

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047625**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.08.15

(21) Номер заявки
202191769

(22) Дата подачи заявки
2019.12.20

(51) Int. Cl. **C07K 5/02** (2006.01)
C07K 5/078 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ТУБУЛИЗИНЫ И КОНЬЮГАТЫ БЕЛОК-ТУБУЛИЗИН

(31) **62/784,325**

(32) **2018.12.21**

(33) **US**

(43) **2021.12.08**

(86) **PCT/US2019/068185**

(87) **WO 2020/132658 2020.06.25**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**РЕГЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Хан Эми, Келли Маркус, Олсон
Уильям (US)**

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

(56) WO-A1-2008138561
US-A1-2018125992
WO-A1-2014126836
WO-A1-2015113760
WO-A1-2018058001
WO-A1-2015026907
WO-A1-2016077260

MONICA SANI ET AL.: "Synthesis and Superpotent Anticancer Activity of Tubulysins Carrying Non-hydrolysable N-Substituents on Tubuvaline", CHEMISTRY - A EUROPEAN JOURNAL, vol. 23, no. 24, 27 April 2017 (2017-04-27), pages 5842-5850, XP055518907, DE, ISSN: 0947-6539, DOI: 10.1002/chem.201700874, compounds 24g-i

CHAI Y ET AL.: "Discovery of 23 Natural Tubulysins from Angiococcus disciformis An d48 and Cystobacter SBCb004", CHEMISTRY AND BIOLOGY, CURRENT BIOLOGY, LONDON, GB, vol. 17, no. 3, 26 March 2010 (2010-03-26), pages 296-309, XP026984443, ISSN: 1074-5521 [retrieved on 2010-03-24], compounds 19-22

WO-A1-2009055562

YING XU ET AL.: "A Versatile Chemo-Enzymatic Conjugation Approach Yields Homogeneous and Highly Potent Antibody-Drug Conjugates", INT. J. MOL. SCI., vol. 18, no. 11, 1 November 2017 (2017-11-01), page 2284, XP55709824, ISSN: 1661-6596, DOI: 10.3390/ijms18112284, compound 2

(57) В изобретении представлены соединения, композиции и способы лечения заболеваний и нарушений, ассоциируемых с раком, включая тубулизины и их конъюгаты белок (например, антитело)-лекарственное средство.

047625 B1

047625 B1

Область изобретения

Представлены новые тубулизины и их белковые конъюгаты, а также способы лечения различных заболеваний, нарушений и состояний, включающие введение тубулизинов и их белковых конъюгатов.

Уровень техники

При том, что конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) находят все большее применение в схемах лечения рака, *de novo* или возникающие после начала лечения механизмы резистентности могут уменьшать клиническую пользу. Два механизма резистентности, которые возникают после продолжительного применения ADC *in vitro*, включают повышающую регуляцию транспортеров, которые обеспечивают множественную лекарственную устойчивость (МЛУ), и утрату экспрессии когнатного антигена. Новые технологии, которые позволяют преодолеть эти механизмы резистентности, могут способствовать расширению сферы применения ADC следующего поколения.

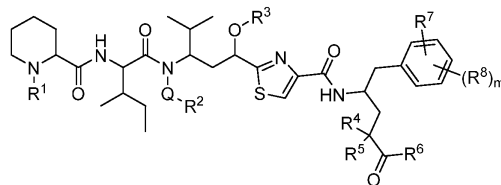
Тубулизины, впервые выделенные из бульонной среды миксобактериальной культуры, представляют собой группу чрезвычайно сильных ингибиторов полимеризации тубулина, которые быстро дезинтегрируют цитоскелет делящихся клеток и индуцируют апоптоз. Тубулизины состоят из N-метил-D-пипеколиновой кислоты (Mer), L-изолейцина (Ile) и тубувалина (Tuv), который содержит необычный N,O-ацеталь и вторичную спиртовую или ацетокси группу. Тубулизины A, B, C, G и I содержат C-концевую тубутирозиную (Tut) γ -аминокислоту, а у D, E, F и H в этой позиции имеется тубуфенилаланин (Tup) (Angew. Chem Int. Ed. Engl. 43, 4888-4892).

Тубулизины представляют собой перспективные противораковые средства ввиду своей высокой активности в клетках с устойчивостью к лекарственным средствам посредством подтвержденного механизма действия. Средняя активность в отношении ингибирования роста клеток превосходит активность хорошо известных эпотилонов, винбластинов и таксолов от 10 раз до более чем 1000 раз, включая активность против карциномы с множественной лекарственной устойчивостью (Biochem. J. 2006, 396, 235-242; Nat. Prod. Rep. 2015, 32, 654-662). Тубулизины имеют чрезвычайно высокую антипролиферативную активность против раковых клеток, включая клетки рака шейки матки KB-V1 с множественной лекарственной устойчивостью. (Angew. Chem. Int. Ed. 2004, 43, 4888-4892; and Biochemical Journal 2006, 396, 235-242).

Краткое изложение сущности изобретения

Здесь представлены соединения, полезные, например, в противоопухолевой и антиангиогенной терапии.

В одном варианте осуществления здесь представлены соединения, имеющие структуру формулы I



Формула I

или их фармацевтически приемлемая соль, при этом

R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил, -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил или -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{3a}R^{3b},

при этом R^{3a} и R^{3b} - независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены;

R⁴ и R⁵ независимо в каждом случае представляет собой водород или C₁-C₅-алкил;

R⁶ представляет собой -OH или -NHNH₂;

R⁷ представляет собой независимо в каждом случае водород, -OH, галоген или -NR^{7a}R^{7b},

при этом R^{7a} и R^{7b} - независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил, ацил и аминокислотный остаток, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены;

R⁸ представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, -NHR⁹ или галоген,

при этом R⁹ представляет собой водород, -C₁-C₅-алкил или -C(O)C₁-C₅-алкил; и индекс m равен 1 или 2;

Q представляет собой -CH₂- или -O-, при этом если

Q представляет собой -O-, то R² - C₁-C₁₀-алкил, C₁-C₁₀-алкинил, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арил или C₁-C₃-гидроксиалкил; или

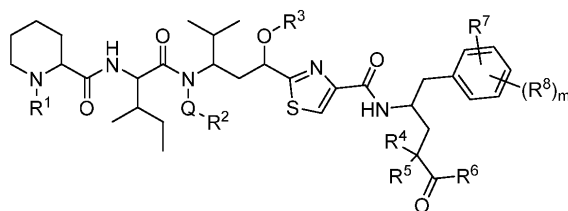
если Q представляет собой -CH₂-, то R² - C₅-C₁₀-алкил, C₁-C₁₀-алкинил, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арил или C₁-C₃-гидроксиалкил; и

Q¹ представляет собой -CH₂- или -O-;

при этом указанный гетероарил не замещен или замещен алкилом, аминоалкилом, гидроксилалкилом, карбоксиалкилом, бензилом или фенилом;

при этом указанный арил не замещен или замещен нитро или amino; и при этом n представляет собой целое число от 1 до 5.

В одном варианте осуществления здесь представлены соединения, имеющие структуру формулы I:



Формула I

или их фармацевтически приемлемая соль, при этом

R^1 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил;

R^3 представляет собой $-C(O)C_1$ - C_5 -алкил, $-C(O)N(H)C_1$ - C_{10} -алкил или $-(C_1$ - C_{10} -алкилен)- $NR^{3a}R^{3b}$, при этом R^{3a} и R^{3b} независимо в каждом случае представляет собой водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены;

R^4 и R^5 представляет собой независимо в каждом случае водород или C_1 - C_5 -алкил; или в определенных вариантах осуществления R^4 и R^5 вместе с углеродом, в которому они присоединены, образуют 3-8-членный циклоалкил, замещенный циклоалкил, гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил;

R^6 представляет собой $-OH$ или $-NHNH_2$; или

в определенных вариантах осуществления R^6 представляет собой $-NHSO_2R^{60}$, при этом R^{60} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил;

R^7 представляет собой независимо в каждом случае водород, $-OH$, галоген или $-NR^{7a}R^{7b}$,

при этом R^{7a} и R^{7b} представляет собой независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены;

R^8 представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, $-NHR^9$ или галоген,

при этом R^9 представляет собой водород, $-C_1$ - C_5 -алкил или $-C(O)C_1$ - C_5 -алкил; и

индекс m равен 1 или 2;

Q представляет собой $-CH_2-$ или $-O-$, при этом

если Q представляет собой $-O-$, то R^2 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил, C_1 - C_{10} -алкинил, $-C_1$ - C_{10} -алкилен-(5-членный гетероарил), $-C_1$ - C_3 -алкилен- Q^1 -(CH_2) $_n$ -арил или C_1 - C_3 -гидроксиалкил; или

если Q представляет собой $-CH_2-$, то R^2 представляет собой C_5 - C_{10} -алкил, C_1 - C_{10} -алкинил, $-C_1$ - C_{10} -алкилен-(5-членный гетероарил), $-C_1$ - C_3 -алкилен- Q^1 -(CH_2) $_n$ -арил или C_1 - C_3 -гидроксиалкил; и

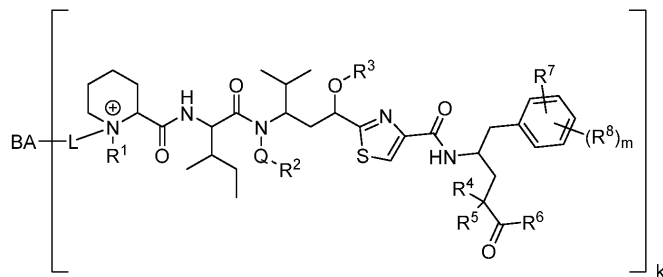
Q^1 представляет собой $-CH_2-$ или $-O-$;

при этом указанный гетероарил не замещен или замещен алкилом, аминоалкилом, гидроксилалкилом, карбоксиалкилом, бензилом или фенилом;

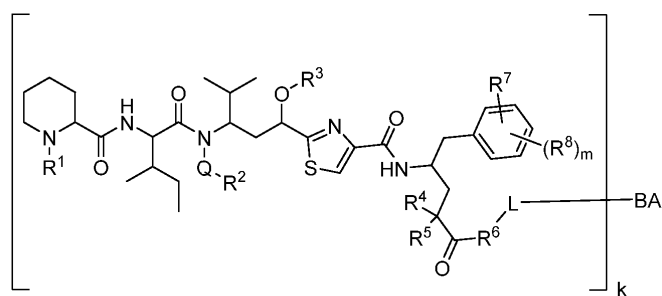
при этом указанный арил не замещен или замещен нитро или amino; и при этом

n представляет собой целое число от 1 до 5.

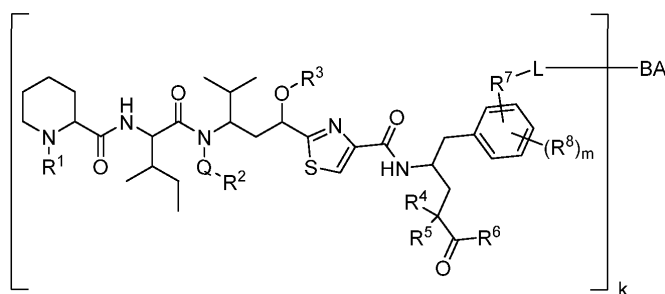
В другом варианте осуществления здесь представлено соединение формулы A, B, C или D:



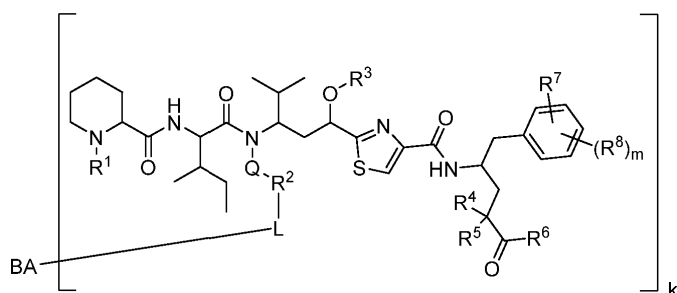
(A)



(B)



(C)



(D)

или его фармацевтически приемлемая соль, при этом

L представляет собой линкер;

BA представляет собой связующий агент;

k представляет собой целое число от 1 до 30;

R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил, -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил или -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{3a}R^{3b}, при этом R^{3a} и R^{3b} представляет собой независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены;

R⁴ и R⁵ представляет собой независимо в каждом случае водород или C₁-C₅ алкил;

R⁶ представляет собой -OH, -O-, -NHNH₂ или -NHNH-;

R⁷ представляет собой независимо в каждом случае, водород, -OH, -O-, галоген или -NR^{7a}R^{7b}, при этом R^{7a} и R^{7b} представляет собой независимо в каждом случае связь, водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил, ацил и аминокислотный остаток, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены;

R⁸ представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, -NHR⁹ или галоген,

при этом R⁹ представляет собой водород, -C₁-C₅-алкил или -C(O)C₁-C₅-алкил; и

индекс m равен 1 или 2;

Q представляет собой -CH₂- или -O-, при этом

если Q представляет собой -O-, то R² представляет собой C₁-C₁₀-алкил, C₁-C₁₀-алкинил, региоизомерный C₁-C₁₀-триазолилэн, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), региоизомерный -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарилэн), -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арил, C₁-C₃-гидроксиалкил или C₁-C₁₀-алкилэфир; или

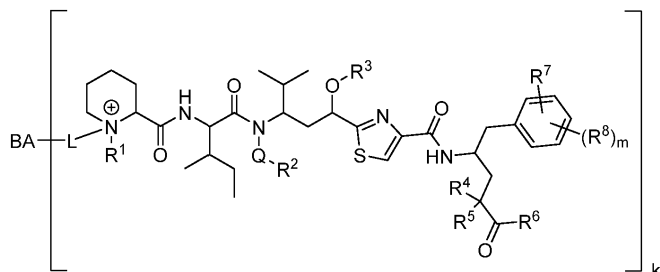
если Q представляет собой -CH₂-, то R² представляет собой C₅-C₁₀-алкил, C₁-C₁₀-алкинил, региоизомерный C₁-C₁₀-триазолилэн, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), региоизомерный -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарилэн), -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арил, C₁-C₃-гидроксиалкил или C₁-C₁₀-алкилэфир; и Q¹ представляет собой -CH₂- или -O-;

при этом указанный региоизомерный триаколилен не замещен или замещен алкилом, алкенилом, алкинилом, циклоалкилом, арилом, гетероарилом и ацилом;

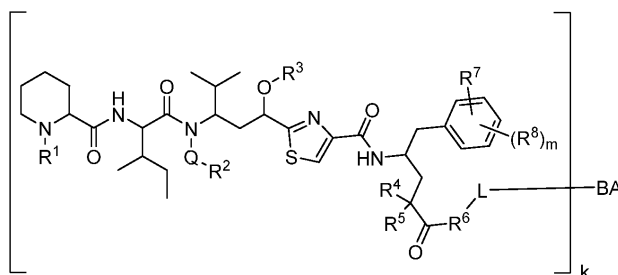
при этом указанный гетероарил или региоизомерный гетероариллен не замещен или замещен алкилом, аминоалкилом, -алкилен-NH-, гидроксилалкилом, -алкилен-O-, карбоксиалкилом, -алкилен-COO-, бензилом или фенилом;

при этом указанный арил не замещен или замещен нитро, amino или -NH-; и при этом n представляет собой целое число от 1 до 5.

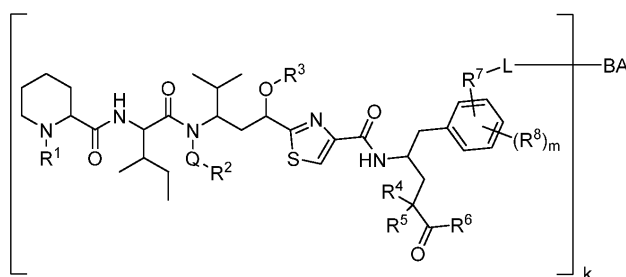
В другом варианте осуществления здесь представлено соединение формулы A, B, C или D:



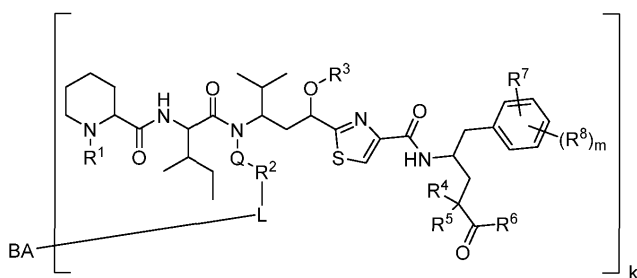
(A)



(B)



(C)



(D)

или его фармацевтически приемлемая соль, при этом

L представляет собой линкер;

BA представляет собой связующий агент;

k представляет собой целое число от 1 до 30;

R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил, -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил или -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{3a}R^{3b},

при этом R^{3a} и R^{3b} представляет собой независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил обязательно замещены;

R⁴ и R⁵ представляет собой независимо в каждом случае водород или C₁-C₅-алкил;

R^6 представляет собой -OH, -O-, -NHNH₂ или -NHNH-; или в определенных вариантах осуществления R^6 представляет собой -NHSO₂R⁶⁰, при этом R^{60} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил, замещенный гетероарил или двухвалентный -алкилен-, -алкенилен-, -алкинилен-, -циклоалкилен-, -гетероциклоалкилен-, -арилен-, -гетероарилен-, замещенный -арилен-или замещенный -гетероарилен- при условии связи с -L-;

R^7 представляет собой независимо в каждом случае, водород, -OH, -O-, галоген или -NR^{7a}R^{7b}, при этом R^{7a} и R^{7b} представляет собой независимо в каждом случае связь, водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил - необязательно замещены, или двухвалентный -алкилен-, -алкенилен-, -алкинилен-, -циклоалкилен-, -арилен-, -гетероарилен- или -ацилен- при условии связи с -L-, при этом -алкилен-, -алкенилен-, -алкинилен-, -циклоалкилен-, -арилен-, -гетероарилен- и -ацилен- необязательно замещены;

R^8 представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, -NHR⁹ или галоген, при этом R^9 представляет собой водород, -C₁-C₃-алкил или -C(O)C₁-C₃-алкил; и индекс m равен 1 или 2;

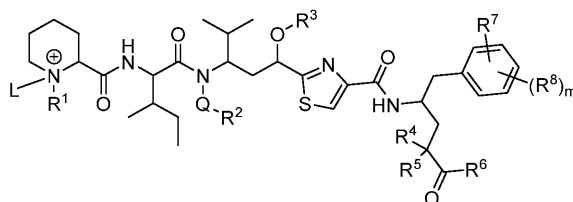
Q представляет собой -CH₂- или -O-, при этом

если Q представляет собой -O-, то R^2 представляет собой C₁-C₁₀-алкил, двухвалентный -C₁-C₁₀-алкилен-, C₁-C₁₀-алкинил, двухвалентный -C₁-C₁₀-алкинилен-, региоизомерный C₁-C₁₀-алкил триаколил, региоизомерный двухвалентный -C₁-C₁₀-алкил триаколилен-, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), региоизомерный двухвалентный -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарилен)-, -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арил, двухвалентный -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арилен-, C₁-C₃-гидроксиалкил, двухвалентный -C₁-C₃-гидроксиалкилен-, C₁-C₁₀-алкилэфир или двухвалентный -C₁-C₁₀-алкилэфир-; или

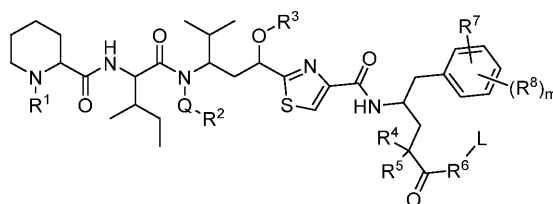
если Q представляет собой -CH₂-, то R^2 представляет собой C₅-C₁₀-алкил, двухвалентный -C₅-C₁₀-алкилен-, C₁-C₁₀-алкинил, двухвалентный -C₁-C₁₀-алкинилен-, региоизомерный C₁-C₁₀-алкил триаколил, региоизомерный двухвалентный -C₁-C₁₀-алкил триаколилен-, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), региоизомерный двухвалентный -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарилен)-, -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арил, двухвалентный -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арилен-, C₁-C₃-гидроксиалкил, двухвалентный -C₁-C₃-гидроксиалкилен-, C₁-C₁₀-алкилэфир или двухвалентный -C₁-C₁₀-алкилэфир-; и Q¹ представляет собой -CH₂- или -O-;

при этом указанный региоизомерный триаколилен не замещен или замещен алкилом, алкенилом, алкинилом, циклоалкилом, арилом, гетероарилом и ацилом; при этом указанный гетероарил или региоизомерный гетероарилен не замещен или замещен алкилом, аминоалкилом, -алкилен-NH-, гидроксилалкилом, -алкилен-O-, карбоксиалкилом, -алкилен-COO-, бензилом или фенилом; при этом указанный арил не замещен или замещен нитро, амино или -NH-; и при этом n представляет собой целое число от 1 до 5.

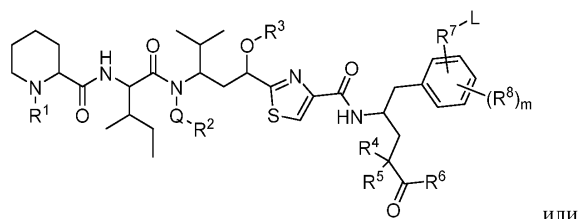
В одном варианте осуществления здесь представлено соединение линкер-нагрузка формулы LPa, LPb, LPc или LPd:



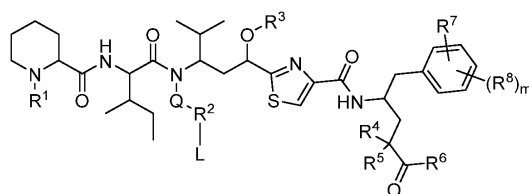
(LPa)



(LPb)



(LPc)



(LPd)

или его фармацевтически приемлемая соль, при этом

L представляет собой линкер;

R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил, -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил или -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{3a}R^{3b}, при этом R^{3a} и R^{3b} представляет собой независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены;

R⁴ и R⁵ представляет собой независимо в каждом случае водород или C₁-C₅-алкил;

R⁶ представляет собой -OH, -O-, -NHNH₂ или -NHNH-;

R⁷ представляет собой независимо в каждом случае, водород, -OH, -O-, галоген или -NR^{7a}R^{7b}, при этом R^{7a} и R^{7b} представляет собой независимо в каждом случае связь, водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил, ацил и аминокислотный остаток, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены;

R⁸ представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, -NHR⁹ или галоген,

при этом R⁹ представляет собой водород, -C₁-C₃-алкил или -C(O)C₁-C₅-алкил; и

индекс m равен 1 или 2;

Q представляет собой -CH₂- или -O-, при этом

если Q представляет собой -O-, то R² представляет собой C₁-C₁₀-алкил, C₁-C₁₀-алкинил, региоизомерный C₁-C₁₀-триазиолил, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), региоизомерный -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арил, C₁-C₃-гидроксиалкил или C₁-C₁₀-алкилэфир; или

если Q представляет собой -CH₂-, то R² представляет собой C₅-C₁₀-алкил, C₁-C₁₀-алкинил, региоизомерный C₁-C₁₀-триазиолил, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), региоизомерный -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арил, C₁-C₃-гидроксиалкил или C₁-C₁₀-алкилэфир; и

Q¹ представляет собой -CH₂- или -O-;

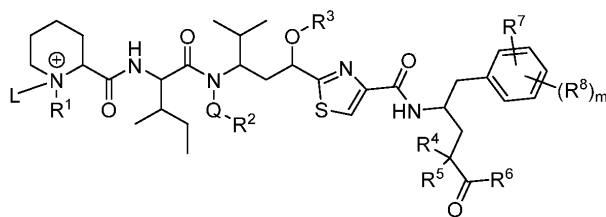
при этом указанный региоизомерный триазиолил не замещен или замещен алкилом, алкенилом, алкинилом, циклоалкилом, арилом, гетероарилом и ацилом;

при этом указанный гетероарил или региоизомерный гетероарил не замещен или замещен алкилом, аминоалкилом, -алкилен-NH-, гидроксилалкилом, -алкилен-O-, карбоксиалкилом, -алкилен-COO-, бензилом или фенилом;

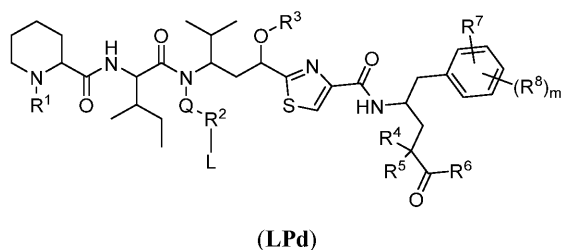
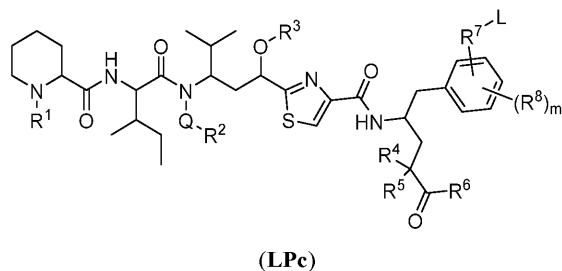
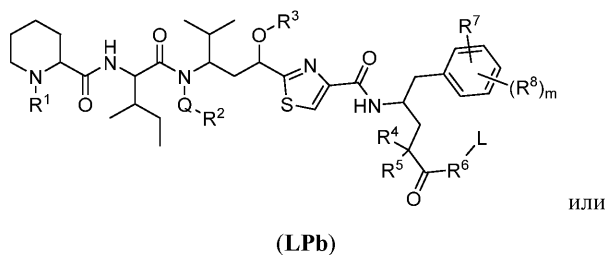
при этом указанный арил не замещен или замещен нитро, амино или -NH-; и при этом

n представляет собой целое число от 1 до 5.

В одном варианте осуществления здесь представлено соединение линкер-нагрузка формулы LPa, LPb, LPc или LPd:



(LPa)



или его фармацевтически приемлемая соль, при этом

L представляет собой линкер;

R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил, -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил или -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{3a}R^{3b}, при этом R^{3a} и R^{3b} представляет собой независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены;

R⁴ и R⁵ представляет собой независимо в каждом случае водород или C₁-C₅-алкил;

R⁶ представляет собой -OH, -O-, -NHNH₂ или -NHNH-; или в определенных вариантах осуществления R⁶ представляет собой -NHSO₂R⁶⁰, при этом R⁶⁰ представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил, замещенный гетероарил или двухвалентный -алкилен-, -алкенилен-, -алкинилен-, -циклоалкилен-, -гетероциклоалкилен-, -арилен-, -гетероарилен-, замещенный -арилен-или замещенный -гетероарилен- при условии связи с -L-;

R⁷ представляет собой независимо в каждом случае, водород, -OH, -O-, галоген или -NR^{7a}R^{7b}, при этом R^{7a} и R^{7b} представляет собой независимо в каждом случае связь, водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил - необязательно замещены, или двухвалентный -алкилен-, -алкенилен-, -алкинилен-, -циклоалкилен-, -арилен-, -гетероарилен- или -ацилен- при условии связи с -L-, при этом -алкилен-, -алкенилен-, -алкинилен-, -циклоалкилен-, -арилен-, -гетероарилен- и -ацилен- необязательно замещены;

R⁸ представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, -NHR⁹ или галоген,

при этом R⁹ представляет собой водород, -C₁-C₅-алкил или -C(O)C₁-C₅-алкил; и индекс m равен 1 или 2;

Q представляет собой -CH₂- или -O-, при этом

если Q представляет собой -O-, то R² представляет собой C₁-C₁₀-алкил, двухвалентный -C₁-C₁₀-алкилен-, C₁-C₁₀-алкинил, двухвалентный -C₁-C₁₀-алкинилен-, региоизомерный C₁-C₁₀-алкил триазилил, региоизомерный двухвалентный -C₁-C₁₀-алкил триазилилен-, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), региоизомерный двухвалентный -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарилен)-, -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арил, двухвалентный -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арилен-, C₁-C₃-гидроксиалкил, двухвалентный -C₁-C₃-гидроксиалкилен-, C₁-C₁₀-алкилэфир или двухвалентный -C₁-C₁₀-алкилэфир-; или

если Q представляет собой -CH₂-, то R² представляет собой C₅-C₁₀-алкил, двухвалентный -C₅-C₁₀-алкилен-, C₁-C₁₀-алкинил, двухвалентный -C₁-C₁₀-алкинилен-, региоизомерный C₁-C₁₀-алкил триазилил, региоизомерный двухвалентный -C₁-C₁₀-алкил триазилилен-, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), региоизомерный двухвалентный -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарилен)-, -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арил, двухвалентный -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_n-арилен-, C₁-C₃-гидроксиалкил, двухвалентный -C₁-C₃-

гидроксиалкилен-, C₁-C₁₀-алкилэфир или двухвалентный -C₁-C₁₀-алкилэфир-; и Q¹ представляет собой -CH₂- или -O-;

при этом указанный региоизомерный триазиолил не замещен или замещен алкилом, алкенилом, алкинилом, циклоалкилом, арилом, гетероарилом и ацилом; при этом указанный гетероарил или региоизомерный гетероарил не замещен или замещен алкилом, аминоалкилом, -алкилен-NH-, гидроксилалкилом, -алкилен-O-, карбоксиалкилом, -алкилен-COO-, бензилом или фенилом; при этом указанный арил не замещен или замещен нитро, amino или -NH-; и

при этом n представляет собой целое число от 1 до 5.

В другом варианте осуществления здесь представлен конъюгат антитело-лекарственное средство, включающий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с описанным здесь соединением.

В другом варианте осуществления здесь представлены способы приготовления соединений, линкер-нагрузок или конъюгатов антитело-лекарственное средство и композиций, которые здесь описаны.

Краткое описание иллюстраций

На фиг. 1-14 показаны схемы синтетической химии для нагрузок тубулизина, линкер-нагрузок тубулизина и его белковых конъюгатов.

На фиг. 15 показана эксклюзионная хроматография анти-STEAP2 Ab-LP3, анти-STEAP2 Ab-LP4, контроля Ab-LP3 и контроля Ab-LP4.

На фиг. 16 показано, что конъюгаты (ADC) тубулизина и антитела к STEAP2 демонстрируют высокоэффективное противоопухолевое действие на примере мышей NOG с PDX-моделью рака простаты CTG-2440.

На фиг. 17 показано, что конъюгаты (ADC) тубулизина и антитела к STEAP2 демонстрируют высокоэффективное противоопухолевое действие на примере мышей NOG с PDX-моделью рака простаты CTG-2441.

Описание иллюстративных вариантов осуществления

Здесь представлены соединения, композиции и способы, полезные для лечения, например, рака у субъекта.

Определения.

При использовании в отношении описанных здесь соединений следующие термины имеют следующие значения, если не указано иное. Если не даны иные определения, все используемые здесь технические и научные термины имеют то значение, которое обычно подразумевается специалистом в данной области. Если имеется множество значений для приведенного здесь термина, эти определения будут иметь преимущественное значение, если не указано иное.

В контексте настоящего документа "алкил" означает одновалентный и насыщенный углеводородный радикал. Алкил необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим, т.е. циклоалкилом. Алкил включает, но без каких-либо ограничений, радикалы, содержащие 1-20 атомов углерода, т.е. C₁₋₂₀алкил; 1-12 атомов углерода, т.е. C₁₋₁₂алкил; 1-8 атомов углерода, т.е. C₁₋₈алкил; 1-6 атомов углерода, т.е. C₁₋₆алкил; и 1-3 атома углерода, т.е. C₁₋₃алкил. Примеры алкильных групп включают, помимо прочего, метил, этил, n-пропил, i-пропил, n-бутил, s-бутил, t-бутил, i-бутил, пентильную группу, гексильную группу, циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил. Пентильная группа включает, помимо прочего, n-пентил и i-пентил. Гексильная группа включает, помимо прочего, n-гексил.

В контексте настоящего документа "алкилен" означает двухвалентную алкильную группу. Если не указано иное, алкилен содержит, но без каких-либо ограничений, 1-20 атомов углерода. Алкиленовая группа необязательно замещена, как описано здесь для алкила. В некоторых вариантах осуществления алкилен не замещен.

Обозначение аминокислоты или аминокислотного остатка без указания их стереохимии включает L-форму аминокислоты, D-форму аминокислоты или их рацемическую смесь.

В контексте настоящего документа "галоалкил" означает алкил, определение которому дано выше, при этом алкил включает минимум одного заместителя, который выбирается из галогена, например, фтора (F), хлора (Cl), брома (Br) или йода (I). Примеры галоалкилов включают, помимо прочего, -CF₃, -CH₂CF₃, -CCl₂F и -CCl₃.

В контексте настоящего документа "алкенил" означает одновалентный углеводородный радикал, содержащий минимум два атома углерода и одну или более неароматических углерод-углеродных двойных связей. Алкенил необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкенил включает, но без каких-либо ограничений, радикалы, содержащие 2-20 атомов углерода, т.е. C₂₋₂₀алкенил; 2-12 атомов углерода, т.е. C₂₋₁₂алкенил; 2-8 атомов углерода, т.е. C₂₋₈алкенил; 2-6 атомов углерода, т.е. C₂₋₆алкенил; и 2-4 атома углерода, т.е. C₂₋₄алкенил. Примеры алкенильных групп включают, помимо прочего, винил, пропенил, бутенил и циклогексенил.

В контексте настоящего документа "алкинил" означает одновалентный углеводородный радикал, содержащий минимум два атома углерода и одну или более углерод-углеродных тройных связей. Алкинил необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкинил включает, но без каких-либо ограничений, радикалы, содержащие 2-20 атомов углерода, т.е. C₂₋₂₀алкинил; 2-

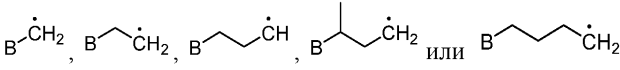
12 атомов углерода, т.е. C₂₋₁₂алкинил; 2-8 атомов углерода, т.е. C₂₋₈алкинил; 2-6 атомов углерода, т.е. C₂₋₆алкинил; и 2-4 атома углерода, т.е. C₂₋₄алкинил. Примеры алкинильных групп включают, помимо прочего, этинил, пропилил и бутил.

В контексте настоящего документа "алкокси" означает одновалентный и насыщенный углеводородный радикал, при этом углеводород включает одинарную связь с атомом кислорода и при этом радикал локализуется на атоме кислорода, например, CH₃CH₂-O· для этокси. Заместители алкокси связываются с соединением, которое они замещают, через этот атом кислорода заместителя алкокси. Алкокси необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим, т.е. циклоалкокси. Алкокси включает, но без каких-либо ограничений, радикалы, содержащие 1-20 атомов углерода, т.е. C₁₋₂₀алкокси; 1-12 атомов углерода, т.е. C₁₋₁₂алкокси; 1-8 атомов углерода, т.е. C₁₋₈алкокси; 1-6 атомов углерода, т.е. C₁₋₆алкокси; и 1-3 атомов углерода, т.е. C₁₋₃алкокси. Примеры алкокси групп включают, помимо прочего, метокси, этокси, n-пропокси, i-пропокси, n-бутокси, s-бутокси, t-бутокси, i-бутокси, пентокси группу, гексокси группу, циклопропокси, циклобутокси, циклопентокси и циклогексокси.

В контексте настоящего документа "галоалкокси" означает алкокси, определение чему было дано выше, при этом алкокси включает минимум одного заместителя, который выбирается из галогена, например, F, Cl, Br или I.

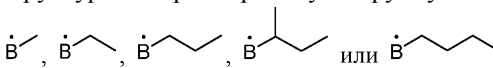
В контексте настоящего документа "арил" означает одновалентную группу, которая представляет собой радикал ароматического соединения, в котором кольцевыми атомами являются атомы углерода. Арил необязательно замещен и может быть моноциклическим или полициклическим, например, бициклическим или трициклическим. Примеры арильных групп включают, без каких-либо ограничений, арилы, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₂₀арил; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₁₅арил, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₁₀арил. Примеры арильных групп включают, помимо прочего, фенил, нафтил, флуоренил, азуленил, антрил, фенантрил и пиренил.

В контексте настоящего документа "арилалкил" означает одновалентную группу, которая представляет собой радикал алкильного соединения, при этом это алкильное соединение замещено ароматическим заместителем, т.е. ароматическое соединение содержит одинарную связь с алкильной группой и при этом радикал локализован на алкильной группе. Арилалкильная группа связывается с проиллюстрированной химической структурой через алкильную группу. Арилалкил может быть представлен структурой,

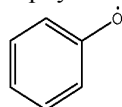
например, , при этом В это ароматическая группа, например арил или фенил.

Арилалкил необязательно замещен, т.е. арильная группа и/или алкильная группа может быть замещена так, как здесь описано. Примеры арилалкила включают, помимо прочего, бензил.

В контексте настоящего документа "алкиларил" означает одновалентную группу, которая представляет собой радикал арильного соединения, при этом арильное соединение замещено алкильным заместителем, т.е. арильное соединение содержит одинарную связь с алкильной группой и при этом радикал локализован на арильной группе. Алкиларильная группа связывается с проиллюстрированной химической структурой через арильную группу. Алкиларил может быть представлен структурой, например,

, при этом В это ароматическая группа, например, фенил. Алкиларил необязательно замещен, т.е. арильная группа и/или алкильная группа может быть замещена так, как здесь описано. Примеры алкиларила включают, помимо прочего, толуил.

В контексте настоящего документа "арилокси" означает одновалентную группу, которая представляет собой радикал ароматического соединения, при этом кольцевыми атомами являются атомы углерода и при этом кольцо замещено кислородным радикалом, т.е. ароматическое соединение содержит одинарную связь с атомом кислорода и при этом радикал локализован на атоме кислорода, например,



для фенокси. Заместители арилокси связываются с соединением, которое они замещают, через этот атом кислорода. Арилокси необязательно замещена. Арилокси включает, но без каких-либо ограничений, радикалы, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₂₀арилокси; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₁₅арилокси, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₁₀арилокси. Примеры арилокси групп включают, помимо прочего, фенокси, нафтокси и антрокси.

В контексте настоящего документа "арилен" означает двухвалентную группу ароматического соединения, при этом кольцевыми атомами являются только атомы углерода. Арилен необязательно замещен и может быть моноциклическим или полициклическим, например, бициклическим или трициклическим. Примеры ариленовых групп включают, без каких-либо ограничений, группы, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₂₀арилен; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₁₅арилен и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₁₀арилен.

В контексте настоящего документа "гетероалкил" означает алкил, в котором один или более атомов

углерода замещены гетероатомами. В контексте настоящего документа "гетероалкенил" означает алкенил, в котором один или более атомов углерода замещены гетероатомами. В контексте настоящего документа "гетероалкинил" означает алкинил, в котором один или более атомов углерода замещены гетероатомами. Подходящие гетероатомы включают, помимо прочего, атомы азота, кислорода и серы. Гетероалкил, гетероалкенил и гетероалкинил необязательно замещены. Примеры гетероалкильных групп включают, помимо прочего, аминоалкил, сульфониалкил и сульфинилалкил. Примеры гетероалкильных групп также включают, помимо прочего, метиламино, метилсульфонил и метилсульфинил.

В контексте настоящего документа "гетероарил" означает одновалентную группу, которая представляет собой радикал ароматического соединения, при этом кольцевые атомы содержат атомы углерода и минимум один атом кислорода, серы, азота или фосфора. Примеры гетероарильных групп включают, помимо прочего, соединения, содержащие от 5 до 20 кольцевых атомов, от 5 до 15 кольцевых атомов и от 5 до 10 кольцевых атомов. Гетероарил необязательно замещен.

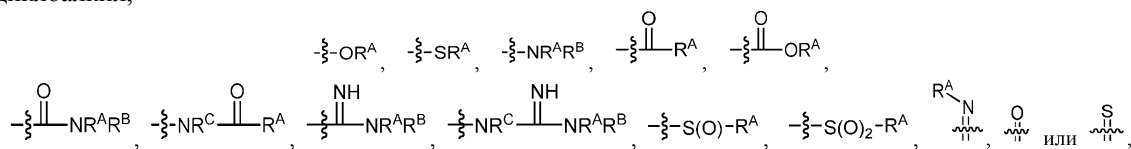
В контексте настоящего документа "гетероарилен" означает двухвалентный гетероарил, в котором один или более кольцевых атомов ароматического кольца замещены атомом кислорода, серы, азота или фосфора. Гетероарилен необязательно замещен.

В контексте настоящего документа "гетероциклоалкил" означает циклоалкил, в котором один или более атомов углерода замещены гетероатомами. Подходящие гетероатомы включают, помимо прочего, атомы азота, кислорода и серы. Гетероциклоалкил необязательно замещен. Примеры гетероциклоалкильных групп включают, помимо прочего, морфолинил, пиперидинил, тетрагидропиранил, пирролидинил, имидазолидинил, оксазолидинил, тиазолидинил, диоксоланил, дитиоланил, оксанил или тианил.

В контексте настоящего документа "кислота Льюиса" означает молекулу или ион, которые акцептируют неподеленную пару электронов. Кислоты Льюиса, используемые в описанных здесь способах, не являются протонами. Кислоты Льюиса включают, помимо прочего, неметаллические кислоты, металлические кислоты, твердые кислоты Льюиса и мягкие кислоты Льюиса. Кислоты Льюиса включают, помимо прочего, кислоты Льюиса алюминия, бора, железа, олова, титана, магния, меди, антимония, фосфора, серебра, иттербия, скандия, никеля и цинка. Примеры кислот Льюиса включают, помимо прочего, $AlBr_3$, $AlCl_3$, BCl_3 , бор трихлорид метил сульфид, BF_3 , бор трифторид метил эфира, бор трифторид метил сульфид, бор трифторид тетрагидрофуран, дициклогексилбор трифторметансульфонат, бромид железа (III), хлорид железа (III), хлорид олова (IV), хлорид титана (IV), изопропоксид титана (IV), $Cu(OTf)_2$, $CuCl_2$, $CuBr_2$, хлорид цинка, галоидный алкилалюминий (R_nAlX_{3-n} , при этом R это гидрокарбил), $Zn(OTf)_2$, $ZnCl_2$, $Yb(OTf)_3$, $Sc(OTf)_3$, $MgBr_2$, $NiCl_2$, $Sn(OTf)_2$, $Ni(OTf)_2$ и $MgBr(OTf)_2$.

В контексте настоящего документа "N-содержащий гетероциклоалкил" означает циклоалкил, в котором один или более атомов углерода замещены гетероатомами и при этом минимум один замещающий гетероатом представляет собой атом азота. Подходящие гетероатомы, в дополнение к азоту, включают, помимо прочего, атомы кислорода и серы. N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещен. Примеры N-содержащего гетероциклоалкила включают, помимо прочего, морфолинил, пиперидинил, пирролидинил, имидазолидинил, оксазолидинил или тиазолидинил.

В контексте настоящего документа термин "необязательно замещенный" при использовании для описания радикальной группы, например, необязательно замещенного алкила, означает, что такая группа необязательно связана с одним или более заместителями. Примеры таких заместителей включают, помимо прочего, гало, циано, нитро, amino, гидроксил, необязательно замещенный галоалкил, аминоалкил, гидроксилалкил, азидо, эпокси, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенный гетероциклоалкил,



при этом R^A , R^B и R^C представляет собой независимо в каждом случае атом водорода, алкил, алкенил, алкинил, арил, алкиларил, арилалкил, гетероалкил, гетероарил или гетероциклоалкил, или R^A и R^B вместе с атомами, с которыми они связаны, образуют насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, при этом кольцо необязательно замещено и при этом один или более кольцевых атомов необязательно замещены гетероатомом. В определенных вариантах осуществления, когда радикальная группа необязательно замещена необязательно замещенным гетероарилом, необязательно замещенным гетероциклоалкилом или необязательно замещенным насыщенным или ненасыщенным карбоциклическим кольцом, заместители на необязательно замещенном гетероариле, необязательно замещенном гетероциклоалкиле или необязательно замещенном насыщенном или ненасыщенном карбоциклическом кольце, если они замещены, не замещены заместителями, которые далее необязательно замещены дополнительными заместителями. В некоторых вариантах осуществления, когда описанная здесь группа необязательно замещена, заместитель, связанный с группой, не замещен, если не указано иное.

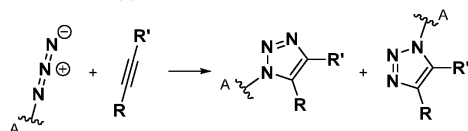
В контексте настоящего документа "связывающий агент" означает любую молекулу, например, белок, антитело или его фрагмент, способные связываться со специфичностью с определенным партнером по

связыванию, например, антигеном.

В контексте настоящего документа "линкер" означает двухвалентную, трехвалентную или мультивалентную группу, которая ковалентно соединяет или способна ковалентно соединять (например, через реакционноспособную группу), связующий агент и одно или более описанных здесь соединений, например, соединения-нагрузки и усиливающие агенты.

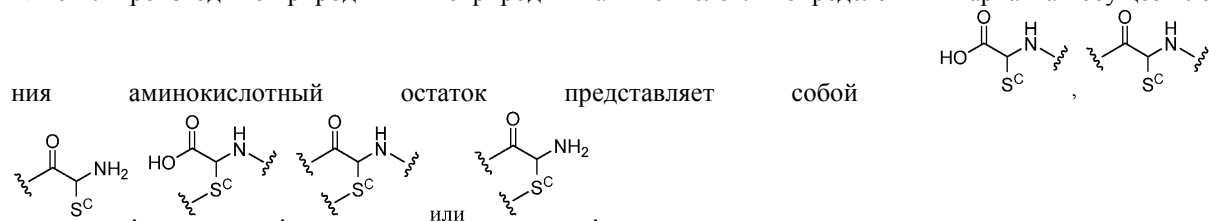
В контексте настоящего документа фраза "условия синтеза амида" означает условия реакции, способствующие образованию амида, например, при реакции карбоновой кислоты, активированной карбоновой кислоты или ацилгалогенида с амином. В некоторых примерах условия синтеза амида означают условия реакции, способствующие образованию амидной связи между карбоновой кислотой и амином. В некоторых из этих примеров карбоновая кислота сначала преобразуется в активированную карбоновую кислоту, а затем активированная карбоновая кислота вступает в реакцию с амином, в результате чего образуется амид. Подходящие условия, способствующие образованию амида, включают, помимо прочего, условия, при которых используются реактивы, способствующие протеканию реакции между карбоновой кислотой и амином, включая, помимо прочего, дициклогексилкарбодиимид (DCC), диизопропилкарбодиимид (DIC), (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат (BOP), (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyBOP), (7-азабензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyAOP), бромтрипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyBrOP), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат (HBTU), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторборат (TBTU), 1-[бис(диметиламино)метил]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний-3-оксида гексафторфосфат (HATU), N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохиолин (EEDQ), N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (EDC), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния гексафторфосфат (ClP), 2-хлор-4,6-диметокси-1,3,5-триазин (CDMT) и карбонилдимидазол (CDI). В некоторых примерах карбоновая кислота сначала преобразуется в активированный эфир карбоновой кислоты, а затем на эфир карбоновой кислоты воздействуют амином, в результате чего образуется амидная связь. В определенных вариантах осуществления на карбоновую кислоту воздействуют реактивом. Этот реактив активирует карбоновую кислоту посредством депротонирования карбоновой кислоты и последующего образования комплекса продукта с депротонированной карбоновой кислотой в результате нуклеофильной атаки депротонированной карбоновой кислоты на протонированный реактив. Активированные эфиры карбоновой кислоты для определенных карбоновых кислот более восприимчивы к нуклеофильной атаке амина по сравнению с карбоновой кислотой до ее активации. Это приводит к образованию амидной связи. В связи с этим карбоновая кислота описывается как активированная. Примеры реактивов включают DCC и DIC.

В контексте настоящего документа "региоизомер", "региоизомеры" или "смесь региоизомеров" означают продукт(ы) 1,3-циклодобавлений или промотированных напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC) - иначе известных как клик-реакции - которые получают от реакции подходящих азидов (например, -N₃, или -PEG-N₃ дериватизированных антител) и подходящих алкинов. В определенных вариантах осуществления, например, региоизомеры и смеси региоизомеров характеризуются продуктами клик-реакций, которые показаны далее:



В определенных вариантах осуществления можно использовать более одного подходящего азид и более одного подходящего алкина в схеме синтеза в процессе получения продукта, где каждая пара азид-алкин может участвовать в одной или более независимых клик-реакций, в результате чего образуется смесь региоизомерных продуктов клик-реакций. Например, специалисту известно, что первый подходящий азид может независимо вступать в реакцию с первым подходящим алкином, а второй подходящий азид может независимо вступать в реакцию со вторым подходящим алкином в процессе получения продукта, в результате чего образуются четыре возможных региоизомера клик-реакции или смесь четырех возможных региоизомеров клик-реакции. В контексте настоящего документа термин "остаток" означает химическую группу в соединении, которая остается после химической реакции. Например, термин "аминокислотный остаток" или "N-алкиламинокислотный остаток" означает продукт амидной связи или пептидной связи аминокислоты или N-алкиламинокислоты с подходящим партнером по связыванию; при этом, например, молекула воды удаляется после амидной или пептидной связи аминокислоты или N-алкиламинокислоты, в результате чего образуется продукт, содержащий аминокислотный остаток или N-алкиламинокислотный остаток. Термин "аминокислота" означает природные и синтетические α , β , γ или δ аминокислоты и включает, помимо прочего, аминокислоты, присутствующие в белках, а именно, глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, фенилаланин, триптофан, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарат, глутамат, лизин, аргинин и гистидин. В определенных вариантах осуществления аминокислота присутствует в своей L-конфигурации. В качестве варианта, аминокислотой может быть производное аланила, валинила, лейцинила, изолейцинила, пролинила, фе-

нилаланилина, триптофанила, метионинила, глицинила, серинила, треонинила, цистеинила, тирозинила, аспарагинила, глутаминила, аспартоила, глутароила, лизинила, аргинила, гистидинила, β -аланила, β -валинила, β -лейцинила, β -изолейцинила, β -пролинила, β -фенилаланинила, β -триптофанила, β -метионинила, β -глицинила, β -серинила, β -треонинила, β -цистеинила, β -тирозинила, β -аспарагинила, β -глутаминила, β -аспартоила, β -глутароила, β -лизинила, β -аргининила или β -гистидинила. Термин "производное аминокислоты" означает группу, получаемую из природной или не природной аминокислоты, которая здесь описана и приведена в качестве примера. Производные аминокислот известны специалистам в данной области и включают, помимо прочего, эфир, аминспирт, аминоальдегид, аминлактон и N-метил-производные природных и не природных аминокислот. В определенных вариантах осуществле-



при этом S^c это боковая цепь природной или не природной аминокислоты или связи (например, водород, как в глицине; $-\text{CH}_2\text{OH}$, как в серине; $-\text{CH}_2\text{SH}$, как в цистеине; $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, как в лизине; $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, как в глутаминовой кислоте; $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, как в глутамине; или $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, как в тирозине; и подобные); и

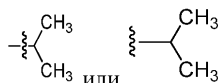
представляет связь с другим химическим элементом.

В определенных вариантах осуществления S^c выбирается из группы, состоящей из водорода, алкила, гетероалкила, арилалкила и гетероарилалкила.

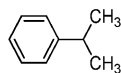
В контексте настоящего документа "терапевтически эффективное количество" означает количество (например, соединения), достаточное для оказания терапевтического действия на пациента при лечении заболевания или нарушения или управления заболеванием или нарушением или для замедления появления или уменьшения одного или более симптомов, связанных с таким заболеванием или нарушением.

В контексте настоящего документа "конституционные изомеры" означают соединения, которые имеют такую же молекулярную формулу, но разные химические структуры в результате того, как располагаются атомы. Примеры конституционных изомеров включают n-пропил и изопропил; n-бутил, втор-бутил и трет-бутил; и n-пентил, изопентил и неопентил и подобные.

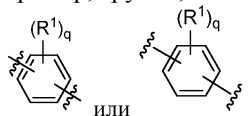
Определенные группы, компоненты, заместители и атомы изображаются с волнистой линией, которая пересекает связь или связи для обозначения атома, через который связываются эти группы, компоненты, заместители, атомы. Например, фенильная группа, которая замещена пропильной группой, изображенная следующим образом:



имеет следующую структуру:



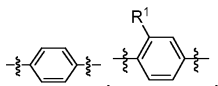
В контексте настоящего документа иллюстрации, изображающие заместителей, связанных с циклической группой (например, ароматическим, гетероароматическим, конденсированным кольцом и насыщенным или ненасыщенным циклоалкилом или гетероциклоалкилом) через связь между кольцевыми атомами, означают, если не указано иное, то, что циклическая группа может быть замещена этим заместителем в любом кольцевом положении в циклической группе или на любом кольце в группе конденсированных колец, в соответствии с методами, представленными здесь или известными в области, к которой относится настоящее изобретение. Например, группа,

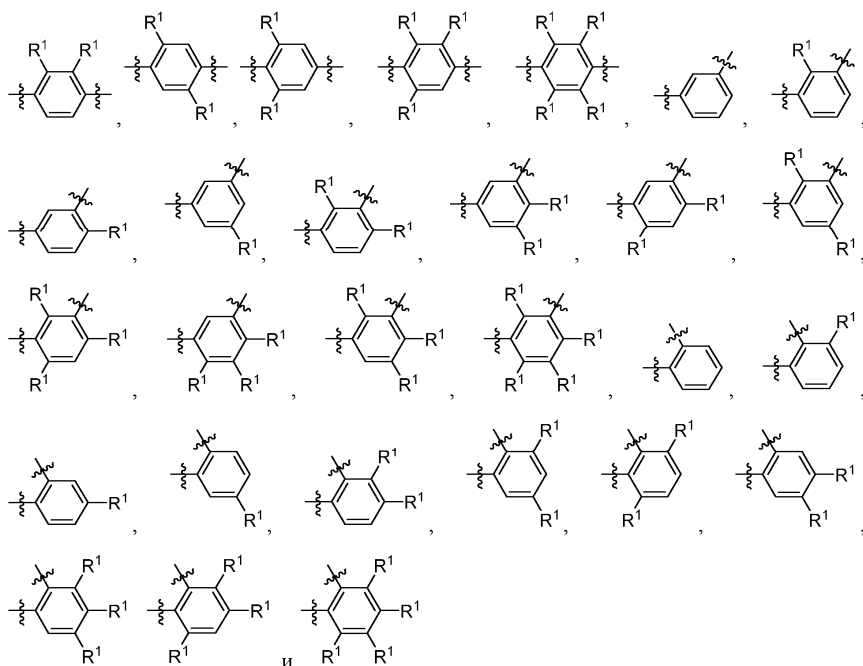


где нижний индекс q представляет собой целое число от 0 до 4 и

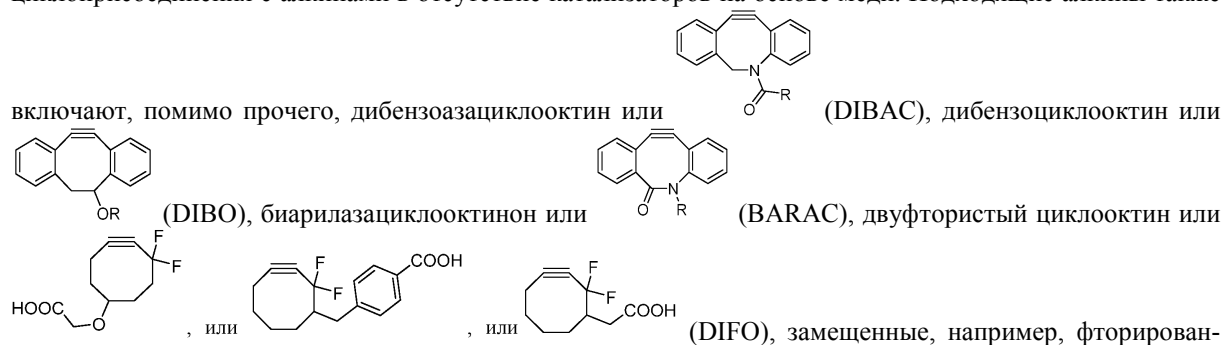
где позиции заместителя R^1 описаны в общем, т.е. не присоединены напрямую к какой-либо вершине структуры линии связи, т.е. конкретному кольцевому атому углерода,

включает следующие, неограничивающие примеры групп, в которых заместитель R^1 связан с конкретным кольцевым атомом углерода:

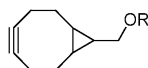




В контексте настоящего документа фраза "реакционноспособный линкер" или сокращение "RL" означает одновалентную группу, которая включает реакционноспособную группу ("RG") и спейсерную группу ("SP"), изображенные, например, как $RG-SP-$, при этом RG представляет собой реакционноспособную группу, а SP представляет собой спейсерную группу. Согласно приведенному здесь описанию, реакционноспособный линкер может включать более одной реакционноспособной группы и более одной спейсерной группы. Спейсерная группа - это любая двухвалентная группа, которая связывает реакционноспособную группу с другой группой, например, нагрузкой. Реакционноспособные линкеры (RL), вместе с нагрузками, с которыми они связаны, дают промежуточные соединения ("линкер-нагрузки" или LP), полезные как синтетические предшественники для приготовления описанных здесь конъюгатов антител. Реакционноспособный линкер включает реакционноспособную группу, которая является функциональной группой, способной вступать в реакцию с реакционноспособной частью другой группы, например, антителом, модифицированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или усиливающей группой. Группа, образованная в результате реакции реакционноспособной группы с антителом, модифицированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, вместе со связывающей группой, включает часть описанного здесь конъюгата "линкер связующего агента" ("BL"). В определенных вариантах осуществления "реакционноспособная группа" представляет собой функциональную группу (например, малеимид или N-гидроксисукцинимидный (NHS) эфир), которая вступает в реакцию с цистеиновым или лизиновым остатком антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В определенных вариантах осуществления "реакционноспособная группа" представляет собой функциональную группу, способную вступать в реакцию клик-химии (см., например, клик-химию Huisgen Proc. Chem. Soc. 1961, Wang et al. J. Am. Chem. Soc. 2003, и Agard et al. J. Am. Chem. Soc. 2004). В некоторых вариантах осуществления указанной реакции клик-химии реакционноспособная группа представляет собой алкин, способный вступать в реакцию 1,3-циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реакционноспособные группы включают, помимо прочего, напряженные алкины, например, алкины, подходящие для промотированных напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкины, например, циклоотины, бензаннелированные алкины и алкины, способные вступать в реакции 1,3-циклоприсоединения с алкинами в отсутствие катализаторов на основе меди. Подходящие алкины также

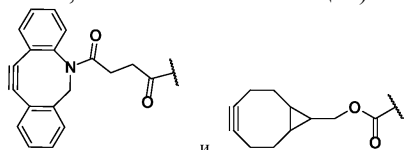


ные алкины, аза-циклоалкины, бисцикло[6.1.0]нонин или алкил, алкокси или ацил) и их производные.



(BCN, где R представляет собой

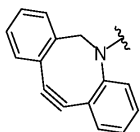
Особенно полезные алкины включают



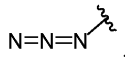
Линкер-нагрузки, включающие такие реакционноспособные группы, полезны для конъюгирования антител, которые были функционализованы азидо-группами. Такие функционализованные антитела включают антитела, функционализованные азидо-полиэтиленгликольными группами.

В определенных вариантах осуществления такое функционализованное антитело получают посредством воздействия на антитело, содержащее минимум один глутаминовый остаток, например, Gln295 тяжелой цепи, соединением, содержащим аминогруппу и азидную группу, в присутствии фермента транслгутаминазы.

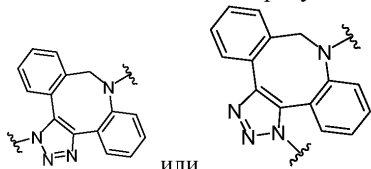
В некоторых примерах реакционноспособная группа представляет собой алкин, например,



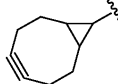
, который может вступать в реакцию посредством клик-химии с азидом, например,

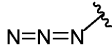
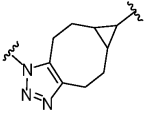



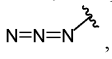
, в результате чего образуется продукт клик-химии, например,

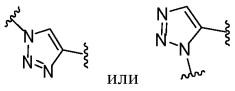


В некоторых примерах группа вступает в реакцию с азидом на модифицированном антителе или его антигенсвязывающем фрагменте. В некоторых примерах реакционноспособная группа представляет со-

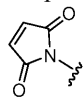
бой алкин, например, , который может вступать в реакцию посредством клик-химии с азидом,

например,  в результате чего образуется продукт клик-химии, например, .

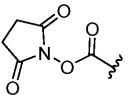
В некоторых примерах реакционноспособная группа представляет собой алкин, например, , который может вступать в реакцию посредством клик-химии с азидом, например, , в результате

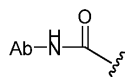
чего образуется продукт клик-химии, например, .

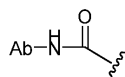
В некоторых примерах реакционноспособная группа представляет собой функциональную группу,

например, , которая вступает в реакцию с цистеиновым остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте, в результате чего образуется углерод-серная связь с ним, например,

при этом Ab означает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, а S означает S-атом на цистеиновом остатке, через который функциональная группа связывается с Ab. В некоторых примерах реакци-

онноспособная группа - это функциональная группа, например, , которая вступает в реакцию с лизиновым остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте, в результате чего образуется

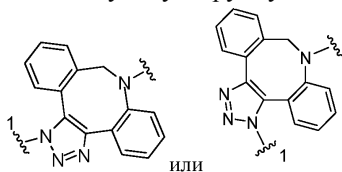



амидная связь с ним, например, , при этом Ab означает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, а NH означает NH-атом на остатке боковой цепи лизина, через который функциональная группа связывается с Ab.

В контексте настоящего документа фраза "биоразлагаемая группа" означает группу, которая разлагается *in vivo* на нетоксичные, биосовместимые компоненты, которые могут быть выведены из организма в ходе обычных биологических процессов. В некоторых вариантах осуществления биоразлагаемая группа полностью или в значительной степени разлагается *in vivo* на протяжении периода около 90 дней или менее, около 60 дней или менее или около 30 дней или менее, при этом степень разложения основана на потере массы биоразлагаемой группы в процентах и при этом полное разложение соответствует 100% потере массы. Примеры биоразлагаемых групп включают, помимо прочего, алифатические полиэфиры, такие как поли(ϵ -капролактон) (PCL), поли(3-гидроксибутират) (PHB), поли(гликолевая кислота) (PGA), поли(молочная кислота) (PLA) и сополимеры с гликолевой кислотой (т.е. поли(D,L-лактид-когликолид) (PLGA) (публикации Vert M, Schwach G, Engel R and Coudane J (1998) *J Control Release* 53(1-3):85-92; Jain R A (2000) *Biomaterials* 21(23):2475-2490; Uhrich K E, Cannizzaro S M, Langer R S and Shakesheff K M (1999) *Chemical Reviews* 99(11):3181-3198; и Park T G (1995) *Biomaterials* 16(15): 1123-1130, содержание каждой из которых включается в настоящий документ полностью посредством ссылки).

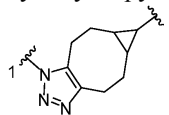
В контексте настоящего документа фраза "линкер связующего агента" или "BL" означает любую двухвалентную, трехвалентную или мультивалентную группу, которая связывает или соединяет связующий агент (например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент) с представленным здесь соединением-нагрузкой (например, тубулизидами) и необязательно с одним или более соединениями с боковой цепью. В общем, подходящие линкеры связующего агента для описанных здесь конъюгатов антител - линкеры, которые достаточно стабильны для использования периода полужизни в кровотоке конъюгатов антитела и в то же время способны высвобождать свою нагрузку после антигеносредованной интернализации конъюгата. Линкеры могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми. Расщепляемые линкеры - линкеры, которые расщепляются посредством внутриклеточного обмена веществ после интернализации, например, расщепления через гидролиз, восстановление или ферментную реакцию. Нерасщепляемые линкеры - линкеры, которые высвобождают присоединенную нагрузку посредством лизосомной деградации антитела после интернализации. Подходящие линкеры включают, помимо прочего, кислотолabile линкеры, гидролитически лабильные линкеры, расщепляемые под воздействием ферментов линкеры, лабильные при восстановлении линкеры, саморасщепляющиеся линкеры и нерасщепляемые линкеры. Подходящие линкеры также включают, помимо прочего, линкеры, которые представляют собой или содержат пептиды, глюкурониды, сукцинимид-тиоэферы, полиэтиленгликольные (ПЭГ) единицы, гидразоны, мал-капроильные единицы, дипептидные единицы, валин-цитруллиновые единицы и пара-аминобензилоксикарбонил (ПАВС), пара-аминобензильные (ПАВ) единицы. В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента (BL) включает группу, которая образуется в результате реакции реакционноспособной группы (RG) реакционноспособного линкера (RL) и реакционноспособной части связующего агента, например, антитела, модифицированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.


В некоторых примерах BL включает следующую группу:



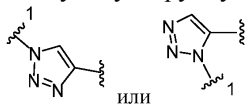
при этом  представляет собой связь со связующим агентом.


В некоторых примерах BL включает следующую группу:



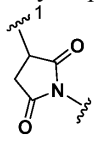
при этом  представляет собой связь со связующим агентом.

В некоторых примерах BL включает следующую группу:



при этом  представляет собой связь со связующим агентом.

В некоторых примерах BL включает следующую группу:



при этом ¹ представляет собой связь с цистеином антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых примерах BL включает следующую группу:



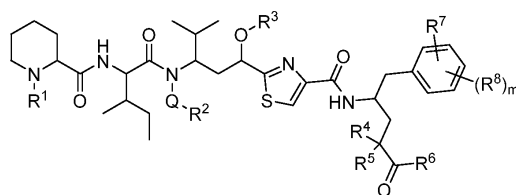
при этом ¹ представляет собой связь с лизином антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

При использовании в отношении полипептидов фраза "существенное сходство" или "существенно похожие" означает, что две пептидные последовательности при оптимальном выравнивании, например, при помощи программ GAP или BESTFIT с использованием стандартных штрафов за продолжение гэпа, идентичны минимум на 95%, предпочтительнее минимум на 98% или 99%. Сходство последовательностей также можно определить при помощи алгоритма BLAST, описанного в публикации Altschul et al. *J. Mol. Biol.* 215: 403-10 (при использовании опубликованных настроек по умолчанию) или доступного по адресу blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi. Предпочтительно позиции остатков, которые не являются идентичными, отличаются консервативными аминокислотными заменами. "Консервативная аминокислотная замена" - это замена, при которой аминокислотный остаток замещен другим аминокислотным остатком с боковой цепью (R группа) со схожими химическими свойствами (например, зарядом или гидрофобностью). В общем, консервативная аминокислотная замена существенно не изменяет функциональные свойства белка. В случаях, когда две или более аминокислотных последовательностей отличаются друг от друга консервативными заменами, идентичность последовательностей в процентах или степень схожести можно откорректировать в сторону повышения для компенсации консервативного характера замены. Способы такой корректировки хорошо известны специалистам в данной области. См., например, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331. Примеры групп аминокислот, которые имеют боковые цепи со схожими химическими свойствами, включают (1) алифатические боковые цепи: глицин, аланин, валин, лейцин и изолейцин; (2) алифатические-гидроксильные боковые цепи: серин и треонин; (3) амид-содержащие боковые цепи: аспарагин и глутамин; (4) ароматические боковые цепи: фенилаланин, тирозин и триптофан; (5) основные боковые цепи: лизин, аргинин и гистидин; (6) кислые боковые цепи: аспартат и глутамат; и (7) серосодержащие боковые цепи: цистеин и метионин. Предпочтительные группы консервативных аминокислотных замен: валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин, глутамат-аспартат и аспарагин-глутамин. В качестве варианта, консервативная замена представляет собой любое изменение, имеющее положительное значение в матрице логарифмического правдоподобия PAM250, описанной в публикации Gonnet et al. (1992) *Science* 256: 1443-1445. "Умеренно консервативная замена" представляет собой любое изменение, имеющее неотрицательное значение в матрице логарифмического правдоподобия PAM250.

Соединения или нагрузки -Q представляет собой углерод.

