E-10	1,18E-09

Цитотоксичность DL 5.

Цитотоксичность промежуточного соединения DL 5 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 10 мкг/мл до 2,6 нг/мл (6,66E-06-1,73E-09 М).

Как показано в табл. 20, цитотоксичность этого соединения была аналогичной во всех линиях опухолевых клеток независимо от их экспрессии HER 2, со значениями  $IC_{50}$  в высоком наномолярном диапазоне, от 0,10 до 0,19 мкг/мл (6,53E-08 до 1,27E-07 М). Средние геометрические значения  $IC_{50}$  по всей клеточной панели составляют 0,13 мкг/мл (8,84E-08 М), при стандартном геометрическом отклонении, составляющем 1,4 в соответствии с гомогенностью результатов для четырех клеточных линий.

Таблица 20

Краткое описание in vitro цитотоксичности DL 5

	HER2 положительные		HER2 отрицательные	
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7
$IC_{50}$ , мкг/мл	9,81E-02	1,91E-01	9,81E-02	1,70E-01
$IC_{50}$ , М	6,53E-08	1,27E-07	6,53E-08	1,13E-07

Цитотоксичность ADC 6.

Цитотоксичность ADC 6 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 М). На фиг. 11 показана полученная ДЗ кривая, и в таблице 21 суммированы выведенные значения  $IC_{50}$ .

Как видно из табл. 21, цитотоксичность ADC 6 сравнима с той, которую показывает исходное лекарственное средство 12-R только в HER2-положительных клетках. Однако в HER2-отрицательных клетках такая токсичность ниже: почти в 10 раз ниже, согласно индексу селективности, полученному делением среднего значения  $IC_{50}$  в HER2-отрицательных клетках на таковое в HER2-положительных клетках. Эти данные позволяют сделать вывод, что конъюгат действует через взаимодействие антитела с мембраноассоциированным HER2 рецептором на опухолевых клетках, с последующей внутриклеточной доставкой цитотоксического лекарственного средства.

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности ADC 6

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	6,50E-01	4,10E+00	1,20E+01	1,70E+01	1,63E00	1,43E01	8,8
IC <sub>50</sub> (М)	4,33E-09	2,73E-08	8,00E-08	1,13E-07	1,08E-08	9,51E-08	

Пример биоактивности 6 - цитотоксичность конъюгата ADC 11 и родственных реагентов против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

*In vitro* цитотоксичность ADC 11 вместе с исходными цитотоксическими соединениями DL 6 и 12 R оценивают против четырех разных клеточных линий рака груди сверхэкспрессирующих или нет HER2 рецептор, включая SK-BR-3, HCC-1954 (HER2-положительные клетки) а также MDA-MB-231 и MCF-7 (HER2-отрицательные клетки). Получают стандартные дозозависимые (ДЗ) кривые для 72 инкубирования с тестируемыми соединениями.

Цитотоксичность DL 6.

Цитотоксичность промежуточного соединения DL 6 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 1 мкг/мл до 0,26 нг/мл (7,23E-07-1,88E-10 М).

Как показано в табл. 22, цитотоксичность этого соединения была аналогичной во всех линиях опухолевых клеток независимо от их экспрессии HER 2, со значениями IC<sub>50</sub> в высоком наномолярном диапазоне, от 0,04 до 0,3 мкг/мл (3,1E-08 до 1,97E-07 М). Средние геометрические значения IC<sub>50</sub> по всей клеточной панели составляют 0,11 мкг/мл (7,89E-08 М), при стандартном геометрическом отклонении, составляющем 2,31 в соответствии с гомогенностью результатов для четырех клеточных линий.

Таблица 22

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности DL 6

	HER2 положительные		HER2 отрицательные	
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7
IC <sub>50</sub> , мкг/мл	7,09E-02	1,71E-01	4,29E-02	2,73E-01
IC <sub>50</sub> , М	5,13E-08	1,24E-07	3,10E-08	1,97E-07

Цитотоксичность ADC 11.

Цитотоксичность ADC 11 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 50 мкг/мл до 13 нг/мл (3,33E-07-8,74E-11 М). В табл. 23 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>.

Таблица 23

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности ADC 11

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	1,10E+01	3,60E+01	> 5,00E+01	> 5,00E+01	1,99E+01	> 5,00E+01	> 2,5
IC <sub>50</sub> (М)	7,33E-08	2,40E-07	> 3,33E-07	> 3,33E-07	1,33E-07	> 3,33E-07	

Пример биоактивности 7 - цитотоксичность конъюгата ADC 12 против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди

*In vitro* цитотоксичность ADC 12 оценивают против четырех разных клеточных линий рака груди сверхэкспрессирующих или нет HER2 рецептор, включая SK-BR-3, HCC-1954 (HER2-положительные клетки) а также MDA-MB-231 и MCF-7 (HER2-отрицательные клетки). Получают стандартные дозозависимые (ДЗ) кривые для 72 инкубирования с тестируемыми соединениями.

Цитотоксичность ADC 12 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 М). В таблице 24 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>. Как можно увидеть, ADC 12 значительно более активен в HER2-положительных клетках, давая заметный индекс селективности выше 20.

Таблица 24

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности ADC 12

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	1,80E-01	2,90E-01	1,91E+00	1,30E+01	2,28E-01	4,98E+00	21,8
IC <sub>50</sub> (М)	1,20E-09	1,93E-09	1,27E-08	8,67E-08	1,52E-09	3,32E-08	

Пример биоактивности 8 - Цитотоксичность конъюгата ADC 13 против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди

Цитотоксичность ADC 13 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 М). В таблице 25 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>. Как можно увидеть, ADC 13 значительно более активен в HER2-положительных клетках, давая превосходный индекс селективности, близкий к 100.

Таблица 25

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности ADC 13

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	1,50E-01	2,60E-01	1,10E+01	2,90E+01	1,97E-01	1,78E+01	90,43
IC <sub>50</sub> (М)	1,00E-09	1,73E-09	7,33E-08	1,93E-07	1,32E-09	1,19E-07	

Пример биоактивности 9 - цитотоксичность конъюгата ADC 14 против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

Цитотоксичность ADC 14 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 М). В таблице 26 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>. Примечательно, что ADC 14 показал цитотоксическую активность в низком нМ диапазоне по сравнению с исходным лекарственным средством 11R, но только в HER2-экспрессирующих клетках, в то время как он не смог показать никакой активности в HER2-отрицательных клетках в пределах диапазона тестируемых концентраций, тем самым подтверждая выдающуюся селективность.

Таблица 26

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности ADC 14

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	1,10E-01	1,80E-01	> 2,51E+01	> 2,51E+01	1,41E-01	> 2,51E+01	>178
IC <sub>50</sub> (М)	7,33E-10	1,20E-09	> 1,67E-07	> 1,67E-07	9,38E-10	> 1,67E-07	

Пример биоактивности 10 - цитотоксичность конъюгата ADC 15 против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

Цитотоксичность ADC 15 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 50 мкг/мл до 13 нг/мл (3,33E-07-8,74E-11 М). В таблице 27 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>. Как можно увидеть, ADC 15 значительно более активен в HER2-положительных клетках, давая превосходный индекс селективности, близкий к 200.

Таблица 27

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности ADC 15

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	8,00E-02	1,80E-01	2,10E+01	2,21E+01	1,20E-01	2,15E+01	179,4

IC <sub>50</sub> (M)	5,33E-10	1,20E-09	1,40E-07	1,47E-07	8,00E-10	1,43E-07	
----------------------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	--

Пример биоактивности 11 - цитотоксичность конъюгата ADC 16 против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

Цитотоксичность ADC 16 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 M). В табл. 28 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>. Как можно увидеть, ADC 16 значительно более активен в HER2-положительных клетках, давая превосходный индекс селективности, выше 100.

Таблица 28

Краткое описание in vitro цитотоксичности ADC 16

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	4,01E-02	8,00E-01	1,30E+01	2,70E+01	1,79E-01	1,87E+01	104,7
IC <sub>50</sub> (M)	2,67E-10	5,33E-09	8,67E-08	1,80E-07	1,19E-09	1,25E-07	

Пример биоактивности 12 - цитотоксичность конъюгата ADC 17 против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

Цитотоксичность ADC 17 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 M). В табл. 29 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>.

Таблица 29

Краткое описание in vitro цитотоксичности ADC 17

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	7,40E+00	1,40E+01	4,40E+01	4,20E+01	1,02E+01	4,30E+01	4,22
IC <sub>50</sub> (M)	4,93E-08	9,33E-08	2,93E-07	2,80E-07	6,78E-08	2,86E-07	

Пример биоактивности 13 - цитотоксичность конъюгата ADC 18 против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

Цитотоксичность ADC 18 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 M). В табл. 30 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>.

Таблица 30

Краткое описание in vitro цитотоксичности ADC 18

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	4,40E+00	2,21E+01	4,31E+01	9,71E+01	9,84E+00	6,46E+01	6,57
IC <sub>50</sub> (M)	2,93E-08	1,47E-07	2,87E-07	6,47E-07	6,56E-08	4,31E-07	

Пример биоактивности 14 - цитотоксичность конъюгата ADC 19 против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

Цитотоксичность ADC19 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 M). В табл. 31 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>.

Таблица 31

Краткое описание in vitro цитотоксичности ADC 19

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	8,30E+00	3,41E+01	> 1,00E+02	> 1,00E+02	1,68E+01	> 1,00E+02	>5,95

IC <sub>50</sub> (M)	5,53E-08	2,27E-07	> 6,67E-07	> 6,67E-07	1,12E-07	> 6,67E-07	
----------------------	----------	----------	------------	------------	----------	------------	--

Пример биоактивности 15 - цитотоксичность конъюгата ADC 20 против HER2 положительных и отрицательных клеток рака груди.

Цитотоксичность ADC20 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 M). В табл. 32 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>.

Таблица 32

## Краткое описание in vitro цитотоксичности ADC 20

	HER2 положительные		HER2 отрицательные		IC <sub>50</sub> в HER2+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в HER2- (ср. геом.)	Индекс селект.
	SK-BR-3	HCC-1954	MDA-MB-231	MCF-7			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	2,21E+00	1,61E+01	5,40E+01	4,01E+01	5,95E+00	4,65E+01	7,82
IC <sub>50</sub> (M)	1,47E-08	1,07E-07	3,60E-07	2,67E-07	3,97E-08	3,10E-07	

Пример биоактивности 16- цитотоксичность конъюгата ADC 7 и родственных реагентов против CD13 положительных и отрицательных раковых клеток.

Цитотоксичность 11-R.

Цитотоксичность промежуточного соединения 11-R оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 0,03 нг/мл (1,26E-07-3,3E-11 M).

Как показано в табл. 33, где представлены результаты среднего геометрического значений IC<sub>50</sub>, полученные в трех разных экспериментах, цитотоксичность этого соединения была аналогичной во всех линиях опухолевых клеток, независимо от их экспрессии CD13, со значениями IC<sub>50</sub> в нижнем наномолярном диапазоне, от 0,5 до 1,2 нг/мл (5,8E-10 до 1,51E-09 M). Средние геометрические значения IC<sub>50</sub> по всей клеточной панели составляют 0,84 нг/мл (1,06E-09 M) при стандартном геометрическом отклонении, составляющем 1,5 в соответствии с гомогенностью результатов для четырех клеточных линий.

Таблица 33

## Краткое описание in vitro цитотоксичности 11-R

	CD13 положительные		CD13 отрицательные	
	HT-1080	NB-4	Raji	RPMI8226
IC <sub>50</sub> , мкг/мл	1,20E-03	4,60E-04	9,67E-04	9,28E-04
IC <sub>50</sub> , M	1,51E-09	5,80E-10	1,22E-09	1,17E-09

Цитотоксичность ADC 7.

Цитотоксичность ADC 7 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 M). В табл. 34 суммированы выведенные значения IC<sub>50</sub>. Примечательно, что ADC 7 показал цитотоксическую активность в низком нМ диапазоне по сравнению с таковой исходного лекарственного средства 11-R, но только в CD13-экспрессирующих клетках, в то время как его активность в CD13-отрицательных клетках довольно умеренная. Следовательно, выдающаяся селективность значительно выше 100 может наблюдаться как функция от экспрессии CD13.

Таблица 34

## Краткое описание in vitro цитотоксичности ADC 7

	CD13 положительные		CD13 отрицательные		IC <sub>50</sub> в CD13+ (ср. геом.)	IC <sub>50</sub> в CD13- (ср. геом.)	Индекс селект.
	HT-1080	NB-4	Raji	RPMI8226			
IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	1,30E-01	2,70E-01	2,21E+01	4,10E+01	1,87E-01	3,00E+01	160,4
IC <sub>50</sub> (M)	8,67E-10	1,80E-09	1,47E-07	2,73E-07	1,25E-09	2,00E-07	

Пример биоактивности 17 - цитотоксичность конъюгата ADC 8 против CD13 положительных и отрицательных раковых клеток.

Цитотоксичность ADC 8 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение

тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 М). В табл. 35 суммированы выведенные значения  $IC_{50}$ . ADC 8 показал цитотоксическую активность в низком нМ диапазоне по сравнению с таковой для исходного лекарственного средства 11-R, но только в CD13-экспрессирующих клетках, в то время как его активность в CD13-отрицательных клетках довольно умеренная. Следовательно, выдающаяся селективность, близкую к 200, получают как функцию от экспрессии CD13.

Таблица 35

	Краткое описание in vitro цитотоксичности ADC 8						Индекс селект.
	CD13 положительные		CD13 отрицательные		$IC_{50}$ в CD13+ (ср. геом.)	$IC_{50}$ в CD13- (ср. геом.)	
	HT-1080	NB-4	Raji	RPMI8226			
$IC_{50}$ (мкг/мл)	1,61E-01	2,51E-01	4,31E+01	3,30E+01	2,01E-01	3,77E+01	188
$IC_{50}$ (М)	1,07E-09	1,67E-09	2,87E-07	2,20E-07	1,34E-09	2,51E-07	

Пример биоактивности 18 - цитотоксичность конъюгата ADC 9 и родственных реагентов против CD13 положительных и отрицательных раковых клеток.

Цитотоксичность 12-R.

Цитотоксичность промежуточного соединения 12-R оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 до 0,03 нг/мл (1,28E-07-3,83E-11 М).

Как показано в табл. 36, где представлены результаты среднего геометрического значений  $IC_{50}$  полученных в трех независимых экспериментах, цитотоксичность этого соединения была аналогичной во всех линиях опухолевых клеток, независимо от их экспрессии CD13, со значениями  $IC_{50}$  в нижнем наномолярном диапазоне, от 0,3 до 1,1 нг/мл (4,21E-10 до 1,40E-09 М). Средние геометрические значения  $IC_{50}$  по всей клеточной панели составляют 0,6 нг/мл (7,8E-10 М), при стандартном геометрическом отклонении, составляющем 1,7 в соответствии с гомогенностью результатов для четырех клеточных линий.

Таблица 36

	Краткое описание in vitro цитотоксичности 12-R			
	CD13 положительные		CD13 отрицательные	
	HT-1080	NB-4	Raji	RPMI8226
$IC_{50}$ , мкг/мл	1,10E-03	3,30E-04	4,70E-04	8,30E-04
$IC_{50}$ , М	1,40E-09	4,21E-10	6,00E-10	1,06E-09

Цитотоксичность ADC-9.

Цитотоксичность ADC 9 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10 М). В табл. 37 суммированы выведенные значения  $IC_{50}$ . ADC 9 показал цитотоксическую активность в низком нМ диапазоне по сравнению с таковой для исходного лекарственного средства 12-R, но только в CD13-экспрессирующих клетках, в то время как его активность в CD13-отрицательных клетках довольно умеренная. Следовательно, выдающийся индекс селективности, выше 200, получают как функцию от экспрессии CD13.

Таблица 37

	Краткое описание in vitro цитотоксичности ADC 9						Индекс селект.
	CD13 положительные		CD13 отрицательные		$IC_{50}$ в CD13+ (ср. геом.)	$IC_{50}$ в CD13- (ср. геом.)	
	HT-1080	NB-4	Raji	RPMI8226			
$IC_{50}$ (мкг/мл)	1,20E-01	5,21E-02	1,70E+01	1,70E+01	7,90E-02	1,70E+01	214
$IC_{50}$ (М)	8,00E-10	3,47E-10	1,13E-07	1,13E-07	5,27E-10	1,13E-07	

Пример биоактивности 19 - Цитотоксичность конъюгата ADC 10 против CD13 положительных и отрицательных раковых клеток.

Цитотоксичность ADC 10 оценивают против разных линий опухолевых клеток через получение тройных ДЗ кривых 10-точечного, 2,5-кратного разведения от 100 мкг/мл до 26 нг/мл (6,67E-07-1,75E-10

М). В табл. 38 суммированы выведенные значения  $IC_{50}$ . ADC 10 показал цитотоксическую активность в низком нМ диапазоне по сравнению с таковой для исходного лекарственного средства 11-R, но только в CD13-экспрессирующих клетках, в то время как его активность в CD13-отрицательных клетках довольно умеренная. Следовательно, выдающаяся селективность, близкую к 100, получают как функцию от экспрессии CD13.

Таблица 38

Краткое описание *in vitro* цитотоксичности ADC 10

	CD13 положительные		CD13 отрицательные		$IC_{50}$ в CD13+ (ср. геом.)	$IC_{50}$ в CD13- (ср. геом.)	Индекс селект.
	HT-1080	NB-4	Raji	RPMI8226			
$IC_{50}$ (мкг/мл)	9,71E-02	9,71E-01	3,30E+01	2,81E+01	3,07E-01	3,04E+01	99,14
$IC_{50}$ (М)	6,47E-10	6,47E-09	2,20E-07	1,87E-07	2,05E-09	2,03E-07	

Пример 4. Демонстрация *in vivo* эффективности конъюгатов антитело-лекарственное средство настоящего изобретения.

Конъюгат антитело-лекарственное средство на основе трастузумаба ADC 1 тестируют в нескольких моделях *in vivo*. Партии ADC-1, применяемые в этих исследованиях, получают с применением 2,2 экв. ТКЭФ (ADC 1 2,2 ТКЭФ) или 3 экв. ТКЭФ (ADC-1). Эти партии производят с применением методик, описанных выше, за исключением того, что конечную очистку эксклюзионной хроматографией по размеру (ЭХР) проводят с применением колонки Hi Load 26/600 Superdex™ 200  $\mu$ г и ФРФБ (pH 7,4) в качестве элюента.

ADC-1 и ADC 1 2,2 ТКЭФ оценивают в модели HER2 положительного рака груди, BT-474, вместе с их полезной нагрузкой, соединением 11-R. Следует отметить, что, несмотря на низкую дозу (субоптимальную), вводимую мышам с опухолями в этом эксперименте, были получены обнадеживающие положительные результаты (см. фигуру 12). Поэтому был проведен ряд новых экспериментов, направленных на оценку противоопухолевой активности на моделях Her2 положительного и не Her2 положительного рака груди. ADC-1 оценивают при более высоком уровне дозы в модели опухоли груди, JIMT-1 (см. фигуру 13), в модели опухоли яичников, SK-OV-3 (фиг. 14) и в модели опухоли ЖКТ, Gastric-008, на полученном у пациента ксенотрансплантате (PDX), (фиг. 16). Дополнительно, ADC-1 2,2 ТКЭФ оценивают в другой модели опухоли ЖКТ, N87 (фиг. 15).

Коротко, бестимусным nu/nu (N87, Gastric-008 или SK-OV-3) или SCID (BT-474 или JIMT-1) мышам в возрасте 4-6 недель подкожно имплантируют либо суспензию опухолевых клеток (JIMT-1 или N87), либо фрагменты опухоли (BT-474, Gastric-008 или SK-OV3), ранее созданные у донорных мышей.

Размеры опухоли и массу тела записывают 3 раза в неделю, начиная с первого дня лечения (день 0). Лечение, вызывающее >20% летальность и/или 20% чистую потерю массы тела считают токсичным. Объем опухоли рассчитывают с применением уравнения  $(a \cdot b^2)/2$ , где а и b являются самым длинным и самым коротким диаметрами, соответственно. Животных умерщвляет, когда их опухоли достигают около 2000 мм<sup>3</sup> и/или наблюдается тяжелый некроз. Медиану рассчитывают для объема опухоли в каждый день измерения. Полную регрессию опухоли (ПР) определяют, когда объем опухоли достигает <63 мм<sup>3</sup> для 2 или более последовательных измерений.

Животных имплантируют, как описано выше, и когда опухоли достигают около 150-200 мм<sup>3</sup>, мышам, имеющих опухоли (N=8-10/группу) произвольно распределяют на группы лечения согласно следующему дизайну эксперимента:

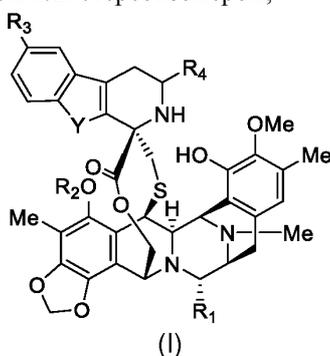
Опухоль	Группа	Доза (мг/кг)
JIMT-1	Контроль	0,0
	11-R	5,0
	ADC-1	30,0
	ADC-1	10,0
	ADC-1	5,0
N87	Контроль	0,0
	11-R	5,0
	ADC-1 (2,2 ТКЭФ)	30,0
	ADC-1 (2,2 ТКЭФ)	10,0
	ADC-1 (2,2 ТКЭФ)	5,0
SK-OV-3	Контроль	0,0
	11-R	5,0
	ADC-1	30,0
	ADC-1	10,0

Опухоль	Группа	Доза (мг/кг)
Gastric-008	ADC-1	5,0
	Контроль	0,0
	11-R	5,0
	ADC-1	30,0
	ADC-1	10,0
BT-474	ADC-1	5,0
	Контроль	0,0
	11-R	5,0
	ADC-1 (2,2 ТКЭФ)	6,5
	ADC-1	2,24
	ADC-1 (2,2 ТКЭФ)	1,6

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Конъюгат лекарственного средства, содержащий группу лекарственного средства, ковалентно присоединенную к остатку конъюгата лекарственного средства, где конъюгат лекарственного средства имеет формулу  $[D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-(L)]_n-Ab$ , где:

D является группой лекарственного средства, имеющей следующую формулу (I), или ее фармацевтически приемлемой солью, таутомером или стереоизомером,



где: D ковалентно присоединен через гидрокси- или аминогруппу к  $(X)_b$ , если имеется, или  $(AA)_w$ , если имеется, или к  $(T)_g$ , если имеется, или  $(L)$ ;

Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>O- и -CH<sub>2</sub>NH-;

R<sub>a</sub> выбирают из C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкила;

R<sub>b</sub> выбирают из C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкила;

X является удлиняющей группой, выбранной из:

когда D ковалентно присоединен через группу -NH-:

-COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)NH-;

-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен)-NH-;

-COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)NH-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен)-NH-;

-COCH<sub>2</sub>NH-COCH<sub>2</sub>-NH-;

-COCH<sub>2</sub>NH-;

-COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)S-;

-COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)S-; и

когда D ковалентно присоединен через группу -O-:

-CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)NH-;

-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен)-NH-;

-CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)NH-COO-CH<sub>2</sub>-(фенилен)-NH-;

-COCH<sub>2</sub>NH-COCH<sub>2</sub>-NH-;

-COCH<sub>2</sub>NH-;

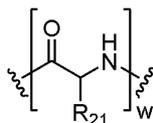
-CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)S-;

-CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)S-;

T является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из: -CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)-NH-, -CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)]<sub>j</sub>-NH-, -COO-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)-[O-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>алкилен)]<sub>j</sub>-NH-;

где j является целым числом от 1 до 25;

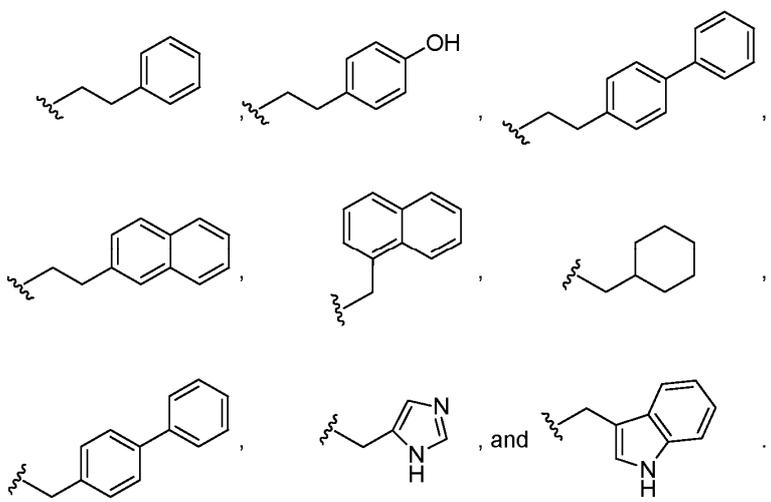
(AA)<sub>w</sub> имеет формулу (II):



(II)

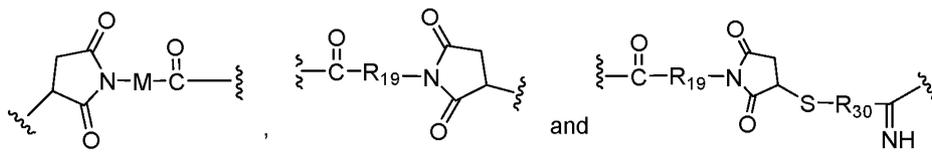
где волнистые линии указывают точку ковалентного присоединения к (X)<sub>b</sub>, если таковой имеется, или к фрагменту лекарственного средства (волнистая линия слева) и (T)<sub>g</sub>, если таковой имеется, или к линкеру (волнистая линия справа); и

R<sub>21</sub> в каждом случае выбран из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, изобутила, втор-бутила, бензила, п-гидроксibenзила, -CH<sub>2</sub>OH, -CH(OH)CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>COOH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOCH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCHO, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCOCH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCHO, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCONH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, 2-пиридилметила-, 3-пиридилметила-, 4-пиридилметила-, фенила, циклогексила,



w является целым числом от 0 до 12;

L является линкерной группой, выбранной из группы, состоящей из:



где волнистые линии указывают точки ковалентного присоединения к Ab (волнистая линия справа) и к (T)<sub>g</sub>, если таковой имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если таковой имеется, или к (X)<sub>b</sub> (волнистая линия слева);

R<sub>19</sub> выбран из -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилен-, -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилен)-, -фенилен-, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилен-фенилен-, -фенилен-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилен-, -C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub>гетероцикло-, где указанная гетероциклогруппа может представлять собой насыщенную или ненасыщенную группу, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилен-(C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub>гетероцикло)-, где указанная гетероциклогруппа может представлять собой насыщенную или ненасыщенную группу, -(C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub>гетероцикло)-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилен-, где указанная гетероциклогруппа может представлять собой насыщенную или ненасыщенную группу -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>f</sub>- и -CH<sub>2</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>f</sub>;

R<sub>30</sub> представляет собой -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкиленовую группу;

M выбран из группы, состоящей из -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен-, -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилен-(C<sub>3</sub>-C<sub>3</sub> карбоцикло)- и фенилена;

где гетероциклогруппы представляют собой гетероциклические группы, содержащие от 1 до 3 разделенных или конденсированных колец, имеющих от 5 до 14 кольцевых атомов и включающих один гетероатом, выбранный из кислорода, азота и серы, где имеются две ковалентные связи в любом положении кольцевой системы;

г является целым числом от 1 до 6;

б является целым числом 0 или 1;

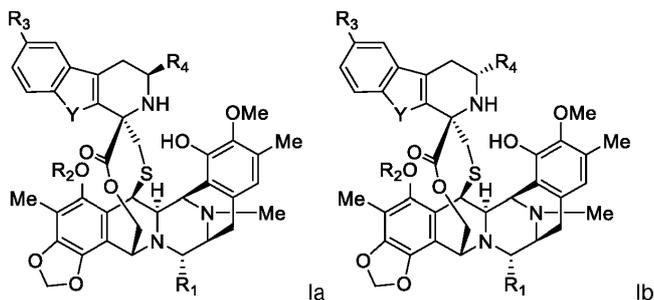
г является целым числом 0 или 1;

Ab представляет собой моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

n является отношением группы [D-(X)<sub>b</sub>-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-(L)-] к группе Ab, и является целым числом от 1 до 20;

где группа лекарственного средства D конъюгирована через положение R<sub>4</sub>.

2. Конъюгат лекарственного средства по п.1, где D выбирают из формулы Ia или Ib, или его фармацевтически приемлемая соль:



где: Y является -NH- или -O-;

R<sub>1</sub> является -OH или -CN;

R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

R<sub>4</sub> выбирают из -CH<sub>2</sub>O- и -CH<sub>2</sub>NH-;

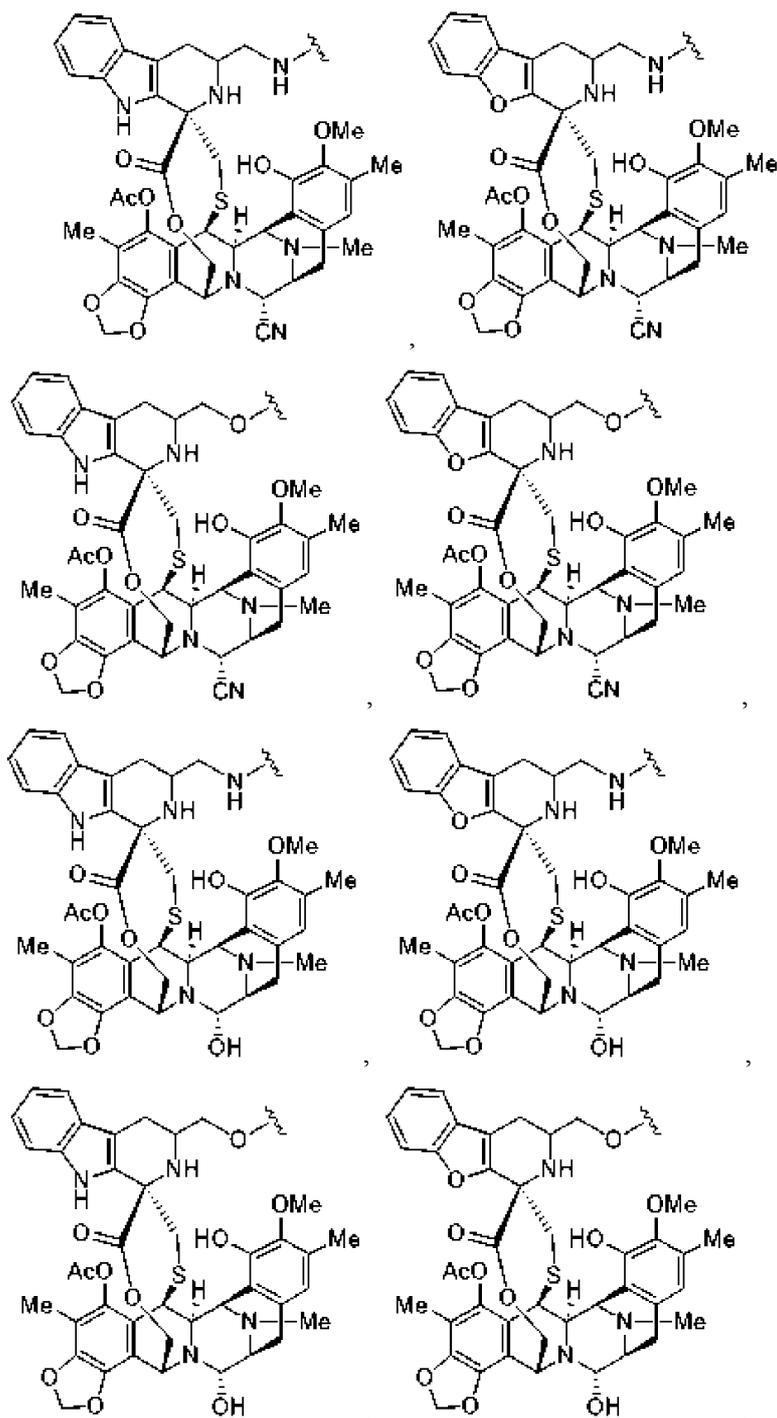
R<sub>a</sub> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкил; и