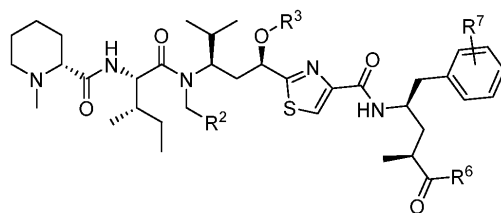
Здесь представлены соединения или нагрузки. Без привязки к какой-либо конкретной теории, соединения включают тубулизины или производные тубулизинов. В определенных вариантах осуществления соединения могут доставляться к клеткам, будучи частью конъюгата. В определенных вариантах осуществления соединения способны оказывать какое-либо действие тубулизина или производного тубулизина у мишени или в мишени, например, у клетки-мишени или в клетке-мишени. Определенные соединения могут иметь одно или более дополнительных действий. В определенных вариантах осуществления соединения способны модулировать активность рецептора фоллиевой кислоты, рецептора соматостатина и/или рецептора бомбезина.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы I:



Формула I

или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой $-CH_2-$; R^2 представляет собой C_5-C_{10} -алкил; R^3 представляет собой $-C(O)C_1-C_5$ -алкил; R^4 представляет

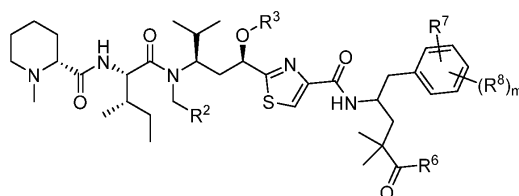


Формула II

или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство. В определенных вариантах осуществления R^2 , R^3 , R^6 и R^7 соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы I, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой $-CH_2-$; R^2 представляет собой C_5-C_{10} -алкил; R^3 представляет собой $-C(O)C_1-C_5$ -алкил; R^4 и R^5 представляет собой метил; R^7 представляет собой $-OH$, галоген или $-NH_2$; R^8 представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, $-NHR^9$ или галоген, при этом R^9 представляет собой водород или $-C_1-C_5$ -алкил; и индекс m равен 1 или 2. В определенных вариантах осуществления R^1 , R^2 , R^3 и $Q-R^2$ соответствуют вышеприведенным описаниям в формуле I. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы I R^7 включает фтор, хлор, бром и йод. В одном варианте осуществления R^7 представляет собой фтор. В другом варианте осуществления R^7 представляет собой хлор. В другом варианте осуществления R^7 представляет собой бром. В другом варианте осуществления R^7 представляет собой йод. В одном варианте осуществления R^7 представляет собой $-OH$. В одном варианте осуществления R^7 представляет собой $-NH_2$. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой водород. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой дейтерий. В определенных вариантах осуществления R^8 независимо включает фтор, хлор, бром и йод. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой фтор. В другом варианте осуществления R^8 представляет собой хлор. В другом варианте осуществления R^8 представляет собой бром. В другом варианте осуществления R^8 представляет собой йод. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой $-NHR^9$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NH_2$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ включает $-NHMe$, $-NHEt$, $-NHCH_2CH_2CH_3$, $-NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ и $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHMe$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHEt$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHCH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHCH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления индекс m равен 1. В одном варианте осуществления индекс m равен 2.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы III:



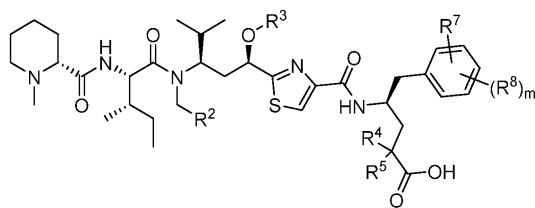
Формула III

или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления Q, R^2 , R^3 , R^7 , R^8 , R^9 и $Q-R^2$ соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы I, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой $-CH_2-$; R^2 представляет собой C_1-C_{10} -алкинил; и R^6 представляет собой $-OH$. В определенных вариантах осуществления R^1 , R^3 , R^4 , R^5 , R^7 и R^8 соответствуют приведенным выше описаниям. В одном варианте осуществления формулы I R^2 представляет собой $-CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы I R^2 представляет собой $-CH_2CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы I R^2 представляет собой $-CH_2CH_2CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы I R^2 представляет собой $-CH_2CH_2CH_2CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы I R^2 представляет собой $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы I R^2 представляет собой $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы I R^2 представляет собой $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы I R^2 представляет собой $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы I R^2 представляет собой $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2C\equiv N$.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру

формулы IV:

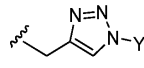


Формула IV

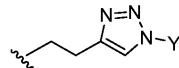
или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^7 и R^8 соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы I, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой $-CH_2-$; R^2 представляет собой региоизомерный $-C_1-C_{10}$ -алкилен-(5-членный гетероарил), при этом указанный гетероарил не замещен или замещен алкилом, аминоалкилом, гидроксилалкилом, карбоксиалкилом, бензилом или фенилом; R^3 представляет собой $-C(O)C_1-C_5$ -алкил; R^4 и R^5 представляет собой C_1-C_5 -алкил; R^6 представляет собой $-OH$; и R^7 представляет собой $-NH_2$. В определенных вариантах осуществления R^1 , R^8 и R^9 соответствуют вышеприведенным описаниям. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы I полезные R^2 группы включают региоизомерные $-C_1-C_{10}$ -алкилен-(1,2,3-триазолы), при этом указанные региоизомерные 1,2,3-триазолы не замещены или замещены алкилом, аминоалкилом, гидроксилалкилом, карбоксиалкилом, бензилом или фенилом. В следующих вариантах осуществления 1,2,3-триазолы получают от реакций клик-химии между концевыми алкинами и азидами, в результате чего получают региоизомерные продукты, описанные в настоящем документе.

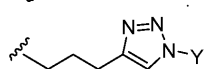
В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



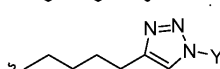
В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



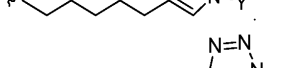
В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



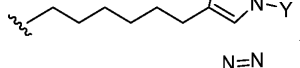
В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



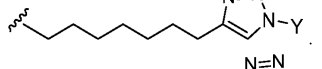
В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



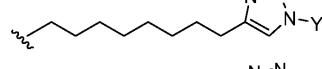
В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



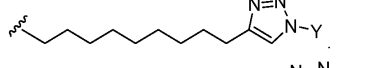
В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



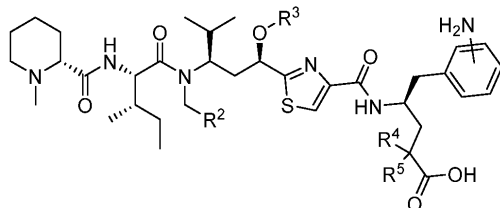
В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



В любом одном или более вариантах осуществления в настоящем пункте Y представляет собой водород, алкил, аминоалкил, гидроксилалкил, карбоксиалкил, бензил или фенил. В одном варианте осуществления Y представляет собой водород. В одном варианте осуществления Y представляет собой алкил. В одном варианте осуществления Y представляет собой аминоалкил. В одном варианте осуществления Y представляет собой гидроксилалкил. В одном варианте осуществления Y представляет собой карбоксиалкил. В одном варианте осуществления Y представляет собой фенил. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы I полезные R^3 группы включают $-C(O)Me$, $-C(O)Et$, $-C(O)пропил$, $-C(O)бутил$ и $-C(O)пентил$. В одном варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)Me$. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)Et$. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)пропил$ и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)бутил$ и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)пентил$ и его конституционные изомеры. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы I полезные R^4 и R^5 группы независимо включают метил, этил, пропил и его конституционные изомеры, бутил и его конституционные изомеры и пентил и его

конституционные изомеры, а также их комбинации. Например, в одном варианте осуществления R^4 и R^5 представляет собой Me. В качестве другого примера, в одном варианте осуществления R^4 и R^5 представляет собой этил. В качестве другого примера, R^4 представляет собой метил и R^5 представляет собой этил. Здесь рассматриваются другие примеры комбинаций или отклонений для R^4 и R^5 в качестве вариантов осуществления в пределах данного пункта.

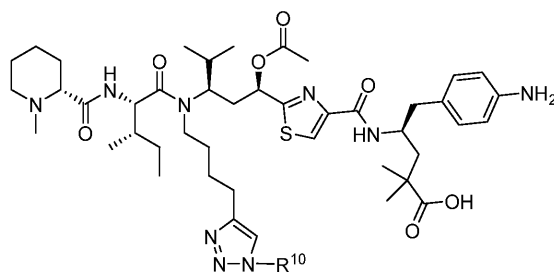
В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы V:



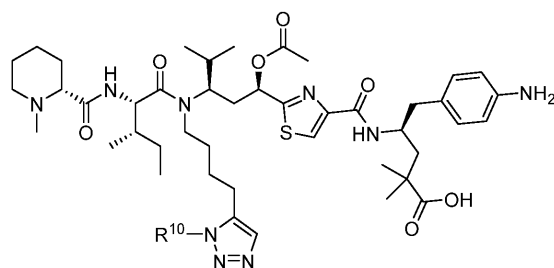
Формула V

или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления R^2 , R^3 , R^4 и R^5 соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы VI или формулы VII:



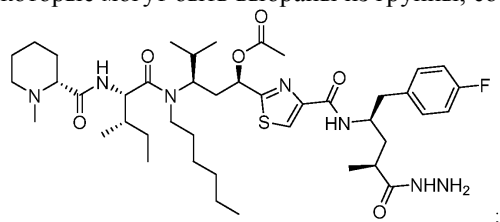
Формула VI



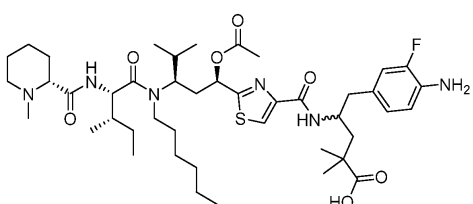
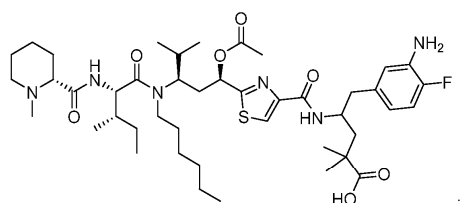
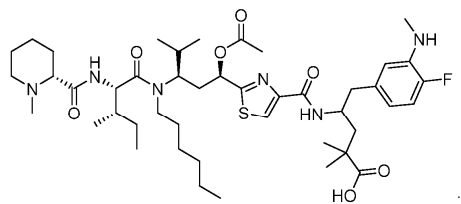
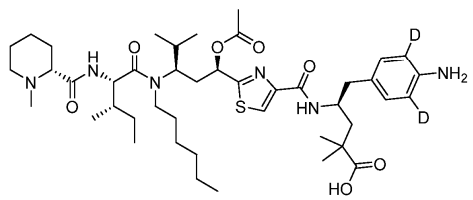
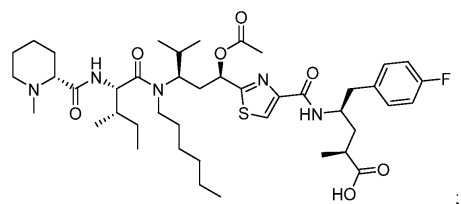
Формула VII

при этом R^{10} представляет собой водород, метил, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, бензил или фенил; или его фармацевтически приемлемая соль. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой водород. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой метил. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой $-\text{CH}_2\text{COOH}$. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой бензил. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой фенил.

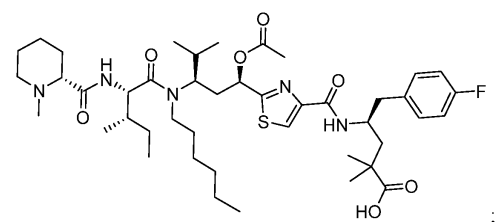
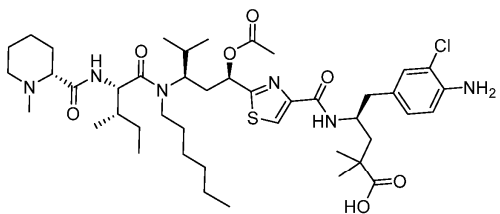
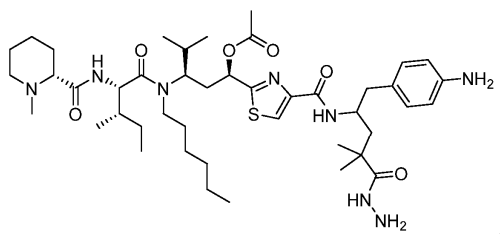
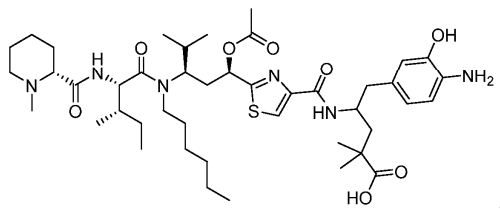
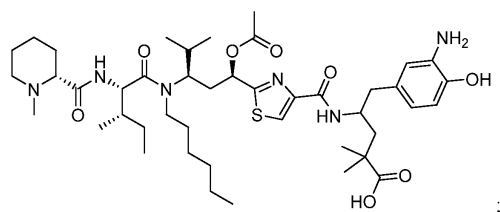
В определенных вариантах осуществления здесь представлены соединения согласно любой из формул I, II, III, IV, V, VI или VII, которые могут быть выбраны из группы, состоящей из:

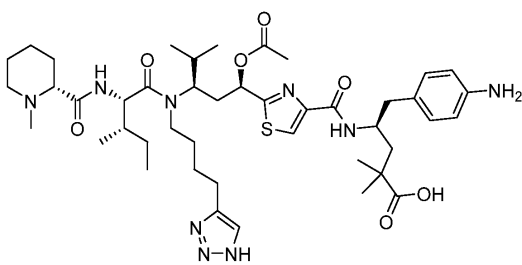
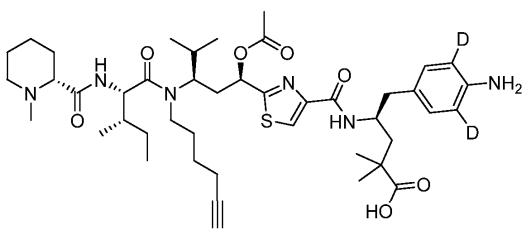
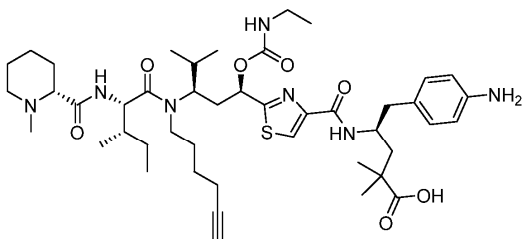
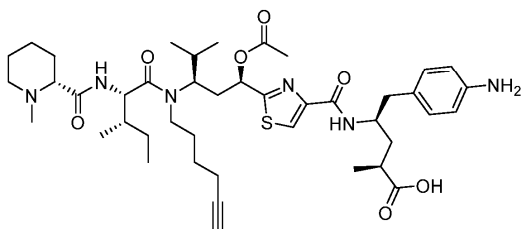
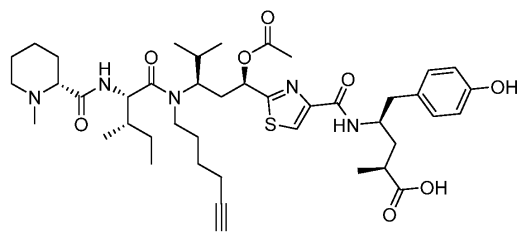


047625

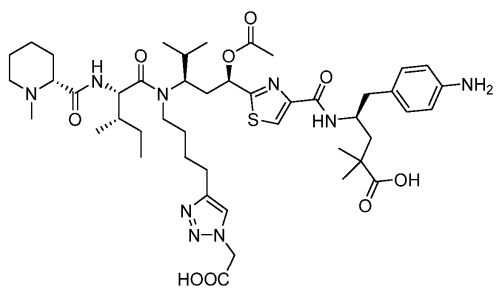
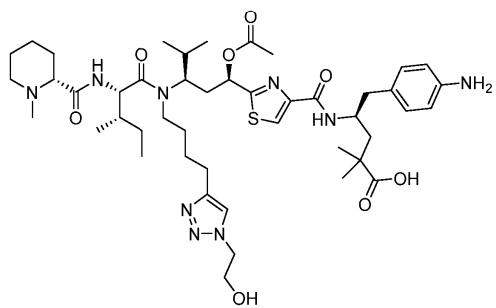
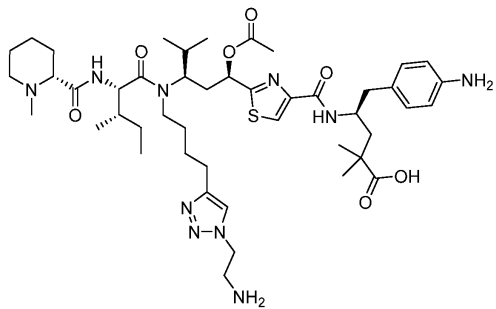
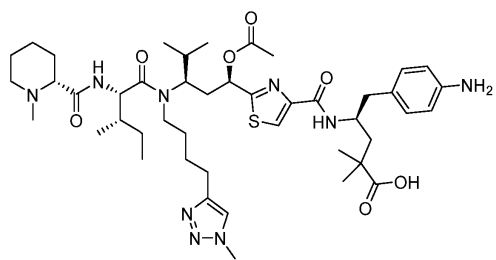


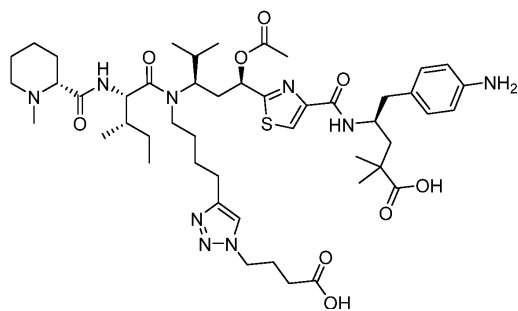
047625



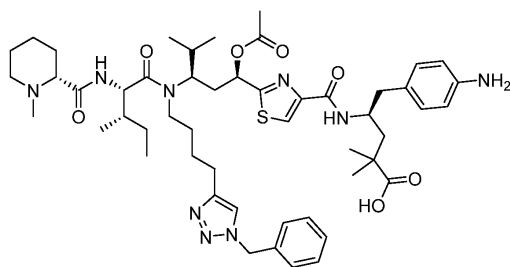


047625

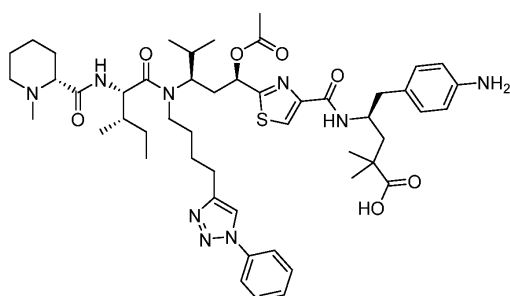




;



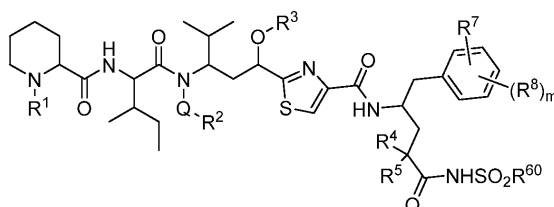
; и



; или

их региоизомер; или их фармацевтически приемлемая соль.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XIII:



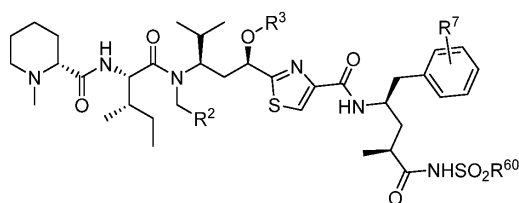
Формула XIII

или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой $-CH_2-$; R^2 представляет собой C_5-C_{10} -алкил; R^3 представляет собой $-C(O)C_1-C_5$ -алкил; R^4 представляет собой водород или C_1-C_5 -алкил; R^5 представляет собой C_1-C_5 -алкил; или R^4 и R^5 вместе с углеродом, к которому они присоединены, образуют 3-8-членный циклоалкил, замещенный циклоалкил, гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил; и R^7 представляет собой галоген. В формуле XIII в определенных вариантах осуществления полезные R^1 группы включают метил и этил. В определенных вариантах осуществления полезные R^1 группы включают пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил, децил и их конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой метил. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой этил. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой пентил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой гексил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой гептил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой октил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой нонил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой децил и его конституционные изомеры. В формуле XIII в определенных приведенных выше вариантах осуществления полезные R^2 группы включают n-пентил, n-гексил, n-гептил, n-октил, n-нонил и n-децил. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой n-пентил или его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^2 представляет собой n-гексил или его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^2 представляет собой n-гептил или его конституционные изомеры. В другом варианте осуществ-

ления R^2 представляет собой *n*-октил или его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^2 представляет собой *n*-нонил или его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^2 представляет собой *n*-децил или его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления $Q-R^2$ представляет собой *n*-гексил. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII полезные R^3 группы включают $-C(O)Me$, $-C(O)Et$, $-C(O)пропил$, $-C(O)бутил$ и $-C(O)пентил$. В одном варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)Me$. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)Et$. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)пропил$ и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)бутил$ и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)пентил$ и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^4 представляет собой водород. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII полезные R^4 группы включают метил, этил, пропил, бутил и пентил. В одном варианте осуществления R^4 представляет собой метил. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой этил. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой пентил и его конституционные изомеры. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII полезные R^5 группы включают метил, этил, пропил, бутил и пентил. В одном варианте осуществления R^5 представляет собой метил. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой этил. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой пентил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 представляет собой метил. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклопропил или замещенный циклопропил. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединяются представляет собой циклобутил или замещенный циклобутил. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклопентил или замещенный циклопентил. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклогексил или замещенный циклогексил. В одном варианте осуществления, R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклогептил или замещенный циклогептил. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклооктил или замещенный циклооктил. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклопропил, где один углерод метилена в циклопропиле замещен Z , где Z представляет собой кислород, азот или сера. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклобутил, где один углерод метилена в циклобутиле замещен Z , где Z представляет собой кислород, азот или сера. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклопентил, где один или более атомов углерода метилена в циклопентиле замещены Z , где Z представляет собой кислород, азот или сера. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклогексил, где один или более атомов углерода метилена в циклогексиле замещены Z , где Z представляет собой кислород, азот или сера. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклогептил, где один или более атомов углерода метилена в циклогептиле замещены Z , где Z представляет собой кислород, азот или сера. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклооктил, где один или более атомов углерода метилена в циклооктиле замещены Z , где Z представляет собой кислород, азот или сера. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII R^{60} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил. Подходящие R^{60} алкильные группы включают группы, описанные в данном пункте для R^1 , например, метил, этил и подобные. Подходящие R^{60} алкенил, алкинил, арил и гетероарил описаны в настоящем документе. Подходящие R^{60} циклоалкил и гетероциклоалкил включают циклоалкил и гетероциклоалкил, которые описаны для R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, в соответствии с описанием, приведенным в настоящем пункте. В формуле XIII в определенных приведенных выше вариантах осуществления каждый R^7 независимо включает фтор, хлор, бром и йод. В одном варианте осуществления R^7 представляет собой фтор. В другом варианте осуществления R^7 представляет собой хлор. В другом варианте осуществления R^7 представляет собой бром. В другом варианте осуществления R^7 представляет собой йод. В формуле XIII в определенных приведенных выше вариантах осуществления R^8 включает водород, дейтерий, $-NHR^9$ или галоген. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII R^9 представляет собой водород, $-C_1-C_5$ -алкил или $-C(O)C_1-C_5$ -алкил. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII индекс *m* равен 1 или 2. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой водород. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой дейтерий. В определенных вариантах осуществления R^8 независимо включает фтор, хлор, бром и йод. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой фтор. В дру-

гом варианте осуществления R^8 представляет собой хлор. В другом варианте осуществления R^8 представляет собой бром. В другом варианте осуществления R^8 представляет собой йод. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NH_2$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ включает $-NHMe$, $-NHEt$, $-NHCH_2CH_2CH_3$, $-NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ и $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHMe$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHEt$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHCH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHCH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ включает $-NHC(O)Me$, $-NHC(O)Et$, $-NHC(O)CH_2CH_2CH_3$, $-NHC(O)CH_2CH_2CH_2CH_3$ и $-NHC(O)CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHC(O)Me$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHC(O)Et$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHC(O)CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHC(O)CH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHC(O)CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления индекс m равен 1. В одном варианте осуществления индекс m равен 2.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XIV:

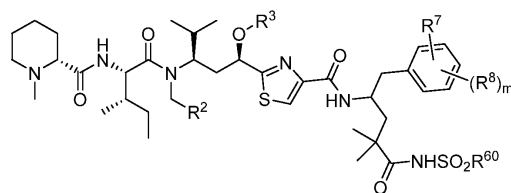


Формула XIV

или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство. В определенных вариантах осуществления R^2 , R^3 , R^7 и R^{60} соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XIII, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой $-CH_2-$; R^2 представляет собой C_5-C_{10} -алкил; R^3 представляет собой $-C(O)C_1-C_5$ -алкил; R^4 и R^5 представляет собой метил; R^7 представляет собой $-OH$, галоген или $-NH_2$; R^8 представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, $-NHR^9$ или галоген, при этом R^9 представляет собой водород или $-C_1-C_5$ -алкил; и индекс m равен 1 или 2. В определенных вариантах осуществления R^1 , R^2 , R^3 и $Q-R^2$ соответствуют вышеприведенным описаниям в формуле XIII. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII R^7 включает фтор, хлор, бром и йод. В одном варианте осуществления R^7 представляет собой фтор. В другом варианте осуществления R^7 представляет собой хлор. В другом варианте осуществления R^7 представляет собой бром. В другом варианте осуществления R^7 представляет собой йод. В одном варианте осуществления R^7 представляет собой $-OH$. В одном варианте осуществления R^7 представляет собой $-NH_2$. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой водород. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой дейтерий. В определенных вариантах осуществления R^8 независимо включает фтор, хлор, бром и йод. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой фтор. В другом варианте осуществления R^8 представляет собой хлор. В другом варианте осуществления R^8 представляет собой бром. В другом варианте осуществления R^8 представляет собой йод. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой $-NHR^9$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NH_2$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ включает $-NHMe$, $-NHEt$, $-NHCH_2CH_2CH_3$, $-NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ и $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHMe$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHEt$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHCH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHCH_2CH_2CH_2CH_3$. В одном варианте осуществления $-NHR^9$ представляет собой $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII R^{60} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил. Подходящие R^{60} алкильные группы включают группы, описанные в контексте формулы XIII для R^1 , например, метил, этил и подобные. Подходящие R^{60} алкенил, алкинил, арил и гетероарил описаны в настоящем документе. Подходящие R^{60} циклоалкил и гетероциклоалкил включают циклоалкил и гетероциклоалкил, которые описаны для R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, в соответствии с описанием в контексте формулы XIII. В одном варианте осуществления индекс m равен 1. В одном варианте осуществления индекс m равен 2.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XV:

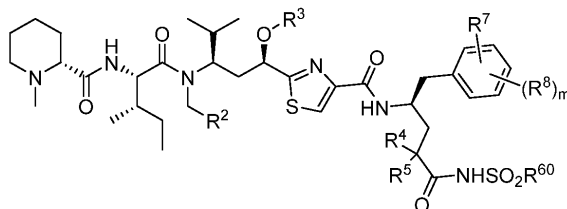


Формула XV

или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления Q, R², R³, R⁷, R⁸, R⁹, Q-R² и R⁶⁰ соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XIII, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой -CH₂-; R² представляет собой C₁-C₁₀-алкинил; и R⁶⁰ представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил. Подходящие R⁶⁰ алкильные группы включают группы, описанные в контексте формулы XIII для R¹, например, метил, этил и подобные. Подходящие R⁶⁰ алкенил, алкинил, арил и гетероарил описаны в настоящем документе. Подходящие R⁶⁰ циклоалкил и гетероциклоалкил включают циклоалкил и гетероциклоалкил, которые описаны для R⁴ и R⁵, вместе с углеродом, к которому они присоединены, в соответствии с описанием в контексте формулы XIII. В определенных вариантах осуществления R¹, R³, R⁴, R⁵, R⁷ и R⁸ соответствуют приведенным выше описаниям. В одном варианте осуществления формулы XIII R² представляет собой -CH₂CCH. В одном варианте осуществления формулы XIII R² представляет собой -CH₂CH₂CCH. В одном варианте осуществления формулы XIII R² представляет собой -CH₂CH₂CH₂CCH. В одном варианте осуществления формулы XIII R² представляет собой -CH₂CH₂CH₂CH₂CCH. В одном варианте осуществления формулы XIII R² представляет собой -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CCH. В одном варианте осуществления формулы XIII R² представляет собой -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CCH. В одном варианте осуществления формулы XIII R² представляет собой -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CCH. В одном варианте осуществления формулы XIII R² представляет собой -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CCH. В одном варианте осуществления формулы XIII R² представляет собой -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CCH.

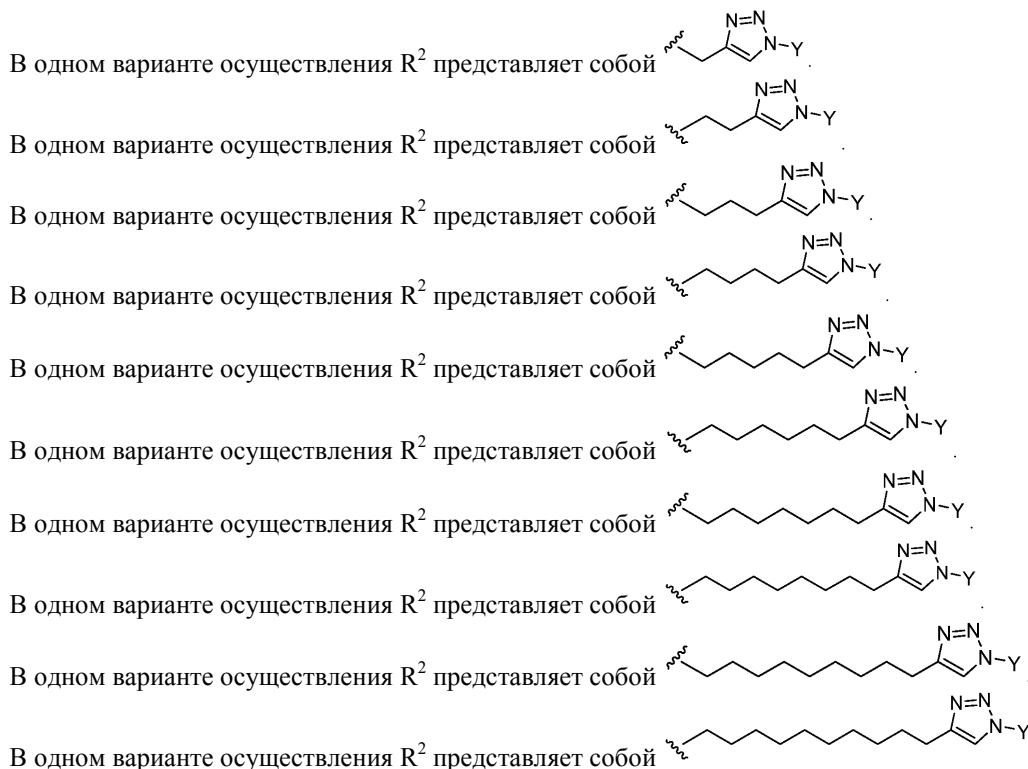
В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XVI:



Формула XVI

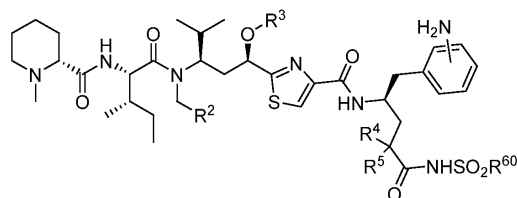
или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления R², R³, R⁴, R⁵, R⁷, R⁸ и R⁶⁰ соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XIII, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой -CH₂-; R² представляет собой региоизомерный -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил), при этом указанный гетероарил не замещен или замещен алкилом, аминоалкилом, гидроксилалкилом, карбоксиалкилом, бензилом или фенилом; R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил; R⁴ и R⁵ представляют собой C₁-C₅-алкил; R⁷ представляет собой -NH₂; и R⁶⁰ представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил. Подходящие R⁶⁰ алкильные группы включают группы, описанные в контексте формулы XIII для R¹, например, метил, этил и подобные. Подходящие R⁶⁰ алкенил, алкинил, арил и гетероарил описаны в настоящем документе. Подходящие R⁶⁰ циклоалкил и гетероциклоалкил включают циклоалкил и гетероциклоалкил, которые описаны для R⁴ и R⁵, вместе с углеродом, к которому они присоединены, в соответствии с описанием в контексте формулы XIII. В определенных вариантах осуществления R¹, R⁸ и R⁹ соответствуют вышеприведенным описаниям. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII полезные R² группы включают региоизомерные -C₁-C₁₀-алкилен-(1,2,3-триазолы), при этом указанные региоизомерные 1,2,3-триазолы не замещены или замещены алкилом, аминоалкилом, гидроксилалкилом, карбоксиалкилом, бензилом или фенилом. В следующих вариантах осуществления 1,2,3-триазолы получают от реакций клик-химии между концевыми алкинами и азидами, в результате чего получают региоизомерные продукты, описанные в настоящем документе.



В любом одном или более вариантах осуществления в настоящем пункте Y представляет собой водород, алкил, аминоалкил, гидроксилалкил, карбоксиалкил, бензил или фенил. В одном варианте осуществления Y представляет собой водород. В одном варианте осуществления Y представляет собой алкил. В одном варианте осуществления Y представляет собой аминоалкил. В одном варианте осуществления Y представляет собой гидроксилалкил. В одном варианте осуществления Y представляет собой карбоксиалкил. В одном варианте осуществления Y представляет собой фенил. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII полезные R^3 группы включают $-C(O)Me$, $-C(O)Et$, $-C(O)пропил$, $-C(O)бутил$ и $-C(O)пентил$. В одном варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)Me$. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)Et$. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)пропил$ и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)бутил$ и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)пентил$ и его конституционные изомеры. В определенных вариантах осуществления вышеприведенной формулы XIII полезные R^4 и R^5 группы независимо включают метил, этил, пропил и его конституционные изомеры, бутил и его конституционные изомеры и пентил и его конституционные изомеры, а также их комбинации. Например, в одном варианте осуществления R^4 и R^5 представляет собой метил. В качестве другого примера, в одном варианте осуществления R^4 и R^5 представляет собой этил. В качестве другого примера, R^4 представляет собой метил и R^5 представляет собой этил. Здесь рассматриваются другие примеры комбинаций или отклонений для R^4 и R^5 в качестве вариантов осуществления в пределах данного пункта.

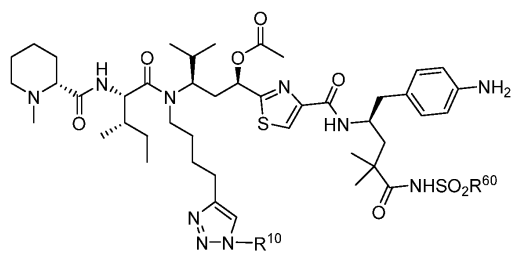
В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XVII:



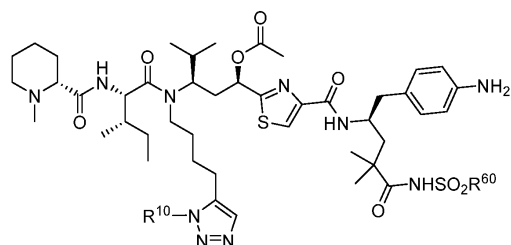
Формула XVII

или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления R^2 , R^3 , R^4 , R^5 и R^{60} соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XVIII или формулы XIX:



Формула XVIII



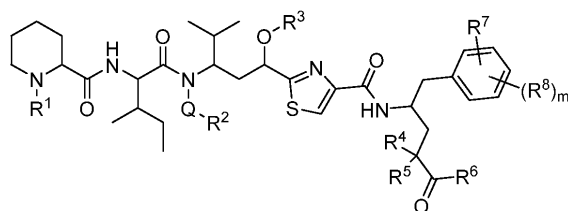
Формула XIX

при этом R^{60} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил. Подходящие R^{60} алкильные группы включают группы, описанные в контексте формулы XIII для R^1 , например, метил, этил и подобные. Подходящие R^{60} алкенил, алкинил, арил и гетероарил описаны в настоящем документе. Подходящие R^{60} циклоалкил и гетероциклоалкил включают циклоалкил и гетероциклоалкил, которые описаны для R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, в соответствии с описанием в контексте формулы XIII. В определенных вариантах осуществления R^{10} представляет собой водород, метил, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, бензил или фенил; или его фармацевтически приемлемая соль. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой водород. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой метил. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой $-\text{CH}_2\text{COOH}$. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой бензил. В одном варианте осуществления R^{10} представляет собой фенил.

В любом предшествующем варианте осуществления в данном разделе R^7 представляет собой $-\text{NR}^{7a}\text{R}^{7b}$, при этом R^{7a} и R^{7b} представляет собой независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил, ацил и аминокислотный остаток, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены. В определенных вариантах осуществления R^{7a} представляет собой водород и R^{7b} представляет собой аминокислотный остаток.

Соединения или нагрузки $-\text{Q}$ представляет собой кислород.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы I:

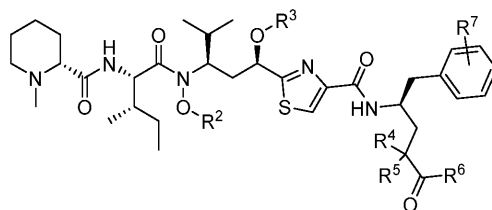


Формула I

или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой $-\text{O}-$; R^2 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил; и R^7 представляет собой $-\text{OH}$ или $-\text{NH}_2$. В формуле I в определенных вариантах осуществления полезные R^1 группы включают метил и этил. В определенных вариантах осуществления полезные R^1 группы включают пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил, децил и их конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой метил. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой этил. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой пентил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой гексил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой гептил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^1 представляет собой октил и его конституционные изомеры.

представляет собой $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$. В одном варианте осуществления $-\text{NHR}^9$ представляет собой $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$. В одном варианте осуществления индекс m равен 1. В одном варианте осуществления индекс n равен 2.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы VIII:

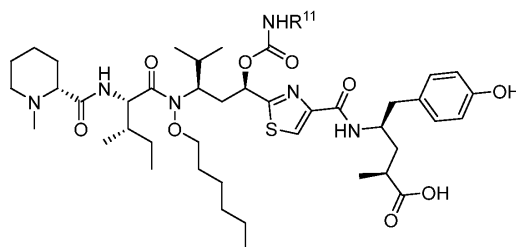


Формула VIII

или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 и R^7 соответствуют описаниям в предыдущем пункте. В одном варианте осуществления формулы VIII R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{Me}$, и R^2 , R^4 , R^5 , R^6 и R^7 соответствуют описаниям в предыдущем пункте. В одном варианте осуществления формулы VIII R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкил, и R^2 , R^4 , R^5 , R^6 и R^7 соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы I, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкил; R^4 представляет собой водород; R^5 представляет собой $\text{C}_1\text{-C}_5$ -алкил; и R^6 и R^7 представляет собой $-\text{OH}$. В определенных вариантах осуществления вышеприведенной формулы I полезные R^3 группы включают $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{Me}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{Et}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{пропил}$ и его конституционные изомеры, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{бутил}$ и его конституционные изомеры, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{пентил}$ и его конституционные изомеры, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{гексил}$ и его конституционные изомеры, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{гептил}$ и его конституционные изомеры, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{октил}$ и его конституционные изомеры, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{нонил}$ и его конституционные изомеры, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{децил}$ и его конституционные изомеры. В одном приведенном выше варианте осуществления формулы I R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{Me}$. В одном приведенном выше варианте осуществления формулы I R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{Et}$. В одном приведенном выше варианте осуществления формулы I R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{пропил}$ и его конституционные изомеры. В одном приведенном выше варианте осуществления формулы I R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{бутил}$ и его конституционные изомеры. В одном приведенном выше варианте осуществления формулы I R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{пентил}$ и его конституционные изомеры. В одном приведенном выше варианте осуществления формулы I R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{гексил}$ и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы I R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{гептил}$ и его конституционные изомеры. В одном приведенном выше варианте осуществления формулы I R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{октил}$ и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы I R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{нонил}$ и его конституционные изомеры. В одном приведенном выше варианте осуществления формулы I R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{децил}$ и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^5 представляет собой метил. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой этил. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой пентил и его конституционные изомеры.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы IX:

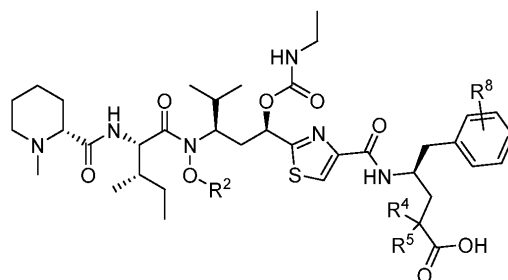


Формула IX

при этом R^{11} представляет собой $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкил; или его фармацевтически приемлемая соль. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой метил. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой этил. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой пентил и его конституционные изо-

собой -C(O)N(H)децил и его конституционные изомеры.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XI:



Формула XI

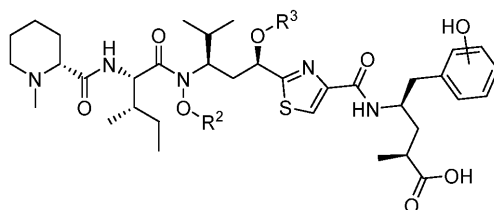
или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления R^2 , R^4 , R^5 и R^8 соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы I, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой -O-; R^2 представляет собой C_1 - C_3 -алкилен- Q^1 -(CH_2) $_n$ -арил; или C_1 - C_3 -гидроксиалкил; R^3 представляет собой -C(O) C_1 - C_5 -алкил; R^4 представляет собой водород; R^5 представляет собой C_1 - C_5 -алкил; и R^6 и R^7 представляет собой -OH. В определенных вариантах осуществления R^1 и R^8 соответствуют описаниям в вышеприведенной формуле I. В определенных вариантах осуществления R^2 представляет собой C_1 - C_3 -алкилен- Q^1 -(CH_2) $_n$ -арил и Q^1 представляет собой - CH_2 -. Соответственно, в одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2(CH_2)_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или амино, и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой

- $CH_2CH_2(CH_2)_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2(CH_2)_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2(CH_2)_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или амино, и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или амино и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В определенных вариантах осуществления R^2 представляет собой C_1 - C_3 -алкилен- Q^1 -(CH_2) $_n$ -арил и Q^1 представляет собой -O-. Соответственно, в одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2O-(CH_2)_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или амино и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2O-(CH_2)_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2O-(CH_2)_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2O-(CH_2)_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2O-(CH_2)_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или амино и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2O-(CH_2)_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2O-(CH_2)_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2O-(CH_2)_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2O-(CH_2)_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или амино и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2O-(CH_2)_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2O-(CH_2)_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2O-(CH_2)_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2OH . В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2CH_2OH . В определенных вариантах осуществления вышеприведенной формулы I полезные R^3 группы включают -C(O)Me, -C(O)Et, -C(O)пропил, -C(O)бутил и -C(O)пентил и их конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^3 представляет собой -C(O)Me. В другом варианте осуществления R^3 представляет со-

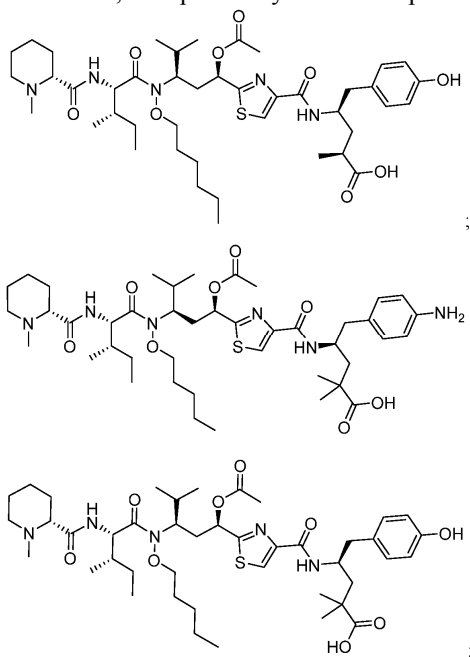
бой -C(O)Et. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой -C(O)пропил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой -C(O)бутил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой -C(O)пентил и его конституционные изомеры. В определенных вариантах осуществления вышеприведенной формулы I полезные R^5 группы включают метил, этил, пропил, бутил и пентил и их конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^5 представляет собой метил. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой этил. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой пентил и его конституционные изомеры.

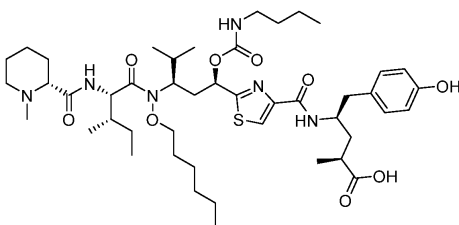
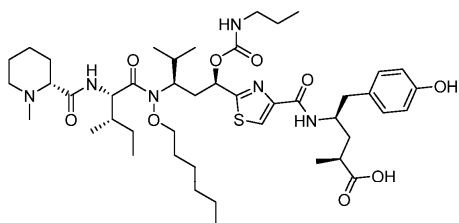
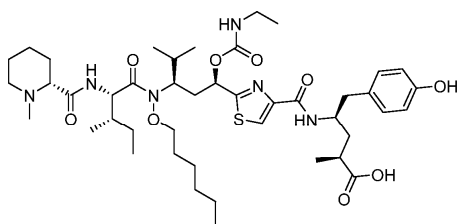
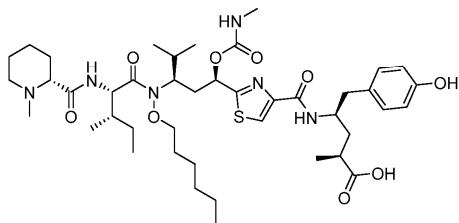
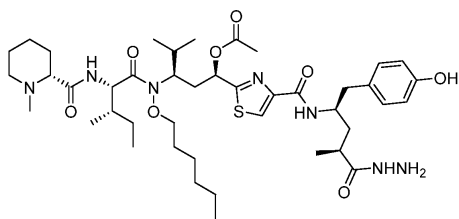
В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XII:



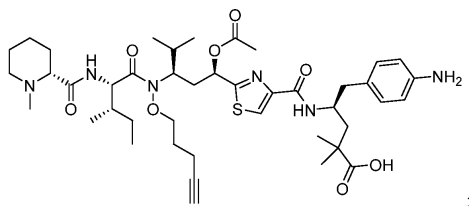
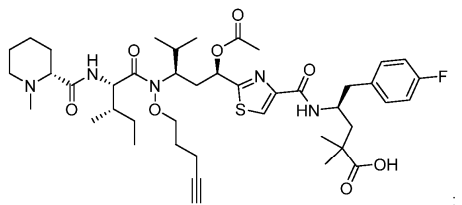
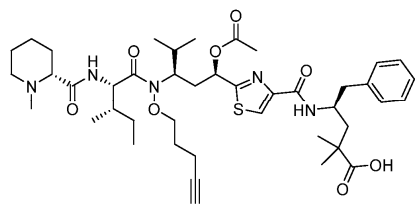
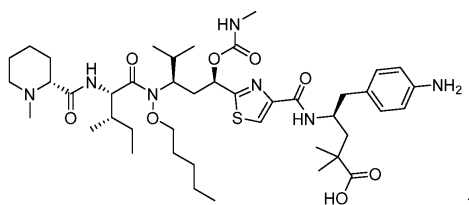
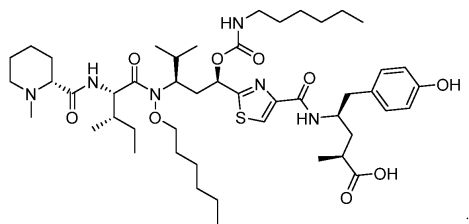
Формула XII

или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления R^2 и R^3 соответствуют описаниям в предыдущем пункте. В одном варианте осуществления формулы XII R^2 представляет собой C_1 - C_3 -алкилен-O-(CH_2) $_n$ -арил, согласно описанию в предыдущем пункте. В одном варианте осуществления формулы XII R^2 представляет собой C_1 - C_3 -гидроксиалкил, согласно описанию в предыдущем пункте. В определенных вариантах осуществления здесь представлены соединения согласно любой из формул I, VIII, IX, X, XI или XII, которые могут быть выбраны из группы, состоящей из:

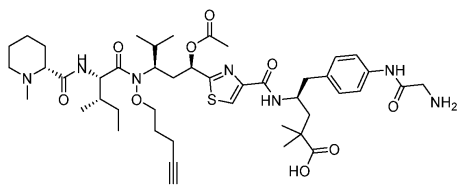
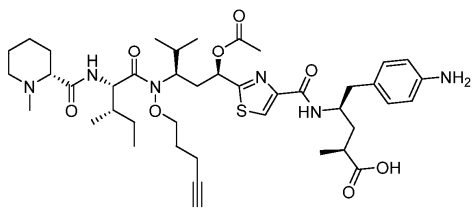
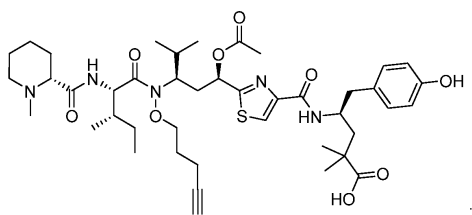
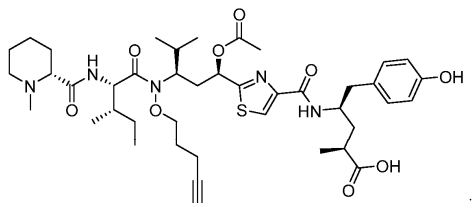
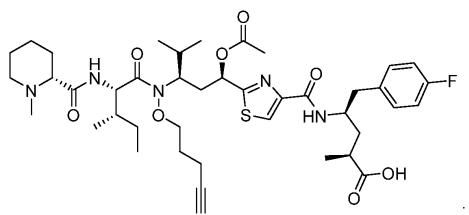


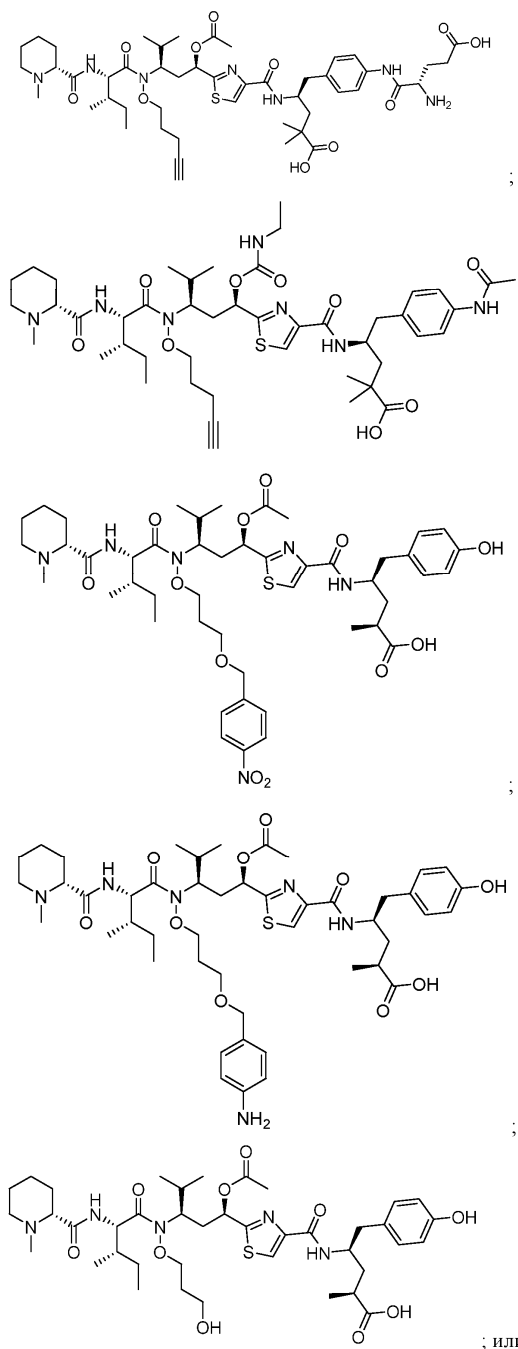


047625



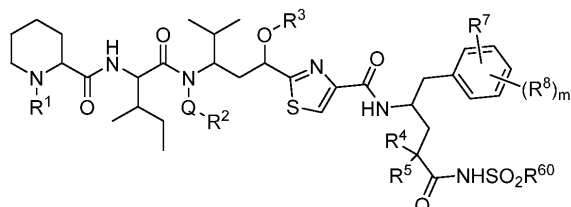
047625





их фармацевтически приемлемая соль.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XIII:

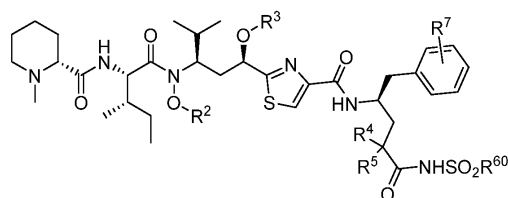


Формула XIII

или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой -O-; R² представляет собой C₁-C₁₀-алкил; и R⁷ представляет собой -OH или -NH₂. В формуле XIII в определенных вариантах осуществления полезные R¹ группы включают метил и этил. В определенных вариантах осуществления полезные R¹ группы включают пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил, децил и их конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R¹ представляет собой метил. В одном варианте осуществления R¹ представляет собой этил. В одном варианте осуществления R¹ пред-

тилена в циклогексиле замещены Z , где Z представляет собой кислород, азот или сера. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклогептил, где один или более атомов углерода метилена в циклогептиле замещены Z , где Z представляет собой кислород, азот или сера. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, представляют собой циклооктил, где один или более атомов углерода метилена в циклооктиле замещены Z , где Z представляет собой кислород, азот или сера. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII R^{60} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил. Подходящие R^{60} алкильные группы включают группы, описанные в данном пункте для R^1 , например, метил, этил и подобные. Подходящие R^{60} алкенил, алкинил, арил и гетероарил описаны в настоящем документе. Подходящие R^{60} циклоалкил и гетероциклоалкил включают циклоалкил и гетероциклоалкил, которые описаны для R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, в соответствии с описанием, приведенным в настоящем пункте. В вышеприведенной формуле XIII в одном варианте осуществления R^7 представляет собой -OH. В вышеприведенной формуле XIII в одном варианте осуществления R^7 представляет собой -NH₂. В формуле XIII в определенных приведенных выше вариантах осуществления R^8 включает водород, дейтерий, -NHR⁹ или галоген. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII R^9 представляет собой водород, -C₁-C₅-алкил или -C(O)C₁-C₅-алкил. В определенных приведенных выше вариантах осуществления формулы XIII индекс m равен 1 или 2. В одном варианте осуществления R^8 представляет собой водород. В одном варианте осуществления R^8 - дейтерий. В определенных вариантах осуществления R^8 независимо включает фтор, хлор, бром и йод. В одном варианте осуществления R^8 - фтор. В другом варианте осуществления R^8 - хлор. В другом варианте осуществления R^8 - бром. В другом варианте осуществления R^8 - йод. В одном варианте осуществления -NHR⁹ - -NH₂. В одном варианте осуществления -NHR⁹ включает -NHMe, -NHEt, -NHCH₂CH₂CH₃, -NHCH₂CH₂CH₂CH₃ и -NHCH₂CH₂CH₂CH₂CH₃. В одном варианте осуществления -NHR⁹ представляет собой -NHMe. В одном варианте осуществления -NHR⁹ представляет собой -NHEt. В одном варианте осуществления -NHR⁹ представляет собой -NHCH₂CH₂CH₃. В одном варианте осуществления -NHR⁹ представляет собой -NHCH₂CH₂CH₂CH₃. В одном варианте осуществления -NHR⁹ - -NHCH₂CH₂CH₂CH₂CH₃. В одном варианте осуществления -NHR⁹ включает -NHC(O)Me, -NHC(O)Et, -NHC(O)CH₂CH₂CH₃, -NHC(O)CH₂CH₂CH₂CH₃ и -NHC(O)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃. В одном варианте осуществления -NHR⁹ - -NHC(O)Me. В одном варианте осуществления -NHR⁹ представляет собой -NHC(O)Et. В одном варианте осуществления -NHR⁹ представляет собой -NHC(O)CH₂CH₂CH₃. В одном варианте осуществления -NHR⁹ представляет собой -NHC(O)CH₂CH₂CH₂CH₃. В одном варианте осуществления -NHR⁹ представляет собой -NHC(O)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃. В одном варианте осуществления индекс m равен 1. В одном варианте осуществления индекс m равен 2.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XX:



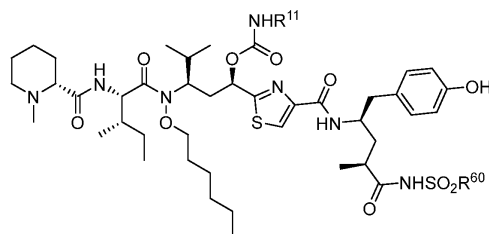
Формула XX

или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^7 и R^{60} соответствуют описаниям в предыдущем пункте. В одном варианте осуществления формулы VIII R^3 представляет собой -C(O)Me и R^2 , R^4 , R^5 , R^7 и R^{60} соответствуют описаниям в предыдущем пункте. В одном варианте осуществления формулы VIII R^3 представляет собой -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил и R^2 , R^4 , R^5 , R^7 и R^{60} соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XIII, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом R^3 представляет собой -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил; R^4 представляет собой водород или C₁-C₅-алкил; R^5 представляет собой C₁-C₅-алкил; R^7 представляет собой -OH; и R^{60} соответствует описанию в контексте формулы XIII. В определенных вариантах осуществления R^2 соответствует описанию в вышеприведенной формуле XIII. В определенных вариантах осуществления вышеприведенной формулы XIII полезные R^3 группы включают -C(O)N(H)Me, -C(O)N(H)Et, -C(O)N(H)пропил и его конституционные изомеры, -C(O)N(H)бутил и его конституционные изомеры, -C(O)N(H)пентил и его конституционные изомеры, -C(O)N(H)гексил и его конституционные изомеры, -C(O)N(H)гептил и его конституционные изомеры, -C(O)N(H)октил и его конституционные изомеры, -C(O)N(H)нонил и его конституционные изомеры, -C(O)N(H)децил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы XIII R^3 представляет собой -C(O)N(H)Me. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы XIII R^3 представляет собой -C(O)N(H)Et. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы XIII R^3

представляет собой $-C(O)N(H)$ пропил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы XIII R^3 представляет собой $-C(O)N(H)$ бутил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы XIII R^3 представляет собой $-C(O)N(H)$ пентил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы XIII R^3 представляет собой $-C(O)N(H)$ гексил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы XIII R^3 представляет собой $-C(O)N(H)$ гептил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы XIII R^3 представляет собой $-C(O)N(H)$ октил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы XIII R^3 представляет собой $-C(O)N(H)$ нонил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления вышеприведенной формулы XIII R^3 представляет собой $-C(O)N(H)$ децил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^4 представляет собой водород. В одном варианте осуществления R^4 представляет собой метил. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой этил. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой пентил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^5 представляет собой метил. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой этил. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой пентил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 представляет собой метил.

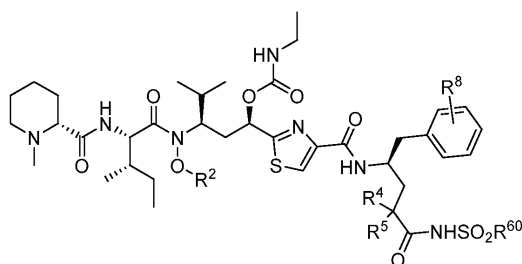
В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XXI:



Формула XXI

при этом R^{60} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил. Подходящие R^{60} алкильные группы включают группы, описанные в контексте формулы XIII для R^1 , например, метил, этил и подобные. Подходящие R^{60} алкенил, алкинил, арил и гетероарил описаны в настоящем документе. Подходящие R^{60} циклоалкил и гетероциклоалкил включают циклоалкил и гетероциклоалкил, которые описаны для R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, в соответствии с описанием в контексте формулы XIII. В определенных вариантах осуществления R^{11} представляет собой C_1 - C_{10} -алкил; или его фармацевтически приемлемая соль. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой метил. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой этил. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой пентил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой гексил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой гептил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой октил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой нонил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^{11} представляет собой децил и его конституционные изомеры.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XIII, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой $-O-$; R^2 представляет собой C_1 - C_{10} -алкинил; R^3 представляет собой $-C(O)C_1$ - C_5 -алкил; и R^{60} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил. Подходящие R^{60} алкильные группы включают группы, описанные в контексте формулы XIII для R^1 , например, метил, этил и подобные. Подходящие R^{60} алкенил, алкинил, арил и гетероарил описаны в настоящем документе. Подходящие R^{60} циклоалкил и гетероциклоалкил включают циклоалкил и гетероциклоалкил, которые описаны для R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, в соответствии с описанием в контексте формулы XIII. В определенных вариантах осуществления R^1 , R^4 , R^5 , R^7 и R^8 соответствуют описаниям в вышеприведенной формуле XIII. В одном варианте осуществления формулы XIII R^2 представляет собой $-CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы XIII R^2 представляет собой $-CH_2CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы XIII R^2 представляет собой $-CH_2CH_2CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы XIII R^2 представляет собой $-CH_2CH_2CH_2CH_2C\equiv N$. В одном варианте осуществления формулы XIII R^2 представляет собой



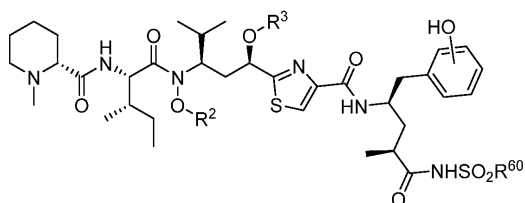
Формула XXIII

или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления R^2 , R^4 , R^5 , R^8 и R^{60} соответствуют описаниям в предыдущем пункте.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XIII, или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство, при этом Q представляет собой -O-; R^2 представляет собой C_1 - C_3 -алкилен- Q^1 -(CH_2) $_n$ -арил; или C_1 - C_3 -гидроксиалкил; R^3 представляет собой -C(O) C_1 - C_5 -алкил; R^4 представляет собой водород или C_1 - C_5 -алкил; R^5 представляет собой C_1 - C_5 -алкил; R^7 представляет собой -OH; и R^{60} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил. Подходящие R^{60} алкильные группы включают группы, описанные в контексте формулы XIII для R^1 , например, метил, этил и подобные. Подходящие R^{60} алкенил, алкинил, арил и гетероарил описаны в настоящем документе. Подходящие R^{60} циклоалкил и гетероциклоалкил включают циклоалкил и гетероциклоалкил, которые описаны для R^4 и R^5 , вместе с углеродом, к которому они присоединены, в соответствии с описанием в контексте формулы XIII. В определенных вариантах осуществления R^1 и R^8 соответствуют описаниям в вышеприведенной формуле XIII. В определенных вариантах осуществления R^2 представляет собой C_1 - C_3 -алкилен- Q^1 -(CH_2) $_n$ -арил и Q^1 представляет собой - CH_2 -. Соответственно, в одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2(CH_2)_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или amino, и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2(CH_2)_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2(CH_2)_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2(CH_2)_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или amino, и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или amino и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2CH_2(CH_2)_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В определенных вариантах осуществления R^2 представляет собой C_1 - C_3 -алкилен- Q^1 -(CH_2) $_n$ -арил и Q^1 представляет собой -O-. Соответственно, в одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2O -(CH_2) $_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или amino и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2O -(CH_2) $_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2O -(CH_2) $_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2O -(CH_2) $_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2CH_2O -(CH_2) $_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или amino и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2CH_2O -(CH_2) $_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2CH_2O -(CH_2) $_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2CH_2O -(CH_2) $_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2O$ -(CH_2) $_n$ -арил, при этом арил не замещен или замещен нитро или amino и n представляет собой целое число от 1 до 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2O$ -(CH_2) $_n$ -фенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2O$ -(CH_2) $_n$ -нитрофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2O$ -(CH_2) $_n$ -аминофенил и индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - CH_2OH . В одном варианте осуществления R^2 представляет собой - $CH_2CH_2CH_2OH$. В определенных вариантах осуществления вышеприведенной формулы XIII полезные R^3 группы включают -C(O)Me, -C(O)Et, -C(O)пропил, -C(O)бутил и -C(O)пентил и их кон-

ституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)Me$. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)Et$. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)пропил$ и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)бутил$ и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой $-C(O)пентил$ и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^4 представляет собой водород. В определенных вариантах осуществления вышеприведенной формулы I полезные R^4 группы включают метил, этил, пропил, бутил и пентил и их конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^4 представляет собой метил. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой этил. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^4 представляет собой пентил и его конституционные изомеры. В определенных вариантах осуществления вышеприведенной формулы I полезные R^5 группы включают метил, этил, пропил, бутил и пентил и их конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^5 представляет собой метил. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой этил. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой пропил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой бутил и его конституционные изомеры. В другом варианте осуществления R^5 представляет собой пентил и его конституционные изомеры. В одном варианте осуществления R^4 и R^5 представляет собой метил.

В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру формулы XXIV:



Формула XXIV

или его фармацевтически приемлемая соль. В определенных вариантах осуществления R^2 , R^3 и R^{60} соответствуют описаниям в предыдущем пункте. В одном варианте осуществления формулы XXIV R^2 представляет собой C_1 - C_3 -алкилен- O -(CH_2) $_n$ -арил, согласно описанию в предыдущем пункте. В одном варианте осуществления формулы XXIV R^2 представляет собой C_1 - C_3 -гидроксиалкил, согласно описанию в предыдущем пункте.

В любом предшествующем варианте осуществления в данном разделе R^7 представляет собой $-NR^{7a}R^{7b}$, при этом R^{7a} и R^{7b} представляет собой независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил, ацил и аминокислотный остаток, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены. В определенных вариантах осуществления R^{7a} представляет собой водород и R^{7b} представляет собой аминокислотный остаток.

Связующие агенты.

Подходящие связующие агенты для любого из представленных в настоящем описании изобретения конъюгатов включают, помимо прочего, антитела, лимфокины (например, IL-2 или IL-3), гормоны (например, инсулин и глюкокортикоиды), факторы роста (например, ЭФР, трансферрин и фибронектин типа III), вирусные рецепторы, интерлейкины или любые другие связывающиеся с клеткой или связывающиеся с пептидом молекулы или вещества. Связующие агенты также включают, помимо прочего, белки с анкириновым повтором и интерфероны.