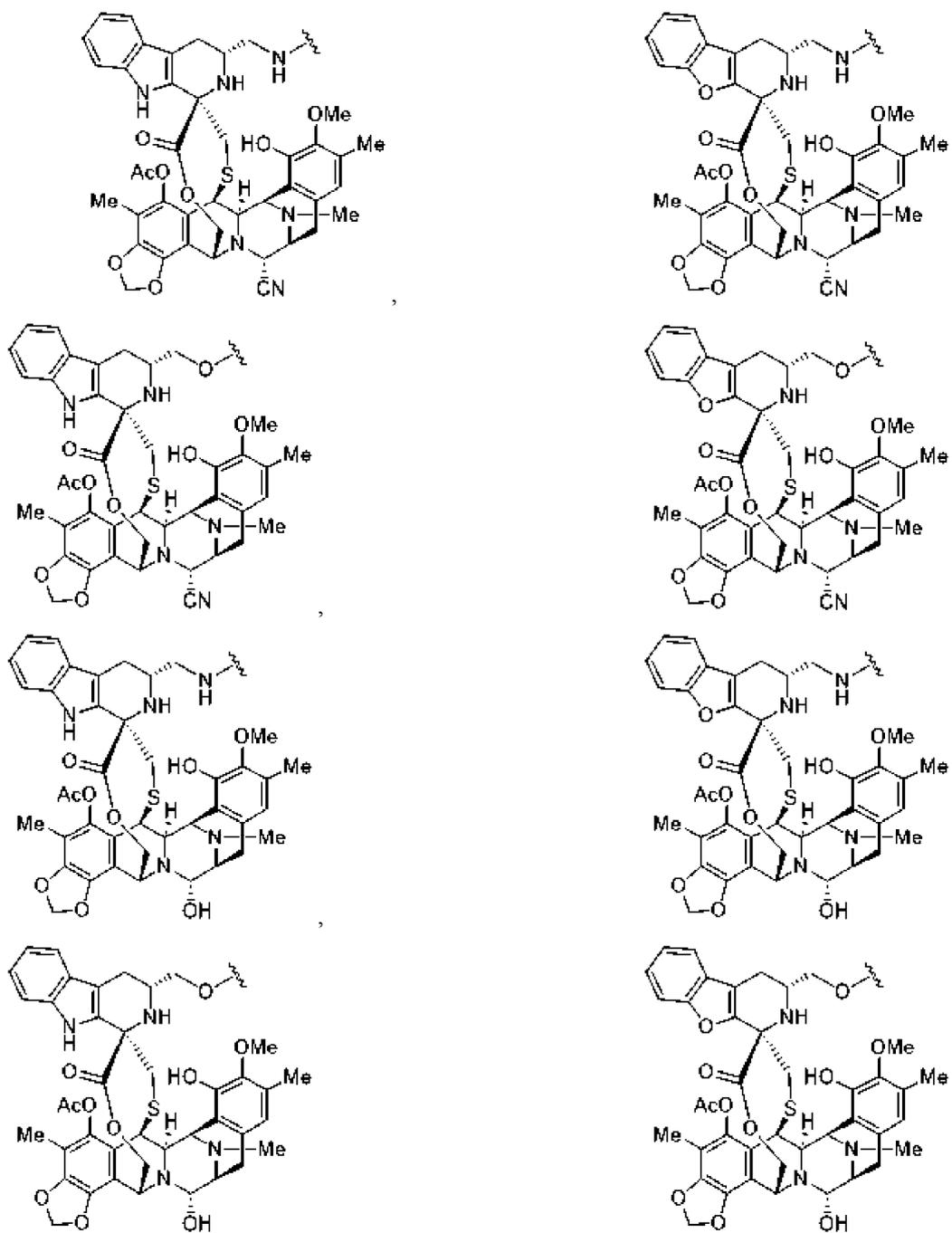
R<sub>b</sub> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкил;

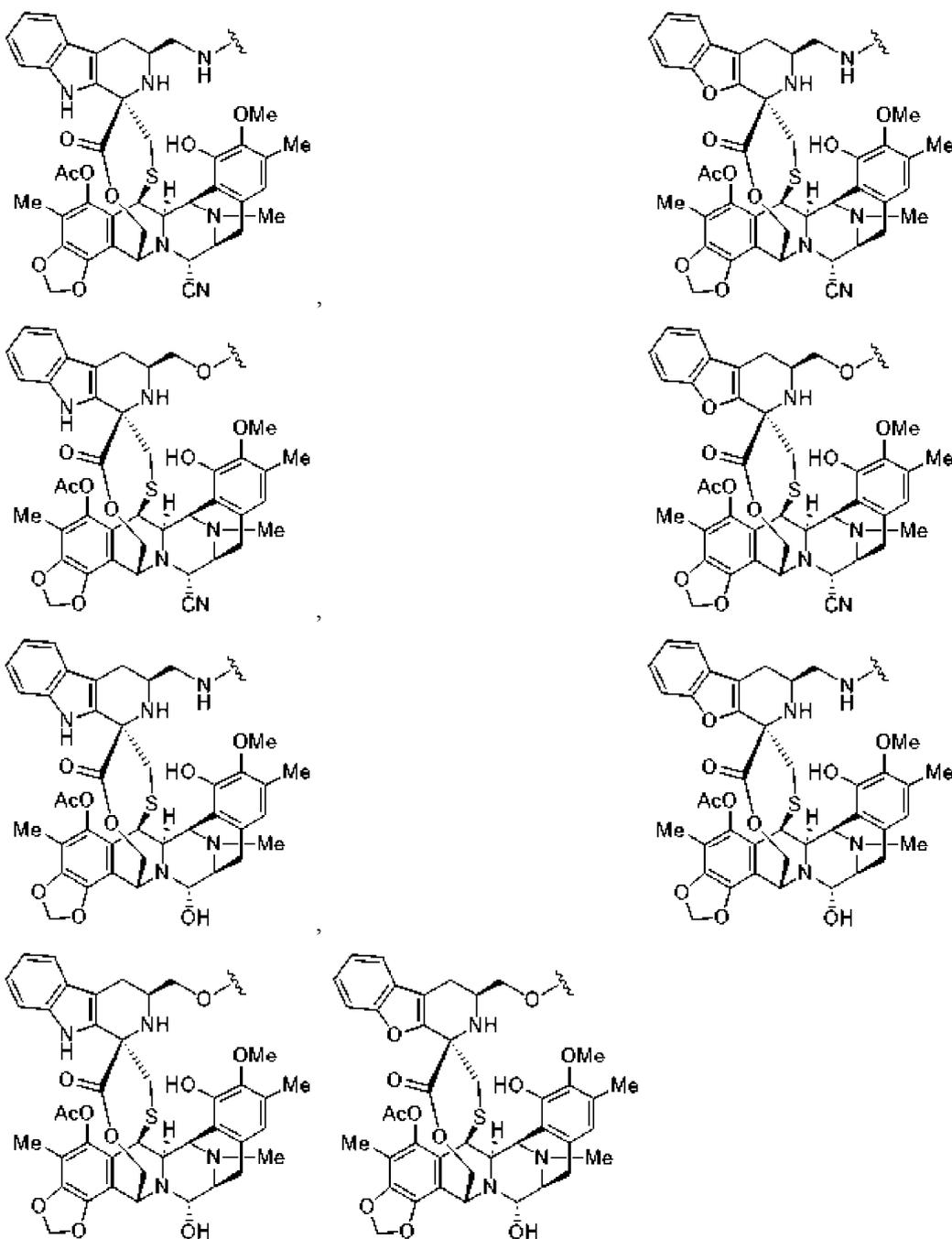
3. Конъюгат лекарственного средства по п.1 или 2, где R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>O-.

4. Конъюгат лекарственного средства по п.1 или 2, где R<sub>4</sub> является -CH<sub>2</sub>NH-.

5. Конъюгат лекарственного средства по п.1, где D является соединением формулы:

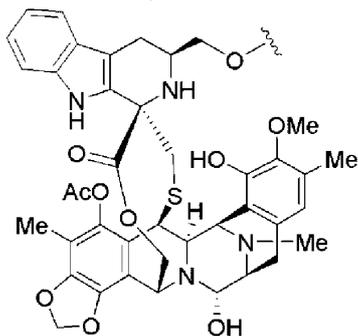




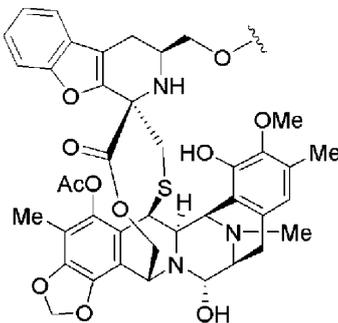


или его фармацевтически приемлемая соль;  
 где волнистая линия указывает точку ковалентного присоединения к (X)<sub>b</sub>, если таковой имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если таковой имеется, или к (T)<sub>b</sub>, если таковой имеется, или (L).

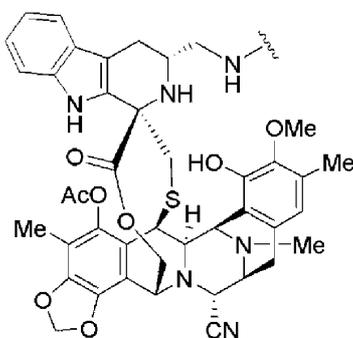
6. Конъюгат лекарственного средства по п.1, где D является соединением формулы:



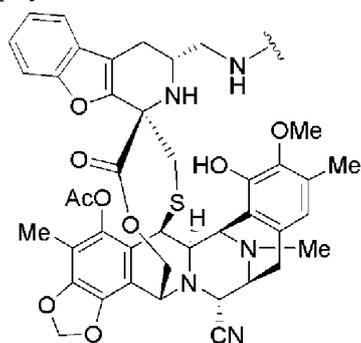
или его фармацевтически приемлемая соль;  
 где волнистая линия указывает на точку присоединения к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (L); или  
 где D является соединением формулы:



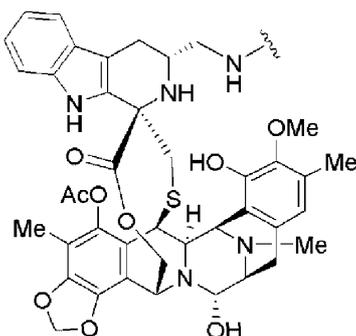
или его фармацевтически приемлемая соль;  
 где волнистая линия указывает на точку присоединения к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (L); или  
 где D является соединением формулы:



или его фармацевтически приемлемая соль;  
 где волнистая линия указывает на точку присоединения к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (L); или  
 где D является соединением формулы:



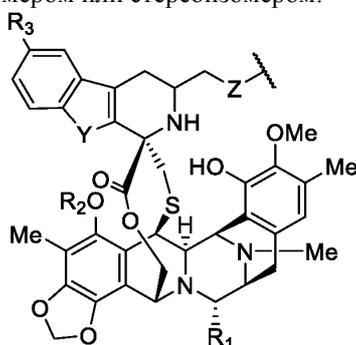
или его фармацевтически приемлемая соль;  
 где волнистая линия указывает на точку присоединения к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (L); или  
 где D является соединением формулы:



или его фармацевтически приемлемая соль;  
 где волнистая линия указывает на точку присоединения к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (L).

7. Конъюгат лекарственного средства по п.1, где:

D является группой лекарственного средства, имеющей следующую формулу (IH), или ее фармацевтически приемлемой солью, таутомером или стереоизомером:



(IH)

где: волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (L);

каждый Y и Z независимо выбирают из -NH- и -O-;

R<sub>1</sub> является -ОН или -СN;

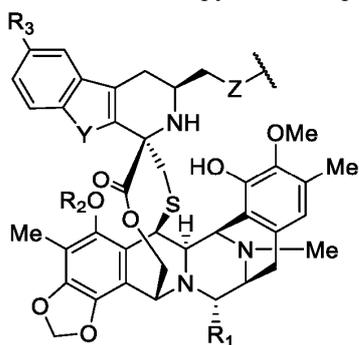
R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой;

R<sub>3</sub> является водородом или -OR<sub>b</sub> группой;

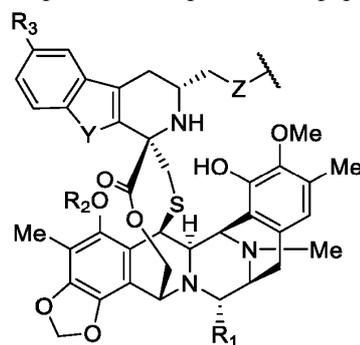
R<sub>a</sub> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкил; и

R<sub>b</sub> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкил.

8. Конъюгат лекарственного средства по п.7 или его фармацевтически приемлемая соль, таутомер или стереоизомер, где D является группой лекарственного средства, выбранный из формул (IHa) и (IHb):



(IHa)



(IHb)

где волнистые линии, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, Y и Z такие, как определены для формулы (IH).

9. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-4, 7 или 8, где Y является -NH-.

10. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-4, 7 или 8, где Y является -O-.

11. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-4 или 7-10, где R<sub>1</sub> является -ОН.

12. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-4 или 7-10, где R<sub>1</sub> является -СN.

13. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-4 или 7-12, где R<sub>2</sub> является -C(=O)R<sub>a</sub> группой, где R<sub>a</sub> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил.

14. Конъюгат лекарственного средства по п.13, где  $R_2$  является ацетиллом.

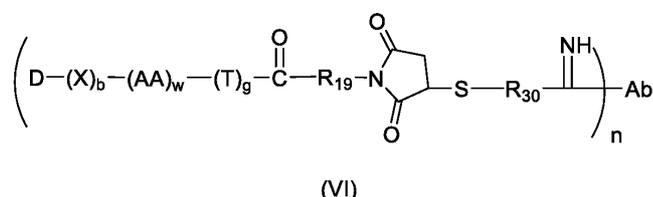
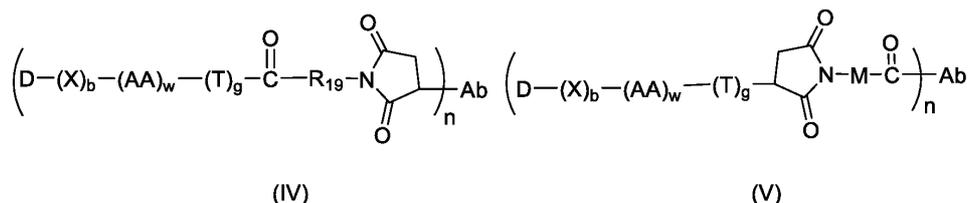
15. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-4 или пп.7-14, где  $R_3$  является водородом или  $-OR_b$ , где  $R_b$  является  $C_1$ - $C_6$ алкилом.

16. Конъюгат лекарственного средства по п.15, где  $R_3$  является водородом.

17. Конъюгат лекарственного средства по п.15, где  $R_3$  является метокси.

18. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-17, где соль выбирают из гидрохлорида, гидробромида, гидроиодида, сульфата, нитрата, фосфата, ацетата, трифторацетата, малеата, fumarата, цитрата, оксалата, сукцината, тартрата, малата, миндалята, метансульфоната, *p*-толуолсульфоната, натрия, калия, кальция, аммония, этилендиамина, этаноламина, *N,N*-диалкилэтанолamina, триэтанолamina и основных аминокислот.

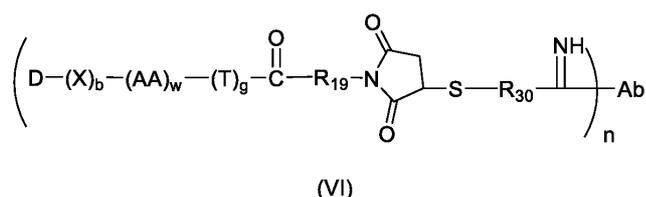
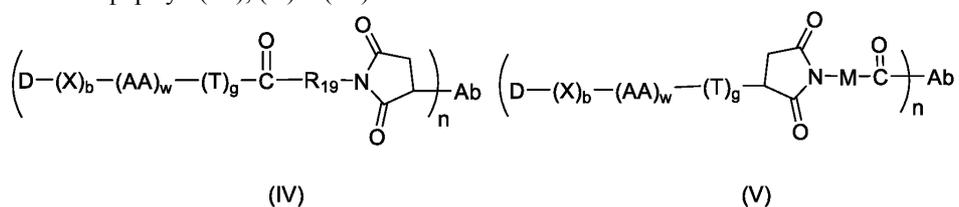
19. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-18, выбранный из формул (IV), (V) и (VI):



где:  $R_{19}$  выбирают из  $-C_1$ - $C_8$ алкилена-,  $-O$ -( $C_1$ - $C_8$ алкилена),  $-C_1$ - $C_8$ алкиленфенилена и фенилен- $C_1$ - $C_8$ алкилена;

$R_{30}$  является  $-C_2$ - $C_4$ алкиленовой- группой; и

$M$  выбирают из группы, состоящей из  $-C_1$ - $C_3$ алкилена- и  $-C_1$ - $C_3$ алкилен-( $C_5$ - $C_7$ карбоцикло)-; или выбранный из формул (IV), (V) и (VI):

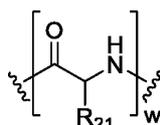


где:  $R_{19}$  выбирают из  $-C_1$ - $C_6$ алкилена-, фенилен- $C_1$ - $C_6$ алкилена;

$R_{30}$  является  $-C_2$ - $C_4$ алкиленовой- группой; и

$M$  является  $-C_1$ - $C_3$ алкилен-( $C_5$ - $C_7$ карбоцикло)-.

20. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-19, где  $(AA)_w$  имеет формулу (II):



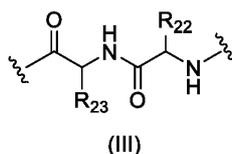
(II)

где волнистые линии означают точку ковалентных присоединений к  $(X)_b$ , если имеется, или к группе лекарственного средства (волнистая линия налево) и к  $(T)_g$ , если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо); и

$R_{21}$  в каждом случае выбирают из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, втор-бутила, бензила, индолилметила,  $-(CH_2)_3NHCONH_2$ ,  $-(CH_2)_4NH_2$ ,  $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$  и  $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ ;

и  $w$  является целым числом от 0 до 6.

21. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-20, где  $w$  равен 0 или 2, и если  $w$  равен 2, то  $(AA)_w$  имеет формулу (III):



где: волнистая линия означает точку ковалентных присоединений к  $(X)_b$ , если имеется, или к группе лекарственного средства (волнистая линия налево) и к  $(T)_g$ , если имеется, или к линкеру (волнистая линия направо);

$R_{22}$  выбирают из метила, бензила, изопропила, втор-бутила и индолилметила; и

$R_{23}$  выбирают из метила,  $-(CH_2)_4NH_2$ ,  $-(CH_2)_3NHCONH_2$  и  $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ .

22. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-21, где  $X$  является удлиняющей группой, выбранной из:

если  $D$  ковалентно присоединен через  $-NH-$ :

$-COO-(C_2-C_4\text{алкилен})NH-$ ;

$-COO-CH_2\text{-фенилен-NH-}$ ;

$-COO-(C_2-C_4\text{алкилен})NH-COO-CH_2\text{-фенилен-NH-}$ ;

$-COCH_2NH-COCH_2-NH-$ ;

$-COO-(C_2-C_4\text{алкилен})S-$ ;

$-COO-(C_2-C_4\text{алкилен})NHCO(C_1-C_3\text{алкилен})S-$ ; или

где  $D$  ковалентно присоединен через  $-O-$ :

$-CONH-(C_2-C_4\text{ алкилен})NH-$ ;

$-COO-CH_2\text{-фенилен-NH-}$ ;

$-CONH-(C_2-C_4\text{алкилен})NH-COO-CH_2\text{-фенилен-NH-}$ ;

$-COCH_2NH-COCH_2-NH-$ ;

$-CONH-(C_2-C_4\text{алкилен})S-$ ;

$-CONH-(C_2-C_4\text{алкилен})NHCO(C_1-C_3\text{алкилен})S-$ ; и

$b$  равен 0 или 1; или

где  $X$  является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из:

если  $D$  ковалентно присоединен через  $-NH-$ :

$-COO-CH_2\text{-фенилен-NH-}$ ;

$-COO(CH_2)_3NHCOOCH_2\text{-фенилен-NH-}$ ;

$-COO(CH_2)_3NH-$ ;

$-COO(CH_2)_3-S-$ ;

$-COO(CH_2)_3NHCO(CH_2)_2S-$ ; или

если  $D$  ковалентно присоединен через  $-O-$ :

$-COO-CH_2\text{-фенилен-NH-}$ ;

$-CONH(CH_2)_3NHCOOCH_2\text{-фенилен-NH-}$ ;

$-CONH(CH_2)_3NH-$ ;

$-CONH(CH_2)_3-S-$ ;

$-CONH(CH_2)_3NHCO(CH_2)_2S-$ ; и

$b$  равен 0 или 1.

23. Конъюгат лекарственного средства по п.22, где  $b$  равен 0 или 1.

24. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-23, где  $T$  является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из  $-CO-(C_1-C_4\text{алкилен})NH-$ ,  $-CO-(C_1-C_4\text{алкилен})-[O-(C_2-C_4\text{алкилен})]_j-NH-$ ,  $-COO-(C_1-C_4\text{алкилен})-[O-(C_2-C_4\text{алкилен})]_j-NH-$ , где  $j$  является целым числом от 1 до 10; и  $g$  равен 0 или 1; или

где  $T$  является удлиняющей группой, выбранной из группы, состоящей из  $-CO-(C_1-C_4\text{алкилен})NH-$ ,  $-CO-(C_1-C_4\text{алкилен})-[O-(C_2-C_4\text{алкилен})]_j-NH-$ ,  $-COO-(C_1-C_4\text{алкилен})-[O-(C_2-C_4\text{алкилен})]_j-NH-$ ;

где  $j$  является целым числом от 1 до 5; и

$g$  равен 0 или 1.

25. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.7-24, где  $D$  является группой лекарственного средства формулы (IHa) или формулы (IHb), или его фармацевтически приемлемая соль, таутомер или стереоизомер, где:

$R_1$  является  $CN$  или  $OH$ ;

$R_2$  является  $C(=O)R_a$ , где  $R_a$  представляет собой  $C_1-C_6$  алкил;

$R_3$  является водородом или  $-OR_b$  группой, где  $R_b$  является  $C_1-C_6$  алкильной группой,

$Y$  является  $-NH-$  или  $-O-$ ; и

$Z$  является  $-NH-$  или  $-O-$ ; или

где  $D$  является группой лекарственного средства формулы (IHa) или формулы (IHb) или его фарма-

цветически приемлемая соль, таутомер или стереоизомер, где:

R<sub>1</sub> является CN или OH;

R<sub>2</sub> является ацетиллом;

R<sub>3</sub> является водородом или метокси;

Y является -NH- или -O-; и

Z является -NH- или -O-; или

где D является группой лекарственного средства формулы (IHa) или формулы (IHб) или его фармацевтически приемлемая соль, таутомер или стереоизомер, где:

R<sub>1</sub> является CN;

R<sub>2</sub> является ацетиллом;

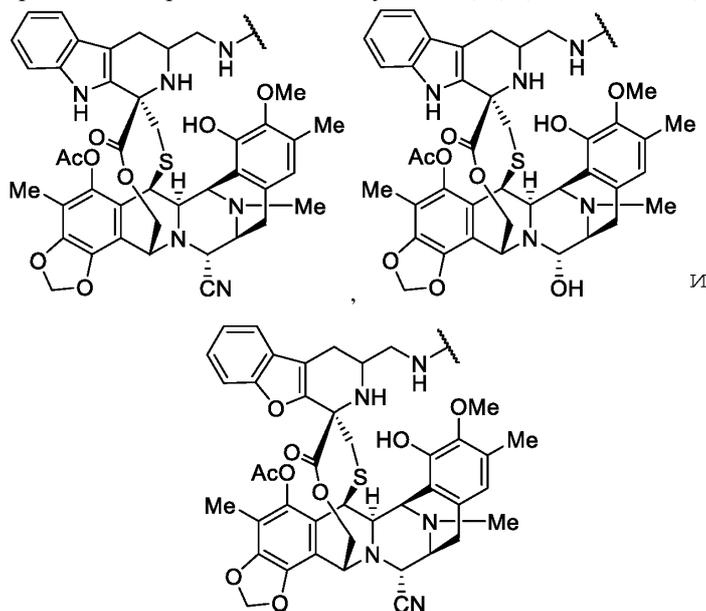
R<sub>3</sub> является водородом;

Y является -NH- или -O-; и

Z является -NH-.

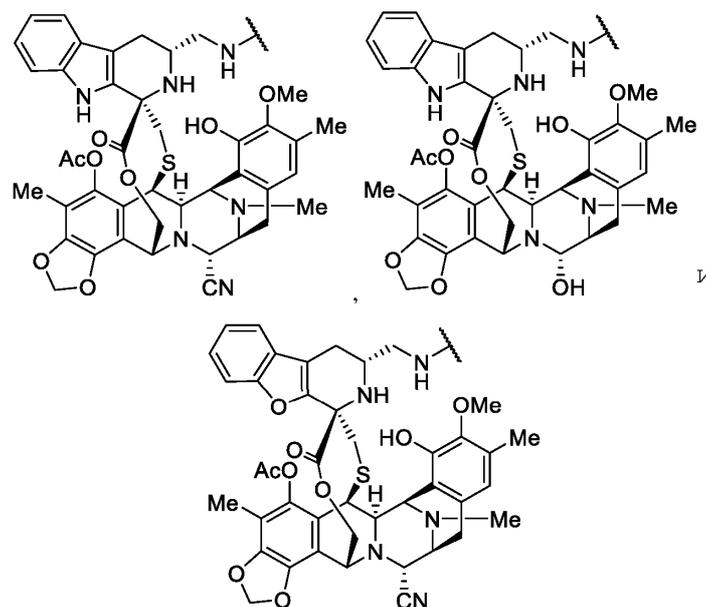
26. Конъюгат лекарственного средства по п.25, где R<sub>3</sub> является водородом.

27. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1, 3, 4, 7 или пп.9-26, где D выбирают из:



или его фармацевтически приемлемая соль, таутомер или стереоизомер, где волнистая линия означает точку ковалентного присоединения к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или к (L); или

где D является



или его фармацевтически приемлемая соль, таутомер или стереоизомер, где волнистая линия озна-

часть точки ковалентного присоединения к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или к (L).

28. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-27, где группой Ab является антитело, выбранное из группы, состоящей из абциксимаба, алемтузумаба, анетумаба, атезолизумаба, авелумаба, базиликсимаба, бевацизумаба, блинатомумаба, брентуксимаба, катумаксомаба, цетуксимаба, кольтуксимаба, даклизумаба, даратумумаба, денинтузумаба, деносумаба, депатуксизумаба, динутуксимаба, дурвалумаба, элотузумаба, энфортумаба, глембатумумаба, гемтузумаба, ибритумомаба, индатуксимаба, индусатумаба, инотузумаба, ипилимумаба, лабетузумаба, ладиратузумаба, лапритуксимаба, лифастузумаба, лорвотузумаба, милатузумаба, мирветуксимаба, наратуксимаба, нецитумумаба, нимотузумаба, ниволумаба, обинутузумаба, офатумумаба, оларатумаба, омализумаба, паливизумаба, панитумумаба, пембролизумаба, пертузумаба, пинатузумаба, полатузумаба, рамуцирумаба, ровалпитузумаба, саситузумаба, силтуксимаба, сиртратумаба, софитузумаба, вадастуксимаба, ворсетузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; или

где группой Ab является антитело, выбранное из группы, состоящей из

абциксимаба, алемтузумаба, анетумаба, атезолизумаба, авелумаба, базиликсимаба, бевацизумаба, блинатомумаба, брентуксимаба, катумаксомаба, цетуксимаба, даклизумаба, даратумумаба, денинтузумаба, деносумаба, депатуксизумаба, динутуксимаба, дурвалумаба, элотузумаба, энфортумаба, глембатумумаба, гемтузумаба, ибритумомаба, индатуксимаба, индусатумаба, инотузумаба, ипилимумаба, лабетузумаба, ладиратузумаба, лапритуксимаба, мирветуксимаба, наратуксимаба, нецитумумаба, нимотузумаба, ниволумаба, обинутузумаба, офатумумаба, оларатумаба, омализумаба, паливизумаба, панитумумаба, пембролизумаба, пертузумаба, полатузумаба, рамуцирумаба, ровалпитузумаба, саситузумаба, силтуксимаба, сиртратумаба, вадастуксимаба, ворсетузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; или

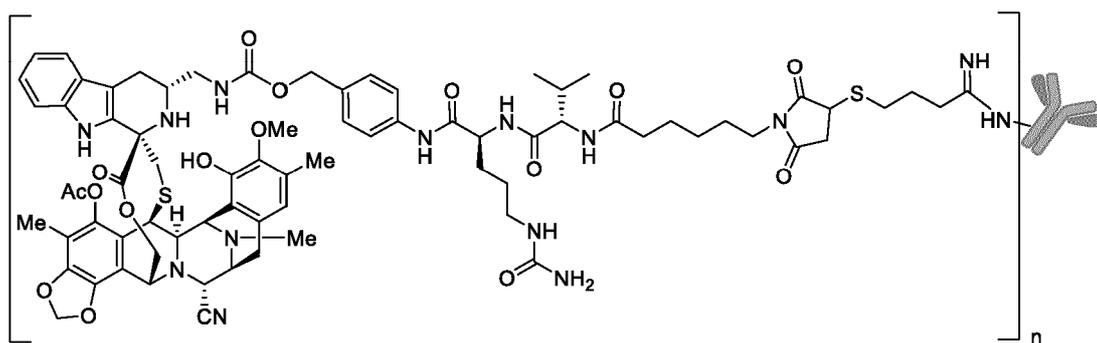
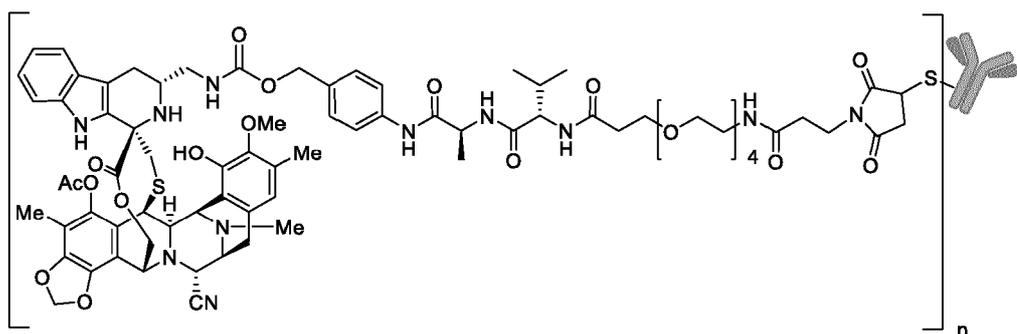
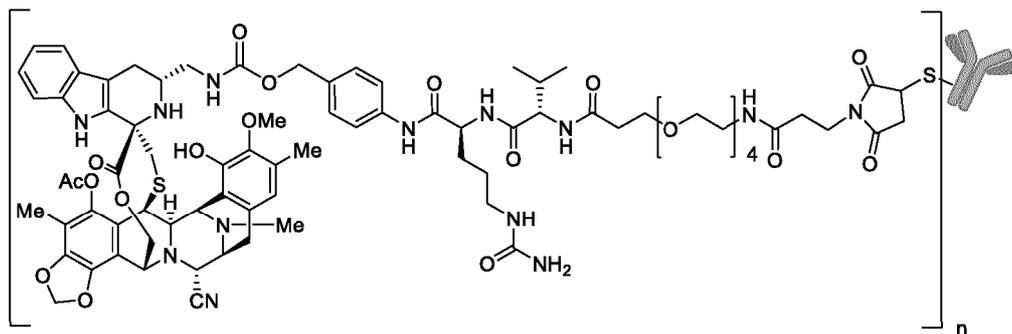
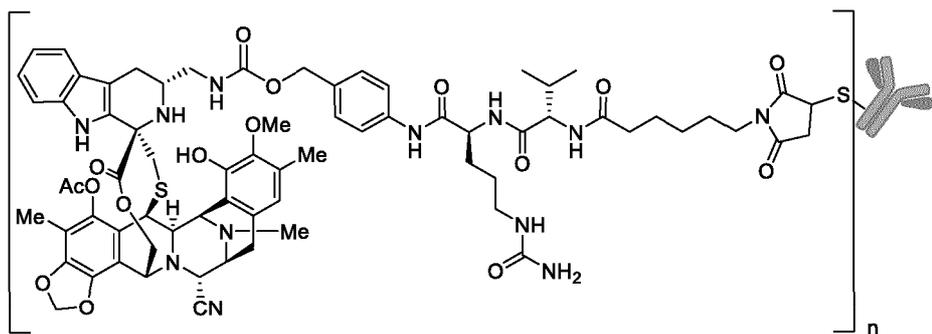
где группой Ab является антитело, выбранное из группы, состоящей из абциксимаба, алемтузумаба, атезолизумаба, авелумаба, базиликсимаба, бевацизумаба, блинатомумаба, брентуксимаба, катумаксомаба, цетуксимаба, даклизумаба, даратумумаба, деносумаба, динутуксимаба, дурвалумаба, элотузумаба, гемтузумаба, ибритумомаба, инотузумаба, ипилимумаба, лабетузумаба, нецитумумаба, нимотузумаба, ниволумаба, обинутузумаба, офатумумаба, оларатумаба, омализумаба, паливизумаба, панитумумаба, пембролизумаба, пертузумаба, рамуцирумаба, ровалпитузумаб, силтуксимаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; или

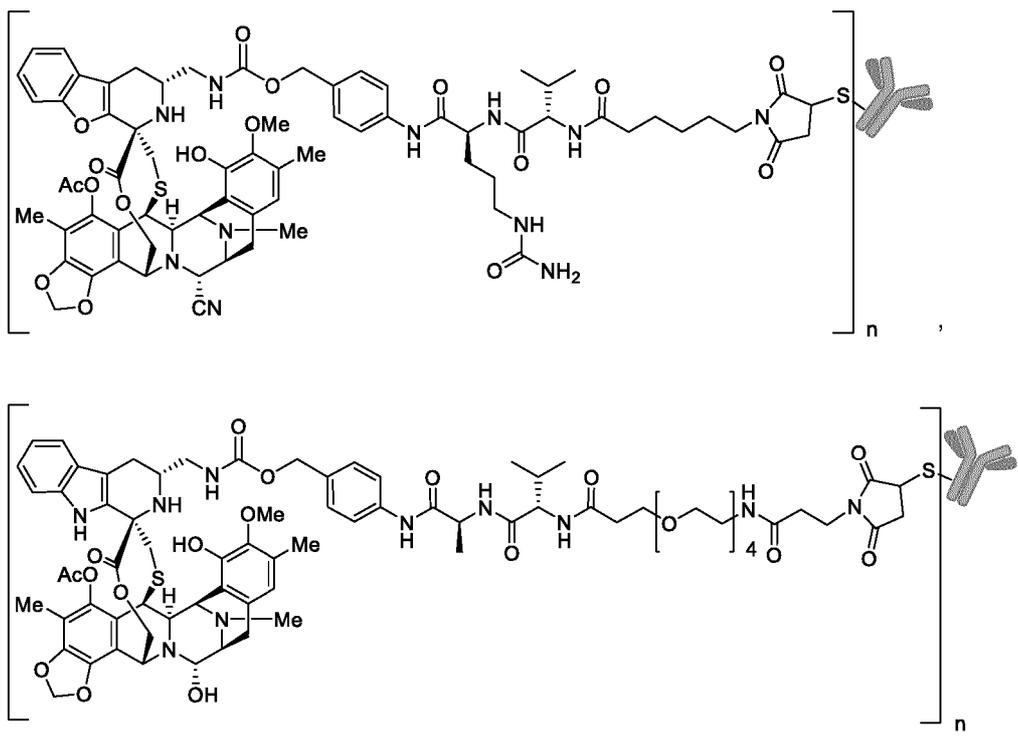
где группой Ab является антитело, выбранное из группы, состоящей из брентуксимаба, гемтузумаба, инозутумаба, ровалпитузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD30 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; или

где группой Ab является антитело, выбранное из группы, состоящей из трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; или

где группа Ab представляет собой трастузумаб или его антигенсвязывающий фрагмент или иммунологически активную часть.

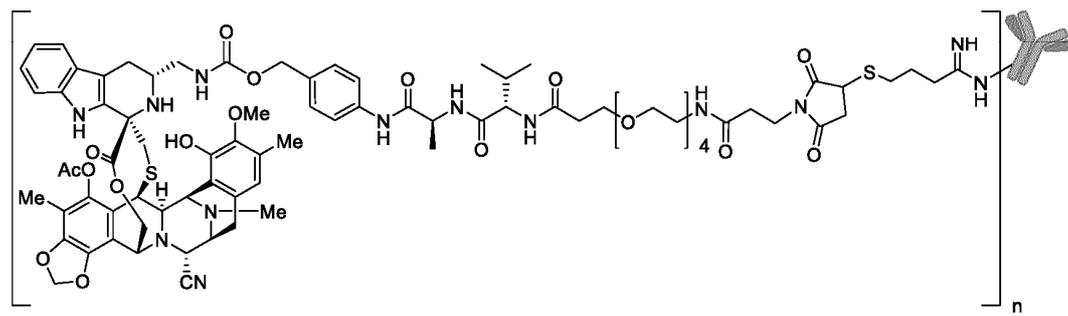
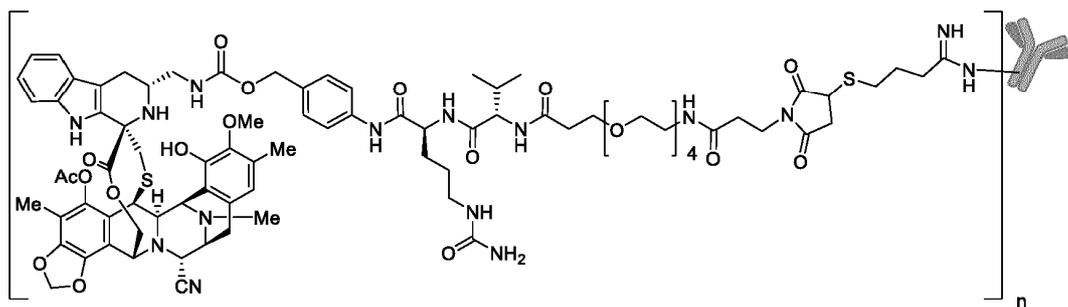
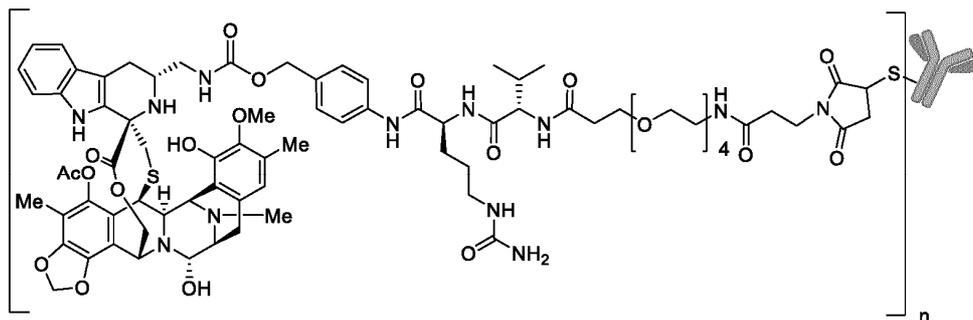
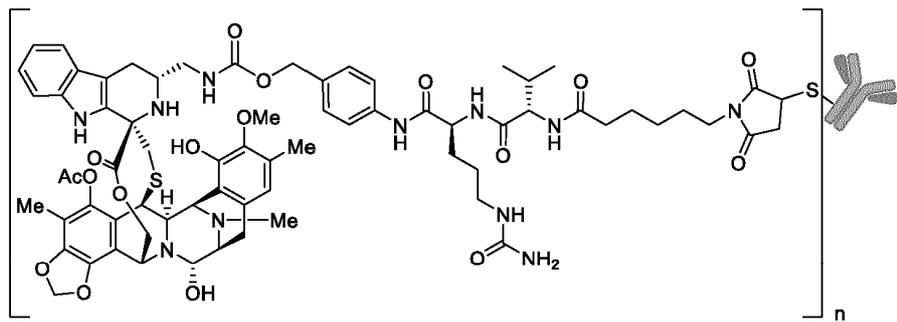
29. Конъюгат лекарственного средства по п.1, представляющий собой конъюгат антитело-лекарственное средство, выбранный из группы, состоящей из:

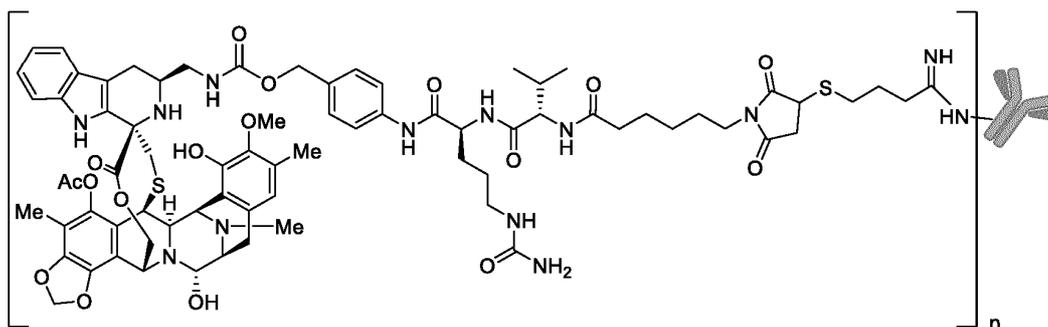
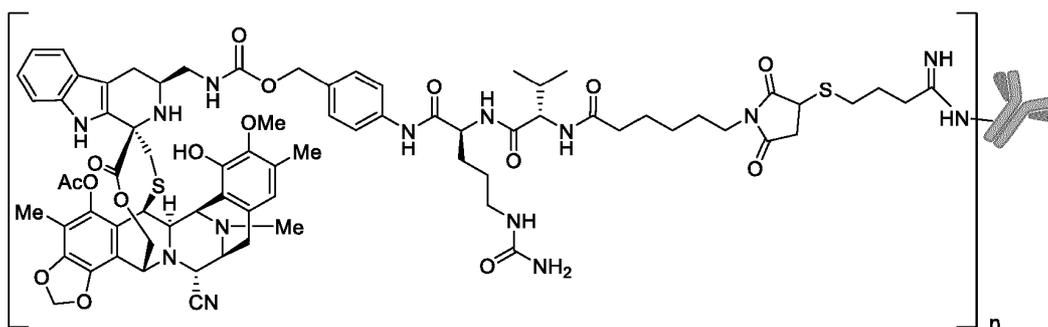
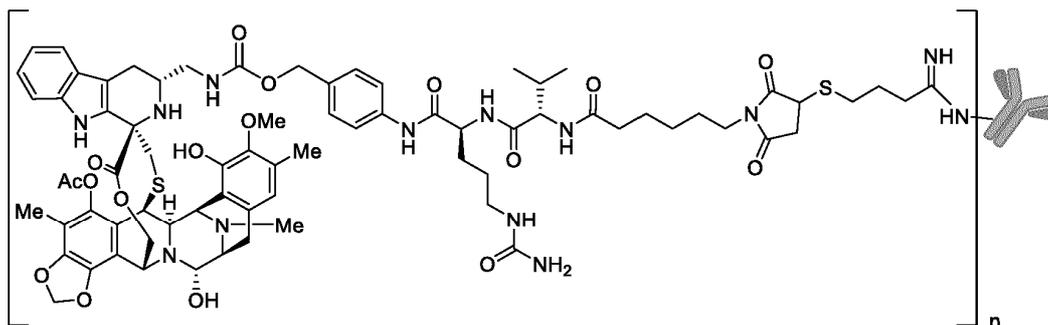
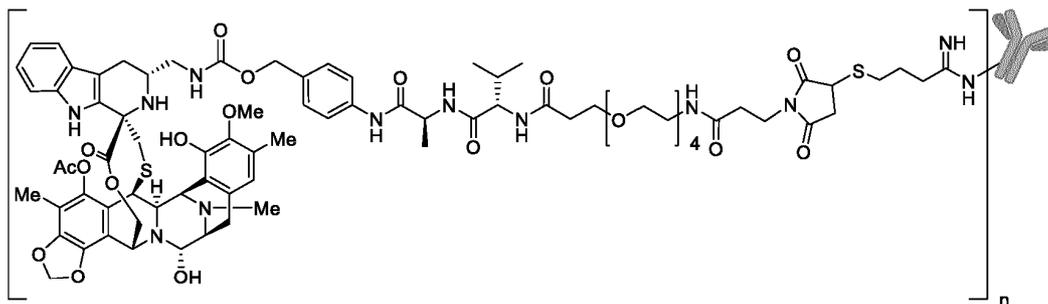


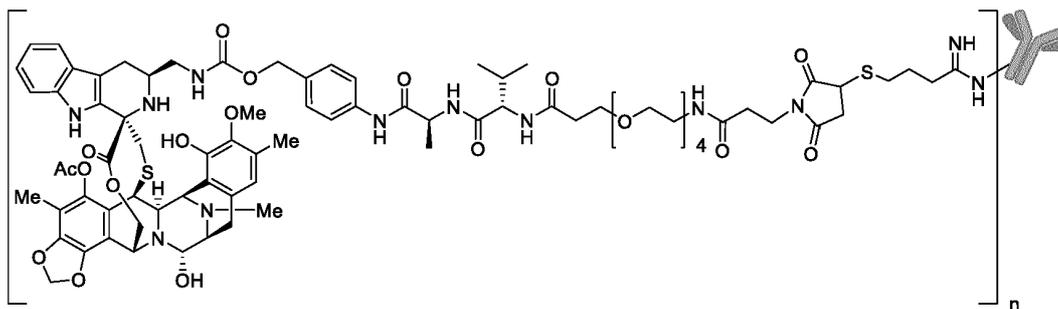
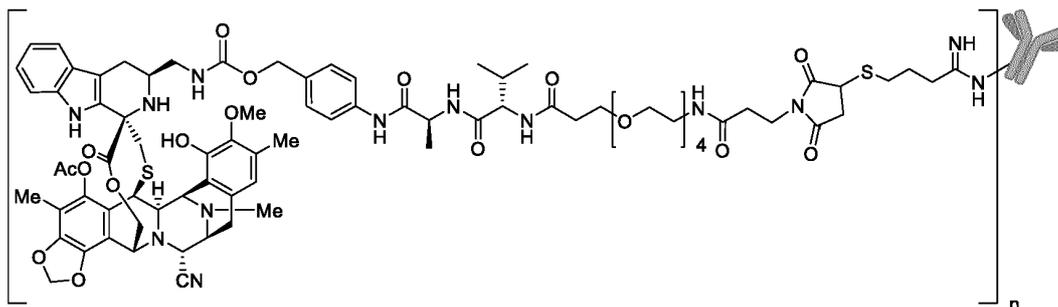


где  $n$  равен от 2 до 6, и каждый независимо выбирают из брентуксимаба, гемтузумаба, инозутумаба, ровалпитузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; или

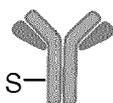
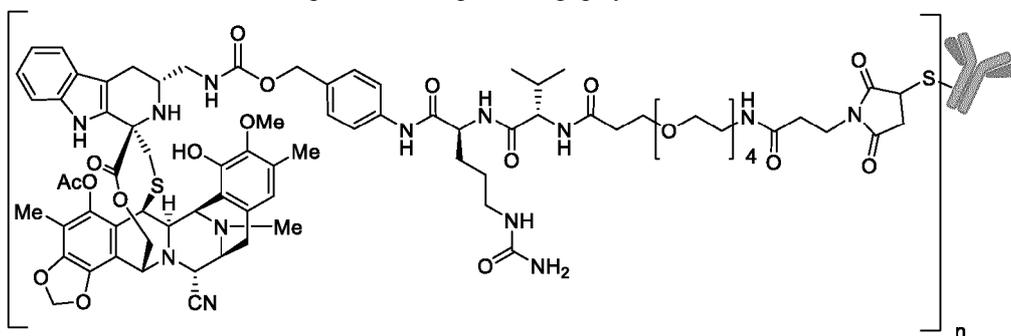
конъюгат лекарственного средства, выбранный из группы, состоящей из:







где  $n$  равен от 2 до 6, и каждый независимо выбирают из брентуксимаба, гемтузумаба, инозутумаба, ровалпитузумаба, трастузумаба, анти-CD4 антитела, анти-CD5 антитела, анти-CD13 антитела и анти-CD30 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; или конъюгат лекарственного средства формулы



где  $n$  равен от 2 до 6, и является анти-CD13 антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или иммунологически активной частью.

30. Конъюгат лекарственного средства по п.29, где группу Ab, содержащую, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, выбирают из трастузумаба и анти-CD13 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части; или

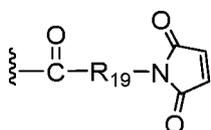
где группу Ab, содержащую, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, выбирают из трастузумаба или его антигенсвязывающего фрагмента или иммунологически активной части.

31. Конъюгат лекарственного средства по п.29, где  $n$  равно 3, 4 или 5.

32. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-31, представляющий собой конъюгат антитело-лекарственное средство в выделенной или очищенной форме.