В некоторых вариантах осуществления связующим агентом является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может быть в любой форме, известной специалистам в данной области. Термин "антитело" в контексте настоящего документа означает любую антигенсвязывающую молекулу или молекулярный комплекс, содержащий минимум одну определяющую комплементарность область (CDR), которая специфически связывается с определенным антигеном или взаимодействует с ним. Термин "антитело" включает молекулы иммуноглобулина, содержащие четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, взаимосвязанные дисульфидными связями, а также мультимеры (например, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (которая сокращается здесь как HCVR или V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена, C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (которая сокращается здесь как LCVR или V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (C_L1). Области V_H и V_L можно далее разделить на области гипервариабельности, называемые определяемыми комплементарность областями (CDR), перемежающиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца до карбокси-конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В разных представленных здесь вариан-

тах осуществления FR антител (или их антигенсвязывающей части), подходящие для представленных здесь соединений, могут быть идентичными человеческим последовательностям зародышевого типа либо могут быть естественным или искусственным образом модифицированными. Аминокислотная консенсусная последовательность может быть определена на основании параллельного анализа двух или более CDR. Термин "антитело" в контексте настоящего документа также включает антигенсвязывающие фрагменты молекул полноразмерных антител. Термины "антигенсвязывающая часть" антитела, "антигенсвязывающий фрагмент" антитела и подобные в контексте настоящего документа включают любой природный, получаемый ферментативным путем, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывается с антигеном, в результате чего образуется комплекс. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, от молекул полноразмерных антител с использованием любого подходящего стандартного метода (методов), таких как протеолитическое расщепление или метод(ы) рекомбинантной геномной инженерии, включающие манипуляции и экспрессию ДНК, кодирующей вариabельные и необязательные константные домены антитела. Такая ДНК известна и/или легкодоступна, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, например, фаговые библиотеки антител) либо может быть синтезирована. Секвенирование и манипуляции с ДНК могут осуществляться химическим образом или с использованием методов молекулярной биологии, например, для расположения одного или более вариabельных и/или константных доменов в подходящей конфигурации или для введения кодонов, создания цистеиновых остатков, изменения, добавления или удаления аминокислот и т.д. Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) Fab фрагменты; (ii) F(ab')₂ фрагменты; (iii) Fd фрагменты; (iv) Fv фрагменты; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) dAb фрагменты; и (vii) минимальные распознающие единицы, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариabельную область антитела (например, выделенную CDR, например, пептид CDR3), или пептид FR3-CDR3-FR4 с ограниченной конформационной свободой. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, антитела с привитой CDR, диатела, триатела, тетратела, минитела, нанотела (например, одновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и т.д.), иммунопрепараты на основе модульного белка с малым размером молекул (SMTP) и вариabельные домены IgNAR акул, также охватываются термином "антигенсвязывающий фрагмент" в контексте настоящего документа. Антигенсвязывающий фрагмент антитела обычно содержит минимум один вариabельный домен. Этот вариabельный домен может иметь любой размер или аминокислотный состав и обычно содержит минимум одну CDR, которая примыкает или находится в одной рамке с одной или более каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих V_H домен, связанный с V_L доменом, V_H и V_L домены могут располагаться относительно друг друга любым подходящим образом. Например, вариabельная область может быть димерной и может содержать V_H-V_H, V_H-V_L или V_L-V_L димеры. В качестве варианта антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный V_H или V_L домен. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать минимум один вариabельный домен, ковалентно связанный с минимум одним константным доменом. Неограничивающие иллюстративные конфигурации вариabельных и константных доменов, которые могут быть внутри антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему изобретению, включают: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L-C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3; и (xiv) V_L-C_L. В любой конфигурации вариabельных и константных доменов, включая любую из иллюстративных конфигураций, перечисленных выше, вариabельные и константные домены могут быть либо напрямую связаны друг с другом, либо могут быть связаны посредством полной или частичной шарнирной или линкерной области. Шарнирная область может состоять из минимум 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, в результате чего образуется гибкая или полугибкая связь между соседними вариabельными и/или константными доменами в одной полипептидной молекуле. Как в случае с молекулами полноразмерных антител, антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими). Мультиспецифический антигенсвязывающий фрагмент антитела обычно содержит минимум два разных вариabельных домена, при этом каждый вариabельный домен способен специфическим связываться с отдельным антигеном или с другим эпитопом на том же антигене. Формат мультиспецифического антитела, включая описанные здесь форматы иллюстративного биспецифического антитела, может быть приспособлен для использования в контексте антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему изобретению при помощи стандартных методов, известных в данной области. В определенных описанных здесь вариантах осуществления описанные здесь антитела являются человеческими антителами. Термин "человеческое антитело" в контексте настоящего документа включает антитела с вариabельными и константными областями, полученными от последовательностей зародышевого типа человеческого иммуноглобулина. Человеческие антитела по настоящему изобретению могут включать аминокислотные остатки, не закодированные последовательностями зародышевого типа человеческого иммуноглобулина (например, мутации, введенные посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* либо посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR и, в частности, в CDR3. Тем не ме-

нее, термин "человеческое антитело" в контексте настоящего документа не включает антитела, в которых последовательности CDR, полученные от зародышевой линии другого вида млекопитающих, например, мыши, были привиты на человеческие каркасные последовательности. Термин "человеческое антитело" не включает природные молекулы, которые естественным образом существуют без модификаций или вмешательства/манипуляций человека в природном немодифицированном живом организме. Описанные здесь антитела могут в некоторых вариантах осуществления быть рекомбинантными человеческими антителами. Термин "рекомбинантное человеческое антитело" в контексте настоящего документа включает все человеческие антитела, которые подготавливаются, экспрессируются, создаются или выделяются рекомбинантными средствами, например, антитела, экспрессированные при помощи рекомбинантного вектора экспрессии, который трансфицируется в клетку-хозяина (описывается далее), антитела, выделенные из комбинаторной библиотеки рекомбинантных человеческих антител (описывается далее), антитела, выделенные из животного (например, мыши), трансгенного для генов человеческого иммуноглобулина (см., например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, которые подготавливаются, экспрессируются, создаются или выделяются любыми другими способами, которые включают сайлинг последовательностей гена человеческого иммуноглобулина в другие последовательности ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют переменные и константные области, полученные из последовательностей зародышевого типа человеческого иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления, тем не менее, такие рекомбинантные человеческие антитела подвергаются *in vitro* мутагенезу (или, если применяется животное, трансгенное для последовательностей человеческого Ig, *in vivo* соматическому мутагенезу), и, таким образом, аминокислотные последовательности V_H и V_L областей рекомбинантных антител представляет собой последовательности, которые, будучи полученными от последовательностей V_H и V_L человеческой зародышевой линии и связанными с ними, не могут существовать естественным образом в зародышевом наборе антитела человека *in vivo*. Человеческие антитела могут существовать в двух формах, которые ассоциируются с гетерогенностью шарнира. В одной форме молекула иммуноглобулина содержит устойчивую четырехцепьевую конструкцию приблизительно 150-160 кДа, в которой димеры удерживаются вместе межцепевой дисульфидной связью тяжелых цепей. Во второй форме димеры не связываются межцепевыми дисульфидными связями, и образуется молекула около 75-80 кДа, состоящая из ковалентно связанных легкой и тяжелой цепей (полу-антитело). Ранее эти формы было чрезвычайно сложно разделить, даже после аффинной очистки. Частота появления второй формы в различных интактных изоформах IgG обусловлена, помимо прочего, структурными различиями, связанными с изоформой шарнирной области антитела. Единичная аминокислотная замена в шарнирной области шарнира человеческого IgG4 может значительным образом снизить частоту появления второй формы (Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30:105) до уровней, обычно наблюдаемых при использовании шарнира человеческого IgG1. Настоящее изобретение охватывает антитела, имеющие одну или более мутаций в шарнире, области C_H2 или C_H3 , которые могут быть желательными, например, в производстве для улучшения выхода желаемой формы антитела. Описанные здесь антитела могут быть выделенными антителами. "Выделенное антитело" в контексте настоящего документа означает антитело, которое определили и отделили и/или изолировали от минимум одного компонента его естественной среды. Например, антитело, которое отделили или удалили из минимум одного компонента организма или из ткани или клетки, в которых антитело существует естественным образом или производится естественным образом, является "выделенным антителом" в целях настоящего изобретения. Выделенное антитело также включает антитело *in situ* в рекомбинантной клетке. Выделенные антитела представляет собой антитела, которые подвергли минимум одному этапу очистки или выделения. Согласно определенным вариантам осуществления, выделенное антитело может, в сущности, не иметь другого клеточного материала и/или химических веществ. Используемые здесь антитела могут содержать одну или более аминокислотных замен, вставок и/или делеций в каркасной и/или CDR областях переменных доменов тяжелой и легкой цепей в сравнении с соответствующими последовательностями зародышевого типа, от которых были получены эти антитела. Такие мутации можно легко определить посредством сравнения описанных здесь аминокислотных последовательностей с последовательностями зародышевого типа, доступными, например, в общедоступных базах данных последовательностей антител. Настоящее изобретение включает антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, полученные от любых описанных здесь аминокислотных последовательностей, при этом одна или более аминокислот в одной или более каркасных и/или CDR областях мутированы в соответствующий остаток (остатки) последовательности зародышевого типа, от которой было получено антитело, или в соответствующий остаток (остатки) другой последовательности зародышевого типа человека, или в консервативную аминокислотную замену соответствующего остатка (остатков) зародышевой линии (такие изменения последовательностей называются здесь в совокупности "герминативные мутации"). Специалист в данной области, начиная с описанных здесь последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей, может легко получать множество антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые содержат одну или более отдельных герминативных мутаций или их комбинации. В определенных вариантах осуществления все каркасные и/или CDR остатки в V_H и/или V_L доменах мутированы обратно в остатки, присутствующие в первоначальной последовательности зародышевого типа, от которой было получено антитело. В других

вариантах осуществления только определенные остатки мутированы обратно в первоначальную последовательность зародышевого типа, например, только мутированные остатки, присутствующие в первых 8 аминокислотах FR1 или в последних 8 аминокислотах FR4, или только мутированные остатки, присутствующие в CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления один или более каркасных и/или CDR остатков мутированы в соответствующий остаток (остатки) другой последовательности зародышевого типа (т.е. последовательности зародышевого типа, которая отличается от последовательности зародышевого типа, от которой антитело было получено изначально). Также антитела по настоящему изобретению могут содержать любую комбинацию двух или более герминативных мутаций в каркасной и/или CDR областях, например, в которых определенные отдельные остатки мутированы в соответствующий остаток конкретной последовательности зародышевого типа, а определенные другие остатки, которые отличаются от исходной последовательности зародышевого типа, сохранены или мутированы в соответствующий остаток другой последовательности зародышевого типа. После получения антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или более герминативных мутаций, можно легко проверить на одно или более желаемых свойств, таких как улучшенная специфичность связывания, повышенная аффинность связывания, улучшенные или усиленные антагонистические или агонистические биологические свойства (в зависимости от ситуации), пониженная иммуногенность и т.д. Настоящее изобретение охватывает антитела и антигенсвязывающие фрагменты, полученные таким общим образом. Антитела, полезные для описанных здесь соединений, также включают антитела, содержащие варианты любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, описанных здесь, с одной или более консервативными заменами. Термин "эпитоп" означает антигенную детерминанту, которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим сайтом в варибельной области молекулы антитела, известным как паратоп. Один антиген может иметь более одного эпитопа. Таким образом, разные антитела могут связываться с разными областями на антигене и могут иметь разное биологическое действие. Эпитопы могут быть конформационными или линейными. Конформационный эпитоп производится пространственно рядом расположенными аминокислотами из разных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, созданный соседними аминокислотными остатками в полипептидной цепи. В определенных обстоятельствах эпитоп может включать группы сахаридов, фосфорильные группы или сульфонильные группы на антигене.

В определенных вариантах осуществления антитело содержит легкую цепь. В определенных вариантах осуществления такая легкая цепь представляет собой легкая цепь каппа. В определенных вариантах осуществления такая легкая цепь представляет собой легкая цепь лямбда. В определенных вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgA. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgD. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgE. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgG. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgM. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgG1. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgG2. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgG3. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgG4. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgA1. В некоторых вариантах осуществления такая тяжелая цепь представляет собой IgA2.

В некоторых вариантах осуществления антитело является фрагментом антитела. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела является Fv фрагментом. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела является Fab фрагментом. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела является F(ab')₂ фрагментом. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела является Fab' фрагментом. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела является scFv (sFv) фрагментом. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела является scFv-Fc фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитело является моноклональным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело является поликлональным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело является биспецифическим антителом, включающим первый антигенсвязывающий домен (также называемый здесь "D1") и второй антигенсвязывающий домен (также называемый здесь "D2").

В контексте настоящего документа выражение "антигенсвязывающий домен" означает любой пептид, полипептид, молекулу нуклеиновой кислоты, молекулу каркасного типа, пептидную дисплейную молекулу или полипептид-содержащую конструкцию, способную специфически связываться с определенным представляющим интерес антигеном (например, PRLR или STEAP2). Термин "специфически связывается" или подобные в контексте настоящего документа означает, что антигенсвязывающий домен образует комплекс с определенным антигеном, характеризуемым константой диссоциации (K_D) в 1 μ M или менее, и не связывается с другими неродственными антигенами в обычных условиях анализа. "Неродственные антигены" представляет собой белки, пептиды или полипептиды с идентичностью аминокислот по отношению друг к другу менее 95%.

Иллюстративные категории антигенсвязывающих доменов, которые могут использоваться в кон-

тексте настоящего описания изобретения, включают антитела, антигенсвязывающие части антител, пептиды, которые специфически взаимодействуют с определенным антигеном (например, пептидела), рецепторные молекулы, которые специфически взаимодействуют с определенным антигеном, белки, содержащие лигандсвязывающую часть рецептора, который специфически связывается с определенным антигеном, антигенсвязывающие скаффолды (например, дарпины, белки с HEAT-повторами, белки с ARM-повторами, белки с тетратрикопептидными повторами и другие скаффолды, основанные на природных белках с повторами и т.д., [см., например, Voersma and Pluckthun, 2011, Curr. Opin. Biotechnol. 22:849-857, и указанную там справочную литературу]), и их аптамеры или части.

Способы для определения того, связываются ли две молекулы друг с другом специфически, хорошо известны в данной области и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и подобные. Например, антигенсвязывающий домен, используемый в контексте настоящего описания изобретения, включает полипептиды, которые связываются с определенным антигеном (например, целевая молекула [Т] или белок, связывающий эффектор интернализации [Е]), или его частью с K_D менее чем около 1 μM , менее чем около 500 нМ, менее чем около 250 нМ, менее чем около 125 нМ, менее чем около 60 нМ, менее чем около 30 нМ, менее чем около 10 нМ, менее чем около 5 нМ, менее чем около 2 нМ, менее чем около 1 нМ, менее чем около 500 пК, менее чем около 400 пМ, менее чем около 300 пМ, менее чем около 200 пМ, менее чем около 100 пМ, менее чем около 90 пМ, менее чем около 80 пМ, менее чем около 70 пМ, менее чем около 60 пМ, менее чем около 50 пМ, менее чем около 40 пМ, менее чем около 30 пМ, менее чем около 20 пМ, менее чем около 10 пМ, менее чем около 5 пМ, менее чем около 4 пМ, менее чем около 2 пМ, менее чем около 1 пМ, менее чем около 0,5 пМ, менее чем около 0,2 пМ, менее чем около 0,1 пМ, или менее чем около 0,05 пМ, по результатам измерений методом плазмонного поверхностного резонанса.

В некоторых вариантах осуществления антитело является химерным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело является человеческим антителом.

В некоторых вариантах осуществления антитело является анти-PSMA, анти-PRLR, анти-MUC16, анти-HER2 или анти-EGFRvIII или анти-STEAP2 антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело является анти-PRLR или анти-HER2 антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой анти-STEAP2. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой анти-PRLR.

Антитело может иметь специфичность связывания с любым антигеном, который специалисты в данной области считают подходящим. В определенных вариантах осуществления антиген является трансмембранной молекулой (например, рецептором). В одном варианте осуществления антиген экспрессируется в опухоли. В некоторых вариантах осуществления связывающие агенты взаимодействуют или связываются с опухолевыми антигенами, включая антигены, специфические к типу опухоли, или антигены, которые являются общими, сверхэкспрессируются или модифицируются в опухоли определенного типа. В одном варианте осуществления антиген экспрессируется на солидных опухолях. Примеры антигенов включают, помимо прочего, липопротеины; альфа-антитрипсин; цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный антиген (CTLA), например, CTLA-4; фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF); рецепторы для гормонов или факторов роста; белок А или D; рецептор 2 фактора роста фибробластов (FGFR2), EpCAM, GD3, FLT3, PSMA, PSCA, MUC1, MUC16, STEAP, STEAP2, CEA, TENB2, EphA рецепторы, EphB рецепторы, рецептор фолиевой кислоты, FOLR1, мезотелин, крипто, альфа ν бета 6, интегрины, VEGF, VEGFR, EGFR, трансферриновый рецептор, IRTA1, IRTA2, IRTA3, IRTA4, IRTA5; CD белки, такие как CD2, CD3, CD4, CD5, CD6, CD8, CD11, CD14, CD19, CD20, CD21, CD22, CD25, CD26, CD28, CD30, CD33, CD36, CD37, CD38, CD40, CD44, CD52, CD55, CD56, CD59, CD70, CD79, CD80, CD81, CD103, CD105, CD134, CD137, CD138, CD152 или антитело, которое связывается с одним или более опухолеассоциированных антигенов или рецепторами клеточной поверхности, описанными в Публикации США № 2008/0171040 или Публикации США № 2008/0305044, содержание каждой из которых полностью включается в настоящий документ посредством ссылки; эритропоэтин; остеиндуктивные факторы; иммунотоксины; костный морфогенетический белок (BMP); Т-клеточные рецепторы; поверхностные мембранные белки; интегрины, такие как CD11a, CD11b, CD11c, CD18, ICAM, VLA-4 и VCAM; опухолеассоциированный антиген, такой как AFP, ALK, B7H4, BAGE белки, β -катенин, bcr-abl, BRCA1, BORIS, CA9 (угольная ангидраза IX), каспаза-8, CD20, CD40, CD123, CDK4, CEA, CLEC12A, c-kit, cMET, CTLA4, циклин-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, эндоглин, молекула клеточной адгезии эпителия, EphA2, ErbB2/Her2, ErbB3/Her3, ErbB4/Her4, ETV6-AML, Fra-1, FOLR1, GAGE белки, GD2, GD3, GloboH, глипикан-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/EBNA1, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IGF1R, LGR5, LMP2, MAGE белки, MART-1, мезотелин, ML-IAP, Muc1, Muc16, CA-125, MUM1, NA17, NGEP, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PDGFR- α , PDGFR- β , PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D, PLAC1, PRLR, PRAME, PSCA, PSGR, PSMA (FOLH1), RAGE белки, Ras, RGS5, Rho, SART-1, SART-3, Steap-1, Steap-2, STn, сурвивин, TAG-72, TGF- β , TMPRSS2, Tn, TNFRSF17, TRP-1, TRP-2, тирозиназа и уроплакин-3 и фрагменты любых из перечислен-

ных выше полипептидов; экспрессируемые клеточной поверхностью антигены; MUC16; c-MET; молекулы, такие как скавенджер-рецепторы класса А, включая скавенджер-рецептор А (SR-A), и другие мембранные белки, такие как член, связанный с семейством В7, включая белок VSIG4, рецептор колоние-стимулирующего фактора 1 (CSF1R), асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR) и белок, подобный белку-предшественнику бета-амилоида 2 (APLP-2). В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой PRLR или HER2. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой STEAP2. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой человеческий STEAP2. В некоторых примерах MAGE белки выбираются из MAGE-1, -2, -3, -4, -6 и -12. В некоторых примерах GAGE белки выбираются из GAGE-1 и GAGE-2.

Примеры антигенов также включают, помимо прочего, BCMA, SLAMF7, GPNMB и UPK3A. Примеры антигенов также включают, помимо прочего, MUC16, STEAP2 и HER2.

В некоторых вариантах осуществления антигены включают MUC16. В некоторых вариантах осуществления антигены включают STEAP2. В некоторых вариантах осуществления антигены включают PSMA. В некоторых вариантах осуществления антигены включают HER2. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой пролактиновый рецептор (PRLR) или простатспецифический мембранный антиген (PSMA). В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой MUC16. В некоторых вариантах осуществления антигены включают PSMA. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой HER2. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой STEAP2.

В определенных вариантах осуществления антитело содержит глутаминовый остаток в одной или более позициях тяжелой цепи под номером 295 в системе нумерации EU. В настоящем описании изобретения данная позиция называется глутамин 295, или Gln295, или Q295. Специалистам в данной области известно, что это консервативный глутаминовый остаток в последовательности дикого типа многих антител. В других полезных вариантах осуществления антитело может быть изменено и может включать глутаминовый остаток. В определенных вариантах осуществления антитело содержит одну или более мутаций N297Q. Методы изменения последовательности антитела для включения глутаминового остатка известны специалистам в данной области (см., например, Ausubel et al. *Current Protoc. Mol. Biol.*).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с линкер-нагрузкой или нагрузкой, могут быть антителом, нацеленным на STEAP2. Подходящие антитела к STEAP2 или их антигенсвязывающие фрагменты включают, например, антитела и их антиген-связывающие фрагменты в Международной публикации № WO 2018/058001 A1, включая антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие аминокислотные последовательности, описанные в табл. 1 на странице 75 указанной публикации. В некоторых вариантах осуществления антитело к STEAP2 представляет собой H1H7814N WO 2018/058001 A1, содержащее CDRH1M7814N в этой же публикации. В некоторых вариантах осуществления антитело к STEAP2 содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR)-1, содержащую SEQ ID № 2; HCDR2, содержащую SEQ ID № 3; HCDR3, содержащую SEQ ID № 4; определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR)-1, содержащую SEQ ID № 6; LCDR2, содержащую SEQ ID № 7; и LCDR3, содержащую SEQ ID № 8. В некоторых вариантах осуществления антитело к STEAP2 содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую SEQ ID № 1, и вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую SEQ ID № 5. В любом из предшествующих вариантов осуществления антитело к STEAP2 можно получить посредством сайт-направленного мутагенеза для вставки глутаминового остатка в сайт без нарушения функции или связывания антитела. Например, в любом из предшествующих вариантов осуществления антитело к STEAP2 может содержать мутацию Asn297Gln (N297Q). Такие антитела с мутацией N297Q также могут содержать один или более дополнительных природных глутаминовых остатков в своих вариабельных областях, которые могут быть доступными для трансглутаминазы и, следовательно, способными к конъюгации с нагрузкой или линкер-нагрузкой (табл. А). В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) в аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи (HCVR) SEQ ID № 1; и три определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) в аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи (LCVR) SEQ ID № 5. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотную последовательность HCVR SEQ ID № 1 и аминокислотную последовательность LCVR SEQ ID № 5. Международная публикация № WO 2018/058001 A1 настоящим полностью включается в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с линкер-нагрузкой или нагрузкой, могут быть антителом, нацеленным на человеческий пролактиновый рецептор (PRLR). Подходящие антитела к PRLR или их антигенсвязывающие фрагменты включают антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, например, описанные в Международной публикации № WO 2015/026907 A1, включая антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие аминокислотные последовательности, описанные в табл. 1 на странице 36 указанной публикации. В некоторых вариантах осуществления антитело к PRLR представляет собой H1H6958N2 по WO 2015/026907

A1, содержащее CDR H2M6958N2 в той же публикации. В некоторых вариантах осуществления антитело к PRLR содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR)-1, содержащую SEQ ID №10; HCDR2, содержащую SEQ ID №11; HCDR3, содержащую SEQ ID №12; определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR)-1, содержащую SEQ ID № 14; LCDR2, содержащую SEQ ID № 15; и LCDR3, содержащую SEQ ID № 16. В некоторых вариантах осуществления антитело к PRLR содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую SEQ ID № 9, и вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую SEQ ID № 13. В любом из предшествующих вариантов осуществления антитело к PRLR можно получить посредством сайт-направленного мутагенеза для вставки глутаминового остатка в сайт без нарушения функции или связывания антитела. Например, в любом из предшествующих вариантов осуществления антитело к PRLR может содержать мутацию Asn297Gln (N297Q). Такие антитела с мутацией N297Q также могут содержать один или более дополнительных природных глутаминовых остатков в своих вариабельных областях, которые могут быть доступными для трансклутаминазы и, следовательно, способными к конъюгации с нагрузкой или линкер-нагрузкой (таблица А). В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три определяющие комплементарности области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) в аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи (HCVR) SEQ ID № 9; и три определяющие комплементарности области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) в аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи (LCVR) SEQ ID № 13. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотную последовательность HCVR SEQ ID № 9 и аминокислотную последовательность LCVR SEQ ID № 13. Международная публикация № WO 2015/026907 A1 настоящим полностью включается в данный документ посредством ссылки.

Таблица А

Последовательности примеров антител H1H7814N (к STEAP2) и H1H6958N2 (к PRLR)

<u>SEQ ID №</u>	<u>Молекула / Антитело</u>	<u>Область</u>	<u>Последовательность</u>
1	H1H7814N	HCVR	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTISSYGMNWVRQAPG KGLEWVAVISYDGGNKYSVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDSAVYYCARGRYFDLWGRGTLTVSS
2	H1H7814N	HCDR1	GFTISSYG
3	H1H7814N	HCDR2	ISYDGGNK
4	H1H7814N	HCDR3	ARGRYFDL
5	H1H7814N	LCVR	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGR APNLLISKASSLKSGVPSRFRSGSGSGTEFTLTVSSSLQPDDFA TYYCQQYYSYSYTFGQGTKLEIK
6	H1H7814N	LCDR1	QSISSW
7	H1H7814N	LCDR2	KAS
8	H1H7814N	LCDR3	QQYYSYSYT

9	H1H6958N2	HCVR	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCGASGFTFRNYGMQWVRQGGPG KGLEWVTLISFDGNDKYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMN SLRTEDTAVYYCARGGDFDYWGQGLVTVSS
10	H1H6958N2	HCDR1	GFTFRNYG
11	H1H6958N2	HCDR2	ISFDGNDK
12	H1H6958N2	HCDR3	ARGGDFDY
13	H1H6958N2	LCVR	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIRKDLGWYQQKPGK APKRLIYAASSLHSGVPSRFRSGSGTEFTLTISLQPEDFA TYYCLQHNSYPMYTFGQGTKLEIK
14	H1H6958N2	LCDR1	QDIRKD
15	H1H6958N2	LCDR2	AAS
16	H1H6958N2	LCDR3	LQHNSYPMY
17	hPRLR ecto- MMH		MHRPRRRGTRPPPLALLAALLLAARGADAQLPPGKPEIFKCR SPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSPTYHREGETLMHECPDYI TGGPNSCHFGKQYTSMWRTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDV TYIVQPDPPLELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLKTGW FTLLYEIRLKPEKAAEWEIHAFAGQQTEFKILSLHPGQKYLQV VRCKPDHGYWSAWSPATFIQIPSDFTMNDEQKLISEEDLGGE QKLISEEDLHHHHHH

В настоящем описании изобретения представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие HCVR, содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей HCVR, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие LCVR, содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей LCVR, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие пару аминокислотных последовательностей HCVR и LCVR (HCVR/LCVR), содержащую любую из аминокислотных последовательностей HCVR, указанных в табл. А, в паре с любой из аминокислотных последовательностей LCVR, указанных в табл. А. Согласно определенным вариантам осуществления, в данном описании изобретения представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, содержащуюся в любом из примеров антител к STEAP2, указанных в табл. А. В определенных вариантах осуществления эта пара аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR выбирается из группы, состоящей из 250/258; что описано в Международной публикации № WO 2018/058001 A1, содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей HCDR1, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие CDR2 тяжелой цепи (HCDR2), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей HCDR2, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие CDR3 тяжелой цепи (HCDR3), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей HCDR3, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие

фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие CDR1 легкой цепи (LCDR1), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей LCDR1, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие CDR2 легкой цепи (LCDR2), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей LCDR2, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие CDR3 легкой цепи (LCDR3), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей LCDR3, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие пару аминокислотных последовательностей HCDR3 и LCDR3 (HCDR3/LCDR3), содержащую любую из аминокислотных последовательностей HCDR3, указанных в табл. А, в паре с любой из аминокислотных последовательностей LCDR3, указанных в табл. А. Согласно определенным вариантам осуществления, в данном описании изобретения представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие пару аминокислотных последовательностей HCDR3/LCDR3, содержащуюся в любом из примеров антител к STEAP2, указанных в табл. А. В определенных вариантах осуществления эта пара аминокислотных последовательностей HCDR3/LCDR3 выбирается из группы, состоящей из 256/254; что описано в Международной публикации № WO 2018/058001 A1, содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие набор из шести CDR (т.е. HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3), содержащийся в любом из примеров антител к STEAP2, указанных в табл. А. В определенных вариантах осуществления набор аминокислотных последовательностей HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 выбирается из группы, состоящей из: 252-254-256-260-262-264; что описано в Международной публикации № WO 2018/058001 A1, содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки.

В сходном варианте осуществления в настоящем описании изобретения представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие набор из шести CDR (т.е. HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3), содержащийся в паре аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, что определяется любым из примеров антител к STEAP2, указанных в табл. А. Например, настоящее изобретение включает антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с STEAP2, содержащие набор аминокислотных последовательностей HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3, содержащийся в паре аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбираемой из группы, состоящей из 250/258; что описано в Международной публикации № WO 2018/058001 A1, содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки. Способы и методы определения CDR в аминокислотных последовательностях HCVR и LCVR хорошо известны в данной области и могут применяться для определения CDR в описанных здесь определенных аминокислотных последовательностях HCVR и/или LCVR. Типовые определения, которые могут использоваться для определения границ CDR, включают, например, определение по Кабату (Kabat), определение по Чотиа (Chothia) и определение AbM. В общем, определение по Кабату основано на вариабельности последовательностей, определение по Чотиа основано на местоположении структурных петлевых областей, а определение AbM представляет собой компромисс между подходами Кабата и Чотиа. См., например, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., J. Mol. Biol. 273:927-948 (1997); и Martin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272 (1989). Также имеются общедоступные базы данных для определения последовательностей CDR в антителе.

В настоящем описании изобретения представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие HCVR, содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей HCVR, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие LCVR, содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей LCVR, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие пару аминокислотных последовательностей HCVR и LCVR (HCVR/LCVR), содержащую любую из аминокислотных последовательностей HCVR, указанных в табл. А, в паре с любой из аминокислотных последовательностей LCVR, указанных в табл. А. Согласно определенным вариантам осуществления, в данном описании изобретения представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, содержащуюся в любом из примеров антител к PRLR, указанных в табл. А. В определенных вариантах осуществления эта пара аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR выбирается из группы, состоящей из 18/26; 66/74; 274/282; 290/298; и 370/378; что описано в Международной публикации № WO 2015/026907 А1, содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любой из аминокислотных последовательностей HCDR1, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие CDR2 тяжелой цепи (HCDR2), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей HCDR2, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие CDR3 тяжелой цепи (HCDR3), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей HCDR3, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие CDR1 легкой цепи (LCDR1), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей LCDR1, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие CDR2 легкой цепи (LCDR2), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей LCDR2, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие CDR3 легкой цепи (LCDR3), содержащую аминокислотную последовательность, выбираемую из любых аминокислотных последовательностей LCDR3, указанных в табл. А, или по существу аналогичную ей последовательность с идентичностью последовательностей минимум 90%, минимум 95%, минимум 98% или минимум 99%.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие пару аминокислотных последовательностей HCDR3 и LCDR3 (HCDR3/LCDR3), содержащую любую из аминокислотных последовательностей HCDR3, указанных в табл. А, в паре с любой из аминокислотных последовательностей LCDR3, указанных в табл. А. Согласно определенным вариантам осуществления, в данном описании изобретения представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие пару аминокислотных последовательностей HCDR3/LCDR3, содержащуюся в любом из примеров антител к PRLR, указанных в табл. А. В определенных вариантах осуществления эта пара аминокислотных последовательностей HCDR3/LCDR3 выбирается из группы, состоящей из 24/32; 72/80; 280/288; 296/304; и 376/384; что описано в Международной публикации № WO 2015/026907 А1, содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки.

В настоящем описании изобретения также представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие набор из шести CDR (т.е. HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3), содержащийся в любом из примеров антител к PRLR, указанных в табл. А. В определенных вариантах осуществления набор аминокислотных последовательностей HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 выбирается из группы, состоящей из 20-22-24-28-30-32; 68-70-72-76- 78-80; 276-278-280-284-286-288; 292-294-296-300-302-304; и 372-374-376-380-382-384; что описано в Международной публикации № WO 2015/026907 А1, содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки.

В сходном варианте осуществления в настоящем описании изобретения представлены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие набор из

шести CDR (т.е. HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3), содержащийся в паре аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, что определяется любым из примеров антител к PRLR, указанных в табл. А. Например, настоящее изобретение включает антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с PRLR, содержащие набор аминокислотных последовательностей HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3, содержащийся в паре аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбираемой из группы, состоящей из 18/26; 66/74; 274/282; 290/298; и 370/378; что описано в Международной публикации № WO 2015/026907 A1, содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки. Способы и методы определения CDR в аминокислотных последовательностях HCVR и LCVR хорошо известны в данной области и могут применяться для определения CDR в описанных здесь определенных аминокислотных последовательностях HCVR и/или LCVR. Типовые определения, которые могут использоваться для определения границ CDR, включают, например, определение по Кабату (Kabat), определение по Чотиа (Chothia) и определение AbM. В общем, определение по Кабату основано на вариативности последовательностей, определение по Чотиа основано на местоположении структурных петлевых областей, а определение AbM представляет собой компромисс между подходами Кабата и Чотиа. См., например, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., J. Mol. Biol. 273:927-948 (1997); и Martin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272 (1989). Также имеются общедоступные базы данных для определения последовательностей CDR в антителе.

Линкеры связывающего агента могут связываться со связывающим агентом, например, антителом или антигенсвязывающей молекулой, через присоединение на определенной аминокислоте в антителе или антигенсвязывающей молекуле. Примеры аминокислотных присоединений, которые могут применяться в контексте данного варианта осуществления изобретения, включают, например, лизин (см., например, US 5,208,020; US 2010/0129314; Hollander et al., Bioconjugate Chem., 2008, 19:358-361; WO 2005/089808; US 5,714,586; US 2013/0101546; и US 2012/0585592), цистеин (см., например, US 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; US 2013/0101546; и US 7,750,116), селеноцистеин (см., например, WO 2008/122039; и Hofer et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2008, 705:12451-12456), формилглицин (см., например, Carrico et al., Nat. Chem. Biol., 2007, 3:321-322; Agarwal et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2013, 770:46-51, и Rabuka et al., Nat. Protocols, 2012, 70:1052-1067), неприродные аминокислоты (см., например, WO 2013/068874 и WO 2012/166559) и кислые аминокислоты (см., например, WO 2012/05982). Линкеры также могут быть конъюгированы с антигенсвязывающим белком через присоединение к углеводам (см., например, US 2008/0305497, WO 2014/065661 и Ryan et al., Food & Agriculture Immunol., 2001, 73:127-130).

В некоторых примерах связывающий агент является антителом или антигенсвязывающей молекулой, и антитело связывается с линкером через лизиновый остаток. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающая молекула связываются с линкером через цистеиновый остаток.

Линкеры также могут быть конъюгированы с одним или более глутаминовыми остатками посредством хемоферментативной конъюгации на основе транслгутаминазы (см., например, Dennler et al., Bioconjugate Chem. 2014, 25, 569-578). Например, в присутствии транслгутаминазы один или более глутаминовых остатков антитела могут связываться с первичным аминным соединением. Первичные аминные соединения включают, например, нагрузки или линкер-нагрузки, которые напрямую дают конъюгаты антитело-лекарственное средство посредством опосредованного транслгутаминазой связывания. Первичные аминные соединения также включают линкеры и спейсеры, которые функционализованы реакционноспособными группами, которые в последующем могут вступать в реакцию с другими соединениями по направлению к синтезу конъюгатов антитело-лекарственное средство. Антитела, содержащие глутаминовые остатки, могут быть выделены из природных источников или изменены таким образом, чтобы они содержали один или более глутаминовых остатков. Методы для включения глутаминовых остатков в полипептидную цепь антитела (глутаминил-модифицированные антитела или антигенсвязывающие молекулы) известны специалистам в данной области. В определенных вариантах осуществления антитело является агликозилированным.

В определенных вариантах осуществления антитело или глутаминил-модифицированное антитело или антигенсвязывающая молекула содержат минимум один глутаминовый остаток минимум в одной последовательности полипептидной цепи. В определенных вариантах осуществления антитело или глутаминил-модифицированное антитело или антигенсвязывающая молекула содержат два полипептида с тяжелой цепью, каждый из них с одним остатком Gln295 или Q295. В дальнейших вариантах осуществления антитело или глутаминил-модифицированное антитело или антигенсвязывающая молекула содержат один или более глутаминовых остатков в участке, кроме 295 тяжелой цепи. Сюда включаются антитела согласно данному разделу, имеющие описанную здесь мутацию (мутации) N297Q.

Первичные аминные соединения.

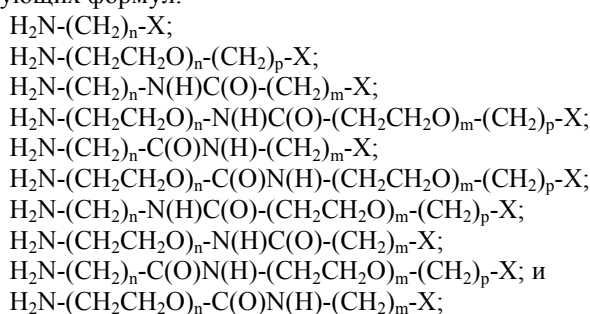
В определенных вариантах осуществления первичные аминные соединения, полезные для опосредованного транслгутаминазой связывания антитела (или антигенсвязывающего соединения), содержащие глутамин, могут быть любым первичным аминным соединением, которое специалист в данной области считает полезным. В общем, первичное аминное соединение имеет формулу H_2N-R , где R может быть

любой группой, совместимой с антителом и условиями реакции. В определенных вариантах осуществления R представляет собой алкил, замещенный алкил, гетероалкил или замещенный гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления первичное аминное соединение содержит реакционноспособную группу или защищенную реакционноспособную группу. Полезные реакционноспособные группы включают азиды, алкины, циклоалкины, тиолы, спирты, кетоны, альдегиды, карбоновые кислоты, эфиры, амиды, гидразиды, анилины и амины. В определенных вариантах осуществления реакционноспособная группа выбирается из группы, состоящей из азида, алкина, сульфгидрила, циклоалкина, альдегида и карбоксила.

В определенных вариантах осуществления первичное аминное соединение соответствует формуле $H_2N-LL-X$, где LL представляет собой двухвалентный спейсер и X представляет собой реакционноспособную группу или защищенную реакционноспособную группу. В конкретных вариантах осуществления LL представляет собой двухвалентная полиэтиленгликольная (ПЭГ) группа. В определенных вариантах осуществления X выбирается из группы, состоящей из -SH, $-N_3$, алкина, альдегида и тетразола. В конкретных вариантах осуществления X представляет собой $-N_3$.

В определенных вариантах осуществления первичное аминное соединение соответствует одной из следующих формул:

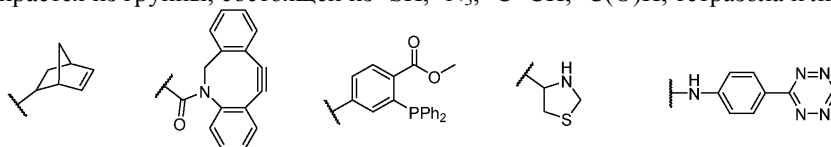


где n представляет собой целое число, которое выбирается в диапазоне от 1 до 12;

m представляет собой целое число, которое выбирается в диапазоне от 0 до 12;

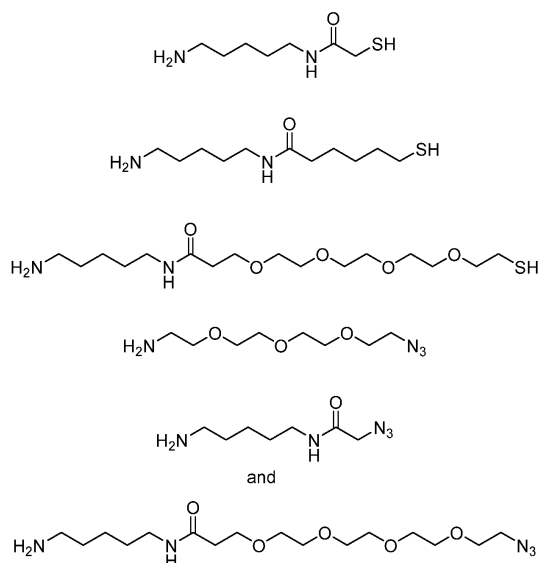
p представляет собой целое число, которое выбирается в диапазоне от 0 до 2;

и X выбирается из группы, состоящей из -SH, $-N_3$, $-C\equiv CH$, $-C(O)H$, тетразола и любого из

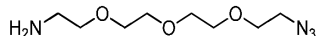


В вышеприведенном описании любая из алкильных или алкиленовых (т.е. $-CH_2-$) групп может быть необязательно замещена, например, C_{1-8} алкилом, метилформилом или $-SO_3H$. В определенных вариантах осуществления алкильные группы не замещены.

В определенных вариантах осуществления первичное аминное соединение выбирается из группы, состоящей из:



В конкретных вариантах осуществления первичное аминное соединение представляет собой



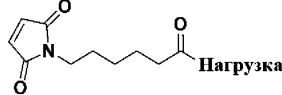
Примеры условий для описанных выше реакций представлены далее в разделе "Примеры".

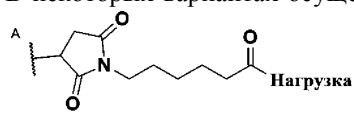
Линкеры.

В определенных вариантах осуществления линкерная L часть описанных здесь конъюгатов - это группа, например двухвалентная группа, которая ковалентно связывает описанные здесь связующий агент и соединение-нагрузку. В других примерах линкер L - это трехвалентная или мультивалентная группа, которая ковалентно связывает описанные здесь связующий агент и соединение-нагрузку. Подходящие линкеры можно найти, например, в публикациях *Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins*; Phillips, G. L., Ed.; Springer Verlag: New York, 2013; *Antibody-Drug Conjugates*; Ducry, L., Ed.; Humana Press, 2013; *Antibody-Drug Conjugates*; Wang, J., Shen, W.-C, and Zaro, J. L., Eds.; Springer International Publishing, 2015, содержание каждой из которых включено в настоящий документ полностью посредством ссылки. В определенных вариантах осуществления линкерная L часть описанных здесь линкер-нагрузок - это группа, ковалентно связанная с описанным здесь соединением-нагрузкой, способная двухвалентно и ковалентно связывать описанные здесь связующий агент и соединение-нагрузку. В других примерах линкерная L часть описанных здесь линкер-нагрузок - это группа, ковалентно связанная с описанным здесь соединением-нагрузкой, способная ковалентно связывать, будучи трехвалентной или мультивалентной группой, описанные здесь связующий агент и соединение-нагрузку. Соединения-нагрузки включают соединения вышеприведенных формул I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII IX, X, XI и XII и их остатки после связывания или объединения с линкером L - это линкер-нагрузки. Линкер-нагрузки могут далее быть связаны со связующими агентами, такими как антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, в результате чего образуются конъюгаты антитело-лекарственное средство. Специалистам в данной области известно, что определенные функциональные группы нагрузок удобны для связывания с линкерами и/или связующими агентами. Например, в определенных вариантах осуществления линкер отсутствует и нагрузки напрямую связываются со связующими агентами. В одном варианте осуществления нагрузки включают концевые алкины, а связующие агенты включают азиды, при этом каждый алкин и азид участвуют в региоизомерной клик-химии для связывания остатков нагрузок и остатков связующих агентов напрямую. В другом варианте осуществления нагрузки включают карбоновые кислоты, а связующие агенты включают лизины, при этом каждая карбоновая кислота и лизин участвуют в формировании амидной связи для связывания остатков нагрузок и остатков связующих агентов напрямую. Функциональные группы нагрузок далее включают амины (например, формулы C, D, LPc и LPd), четвертичные аммоний-ионы (например, формулы A и LPa), гидроксилы (например, формулы C, D, LPc и LPd), фосфаты, карбоновые кислоты (например, в форме эфиров при связывании с L, как в формулах B, D, LPb и LPd), гидразиды (например, формулы B и LPb), амиды (например, полученные от анилинов формулы C и LPc, или амины формулы D и LPd) и сахара.

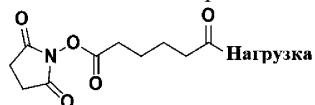
В определенных вариантах осуществления линкеры являются устойчивыми в физиологических условиях. В определенных вариантах осуществления линкеры являются расщепляемыми, например, способными высвобождать минимум часть нагрузки в присутствии фермента и в определенном диапазоне или при определенном значении pH. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит расщепляемую ферментом группу. Примеры расщепляемых ферментом групп включают, помимо прочего, пептидные связи, эфирные связи, гидразоны, β-глюкуронидные связи и дисульфидные связи. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит расщепляемый катепсином линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит расщепляемый β глюкуронидазой (GUSB) линкер (см., например, GUSB линкеры от Creative Biolabs, creative-biolabs.com/adc/beta-glucuronide-линкер.htm, или ACS Med. Chem. Lett. 2010, 1: 277-280).

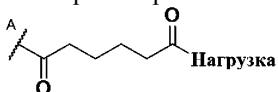
В некоторых вариантах осуществления линкер содержит нерасщепляемую группу. В некоторых ва-

риантах осуществления нерасщепляемый линкер получают от  или его остатка. В некоторых вариантах осуществления остаток нерасщепляемого линкера-нагрузки представляет собой



В некоторых вариантах осуществления нерасщепляемый линкер получают от



ляемого линкера-нагрузки представляет собой  или его региоизомер. В одном варианте осуществления линкер представляет собой малеимид циклогексан карбоксилат или 4-(N-

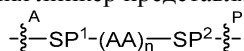
малеимидометил)циклогексанкарбоновая кислота (МСС). В этих структурах $\overset{A}{\text{---}}\text{---}$ означает связь со связующим агентом. В этих структурах в некоторых примерах $\overset{A}{\text{---}}\text{---}$ означает остаток клик-химии, получаемый в результате реакции, например, связующего агента с азидной или алкиновой функциональной группой и линкер-нагрузки с комплементарной алкиновой или азидной функциональной группой. В этих структурах в других примерах $\overset{A}{\text{---}}\text{---}$ означает двухвалентный сульфид, получаемый в результате реакции, например, одного или более цистеинов связующего агента с одним или более линкерами или линкер-нагрузками с малеимидной функциональной группой посредством реакций присоединения Михаэля. В этих структурах в других примерах $\overset{A}{\text{---}}\text{---}$ означает амидную связь, образованную в результате реакции, например, одного или более лизинов связующего агента с одним или более линкерами или линкер-нагрузками с активированной или неактивированной карбоксильной функциональной группой, что понятно специалисту в данной области. В одном варианте осуществления $\overset{A}{\text{---}}\text{---}$ означает амидную связь, образованную в результате реакции, например, одного или более лизинов связующего агента с одним или более линкерами или линкер-нагрузками с активированной карбоксильной функциональной группой, что понятно специалисту в данной области.

В некоторых вариантах осуществления подходящие линкеры включают, помимо прочего, линкеры, которые химически связаны с двумя цистеиновыми остатками одного связующего агента, например, антитела. Такие линкеры могут служить для имитации дисульфидных связей антитела, которые разрушаются в результате процесса конъюгации.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит одну или более аминокислот. Подходящие аминокислоты включают природные, неприродные, стандартные, нестандартные, протеиногенные, не-протеиногенные и L- или D- α -аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аланин, валин, глицин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин, их производное или любую их комбинацию (например, дипептиды, трипептиды, олигопептиды, полипептиды и подобные). В определенных вариантах осуществления одна или более боковых цепей аминокислот связаны с группой боковой цепи, описанной далее. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот валина и цитруллина (например, двухвалентным -Val-Cit- или двухвалентным -VCit-). В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот аланина и аланина, или двухвалентным -AA-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот глутаминовой кислоты и аланина, или -EA-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот глутаминовой кислоты и глицина, или -EG-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот глицина и глицина, или -GG-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот глутамина, валина и цитруллина, или -Q-V-Cit- или -QVCit-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот глутаминовой кислоты, валина и цитруллина, или -E-V-Cit- или -EVCit-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот -GGGG-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот -GGGG-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот -GGGGK-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот -GFGG-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот лизина, валина и цитруллина, или -KVCit-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот -KVA-. В некоторых вариантах осуществления линкер является пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот -VA-. В любом из вариантов осуществления в данном пункте и по тексту настоящего описания изобретения используются стандартные трехбуквенные или однобуквенные обозначения аминокислот, что понятно специалисту в данной области. Примеры однобуквенных обозначений аминокислот включают G для глицина, K для лизина, S для серина, V для валина, A для аланина и F для фенилаланина.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит саморасщепляющуюся группу. Саморасщепляющаяся группа может быть любой группой, известной специалистам в данной области. В конкретных вариантах осуществления такой саморасщепляющейся группой является p-аминобензил (РАВ) или его производное. Полезные производные включают p-аминобензилоксикарбонил (РАВС). Специалистам в данной области понятно, что саморасщепляющаяся группа способна вступать в химическую реакцию, в результате которой высвобождаются оставшиеся атомы линкера от нагрузки.

В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой



при этом SP^1 представляет собой спейсер;

SP^2 представляет собой спейсер;



одна или более связей со связующим агентом;



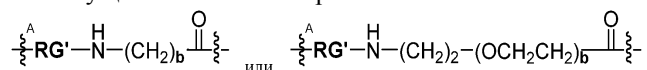
одна или более связей с нагрузкой;

каждый AA представляет собой аминокислотный остаток; и n представляет собой целое число от 1 до 10.

Спейсер SP^1 это группа, которая соединяет $(\text{AA})_n$ группу или остаток со связующим агентом (BA) или с остатком реакционноспособной группы, который связан с BA. Подходящие спейсеры SP^1 включают, помимо прочего, спейсеры, содержащие алкилен или полиэфир или и то, и другое. Концы спейсеров, например, часть спейсера, связанная с BA или AA, могут быть группами, полученными от реакционноспособных групп, которые используются в целях связывания антитела или AA со спейсером во время химического синтеза конъюгата. В определенных вариантах осуществления индекс n равен 1, 2, 3 или 4. В конкретных вариантах осуществления индекс n равен 2. В конкретных вариантах осуществления индекс n равен 3. В конкретных вариантах осуществления индекс n равен 4.

В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^1 содержит алкилен. В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^1 содержит C_{5-7} алкилен. В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^1 содержит полиэфир. В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^1 содержит полимер этиленоксида, например, полиэтиленгликоль.

В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^1 -



при этом RG' представляет собой остаток реакционноспособной группы после реакции реакционноспособной группы RG со связующим агентом;



представляет собой связь со связующим агентом;

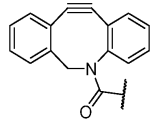


представляет собой связь с $(\text{AA})_n$, где n представляет собой целое число от 1 до 10; и

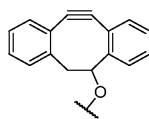
b представляет собой целое число от 2 до 8.

Реакционноспособная группа RG может быть любой реакционноспособной группой, которая, как известно специалисту в данной области, способна образовывать одну или более связей со связующим агентом. Реакционноспособная группа RG представляет собой группу, содержащую часть в своей структуре, способную вступать в реакцию со связующим агентом (например, вступать в реакцию с антителом на его цистеиновом или лизиновом остатках или на азидной группе, например, PEG- N_3 функционализованном антителе на одном или более глутаминовых остатках), в результате чего образуется соединение формулы A, A', B, B', C, C', D или D'. После конъюгации со связующим агентом реакционноспособная группа становится остатком реакционноспособной группы (RG'). Примеры реакционноспособных групп включают, помимо прочего, группы, которые содержат части галоацетила, изотиоцианата, сукцинимиды, N-гидроксисукцинимиды или малеимиды, способные вступать в реакцию со связующим агентом.

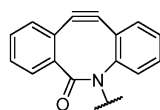
В определенных вариантах осуществления реакционноспособные группы включают, помимо прочего, алкины. В определенных вариантах осуществления такие алкины представляют собой алкины, способные вступать в реакции 1,3-циклоприсоединения с азидами в отсутствие катализаторов на основе меди, например, напряженные алкины. Напряженные алкины подходят для промотированных напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC) и включают циклоалкины, например, циклооктины и бензаннылированные алкины. Подходящие алкины включают, помимо прочего, дибензоазациклооктин или



(DIBAC); дибензоциклооктин или



(DIBO); биарилазациклооктин или

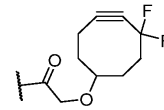


(BARAC);

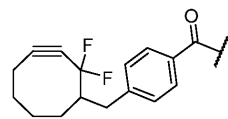
двухфтористый

циклооктин

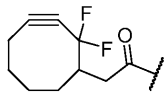
или



, или

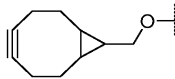


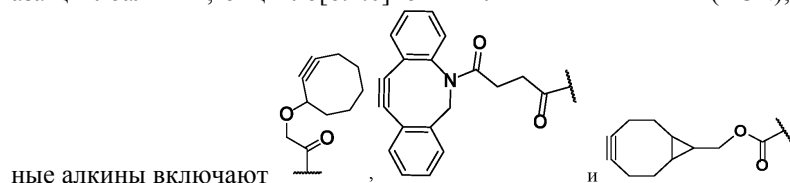
, или




(DIFO);

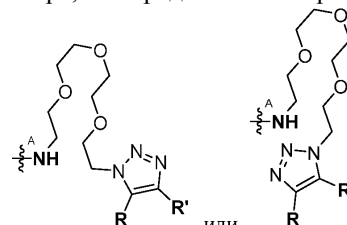
замещенные, например, фторсодержащие алкины,

аза-циклоалкины, бицикло[6.1.0]нонин или  (BCN); и их производные. Особенно полез-



В определенных вариантах осуществления связующий агент напрямую связан с RG'. В определенных вариантах осуществления связующий агент связан с RG' через спейсер, например, SP⁴, расположен-

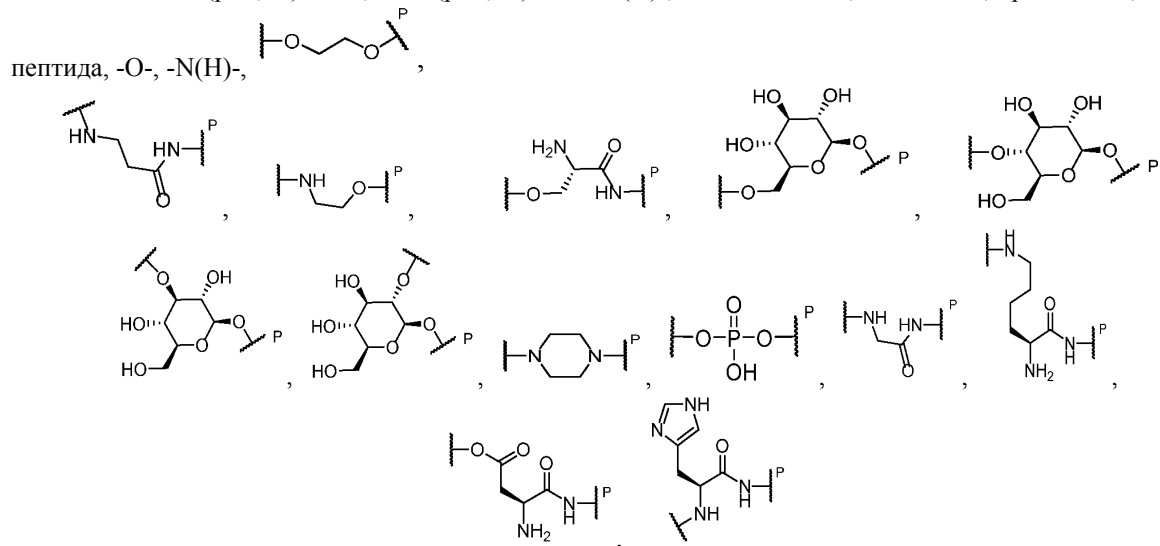
ный между  и RG'. В конкретных вариантах осуществления связующий агент опосредованно связан с RG' через SP⁴, например, ПЭГ спейсер. Как подробно описано далее, в определенных вариантах осуществления связующий агент подготавливают посредством функционализации с одной или более азидо группами. Каждая азидо группа способна вступать в реакцию с RG, в результате чего образуется RG'. В конкретных вариантах осуществления связующий агент дериватизируют -PEG-N₃, связанным с глутаминовым остатком. Здесь представлены примеры -N₃ дериватизированных связующих агентов, способы их приготовления и способы их использования в реакциях с RG. В определенных вариантах осуществления RG представляет собой алкин, подходящий для участия в 1,3-циклоприсоединениях, а RG' представляет собой региоизомерная 1,2,3-триазолильная группа, образованная в результате реакции RG с азидофункционализированным связующим агентом. В качестве дальнейшего примера, в определенных вариантах





осуществления RG' связан со связующим агентом так, как показано в смеси каждого региоизомера. Каждый R и R' соответствуют приведенным здесь описаниям или примерам.

Спейсер SP², при его наличии, - это группа, которая соединяет (AA)_n группу с нагрузкой. Подходящие спейсеры включают, помимо прочего, спейсеры, описанные выше как спейсеры SP¹. Другие подходящие спейсеры SP² включают, помимо прочего, спейсеры, содержащие алкилен или полиэфир или и то, и другое. Концы спейсеров SP², например, часть спейсера, напрямую связанная с нагрузкой или AA, могут быть группами, полученными от реакционноспособных групп, которые используются в целях связывания нагрузки или AA со спейсером SP² во время химического синтеза конъюгата. В некоторых примерах концы спейсеров SP², например, часть спейсера SP², напрямую связанная с нагрузкой или AA, могут быть остатками реакционноспособных групп, которые используются в целях связи нагрузки или AA со спейсером во время химического синтеза конъюгата.

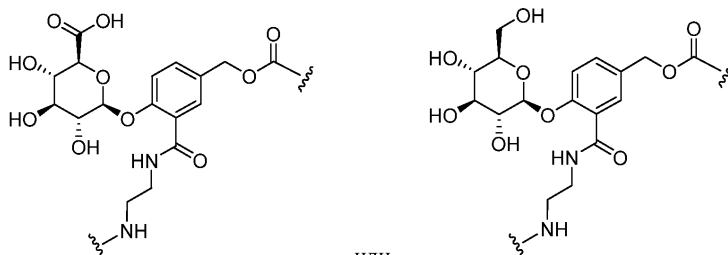
В некоторых вариантах осуществления спейсер SP², при его наличии, выбирается из группы, состоящей из -NH-(p-C₆H₄)-CH₂-, -NH-(p-C₆H₄)-CH₂OC(O)-, аминокислоты, дипептида, трипептида, олиго-



и их любых комбинаций.

В определенных вариантах осуществления каждая  представляет собой связь с нагрузкой, а каждая  представляет собой связь с (AA)_n.

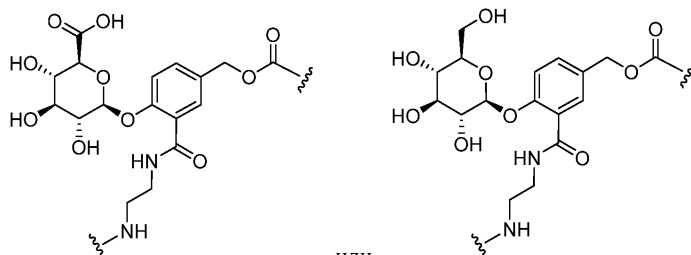
В вышеприведенных формулах каждая (AA)_n представляет собой аминокислота или необязательно p-аминобензилоксикарбонильный остаток (РАВС),



или

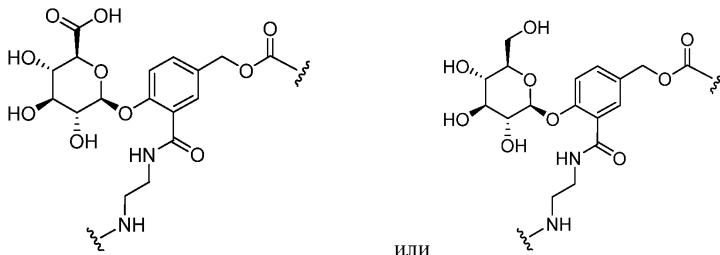
Если РАВС присутствует, предпочтительно присутствует только один РАВС. Предпочтительно остаток РАВС, если он присутствует, связан с концевой АА в (AA)_n группе, проксимальной по отношению к нагрузке.

Если присутствует



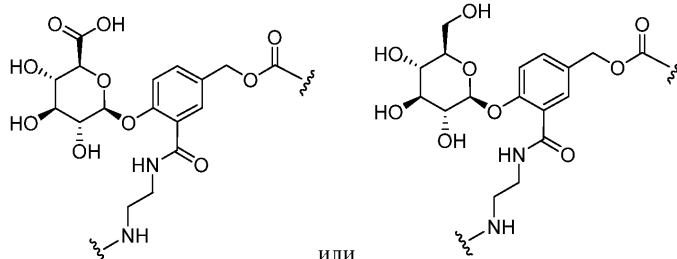
или

тогда присутствует только



или

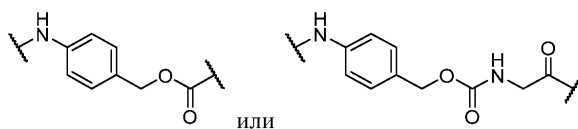
Предпочтительно остаток



или

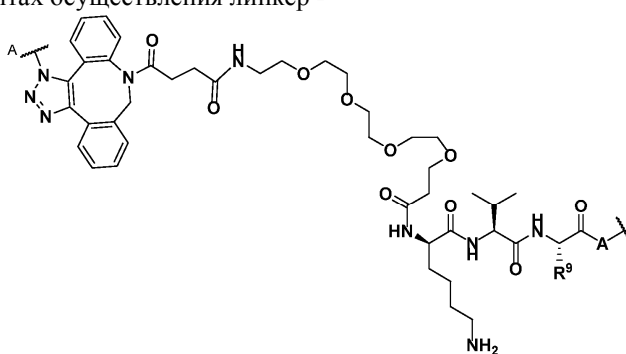
если он присутствует, связан с нагрузкой через бензилоксикарбонильную группу и АА отсутствует. Подходящие аминокислоты для каждой АА включают природные, неприродные, стандартные, нестандартные, протеиногенные, непротеиногенные или L- или D- α-аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления АА содержит аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин, их производное или любую их комбинацию (например, дипептиды, трипептиды, олигопептиды, полипептиды и подобные). В определенных вариантах осуществления одна или более боковых цепей аминокислот связаны с группой боковой цепи, описанной далее. В некоторых вариантах осуществления индекс n равен двум. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n представляет собой валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n представляет собой цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n представляет собой валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n представляет собой аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n представляет собой валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n представляет собой глицин-валин. В некоторых вариантах осуществления индекс n равен трем. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n представляет собой валин-цитруллин-РАВС. В некоторых

вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой цитруллин-валин-РАВС. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления индекс n равен четырем. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой глутамат-валин-цитруллин-РАВ. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой глутамин-валин-цитруллин-РАВС. Специалистам в данной области известен РАВС как остаток *p*-аминобензилоксикарбонила со следующей структурой:

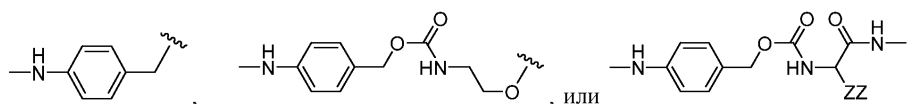


Было доказано, что остаток РАВС способствует расщеплению определенных линкеров *in vitro* и *in vivo*. Специалистам в данной области известно, что РАВ представляет собой двухвалентный остаток *p*-аминобензила или $-\text{NH}-(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{-CH}_2\text{-}$.

В некоторых вариантах осуществления линкер -



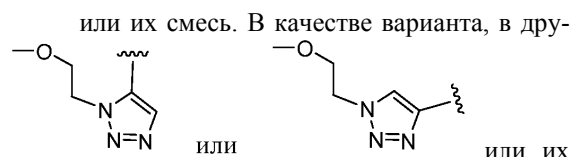
или



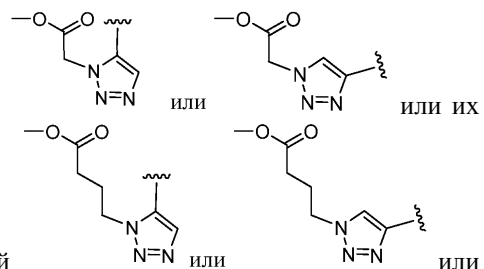
где ZZ представляет собой водород или боковая цепь для аминокислоты, что рассмотрено в настоящем документе. В качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C₁₋₆алкил. В качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C₁₋₆гетероалкил. В конкретных вариантах осуществления данного пункта А можно получить от первичного аминного соединения или его остатка, где X представляет собой -N₃, что рассмотрено в настоящем документе. В этих вариантах осуществления 1,2,3-триазольный остаток получают от азиды после участия в реакции клик-химии, что описано в настоящем документе, с алкином или концевым ацетиленом описанного здесь соединения или нагрузки. Соответственно, в одном неограничивающем примере

А представляет собой или или их смесь. В качестве варианта, в другом варианте осуществления А представляет собой смесь.

гом варианте осуществления А представляет собой смесь.

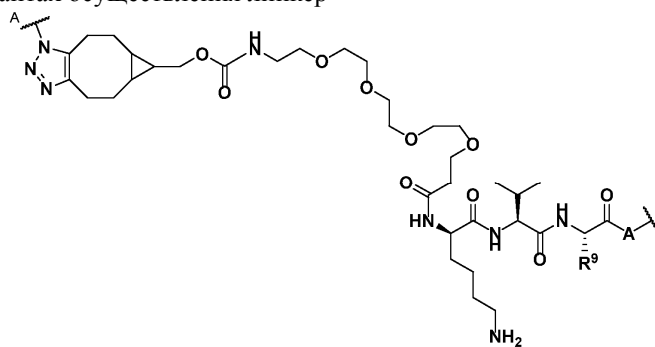


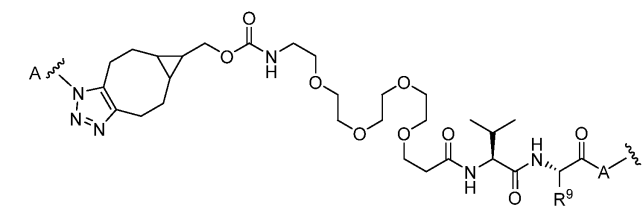
В другом варианте осуществления А представляет собой



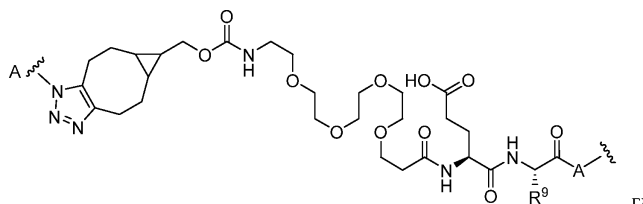
смесь. В другом варианте осуществления А представляет собой их смесь. Как было рассмотрено выше, связь со связующим агентом может быть прямой или через спейсер. В определенных вариантах осуществления связь со связующим агентом осуществляется через ПЭГ спейсер с глутаминовым остатком связующего агента.

В некоторых вариантах осуществления линкер -





или



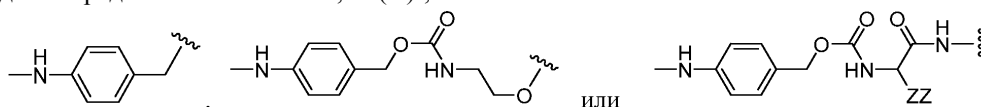
, где :

каждая представляет собой связь со связующим агентом;

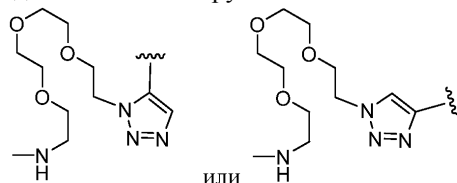
каждая представляет собой связь с нагрузкой;

каждая R^9 представляет собой $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

каждая A представляет собой $-O-$, $-N(H)-$,



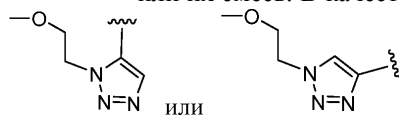
где ZZ представляет собой водород или боковую цепь для аминокислоты, что рассмотрено в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} алкил. В качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} гетероалкил. В конкретных вариантах осуществления данного пункта A можно получить от первичного аминного соединения или его остатка, где X представляет собой $-N_3$, что рассмотрено в настоящем документе. В этих вариантах осуществления 1,2,3-триазольный остаток получают от азиды после участия в реакции клик-химии, что описано в настоящем документе, с алкином или концевым ацетиленом описанного здесь соединения или нагрузки. Соответственно, в одном неограничивающем примере A представляет собой



или

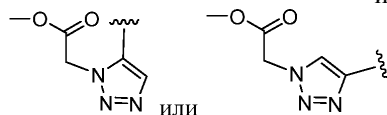
или их смесь. В качестве варианта, в другом варианте осуществления

ления A представляет собой



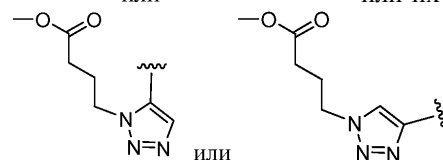
или их смесь. В другом варианте осуществления

ствления A представляет собой



или их смесь. В другом варианте осуществления

ствления A представляет собой

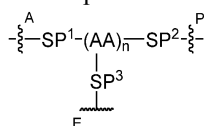


или их смесь. Как было рассмотрено выше, связь со связующим агентом может быть прямой или через спейсер. В определенных вариантах осуществления связь со связующим агентом осуществляется через ПЭГ спейсер с глутаминовым остатком связующего агента.

В любом из вышеприведенных вариантов осуществления $(AA)_n$ группа может быть модифицирована одной или более усиливающих групп. Преимущество заключается в том, что такая усиливающая группа может быть соединена с боковой цепью любой аминокислоты в $(AA)_n$. Полезные аминокислоты для связи усиливающих групп включают лизин, аспарагин, аспартат, глутамин, глутамат и цитруллин. Связью с усиливающей группой может быть прямая связь с боковой цепью аминокислоты либо связь

может быть опосредованной через спейсер и/или реакционноспособную группу. Полезные спейсеры и реакционноспособные группы включают любые описанные выше спейсеры и реакционноспособные группы. Усиливающая группа может быть любой группой, которую считают полезной специалисты в данной области. Например, усиливающая группа может быть любой группой, которая наделяет полезными свойствами соединение, нагрузку, линкер-нагрузку или конъюгат антитела, включая, помимо прочего, биологическое, биохимическое действие, действие при синтезе, солубилизации, визуализации, детекции и способность вступать в реакции и подобные. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа является гидрофильной группой. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа является циклодекстрином. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является алкил, гетероалкил, алкиленил, гетероалкиленил-сульфоновая кислота, гетероалкиленилтаурин, гетероалкиленил-фосфорная кислота или фосфат, гетероалкилениламин (например, четвертичный амин) или гетероалкиленильный сахар. В определенных вариантах осуществления сахара включают, помимо прочего, моносахариды, дисахариды и полисахариды. Примеры моносахаридов включают глюкозу, рибозу, дезоксирибозу, ксилозу, арабинозу, маннозу, галактозу, фруктозу и подобные. В определенных вариантах осуществления сахара включают сахарные кислоты, такие как глюкуроновая кислота, также включая конъюгированные формы, такие как глюкурониды (т.е. посредством глюкуронирования). Примеры дисахаридов включают мальтозу, сахарозу, лактозу, лактулозу, трегалозу и подобные. Примеры полисахаридов включают амилозу, амилопектин, гликоген, инулин, целлюлозу и подобные. Циклодекстрин может быть любым циклодекстрином, известным специалисту в данной области. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой альфа циклодекстрин, бета циклодекстрин или гамма циклодекстрин или их смеси. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой альфа циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой бета циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой гамма циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа способна улучшать растворимость оставшейся части конъюгата. В определенных вариантах осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота замещены или не замещены. В определенных вариантах осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$ или $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5, и индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкил или алкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. В другом варианте осуществления гетероалкил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5.