33. А соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-L_1$ , где:

$L_1$  является линкером, выбранным из группы формул, состоящей из:



где каждая из волнистых линий означает точку ковалентного присоединения к (T)<sub>g</sub>, если имеется, или (AA)<sub>w</sub>, если имеется, или к (X)<sub>b</sub>, если имеется, или к D;

R<sub>19</sub> выбирают из -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилена-, -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилена), -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилен-фенилена, фенилен-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилена-, -C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub>гетероцикло-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, -C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>алкилен-(C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub>гетероцикло)-, где указанная гетероциклогруппа может быть насыщенной или ненасыщенной группой, -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>f</sub>- и -CH<sub>2</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>f</sub>;

где гетероциклогруппы представляют собой гетероциклические группы, содержащие от 1 до 3 разделенных или конденсированных колец, имеющих от 5 до 14 кольцевых атомов и включающих один гетероатом, выбранный из кислорода, азота и серы, где имеются две ковалентные связи в любом положении кольцевой системы указанных гетероциклических групп;

g является целым числом от 1-10;

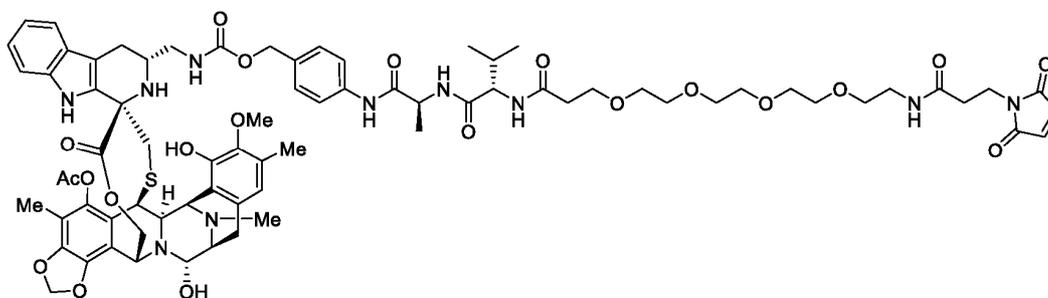
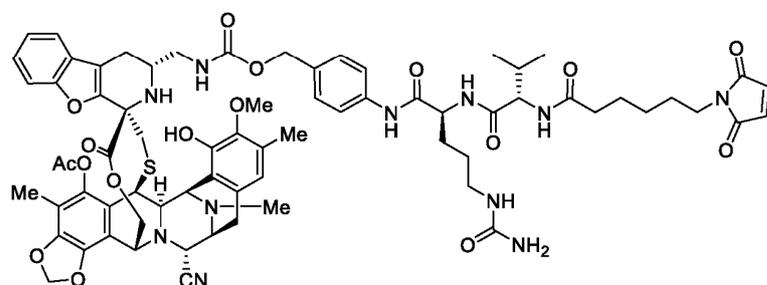
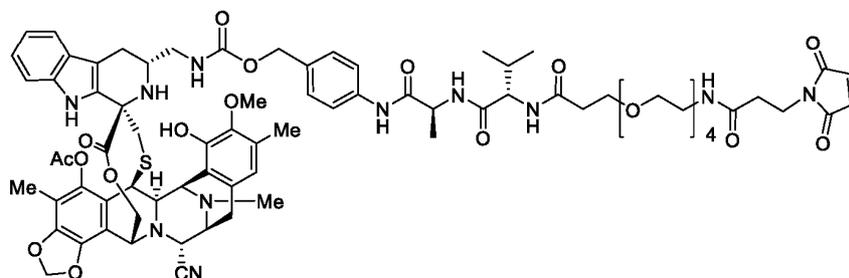
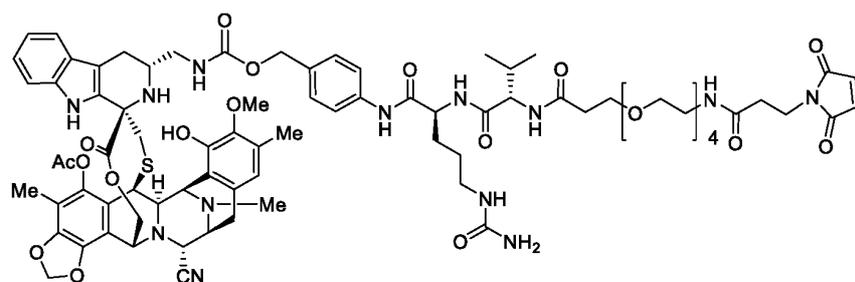
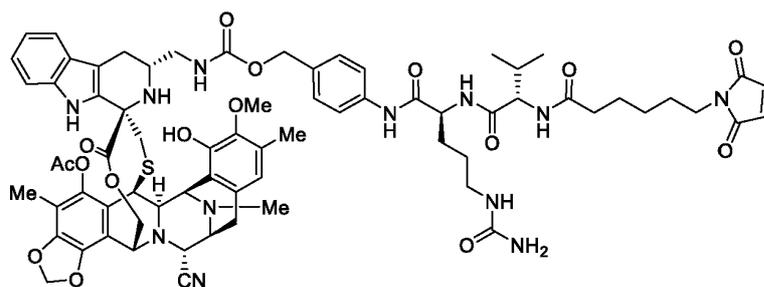
b является целым числом 0 или 1;

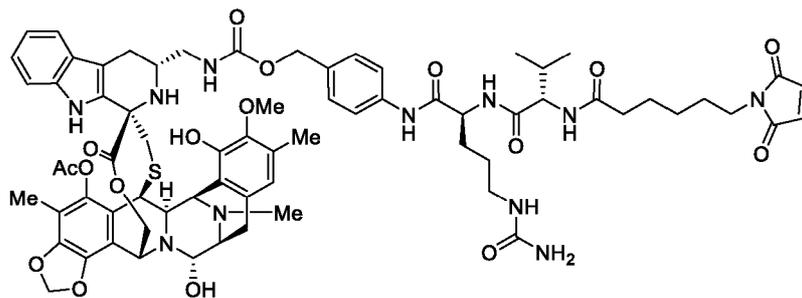
f является целым числом 0 или 1;

w является целым числом от 0 до 12;

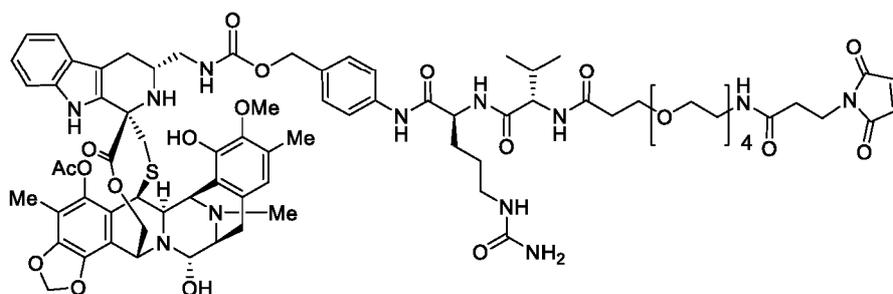
каждый из D, X, T и AA такой, как определен в любом из пп.1-30; или

соединение формулы D-X-(AA)<sub>w</sub>-(T)<sub>g</sub>-L<sub>1</sub> выбирают из:

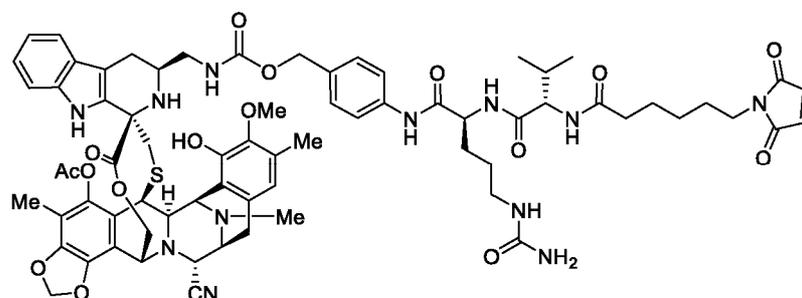




,

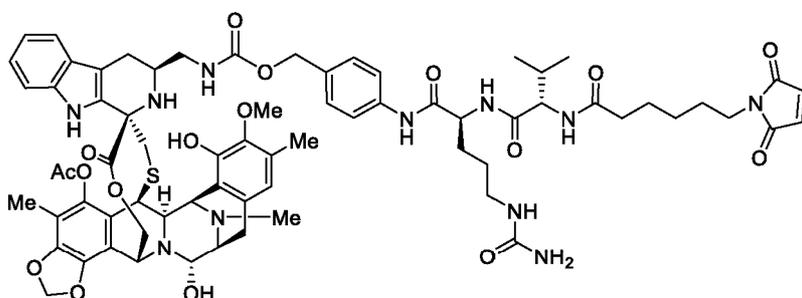


,

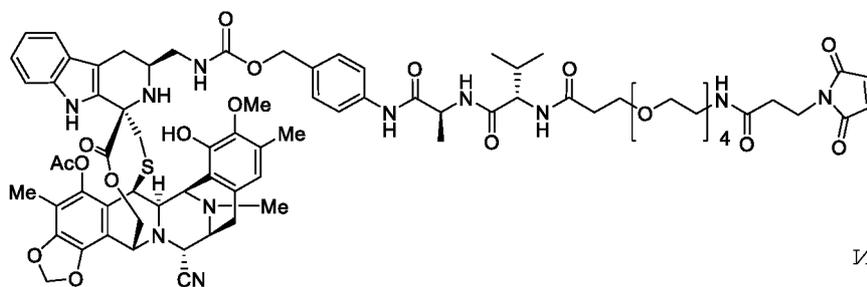


,

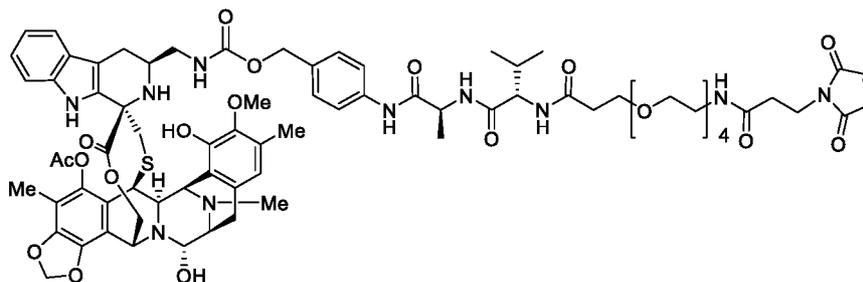
,



,



II



34. Соединение формулы  $D-(X)_b-(AA)_w-(T)_g-L_1$ , где каждый из D, X, AA, T,  $L_1$ , b, g и w такой, как определен в любом из пп.1-31.

35. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1 - 32, где  $b+g+w$  не равно 0; или где  $b+w$  не равно 0; или где если w не равен 0, то b равен 1.

36. Соединение по п.33 или 34, где  $b+g+w$  не равно 0; или где  $b+w$  не равно 0; или где, когда w не равно 0, b равно 1.

37. Применение фрагмента лекарственного средства D, как описано в любом из пп.1-18, в качестве полезной нагрузки в конъюгате антитело-лекарственное средство.

38. Применение фрагмента лекарственного средства D, как описано в любом из пп.1-18, для получения конъюгата антитело-лекарственное средство.

39. Применение конъюгата лекарственного средства по любому из пп.1-32 в качестве лекарственного средства для лечения рака.

40. Применение по п.39, где рак выбран из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоза, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников.

41. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-32 и фармацевтически приемлемый носитель.

42. Способ профилактики или лечения рака, включающий введение эффективного количества конъюгата лекарственного средства по любому из пп.1-32 пациенту, нуждающемуся в этом.

43. Способ лечения рака по п.42, где рак выбирают из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоза, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников.

44. Применение конъюгата лекарственного средства по любому из пп.1-32 для получения лекарственного средства для лечения рака.

45. Применение по п.44, где рак выбран из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоза, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников.

46. Набор, содержащий терапевтически эффективное количество конъюгата лекарственного средства по любому из пп.1-32 и фармацевтически приемлемый носитель, предназначенный для применения для лечения рака.

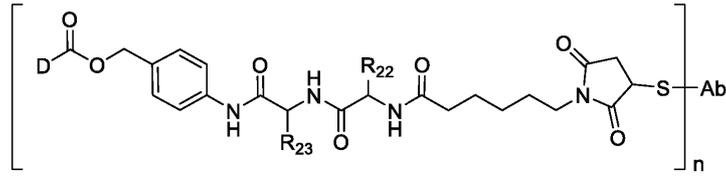
47. Набор по п.46, где рак выбран из рака легких, колоректального рака, рака груди, карциномы поджелудочной железы, рака почек, лейкоза, множественной миеломы, лимфомы, рака ЖКТ и яичников.

48. Конъюгат лекарственного средства по любому из пп.1-28, где n находится в интервале от 1-12, 1-8, 3-8, 3-6, 3-5, 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

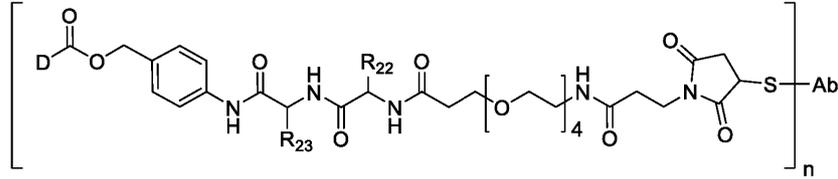
49. Конъюгат лекарственного средства по п.48, где n означает 3, 4 или 5.

50. Конъюгат лекарственного средства по п.49, где n равно 4.

51. Способ получения конъюгата лекарственного средства-антитело по любому из пп.1-32, где способ включает конъюгирование группы Ab, содержащей, по меньшей мере, один антигенсвязывающий сайт, и лекарственного средства D, где Ab и D такие, как определены в любом из пп.1-32; где получение конъюгата лекарственного средства-антитело формулы (G) или (G')



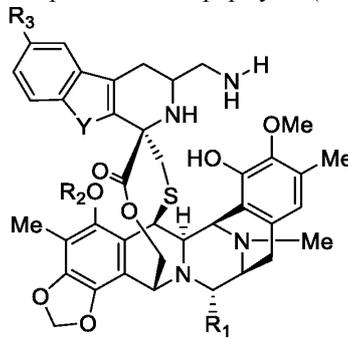
(G)



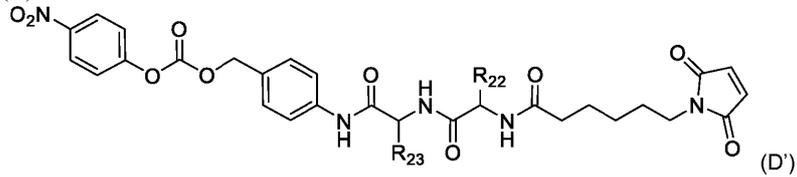
(G')

включает следующие стадии:

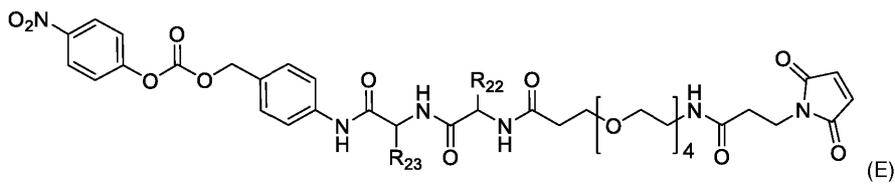
(i) взаимодействия лекарственного средства D-H формулы (II)-H:



где заместители в определениях (II)-H такие, как определены в любом из пп.1-32, с соединением формулы (D') или (E):

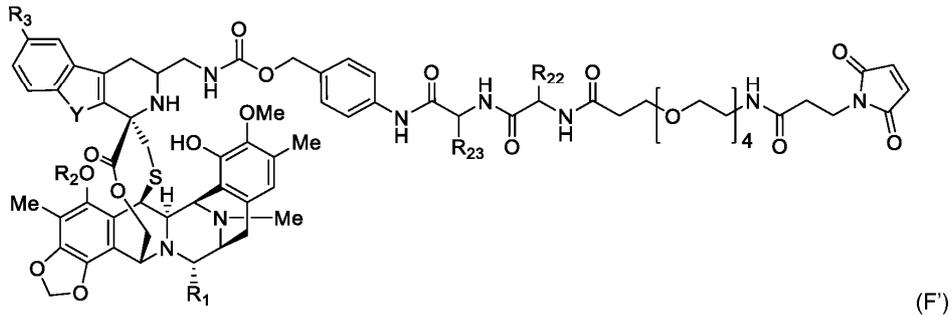
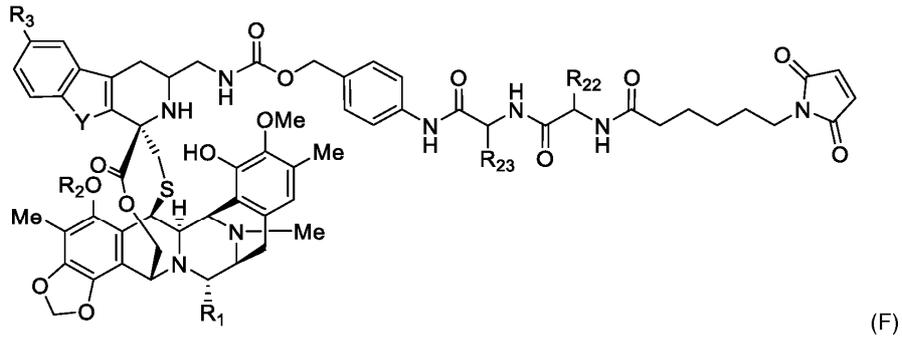