В некоторых вариантах осуществления линкер -



при этом SP^1 представляет собой спейсер;

SP^2 представляет собой спейсер;

SP^3 представляет собой спейсер, связанный с одной AA $(\text{AA})_n$;

ξ^{A} одна или более связей со связующим агентом;

ξ^{P} одна или более связей с нагрузкой;

ξ^{E} одна или более связей с усиливающей группой EG;

каждая AA представляет собой аминокислоту; и

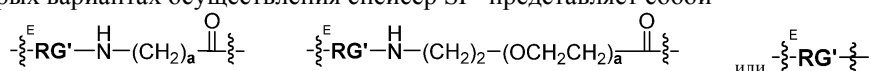
n представляет собой целое число от 1 до 10.

Как было рассмотрено выше, связь со связующим агентом может быть прямой или через спейсер. В определенных вариантах осуществления связь со связующим агентом осуществляется через ПЭГ спейсер с глутаминовым остатком связующего агента.

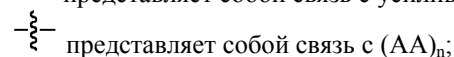
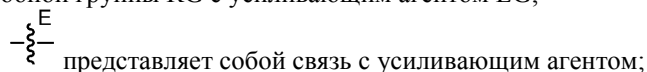
Спейсерная группа SP^1 соответствует вышеприведенному описанию. Спейсерная группа SP^2 соответствует вышеприведенному описанию. Каждая группа $(AA)_n$ соответствует вышеприведенному описанию.

Спейсер SP^3 представляет собой группу, которая соединяет группу $(AA)_n$ с усиливающей группой (EG). Подходящие спейсеры SP^3 включают, помимо прочего, спейсеры, содержащие алкилен или полиэфир или и то, и другое. Концы спейсеров SP^3 , т.е. часть спейсера SP^3 , напрямую связанная с усиливающей группой или AA, могут быть группами, полученными от реакционноспособных групп, которые используются в целях связи усиливающей группы или AA со спейсером SP^3 во время химического синтеза конъюгата. В некоторых примерах концы спейсеров SP^3 , т.е. часть спейсера, напрямую связанная с усиливающей группой или AA, могут быть остатками реакционноспособных групп, которые используются в целях связи усиливающей группы или AA со спейсером во время химического синтеза конъюгата. В определенных вариантах осуществления SP^3 представляет собой спейсер, связанный с одной и только одной AA у $(AA)_n$. В определенных вариантах осуществления спейсер SP^3 связан с боковой цепью лизинового остатка $(AA)_n$.

В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^3 представляет собой



при этом RG' представляет собой остаток реакционноспособной группы после реакции реакционноспособной группы RG с усиливающим агентом EG;



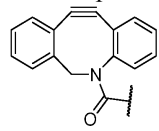
a представляет собой целое число от 2 до 8; и

n представляет собой целое число от 1 до 4.

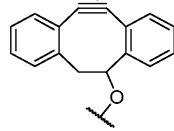
Реакционноспособная группа RG может быть любой реакционноспособной группой, которая, как известно специалисту в данной области, способна образовывать одну или более связей с усиливающим агентом. Реакционноспособная группа RG представляет собой группу, содержащая часть в своей структуре, которая способна вступать в реакцию с усиливающей группой, в результате чего образуется соединение формулы LPa, LPb, LPc, LPd, LPa', LPb', LPe', LPd', A, B, C, D, A', B', C', D' или A".

После конъюгации с усиливающей группой реакционноспособная группа становится остатком реакционноспособной группы (RG'). Реакционноспособная группа RG может быть любой описанной выше реакционноспособной группой. Примеры реакционноспособных групп включают, помимо прочего, группы, которые содержат части галоацетила, изотиоцианата, сукцинимиды, N-гидроксисукцинимиды или малеимида, способные вступать в реакцию со связующим агентом.

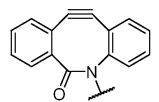
В определенных вариантах осуществления реакционноспособные группы включают, помимо прочего, алкины. В определенных вариантах осуществления такие алкины представляют собой алкины, способные вступать в реакции 1,3-циклоприсоединения с азидами в отсутствие катализаторов на основе меди, например, напряженные алкины. Напряженные алкины подходят для промотированных напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC) и включают циклоалкины, например, циклооктины и бензаннелированные алкины. Подходящие алкины включают, помимо прочего, дибензоазациклооктин или



(DIBAC); дибензоазациклооктин или



(DIBO); биарилазаациклооктин или

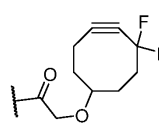


(BARAC);

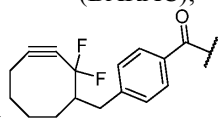
дифтористый

циклооктин

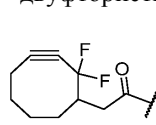
или



или



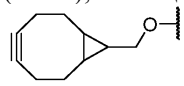
или



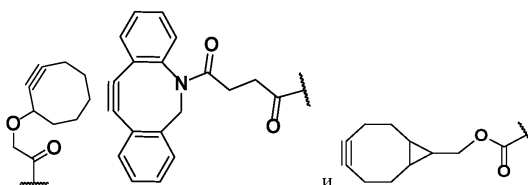
(DIFO);

замещенные, например, фторсо-

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

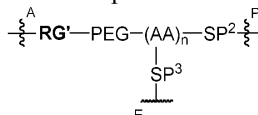


(BCN); и их производные.



Особенно полезные алкины включают

В некоторых вариантах осуществления линкер -



где RG' представляет собой остаток реакционноспособной группы после реакции реакционноспособной группы RG со связующим агентом;

PEG представляет собой -NH-PEG₄-C(O)-;

SP² представляет собой спейсер;

SP³ представляет собой спейсер, связанный с одним остатком AA у (AA)_n;



одна или более связей со связующим агентом;



одна или более связей с нагрузкой;



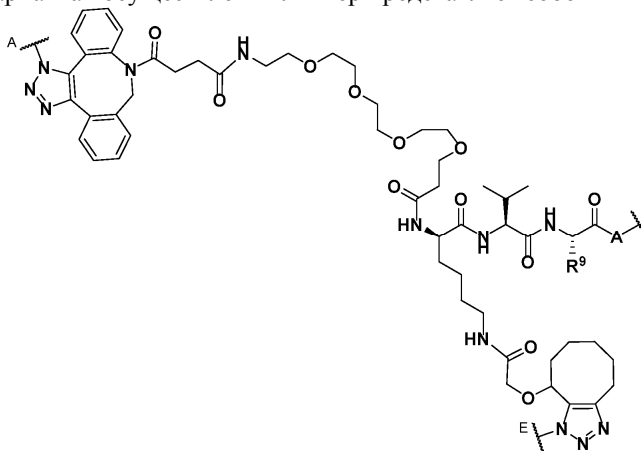
одна или более связей с усиливающей группой EG;

каждый AA представляет собой аминокислотный остаток; и

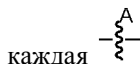
n представляет собой целое число от 1 до 10.

Как было рассмотрено выше, связь со связующим агентом может быть прямой или через спейсер. В определенных вариантах осуществления связь со связующим агентом осуществляется через ПЭГ спейсер с глутаминовым остатком связующего агента.

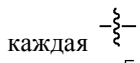
В определенных вариантах осуществления линкер представляет собой



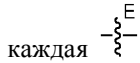
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или его региоизомер, или смесь его региоизомеров, при этом:



каждая --- представляет собой связь со связующим агентом;



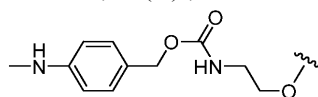
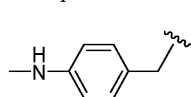
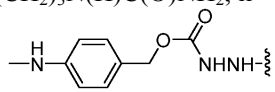
каждая --- представляет собой связь с нагрузкой;



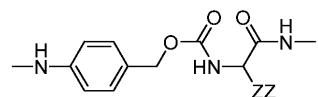
каждая --- представляет собой связь с усиливающим агентом;

каждая R⁹ представляет собой -CH₃ или -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; и

каждая A представляет собой -O-, -N(H)-,

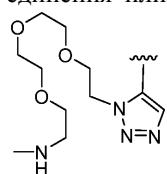


или

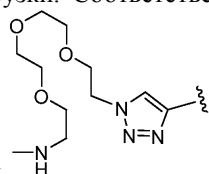


где ZZ представляет собой водород или боковую цепь для аминокислоты, что рассмотрено в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C₁₋₆алкил. В

качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C₁₋₆гетероалкил. В конкретных вариантах осуществления данного пункта А можно получить от первичного аминного соединения или его остатка, где X представляет собой -N₃, что рассмотрено в настоящем документе. В этих вариантах осуществления 1,2,3-триазольный остаток получают от азидо после участия в реакции клик-химии, что описано в настоящем документе, с алкином или концевым, ацетиленом описанного здесь соединения или нагрузки. Соответственно, в одном неограничивающем примере А представляет собой

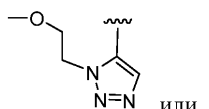


или

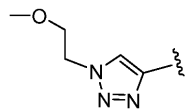


или их смесь. В качестве варианта, в другом варианте осуществле-

ния А представляет собой

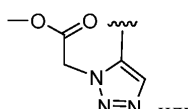


или

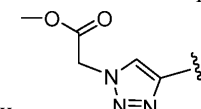


или их смесь. В другом варианте осуществ-

ления А представляет собой

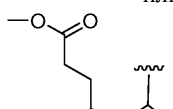


или

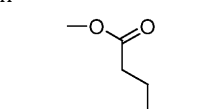


или их смесь. В другом варианте осуществ-

вления А представляет собой

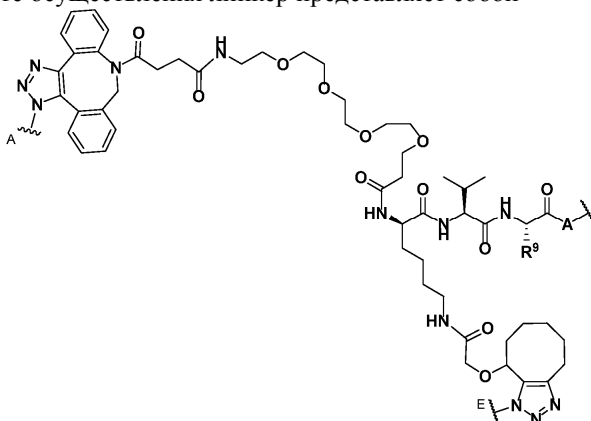


или

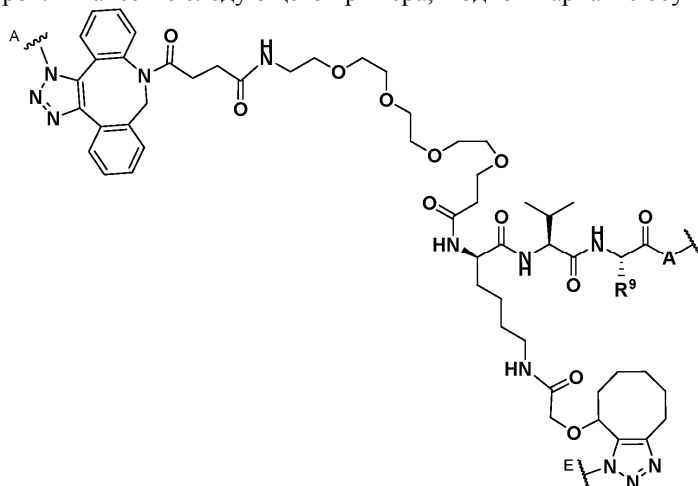


или их смесь. В определенных вари-

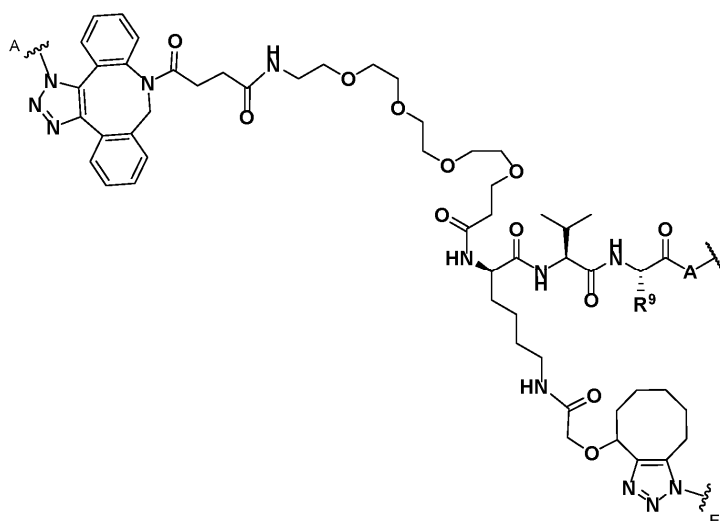
антах осуществления 1,3-циклоприсоединение или региоизомеры SPAAC, или смесь региоизомеров получают от PEG-N₃-derivatизированных антител, на которых воздействовали подходящими алкинами. Например, в одном варианте осуществления линкер представляет собой



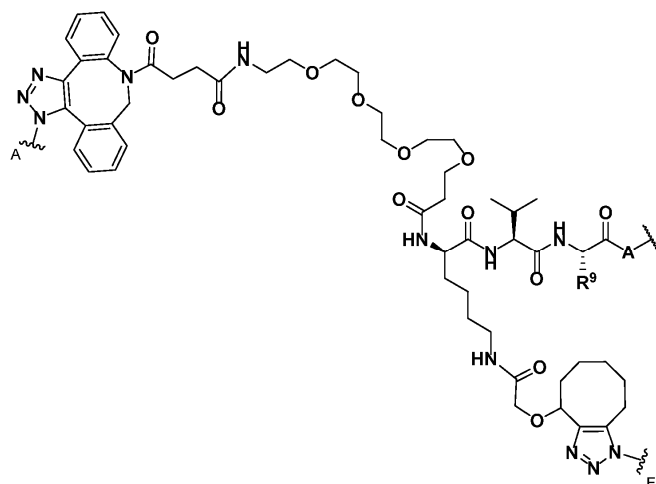
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или региоизомер, или смесь региоизомеров. В качестве следующего примера, в одном варианте осуществления линкер -



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или его региоизомер, или смесь его региоизомеров. В качестве следующего примера линкер представляет собой



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или региоизомер, или смесь региоизомеров. В качестве следующего примера, в одном варианте осуществления линкер представляет собой

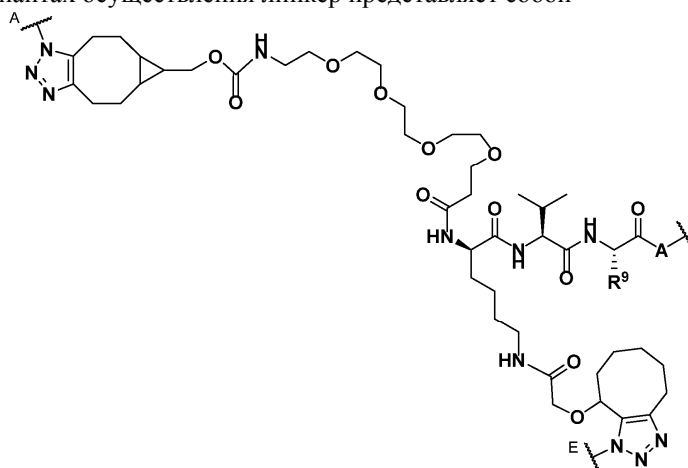


или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или региоизомер, или смесь региоизомеров. Как было рассмотрено выше, связь со связующим агентом может быть прямой или через спейсер. В определенных вариантах осуществления связь со связующим агентом осуществляется через ПЭГ спейсер с глутаминовым остатком связующего агента. В определенных вариантах осуществления усиливающий агент - это гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающий агент является циклодекстрином. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является алкил, гетероалкил, алкиленил, гетероалкиленил-сульфоная кислота, гетероалкиленилтаурин, гетероалкиленил-фосфорная кислота или фосфат, гетероалкилениламин (например, четвертичный амин) или гетероалкиленильный сахар. В определенных вариантах осуществления сахара включают, помимо прочего, моносахариды, дисахариды и полисахариды. Примеры моносахаридов включают глюкозу, рибозу, дезоксирибозу, ксилозу, арабинозу, маннозу, галактозу, фруктозу и подобные. В определенных вариантах осуществления сахара включают сахарные кислоты, такие как глюкуроновая кислота, также включая конъюгированные формы, такие как глюкурониды (т.е. посредством глюкуронирования). Примеры дисахаридов включают мальтозу, сахарозу, лактозу, лактулозу, трегалозу и подобные. Примеры полисахаридов включают амилозу, амилопектин, гликоген, инулин, целлюлозу и подобные. Циклодекстрин может быть любым циклодекстрином, известным специалисту в данной области. В определенных вариантах осуществления циклодекстрина представляет собой альфа циклодекстрин, бета циклодекстрин или гамма циклодекстрин или их смеси. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой альфа циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой бета циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой гамма циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$ или $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5, и индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкил или алкиленил-сульфоная кислота представляет собой

$-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. В другом варианте осуществления гетероалкил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5.

В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5.

В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или его региоизомер, или смесь его региоизомеров, при этом:

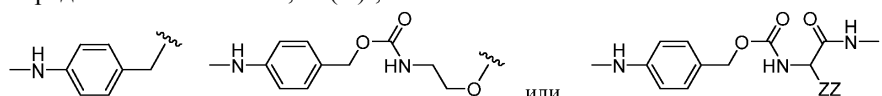
каждая A представляет собой связь со связующим агентом;

каждая E представляет собой связь с усиливающим агентом;

каждая представляет собой связь с нагрузкой;

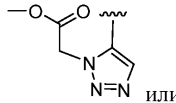
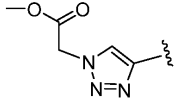
каждая R^9 представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C(O)NH}_2$; и

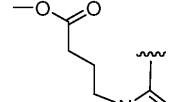
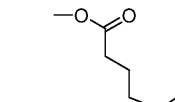
каждая A представляет собой $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$,



где ZZ представляет собой водород или боковую цепь для аминокислоты, что рассмотрено в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} алкил. В качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} гетероалкил. В конкретных вариантах осуществления данного пункта A можно получить от первичного аминного соединения или его остатка, где X представляет собой $-\text{N}_3$, что рассмотрено в настоящем документе. В этих вариантах осуществления 1,2,3-триазольный остаток получают от азиды после участия в реакции кликхимии, что описано в настоящем документе, с алкином или концевым ацетиленом описанного здесь соединения или нагрузки. Соответственно, в одном неограничивающем примере A представляет собой

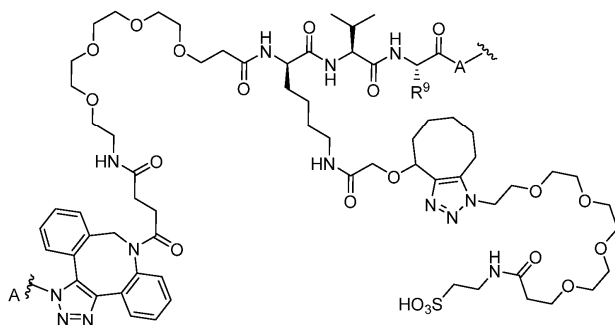
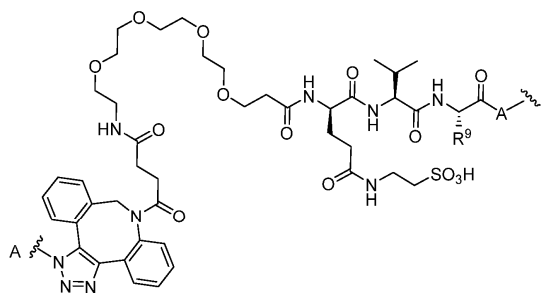
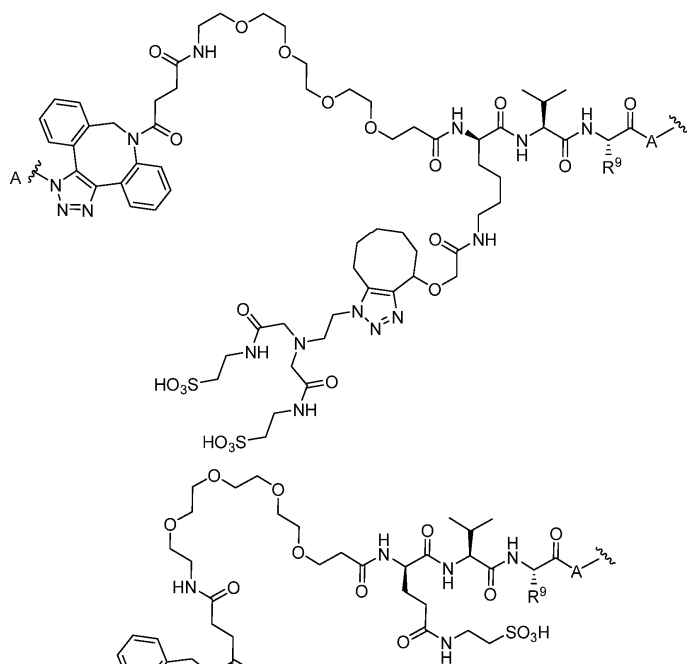
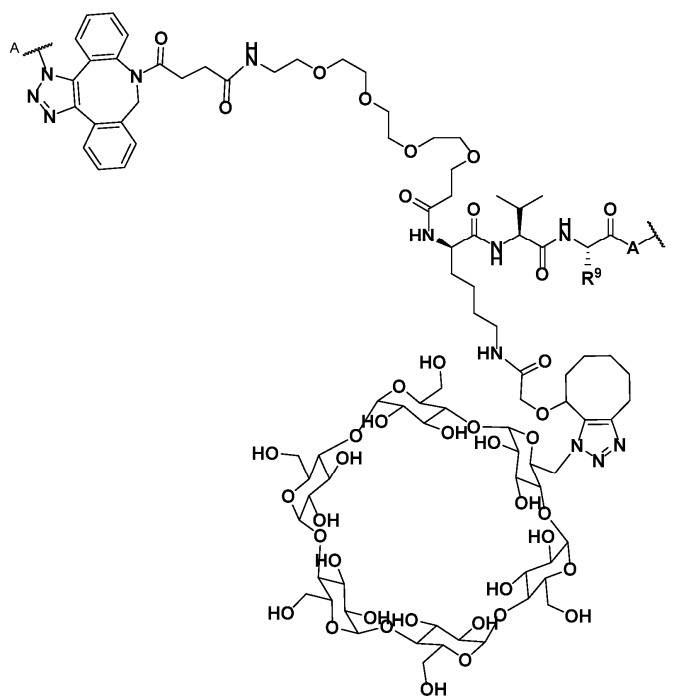
или или их смесь. В качестве варианта, в другом варианте осуществления A представляет собой или или их смесь. В другом варианте осуществ-

ления А представляет собой  или  или их смесь. В другом варианте осуществ-


ления А представляет собой  или  или их смесь. Как было рассмотрено


выше, связь со связующим агентом может быть прямой или через спейсер. В определенных вариантах осуществления связь со связующим агентом осуществляется через ПЭГ спейсер с глутаминовым остатком связующего агента. В определенных вариантах осуществления усиливающий агент - это гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающий агент является циклодекстрином. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является алкил, гетероалкил, алкиленил, гетероалкиленил-сульфоная кислота, гетероалкиленилтаурин, гетероалкиленил-фосфорная кислота или фосфат, гетероалкилениламин (например, четвертичный амин) или гетероалкиленильный сахар. В определенных вариантах осуществления сахара включают, помимо прочего, моносахариды, дисахариды и полисахариды. Примеры моносахаридов включают глюкозу, рибозу, дезоксирибозу, ксилозу, арабинозу, маннозу, галактозу, фруктозу и подобные. В определенных вариантах осуществления сахара включают сахарные кислоты, такие как глюкуроновая кислота, также включая конъюгированные формы, такие как глюкурониды (т.е. посредством глюкуронирования). Примеры дисахаридов включают мальтозу, сахарозу, лактозу, лактулозу, трегалозу и подобные. Примеры полисахаридов включают амилозу, амилопектин, гликоген, инулин, целлюлозу и подобные. Циклодекстрин может быть любым циклодекстрином, известным специалисту в данной области. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой альфа циклодекстрин, бета циклодекстрин или гамма циклодекстрин или их смеси. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой альфа циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой бета циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой гамма циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$ или $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5, и индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкил или алкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. В другом варианте осуществления гетероалкил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5.

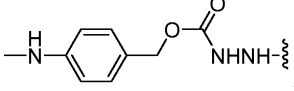
В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой

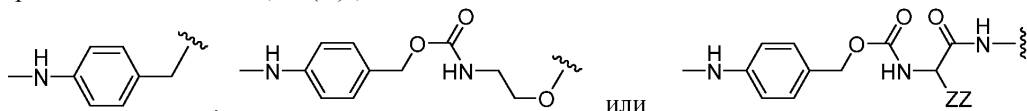


или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или его региоизомер, или смесь его региоизомеров, при этом:

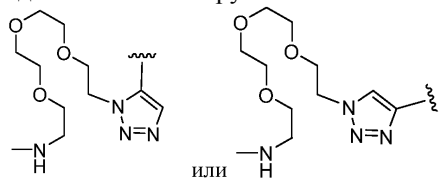
каждая  представляет собой связь со связующим агентом;

каждая  представляет собой связь с нагрузкой;
 R^9 представляет собой $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

А представляет собой $-O-$, $-N(H)-$, ,

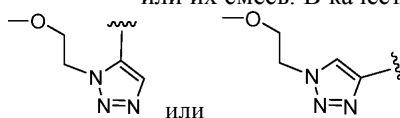


где ZZ представляет собой водород или боковую цепь для аминокислоты, что рассмотрено в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} алкил. В качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} гетероалкил. В конкретных вариантах осуществления данного пункта А можно получить от первичного аминного соединения или его остатка, где X представляет собой $-N_3$, что рассмотрено в настоящем документе. В этих вариантах осуществления 1,2,3-триазольный остаток получают от азиды после участия в реакции клик-химии, что описано в настоящем документе, с алкином или концевым ацетиленом описанного здесь соединения или нагрузки. Соответственно, в одном неограничивающем примере А представляет собой



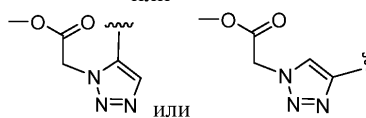
или их смесь. В качестве варианта, в другом варианте осуществления

А представляет собой



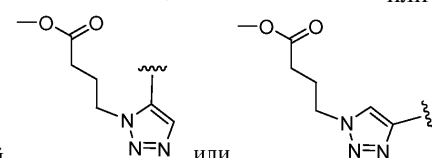
или их смесь. В другом варианте осуществления

А представляет собой



или их смесь. В другом варианте осуществления

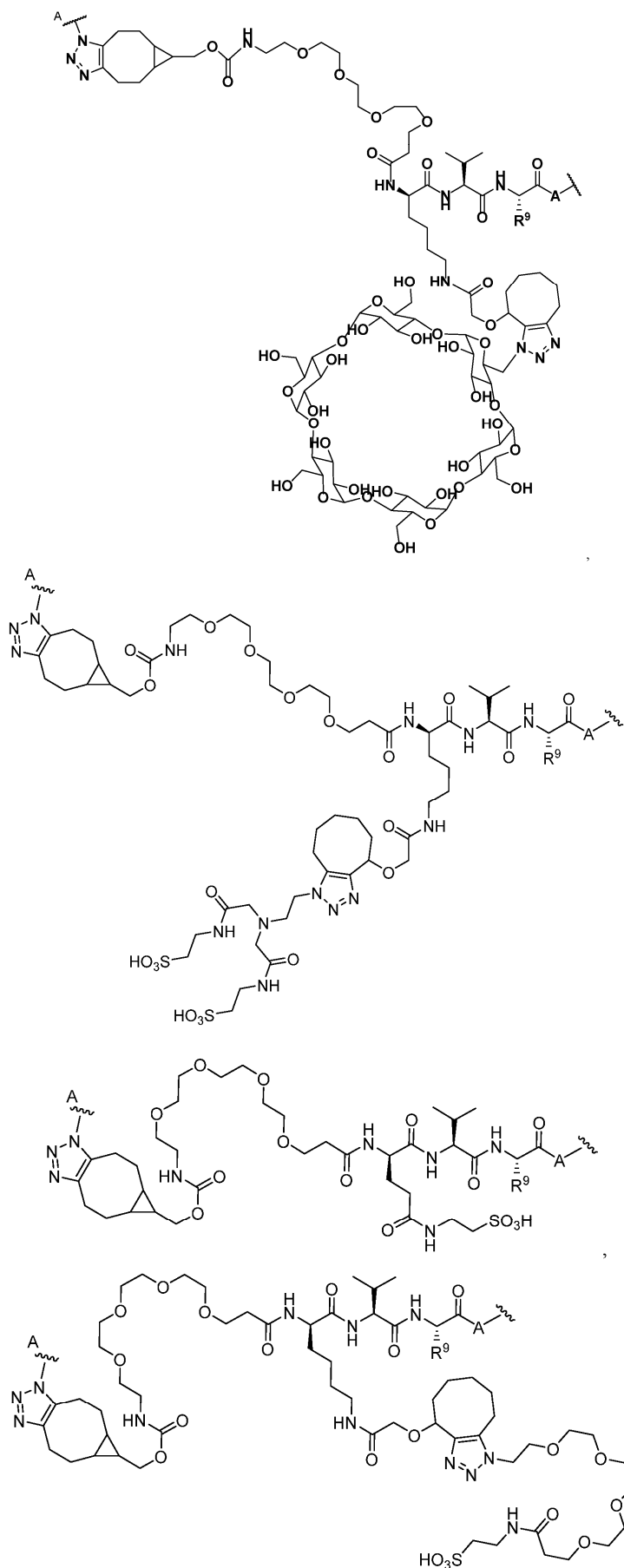
А представляет собой




или их смесь. Как было рассмотрено


выше, связь со связующим агентом может быть прямой или через спейсер. В определенных вариантах осуществления связь со связующим агентом осуществляется через ПЭГ спейсер с глутаминовым остатком связующего агента.

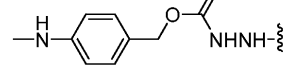
В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой

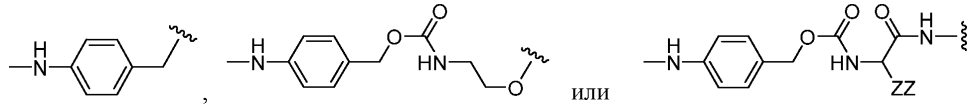


или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или его региоизомер, или смесь его региоизомеров, при этом:

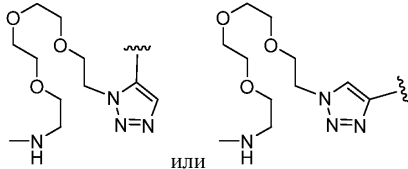
каждая  представляет собой связь со связующим агентом;

каждая  представляет собой связь с нагрузкой;
 R^9 представляет собой $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

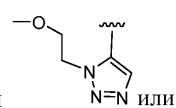
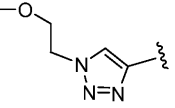
A представляет собой $-O-$, $-N(H)-$, ,

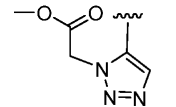
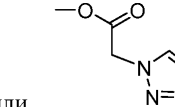


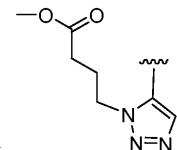
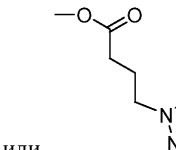
где ZZ представляет собой водород или боковая цепь для аминокислоты, что рассмотрено в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} алкил. В качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} гетероалкил. В конкретных вариантах осуществления данного пункта A можно получить от первичного аминного соединения или его остатка, где X представляет собой $-N_3$, что рассмотрено в настоящем документе. В этих вариантах осуществления 1,2,3-триазольный остаток получают от азиды после участия в реакции кликмиции, что описано в настоящем документе, с алкином или концевым ацетиленом описанного здесь соединения или нагрузки. Соответственно, в одном неограничивающем примере A представляет собой

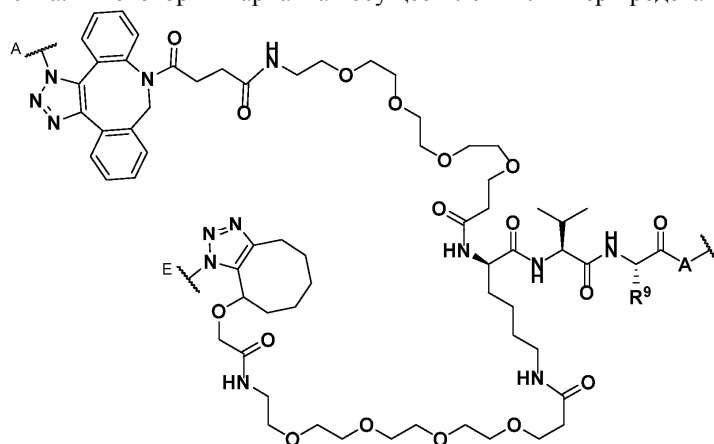


или их смесь. В качестве варианта, в другом варианте осуществле-


ния A представляет собой  или  или их смесь. В другом варианте осуществле-


ния A представляет собой  или  или их смесь. В другом варианте осуще-

ствления A представляет собой  или  или их смесь. Как было рассмотрено выше, связь со связующим агентом может быть прямой или через спейсер. В определенных вариантах осуществления связь со связующим агентом осуществляется через ПЭГ спейсер с глутаминовым остатком связующего агента. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой

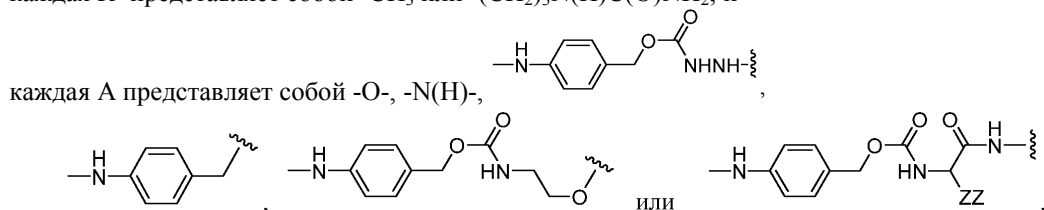


или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или его региоизомер, или смесь его региоизомеров, при этом:

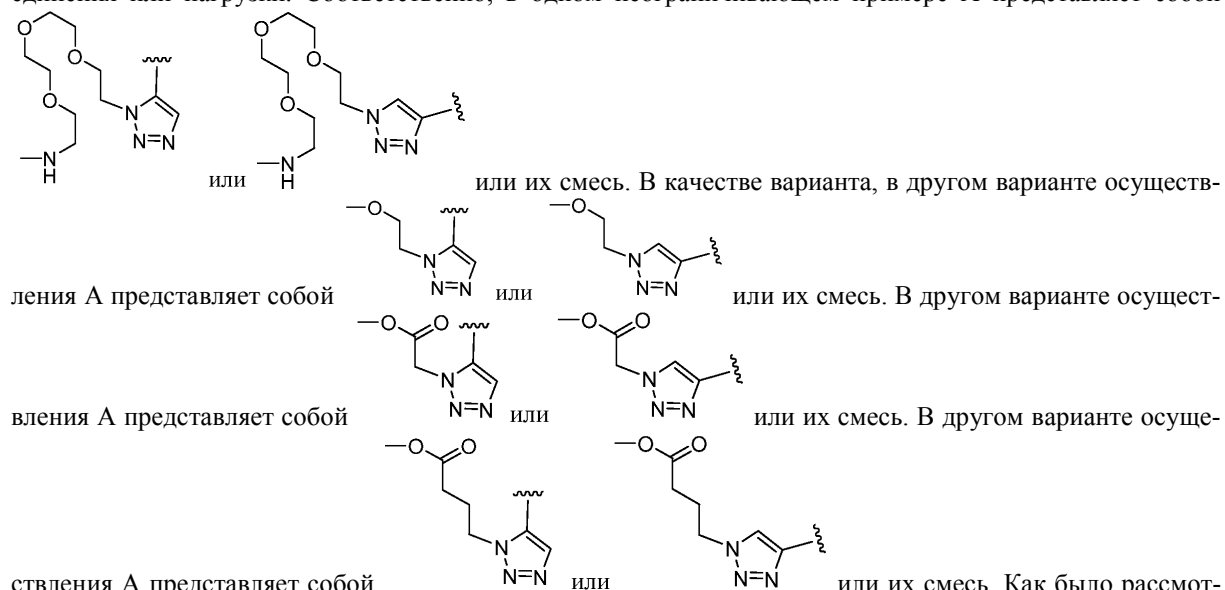
каждая  представляет собой связь со связующим агентом;

каждая  представляет собой связь с нагрузкой;

каждый $\begin{matrix} E \\ | \\ -C- \\ | \\ \text{---} \end{matrix}$ представляет собой связь с усиливающей группой;
каждая R^9 представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

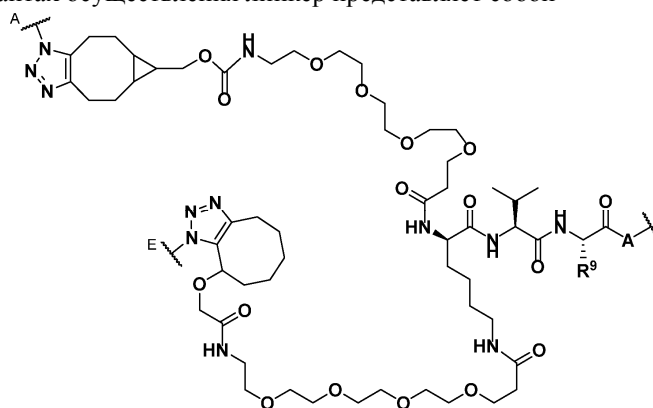


где ZZ представляет собой водород или боковую цепь для аминокислоты, что рассмотрено в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} алкил. В качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} гетероалкил. В конкретных вариантах осуществления данного пункта А можно получить от первичного аминного соединения или его остатка, где X представляет собой $-\text{N}_3$, что рассмотрено в настоящем документе. В этих вариантах осуществления 1,2,3-триазольный остаток получают от азиды после участия в реакции кликхимии, что описано в настоящем документе, с алкином или концевым ацетиленом описанного здесь соединения или нагрузки. Соответственно, в одном неограничивающем примере А представляет собой



ния алкил или алкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. В другом варианте осуществления гетероалкил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5.

В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой



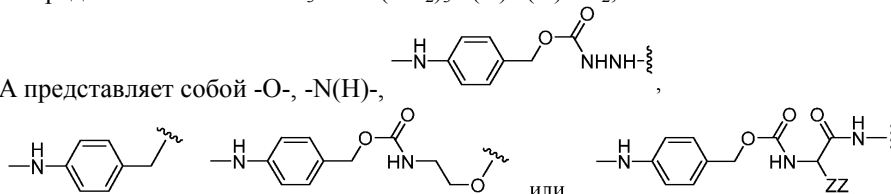
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или его региоизомер, или смесь его региоизомеров, при этом:

каждая ^A представляет собой связь со связующим агентом;

каждая представляет собой связь с нагрузкой;

каждая R^9 представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

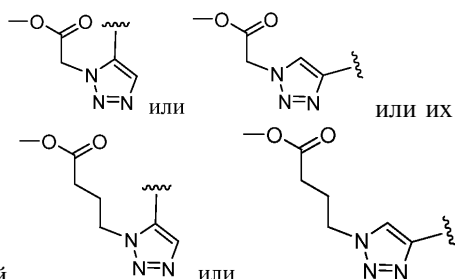
каждая A представляет собой $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$,



где ZZ представляет собой водород или боковую цепь для аминокислоты, что рассмотрено в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} алкил. В качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} гетероалкил. В конкретных вариантах осуществления данного пункта A можно получить от первичного аминного соединения или его остатка, где X представляет собой $-\text{N}_3$, что рассмотрено в настоящем документе. В этих вариантах осуществления 1,2,3-триазольный остаток получают от азиды после участия в реакции клик-химии, что описано в настоящем документе, с алкином или концевым ацетиленом описанного здесь соединения или нагрузки. Соответственно, в одном неограничивающем примере A представляет собой

или или их смесь. В качестве варианта, в другом варианте осуществления A представляет собой или или их смесь. В другом варианте осуществле-

ния А представляет собой

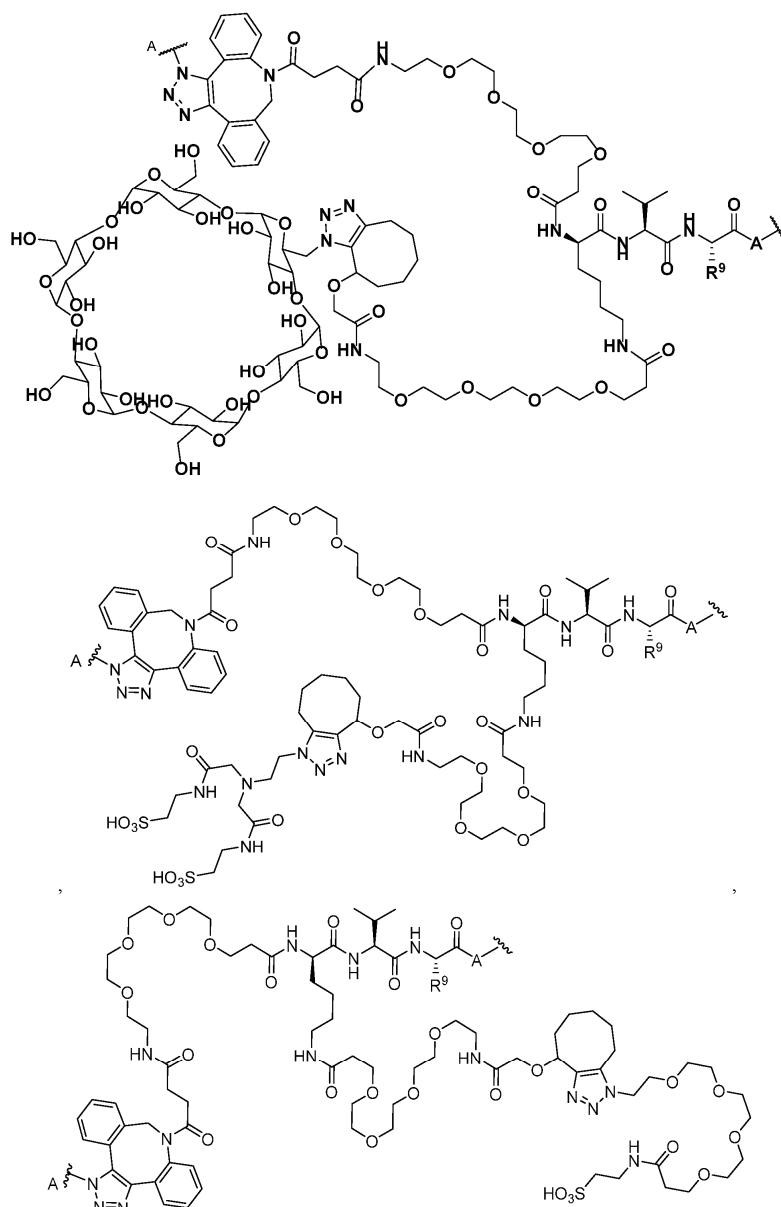


или их смесь. В другом варианте осуществле-


ния А представляет собой


выше, связь со связующим агентом может быть прямой или через спейсер. В определенных вариантах осуществления связь со связующим агентом осуществляется через ПЭГ спейсер с глутаминовым остатком связующего агента. В определенных вариантах осуществления усиливающий агент представляет собой гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающий агент является циклодекстрином. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является алкил, гетероалкил, алкиленил, гетероалкиленил-сульфоная кислота, гетероалкиленилтаурин, гетероалкиленил-фосфорная кислота или фосфат, гетероалкилениламин (например, четвертичный амин) или гетероалкиленильный сахар. В определенных вариантах осуществления сахара включают, помимо прочего, моносахариды, дисахариды и полисахариды. Примеры моносахаридов включают глюкозу, рибозу, дезоксирибозу, ксилозу, арабинозу, маннозу, галактозу, фруктозу и подобные. В определенных вариантах осуществления сахара включают сахарные кислоты, такие как глюкуроновая кислота, также включая конъюгированные формы, такие как глюкурониды (т.е. посредством глюкуронирования). Примеры дисахаридов включают мальтозу, сахарозу, лактозу, лактулозу, трегалозу и подобные. Примеры полисахаридов включают амилозу, амилопектин, гликоген, инулин, целлюлозу и подобные. Циклодекстрин может быть любым циклодекстрином, известным специалисту в данной области. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой альфа циклодекстрин, бета циклодекстрин или гамма циклодекстрин или их смеси. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой альфа циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой бета циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой гамма циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$ или $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5, и индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкил или алкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. В другом варианте осуществления гетероалкил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, при этом индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс n равен 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил-сульфоная кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, при этом индекс m равен 1, 2, 3, 4 или 5.

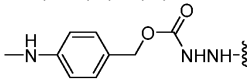
В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой

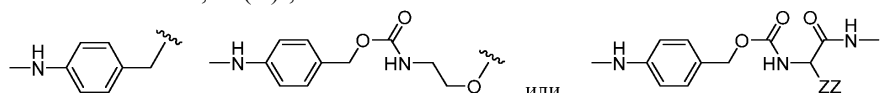


или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или его региоизомер, или смесь его региоизомеров, при этом:

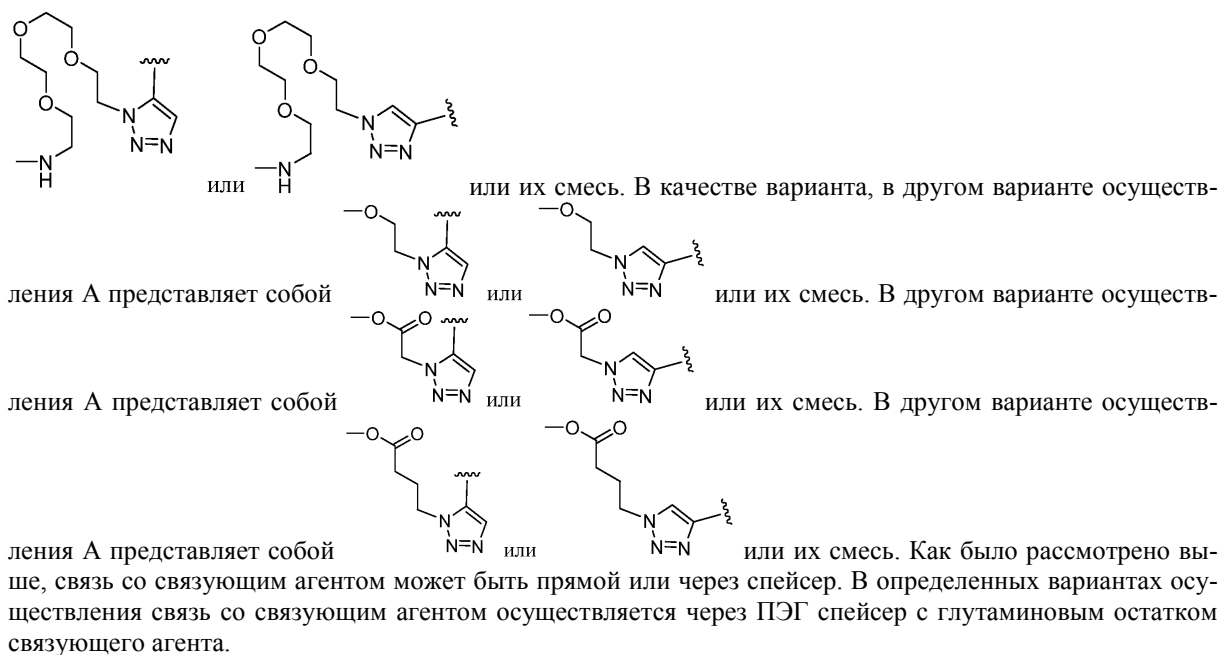
каждая  представляет собой связь со связующим агентом;

каждая  представляет собой связь с нагрузкой;
 R^9 представляет собой $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

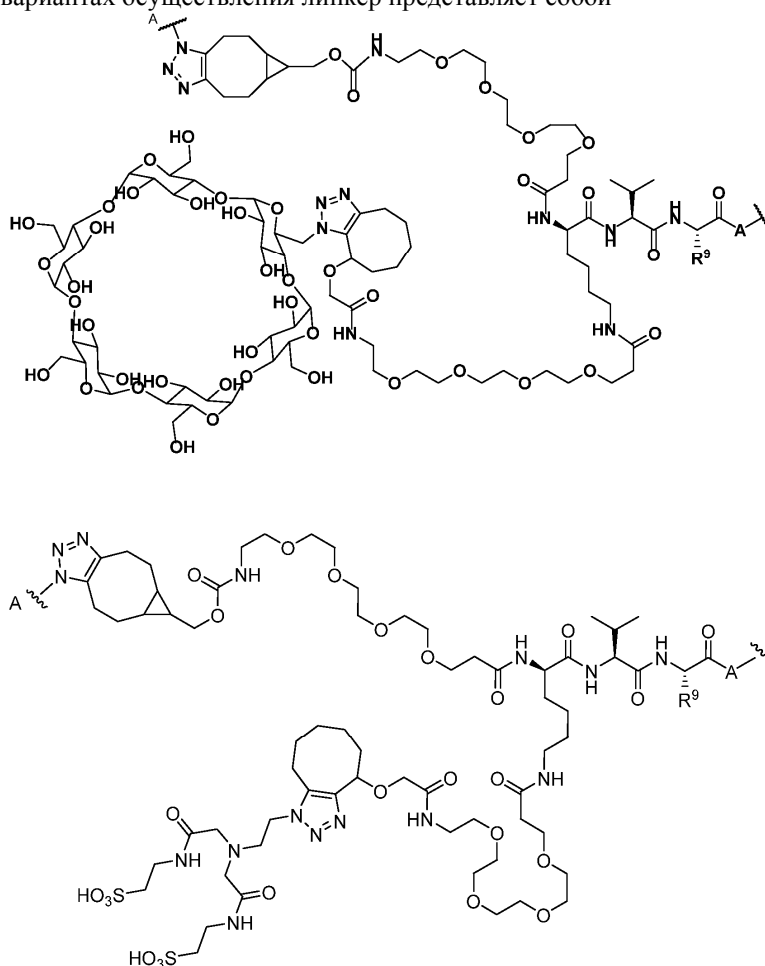
A представляет собой $-O-$, $-N(H)-$, ,

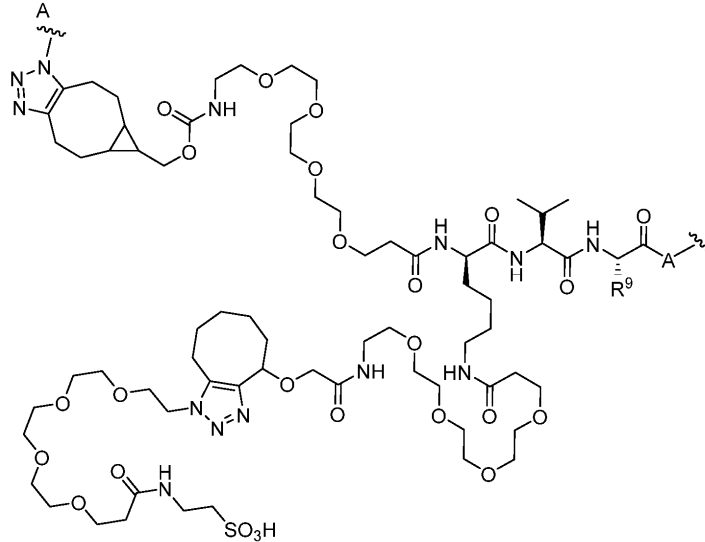


где ZZ представляет собой водород или боковую цепь для аминокислоты, что рассмотрено в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} алкил. В качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} гетероалкил. В конкретных вариантах осуществления данного пункта A можно получить от первичного аминного соединения или его остатка, где X представляет собой $-N_3$, что рассмотрено в настоящем документе. В этих вариантах осуществления 1,2,3-триазольный остаток получают от азиды после участия в реакции кликхимии, что описано в настоящем документе, с алкином или концевым ацетиленом описанного здесь соединения или нагрузки. Соответственно, в одном неограничивающем примере A представляет собой



В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой



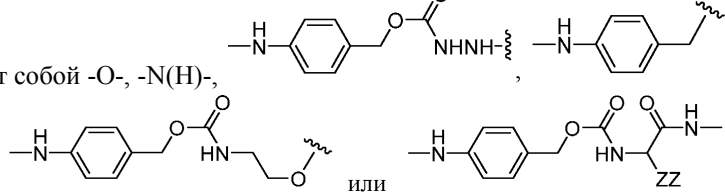


или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомерная форма, или его региоизомер, или смесь его региоизомеров, при этом:

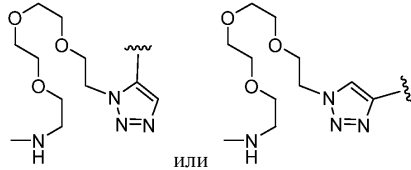
каждая представляет собой связь со связующим агентом;

каждая представляет собой связь с нагрузкой;
 R^9 представляет собой $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

A представляет собой $-O-$, $-N(H)-$,



где ZZ представляет собой водород или боковую цепь для аминокислоты, что рассмотрено в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} алкил. В качестве дальнейшего примера, в одном варианте осуществления ZZ представляет собой C_{1-6} гетероалкил. В конкретных вариантах осуществления данного пункта A можно получить от первичного аминного соединения или его остатка, где X представляет собой $-N_3$, что рассмотрено в настоящем документе. В этих вариантах осуществления 1,2,3-триазольный остаток получают от азиды после участия в реакции кликхимии, что описано в настоящем документе, с алкином или концевым ацетиленом описанного здесь соединения или нагрузки. Соответственно, в одном неограничивающем примере A представляет собой



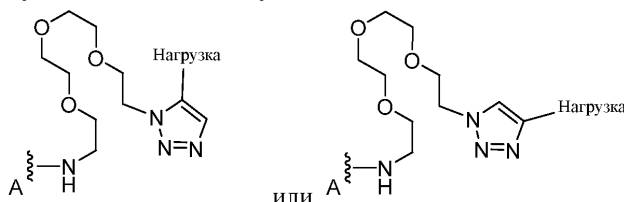
или их смесь. В качестве варианта, в другом варианте осуществления A представляет собой


или их смесь. В другом варианте осуществления A представляет собой

или их смесь. В другом варианте осуществления A представляет собой

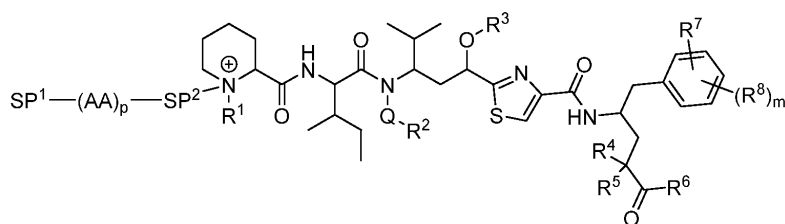
или их смесь. Как было рассмотрено выше, связь со связующим агентом может быть прямой или через спейсер. В определенных вариантах осуществления связь со связующим агентом осуществляется через ПЭГ спейсер с глутаминовым остатком связующего агента.

В конкретных вариантах осуществления описанные здесь соединения или нагрузки с алкином или концевым ацетиленом могут быть связаны со связующим агентом, дериватизированным -PEG-N₃, связанным с глутаминовым остатком. Здесь представлены примеры -N₃-дериватизированных связующих агентов, способы их приготовления и способы их использования. В определенных вариантах осуществления описанное здесь соединение или нагрузка с алкином, подходящие для участия в 1,3-циклоприсоединениях со связующими агентами, дериватизированными -PEG-N₃, дают региоизомерные 1,2,3-триазоллил-связанные группы. Например, в определенных вариантах осуществления соединения или нагрузки, связанные со связующим агентом, могут быть



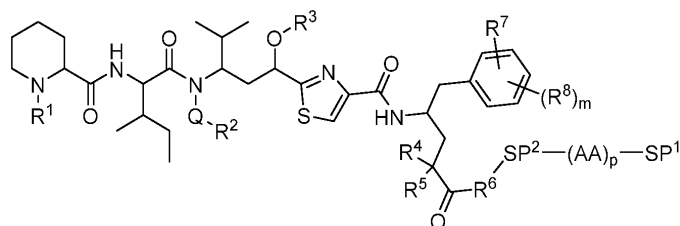
или их смесь, где каждая  представляет собой связь со связующим агентом. Линкер-нагрузки.

В определенных вариантах осуществления линкер-нагрузки включают любое конкретное соединение любой одной или более вышеприведенных формул I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI или XII, связанное с линкером, при этом описанный здесь линкер(ы) включает группу, которая способна вступать в реакцию с описанным здесь антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В конкретных вариантах осуществления линкер связан с азотом пиперидина, R², R⁶ или R⁷ в любой одной или более вышеприведенных формул I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI или XII. В одном варианте осуществления линкер-нагрузка имеет структуру формулы LPa':



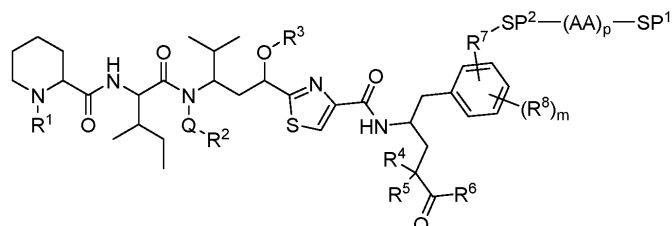
(LPa')

при этом SP¹, (AA)_p, SP², R¹, Q, Q¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ и R⁸ соответствуют описаниям любого из приведенных здесь вариантов осуществления. В одном варианте осуществления линкер-нагрузка имеет структуру формулы LPb':



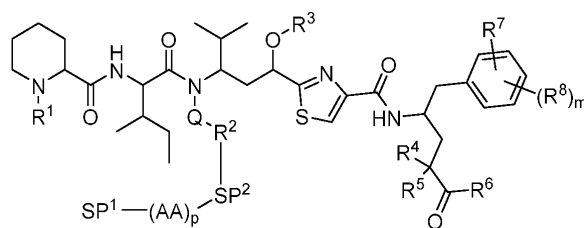
(LPb')

при этом SP¹, (AA)_p, SP², R¹, Q, Q¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ и R⁸ соответствуют описаниям любого из приведенных здесь вариантов осуществления. В одном варианте осуществления линкер-нагрузка имеет структуру формулы LPc':



(LPc')

при этом SP¹, (AA)_p, SP², R¹, Q, Q¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ и R⁸ соответствуют описаниям любого из приведенных здесь вариантов осуществления. В одном варианте осуществления линкер-нагрузка имеет структуру формулы LPd':



(LPd')

при этом SP^1 , $(AA)_p$, SP^2 , R^1 , Q , Q^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 и R^8 соответствуют описаниям любого из приведенных здесь вариантов осуществления. В любом из вариантов осуществления в данном пункте формулы LPa', LPb', LPC' или LPd' могут быть фармацевтически приемлемой солью. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс p равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В любом из предшествующих вариантов осуществления арил включает фенил, нафтил, флуоренил, азуленил, антрил, фенантрил и пиренил; гетероарил включает фуранил, тиофенил, пирролил, оксазолил, тиазолил, имидазолил, пиразолил, изоксазолил, изотиазолил, пиридил, пиразинил, пиримидинил, пиридазинил, хинолинил, изохинолинил, циннолинил, хиназолинил, хиноксалинил, фталазинил, птеридинил, бензофуранил, дибензофуранил, бензотиофенил, бензоксазолил, бензтиазоил, дибензотиофенил, индолил, индолинил, бензимидазолил, индазолил и бензтриазолил; и ацил включает $-C(O)R^{3c}$, при этом R^{3c} содержит алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил и гетероарил. В одном варианте осуществления арил представляет собой фенил. В одном варианте осуществления арил представляет собой нафтил. В одном варианте осуществления арил - флуоренил. В одном варианте осуществления арил представляет собой азуленил. В одном варианте осуществления арил представляет собой антрил. В одном варианте осуществления арил представляет собой фенантрил. В одном варианте осуществления арил представляет собой пиренил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой фуранил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой тиофенил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой пирролил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой оксазолил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой тиазолил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой имидазолил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой пиразолил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой изоксазолил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой изотиазолил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой пиридил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой пиразинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой пиримидинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой пиридазинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой хинолинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой изохинолинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой циннолинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой хиназолинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой хиноксалинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой фталазинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой птеридинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой бензофуранил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой дибензофуранил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой бензотиофенил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой бензоксазолил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой бензтиазоил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой дибензотиофенил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой индолил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой индолинил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой бензимидазолил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой индазолил. В одном варианте осуществления гетероарил представляет собой бензтриазолил. В одном варианте осуществления ацил представляет собой $-C(O)R^{3c}$, а R^{3c} представляет собой алкил. В одном варианте осуществления ацил представляет собой $-C(O)R^{3c}$, а R^{3c} представляет собой алкенил. В одном варианте осуществления ацил представляет собой $-C(O)R^{3c}$, а R^{3c} представляет собой алкинил. В одном варианте осуществления ацил представляет собой $-C(O)R^{3c}$, а R^{3c} представляет собой циклоалкил. В одном варианте осуществления ацил представляет собой $-C(O)R^{3c}$, а R^{3c} представляет собой арил. В одном варианте осуществления ацил представляет собой $-C(O)R^{3c}$, а R^{3c} представляет собой гетероарил.

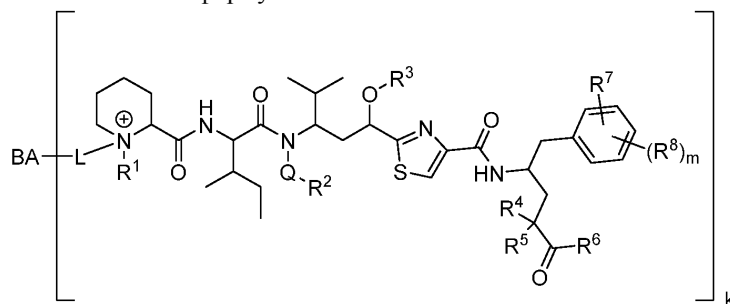
В любом предшествующем варианте осуществления в данном разделе R^7 представляет собой $-NR^{7a}R^{7b}$, при этом R^{7a} и R^{7b} представляет собой независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил, ацил и аминокислотный остаток, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены. В определенных вариантах осуществления R^{7a} представляет собой водород и R^{7b} представляет собой аминокислотный остаток.

Конъюгаты/конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC).

Здесь представлены антитела или их антигенсвязывающий фрагмент, при этом указанное антитело конъюгировано с одним или более соединениями формулы I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, и/или

XII, описанными здесь.

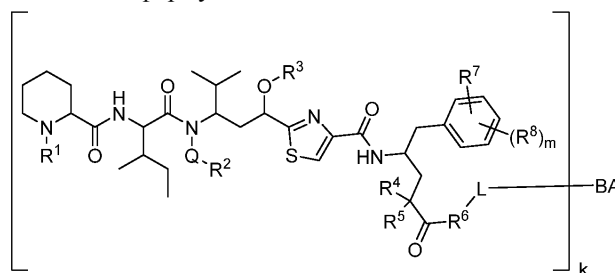
Здесь представлены конъюгаты формулы А:



(A)

или их фармацевтически приемлемая соль, сольват, региоизомерная или стереоизомерная форма, где R^1 , Q , Q^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , и m соответствуют вышеприведенным описаниям в контексте формулы I, BA представляет собой связующий агент, L представляет собой линкер, и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В определенных вариантах осуществления соединения, конъюгированные с -L-BA в формуле А, включают одно или более соединений формул II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и/или XII, согласно вышеприведенным описаниям, при этом BA представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы I, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы II, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы III, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы IV, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы V, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы VI, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы VII, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы VIII, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы IX, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы X, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы XI, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы XII, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте любое одно или более соединений формулы I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и/или XII, конъюгированных с -L-BA в формуле А, конъюгированы посредством азота пиперидина.

Здесь представлены конъюгаты формулы В:

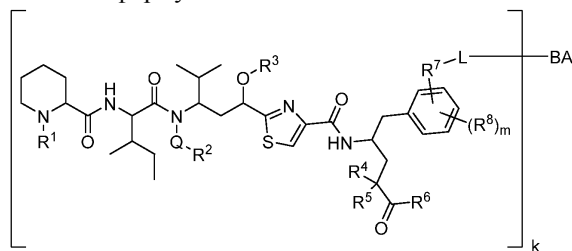


(B)

или их фармацевтически приемлемая соль, сольват, региоизомерная или стереоизомерная форма,

где R^1 , Q , Q^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , и m соответствуют вышеприведенным описаниям в контексте формулы I, BA представляет собой связующий агент, L представляет собой линкер, и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В определенных вариантах осуществления соединения, конъюгированные с -L-BA в формуле B, включают одно или более соединений формулы II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и/или XII, согласно вышеприведенному описанию, при этом BA представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы I, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы II, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы III, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы IV, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы V, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы VI, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы VII, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы VIII, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы IX, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы X, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы XI, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы XII, описанным выше. В любом из вариантов осуществления в данном пункте любое одно или более соединений формулы I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и/или XII, конъюгированные с -L-BA в формуле B, конъюгированы посредством двухвалентного R^6 .

Здесь представлены конъюгаты формулы C:



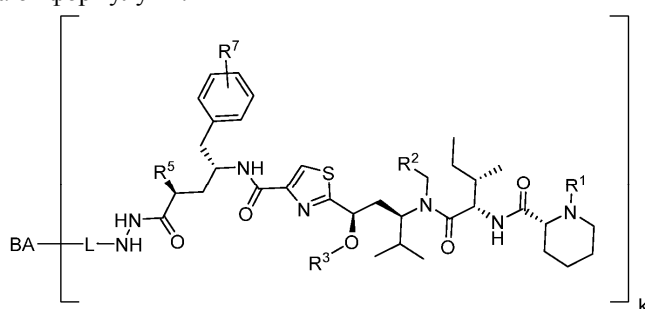
(C)

или их фармацевтически приемлемая соль, сольват, региоизомерная или стереоизомерная форма, где R^1 , Q , Q^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , и m соответствуют вышеприведенным описаниям в контексте формулы I, BA представляет собой связующий агент, L представляет собой линкер, и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В определенных вариантах осуществления соединения, конъюгированные с -L-BA в формуле C, включают одно или более соединений формул II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и/или XII, согласно вышеприведенному описанию, при этом BA представляет собой связующий агент; L 0 линкер; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы I, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы II, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы III, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело конъюгировано с соединением формулы IV, описанным выше. В любом варианте осуществления в данном пункте BA

тело конъюгировано с соединением формулы XII, описанным выше. В любом из вариантов осуществления в данном пункте любое одно или более соединений формул I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и/или XII, конъюгированные с -L-BA в формуле D конъюгированы посредством двухвалентного R².

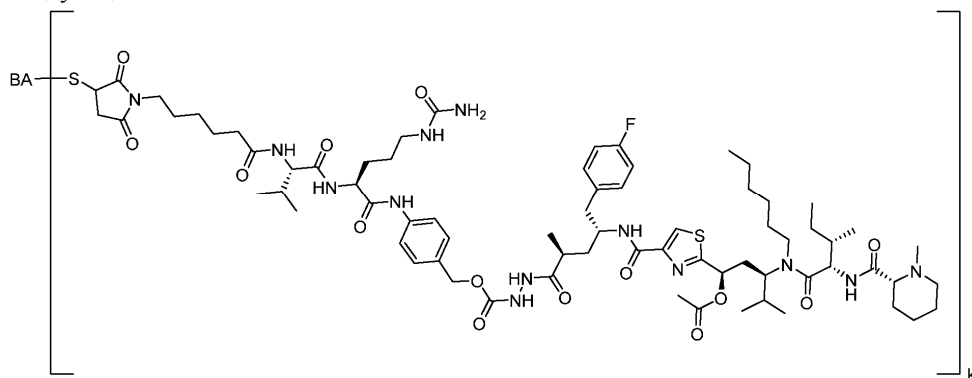
В одном варианте осуществления формулы В BA представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой -CH₂-; R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил; R² представляет собой C₅-C₁₀-алкил; R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил; R⁴ представляет собой водород; R⁵ представляет собой C₁-C₅-алкил; R⁶ представляет собой -NHNH-; R⁷ представляет собой галоген; R⁸ представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления формулы В BA представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой -CH₂-; R¹ представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R² представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R³ представляет собой -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₃ или -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₃; R⁴ представляет собой водород; R⁵ представляет собой метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R⁶ представляет собой -NHNH-; R⁷ представляет собой фтор, хлор, бром или йод; R⁸ представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления конъюгаты

Формулы В включают формулу Vi:



(Bi)

при этом BA представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R¹ представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R² представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R³ представляет собой -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₃, или -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; R⁵ представляет собой метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R⁷ представляет собой фтор, хлор, бром или йод; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном варианте осуществления формулы Vi, BA представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R¹ представляет собой метил; R² представляет собой пентил и его конституционные изомеры; R³ представляет собой -C(O)CH₃; R⁵ представляет собой метил; R⁷ представляет собой фтор, хлор, бром или йод; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном варианте осуществления конъюгаты формулы В включают следующий конъюгат:

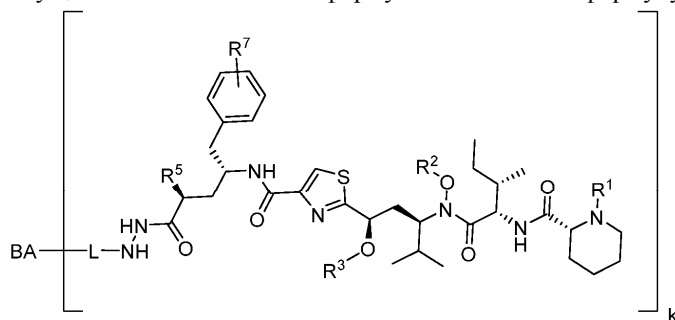


при этом BA представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из вариантов осуществления в данном пункте k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 1. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 2. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 3. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 4.

В одном варианте осуществления формулы В, BA представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой -O-; R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил; R² представляет

собой C₅-C₁₀-алкил; R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил; R⁴ представляет собой водород; R⁵ представляет собой C₁-C₅-алкил; R⁶ представляет собой -NHNH-; R⁷ представляет собой -OH; R⁸ представляет собой водород; индекс m равен двум; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления формулы В ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой -O-; R¹ представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R² представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R³ представляет собой -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₃ или -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; R⁴ представляет собой водород; R⁵ представляет собой метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R⁶ представляет собой -NHNH-; R⁷ представляет собой -OH; R⁸ представляет собой водород; индекс m равен двум; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

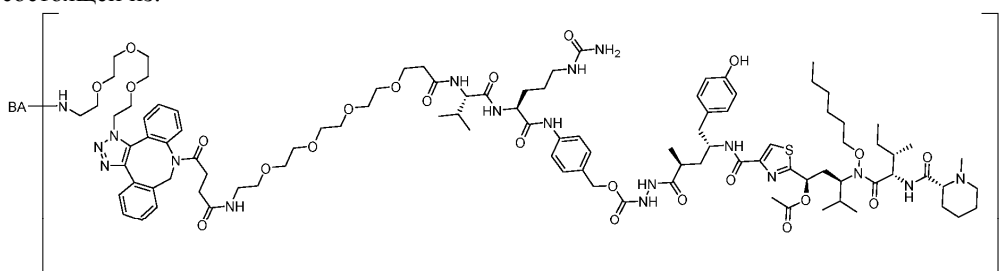
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы В включают формулу Вii:



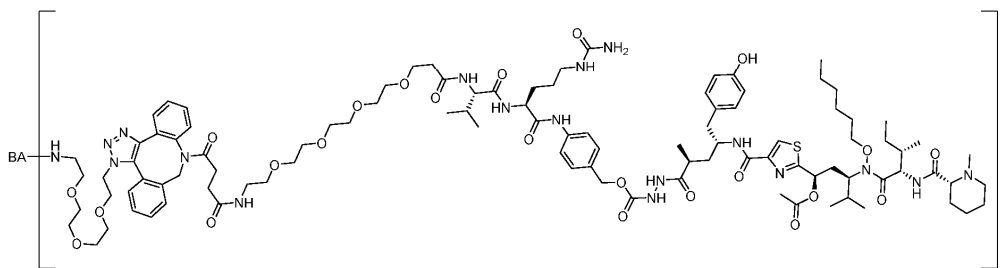
(Bii)

при этом ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R¹ представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R² представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R³ представляет собой -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₃ или -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; R⁵ представляет собой метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R⁷ представляет собой -OH; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном варианте осуществления формулы Вii, ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R¹ представляет собой метил; R² представляет собой пентил и его конституционные изомеры; R³ представляет собой -C(O)CH₃; R⁵ представляет собой метил; R⁷ представляет собой -OH; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы В включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:



И

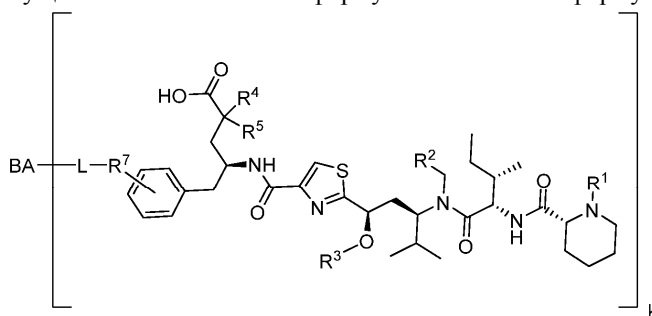


при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте ВА представляет собой анти тело или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из вариантов осуществления в данном пункте k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 1. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 2. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 3. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен

4.

В одном варианте осуществления формулы С, ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой $-\text{CH}_2-$; R^1 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил; R^2 представляет собой C_5 - C_{10} -алкинил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1$ - C_5 -алкил; R^4 и R^5 представляет собой независимо C_1 - C_5 -алкил; R^6 представляет собой $-\text{OH}$; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой $-\text{CH}_2-$; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентинил, гексинил, гептинил, октинил, нонинил или децинил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^6 представляет собой $-\text{OH}$; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

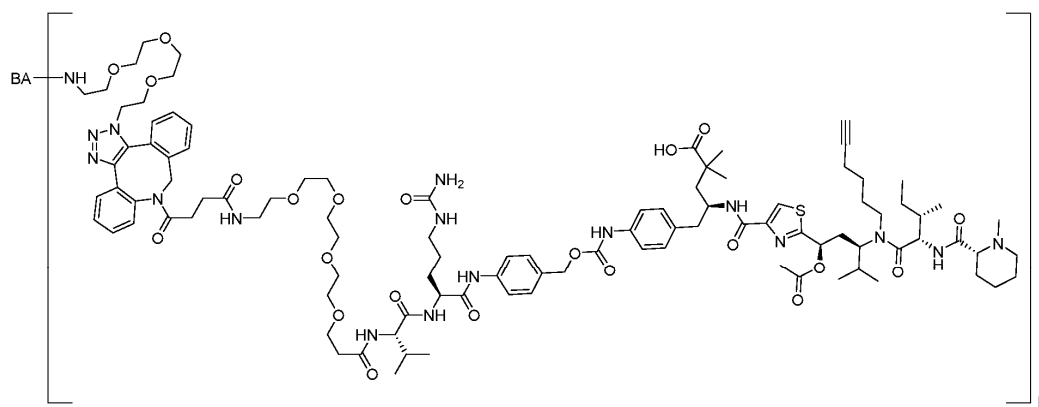
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают формулу О:



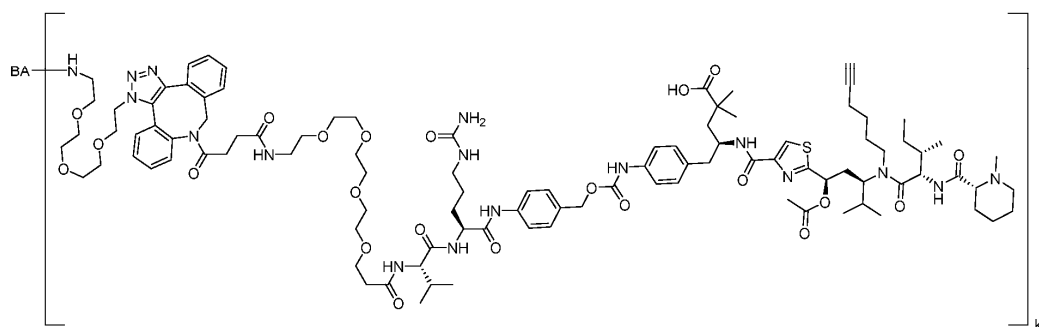
(Ci)

при этом ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентинил, гексинил, гептинил, октинил, нонинил или децинил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; R^4 и R^5 представляют собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и конституционные изомеры; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном варианте осуществления формулы Ci, ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил; R^2 представляет собой пентинил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$; R^4 и R^5 представляет собой метил; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

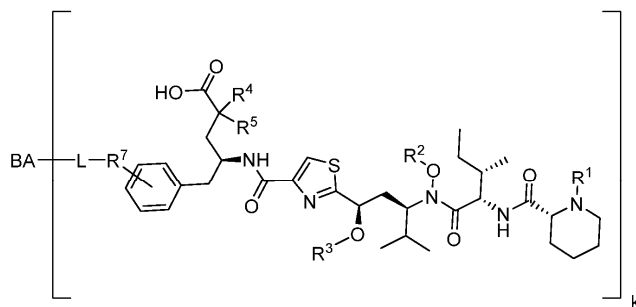
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:



И



при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из вариантов осуществления в данном пункте k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 1. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 2. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 3. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 4. В одном варианте осуществления формулы С, ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой -O-; R^1 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил; R^2 представляет собой C_5 - C_{10} -алкинил; R^3 представляет собой -C(O) C_1 - C_5 -алкил; R^4 и R^5 представляет собой независимо C_1 - C_5 -алкил; R^6 представляет собой -OH; R^7 представляет собой -NH-; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой -O-; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентинил, гексинил, гептинил, октинил, нонинил или децинил; R^3 представляет собой -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₃ или -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; R^4 и R^5 представляют собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^6 представляет собой -OH; R^7 представляет собой -NH-; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают формулу Сii:

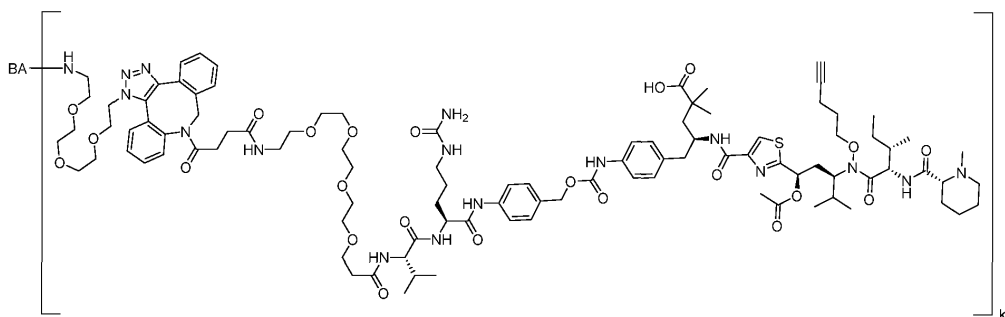
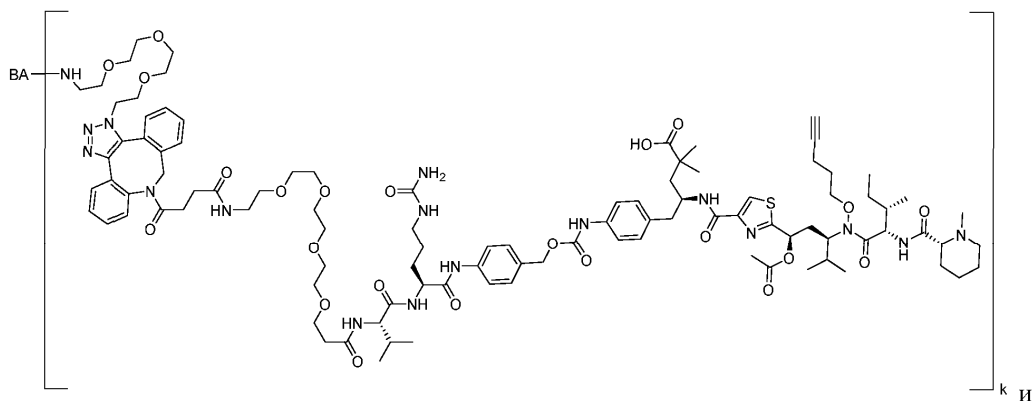


(Cii)

при этом ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентинил, гексинил, гептинил, октинил, нонинил или децинил; R^3 представляет собой -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₃ или -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил

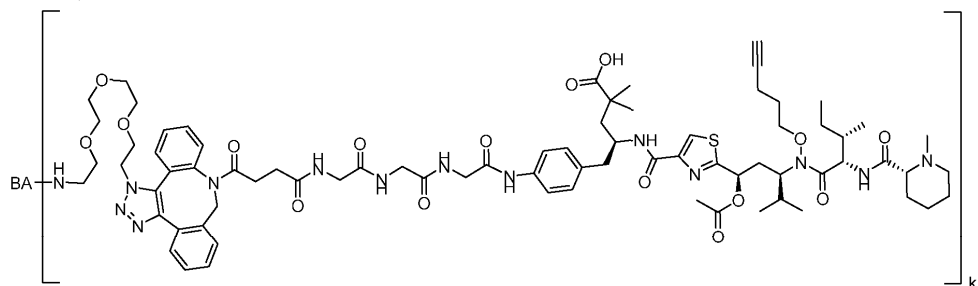
и конституционные изомеры; R^7 представляет собой $-NH-$; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном варианте осуществления формулы Cii, BA представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил; R^2 представляет собой пентинил; R^3 представляет собой $-C(O)CH_3$; R^4 и R^5 представляет собой метил; R^7 представляет собой $-NH-$; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы C включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

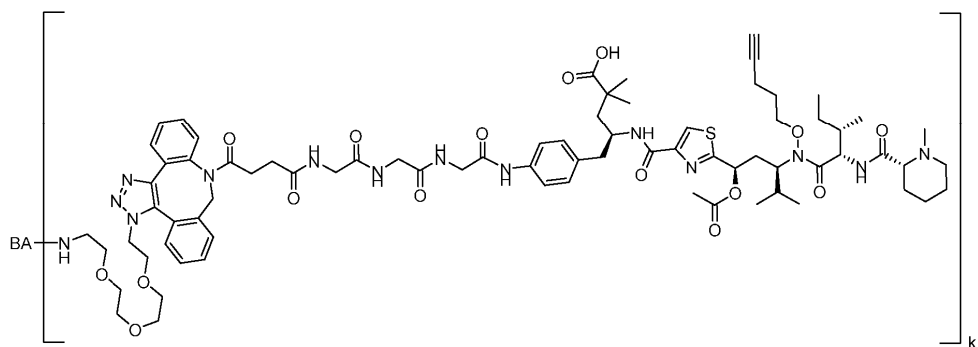


при этом BA представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы C включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

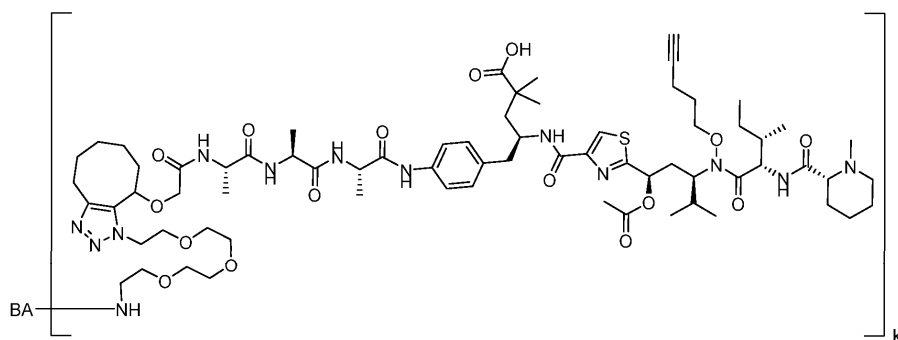


и

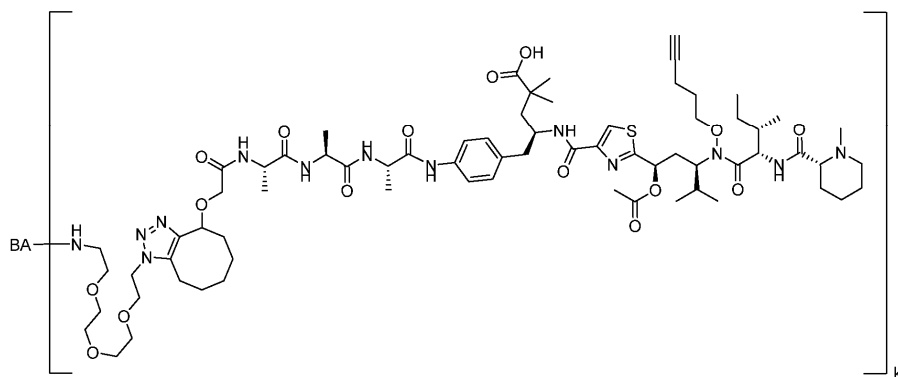


при этом BA представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы C включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

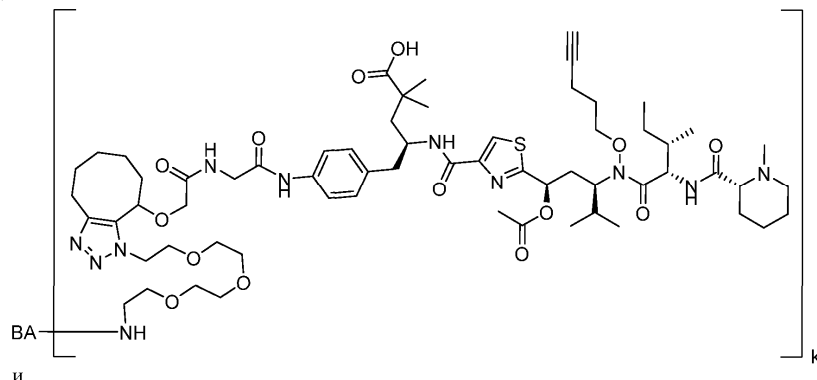


и

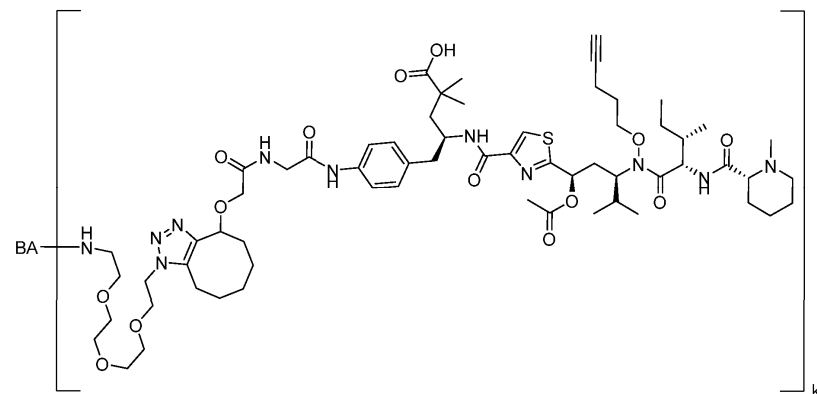


где ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

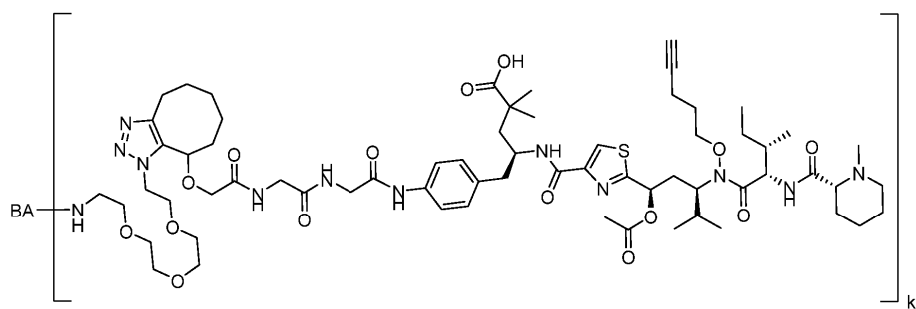


и

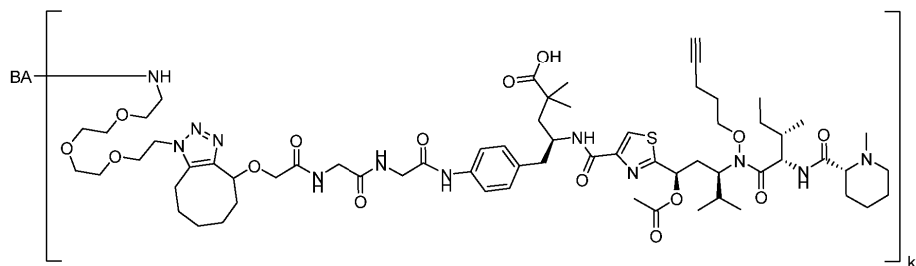


при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

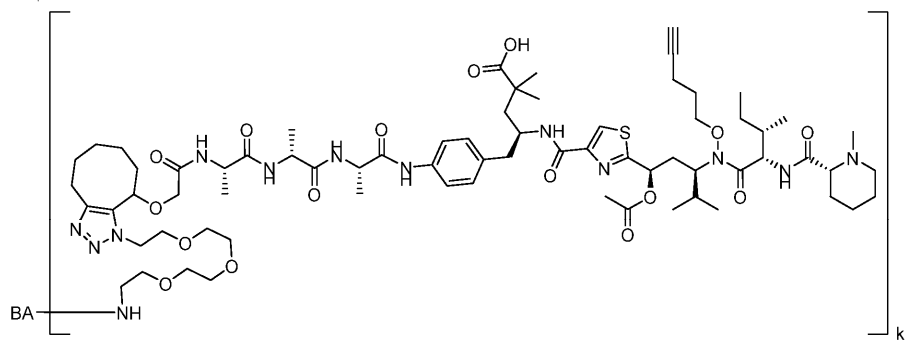


и

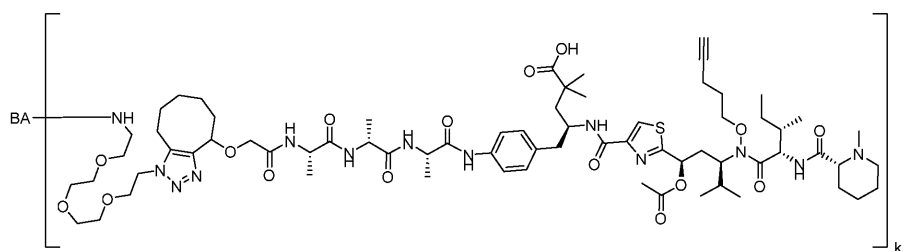


при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

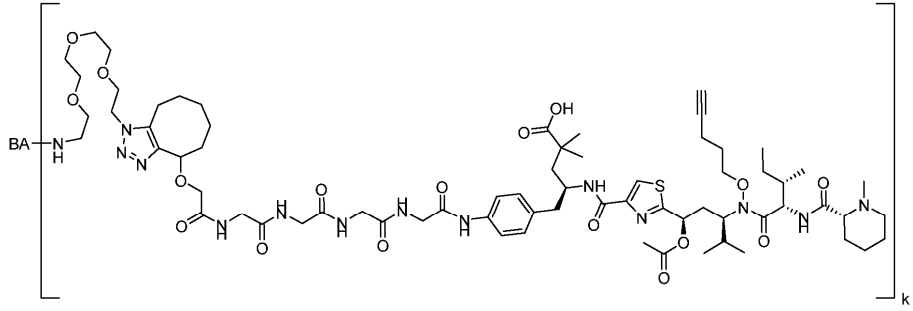


и

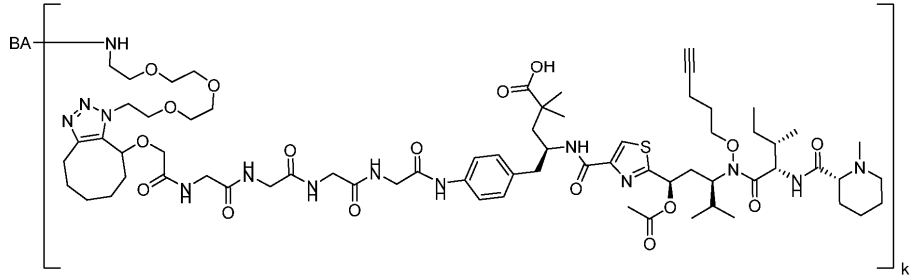


при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

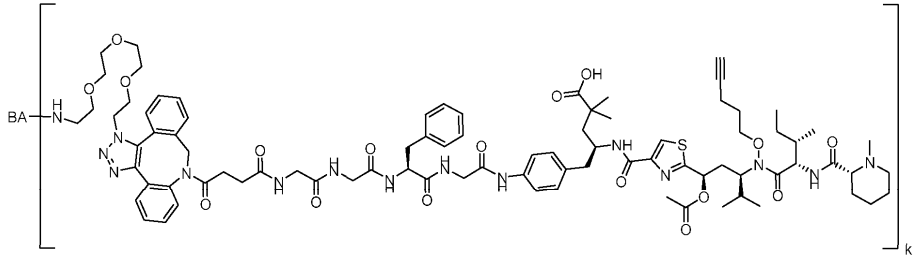
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:



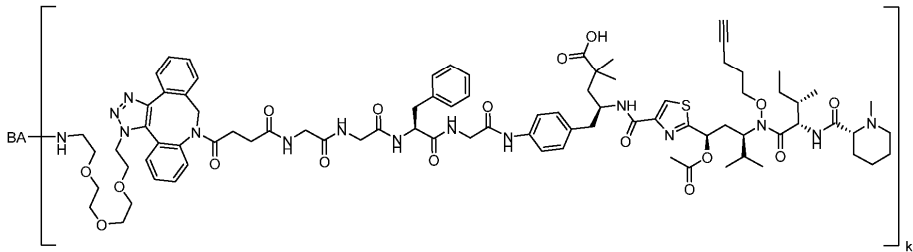
и



при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.
 В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

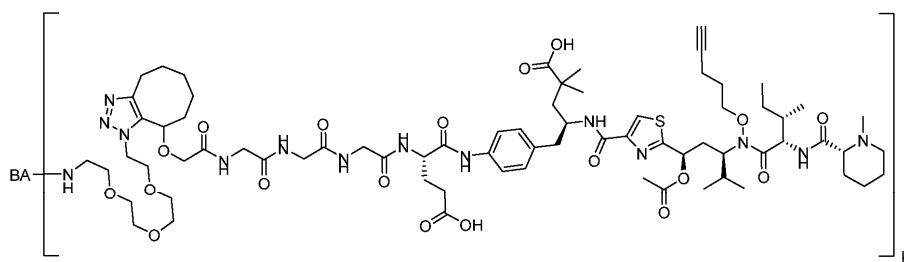


и

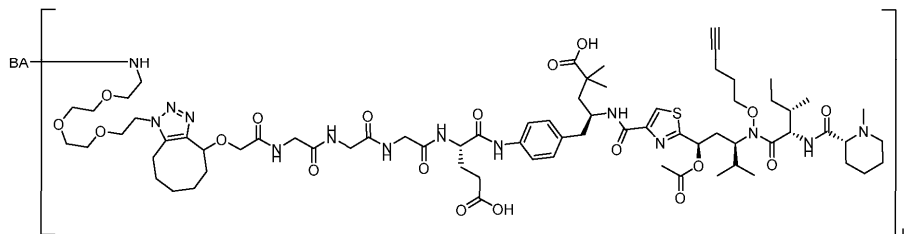


при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.
 В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

047625

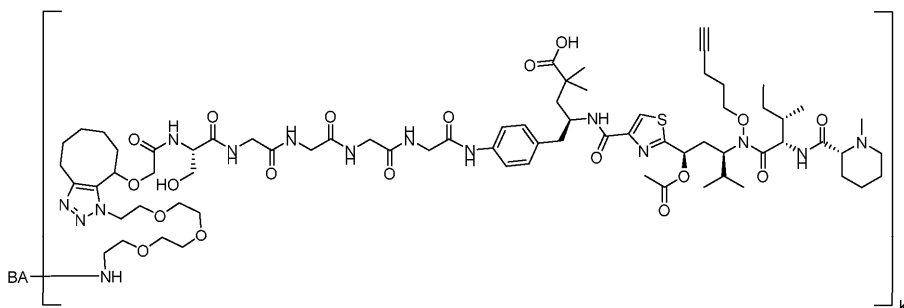


и

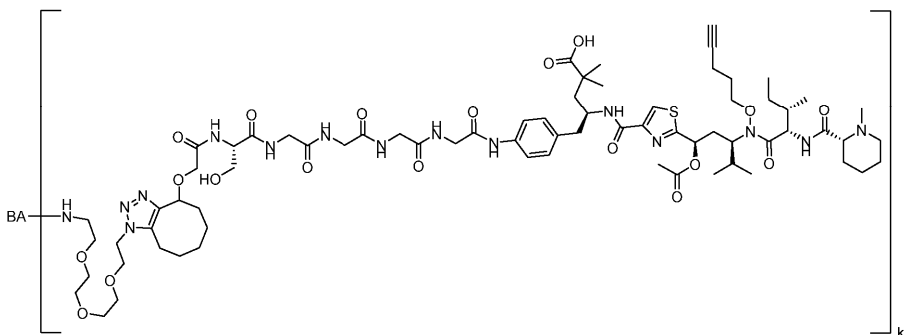


при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

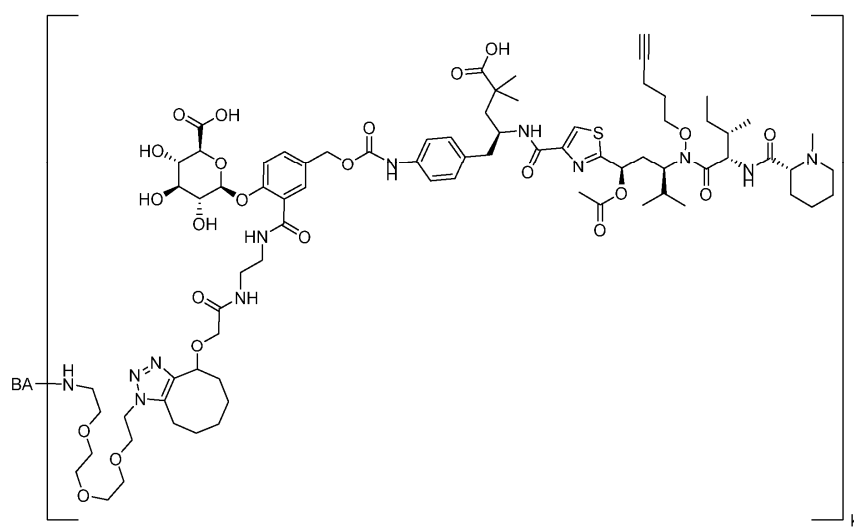
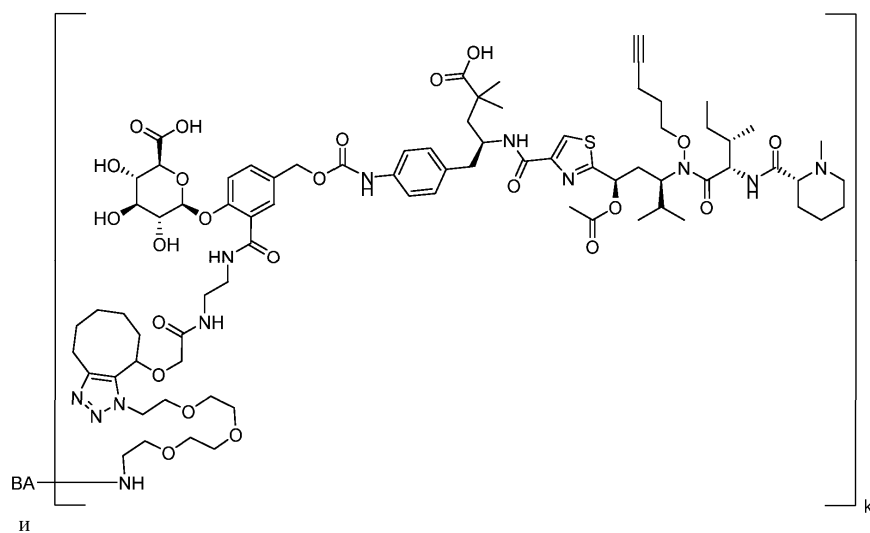


и



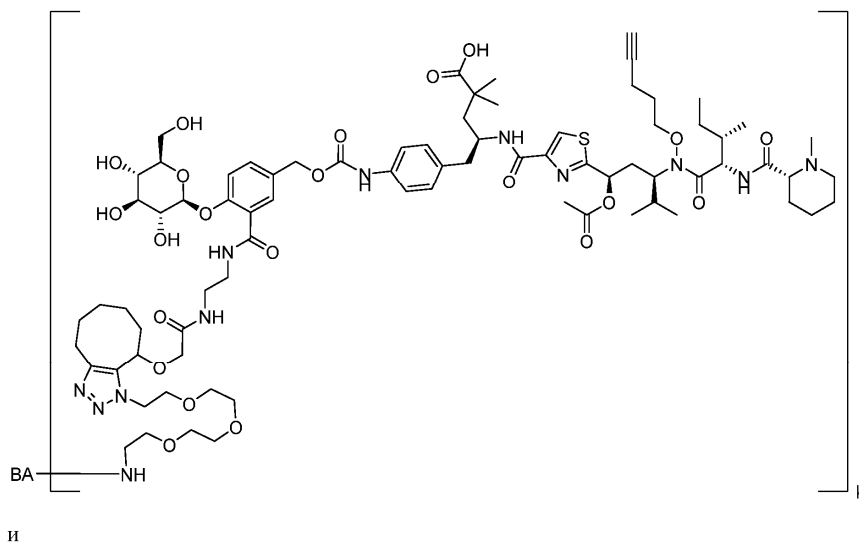
при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

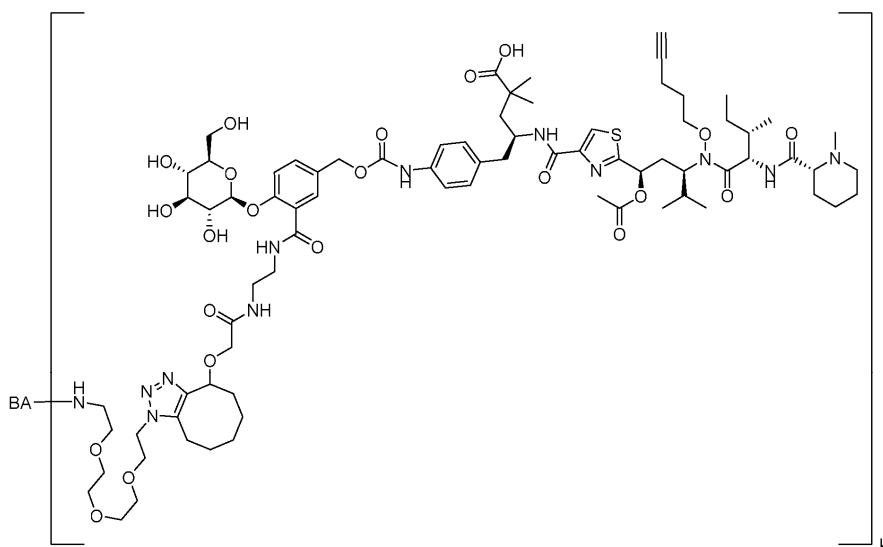
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:



при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

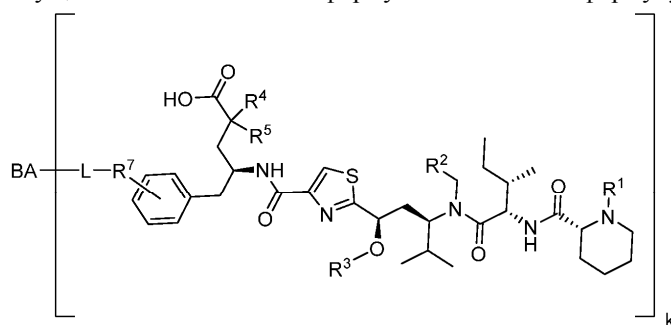
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:





при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из вариантов осуществления в данном пункте k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 1. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 2. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 3. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 4. В одном варианте осуществления формулы С, ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой $-\text{CH}_2-$; R^1 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил; R^2 представляет собой C_5 - C_{10} -алкинил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1$ - C_5 -алкил; R^4 и R^5 представляет собой независимо C_1 - C_5 -алкил; R^6 представляет собой $-\text{OH}$; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой $-\text{CH}_2-$; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентинил, гексинил, гептинил, октинил, нонинил или децинил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^6 представляет собой $-\text{OH}$; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

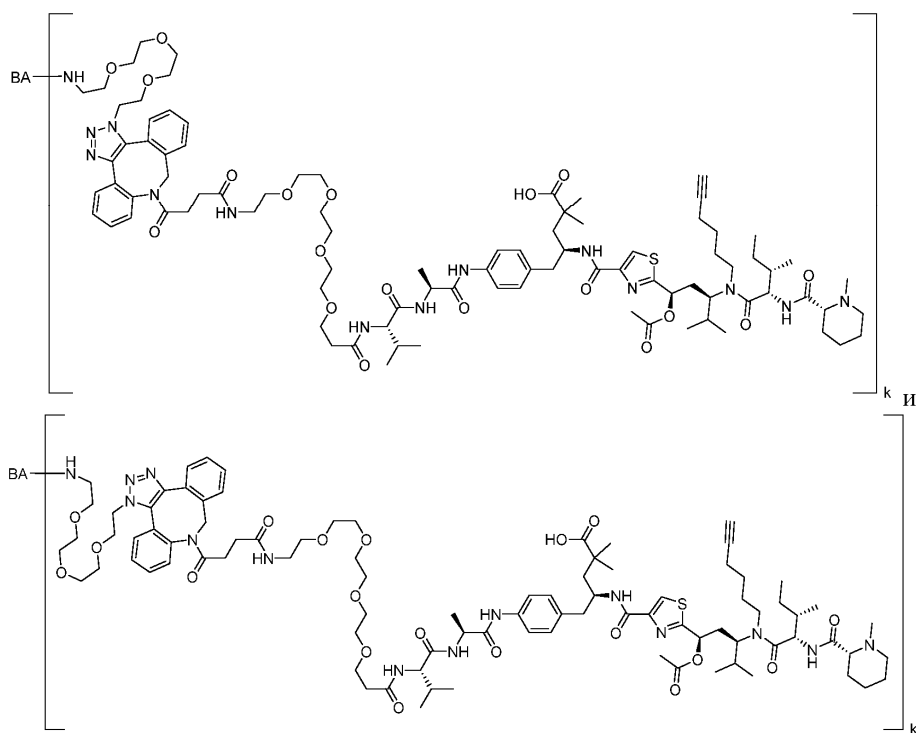
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают формулу Сi:



(Ci)

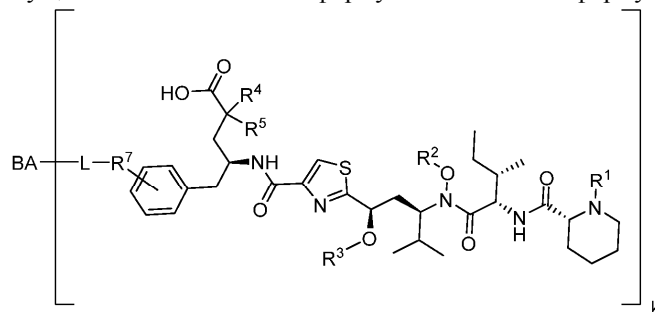
при этом ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентинил, гексинил, гептинил, октинил, нонинил или децинил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; R^4 и R^5 представляют собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и конституционные изомеры; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном варианте осуществления формулы О, ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил; R^2 представляет собой пентинил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$; R^4 и R^5 представляет собой метил; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:



при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из вариантов осуществления в данном пункте k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 1. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 2. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 3. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 4. В одном варианте осуществления формулы С, ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой -O-; R^1 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил; R^2 представляет собой C_5 - C_{10} -алкил; R^3 представляет собой -C(O) C_1 - C_5 -алкил; R^4 и R^5 представляет собой независимо C_1 - C_5 -алкил; R^6 представляет собой -OH; R^7 представляет собой -NH-; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой -O-; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^3 представляет собой -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₃ или -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^6 представляет собой -OH; R^7 представляет собой -NH-; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают формулу Сii:

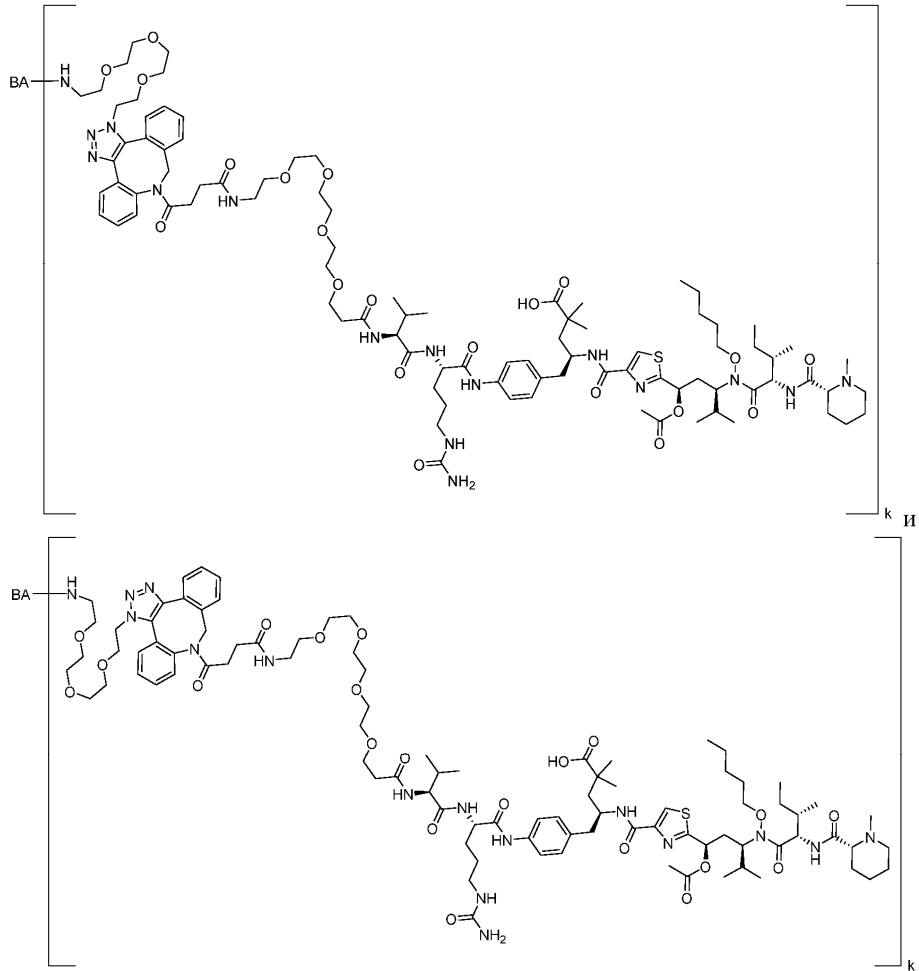


(Cii)

при этом ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^3 представляет собой -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₃, -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₃ или -C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^7 представляет собой -NH-; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном ва-

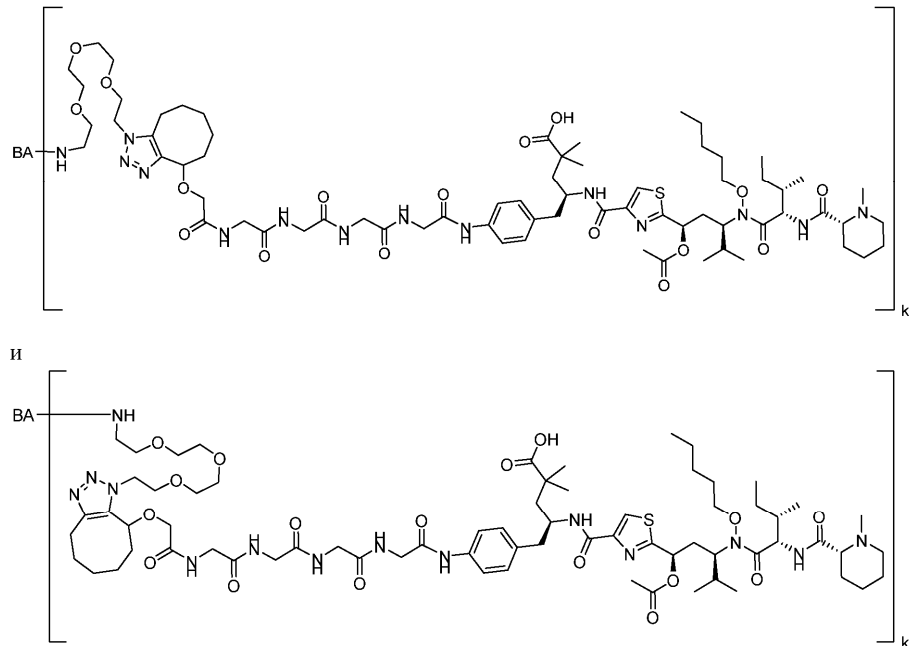
рианте осуществления формулы Сii ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R¹ представляет собой метил; R² представляет собой пентил; R³ представляет собой -C(O)CH₃; R⁴ и R⁵ представляет собой метил; R⁷ представляет собой -NH-; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:



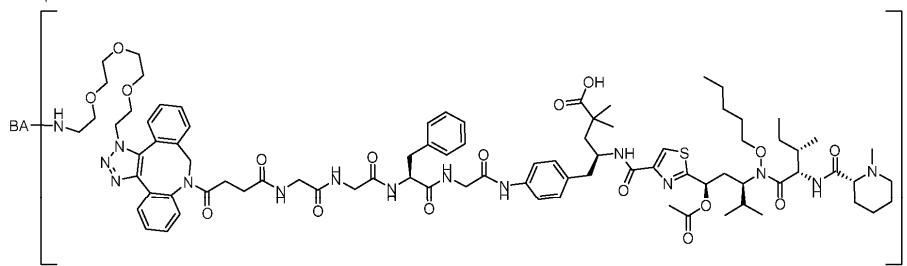
при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

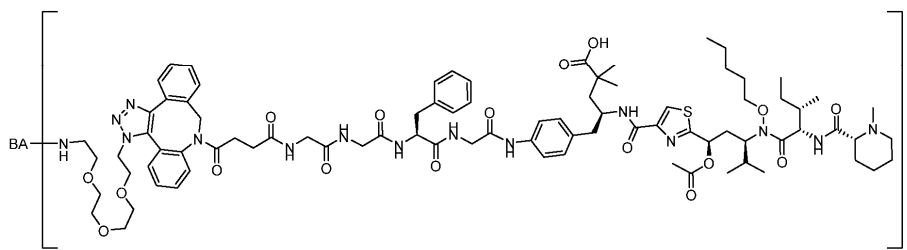


при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

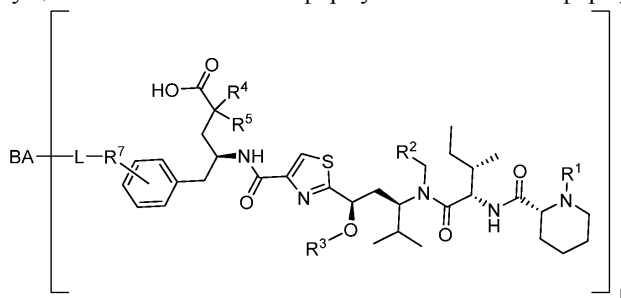


и



при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из вариантов осуществления в данном пункте k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 1. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 2. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 3. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 4. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой $-CH_2-$; R^1 представляет собой C_1-C_{10} -алкил; R^2 представляет собой C_5-C_{10} -алкинил; R^3 представляет собой $-C(O)C_1-C_5$ -алкил; R^4 и R^5 представляет собой независимо C_1-C_5 -алкил; R^6 представляет собой $-OH$; R^7 представляет собой $-NH-$; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой $-CH_2-$; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентинил, гексинил, гептинил, октинил, нонинил или децинил; R^3 представляет собой $-C(O)CH_3$, $-C(O)CH_2CH_3$, $-C(O)CH_2CH_2CH_3$, $-C(O)CH_2CH_2CH_2CH_3$ или $-C(O)CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^6 представляет собой $-OH$; R^7 представляет собой $-NH-$; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают формулу Сi:

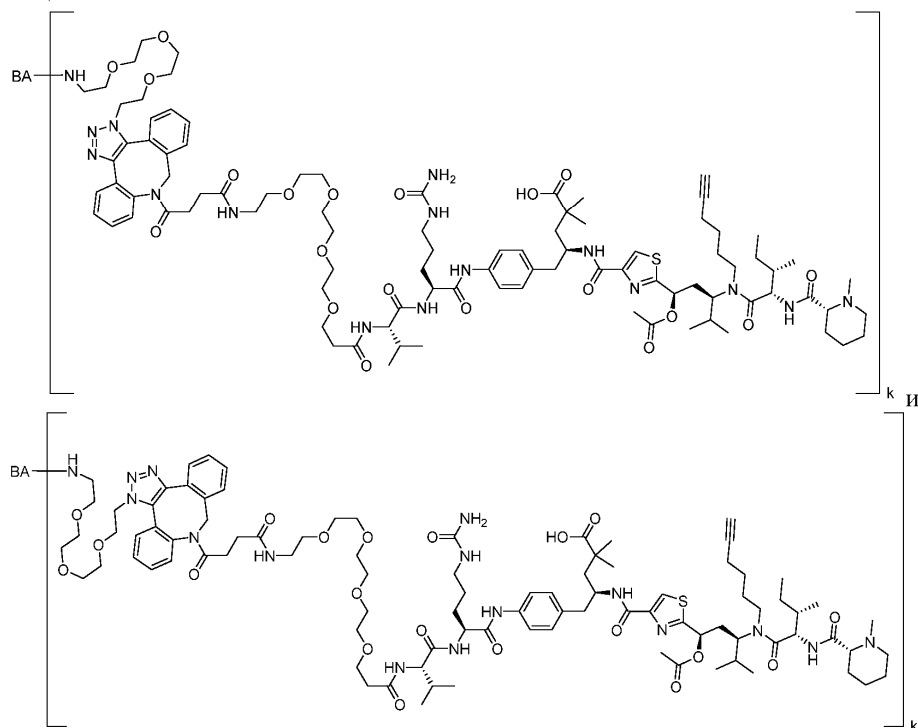


(Ci)

при этом ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентинил, гексинил, гептинил, октинил, нонинил или децинил; R^3 представляет собой $-C(O)CH_3$, $-C(O)CH_2CH_3$, $-C(O)CH_2CH_2CH_3$, $-C(O)CH_2CH_2CH_2CH_3$ или $-C(O)CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и конституционные изомеры; R^7 представляет собой $-NH-$; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном варианте осуществления формулы Сi, ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил; R^2 представляет собой пентинил; R^3 представляет собой $-C(O)CH_3$; R^4 и R^5 представляет собой метил; R^7 представляет собой $-NH-$; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

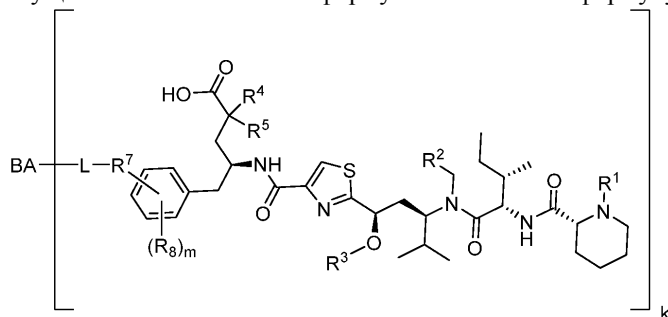
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из

группы, состоящей из:



при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из вариантов осуществления в данном пункте k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 1. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 2. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 3. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 4. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой $-\text{CH}_2-$; R^1 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил; R^2 представляет собой C_5 - C_{10} -алкил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1$ - C_5 -алкил; R^4 и R^5 представляет собой независимо C_1 - C_5 -алкил; R^6 представляет собой $-\text{OH}$; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; R^8 представляет собой галоген; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой $-\text{CH}_2-$; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^6 представляет собой $-\text{OH}$; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; R^8 представляет собой галоген; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

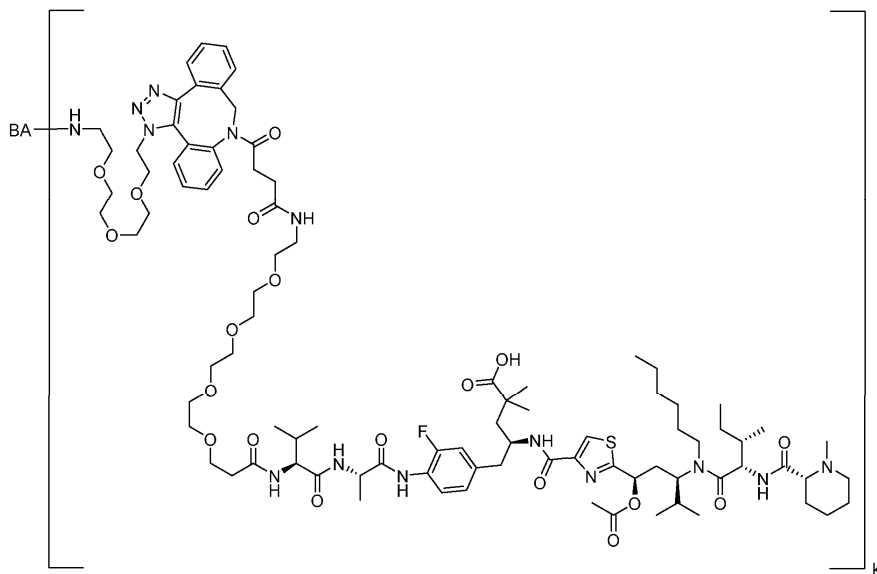
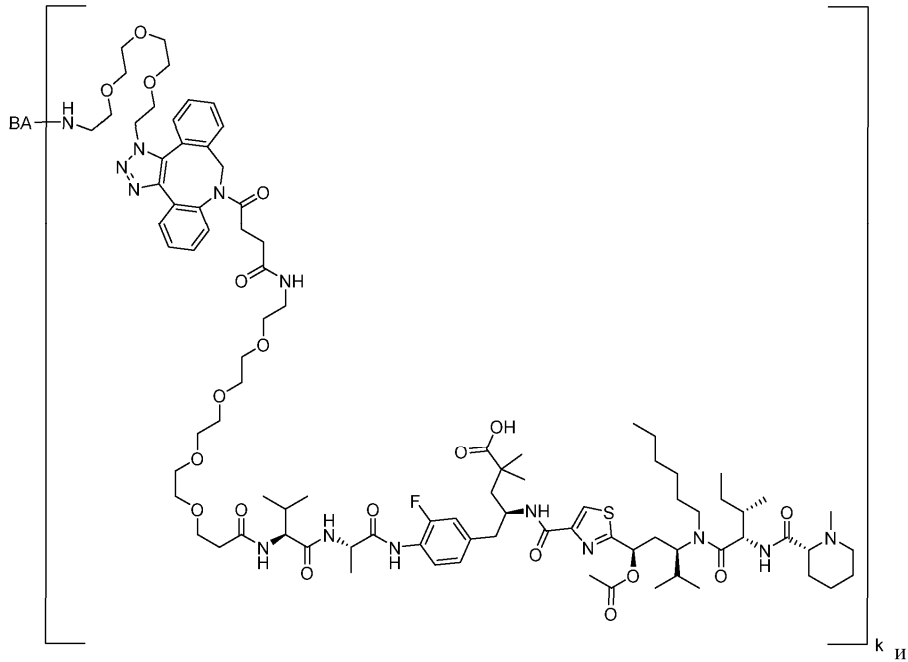
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают формулу Сiii:



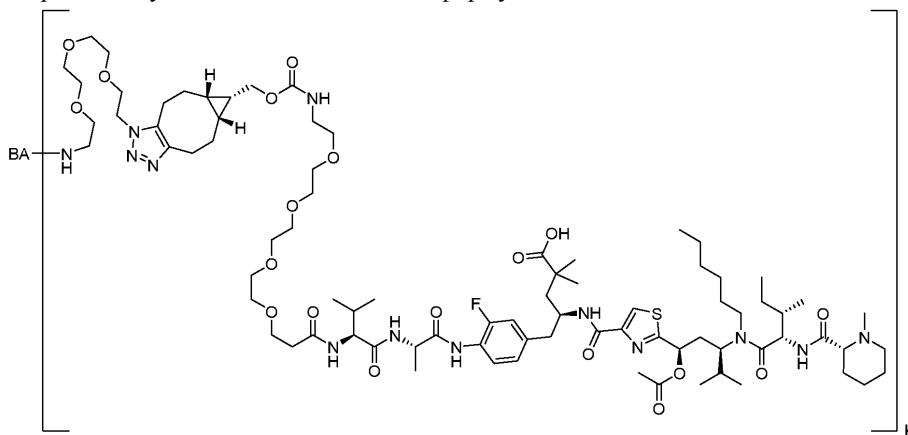
(Ciii)

при этом ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; R^8 представляет собой галоген; индекс m равен одному; и индекс k равен 1,

2, 3 или 4. В одном варианте осуществления формулы Ciii ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R¹ представляет собой метил; R² представляет собой пентил; R³ представляет собой -C(O)CH₃; R⁴ и R⁵ представляет собой метил; R⁷ представляет собой -NH-; R⁸ представляет собой галоген; m равно одному; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном варианте осуществления конъюгаты формулы C включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

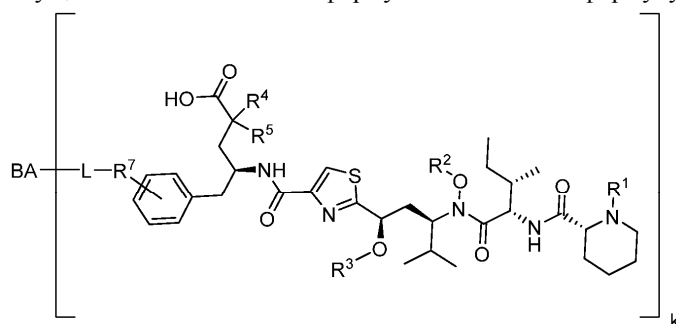


при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы C включают



при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте ВА представляет собой антителио или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из вариантов осуществления в данном пункте k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 1. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 2. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 3. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 4. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой -O-; R^1 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил; R^2 представляет собой C_5 - C_{10} -алкил; R^3 представляет собой -C(O)N(H) C_1 - C_{10} -алкил; R^4 и R^5 представляет собой независимо C_1 - C_5 -алкил; R^6 представляет собой -OH; R^7 представляет собой -NH-; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой -O-; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^3 представляет собой -C(O)N(H)CH₃, -C(O)N(H)CH₂CH₃, -C(O)N(H)CH₂CH₂CH₃, -C(O)N(H)CH₂CH₂CH₂CH₃ или -C(O)N(H)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^6 представляет собой -OH; R^7 представляет собой -NH-; R^8 представляет собой водород; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

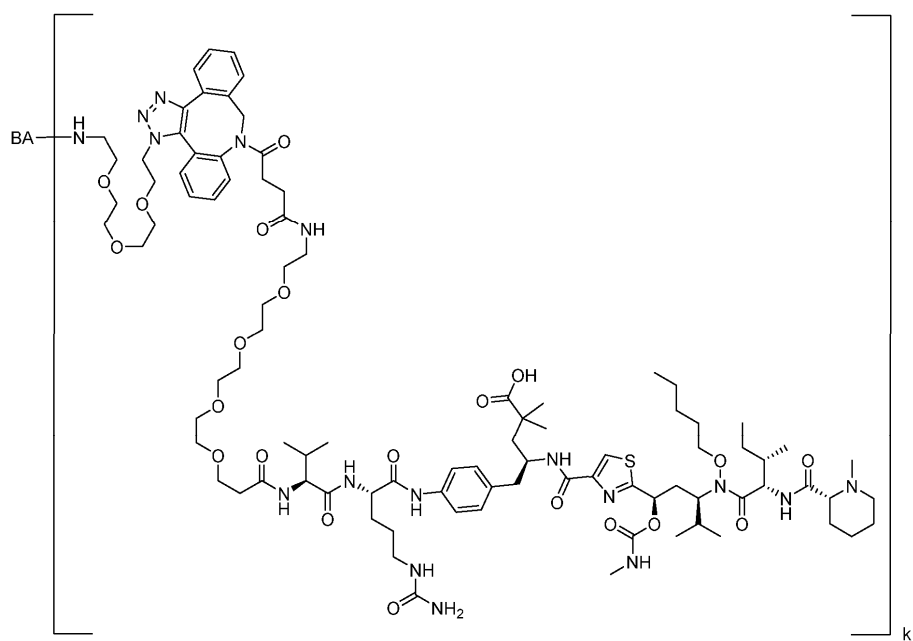
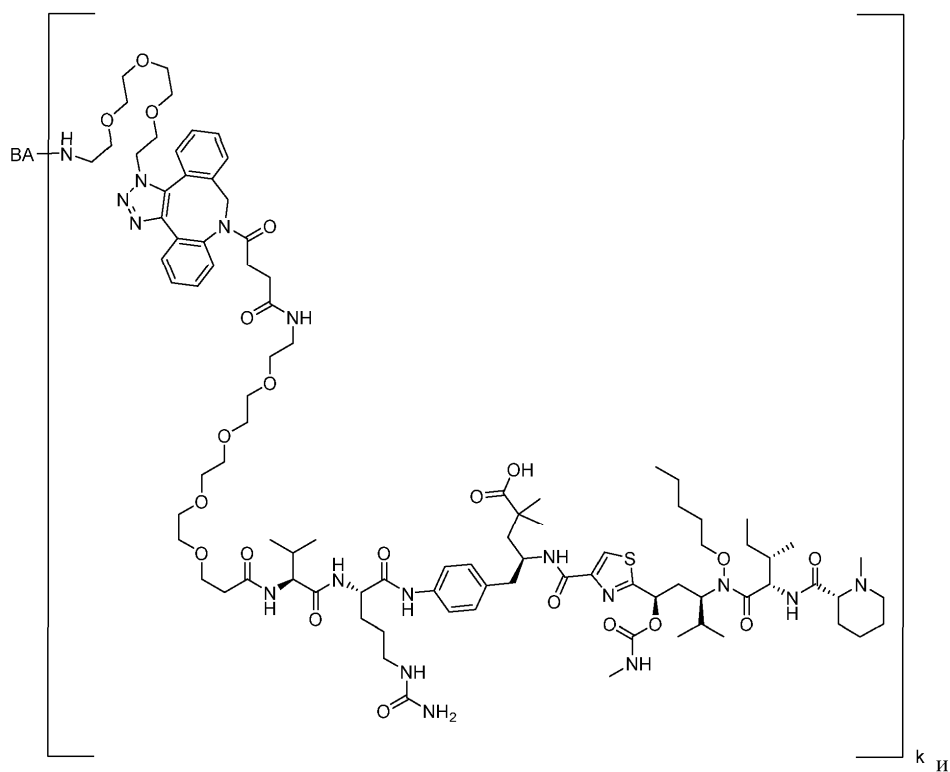
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают формулу Сii:



(Cii)

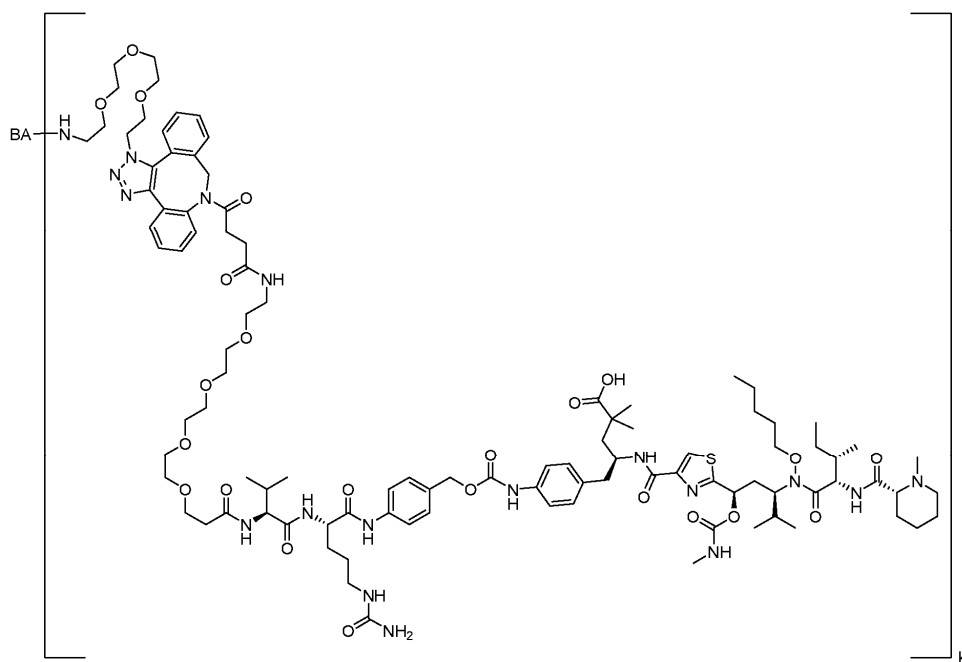
при этом ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^3 представляет собой -C(O)N(H)CH₃, -C(O)N(H)CH₂CH₃, -C(O)N(H)CH₂CH₂CH₃, -C(O)N(H)CH₂CH₂CH₂CH₃ или -C(O)N(H)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; R^4 и R^5 представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^7 представляет собой -NH-; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном варианте осуществления формулы Сii ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R^1 представляет собой метил; R^2 представляет собой пентил; R^3 представляет собой -C(O)N(H)CH₃; R^4 и R^5 представляет собой метил; R^7 представляет собой -NH-; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:

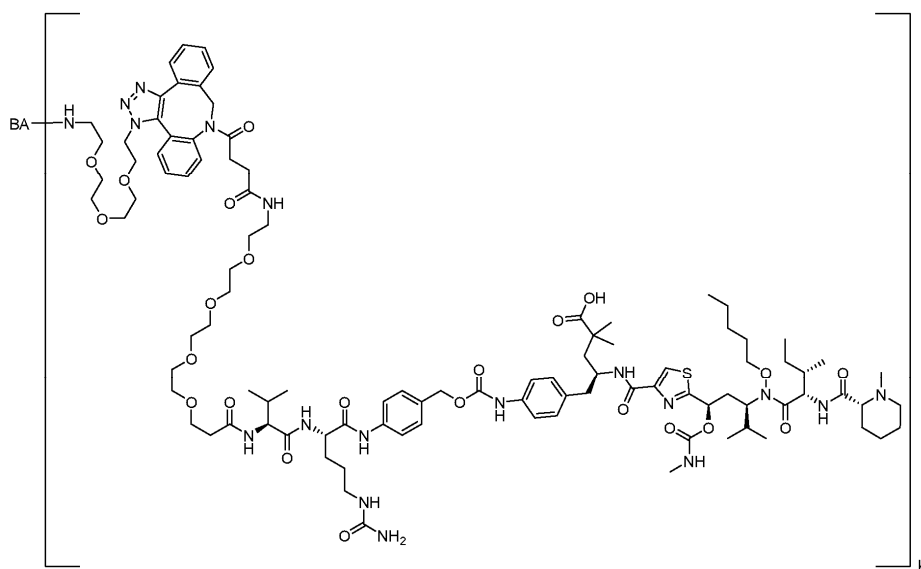


при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:



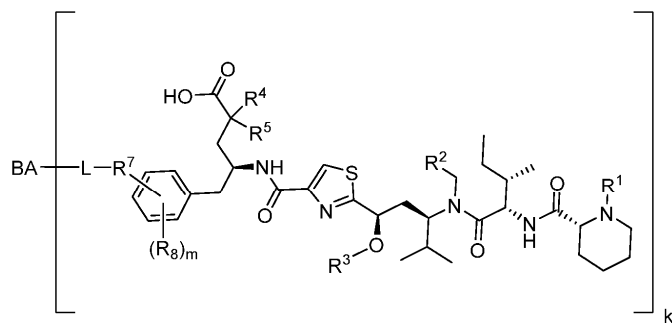
И



при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

В любом из вариантов осуществления в данном пункте ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из вариантов осуществления в данном пункте k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 1. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 2. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 3. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 4. В одном варианте осуществления формулы С, ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой $-\text{CH}_2-$; R^1 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил; R^2 представляет собой C_5 - C_{10} -алкил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{C}_1$ - C_5 -алкил; R^4 и R^5 представляет собой независимо C_1 - C_3 -алкил; R^6 представляет собой $-\text{OH}$; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; R^8 представляет собой галоген; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления формулы С ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; Q представляет собой $-\text{CH}_2-$; R^1 представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R^2 представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил; R^3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; R^4 и R^5 представляют собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R^6 представляет собой $-\text{OH}$; R^7 представляет собой $-\text{NH}-$; R^8 представляет собой галоген; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

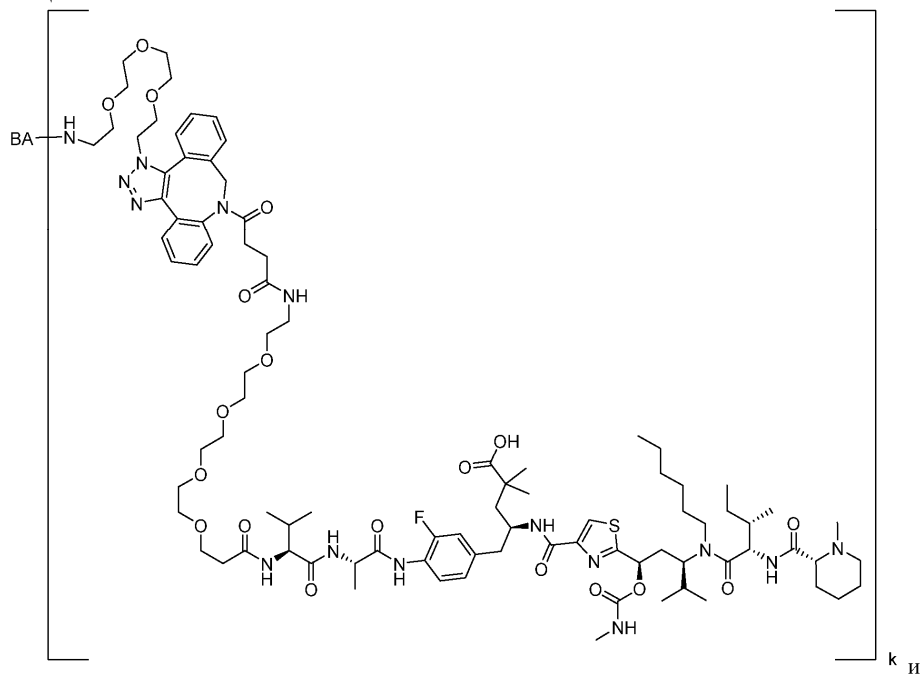
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают формулу Ciii:

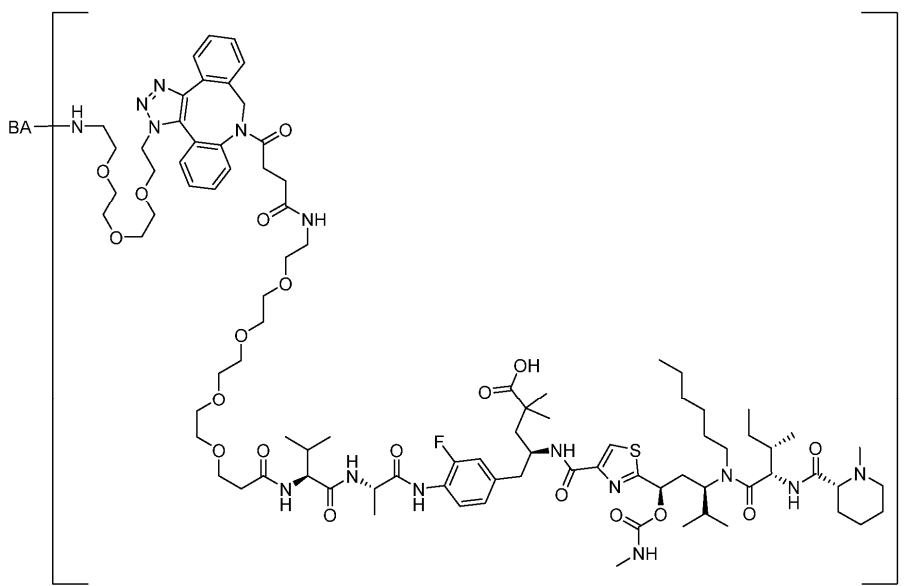


(Ciii)

при этом ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R¹ представляет собой метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил и их конституционные изомеры; R² представляет собой пентил, гексил, гептил, октил, нонил или децил; R³ представляет собой -C(O)N(H)CH₃, -C(O)N(H)CH₂CH₃, -C(O)N(H)CH₂CH₂CH₃, -C(O)N(H)CH₂CH₂CH₂CH₃ или -C(O)N(H)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; R⁴ и R⁵ представляет собой независимо метил, этил, пропил, бутил или пентил и их конституционные изомеры; R⁷ представляет собой -NH-; R⁸ представляет собой галоген; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В одном варианте осуществления формулы Ciii ВА представляет собой связующий агент; L представляет собой линкер; R¹ представляет собой метил; R² представляет собой пентил; R³ представляет собой -C(O)N(H)CH₃; R⁴ и R⁵ представляет собой метил; R⁷ представляет собой -NH-; R⁸ представляет собой галоген; индекс m равен одному; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4.