(D')

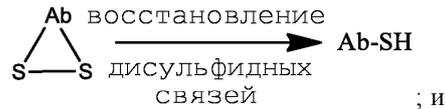


(E)

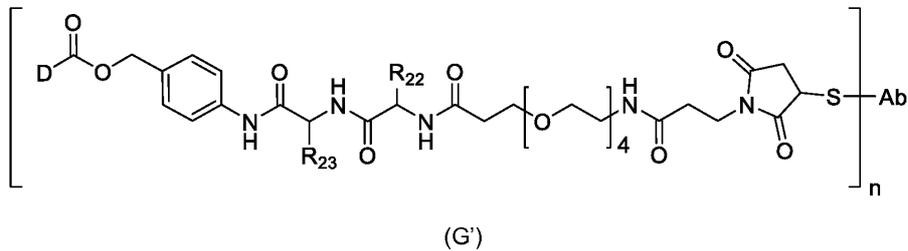
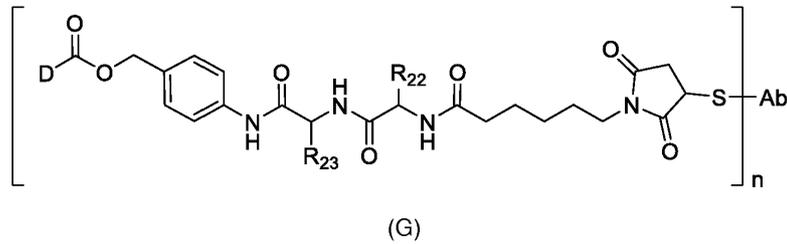
с получением соединения формулы (F) или (F'), соответственно:

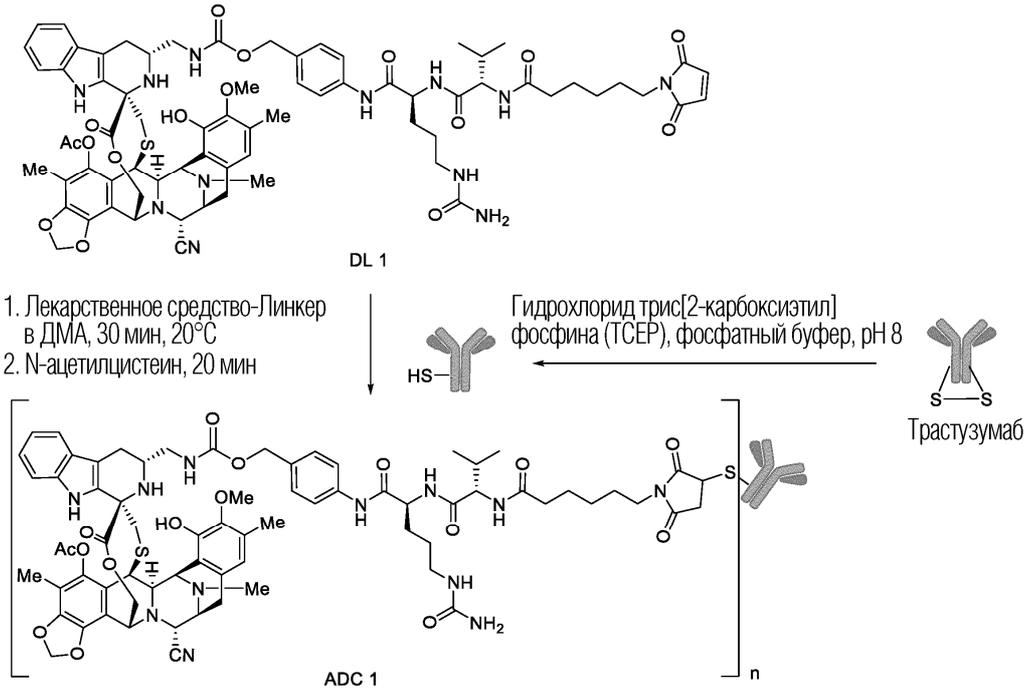


(ii) частичного восстановления одной или нескольких дисульфидных связей в конъюгируемом антителе, с получением восстановленного антитела Ab-SH, имеющего свободные тиольные группы:

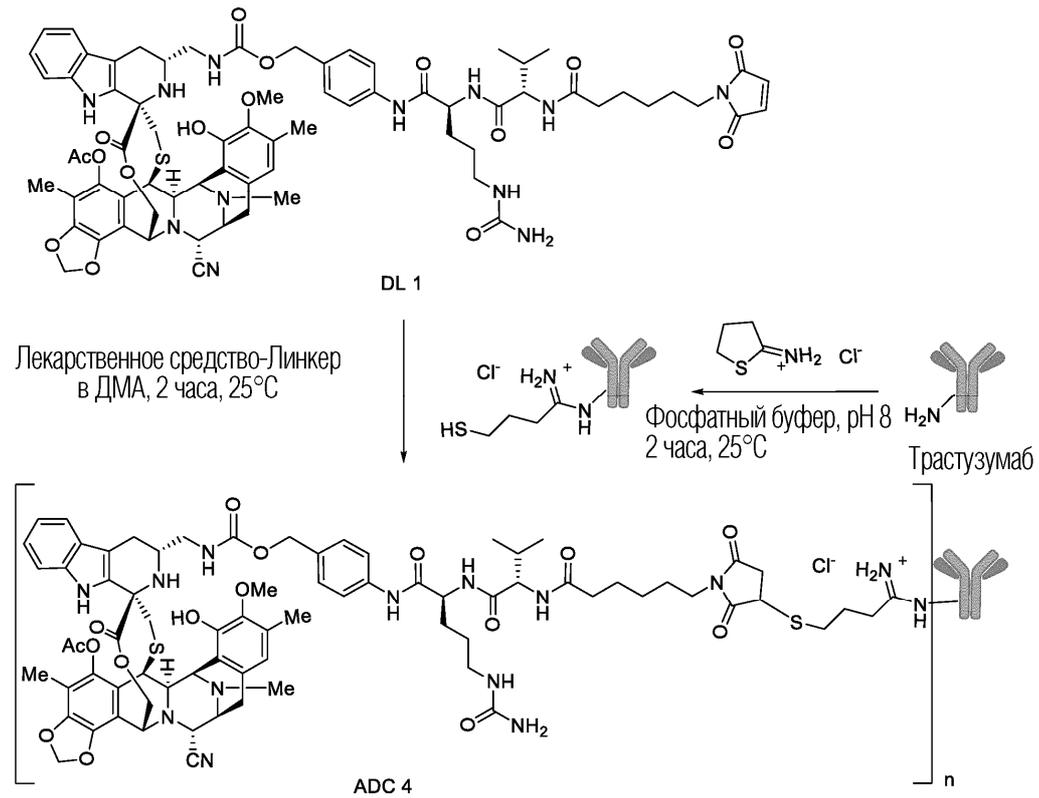


(iii) взаимодействия частично восстановленного антитела Ab-SH, имеющего свободные тиольные группы, с соединением формулы (F) или (F'), полученном на стадии (i), с получением желаемого конъюгата лекарственное средство-антитело формулы (G) или (G') соответственно:

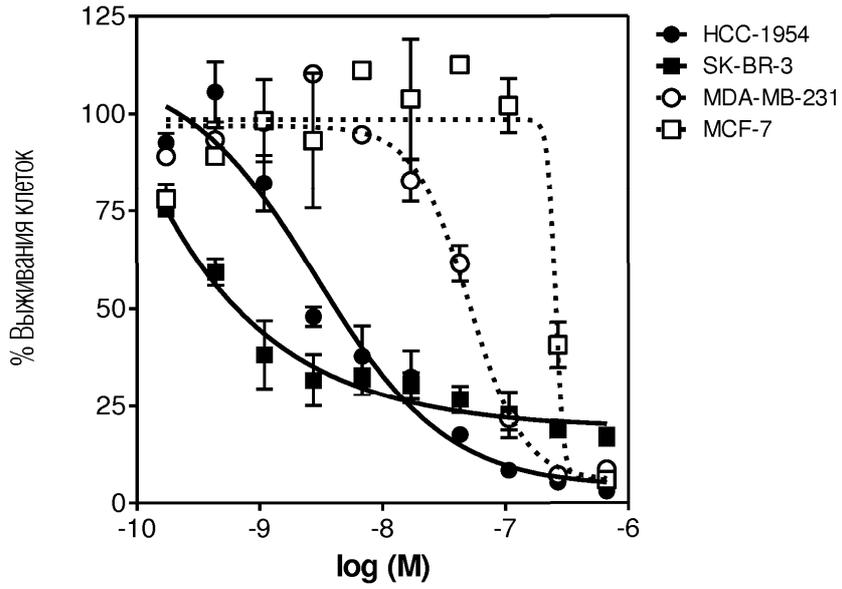




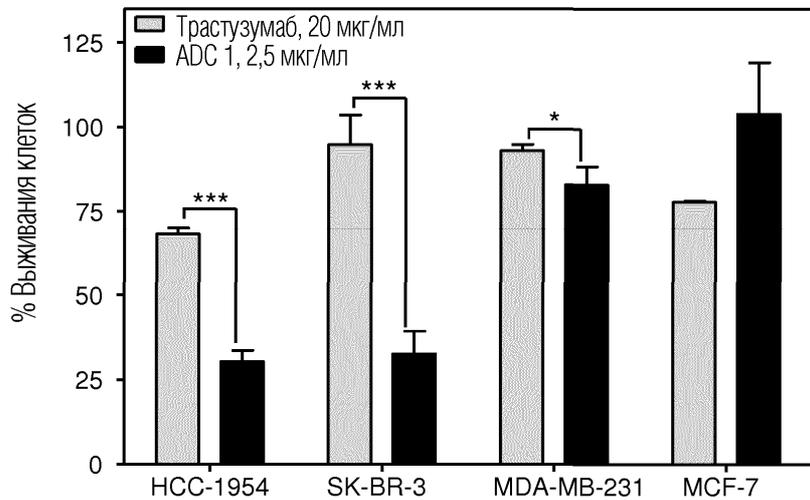
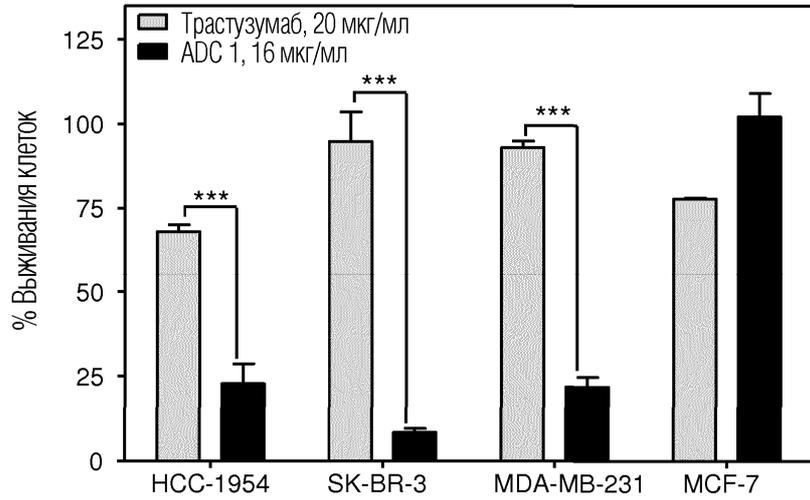
Фиг. 1



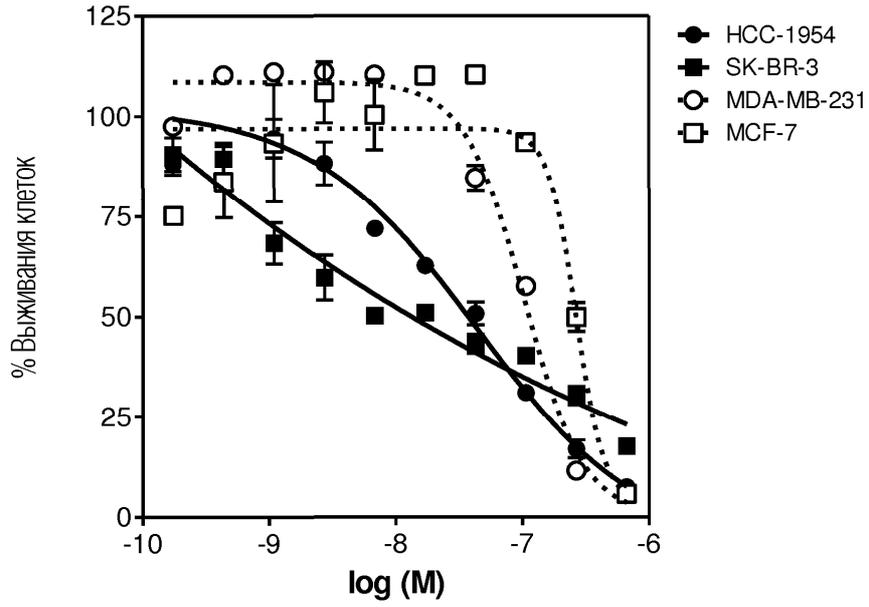
Фиг. 2



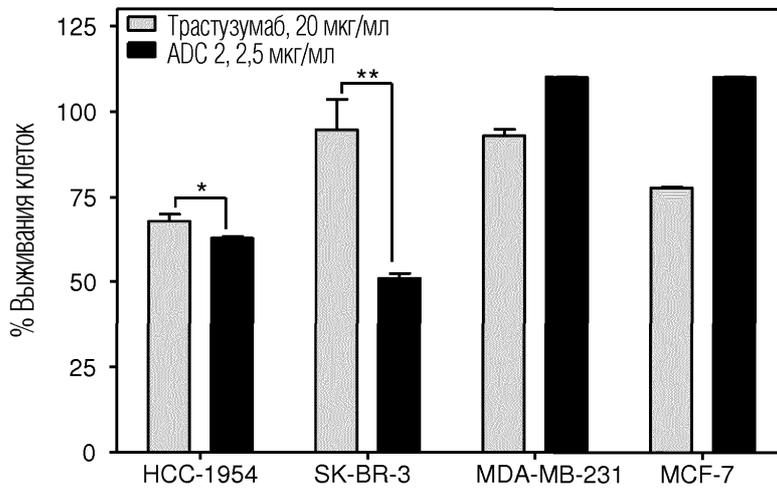
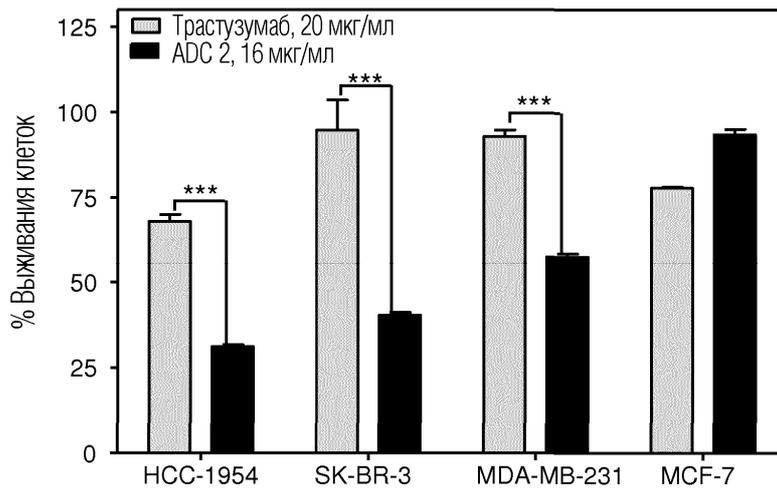
Фиг. 3