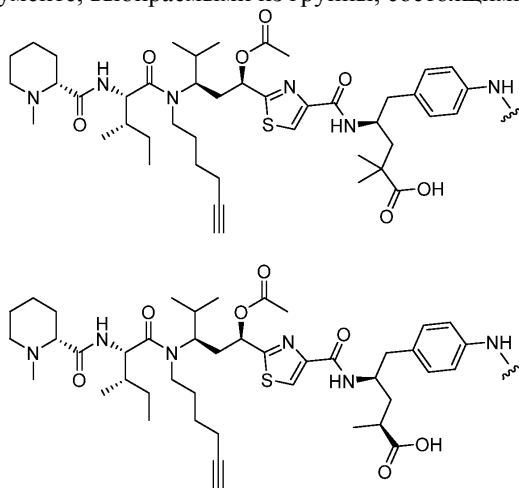
В одном варианте осуществления конъюгаты формулы С включают соединение, выбираемое из группы, состоящей из:



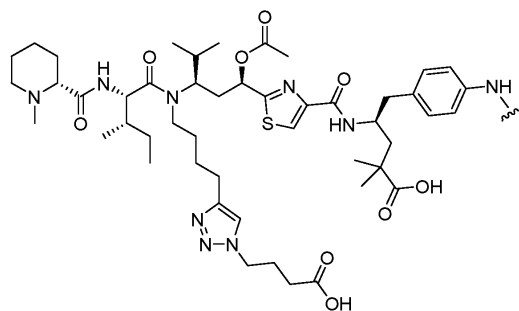
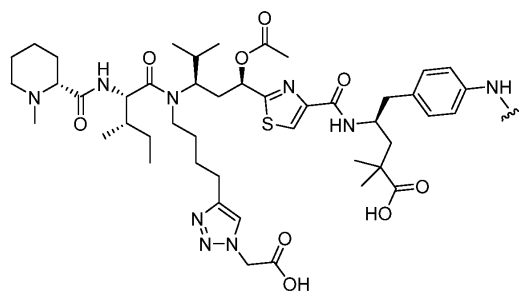
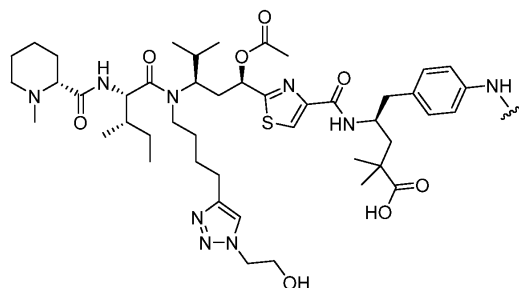
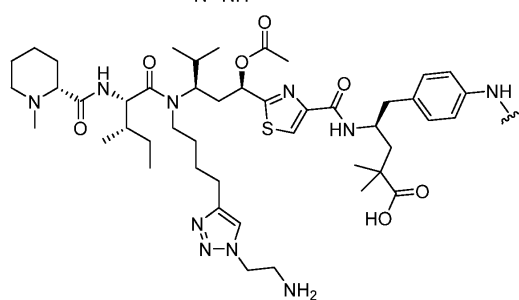
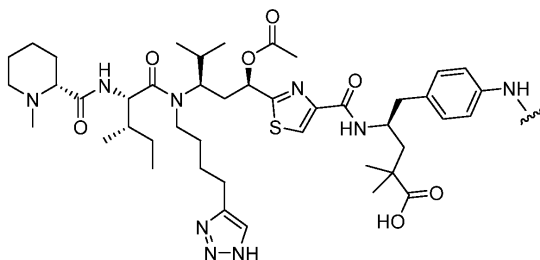
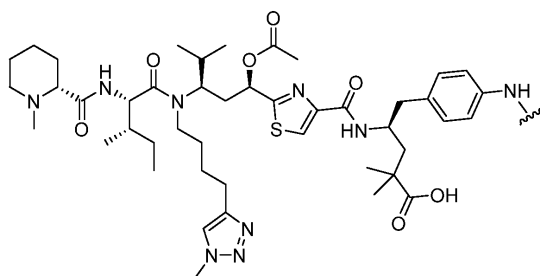


при этом ВА представляет собой связующий агент; и индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из вариантов осуществления в данном пункте k находится в диапазоне 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 или 1-4. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 1. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 2. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 3. В любом из вариантов осуществления в данном пункте индекс k равен 4.

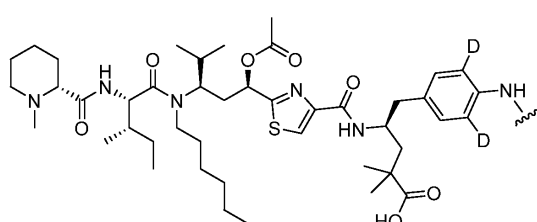
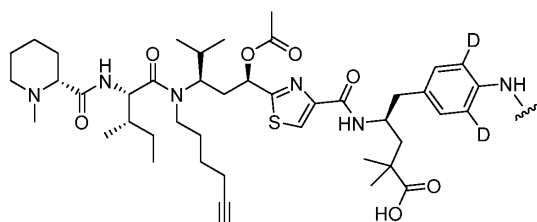
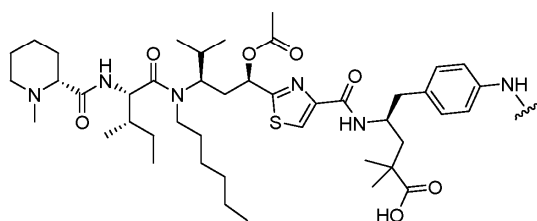
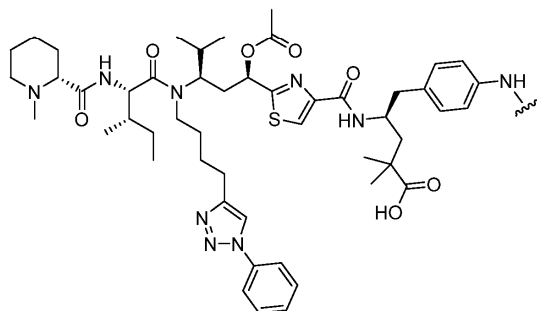
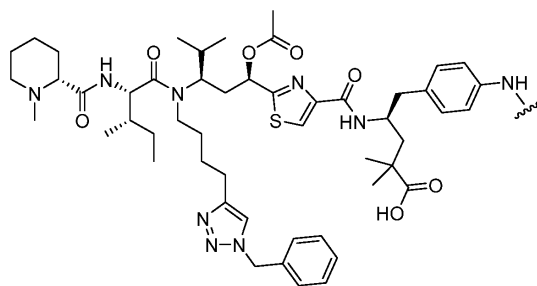
В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть конъюгированы напрямую с любым одним или более соединениями формул I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и/или XII, описанными в настоящем документе. В одном варианте осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с одним или более соединениями формул I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и/или XII, описанными в настоящем документе, выбираемыми из группы, состоящими из

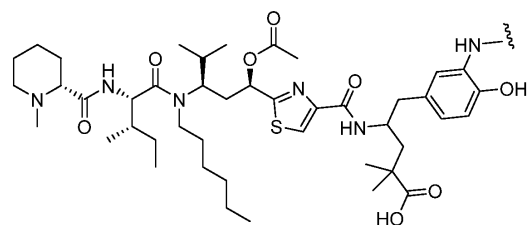
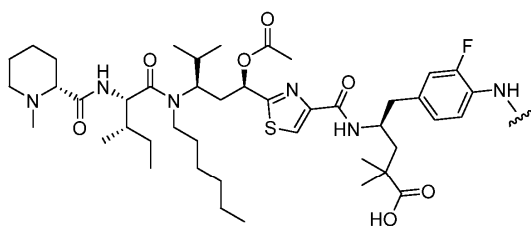
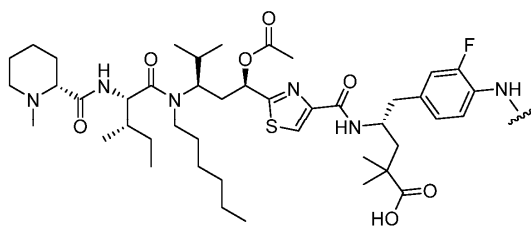
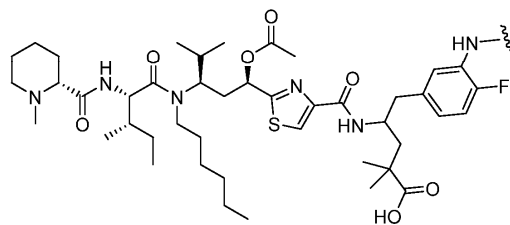
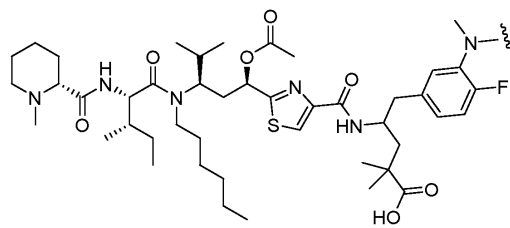


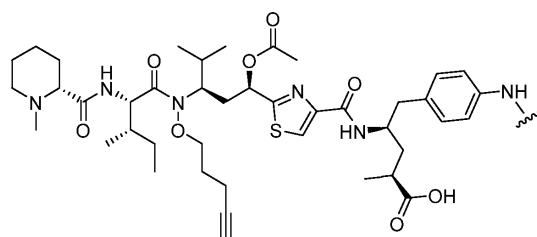
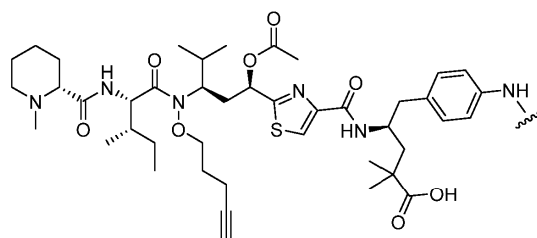
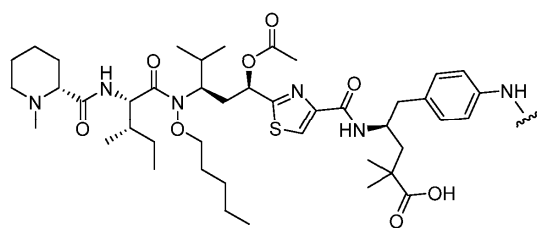
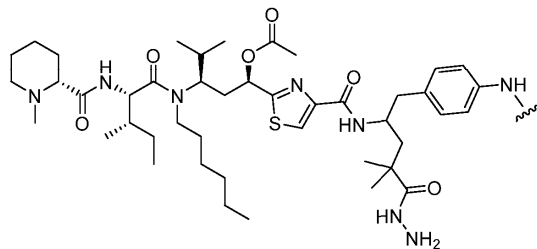
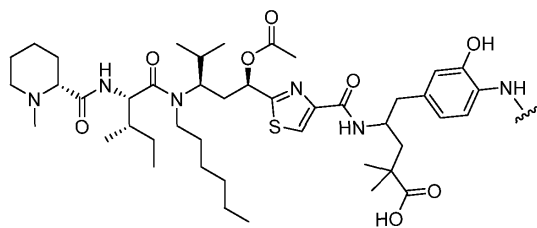
047625

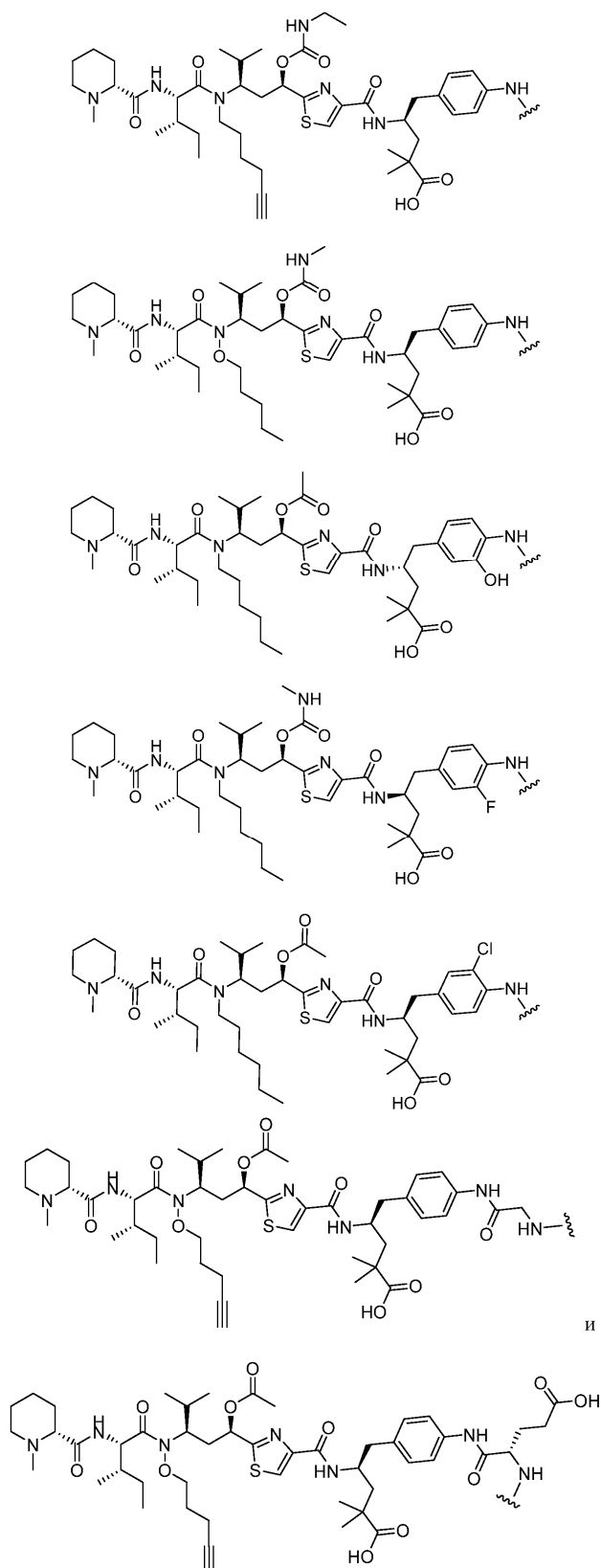


047625

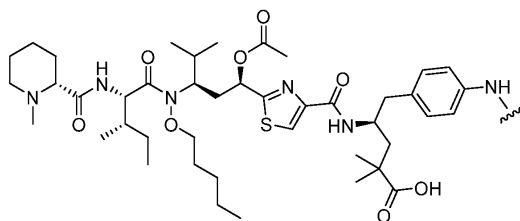




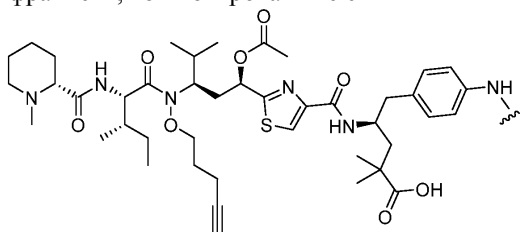




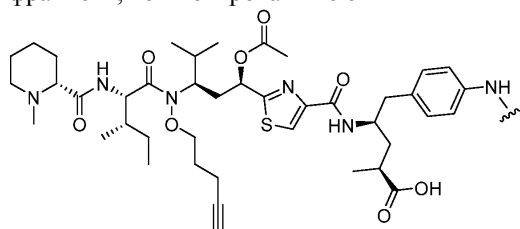
В одном варианте осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с



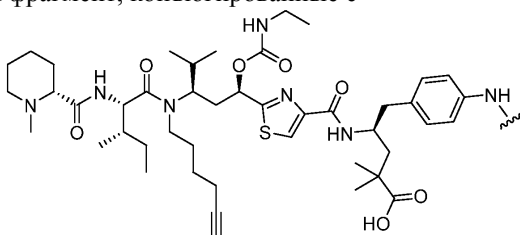
В одном варианте осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с



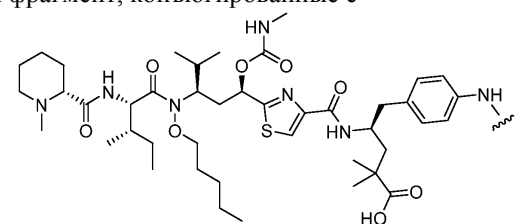
В одном варианте осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с



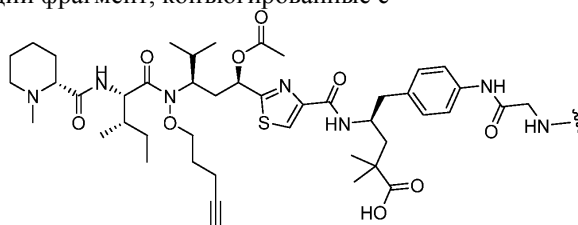
В одном варианте осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с



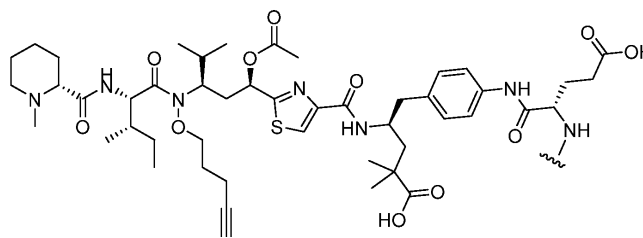
В одном варианте осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с



В одном варианте осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с



В одном варианте осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с



В любом из представленных вариантов осуществления соединений или конъюгатов ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с PRLR. В любом из представленных вариантов осуществления соединений или конъюгатов ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с STEAP2. В любом из представленных вариантов осуществления соединений или конъюгатов ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и конъюгация осуществляется через минимум один остаток Q295. В любом из представленных вариантов осуществления соединений или конъюгатов ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и конъюгация осуществляется через два остатка Q295. В любом из представленных вариантов осуществления соединений или конъюгатов ВА представляет собой антитело N297Q или его антигенсвязывающий фрагмент. В любом из представленных вариантов осуществления соединений или конъюгатов ВА представляет собой антитело N297Q или его антигенсвязывающий фрагмент, и конъюгация осуществляется минимум через один остаток Q295 и минимум один остаток Q297. В любом из представленных вариантов осуществления соединений или конъюгатов ВА представляет собой антитело N297Q или его антигенсвязывающий фрагмент, и конъюгация осуществляется минимум через два остатка Q295 и два остатка Q297. В конкретных вариантах осуществления нумерация соответствует системе нумерации EU.

В любом из представленных выше вариантов осуществления ВА представляет собой антитело к STEAP2. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело к STEAP2 H1H7814N, описанное далее в разделе "Примеры". В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело к STEAP2 H1H7814N N297Q, описанное далее в разделе "Примеры". В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело к STEAP2, содержащее HCVR согласно SEQ ID № 1 и LCVR согласно SEQ ID № 5. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело N297Q, содержащее HCVR согласно SEQ ID № 1 и LCVR согласно SEQ ID № 5. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело к STEAP2, содержащее одну, две, три, четыре, пять или шесть HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 согласно SEQ ID № 2, 3, 4, 6, 7 и 8, соответственно. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело N297Q, содержащее одну, две, три, четыре, пять или шесть HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 согласно SEQ ID № 2, 3, 4, 6, 7 и 8, соответственно. N297Q указывает, что один или более остатков 297 мутированы из аспарагина (N) в глутамин (Q). Предпочтительно каждый остаток 297 мутирован в Q. В предпочтительных вариантах осуществления нумерация соответствует системе нумерации EU. В определенных вариантах осуществления данного пункта k находится в диапазоне от 1 до 4. В определенных вариантах осуществления индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В определенных вариантах осуществления индекс k равен 4.

В любом из представленных выше вариантов осуществления ВА представляет собой антитело к PRLR. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело к PRLR H1H6958N2, описанное далее в разделе "Примеры". В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело к PRLR H1H6958N2 N297Q, описанное далее в разделе "Примеры". В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело к PRLR, содержащее HCVR согласно SEQ ID № 9 и LCVR согласно SEQ ID № 13. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело N297Q, содержащее HCVR согласно SEQ ID № 9 и LCVR согласно SEQ ID № 13. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело к PRLR, содержащее одну, две, три, четыре, пять или шесть HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 согласно SEQ ID № 10, 11, 12, 14, 15 и 16, соответственно. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело N297Q, содержащее одну, две, три, четыре, пять или шесть HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 согласно SEQ ID № 10, 11, 12, 14, 15 и 16, соответственно. N297Q указывает, что один или более остатков 297 мутированы из аспарагина (N) в глутамин (Q). Предпочтительно каждый остаток 297 мутирован в Q. В предпочтительных вариантах осуществления нумерация соответствует системе нумерации EU. В определенных вариантах осуществления данного пункта k находится в диапазоне от 1 до 4. В определенных вариантах осуществления индекс k равен 1, 2, 3 или 4. В определенных вариантах осуществления индекс k равен 4.

В любом предшествующем варианте осуществления в данном разделе R⁷ представляет собой -NR^{7a}R^{7b}, при этом R^{7a} и R^{7b} представляют собой независимо в каждом случае водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил, ацил и аминокислотный остаток, при этом алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, арил, гетероарил и ацил необязательно замещены. В определенных вариантах осуществ-

вления R^{7a} представляет собой водород и R^{7b} представляет собой аминокислотный остаток.

Способы приготовления соединений или нагрузок и линкер-нагрузок.

Представленные здесь соединения можно приготовить, выделить или получить любым способом, известным специалистам в данной области. Примеры способов приготовления подробно описаны далее в разделе "Примеры". В определенных вариантах осуществления представленные здесь соединения, в общем, можно приготовить в соответствии со схемами A-D.

Схема А. Пример схемы приготовления

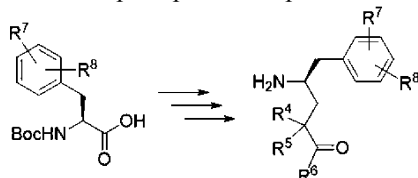


Схема В. Пример схемы приготовления

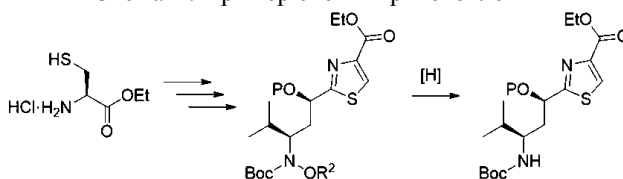


Схема С. Пример схемы приготовления

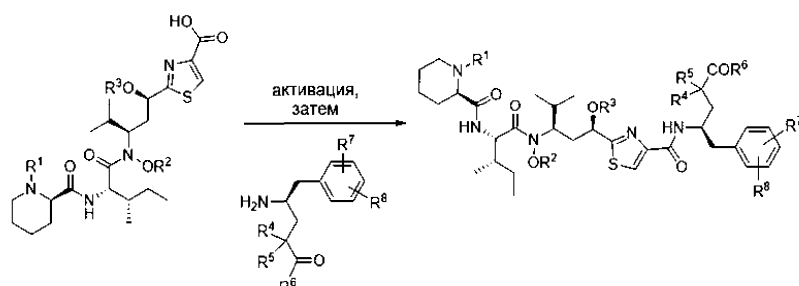
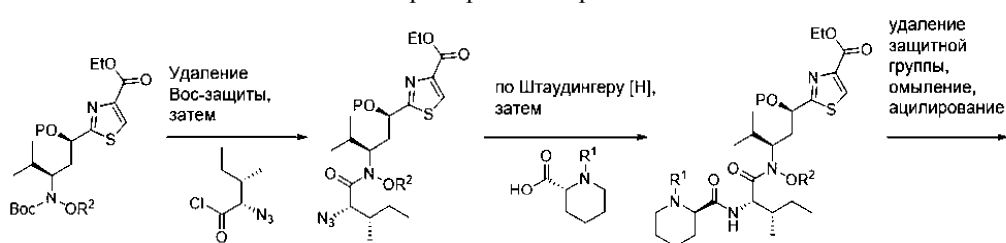
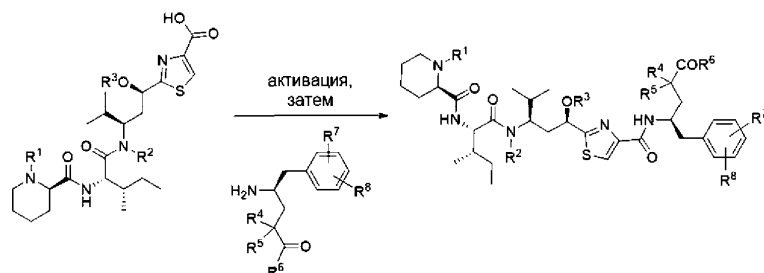
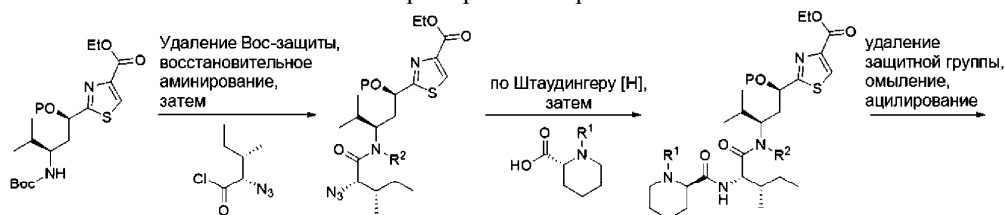


Схема D. Пример схемы приготовления

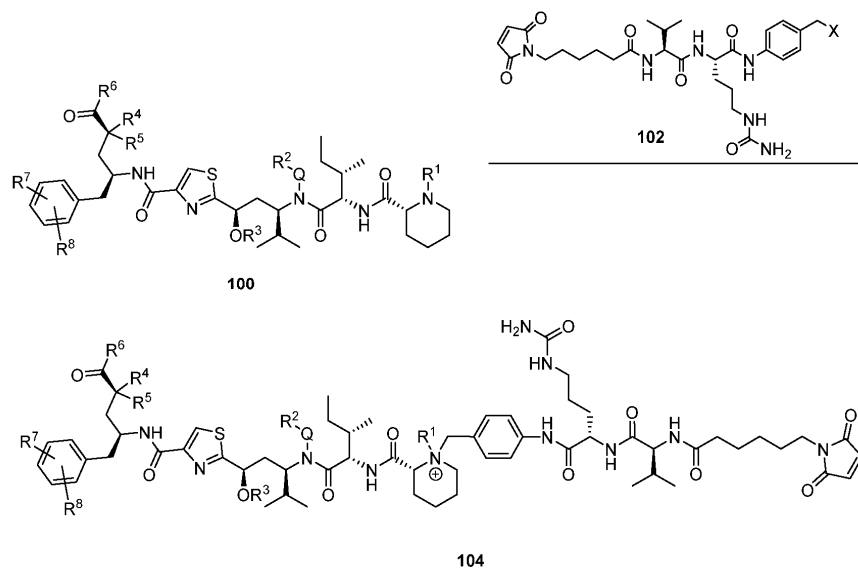


На приведенных выше примерах схем приготовления R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 соответствуют описаниям в контексте формулы I. На схеме А аминокислоты гомологизировали и затем гем-диметилировали на α -углероде. N-сульфонилкарбоксамиды можно приготовить с помощью $H_2NSO_2R^{60}$ в стандартных условиях, что известно специалистам в данной области. На схеме В цистеин участвовал в

циклизации по направлению к образованию тиазола, за чем последовала альдольная конденсация и присоединение по Михаэлю Вос-защищенных N-алкоксиаминов. Вос-защищенный N-алкоксиамин затем восстановили до Вос-защищенного производного амина. На схеме С Вос-защищенные N-алкоксиамины были лишены защитной группы и ацилированы. После восстановления азидов по Штаудингеру последовало амидирование. В результате депротекции спиртов, омыления эфиров и ацилирования спиртов получили предпоследние промежуточные соединения. В результате активации карбоксилатов с последующим амидированием получили соединения формулы I. Реакции на схеме D были аналогичными, при этом восстановительное аминирование было проведено в начале синтеза, и за ним последовали аналогичные этапы Схемы С, в результате чего также получили соединения формулы I. Примеры способов приготовления подробно описаны в нижеприведенном разделе "Примеры".

Описанные здесь линкер-нагрузки, в основном, можно синтезировать посредством серии этапов связывания, показанных на схемах E-H, J, K, M и N:

Схема E. Пример схемы приготовления



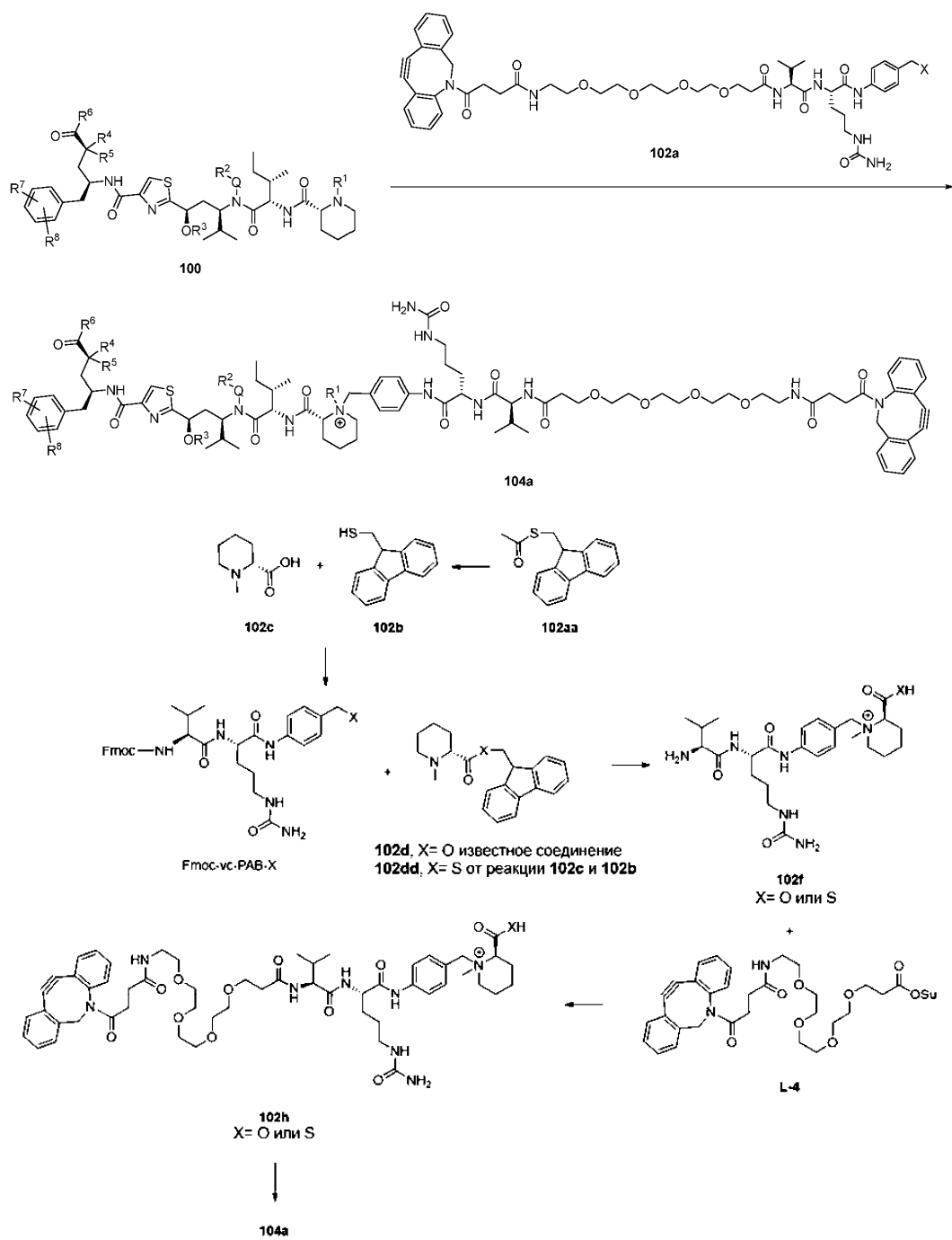


Схема F. Пример схемы приготовления

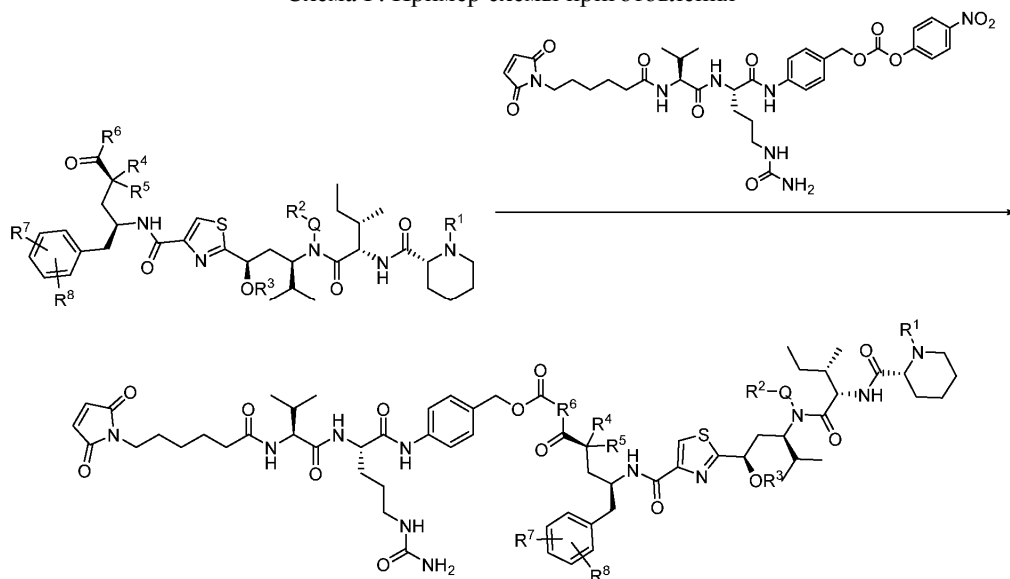


Схема G. Пример схемы приготовления

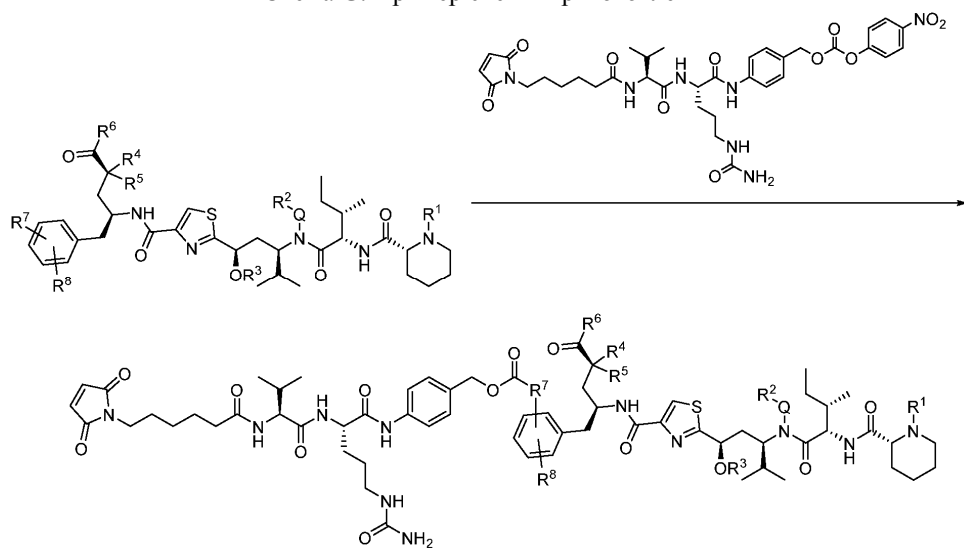


Схема Н. Пример схемы приготовления

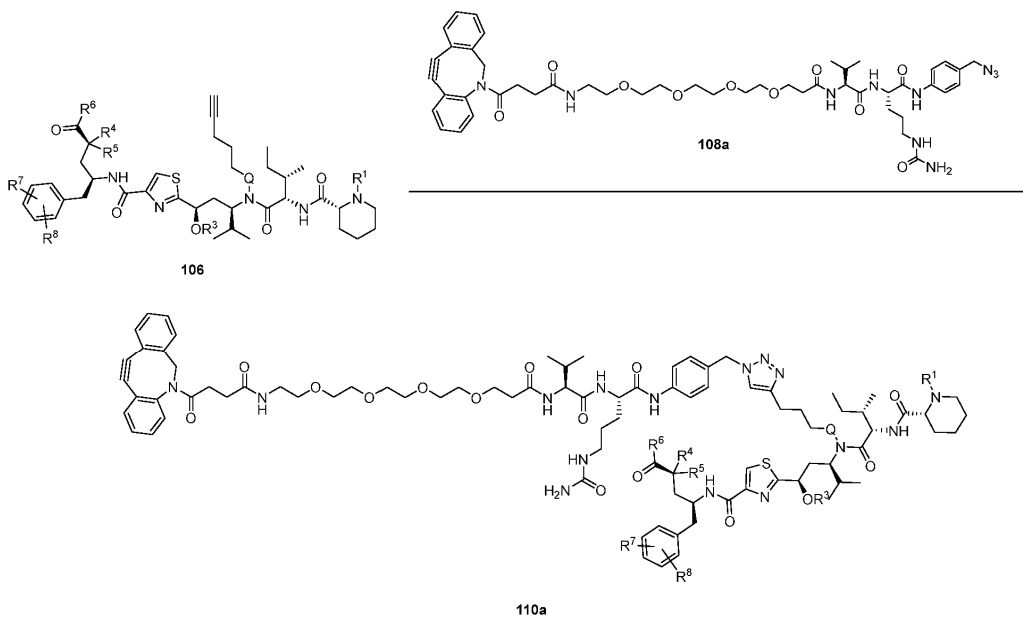
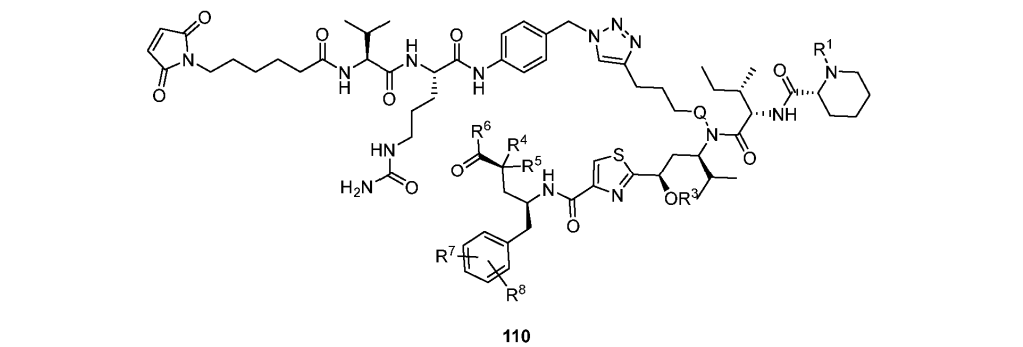
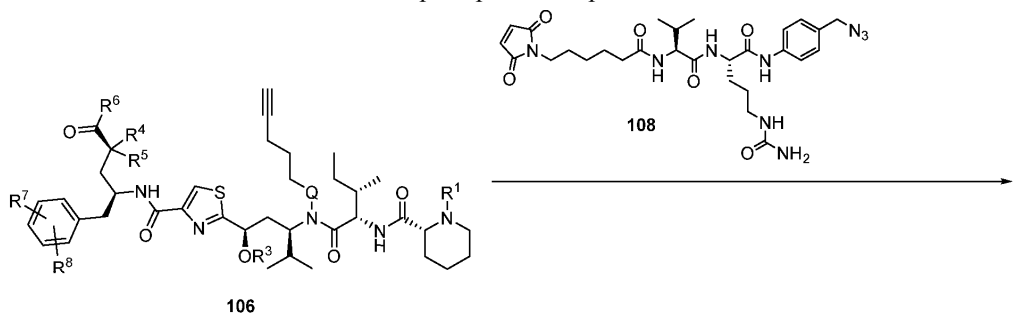


Схема J. Пример схемы приготовления

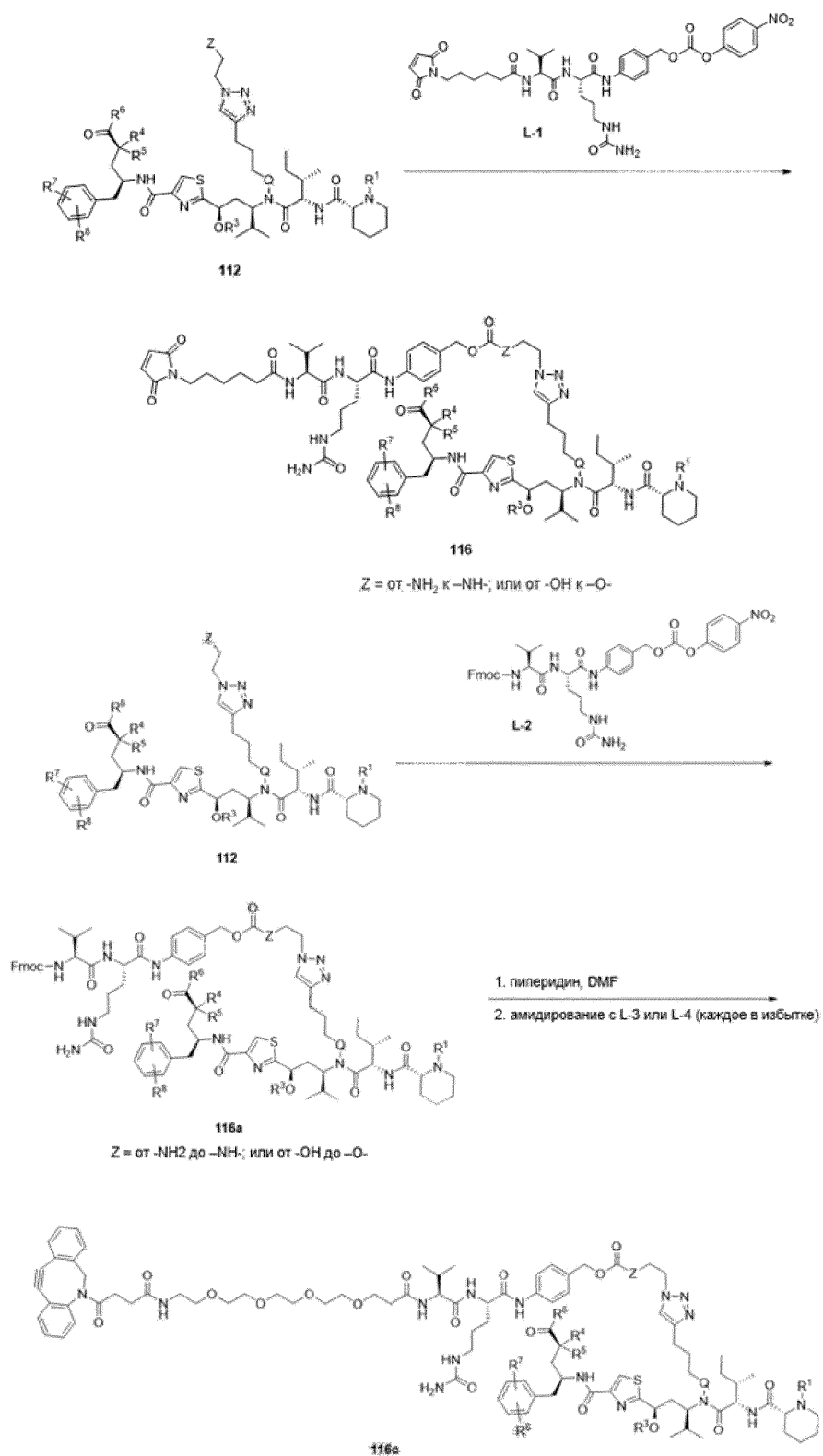


Схема К. Пример схемы приготовления

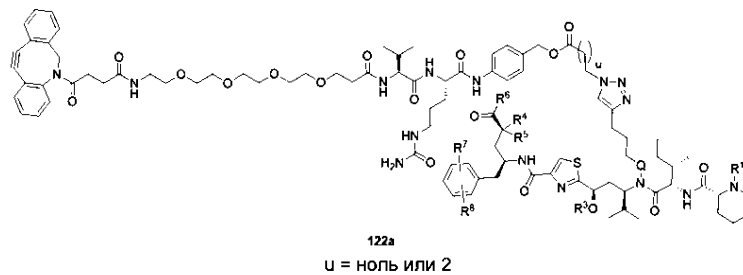
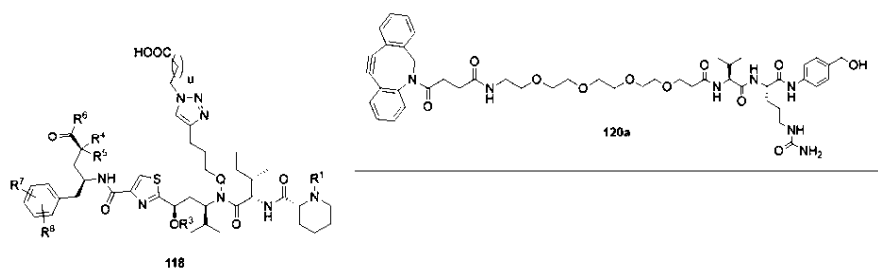
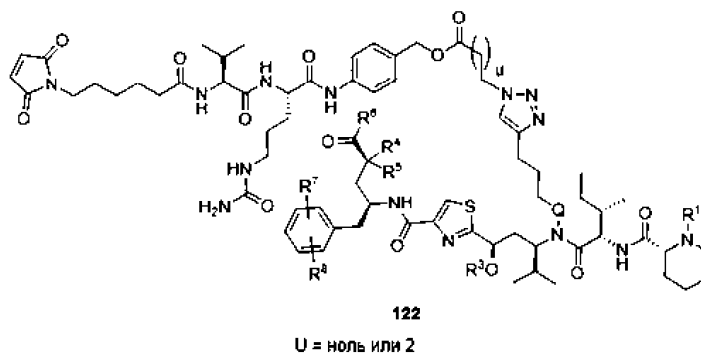
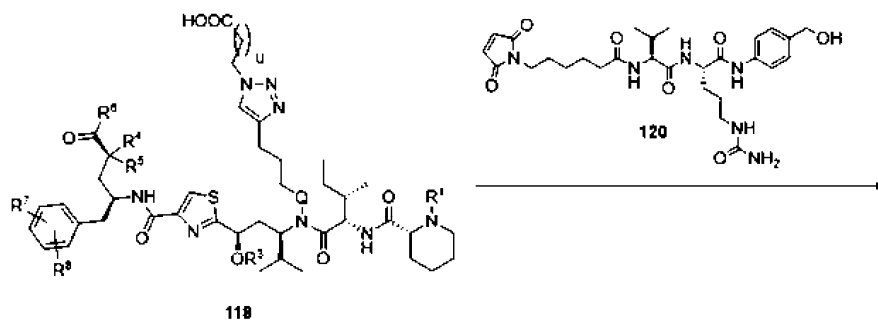


Схема М. Пример схемы приготовления

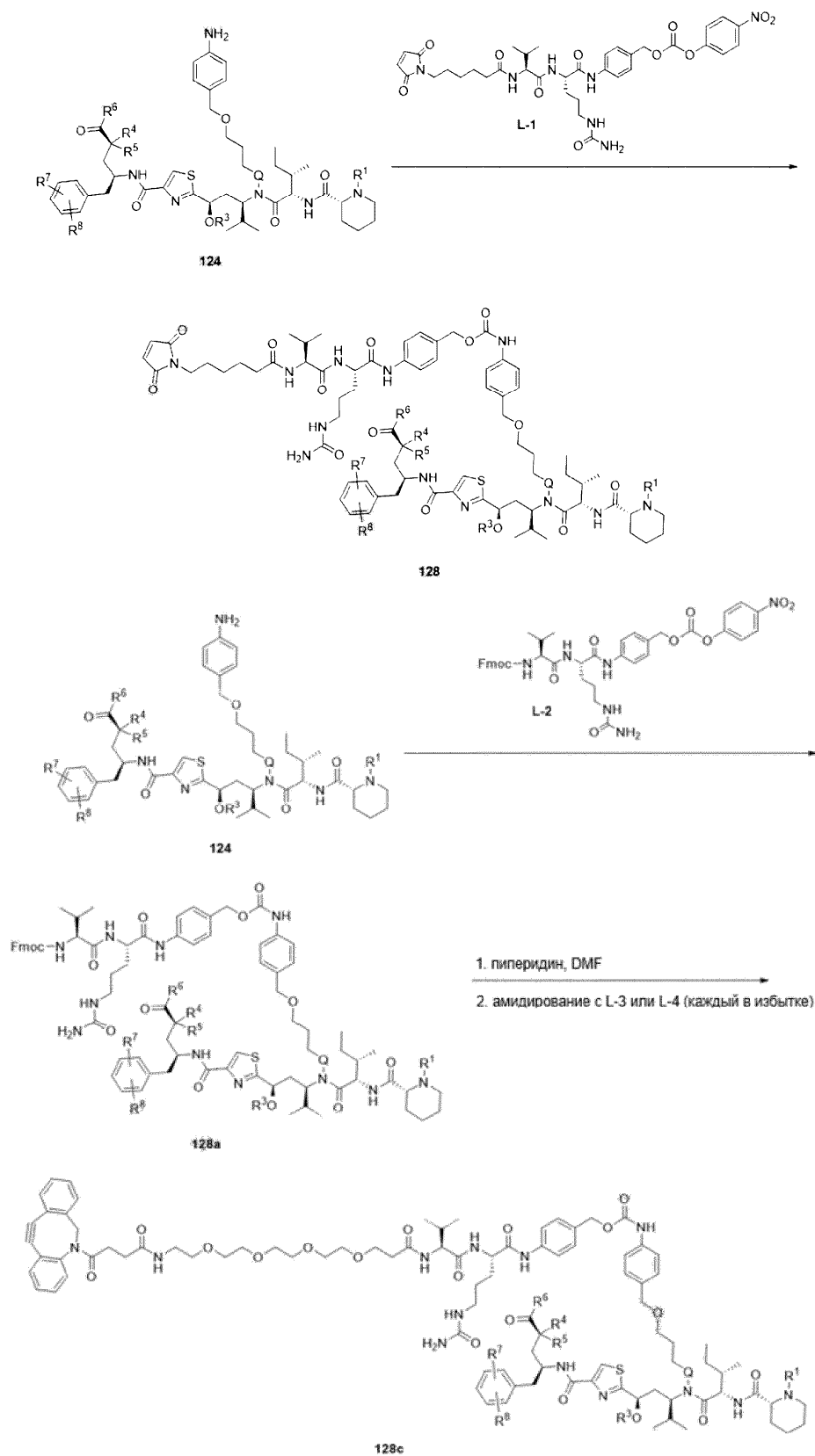
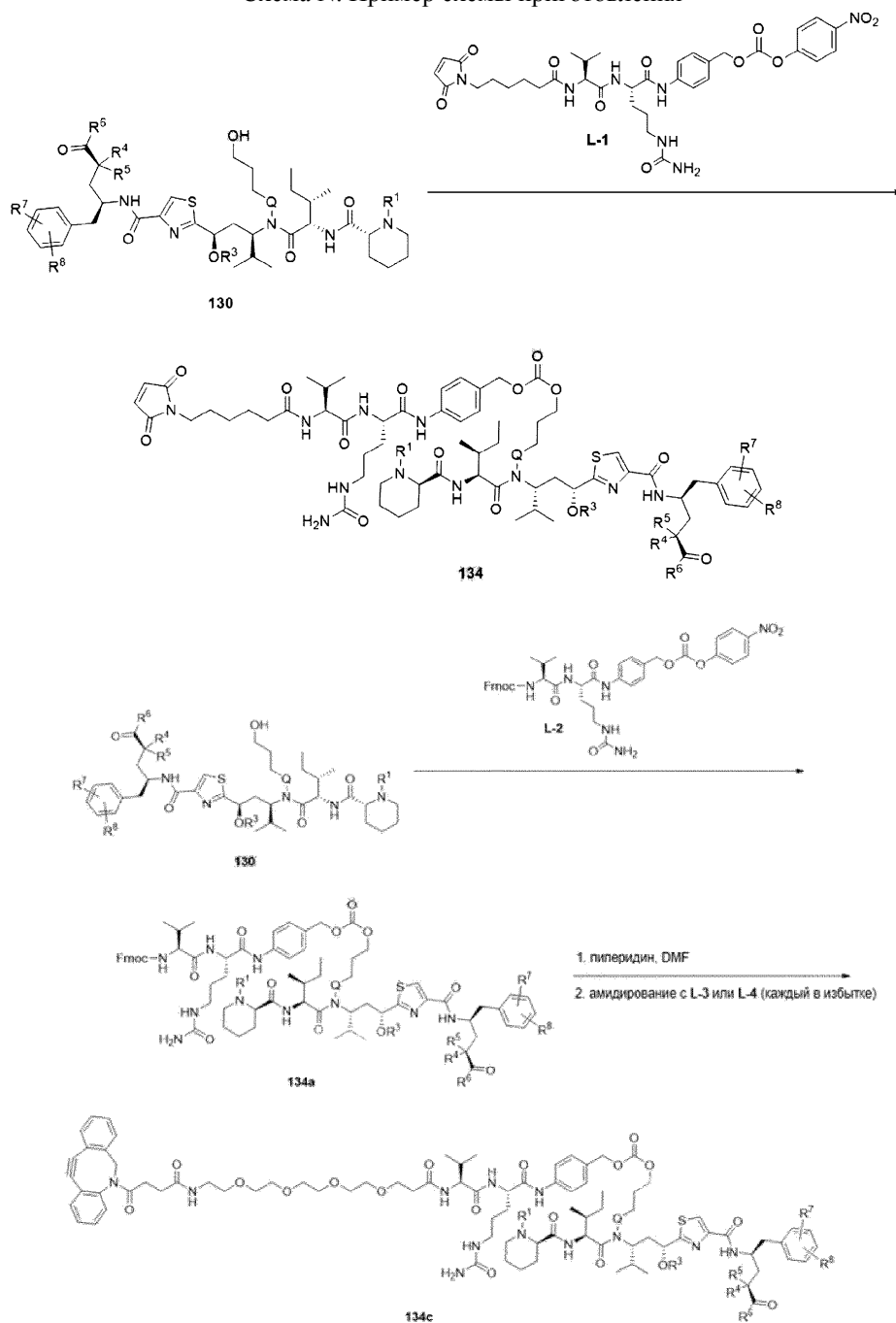
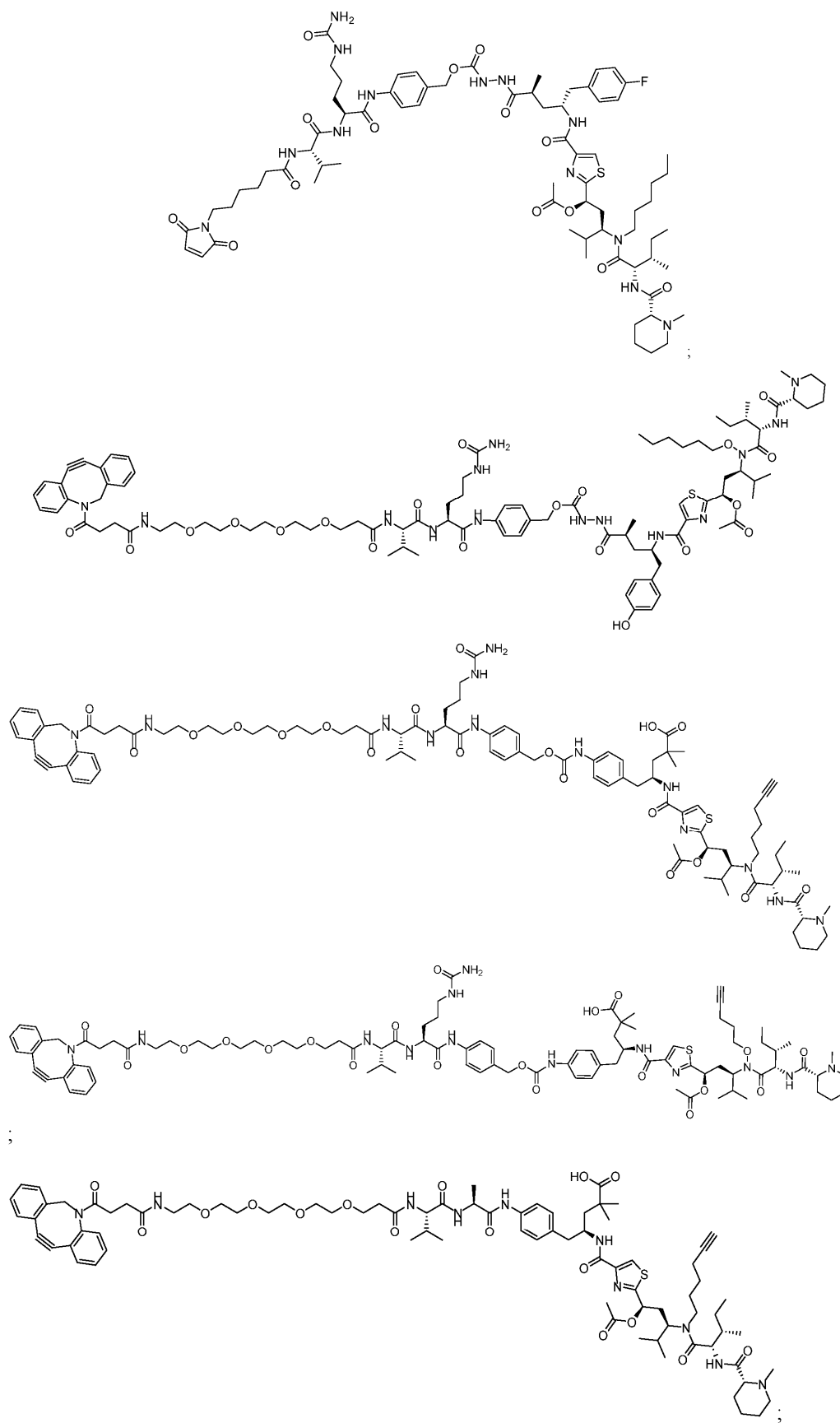


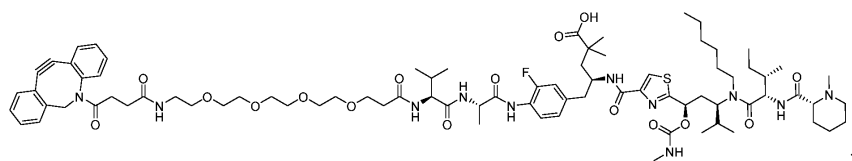
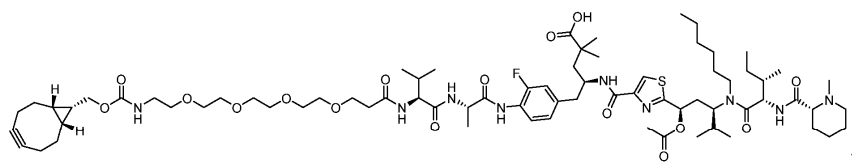
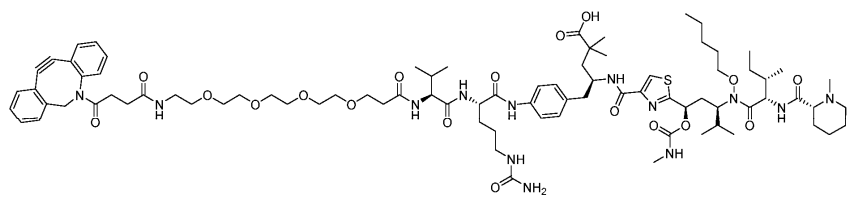
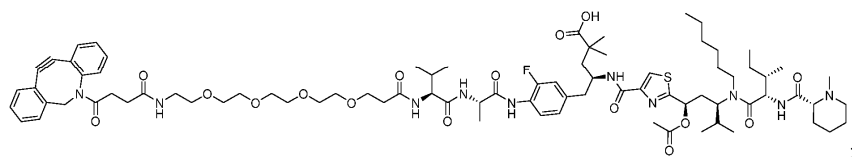
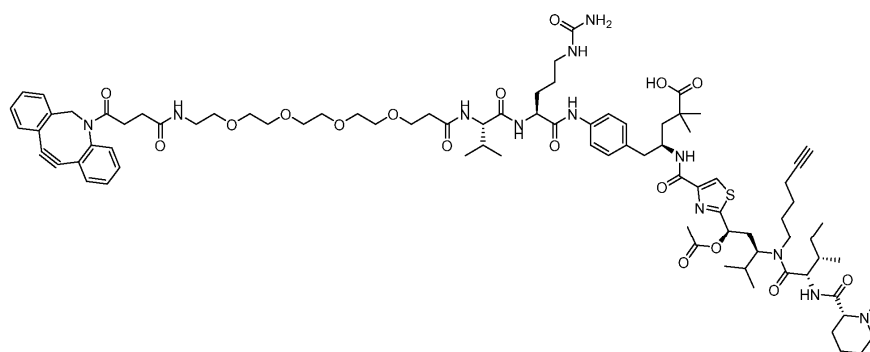
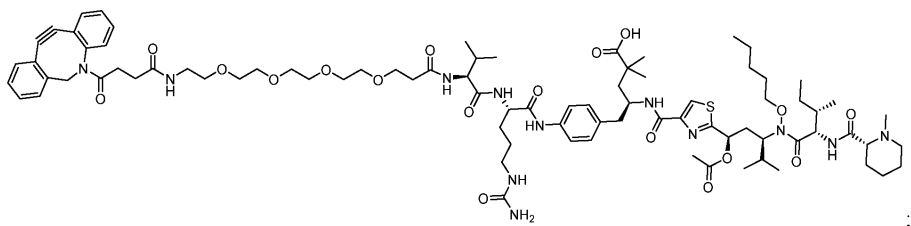
Схема N. Пример схемы приготовления

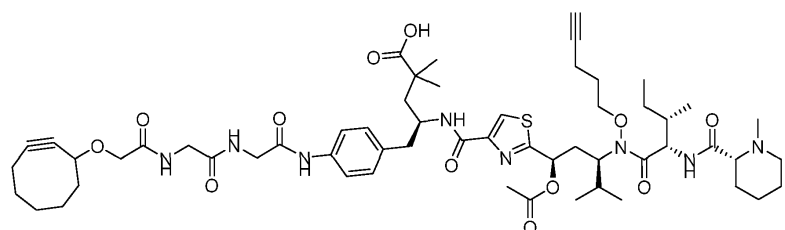
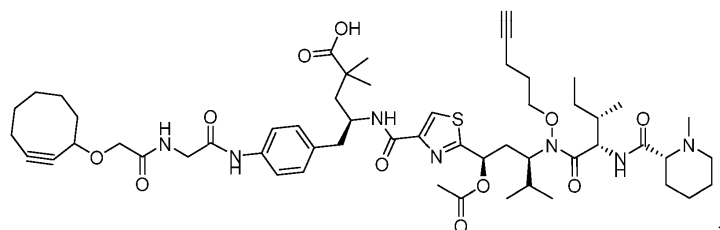
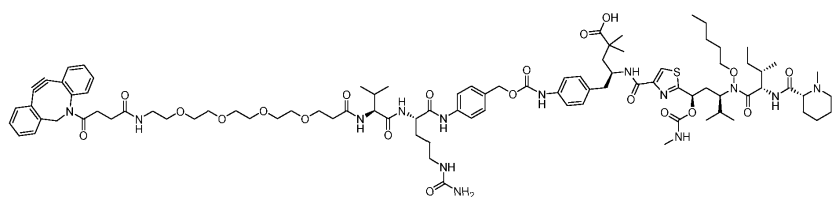
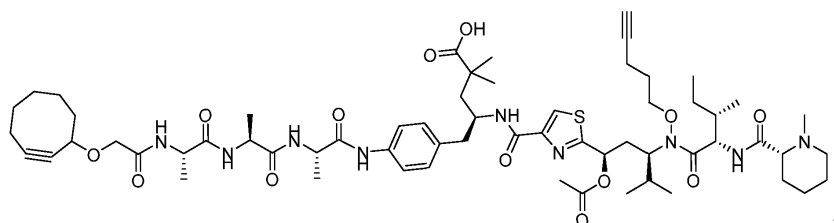
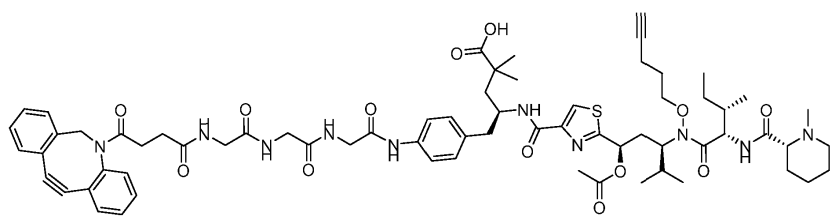


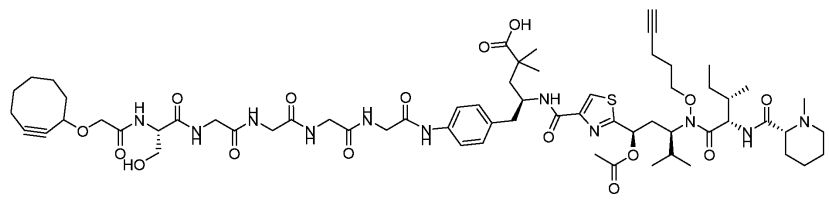
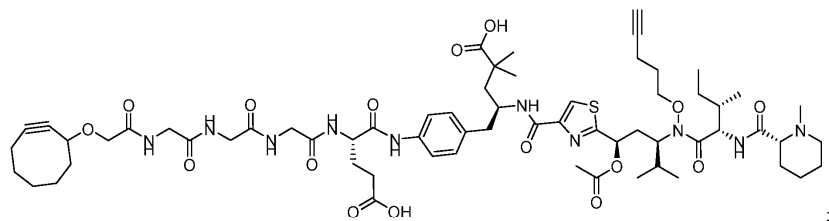
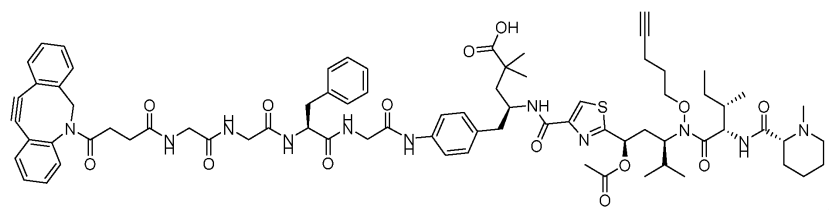
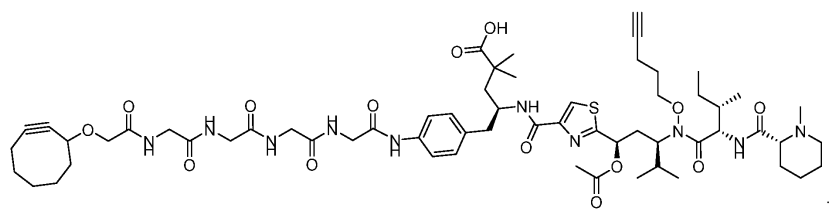
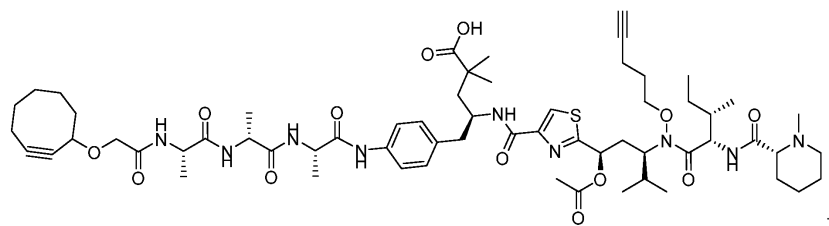
На вышеприведенных примерах схем приготовления R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 соответствуют описаниям в контексте формулы I. На схеме E на нагрузку воздействуют бензилгалогенидом, в результате чего образуется четвертичного аммония линкер-нагрузка. На схемах F, G, J, M и N на нагрузку воздействуют карбонатом, в результате чего образуются линкер-нагрузки. На схеме H на нагрузку воздействуют бензилазидом, в результате чего образуется триазиольная линкер-нагрузка. На схеме K нагрузку этерифицируют бензиловым спиртом, в результате чего образуется линкер-нагрузка.

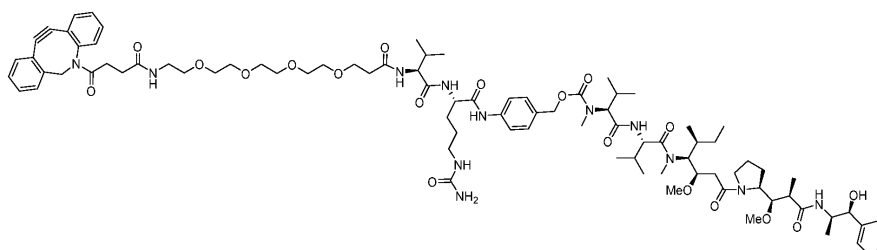
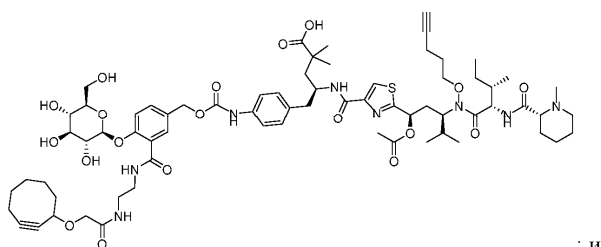
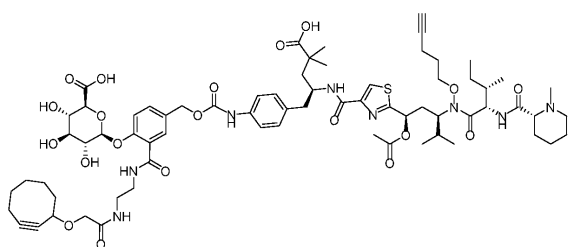
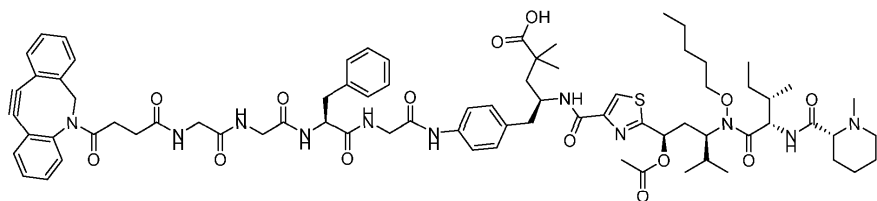
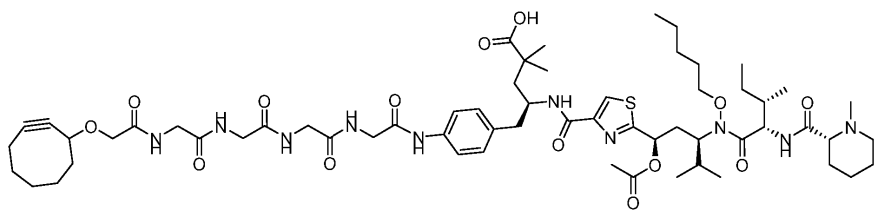
В определенных вариантах осуществления здесь представлены соединения (например, линкер-нагрузки), выбираемые из группы, состоящей из:



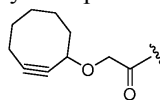




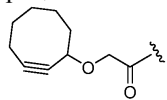




В определенных вариантах осуществления в данном пункте рассматриваются все диастереомеры.

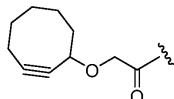


Например, в одном варианте осуществления стереохимия в является неопределенной или рацемической. В качестве следующего примера в одном варианте осуществления стереохимия в



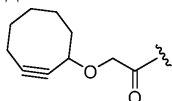
представляет собой (R)-. В качестве следующего примера в одном варианте осуществле-

ния стереохимия в



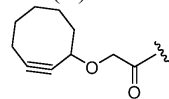
представляет собой (S)-. В качестве следующего примера в одном ва-

рианте осуществления стереохимия в



представляет собой (R)- более (S)-. В качестве сле-

дующего примера в одном варианте осуществления стереохимия в (S)- более (R)-.



представляет собой

Описанные здесь конъюгаты можно синтезировать посредством связывания описанных здесь линкер-нагрузок со связующим агентом, например, антителом, в стандартных условиях конъюгации (см., например, публикацию Doronina et al. *Nature Biotechnology* 2003, 27, 778, содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки). Когда связующим агентом является антитело, это антитело может быть связано с линкер-нагрузкой посредством одного или более цистеиновых или лизиновых остатков антитела. Линкер-нагрузки могут связываться с цистеиновыми остатками, например, посредством воздействия на антитело восстанавливающим агентом, например, дитиотреитолом, для расщепления дисульфидных связей антитела, очистки восстановленного антитела, например, гель-фильтрацией, и последующего воздействия на антитело линкер-нагрузкой, содержащей подходящую реакционноспособную группу, например, малеимидо группу. Подходящие растворители включают, помимо прочего, воду, DMA, DMF и DMSO. Линкер-нагрузки, содержащие реакционноспособную группу, например, активированную сложноэфирную или галоидангидридную группу, могут быть связаны с лизиновыми остатками антитела. Подходящие растворители включают, помимо прочего, воду, DMA, DMF и DMSO. Конъюгаты можно очищать при помощи известных белковых методов, включающих, например, эксклюзионную хроматографию, диализ и ультрафильтрацию/диафильтрацию.

Связующие агенты, например, антитела, также могут быть конъюгированы посредством реакций клик-химии. В некоторых вариантах осуществления указанных реакций клик-химии линкер-нагрузка включает реакционноспособную группу, например, алкин, способный вступать в реакцию 1,3-циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реакционноспособные группы описаны выше. Антитело включает одну или более азидных групп. Такие антитела включают антитела, функционализованные, например, азидо-полиэтиленгликольными группами. В определенных вариантах осуществления такое функционализованное антитело получают воздействием на антитело минимум с одним глутаминовым остатком, например, Gln295 тяжелой цепи, первичным аминным соединением в присутствии фермента транслгутаминазы. В определенных вариантах осуществления такое функционализованное антитело получают воздействием на антитело минимум с одним глутаминовым остатком, например, Gln297 тяжелой цепи, первичным аминным соединением в присутствии фермента транслгутаминазы. Такие антитела включают мутанты Asn297Gln (N297Q). В определенных вариантах осуществления такое функционализованное антитело получают воздействием на антитело минимум с двумя глутаминовыми остатками, например, Gln295 тяжелой цепи и Gln297 тяжелой цепи, первичным аминным соединением в присутствии фермента транслгутаминазы. Такие антитела включают мутанты Asn297Gln (N297Q). В определенных вариантах осуществления у антитела есть две тяжелые цепи, описанные в данном пункте, в результате чего получается всего два или всего четыре глутаминовых остатка.

В определенных вариантах осуществления антитело содержит два глутаминовых остатка, один в каждой тяжелой цепи. В конкретных вариантах осуществления антитело содержит остаток Q295 в каждой тяжелой цепи. В дальнейших вариантах осуществления антитело содержит один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или более глутаминовых остатков. Эти глутаминовые остатки могут быть в тяжелых цепях, легких цепях или как в тяжелых, так и в легких цепях. Эти глутаминовые остатки могут быть остатками дикого типа или сконструированными остатками. Антитела можно приготовить с использованием стандартных методов.

Специалистам в данной области известно, что антитела часто гликозилируют на остатке N297, рядом с остатком Q295 в последовательности тяжелой цепи. Гликозилирование на остатке N297 может мешать транслгутаминазе на остатке Q295 (Dennler et al., *supra*). Соответственно, в преимущественных вариантах осуществления антитело не гликозилировано. В определенных вариантах осуществления антитело дегликозилировано или агликозилировано. В конкретных вариантах осуществления тяжелая цепь антитела имеет мутацию N297. Иначе говоря, антитело мутировано и более не имеет аспарагинового остатка в позиции 297. В конкретных вариантах осуществления тяжелая цепь антитела имеет мутацию N297Q. Такое антитело можно приготовить посредством сайт-направленного мутагенеза для удаления или блокировки последовательности гликозилирования либо посредством сайт-направленного мутагенеза для вставки глутаминового остатка в сайт в стороне от любого interfering сайта гликозилирования или любой другой interfering структуры. Такое антитело также можно выделить из природных или искусственных источников.

Затем антитело без interfering гликозилирования вступает в реакцию с первичным аминным соединением или на него воздействуют первичным аминным соединением. В определенных вариантах осуществления агликозилированное антитело вступает в реакцию с первичным аминным соединением или на него воздействуют первичным аминным соединением, в результате чего образуется глутаминил-модифицированное антитело. В определенных вариантах осуществления дегликозилированное антитело вступает в реакцию с первичным аминным соединением или на него воздействуют первичным аминным соединением, в результате чего образуется глутаминил-модифицированное антитело.

Таким первичным амином может быть любой первичный амин, способный образовывать ковалентную связь с глутаминовым остатком в присутствии транслгутаминазы. Полезные первичные амины описаны в настоящем документе. Такой транслгутаминазой может быть любая транслгутаминаза, которую считают подходящей специалисты в данной области. В определенных вариантах осуществления транс-

глутаминаза - фермент, который катализирует образование изопептидной связи между свободной аминной группой на первичном аминном соединении и ацильной группой на боковой цепи глутаминового остатка. Трансглутаминаза также известна как протеин-глутамин-у-глутамилтрансфераза. В конкретных вариантах осуществления трансглутаминаза классифицируется как ЕС 2.3.2.13. Трансглутаминаза может быть получена из любого источника, считающегося подходящим. В определенных вариантах осуществления трансглутаминаза является микробной. Полезные трансглутаминазы выделили из *Streptomyces mobaraense*, *Streptomyces cinnamomeum*, *Streptomyces griseo-carneum*, *Streptomyces lavendulae* и *Bacillus subtilis*. Также можно использовать немикробные трансглутаминазы, включая трансглутаминазы млекопитающих. В определенных вариантах осуществления трансглутаминазу можно получить при помощи любого метода или из любого источника, который специалисты в данной области считают подходящим. В конкретных вариантах осуществления трансглутаминазу получают из коммерческого источника.

В конкретных вариантах осуществления первичное аминное соединение содержит реакционноспособную группу, способную к дальнейшей реакции после трансглутаминирования. В этих вариантах осуществления глутаминил-модифицированное антитело может вступать в реакцию с реакционноспособным соединением линкер-нагрузки или на него можно воздействовать реакционноспособным соединением линкер-нагрузки, в результате чего образуется конъюгат антитело-нагрузка или конъюгат антитело-линкер-нагрузка. В определенных вариантах осуществления первичное аминное соединение содержит азид.

В определенных вариантах осуществления глутаминил-модифицированное антитело может вступать в реакцию с реакционноспособной линкер-нагрузкой или на него можно воздействовать реакционноспособной линкер-нагрузкой, в результате чего образуется конъюгат антитело-линкер-нагрузка. Такая реакция может продолжаться в условиях, которые специалисты в данной области считают подходящими. В определенных вариантах осуществления на глутаминил-модифицированное антитело воздействуют реакционноспособным соединением линкер-нагрузки в условиях, подходящих для образования связи между глутаминил-модифицированным антителом и соединением линкер-нагрузки. Подходящие условия реакции известны специалистам в данной области. Примеры реакций представлены далее в разделе "Примеры".

Фармацевтические композиции и способы лечения.

Здесь представлены способы лечения и профилактики заболеваний, состояний или нарушений, включающие введение терапевтически или профилактически эффективного количества или одного или более описанных здесь соединений, например, одного или более соединений представленной здесь формулы. Заболевания, нарушения и/или состояния включают, помимо прочего, заболевания, нарушения и/или состояния, ассоциированные с указанными здесь антигенами.

Описанные здесь соединения можно вводить по-отдельности или вместе с одним или более дополнительными терапевтическими средствами. Такие одно или более дополнительных терапевтических средств можно вводить до, одновременно и сразу после введения описанных здесь соединений. Настоящее изобретение также включает фармацевтические композиции, содержащие любые из описанных здесь соединений в комбинации с одним или более терапевтическими средствами, и способы лечения, включающие введение таких комбинаций нуждающимся в этом субъектам.

Подходящие дополнительные терапевтические средства включают, помимо прочего: второй тубулин, аутоиммунное терапевтическое средство, гормон, биопрепарат или моноклональное антитело. Подходящие терапевтические средства также включают, помимо прочего, любые фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные представленного здесь соединения.

В некоторых вариантах осуществления описанных здесь способов несколько доз описанного здесь соединения (или фармацевтической композиции, содержащей комбинацию описанного здесь соединения и любого из упомянутых здесь дополнительных терапевтических средств) могут вводиться субъекту в течение определенного периода времени. Способы согласно данному варианту осуществления изобретения включают последовательное введение субъекту нескольких доз описанного здесь соединения. В контексте настоящего документа "последовательное введение" означает, что все дозы соединения вводятся субъекту в разные временные точки, например, в разные дни, разделенные заранее определенным интервалом (например, в часах, днях, неделях или месяцах). Настоящее изобретение включает способы, которые включают последовательное введение пациенту одной первоначальной дозы описанного здесь соединения и последующих одной или более вторичных доз этого соединения и необязательно последующих одной или более третичных доз этого соединения.

Термины "первоначальная доза", "вторичные дозы" и "третичные дозы" означают временную последовательность введения описанных здесь соединений. Таким образом, "первоначальная доза" - доза, которая вводится в начале режима лечения (также называемая "базовая доза"); "вторичные дозы" - дозы, которые вводятся после первоначальной дозы; а "третичные дозы" - дозы, которые вводятся после вторичных доз. Первоначальная, вторичные и третичные дозы все могут включать одинаковое количество описанного здесь соединения, но обычно могут различаться друг от друга частотой введения. В определенных вариантах осуществления количество соединения, входящее в первоначальную, вторичные и/или третичные дозы, различается (например, увеличивается или уменьшается в зависимости от ситуации) в

ходе лечения. В определенных вариантах осуществления две или более (например, 2, 3, 4 или 5) доз вводятся в начале курса лечения в качестве "ударных доз", а последующие дозы вводятся не так часто (например, "поддерживающие дозы").

В определенных иллюстративных вариантах осуществления настоящего изобретения каждая вторичная и/или третичная доза вводится в период от 1 до 26 (например, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ или более) недель после непосредственно предшествующей дозы. Фраза "непосредственно предшествующая доза" в контексте настоящего документа означает, в последовательности нескольких введений, дозу соединения, которая вводится пациенту перед введением следующей дозы в последовательности без промежуточных доз.

Способы согласно настоящему варианту осуществления изобретения могут включать введение пациенту любого числа вторичных и/или третичных доз соединения. Например, в определенных вариантах осуществления пациенту вводится только одна вторичная доза. В других вариантах осуществления пациенту вводятся две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичных доз. Аналогичным образом, в определенных вариантах осуществления пациенту вводится только одна третичная доза. В других вариантах осуществления пациенту вводятся две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) третичных доз. Курс введения может проводиться неопределенное время на протяжении всей жизни конкретного субъекта либо до того момента, как такое лечение более не потребуется в терапевтическом плане или пока оно не перестанет приносить пользу.

В вариантах осуществления, включающих несколько вторичных доз, каждая вторичная доза может вводиться с такой же частотой, что и другие вторичные дозы. Например, каждая вторичная доза может вводиться пациенту в течение периода от 1 до 2 недель или от 1 до 2 месяцев после непосредственно предшествующей дозы. Аналогичным образом, в вариантах осуществления, включающих несколько третичных доз, каждая третичная доза может вводиться с такой же частотой, что и другие третичные дозы. Например, каждая третичная доза может вводиться пациенту в течение периода от 2 до 12 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления изобретения частота, с которой вторичные и/или третичные дозы вводятся пациенту, может меняться на протяжении курса лечения. Частота введения также может корректироваться на протяжении лечения врачом в зависимости от потребностей отдельного пациента после клинического осмотра.

Настоящее изобретение включает курсы введения, при которых от 2 до 6 ударных доз вводятся пациенту с первой частотой (например, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в месяц, один раз в два месяца и т.д.), а затем пациенту вводятся две или более поддерживающих доз с меньшей частотой. Например, в соответствии с настоящим вариантом осуществления изобретения, если ударные дозы вводятся с частотой один раз в месяц, тогда поддерживающие дозы могут вводиться пациенту один раз в шесть недель, один раз в два месяца, один раз в три месяца и т.д.

Настоящее изобретение включает фармацевтические композиции описанных здесь соединений и/или конъюгатов, например, соединений формул I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и XII, например, композиции, содержащие описанное здесь соединение, его соль, стереоизомер, региоизомер, полиморф и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество. Примеры подходящих носителей, разбавителей и вспомогательных веществ включают, помимо прочего, буферы для поддержания необходимого pH композиции (например, цитратные буферы, сукцинатные буферы, ацетатные буферы, фосфатные буферы, лактатные буферы, оксалатные буферы и подобные им), белки-носители (например, альбумин человеческой сыворотки), физраствор, полиолы (например, трегалозу, сахарозу, ксилит, сорбитол и подобные), поверхностно-активные вещества (например, полисорбат 20, полисорбат 80, полиоксолат и подобные), противомикробные препараты и антиоксиданты.

В некоторых примерах здесь представлен способ лечения рака, включающий введение пациенту с упомянутым раком терапевтически эффективного количества соединения формул I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и XII или фармацевтической композиции с указанным соединением. В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ лечения рака, включающий введение пациенту с упомянутым раком терапевтически эффективного количества описанного здесь конъюгата антитело-губулизин или фармацевтической композиции с этим конъюгатом. В некоторых вариантах осуществления связующий агент, например, антитело, конъюгатов, например, описанных здесь конъюгатов антитело-лекарственное средство взаимодействует или связывается с антигенами опухоли, включая антигены, специфические к типу опухоли, или антигены, которые являются общими, сверхэкспрессированными или модифицированными на определенном типе опухоли. Примеры включают, помимо прочего, альфа-актинин-4 с раком легких, ARTC1 с меланомой, слитый белок BCR-ABL с хроническим миелоидным лейкозом, B-RAF, CLPP или Cdc27 с меланомой, CASP-8 с плоскоклеточной карциномой и hsp70-2 с почечно-клеточной карциномой, а также следующие общие опухолеспецифические антигены, например, BAGE-1, GAGE, GnTV, KK-LC-1, MAGE-A2, NA88-A, TRP2-INT2. Другие примеры опухолевых антигенов включают, помимо прочего, PSMA, PRLR, MUC16, HER2, EGFRvIII и анти-STEAP2 и MET.

Описанные здесь соединения могут использоваться для лечения первичных и/или метастатических опухолей, появляющихся в головном мозге и оболочке головного мозга, ротоглотке, легких и бронхи-

альном дереве, желудочнокишечном тракте, мужском и женском репродуктивном тракте, мышцах, костях, коже и придатках, соединительной ткани, селезенке, иммунной системе, кроветворных клетках и костном мозге, печени и мочевыводящих путях и специализированных органах чувств, таких как глаза. В определенных вариантах осуществления представленные здесь соединения используются для лечения одного или более следующих видов рака: почечно-клеточной карциномы, рака поджелудочной железы, рака головы и шеи (например, плоскоклеточного рака головы и шеи [HNSCC]), рака простаты, кастрационно-резистентного рака простаты, злокачественной глиомы, остеосаркомы, колоректального рака, рака желудка (например, рака желудка с амплификацией MET), мезотелиомы, злокачественной мезотелиомы, множественной миеломы, рака яичников, рака легких, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, синовиальной саркомы, рака щитовидной железы, рака молочной железы, PRLR-положительного (PRLR+) рака молочной железы, меланомы, острого миелоцитарного лейкоза, Т-клеточного лейкоза взрослых, астроцитом, рака мочевого пузыря, рака шейки матки, холангиокарциномы, рака эндометрия, рака пищевода, глиобластомы, саркомы Капоши, рака почки, лейомиосаркомы, рака печени, лимфом, злокачественной фиброзной гистиоцитомы/фибросаркомы, рака носоглотки, рабдомиосаркомы, рака ободочной кишки, рака желудка, рака матки, остаточного рака, при этом "остаточный рак" означает существование или сохранение одной или более раковых клеток у субъекта после противоопухолевой терапии, и опухоли Вильмса. В некоторых вариантах осуществления таким раком является рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления таким раком является рак простаты.

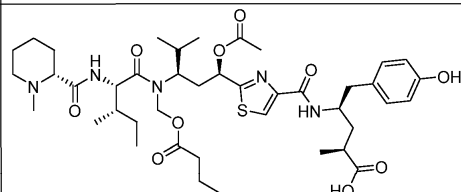
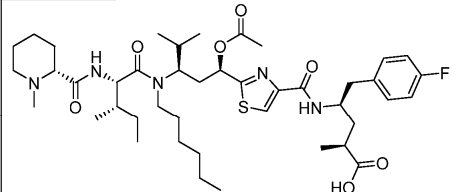
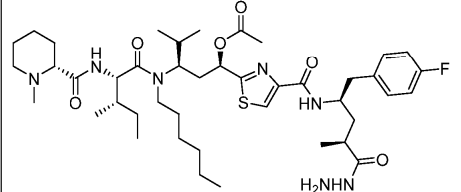
В некоторых примерах здесь представлен способ профилактики рака простаты, включающий введение пациенту с упомянутым раком профилактически эффективного количества соединения формул I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI и XII или фармацевтической композиции с указанным соединением.

Примеры

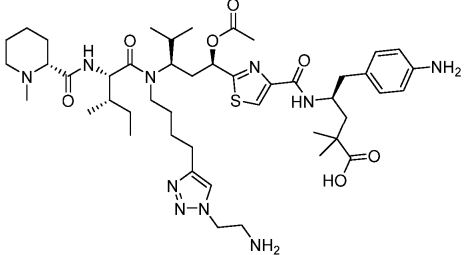
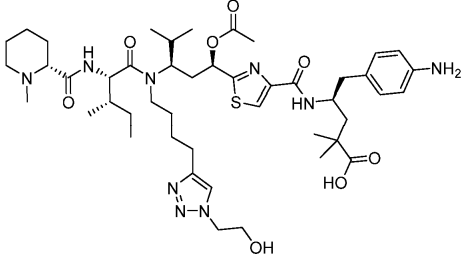
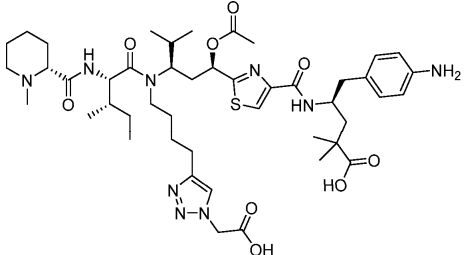
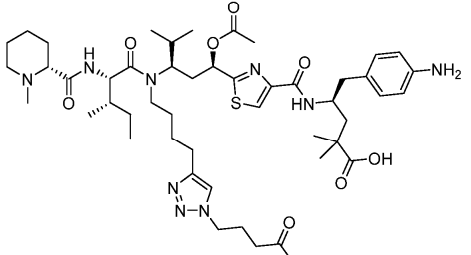
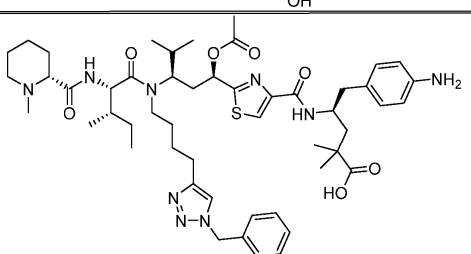
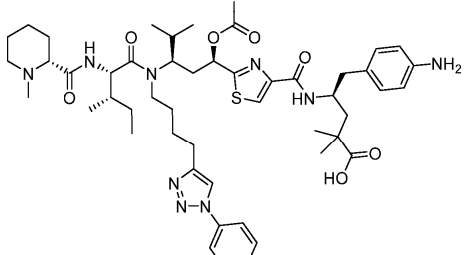
Здесь представлены новые тубулизины, их белковые конъюгаты и способы лечения заболеваний, нарушений и состояний, включающие введение тубулизинов и конъюгатов.

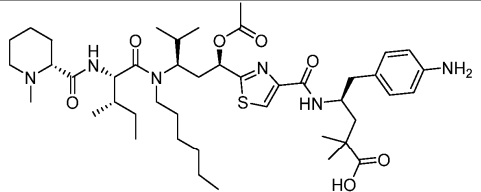
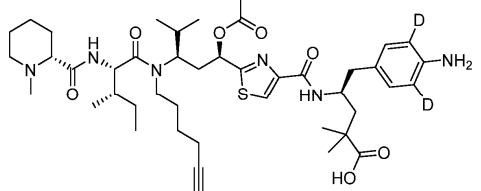
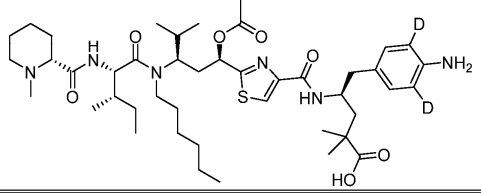
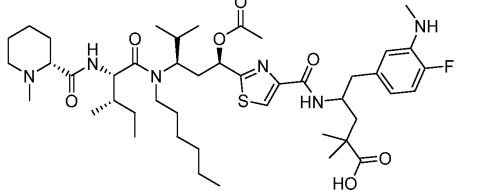
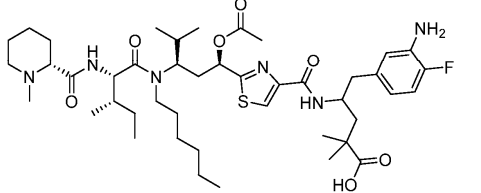
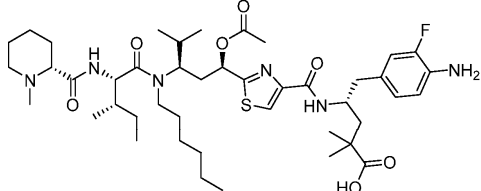
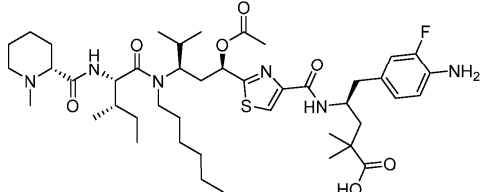
Таблица 1

Нагрузки тубулизина

№ на Схеме (Схемах)	Структура	cLogP	МФ	МВ	МС (М+Н) или м/з 100%	Чистота ВЭЖХ
Tub A			C ₄₂ H ₆₃ N ₅ O ₁₀ S			
IVa		4.75	C ₄₃ H ₆₆ FN ₅ O ₇ S	816.08	816.4	96
IVa'		6.28	C ₄₃ H ₆₈ FN ₅ O ₆ S	830.11	830.3	> 95

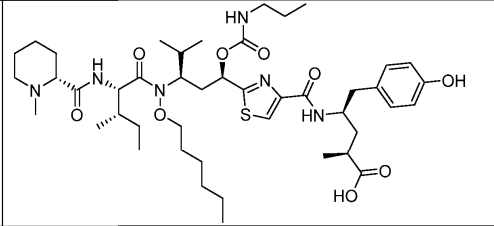
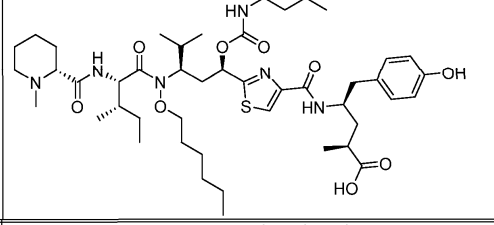
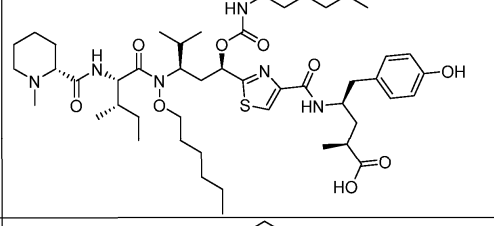
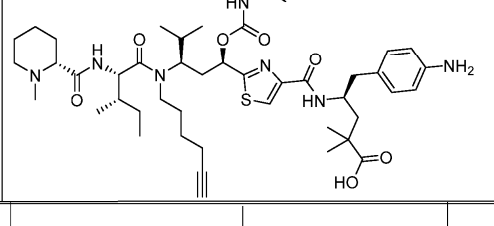
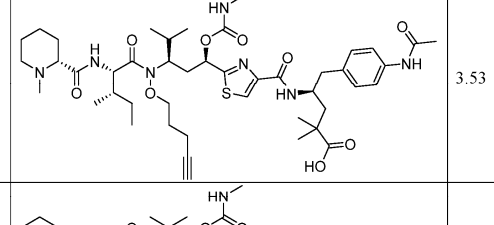
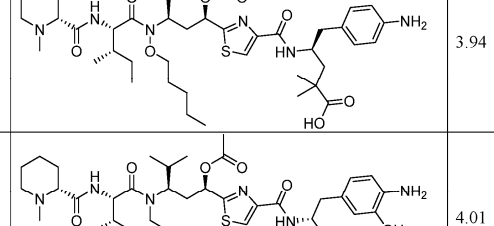
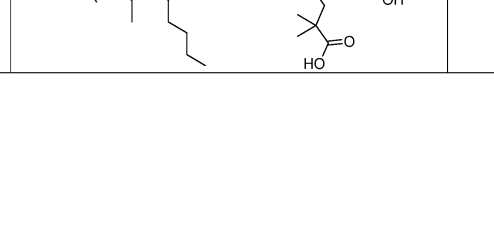
IVb		4.37	C ₄₄ H ₆₅ N ₅ O ₇ S	808.08	808.3	100
IVc		4.51	C ₄₄ H ₆₄ FN ₅ O ₇ S	826.07	826.2	100
IVd		3.54	C ₄₄ H ₆₆ N ₆ O ₇ S	823.10	412.3 [M/2+H]	100
IVe		3.94	C ₄₃ H ₆₂ FN ₅ O ₇ S	812.05	812.4	100
IVf		3.47	C ₄₃ H ₆₃ N ₅ O ₈ S	810.05	810.3	100
IVg		2.97	C ₄₃ H ₆₄ N ₆ O ₇ S	809.07	809.2	100
IVh		2.95	C ₄₅ H ₆₉ N ₉ O ₇ S	880.15	880.4	99
IVj		2.83	C ₄₄ H ₆₇ N ₉ O ₇ S	866.12	433.8 [M/2+H]	100

IVk		2.46	C ₄₆ H ₇₂ N ₁₀ O ₇ S	909.19	455.3	96
IVl		2.26	C ₄₆ H ₇₁ N ₉ O ₈ S	910.18	910.4	94
IVm		1.51	C ₄₆ H ₆₉ N ₉ O ₉ S	924.16	924.4	97
IVn		2.07	C ₄₈ H ₇₃ N ₉ O ₉ S	952.21	476.8 [M/2+H]	95.6
IVo		4.68	C ₅₁ H ₇₃ N ₉ O ₇ S	956.25	956.4	100
IVp		4.61	C ₅₀ H ₇₁ N ₉ O ₇ S	942.22	942.4	100

IVq		4.34	C ₄₄ H ₇₀ N ₆ O ₇ S	827.13	414.3 [M/2+H]	97.2
IVr		3.54	C ₄₄ H ₆₄ D ₂ N ₆ O ₇ S	825.12	825.5	98.9
IVs		4.34	C ₄₄ H ₆₈ D ₂ N ₆ O ₇ S	829.14	829.5	100
IVt		4.79	C ₄₃ H ₇₁ FN ₆ O ₇ S	859.15	859.5	100
IVu		4.51	C ₄₄ H ₆₉ FN ₆ O ₇ S	845.12	423.3 [M/2+H]	100
IVvA		4.48	C ₄₄ H ₆₉ FN ₆ O ₇ S	845.12	846.5	95
IVvB		4.48	C ₄₄ H ₆₉ FN ₆ O ₇ S	845.1	845.5	>99

IVw		4.01	C ₄₄ H ₇₀ N ₆ O ₈ S	843.13	422.3 [M/2+H]	100
IVx		4.01	C ₄₄ H ₇₀ N ₆ O ₈ S	843.13	422.4 [M/2+H]	100
IVy		5.87	C ₄₄ H ₇₂ N ₈ O ₆ S	841.16	841.5	95
Va		4.42	C ₄₃ H ₆₇ N ₅ O ₉ S	830.09	830.1	97
Va'		5.99	C ₄₃ H ₆₉ N ₇ O ₈ S	844.12	844.2	97
Vb		4.05	C ₄₃ H ₆₈ N ₆ O ₈ S	829.1	829.4	>99
Vc		4.08	C ₄₃ H ₆₅ N ₅ O ₈ S	810.05	810.0	100
Vd		4.21	C ₄₃ H ₆₂ FN ₅ O ₈ S	828.04	828.4	100
Ve		3.24	C ₄₃ H ₆₄ N ₆ O ₈ S	825.1	825.4	98

Vf		3.65	C ₄₂ H ₆₀ N ₅ O ₈ S	814.02	814.3	98
Vg		3.17	C ₄₂ H ₆₁ N ₅ O ₉ S	812.03	812.3	100
Vh		2.68	C ₄₂ H ₆₂ N ₆ O ₈ S	811.04	406.2 [M/2+H]	100
Vi		3.89	C ₄₇ H ₆₆ N ₆ O ₁₂ S	939.13	939.2	98
Vj		3.11	C ₄₇ H ₆₈ N ₆ O ₁₀ S	909.14	909.1	100
Vk		1.58	C ₄₀ H ₆₁ N ₅ O ₁₀ S	804.01	804.2	100
VIa		4.31	C ₄₃ H ₆₈ N ₆ O ₉ S	845.10	845	99
IVb		4.67	C ₄₄ H ₇₀ N ₆ O ₉ S	859.13	859.2	95

VIc		5.19	C ₄₅ H ₇₂ N ₆ O ₉ S	873.15	873.5	95
VIId		5.64	C ₄₆ H ₇₄ N ₆ O ₉ S	887.18	887.5	95
VIe		6.53	C ₄₈ H ₇₈ N ₆ O ₉ S	915.23	915.5	95
VIIf		3.49	C ₄₄ H ₆₇ N ₇ O ₈ S	854.11	854.5	99
VIg		3.53	C ₄₆ H ₆₉ N ₇ O ₉ S	896.15	896.5	100
VIh		3.94	C ₄₃ H ₆₉ N ₇ O ₈ S	844.1	844.2	>99
VI		4.01	C ₄₄ H ₇₀ N ₆ O ₈ S	843	844	100

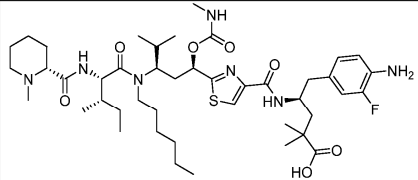
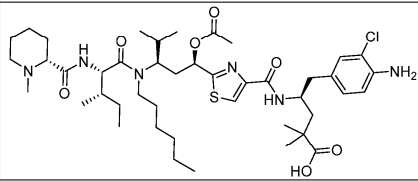
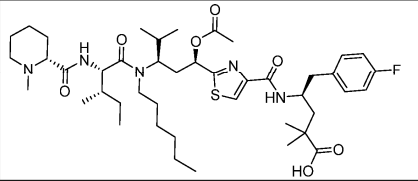
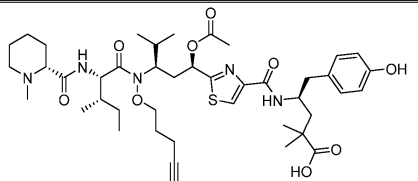
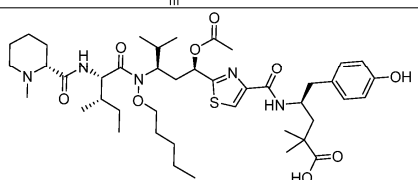
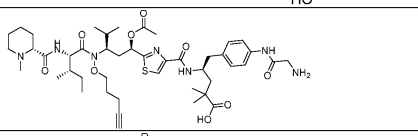
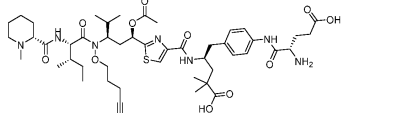
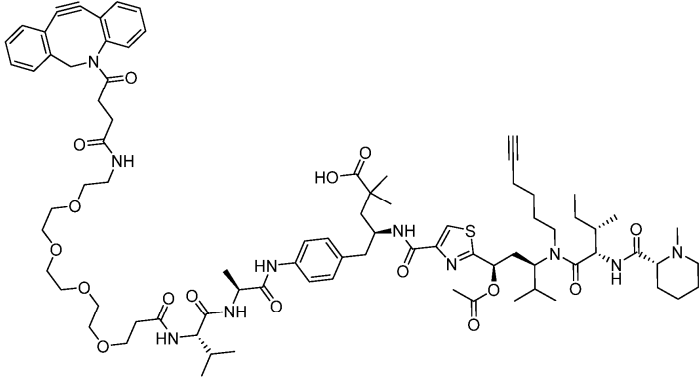
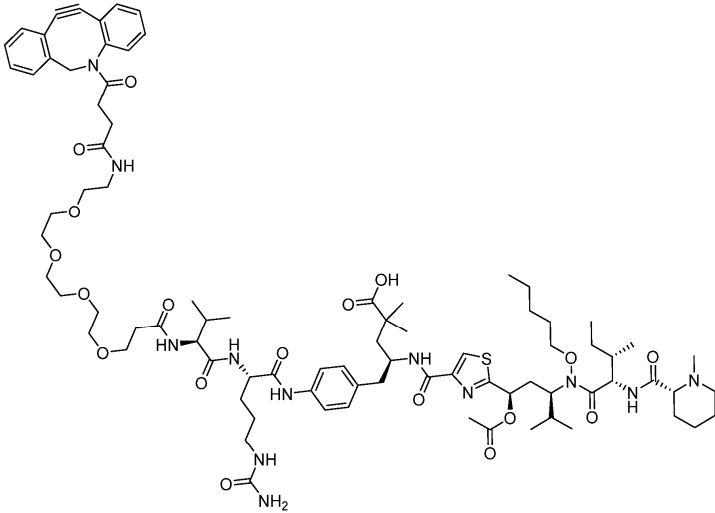
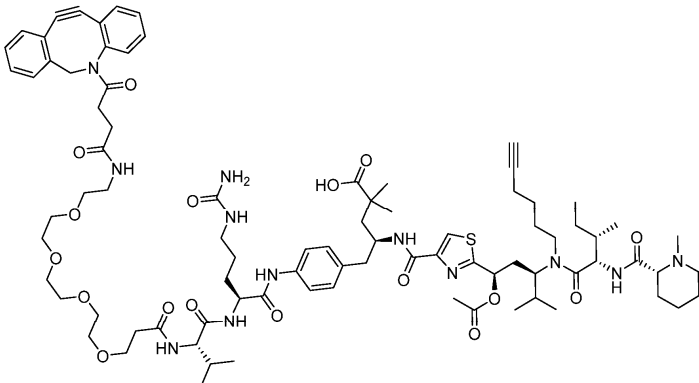
Vii		4.37	C ₄₄ H ₇₀ FN ₇ O ₇ S	860.1	860.5	>99
VII		4.95	C ₄₄ H ₆₉ ClN ₆ O ₇ S	861.6	861.3	>99
VIII		5.31	C ₄₄ H ₆₈ FN ₅ O ₇ S	830.1	830.5	>99
IX		3.73	C ₄₃ H ₆₃ N ₅ O ₉ S	826.1	826.5	95
X		4.54	C ₄₃ H ₆₇ N ₅ O ₉ S	830.1	830.1	>99
D-5a			C ₄₅ H ₆₇ N ₇ O ₉ S	882.13	882.4	
D-5c			C ₄₈ H ₇₁ N ₇ O ₁₁ S	954.19	478.0 [M/2+H]	

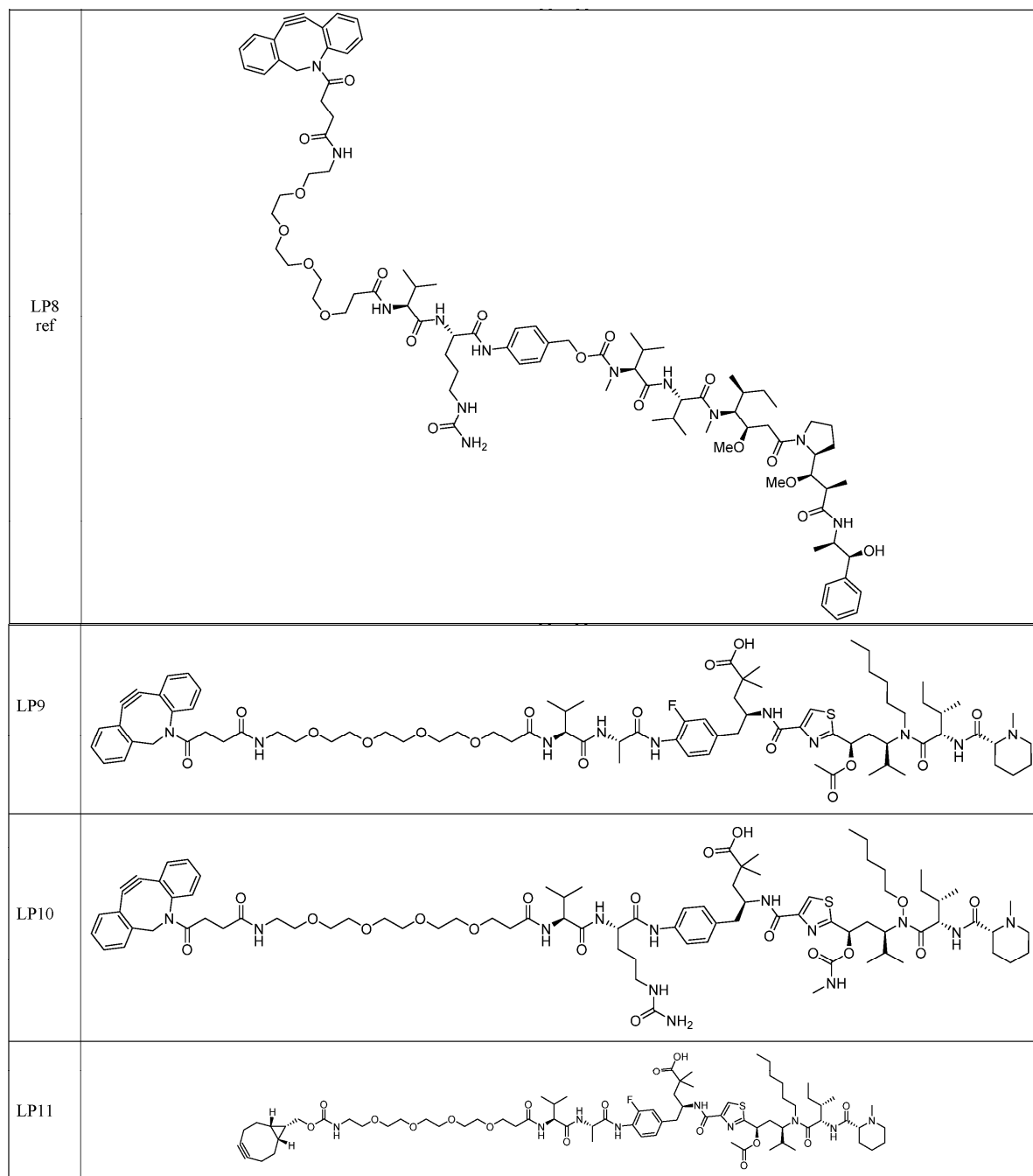
Таблица 2

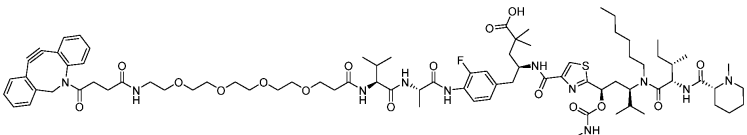
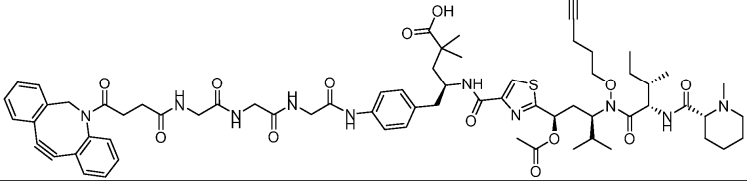
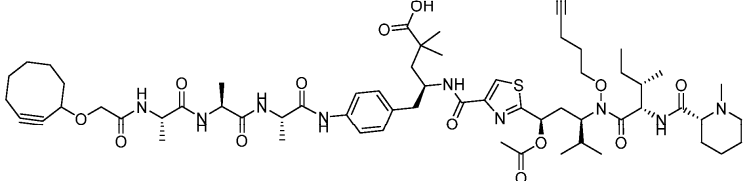
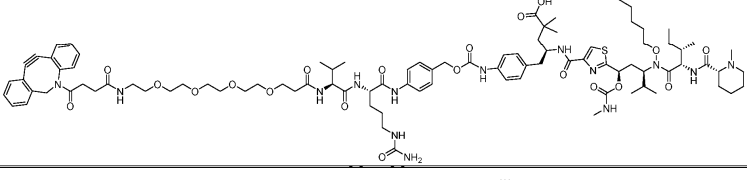
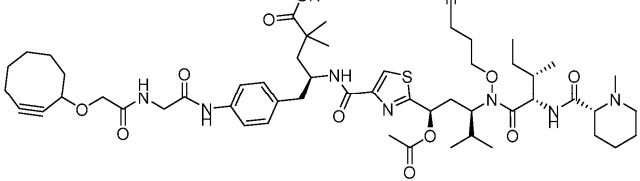
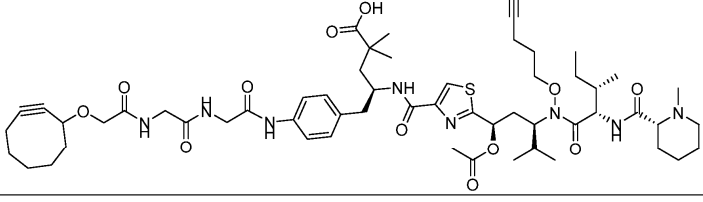
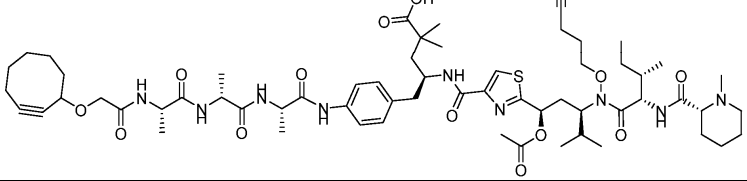
Линкер-нагрузки тубулизина

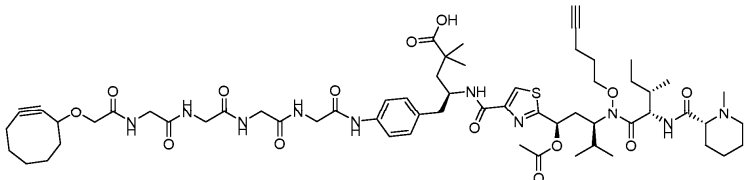
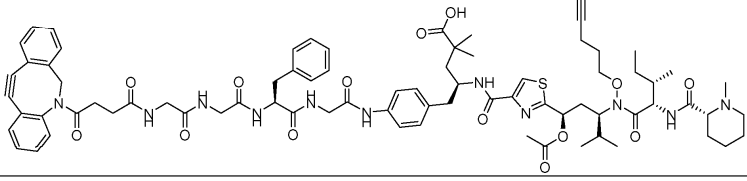
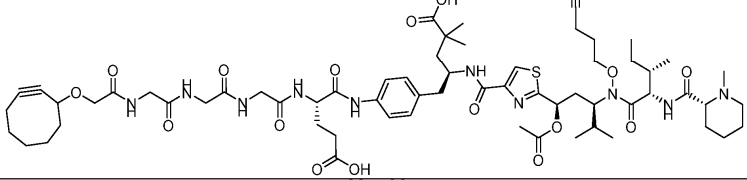
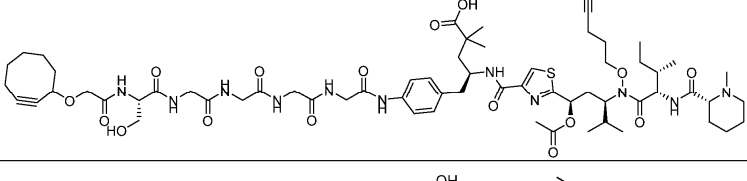
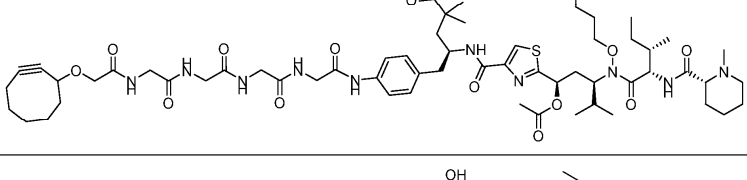
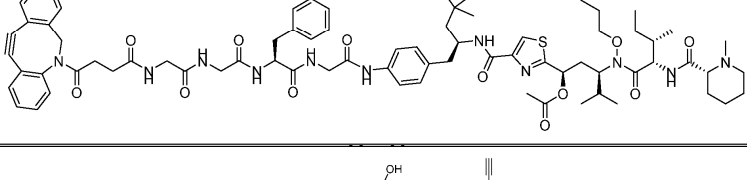
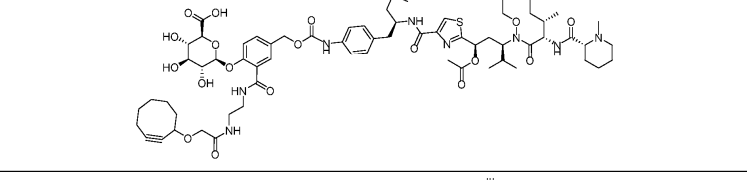
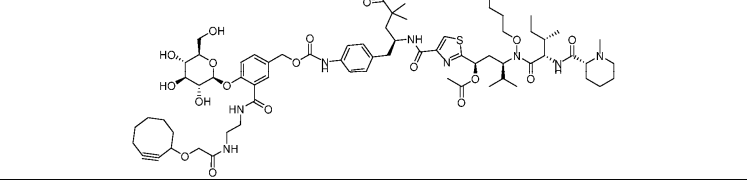
№	МФ	МВ	МС (м/з) 100%	ВЭЖХ		сLogP	Нагрузка
				Чис- тога (%)	R _t (мин)		
LP1	C ₇₂ H ₁₀₆ FN ₁₃ O ₁₄ S	1428.8	715.0 [M/2+H]	85	9.51 (B)	7.00	IVa
LP2	C ₉₂ H ₁₃₀ N ₁₄ O ₂₀ S	1784.2	892.5 [M/2+H]	95	9.32 (B)	7.94	Va
LP3	C ₉₃ H ₁₂₇ N ₁₃ O ₁₉ S	1763.1	882.0 [M/2+H]	95	7.98 (B)	5.82	IVd
LP4	C ₉₂ H ₁₂₅ N ₁₃ O ₂₀ S	1765.1	883.0 [M/2+H]	90	8.05 (B)	5.53	Ve
LP5	C ₈₂ H ₁₁₄ N ₁₀ O ₁₆ S	1527.9	764.5 [M/2+H]	100	8.17 (B)	5.33	IVd
LP6	C ₈₄ H ₁₂₂ N ₁₂ O ₁₈ S	1620.0	810.5 [M/2+H]	100	8.52 (B)	4.75	Vb
LP7	C ₈₅ H ₁₂₀ N ₁₂ O ₁₇ S	1614.0	807.5 [M/2+H]	97.2	7.73 (B)	4.24	IVd
LP9	C ₈₂ H ₁₁₇ FN ₁₀ O ₁₆ S	1549.9	775.3 (M/2+H)	99		6.28	IVvB
LP10	C ₈₄ H ₁₂₃ N ₁₃ O ₁₈ S	1635.0	818.0 (M/2+H)	>99		4.64	VIh
LP11	C ₇₄ H ₁₁₆ FN ₉ O ₁₆ S	1438.8	719.7 (M/2+H)	>99		6.16	IVvB
LP12	C ₈₂ H ₁₁₈ FN ₁₁ O ₁₆ S	1564.9	782.7 (M/2+H)	>99		6.17	VIi
LP13	C ₆₈ H ₈₆ N ₁₀ O ₁₃ S	1283.5	642.5 (M/2+H)	99		2.96	Ve
LP14	C ₆₂ H ₉₁ N ₉ O ₁₃ S	1202.5					Ve
LP15	C ₉₂ H ₁₃₀ N ₁₄ O ₂₀ S	1784.2	892.2 (M/2+H)	99		6.22	VIh
LP16	C ₅₅ H ₇₉ N ₇ O ₁₁ S	1046.3	523.8 (M/2+H)	>95		4.43	Ve
LP17	C ₅₇ H ₈₂ N ₈ O ₁₂ S	1103.4	552.3 (M/2+H)	>95		3.33	Ve
LP18	C ₆₂ H ₉₁ N ₉ O ₁₃ S	1202.5	601.8 (M/2+H)	95		3.93	Ve
LP19	C ₆₁ H ₈₈ N ₁₀ O ₁₄ S	1217.5	609.3 (M/2+H)	95		1.12	Ve
LP20	C ₇₇ H ₉₅ N ₁₁ O ₁₄ S	1430.7	716.0 (M/2+H)	95		4.08	Ve
LP21	C ₆₄ H ₉₂ N ₁₀ O ₁₆ S	1289.6	645.4 (M/2+H)	95		0.98	Ve
LP22	C ₆₄ H ₉₃ N ₁₁ O ₁₆ S	1304.6	653.0 (M/2+H)	>95		-0.47	Ve
LP23	C ₆₁ H ₉₂ N ₁₀ O ₁₄ S	1221.5	611.3 (M/2+H)	>99		1.93	Vb
LP24	C ₇₇ H ₉₉ N ₁₁ O ₁₄ S	1434.7	718.0 (M/2+H)	>99		4.89	Vb
LP25	C ₇₀ H ₉₆ N ₈ O ₂₀ S	1401.6	701.3 (M/2+H)	>95		3.49	Ve
LP26	C ₇₀ H ₉₈ N ₈ O ₁₉ S	1387.7	694.3 (M/2+H)	>95		3.41	Ve

	Структуры
LP1	
LP2	
LP3	
LP4	

LP5	 <p>Chemical structure of LP5, a complex molecule featuring a large polycyclic aromatic system (likely a porphyrin derivative) connected via a long chain of ether linkages to a central core. The core includes a thiazole ring, a carboxylic acid group, and a piperidine ring. The structure is highly branched and contains multiple amide and ester linkages.</p>
LP6	 <p>Chemical structure of LP6, a complex molecule similar to LP5, but with a different substitution pattern. It features a large polycyclic aromatic system connected via a long chain of ether linkages to a central core. The core includes a thiazole ring, a carboxylic acid group, and a piperidine ring. The structure is highly branched and contains multiple amide and ester linkages.</p>
LP7	 <p>Chemical structure of LP7, a complex molecule similar to LP5 and LP6, but with a different substitution pattern. It features a large polycyclic aromatic system connected via a long chain of ether linkages to a central core. The core includes a thiazole ring, a carboxylic acid group, and a piperidine ring. The structure is highly branched and contains multiple amide and ester linkages.</p>



LP12	 <p>Chemical structure of LP12: A complex molecule featuring a fluorenyl group, a long polyether chain, a piperidine ring, a thiazole ring, a fluorinated phenyl ring, a hydroxyisobutyrate group, and a propargyl group.</p>
LP13	 <p>Chemical structure of LP13: A complex molecule featuring a fluorenyl group, a piperidine ring, a thiazole ring, a hydroxyisobutyrate group, and a propargyl group.</p>
LP14	 <p>Chemical structure of LP14: A complex molecule featuring a bicyclic ether, a piperidine ring, a thiazole ring, a hydroxyisobutyrate group, and a propargyl group.</p>
LP15	 <p>Chemical structure of LP15: A complex molecule featuring a fluorenyl group, a long polyether chain, a piperidine ring, a thiazole ring, a hydroxyisobutyrate group, and a propargyl group.</p>
LP16	 <p>Chemical structure of LP16: A complex molecule featuring a bicyclic ether, a piperidine ring, a thiazole ring, a hydroxyisobutyrate group, and a propargyl group.</p>
LP17	 <p>Chemical structure of LP17: A complex molecule featuring a bicyclic ether, a piperidine ring, a thiazole ring, a hydroxyisobutyrate group, and a propargyl group.</p>
LP18	 <p>Chemical structure of LP18: A complex molecule featuring a bicyclic ether, a piperidine ring, a thiazole ring, a hydroxyisobutyrate group, and a propargyl group.</p>

LP19	
LP20	
LP21	
LP22	
LP23	
LP24	
LP25	
LP26	

Определенные варианты осуществления изобретения проиллюстрированы следующими неограничивающими примерами. В контексте настоящего документа символы и обозначения, используемые в процессах, схемах и примерах, независимо от того, приводится ли конкретное определение определённому сокращению, соответствуют используемым в современной научной литературе, например, Журнале Американского химического сообщества (Journal of the American Chemical Society) или Журнале биологической химии (Journal of Biological Chemistry). В частности, но без ограничений, в примерах и по тексту описания изобретения могут использоваться следующие сокращения:

Сокращение	Термин или фраза
ADC	Конъюгат антитело-лекарственное средство
Англикозилированное антитело	Антитело, у которого не гликанов
API	Ионизация при атмосферном давлении
aq (вод.)	Водный
Вос	N-трет-бутоксикарбонил
ВирН™	Продукт Thermo Scientific № 28372, содержащий 100 мМ фосфата натрия и 150 мМ хлорида натрия, без калия, с откорректированным pH от 7.2 до 7.6–7.8 MQ, если не указано иное.
CD	Циклодекстрин
COT	Циклооктинол
Da (Да)	Дальтон
DAD	Диодно-матричный детектор
Отношение DAR	Отношение лекарственное средство-антитело
DCM	Дихлорметан
DIBAC	11,12-дидегидро-5,6-дигидро-добенз[<i>b,f</i>]азоцин
DIBAC-Suc	11,12-дидегидро-5,6-дигидро-добенз[<i>b,f</i>]азоцин сукцинамовая кислота
DIBAC-Suc-PEG4-VC-pAB-PNP	{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0 ^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-

	(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил 4-нитрофенил карбонат
DIBACT	3 <i>H</i> -бензо[<i>c</i>]-1,2,3-триазоло[4,5- <i>e</i>][1]бензазацин, 8,9-дигидро-
DIPEA	Диизопропилэтиламин
DMF	N,N-диметилформамид
DMSO	Диметилсульфоксид
EC	Комиссия по ферментам
ELSD	Испарительный детектор светорассеяния
ESI	Ионизация электрораспылением
Fmoc	N-(9-флуоренилметилоксикарбонил)
Fmoc-vcPAB-PNP	N-Fmoc-L-валин-L-цитруллин- <i>p</i> -аминобензиловый спирт <i>p</i> -нитрофенил карбонат
г	грамм
HATU	2-(7-аза-1 <i>H</i> -бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуруния гексафторфосфат
HC	Тяжелая цепь иммуноглобулина
HEK	Клетки эмбриональных почек человека
HPLC (ВЭЖХ)	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ч или час	часов
LC	Легкая цепь иммуноглобулина
LCh	Жидкостная хроматография
MALDI	Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация
MC	Малеимидокапроил
мг	миллиграмм
мин	минут
мл	миллилитров
mmh	<i>тус-тус</i> -гексагистидиновая метка
мкл	микролитров
мМ	миллимолярный
мкМ	микромолярный
MMAE	Монометил ауристатин E

MS	Масс-спектрометрия
MsCl	Метансульфонилхлорид
MSD	Масс-селективный детектор
MTG	Микробная трансглутаминаза (MTG EC 2.3.2.13, Zedira, Дармштадт, Германия)
MB	Молекулярный вес
ncADC	Нецитотоксичный конъюгат антитело-лекарственное средство
NHS	N-гидроксисукцинимид
nM	нанолярный
NMR (ЯМР)	Ядерный магнитный резонанс
NOESY	Спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера
PAB	Пара-аминобензилокси(карбонил)
PBS	10 mM натрий-фосфатный буфер и 150 mM хлорид натрия
PBSg	10 mM фосфат, 150 mM хлорид натрия, 5% глицерин
PEG (ПЭГ)	Полиэтиленгликоль
PNP	p-нитрофенил
MC-VC-PAB-PNP	Малеимидокапроил-L-валин-L-цитруллин-p-аминобензиловый спирт p-нитрофенилкарбонат
ppm	Частей на миллион (химический сдвиг, δ)
RP (ОФ)	Обращенная фаза
КТ или кт	комнатная температура
SDS-PAGE	Электрофорез белков в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия
SEC	Эксклюзионная хроматография
Suc	Янтарная кислота
TCEP	Трис(2-карбоксиэтил)фосфингидрохлорид
TEA	Триэтиламин
TMS	Тетраметилсилан
TFA	Трифторуксусная кислота
TG	Трансглутаминаза
THF	Тetraгидрофуран
TOF	Время пролета
UPLC (СЭЖХ)	Сверхэффективная жидкостная хроматография
UV (УФ)	Ультрафиолетовый
VA	Валин-аланин
VC	Валин-цитруллин
VC-PAB	Валин-цитруллин-пара-аминобензилокси(карбонил)

Реактивы и растворители получили из коммерческих источников, таких как Sinopharm Chemical Reagent Co. (SCRC), Sigma-Aldrich, Alfa, или от других поставщиков, если открыто не указано иное. ¹H ЯМР и другие ЯМР спектры были записаны на Bruker AVIII 400 или Bruker AVIII 500. Данные обрабатывали при помощи программного обеспечения Nuts или программного обеспечения MestReNova, с измерением протонных сдвигов в частях на миллион (ppm) в сторону слабого поля от внутреннего стандарта тетраметилсилана (TMS).

ВЭЖХ-МС измерения проводили при помощи системы Agilent 1200 HPLC/6100 SQ с применением следующих условий: Способ А для ВЭЖХ-МС измерений включал, в качестве Подвижной фазы: А: Вода (0.01% трифторуксусная кислота (TFA)), В: ацетонитрил (0.01% TFA); Градиентная фаза: 5% В повышали до 95% В в течение 15 мин; Расход: 1.0 мл/мин; Колонка: SunFire C18, 4.6×50 мм, 3.5 мкм; Температура колонки: 50°C. Детекторы: испарительный детектор светорассеяния (ELSD) с аналого-цифровым пре-

образователем (ADC), диодно-матричный детектор (DAD) (214 нм и 254 нм), ионизация электрораспылением-ионизация при атмосферном давлении (ES-API). Способ В для ВЭЖХ-МС измерений включал, в качестве Подвижной фазы: А: Вода (10 мМ NH_4HCO_3), В: ацетонитрил; Градиентная фаза: от 5% до 95% В в течение 15 мин; расход: 1.0 мл/мин; Колонка: XBridge C18, 4.6×50 мм, 3.5 мкм; Температура колонки: 50°C. Детекторы: ADC ELSD, DAD (214 нм и 254 нм), масс-селективный детектор (MSD) (ES-API).

ЖХ-МС измерения проводили при помощи системы Agilent 1200 HPLC/6100 SQ с применением следующих условий: Способ А для ЖХ-МС измерений включал, в качестве Прибора: WATERS 2767; колонка: Shimadzu Shim-Pack, PRC-ODS, 20×250 мм, 15 мкм, две, соединенные последовательно; Подвижная фаза: А: Вода (0.01% TFA), В: ацетонитрил (0.01% TFA); Градиентная фаза: 5% В повышали до 95% В в течение 3 мин; расход: 1.8-2.3 мл/мин; колонка: SunFire C18, 4.6×50 мм, 3.5 мкм; температура колонки: 50°C. Детекторы: ADC ELSD, DAD (214 нм и 254 нм), ES-API. Способ В для ЖХ-МС измерений включал, в качестве Прибора: Gilson GX-281; колонка: Xbridge Prep C18 10 мкм OBD, 19×250 мкм; Мобильная фаза: А: Вода (10 мМ NH_4HCO_3), В: ацетонитрил; градиентная фаза: от 5% до 95% В в течение 3 мин; расход: 1.8-2.3 мл/мин; колонка: XBridge C18, 4.6×50 мм, 3.5 мкм; температура колонки: 50°C. Детекторы: ADC ELSD, DAD (214 нм и 254 нм), MSD (ES-API).