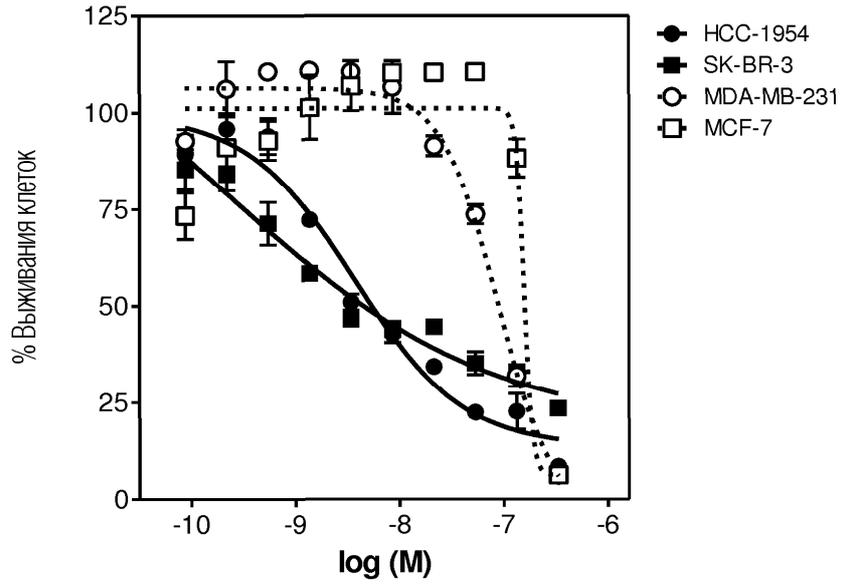
Фиг. 4



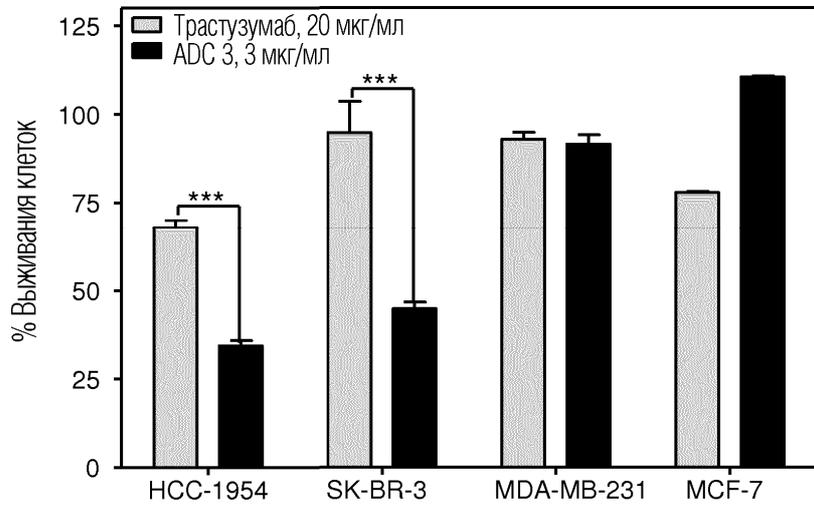
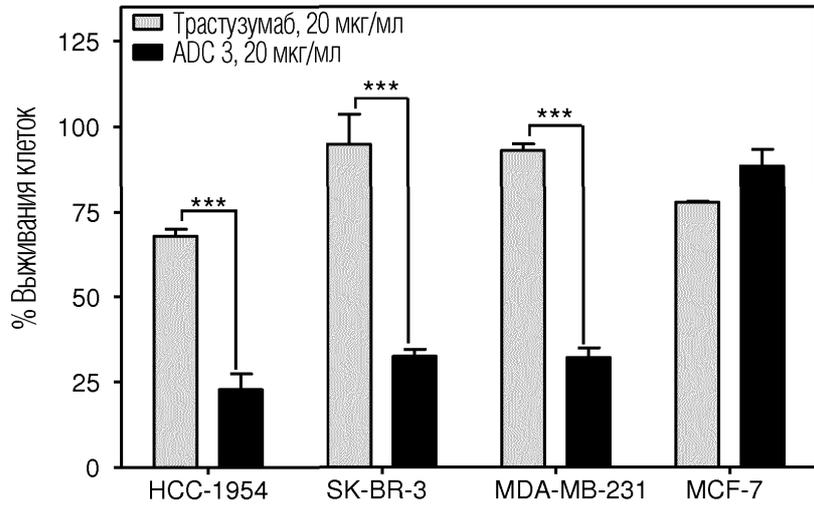
Фиг. 5



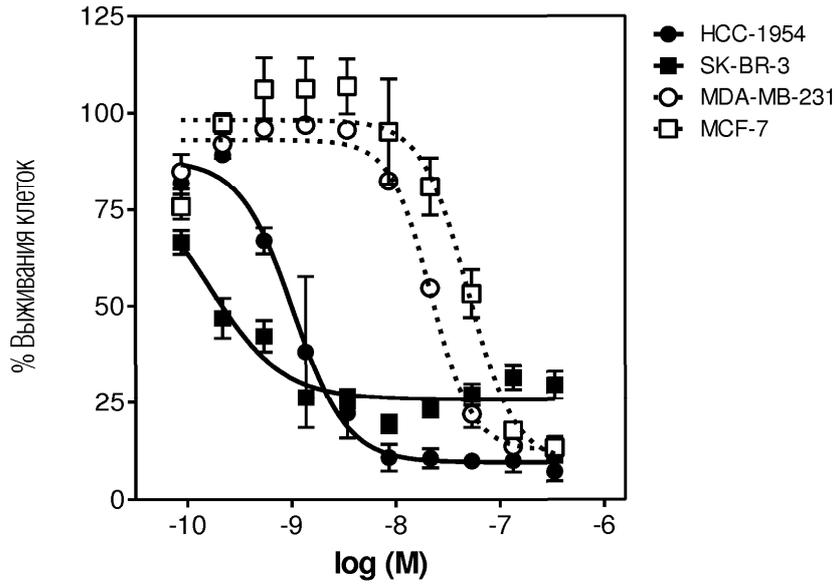
Фиг. 6



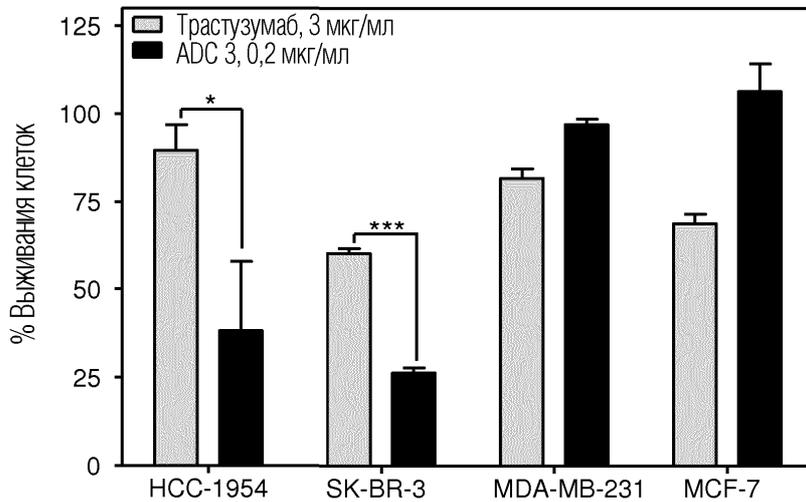
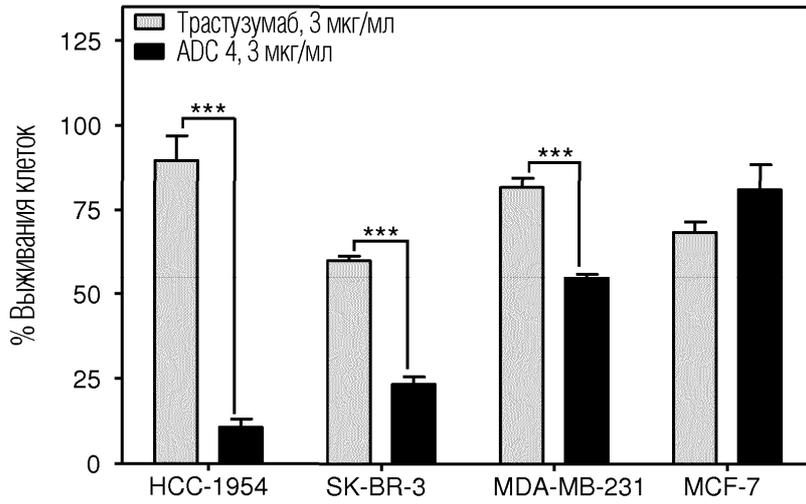
Фиг. 7



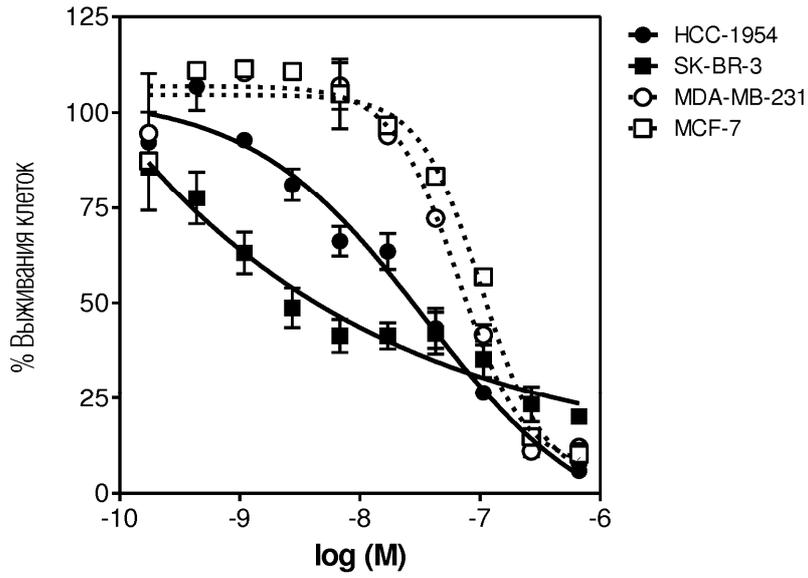
Фиг. 8



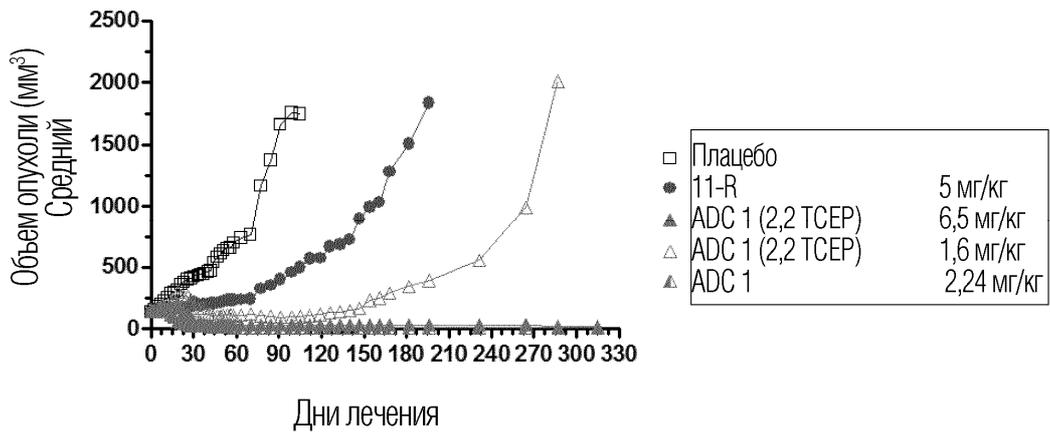
Фиг. 9



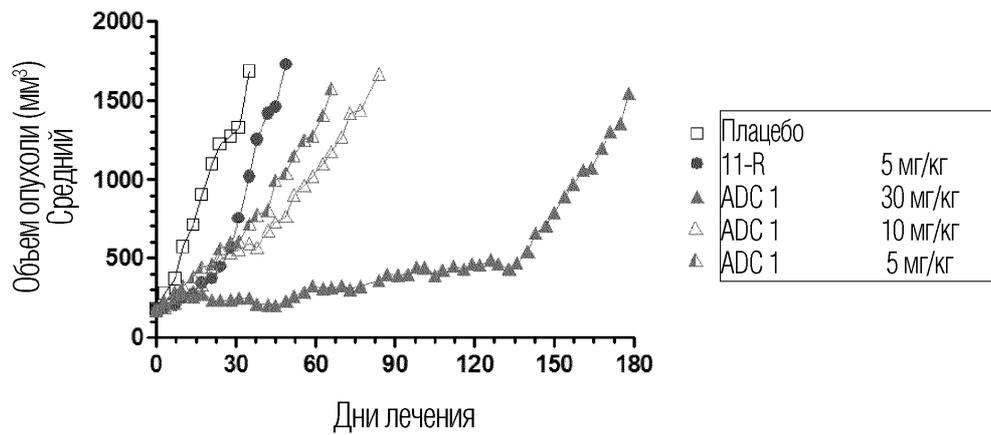
Фиг. 10



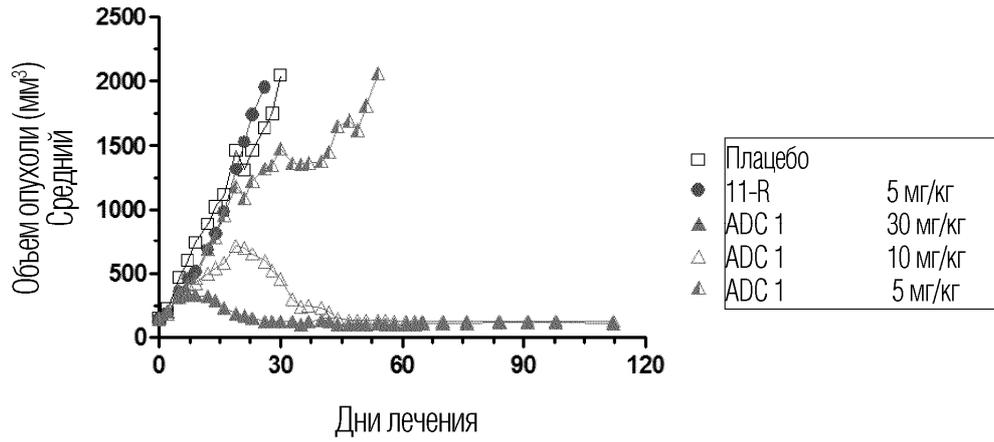
Фиг. 11



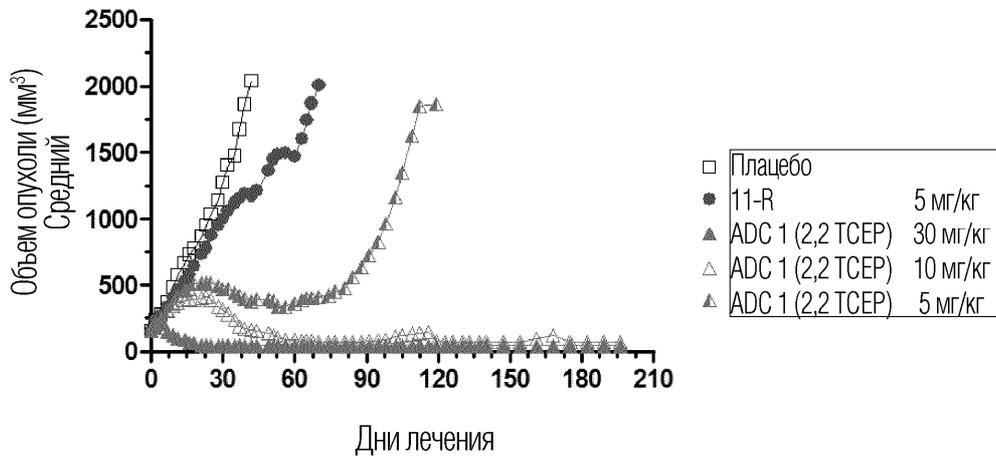
Фиг. 12



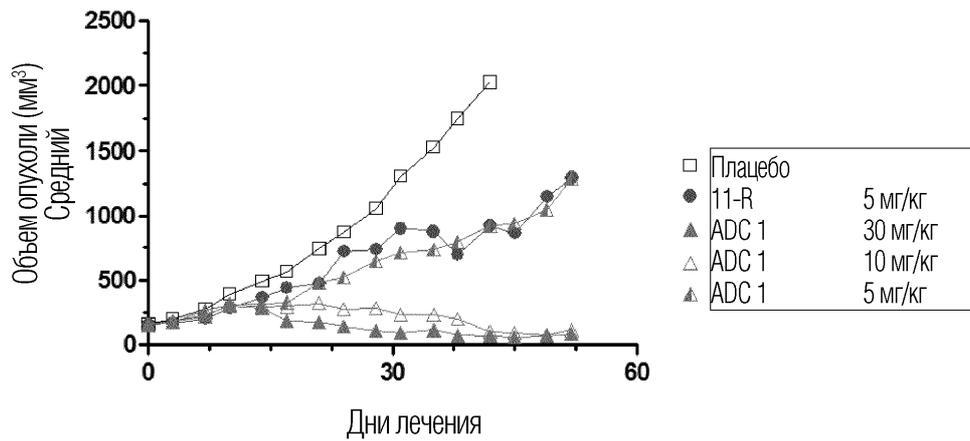
Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2