Применили препаративную жидкостную хроматографию высокого давления (Преп-ВЭЖХ) в системе кислого или основного растворителя на приборе Gilson GX-281. Для системы кислого растворителя применили колонку Waters SunFire 10 мкм C18 (100 Å, 250×19 мм), и растворителем А для преп-ВЭЖХ были вода/0.05% TFA, а растворителем В - ацетонитрил. Условиями элюирования были линейное градиентное повышение растворителя В с 5% до 100% в течение 20 мин при расходе в 30 мл/мин. Для системы основного растворителя применили колонку Waters Xbridge 10 мкм C18 (100 Å, 250×19 мм), и растворителем А для преп-ВЭЖХ были вода/10 мМ бикарбонат аммония (NH_4HCO_3), а растворителем В был ацетонитрил. Условиями элюирования были линейное градиентное повышение растворителя В с 5% до 100% в течение 20 мин при расходе в 30 мл/мин.

Флэш-хроматографию проводили на приборе Biotage, с картриджами для колонки Agela Flash Column silica-CS; обращенно-фазовую флэш-хроматографию проводили на приборе Biotage, с картриджами Boston ODS или Agela C18.

Метод анализа хиральной ВЭЖХ - условия хроматографии со сверхкритической подвижной фазой (SFC).

- a) Прибор: SFC Method Station (Thar, Waters).
- b) Колонка: CHIRALPAK AD-H/AS-H/OJ-H/OD-H 4.6×100 мм, 5 мкм (Daicel).
- c) Температура колонки: 40°C.
- d) Подвижная фаза: CO_2 / IPA (0.1% DEA) = 55/45.
- e) Расход: 4.0 мл/мин.
- f) Обратное давление: 120 бар.
- g) Объем вводимой пробы: 2 мкл.

Метод препаративной хиральной ВЭЖХ - условия хроматографии со сверхкритической подвижной фазой (SFC).

- a) Прибор: SFC-80 (Thar, Waters).
- b) Колонка: CHIRALPAK AD-H/AS-H/OJ-H/OD-H 20×250 мм, 10 мкм (Daicel).
- c) Температура колонки: 35°C.
- d) Подвижная фаза: CO_2 / IPA (0.2% метанол-аммиак) = 30/70.
- e) Расход: 80 г/мин.
- f) Обратное давление: 100 бар.
- g) Длина волны детектирования: 214 нм h) Время цикла: 6.0 мин.
- i) Раствор образца: 1500 мг, растворенных в 70 мл метанола.
- j) Объем вводимой пробы: 2 мл (нагрузка: 42.86 мг/ввод пробы).

Способы приготовления.

Нагрузки тубулизины (IV, V, VI) в табл. 1 синтезировали из промежуточных соединений I (фиг. 1), II и III (фиг. 4-6). Тубулизин-линкер-нагрузки в табл. 2 синтезировали из нагрузок тубулизины с известными линкерами L-1 (фиг. 8), L-2, L-3 (фиг. 9) и L-4 (фиг. 10A), которые коммерчески доступны или были синтезированы согласно литературе (см., например, US 2014/227295; и WO 2014/191578 A1).

Синтез промежуточных соединений Ia-c и Ig-1 показан на фиг. 1. Вос-аминокислоту 1 конденсировали с 2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-дионом 2, с последующим восстановлением кетона 3 при помощи NaBH_4 , в результате чего получили соединение 4. Соединение 4 преобразовали в лактам 5 посредством де-карбоксилирования 4 в условиях нагрева для раскрытия кольца и последующего закрытия кольца в один этап. Метилирование в α -позиции 5, с последующим щелочным гидролизом для преобразования лактама 5 в кислоту 7, и заключительное удаление Вос защитных групп дало промежуточные соединения Ia-c и Ig-1.

Синтез промежуточных соединений Id-f выполнялся согласно процедурам, описанным в: WO 2016/138288 A1 для Id ($\text{R}^4 = \text{F}$); Org. Lett. 2009, 11(24), 5567-5569 для Ie ($\text{R}^4 = \text{OH}$); и US 9,382,289 B2 для

If ($R^4 = NH_2$).

Синтез промежуточных соединений 17а-с показан на фиг. 2. Тиазол 11 получили из сложного этилового эфира цистеина 8 посредством циклизации с 2-оксо-пропаналом 9, с последующим окислением MnO_2 . α,β -ненасыщенный кетон 13 получили от альдольной конденсации 11 с 2-метил пропаналом 12. Присоединение по Михаэлю производного гидросиламина 15 к α,β -ненасыщенному кетону 13, с последующим CBS-катализированным восстановлением дало смесь цис-17 и транс-17, которые разделили посредством колоночной хроматографии и далее очистили посредством хиральной ВЭЖХ или хроматографии со сверхкритической подвижной фазой, в результате чего получили желаемое хиральное соединение 17а-с.

Восстановление по Кори-Бакши-Шибата (также известное как CBS-восстановление) или восстановление по Ицуно-Кори - хорошо отлаженная и высоко энантиоселективная реакция восстановления кетона. Сообщалось, что реактив оксазаборолдин опосредует восстановление кетона 16А и получение спирта 17А с высоким э.и., при этом 17А и стерео-изомер 17В были полностью проанализированы (Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 46, 3526-3529; см. фиг. 3). Мы восстановили 16а и 16b с использованием CBS- $VN_3 \cdot SmE$ и получили цис-17а или цис-17b (de > 90%) и транс-17а или транс-17b (de ~80%) из сырых соединений реакции, по-отдельности. Эти смешанные энантиомеры далее очистили посредством хиральной сверхкритической флюидной хроматографии и получили чистые энантиомеры (de > 95%). Мы также применили альтернативные условия восстановления и восстановили 16с с помощью борогидрида натрия и получили цис-17с и транс-17с после колоночной хроматографии на силикагеле. Каждую пару разделенных изомеров далее изолировали посредством хиральной ВЭЖХ, соответственно, и получили 17с-Р1, 17с-Р2, 17с-Р3 и 17с-Р4 (все и.э. > 99%). Для определения хиральных центров для всех четырех изомеров связь N-0 каждого соединения расщепили с помощью $Mo(CO)_6$ и получили 17А или 17В и их диастерео-изомеры 17А' или 17В', соответственно. Хиральные центры соединений 17а-с определили посредством сравнения 1H ЯМР данных и данных оптического вращения для обоих соединений 17А и 17В с опубликованными данными для тех же самых соединений.

Синтез О-промежуточного соединения и С-промежуточного соединения (II и III) показан на фиг. 4. Соединения 19а-с получили от О-TBS защит 17а-с, с последующим удалением Вос-защиты 18а-с. Соединения 19d-e получили от восстановительного аминирования капроальдегида или 5-гексинальдегида 20 с известным соединением 21 (Eur. Pat. Appl., 2409983, 25 Jan 2012), соответственно. Тройную связь в 19с можно восстановить палладием на угле, в результате чего получают 19f. На соединения 19а-е воздействовали (2S,3S)-2-азидо-3-метилпентаноил хлоридом 22, в результате чего получили амиды 23а-е, которые затем подвергли восстановлению по Штаудингеру в присутствии трифенилфосфина, с последующими амидированиями N-метил-2R-пиперидинкарбоновой кислотой 25, в результате чего получили амиды 26а-е. Соединения 26а-е преобразовали в промежуточные соединения IIа-е посредством удаления TBS-защиты фторидом цезия и последующих щелочных гидролизом. Тройную связь в IIс можно восстановить палладием на угле, в результате чего получают IIf. Промежуточные соединения IIIа-f получили от ацетилирования промежуточных соединений IIа-f. Промежуточное соединение IIIg получили от IIIе посредством [3+2] циклизации TMS- CH_2N_3 , с последующим удалением TBS-защиты фторидом цезия.

Синтез для получения производных С-тубулизина (IV) и производных О-тубулизина (V) показан на фиг. 5. Производные С-тубулизина (IV) синтезировали в соответствии с процедурами, описанными в публикации J. Org. Chem. 2008, 73 (12), 4362-4369. Показанная на фиг. 5 эстерификация промежуточных соединений IIIд-е пентафторфенолом (PFP) в присутствии N,N'-диизопропилкарбодиимида (DIC) дала эфиры пента фторфенила 28а-е, на которые воздействовали аминами Ia-l при амидировании и получили С-нагрузки тубулизина IVа-g и IVq-x, соответственно, после дополнительного удаления защиты Fmoc или TMS (см. удаление TMS-защиты на фиг. 6А). Производные О-тубулизина (V) синтезировали с помощью способов, описанных выше, из IIIа-с и f, посредством этерификации PFP в присутствии DIC, с последующим амидированием при помощи Ia-l. Производные О-тубулизина Vb, Ve и Vh получили после дополнительных удалений Fmoc-защиты. Гидрогенизация производного О-тубулизина Vi палладием на угле дала производное анилина Vj, которое далее гидрогенизировали при нагреве и получили Vк.

Аналоги С-триазол тубулизина (IVh и j-p) приготовили посредством двух подходов, показанных на фиг. 6А. Согласно первому подходу, на промежуточное соединение IIIе воздействовали TMS-метилазидом в [3+2] реакции клик-химии, в результате чего образовалось соединение IIIg1, а после удаления TMS-защиты фторидом цезия получили IIIg2. Преобразование IIIg2 в пентафторфениловый эфир 31 и последующее амидное связывание дали IVh после удаления Fmoc-защиты. Согласно второму подходу, аналоги триазол тубулизина IVj-p приготовили посредством [3+2] клик-реакций с промежуточным соединением Fmoc-IVd и разными азидо реактивами (R^5-N_3), с последующими удалениями Fmoc-защиты.

Синтез для приготовления производных О-тубулизина VIа-f, h показан на фиг. 7А и 7В. На соединение 27а воздействовали бис(4-нитрофенил)карбонатом (NPC), в результате чего образовался активированный карбонат 33, на который затем воздействовали первичными аминами и получили соединения 34а-е, F, H соответственно. Карбаматы VIа-f, h получили от амидирования соединений 34а-е, F, H, напри-

мер, с промежуточным соединением Ie, соответственно.

Синтез для приготовления линкер-тубулизин-нагрузок (LP) показан на фиг. 8 для LP1, фиг. 9 для LP2 и фиг. 10А для LP3 и LP4, фиг. 10В для LP5. Существует два подхода для получения этих линкер-нагрузок. Один способ заключается в конъюгации линкера с нагрузкой, что продемонстрировано в синтезе LP1 (фиг. 8); другой способ заключается в связывании линкера с фрагментом нагрузки, с последующим амидным связыванием для получения линкер-нагрузки, что продемонстрировано в синтезе LP2 (фиг. 9).

Как показано на фиг. 8, LP1 синтезировали посредством реакции IVa с гидразингидратом, в результате чего получили IVa', с последующим использованием MC-VC-PAB-PNP (L-1).

Как показано на фиг. 9, LP2 синтезировали посредством первого связывания VC-PAB с гидразидом промежуточного соединения Ie. Другими словами, на промежуточное соединение Ie воздействовали гидразингидратом для получения гидразита 35, на который воздействовали N-Fmoc-VC-PAB-PNP (L-2) и получили соединение 37 после удаления Boc-защиты с использованием TFA. Амидирование 37 с промежуточным соединением IIIa дало соединение 39 после удаления Fmoc-защиты; амидирование 39 с DI-BAC-suc-PEG4-COOH (L-3) дало LP2.

Ключевые промежуточные соединения проанализировали при хиральной сверхкритической жидкостной хроматографии (СЖХ) при других характеристиках колонки, при этом они все показали > 99% э.и., а время удерживания (Rt) указано далее в табл. 3.

Таблица 3

R_t хиральной СЖХ для определения э.и. промежуточных соединений

Соединение	R _t хиральной СЖХ (мин)			
	AD-H	AS-H	OJ-H	OD-H
37	2.14	3.89	1.99	4.97
38	2.19	3.99	2.06	6.24
39	2.37	2.11	5.73	

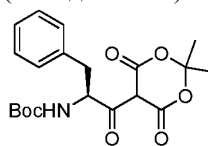
Как показано на фиг. 10А, на линкер L-2 воздействовали промежуточным соединением 7e и получили соединение 41 после удаления Boc-защиты. В результате реакции амидного связывания соединения 41 с 28e или 28c получили 43a или 43b, соответственно, после удаления Fmoc-защиты. Соединение 43a или 43b связали с DIBAC-suc-PEG4-NHS (L-4) и получили LP3 или LP4, соответственно.

Экспериментальные процедуры.

Синтез промежуточного соединения I на фиг. 1.

Общая процедура для соединения 3.

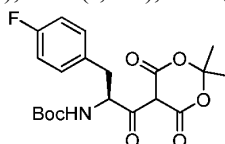
К смеси соединения 1 (5 г, 1.0 эквив.) в DCM (20 мл) добавили соединение 2 (1.1 эквив.) и DMAP (1.5 эквив.) при 0°C и смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин, после чего к реакционной смеси добавили EDCI (1.1 эквив.). Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. ЖХМС показала, что реакция завершена. Смесь промыли вод. бисульфатом калия (5%, 4×) и рассолом. Органический слой отделили и высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток тритуровали из метанола и получили соединение 3 (выход 50-60%) в виде белого твердого вещества.



трет-Бутил N-[(2S)-1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил]карбамат (3a)

При соблюдении общей процедуры для соединения 3 получили соединение 3a (4.2 г, выход 57%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 805 (2M + Na)⁺.

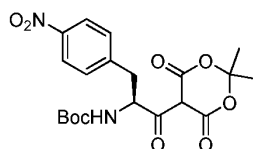
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 15.57 (s, 1H), 7.34-7.27 (m, 4H), 7.26-7.23 (m, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.09-4.79 (m, 1H), 3.25-3.05 (m, 1H), 2.94-2.79 (m, 1H), 1.75 (s, 3H), 1.65 (s, 3H), 1.36 (s, 9H) ppm.



трет-Бутил N-[(2S)-1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-3-(4-фторфенил)-1-оксопропан-2-ил]карбамат (3b)

При соблюдении общей процедуры для соединения 3 получили соединение 3b (4.2 г, выход 58%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 841 (2M + Na)⁺.

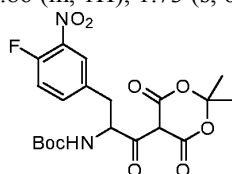
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7.30-7.24 (m, 2H), 7.03-6.97 (m, 2H), 5.93-5.78 (m, 1H), 5.08-4.96 (m, 1H), 3.23-3.09 (m, 1H), 2.86-2.74 (m, 1H), 2.06-1.82 (m, 1H), 1.76 (s, 3H), 1.68 (s, 3H), 1.36 (s, 9H) ppm.



(S)-трет-бутил 1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-3-(4-нитрофенил)-1-оксопропан-2-илкарбамат (3d)

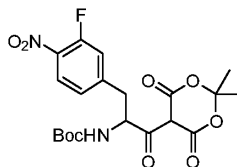
При соблюдении общей процедуры для соединения 3 получили соединение 3с (3.3 г, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 459 (M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 15.7 (s, 1H), 8.19 (d, J=9.0 Гц, 2H), 7.53 (d, J=9.0 Гц, 2H), 5.87 (s, 1H), 5.09-5.08 (m, 1H), 3.33-3.31 (m, 1H), 2.90-2.86 (m, 1H), 1.73 (s, 6H), 1.33 (s, 9H) ppm.



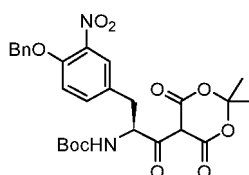
трет-Бутил 1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-3-(4-фтор-3-нитрофенил)-1-оксопропан-2-илкарбамат (3f)

При соблюдении общей процедуры для соединения 3 получили соединение 3f (62 г, сырое) в виде желтого твердого вещества, которое использовали для следующего этапа без дальнейшей очистки. ESI м/з: 477 (M + Na)⁺. (Примечание: соединение 1f синтезировали в соответствии с публикацией: J. Am. Chem. Soc., 2010, 132(22), 7776-7783).



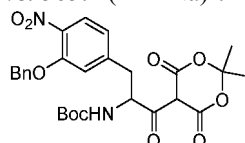
трет-Бутил 1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-3-(3-фтор-4-нитрофенил)-1-оксопропан-2-илкарбамат (3j)

К раствору 2-амино-3-(3-фтор-4-нитрофенил)пропановой кислоты (3.5 г, 15 ммоль; синтезированной в соответствии с Medicinal Chemistry Letters 2016, 7(3), 250-255) в диоксане (140 мл) и воде (70 мл) добавили карбонат натрия (4.8 г, 46 ммоль) и Вос₂O (3.6 г, 17 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали при КТ на протяжении 4 ч до завершения реакции под контролем ЖХМС. Реакционную смесь разбавили водой и окислили конц. HCl до pH 2-3. Водную смесь экстрагировали этилацетатом и объединенный органический раствор промыли рассолом. Летучие вещества удалили in vacuo и остаточный сырой продукт рекристаллизировали из 25% этилацетата в петролейном эфире и получили соединение 1j (4.7 г, выход 87%) в виде светло-желтого твердого вещества. ESI м/з: 351.1 (M + Na)⁺. При соблюдении общей процедуры для соединения 3 при использовании 1j получили соединение 3j (4.0 г, выход сырого соединения 96%) в виде коричневого твердого вещества, которое использовали для следующего этапа без дальнейшей очистки. ESI м/з: 477.1 (M + Na)⁺.



трет-Бутил (S)-3-(4-(бензилокси)-3-нитрофенил)-1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-1-оксопропан-2-илкарбамат (3k)

При соблюдении общей процедуры для соединения 3 с использованием соединения 1k (синтезированного в соответствии с J. Am. Chem. Soc. 1980, 102, 7156-7157) получили соединение 3k (4.8 г, выход сырого соединения 97%) в виде светло-зеленого твердого вещества, которое использовали для следующего этапа без дальнейшей очистки. ESI м/з: 565.1 (M + Na)⁺.



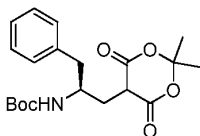
трет-Бутил (S)-3-(3-(бензилокси)-4-нитрофенил)-1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-1-оксопропан-2-илкарбамат (3l)

При соблюдении общей процедуры для соединения 3 с использованием соединения 1l (синтезированного с использованием аналогичной процедуры, как с 1k, за исключением начала процедуры с 2-

амино-3-(3-гидрокси-4-нитрофенил)пропановой кислоты, синтезированной в соответствии с J. Med. Chem. 1997, 40, 3182-3191) получили соединение 3l (4.6 г, выход сырого соединения 95%) в виде светлого твердого вещества, которое использовали на следующем этапе без дальнейшей очистки. ESI м/з: 565.1 (M + Na)⁺.

Общая процедура для соединения 4.

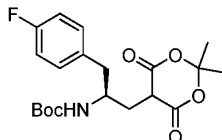
К раствору соединения 3 (1.0 эквив.) в DCM (20 мл) последовательно добавили при 0°C уксусную кислоту (11 эквив.) шприцем и борогидрид натрия (2.5 эквив.) несколькими частями. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч до полного разрушения соединения 3 под контролем ЖХМС. Затем смесь охладили рассолом при 0°C и экстрагировали DCM (3 раза). Объединенные органические слои высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/DCM) и получили соединение 4 (выход 83-96%).



трет-Бутил N-[(2R)-1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-3-фенилпропан-2-ил]карбамат (4a)

При соблюдении общей процедуры для соединения 4 получили соединение 4a (3.8 г, выход 95%) в виде бесцветного масла после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/DCM, об/об = 1/10). ESI м/з: 777 (2M + Na)⁺.

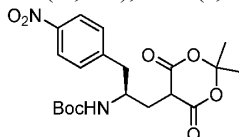
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7.33-7.28 (m, 2H), 7.25-7.28 (m, 3H), 4.55-4.40 (m, 1H), 4.28-4.18 (m, 1H), 3.98-3.84 (s, 1H), 2.86 (d, J= 6.3 Гц, 2H), 2.36-2.12 (m, 2H), 1.78 (s, 3H), 1.74 (s, 3H), 1.36 (s, 9H) ppm.



трет-Бутил N-[(2R)-1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-3-(4-фторфенил)пропан-2-ил]карбамат (4b)

При соблюдении общей процедуры для соединения 4 получили соединение 4b (3.8 г, выход 95%) в виде бесцветного масла после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/DCM, об/об = 1/1). ESI м/з: 813 (2M + Na)⁺.

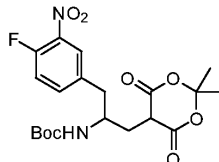
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7.20-7.12 (m, 2H), 7.03-6.94 (m, 2H), 4.50-4.40 (m, 1H), 4.25-4.13 (m, 1H), 3.92-3.84 (m, 1H), 2.87-2.74 (m, 2H), 2.34-2.06 (m, 2H), 1.78 (s, 3H), 1.73 (s, 3H), 1.35 (s, 9H) ppm.



трет-Бутил N-[(2R)-1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-3-(4-нитрофенил)пропан-2-ил]карбамат (4d)

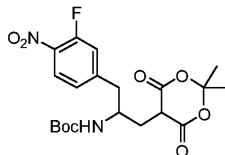
При соблюдении общей процедуры для соединения 4 получили соединение 4d (11 г, выход 83%) в виде бесцветного масла после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/DCM, об/об = 3/2). ESI м/з: 867 (2M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.18 (d, J=8.6 Гц, 2H), 7.40 (d, J=8.6 Гц, 2H), 4.52 (d, J=8.4 Гц, 1H), 4.39-4.18 (m, 1H), 3.84 (s, 1H), 3.05-2.87 (m, 2H), 2.39-2.14 (m, 2H), 1.80 (s, 3H), 1.75 (s, 3H), 1.35 (s, 9H) ppm.



трет-Бутил 1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-3-(4-фтор-3-нитрофенил)пропан-2-илкарбамат (4f)

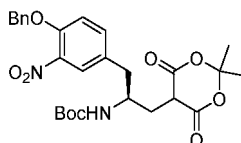
При соблюдении общей процедуры для соединения 4 получили соединение 4f (35 г, выход 79% за 2 этапа) в виде желтого твердого вещества. ESI м/з: 463 (M + Na)⁺.



трет-Бутил 1-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-3-(3-фтор-4-нитрофенил)пропан-2-

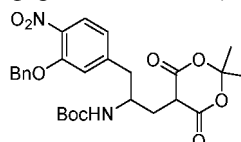
илкарбамат (4j)

При соблюдении общей процедуры для соединения 4 с использованием соединения 3j получили соединение 4j (3.4 г, выход 77% за 2 этапа) в виде желтого твердого вещества. ESI м/з: 463.1 (M + Na)⁺.



трет-Бутил (S)-1-(4-(бензилокси)-3-нитрофенил)-3-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)пропан-2-илкарбамат (4к)

При соблюдении общей процедуры для соединения 4 получили соединение 4к (2.0 г, выход 46%) в виде белого твердого вещества после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/петролейным эфиром, об/об = 1/1). ESI м/з: 552.1 (M + Na)⁺.

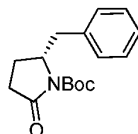


трет-Бутил (1-(3-(бензилокси)-4-нитрофенил)-3-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)пропан-2-ил)карбамат (4l)

При соблюдении общей процедуры для соединения 4 получили соединение 4l (2.0 г, выход 48%) в виде белого твердого вещества после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/петролейным эфиром, об/об = 1/1). ESI м/з: 552.1 (M + Na)⁺.

Общая процедура для соединения 5

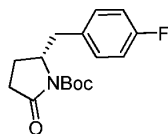
Раствор соединения 4 в толуоле (0.2-0.5 г/мл) перемешивали при 90°C в течение 3 ч, при этом преобразование соединения 4 в соединение 5 контролировали посредством ЖКМС. Затем летучие вещества удалили in vacuo. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/петролейным эфиром) и получили соединение 5 (выход 82-91%) в виде масла.



трет-Бутил (2R)-2-бензил-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5a)

При соблюдении общей процедуры для соединения 5 получили соединение 5a (2.3 г, выход 82%) в виде бесцветного масла после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/петролейным эфиром, об/об = 1/9). ESI м/з: 220 (M - 55)⁺.

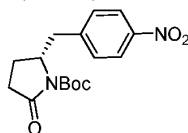
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7.35-7.29 (m, 2H), 7.28-7.24 (m, 1H), 7.21-7.17 (m, 2H), 4.40-4.34 (m, 1H), 3.18-3.10 (m, 1H), 2.77-2.70 (m, 1H), 2.35-2.29 (m, 2H), 2.01-1.91 (m, 1H), 1.85-1.77 (m, 1H), 1.59 (s, 9H) ppm.



трет-Бутил (2R)-2-[(4-фторфенил)метил]-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5b)

При соблюдении общей процедуры для соединения 5 получили соединение 5b (5.1 г, выход 91%) в виде желтого масла после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/петролейным эфиром, об/об = 1/5). ESI м/з: 609 (2M + Na)⁺.

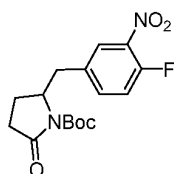
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7.18-7.13 (m, 2H), 7.04-6.99 (m, 2H), 4.37-4.31 (m, 1H), 3.13-3.07 (m, 1H), 2.76-2.69 (m, 1H), 2.40-2.26 (m, 2H), 2.04-1.91 (m, 1H), 1.81-1.75 (m, 1H), 1.58 (s, 9H) ppm.



трет-Бутил (2R)-2-[(4-нитрофенил)метил]-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5d)

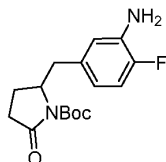
При соблюдении общей процедуры для соединения 5 получили соединение 5d (7.9 г, выход 90%) в виде желтого масла после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/петролейным эфиром, об/об = 1/9). ESI м/з: 663 (2M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.20 (d, J= 8.6 Гц, 2H), 7.39 (d, J=8.6 Гц, 2H), 4.46-4.36 (m, 1H), 3.32-3.24 (m, 1H), 2.88-2.80 (m, 1H), 2.48-2.37 (m, 2H), 2.08-1.97 (m, 1H), 1.80-1.71 (m, 1H), 1.58 (s, 9H) ppm.



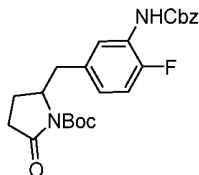
трет-Бутил 2-(4-фтор-3-нитробензил)-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5f)

При соблюдении общей процедуры для соединения 5 получили соединение 5f (15 г, выход 78%) в виде желтого масла после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали DCM). ESI м/з: 361 (M + Na)⁺.



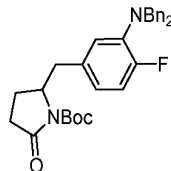
трет-Бутил 2-(3-амино-4-фторбензил)-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5g)

К раствору соединения 5f (15 г, 44 ммоль) в этилацетате (100 ммоль) добавили влажный 10% Pd/C (1.5 г). Смесь дегазировали и атмосферу заменяли на водород 3 раза и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода из баллона в течение 3 ч до завершения реакции согласно ЖХМС. Полученную смесь отфильтровали через целит, фильтрат сконцентрировали *in vacuo* и получили сырое соединение 5g (14 г, сырое) в виде желтого твердого вещества, которое затем использовали напрямую на следующем этапе. ESI м/з: 209.1 (M - Boc + H)⁺.



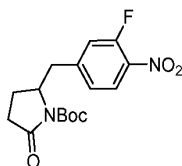
трет-Бутил 2-(3-(бензилоксикарбониламино)-4-фторбензил)-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5h1)

К раствору соединения 5g (0.74 г, 2.4 ммоль) в THF (10 мл) добавили бикарбонат натрия (0.30 г, 3.6 ммоль) и CbzCl (0.38 мл, 2.64 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали при КТ на протяжении 4 ч под контролем ЖХМС. Полученную смесь сконцентрировали, остаток очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле (0-35% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение 5h1 (0.85 г, выход 80%) в виде светло-желтого масла. ESI м/з: 343.1 (M - Boc + H)⁺.



трет-Бутил 2-(3-(дибензиламино)-4-фторбензил)-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5i)

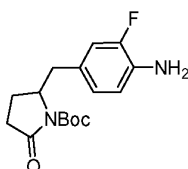
К раствору соединения 5g (14 г, 44 ммоль) в DMF (200 мл) добавили карбонат калия (18 г, 0.13 моль) и бензилбромид (13 мл, 0.11 моль) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 80°C на протяжении ночи до завершения образования 5i согласно ЖХМС. После охлаждения до комнатной температуры полученную смесь вылили в воду (500 мл) и экстрагировали DCM (200 мл × 2). Объединенный органический раствор промыли водой (100 мл × 2) и рассолом (200 мл × 1), высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo* и получили соединение 5i (24 г, сырое) в виде желтого масла. ESI м/з: 489.2 (M + H)⁺.



трет-Бутил 2-(3-фтор-4-нитробензил)-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5j1)

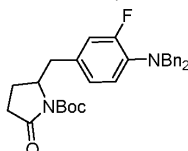
При соблюдении общей процедуры для соединения 5 с использованием соединения 4j получили соединение 5j1 (1.7 г, выход 63%) в виде желтого масла после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали DCM). ESI м/з: 361.1 (M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.15 (t, J=8.2 Гц, 1H), 7.48 (dd, J=12.3, 1.4 Гц, 1H), 7.30 (dd, J=8.5, 1.2 Гц, 1H), 4.38-4.31 (m, 1H), 3.13 (dd, J=13.1, 4.4 Гц, 1H), 2.97 (dd, J=13.1, 8.8 Гц, 1H), 2.59-2.52 (m, 1H), 2.29-2.21 (m, 1H), 1.99 (m, 1H), 1.71-1.62 (m, 1H), 1.44 (s, 9H) ppm.



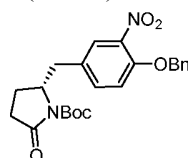
трет-Бутил 2-(4-амино-3-фторбензил)-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5j2)

К раствору соединения 5j1 (1.5 г, 4.4 ммоль) в этилацетате (30 мл) добавили влажный 10% Pd/C (0.30 г). Смесь дегазировали и атмосферу заменяли на водород 3 раза и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода из баллона в течение 3 часов до завершения реакции согласно ЖХМС. Полученную смесь отфильтровали через целит, фильтрат сконцентрировали *in vacuo* и получили сырое соединение 5j2 (1.4 г, сырое) в виде желтого твердого вещества, которое затем использовали напрямую на следующем этапе. ESI м/з: 209.1 (M - Boc + H)⁺.



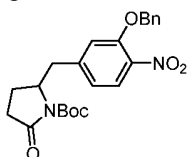
трет-Бутил 2-(4-(добензиламино)-3-фторбензил)-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5j)

К раствору соединения 5j2 (0.22 г, 0.71 ммоль) в DMF (3 мл) добавили карбонат калия (0.35 г, 2.5 ммоль) и бензилбромид (0.25 мл, 2.1 ммоль) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 80°C на протяжении ночи до тех пор, пока 5j не осталось согласно ЖХМС. После охлаждения до комнатной температуры полученную смесь вылили в воду (50 мл) и экстрагировали DCM (25 мл × 2). Объединенный органический раствор промыли водой (25 мл × 2) и рассолом (50 мл × 1), высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo* и получили соединение 5j (0.33 г, выход сырого соединения 95%) в виде желтого масла. ESI м/з: 489.3 (M + H)⁺.



трет-Бутил (R)-2-(4-(бензилокси)-3-нитробензил)-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5k)

При соблюдении общей процедуры для соединения 5 получили соединение 5k (0.5 г, выход 62%) в виде белого твердого вещества после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/петролейным эфиром, об/об = 1/1). ESI м/з: 327.1 (M - Boc + H)⁺.

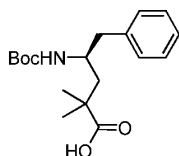


трет-Бутил 2-(3-(бензилокси)-4-нитробензил)-5-оксопирролидин-1-карбоксилат (5l)

При соблюдении общей процедуры для соединения 5 получили соединение 5l (0.6 г, выход 74%) в виде белого твердого вещества после очистки посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали этилацетатом/петролейным эфиром, об/об = 1/1). ESI м/з: 327.1 (M - Boc + H)⁺.

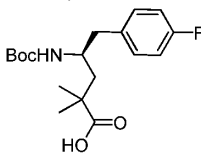
Общая процедура для соединений 7(a,b,d,h-j)

К раствору соединения 5 (1.0 эквив.) в THF (0.1 г/мл) добавили лития бис(триметилсилил)амид в гексане (1 M, 2.5 эквив.) при -78°C и смесь перемешивали при -78°C в течение 30 мин и затем добавили йодметан (4 эквив.) одной частью при -78°C. Полученную смесь перемешивали при -78°C в течение 2 ч до полного разрушения соединения 5 под контролем ЖХМС. Реакционной смеси дали согреться до КТ и к смеси добавили вод. гидроксид натрия (2 M, 2-3 эквив.). Полученную смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч под контролем ЖХМС. После завершения реакции реакционную смесь охладили до 0°C и окислили вод. гидроксидом (1 M) до pH 3. Смесь разбавили рассолом до разделения смеси на два слоя. Водный слой экстрагировали этилацетатом (3 раза) и объединенный органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (5-95% ацетонитрил в воде) и получили соединение 7 (выход 15-46%) в виде светло-желтого твердого вещества.



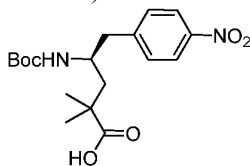
(4S)-4-[[tert-бутоксикарбонил]амино]-2,2-диметил-5-фенилпентановая кислота (7a)

При соблюдении общей процедуры для соединения 7 получили соединение 7a (0.31 г, выход 46%) в виде светло-желтого масла. ESI м/з: 665 (2M + Na)⁺.



(4S)-4-[[tert-бутоксикарбонил]амино]-5-(4-фторфенил)-2,2-диметилпентановая кислота (7b)

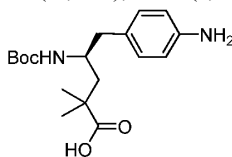
При соблюдении общей процедуры для соединения 7 получили соединение 7b (0.44 г, выход 15%) в виде светло-желтого масла. ESI м/з: 701 (2M + Na)⁺.



(4S)-4-[[tert-бутоксикарбонил]амино]-2,2-диметил-5-(4-нитрофенил)пентановая кислота (7d)

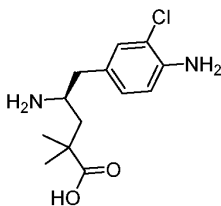
При соблюдении общей процедуры для соединения 7 получили соединение 7d (1.2 г, выход 26%) в виде светло-желтого масла. ESI м/з: 311 (M - 55)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.18-8.13 (m, 2H), 7.38-7.31 (m, 2H), 6.98-6.91 (m, 1H), 4.00-3.88 (m, 1H), 2.87-2.68 (m, 2H), 2.26-2.14 (m, 1H), 1.46-1.39 (m, 1H), 1.35 (s, 1H), 1.25-1.13 (m, 15H) ppm.



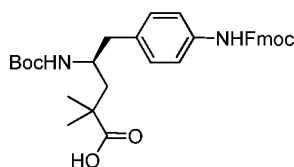
(4S)-5-(4-аминофенил)-4-[[tert-бутоксикарбонил]амино]-2,2-диметилпентановая кислота (7e)

К раствору соединения 7d (0.50 г, 1.4 ммоль) в метаноле (10 мл) и этилацетате (3 мл) добавили Pd/C (10% Pd, 0.10 г) в атмосфере азота при КТ. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода при КТ в течение 2 ч под контролем ЖХМС. Реакционную смесь отфильтровали через целит и целит промыли метанолом (3 раза). Объединенный фильтрат сконцентрировали *in vacuo* и получили соединение 7e (0.46 г, выход 99%) в виде светло-желтого твердого вещества, которое использовали без очистки на следующем этапе. ESI м/з: 281 (M - tBu + H)⁺.



(4S)-4-амино-5-(4-амино-3-хлорфенил)-2,2-диметилпентановая кислота, соль трифторуксусной кислоты (A-2b) (фиг. 5A)

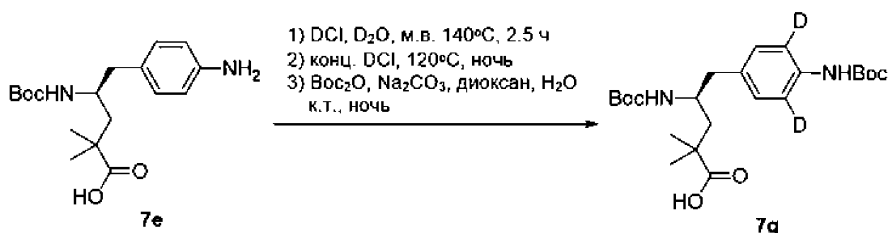
К раствору промежуточного соединения Вос-A-2d (или 7e) (0.55 г, 1.6 ммоль) в DMF (10 мл) добавили N-хлорсукцинимид (NCS) (0.24 г, 1.8 ммоль) и смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи под контролем ЖХМС. Полученную смесь разбавили этилацетатом (150 мл), промыли водой и рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле (50% этилацетат в петролейном эфире) и получили Вос-A-2b (0.48 г, ESI м/з 315.0 (M - tBu + H)⁺) в виде светло-желтого твердого вещества, которое растворили в TFA (2 мл). Смесь перемешивали при КТ в течение 15 мин до полного удаления Вое согласно ЖХМС. Летучие соединения удалили *in vacuo* и получили сырое соединение A-2b (0.64 г, соль трифторуксусной кислоты, выход 80% от Вос-A-2d) в виде светло-желтого вещества, которое использовали далее без дальнейшей очистки. ESI м/з 271.1 (M + H)⁺.



(4S)-4-{{{(трет-бутоксикарбонил)амино}-5-(4-{{{(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил)амино} фенил)-2,2-диметилпентановой кислоты (7c)

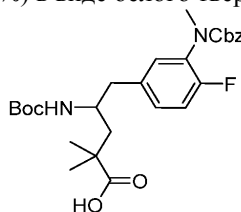
К смеси соединения 7e (0.46 г, 1.4 ммоль) в DCM (10 мл) добавили пиридин (0.22 г, 2.7 ммоль) при КТ и смесь перемешивали в течение 3 мин, а затем добавили 9-флуоренилметилхлорформат (Fmoc-Cl, 0.53 г, 2.1 ммоль). Затем смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч под контролем ЖХМС. Смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (система трифторуксусной кислоты) и получили соединение 7c (0.20 г, выход 26%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 581 (M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 7.83 (d, J=7.5 Гц, 2H), 7.72 (d, J=7.2 Гц, 2H), 7.50-7.28 (m, 6H), 7.20-7.05 (m, 2H), 4.55-4.38 (m, 2H), 4.30 (t, J=6.7 Гц, 1H), 3.90-3.80 (m, 1H), 2.75-2.50 (m, 2H), 1.90-1.80 (m, 1H), 1.70-1.60 (m, 1H), 1.38-1.10 (m, 15H) ppm.



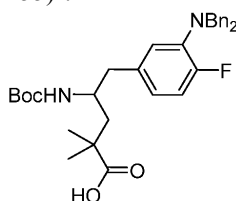
(S)-4-(((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-(4-(((трет-бутоксикарбонил)амино)фенил-3,5-d₂)-2,2-диметилпентановой кислоты (7g)

К смеси соединения 7e (0.10 г, 0.30 ммоль) в D₂O (1 мл) добавили конц. DCl (0.05 мл), где соединение 7e растворилось. Сосуд с раствором укупирили и подвергали воздействию сверхвысококачественного излучения при 140°C на протяжении 2.5 ч. После охлаждения до КТ к смеси добавили конц. DCl (2 мл) шприцем. Затем укупиренный сосуд нагрели до 120°C при помощи масляной бани. Реакционную смесь перемешивали при этой температуре на протяжении ночи под контролем ЖХМС. После охлаждения до КТ смесь нейтрализовали нас. бикарбонатом натрия до pH 8. Водный раствор сконцентрировали in vacuo и остаток отделили этилацетатом и водой. Водный слой лиофилизировали и остаток (50 мг с неорганическими солями) растворили в смеси диоксан-вода (3 мл, об/об = 2/1). К раствору добавили карбонат натрия (66 мг, 0.63 ммоль) и Boc₂O (50 мг, 0.23 ммоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи под контролем ЖХМС. Летучие соединения удалили in vacuo и остаток очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (5-95% ацетонитрил в воде (с 10 мМ бикарбоната аммония)) и получили соединение 7g (15 мг, выход 11%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 461 (M + Na)⁺.



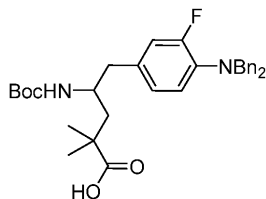
5-(3-(((бензилоксикарбонил)(метил)амино)-4-фторфенил)-4-(трет-бутоксикарбониламино)-2,2-диметилпентановой кислоты (7h)

При соблюдении общей процедуры для соединения 7 получили соединение 7h (0.23 г, выход 21%) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 403.2 (M - 55)⁺.



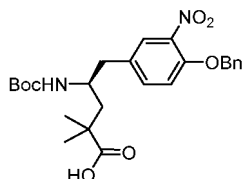
4-[[трет-бутоксикарбонил]амино]-5-[3-(дибензиламино)-4-фторфенил]-2,2-диметилпентановая кислота (7i)

При соблюдении общей процедуры для соединения 7 с использованием соединения 5i получили соединение 7i (2.1 г, выход 24%) в виде желтого масла. ESI м/з: 535.2 (M + H)⁺.



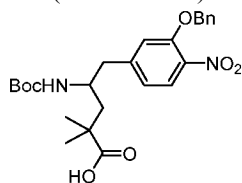
4-[[трет-бутоксикарбонил]амино]-5-[4-(дибензиламино)-3-фторфенил]-2,2-диметилпентановая кислота (7j)

При соблюдении общей процедуры для соединения 7 с использованием соединения 5j получили соединение 7j (60 мг, выход 17%) в виде желтого масла. ESI м/з: 535.2 (M + H)⁺.



(S)-5-(4-(бензилокси)-3-нитрофенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2,2-диметилпентановая кислота (7k)

При соблюдении общей процедуры для соединения 7 получили соединение 7k (0.1 г, выход 24%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 373.1 (M - Boc + H)⁺.

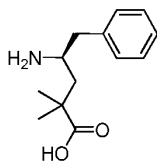


5-(3-(бензилокси)-4-нитрофенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2,2-диметилпентановая кислота (7l)

При соблюдении общей процедуры для соединения 7 получили соединение 7k (0.2 г, выход 36%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 373.1 (M - Boc + H)⁺.

Общая процедура для промежуточного соединения I.

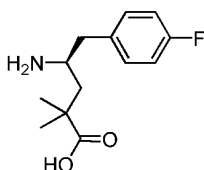
К раствору соединения 7 в DCM (50 мг/мл) добавили трифторуксусную кислоту (об_{TFA}/об_{DCM} = 1/3) шприцем при КТ. Смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч до полного удаления Boc согласно ЖХМС. Летучие соединения удалили in vacuo и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (система трифторуксусной кислоты) и получили промежуточные соединения Ia-c (выход 80-94%) в виде белого твердого вещества.



(S)-4-амино-2,2-диметил-5-фенилпентановая кислота (Ia)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения I получили Ia (0.20 г, выход 94%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 222 (M + H)⁺.

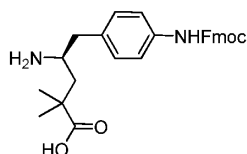
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 12.64 (s, 1H), 7.77 (s, 2H), 7.38-7.33 (m, 2H), 7.30-7.23 (m, 3H), 3.45-3.37 (m, 1H), 2.90-2.74 (m, 2H), 1.83-1.68 (m, 2H), 1.07 (s, 3H), 1.03 (s, 3H) ppm.



(4S)-4-амино-5-(4-фторфенил)-2,2-диметилпентановая кислота (Ib)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения I получили Ib (85 мг, выход 80%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 240 (M + H)⁺.

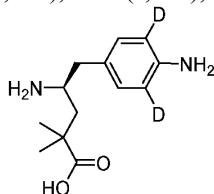
¹H ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 7.36-7.25 (m, 2H), 7.12 (t, J=8.7 Гц, 2H), 3.56-3.44 (m, 1H), 3.03-2.81 (m, 2H), 1.97-1.89 (m, 1H), 1.78-1.70 (m, 1H), 1.23 (s, 3H), 1.07 (s, 3H) ppm.



(4S)-4-амино-5-(4-{{(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил}амино}фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (Ic)

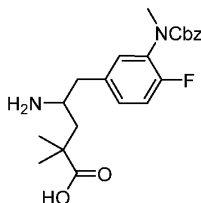
В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения I получили Ic (60 мг, выход 92%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 459 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 7.84 (d, J=7.5 Гц, 2H), 7.72 (d, J=7.5 Гц, 2H), 7.52-7.40 (m, 4H), 7.35 (t, J=7.4 Гц, 2H), 7.20 (d, J=7.8 Гц, 2H), 4.52 (d, J=5.6 Гц, 2H), 4.30 (t, J=6.6 Гц, 1H), 3.51-3.44 (m, 1H), 2.94-2.84 (m, 2H), 1.96-1.87 (m, 1H), 1.78-1.72 (m, 1H), 1.23 (s, 3H), 1.09 (s, 3H) ppm.



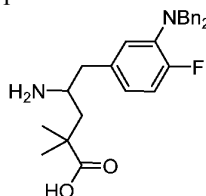
(S)-4-амино-5-(4-аминофенил-3,5-d2)-2,2-диметилпентановая кислота (Ig)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения I получили промежуточное соединение Ig (10 мг, выход 80%) в виде коричневого масла. ESI м/з: 239 (M + H)⁺.



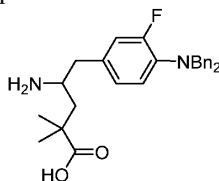
4-амино-5-(3-(((бензилокси)карбонил)(метил)амино)-4-фторфенил)-2,2-диметилпентановая кислота (Ih)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения I получили промежуточное соединение Ih (0.18 г, выход 97%) в виде коричневого масла. ESI м/з: 403 (M + H)⁺.



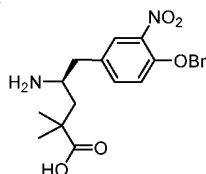
4-амино-5-[3-(дибензиламино)-4-фторфенил]-2,2-диметилпентановая кислота (Ij)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения I получили промежуточное соединение Ij (50 мг, выход 99%) в виде коричневого масла. ESI м/з: 435 (M + H)⁺.



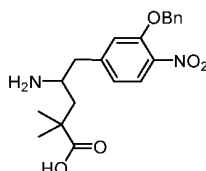
4-амино-5-[4-(дибензиламино)-3-фторфенил]-2,2-диметилпентановая кислота (Ik)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения I получили промежуточное соединение Ik (40 мг, выход 99%) в виде коричневого масла. ESI м/з: 435 (M + H)⁺.



(S)-4-амино-5-(4-(бензилокси)-3-нитрофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (Il)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения I получили промежуточное соединение Il (78 мг, выход 99%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 373.1 (M + H)⁺.

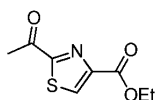


4-амино-5-(3-(бензилокси)-4-нитрофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (II)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения I получили промежуточное соединение II (0.1 г, выход 99%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 373.1 (M + H)⁺.

Синтез промежуточных соединений II и III на фиг. 4.

Синтез промежуточных соединений IIIa-c

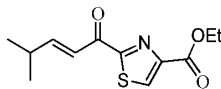


Этил 2-ацетилтиазол-4-карбоксилат (11) (фиг. 2)

К раствору сложного этилового эфира цистеингидрохлорида 8 (15 г, 81 ммоль) в смеси этанола и воды (1.5 л, об/об = 1) добавили бикарбонат натрия (6.8 г, 81 ммоль) и вод. пировиноградный альдегид 9 (35%, 18 мл, 0.11 моль) последовательно. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 18 ч и затем сконцентрировали до половины первоначального объема при помощи водяной бани < 25°C. К оставшемуся водному раствору добавили твердый хлорид натрия до насыщения и водный раствор экстрагировали DCM (дважды). Объединенный органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали in vacuo и получили сырое соединение 10, которое использовали без дальнейшей очистки.

К раствору соединения 10 (16 г, 81 ммоль) в DCM (0.50 л) добавили активированный диоксид марганца (0.14 кг, 1.6 моль). Реакционную смесь перемешивали при 65°C на протяжении ночи, под контролем ЖХМС. После охлаждения реакционной смеси до КТ суспензию отфильтровали через целитовую прокладку и целит/остаток промыли этилацетатом (2×200 мл). Объединенный фильтрат сконцентрировали in vacuo. Сырой продукт очистили посредством флэш-хроматографии (элюировали этилацетатом/гексаном, об/об = 1:3) и получили соединение 11 (5.9 г, выход 37% за два этапа) в виде желтого твердого вещества. ESI м/з: 199.9 (M + H)⁺.

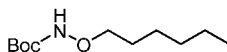
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.44 (s, 1H), 4.49 (q, J=7.1 Гц, 2H), 2.79 (s, 3H), 1.43 (t, J=7.1 Гц, 3H) ppm.



Этил 2-(4-метилпент-2-эноил)тиазол-4-карбоксилат (13) (фиг. 2)

Раствор 11 (2.9 г, 15 ммоль) в сухом THF (50 мл) охладили до 0°C в атмосфере азота. К этому раствору добавили раствор тетраоксида титана в толуоле (1 М, 32 мл, 32 ммоль) при помощи шприца. Полученную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин и затем охладили до -78°C. При -78°C к смеси добавили ТЕА (4.5 мл, 32 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 10 мин и затем по каплям добавили чистый изобутиральдегид (1.6 мл, 17 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при -78°C на протяжении одного часа до завершения реакции согласно ЖХМС. После нагрева реакционной смеси до КТ реакционную смесь охладили нас. вод. хлоридом аммония (50 мл) и экстрагировали этилацетатом. Объединенный органический раствор высушили над безводным сульфатом натрия, отфильтровали и сконцентрировали in vacuo. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (элюировали 10% этилацетатом в гексане) и получили соединение 13 (1.5 г, выход 41%) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 253.9 (M + H)⁺.

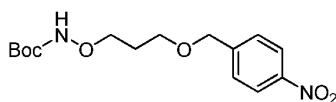
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.44 (s, 1H), 7.34-7.34 (m, 2H), 4.49 (q, J=7.0 Гц, 2H), 2.64 (m, 1H), 1.45 (t, J=7.0 Гц, 3H), 1.18 (d, J=7.0 Гц, 6H) ppm.



трет-Бутил N-(гексилокси)карбамат (15a) (фиг. 2)

К раствору трет-бутил гидроксикарбамата (2.1 г, 16 ммоль) в ацетонитриле (50 мл) добавили 1-бромгексан (2.7 г, 18 ммоль) и DBU (2.5 г, 17 ммоль) в DCM или MeCN последовательно. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 12 ч под контролем ТСХ и ЖХМС. Реакционную смесь охладили вод. HCl (0.1H) и экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали in vacuo. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (элюировали 0-100% этилацетатом в петролейном эфире) и получили соединение 15a (1.7 г, выход 50%) в виде бесцветного масла.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7.17 (br s, 1H), 3.84 (t, J=6.7 Гц, 2H), 1.65-1.58 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.40-1.26 (m, 6H), 0.89 (t, J=6.8 Гц, 3H) ppm.



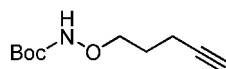
трет-Бутил 3-(4-нитробензилокси)пропоксикарбамат (15b) (фиг. 2)

Смесь 1-(бромметил)-4-нитробензола (0.10 кг, 0.46 моль), 1,3-пропандиола (0.39 л, 5.1 моль) и гидроксида калия (27 г, 0.49 моль) перемешивали при 80°C на протяжении ночи. После охлаждения реакционной смеси смесь налили в воду (500 мл) и отфильтровали. Фильтрат экстрагировали DCM (2×400 мл). Объединенные органические слои промыли водой и высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo* и получили 3-[(4-нитрофенил)метокси]пропан-1-ол (95 г, 97%) в виде коричневого масла [ESI м/з: 212 (M + H)⁺].

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.23 (d, J=8 Гц, 2H), 7.52 (d, J=8 Гц, 2H), 4.65 (s, 2H), 3.83 (t, J=6 Гц, 2H), 3.73 (t, J=6 Гц, 2H), 2.04 (br s, 1H), 1.96-1.91 (m, 2H) ppm], при этом чистоту подтвердили посредством ЖХМС и материал использовали на следующем этапе без дальнейшей очистки.

Сырой 3-[(4-нитрофенил)метокси]пропан-1-ол (89 г, 0.42 моль) растворили в DCM (0.90 л) и к раствору добавили TEA (85 г, 0.84 моль). Раствор охладили до 0°C и затем по каплям добавили метансульфонилхлорид (72 г, 0.63 моль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин под контролем ЖХМС и затем промыли нас. вод. хлоридом аммония (3 раза). Органический слой высушили над сульфатом натрия и отфильтровали. К фильтрату добавили трет-бутил гидроксикарбамат (90 г, 0.68 моль) и DBU (90 г, 0.59 моль) в DCM или MeCN последовательно. Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи и затем вновь добавили трет-бутил гидроксикарбамат (30 г, 0.23 моль) и DBU (50 г, 0.33 моль) в DCM или MeCN. Смесь перемешивали при КТ еще на протяжении 2 дней. ЖХМС показала, что большая часть исходного материала была разрушена. Реакционную смесь промыли нас. вод. аммония хлоридом (3 раза), высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (элюировали 0-15% этилацетатом в петролейном эфире) и получили соединение 15b (90 г, выход 65%) в виде желтого масла. ESI м/з: 349 (M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.23 (d, J=8.7 Гц, 2H), 7.53 (d, J=8.6 Гц, 2H), 7.18 (s, 1H), 4.64 (s, 2H), 4.01 (t, J=6.2 Гц, 2H), 3.68 (t, J=6.2 Гц, 2H), 2.00 (q, J=6.2 Гц, 2H), 1.50 (s, 9H) ppm.

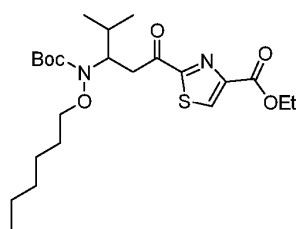


трет-Бутил N-(пент-4-ин-1-илокси)карбамат (15c) (фиг. 2)

К раствору трет-бутил гидроксикарбамата (20 г, 15 ммоль) в DMSO (0.50 л) добавили калия трет-бутоксид (13 г, 12 ммоль) и 5-хлор-1-пентин (10 г, 10 ммоль) последовательно. Реакционную смесь перемешивали при КТ в атмосфере азота в течение 16 ч под контролем ЖХМС. Затем смесь охладили нас. вод. хлоридом аммония.

Водный раствор экстрагировали этилацетатом (дважды). Объединенный органический раствор промыли водой (3 раза), высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали. Сырой продукт очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали 5-20% этилацетатом в петролейном эфире) и получили соединение 15c (7.2 г, выход 36%) в виде бесцветного масла.

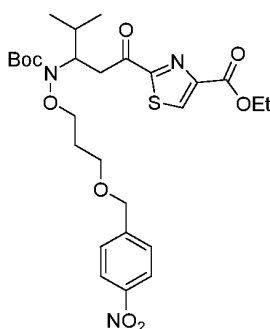
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7.18 (s, 1H), 3.95 (t, J=6.2 Гц, 2H), 2.33 (d, J=2.6 Гц, 2H), 1.96 (s, 1H), 1.89-1.81 (m, 2H), 1.49 (s, 9H) ppm.



Этил 2-(3-{{{трет-бутоксикарбонил}(гексилокси)амино}-4-метилпентаноил)-1,3-тиазол-4-карбоксилат (16a) (фиг. 2)

К раствору соединения 15a (2.6 г, 12 ммоль) в THF (45 мл) добавили гидрид натрия (60% в минеральном масле, 0.60 г, 12 ммоль) при 0°C несколькими частями в атмосфере азота. Смесь перемешивали при КТ в течение 20 мин и затем по каплям добавили раствор соединения 13 (1.5 г, 4.0 ммоль) в THF (15 мл). Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении часа до разрушения 13 согласно ТСХ (10% этилацетат в гексане). Реакционную смесь разбавили этилацетатом и рассолом. Водный слой экстрагировали этилацетатом и объединенный органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали 10% этилацетатом в гексане) и получили соединение 16a (0.25 г, выход 60%) в виде желтого масла.

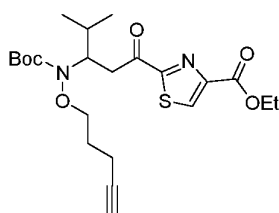
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.42 (s, 1H), 4.45 (q, J=7.2 Гц, 2H), 4.38-4.30 (m, 1H), 3.87-3.76 (m, 2H), 3.61-3.53 (m, 1H), 3.43-3.37 (m, 1H), 2.09-1.99 (m, 1H), 1.56-1.43 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.43 (t, J=7.2 Гц, 3H), 1.33-1.21 (m, 6H), 1.02 (t, J=6.7 Гц, 6H), 0.86 (t, J=7.1 Гц, 3H) ppm.



Этил 2-{{3-[10,10-диметил-1-(4-нитрофенил)-8-оксо-2,6,9-триокса-7-азаундекан-7-ил]-4-метилпентаноил}-1,3-тиазол-4-карбоксилат (16b) (фиг. 2)

Смесь соединения 15b (5.2 г, 16 ммоль) и соединения 13 (2.7 г, 11 ммоль) в толуоле (50 мл) охладил до 5°C при помощи ледяной бани и к раствору добавили тетрабутиламмонийбромид (0.34 г, 1.1 ммоль) и вод. гидроксид калия (50%, 1.4 г, 13 ммоль) последовательно. Смесь перемешивали при КТ на протяжении 16 ч. Смесь вылили в нас. вод. хлорид аммония (200 мл) и суспензию экстрагировали этилацетатом (3 раза). Объединенные органические слои промыли рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (элюировали 0-30% этилацетатом в петролейном эфире) и получили сырое соединение 16b, которое снова очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (ODS-колонка, 50-100% ацетонитрил в воде (с 10 мМ бикарбоната аммония)) и получили соединение 16b (3.2 г, выход 52%) в виде желтого масла. ESI м/з: 602 (M + Na)⁺.

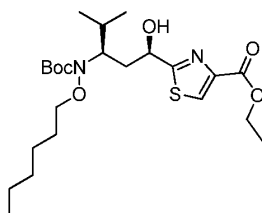
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.42 (s, 1H), 8.21 (d, J=8.6 Гц, 2H), 7.53 (d, J=8.4 Гц, 2H), 4.63 (s, 2H), 4.44 (q, J=6.8 Гц, 2H), 4.38-4.33 (m, 1H), 4.04-3.96 (m, 2H), 3.64-3.55 (m, 4H), 3.50-3.30 (m, 1H), 2.05-1.90 (m, 2H), 1.47-1.41 (m, 12H), 1.01 (d, J=6.7 Гц, 6H) ppm.



Этил 2-{{3-{{(трет-бутоксикарбонил)(пент-4-ин-1-илокси)амино}}-4-метилпентаноил}-1,3-тиазол-4-карбоксилат (16c) (фиг. 2)

В соответствии с процедурой приготовления 16b получили 16c (38 г, выход 84%) в виде масла. ESI м/з: 475 (M + Na)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.42 (s, 1H), 4.44 (q, J=6.9 Гц, 2H), 4.36 (td, J=9.5, 3.8 Гц, 1H), 3.99-3.87 (m, 3H), 3.65-3.67 (m, 1H), 3.45-3.30 (m, 1H), 2.43-2.15 (m, 3H), 1.83-1.70 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.43 (t, J=7.1 Гц, 3H), 1.01 (d, J=6.5 Гц, 6H) ppm.



Этил 2-((1R,3R)-3-(трет-бутоксикарбонил(гексилокси)амино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (17a); и этил 2-((1R,3S)-3-(трет-бутоксикарбонил(гексилокси)амино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (17a2) (фиг. 3)

Коммерческий раствор (S)-2-метил-CBS-оксазаборолитина в толуоле (1 М, 64 мкл, 64 мкмоль) разбавили сухим THF (3 мл) и охладил до 0°C. К раствору добавили раствор BH₃·Me₂S в THF (2 М, 0.38 мл, 0.38 ммоль) шприцем при 0°C. Раствор перемешивали в течение 10 мин при 0°C и затем по каплям добавили раствор 16a (0.15 г, 0.32 ммоль) в сухом THF (2 мл). Реакционную смесь нагрели до КТ и перемешивали на протяжении ночи. Реакционную смесь охладил метанолом (1 мл) и летучие соединения удалили *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (элюировали 20% этилацетатом в гексане) и получили 17a (70 мг, R_f = 0.3, 20% этилацетат в гексане) и диастереоизомер 17a2 (61 мг, R_f = 0.25, 20% этилацетат в гексане) (общий выход 86%).

17a: [α]_D²³ = +7.296 (c = 1.82, CHCl₃, после хирального разделения). ESI м/з: 473 (M + H)⁺.

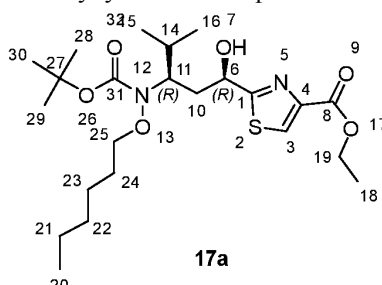
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.14 (s, 1H), 4.99 (d, J=10.2 Гц, 1H), 4.42 (q, J=7.1 Гц, 2H), 4.00 (dd, J=14.2, 6.8 Гц, 1H), 3.92 (dd, J=13.7, 7.0 Гц, 2H), 2.41 (m, 1H), 2.00 (m, 1H), 1.92 (t, J=11.2 Гц, 1H), 1.62 (m,

2H), 1.53 (s, 9H), 1.41 (m, 5H), 1.32 (m, 5H), 1.03 (d, J=6.6 Гц, 3H), 0.97 (d, J=6.7 Гц, 3H), 0.91 (t, J=6.8 Гц, 3H) ppm.

17a2: $[\alpha]_D^{23} = +28.81$ (c = 1.24, CHCl₃). ESI m/z: 473 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.12 (s, 1H), 5.12 (d, J=6.6 Гц, 1H), 4.42 (q, J=7.1 Гц, 2H), 4.09 (s, 1H), 3.99 (dd, J=14.3, 6.9 Гц, 1H), 3.88-3.78 (m, 2H), 2.42 (dt, J=14.8, 3.3 Гц, 1H), 2.12-2.06 (m, 1H), 1.91 (tt, J=13.3, 6.6 Гц, 1H), 1.63-1.57 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.42-1.33 (m, 5H), 1.31-1.25 (m, 5H), 0.98 (dd, J=6.6, 4.3 Гц, 6H), 0.88 (t, J=6.8 Гц, 3H) ppm.

Определение хиральных центров О-тубулизинов на фиг. 3 и 4



Этил 2-((1R,3R)-3-(трет-бутоксикарбониламино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (17A)

Смесь соединения 17a (500 мг, 1.06 ммоль), Mo(CO)₆ (1 г, 3.79 ммоль), CH₃CN (15 мл) и H₂O (5 мл) перемешивали при 120°C в СВЧ-реакторе в течение 8 ч. Затем смесь охладил, отфильтровали и сконцентрировали. К сырой смеси добавили MeOH (10 мл) и Вос₂O (500 мг, 2.29 ммоль) и полученную смесь перемешивали при КТ в течение 3 ч. Смесь сконцентрировали, суспендировали в CH₂Cl₂ (10 мл) и отфильтровали. Фильтрат сконцентрировали и очистили посредством флэш-хроматографии (силикагель, от РЕ к РЕ/ЕА=60/40) и затем очистили посредством преп-ВЭЖХ (NH₄HCO₃/H₂O/CH₃CN) и получили 17A в виде белого твердого вещества (25 мг, 6.3%). $[\alpha]_D^{23} = +13.571$ (c = 0.56, CHCl₃). ESI m/z: 373 (M+H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.14 (s, 1H), 5.22 (d, J=3.8 Гц, 1H), 5.02 (d, J=11.2 Гц, 1H), 4.58 (d, J=9.6 Гц, 1H), 4.42 (q, J=7.1 Гц, 2H), 3.77-3.69 (m, 1H), 2.13-2.03 (m, 1H), 1.85-1.68 (m, 2H), 1.44-1.41 (s, 9H), 1.40 (t, J=7.1 Гц, 3H), 0.96 (d, J=6.8, 3.0 Гц, 3H), 0.95 (d, J=6.8 Гц, 3H) ppm.

Этил 2-((1R,3S)-3-(трет-бутоксикарбониламино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (17B)

Смесь соединения 17a2 (600 мг, 1.27 ммоль), Mo(CO)₆ (1.2 г, 4.55 ммоль), CH₃CN (12 мл) и H₂O (4 мл) перемешивали в СВЧ-реакторе при 100°C в течение 2 ч и при 120°C в течение 6 ч. Смесь отфильтровали и сконцентрировали. Смесь растворили в MeOH (10 мл) и добавили Вос₂O (600 мг, 2.75 ммоль). Смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Смесь сконцентрировали, суспендировали в CH₂Cl₂, высушили над Na₂SO₄ и отфильтровали. Фильтрат сконцентрировали и очистили посредством флэш-хроматографии (силикагель, от РЕ к РЕ/ЕА=50/50) и затем посредством преп-ВЭЖХ (NH₄HCO₃/H₂O/CH₃CN). Полученные смешанные фракции сконцентрировали и лиофилизировали и получили 17B в виде белого твердого вещества (85 мг, 18%). $[\alpha]_D^{23} = +82.957$ (c = 1.6, CHCl₃). ESI m/z: 373 (M+H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.04 (s, 1H), 4.90 (s, 1H), 5.07 (s, 1H), 4.53 (d, J=8.9 Гц, 1H), 4.35 (q, J=7.1 Гц, 2H), 3.58 (m, 1H), 2.30 (d, J=14.8 Гц, 1H), 2.00-1.85 (m, 2H), 1.34 (s, 9H), 1.32 (t, J=Гц, 3H), 0.9 (d, J=6.8 Гц, 3H), 0.86 (d, J=6.8 Гц, 3H).

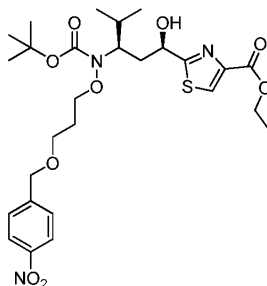
¹H ЯМР химические сдвиги 17A от 17a и 17B от 17a2 в хлороформе-d приведены в табл. 4, вместе с опубликованными ¹H ЯМР данными для (1R,3R)-17A и (1R,3S)-17B (Organic and Biomolecular Chemistry 2013, 11(14), 2273-2287). На основании изучения всех аналитических данных было сделано заключение о том, что 17a - (1R,3R)-17a, что можно преобразовать в (1R,3R)-17A, и 17a2 - (1R,3S)-17a, что можно преобразовать в (1R,3S)-17B.

Таблица 4

ЯМР данные (1R,3R)-17А, (1R,3R)-17А, (1R,3S)-17В и (1R,3S)-17В

	(1R,3R)-17А (справочные данные)	(1R,3R)-17А (от 17а)
1	8.08 (s, 1H)	8.14 (s, 1H)
(NH)	5.14 (br s, 1H)	5.22 (d, J = 3.8 Гц, 1H)
3	4.98 (br d, J = 11 Гц, 1H)	5.02 (d, J = 11 Гц, 1H)
4	4.58 (d, J = 9.4 Гц, 1H)	4.58 (d, J = 9.6 Гц, 1H)
5	4.36 (q, J = 7.3 Гц, 2H)	4.42 (q, J = 7.1 Гц, 2H)
6	3.75-3.64 (m, 1H),	3.77-3.69 (m, 1H)
7	2.04 (dt, J = 12, 2.2 Гц, 1H)	2.13-2.03 (m, 1H)
8	1.81-1.63 (m, 2H)	1.85-1.68 (m, 2H)
9	1.40 (s, 9H),	1.44 (s, 9H)
10	1.37 (t, J = 7.3 Гц, 3H)	1.40 (t, J = 7.1 Гц, 3H)
11	0.93 (d, J = 7.0 Гц, 3H)	0.96 (d, J = 6.8, 3.0 Гц, 3H).
12	0.91 (d, J = 6.8 Гц, 3H)	0.95, (d, J = 6.8 Гц, 3H)
	[α] _D ²³ = +4.5 (c = 1.74 г/100 мл в CHCl ₃)	[α] _D ²³ = +13.571 (c = 0.56 г/100 мл в CHCl ₃)
		R _f = 0.51 (n-Hex/AcOEt = 6:4) при ТСХ
	(1R,3S)-17В (справочные данные)	(1R,3S)-17В (от 17а2)
1	8.07 (s, 1H)	8.04 (s, 1H)
(NH)	4.82 (br s, 1H),	4.90 (s, 1H)
3	5.18-5.04 (m, 1H)	5.07 (s, 1H)
4	4.56 (br d, J = 8.6 Гц, 1H)	4.53 (d, J = 8.9 Гц, 1H)
5	4.38 (q, J = 6.9 Гц, 2H)	4.35 (q, J = 7.1 Гц, 2H)
6	3.68-3.56 (m, 1H)	3.584 (m, 1H)
7	2.39-2.26 (m, 1H)	2.30 (d, J = 14.8 Гц, 1H)
8	1.98-1.77 (m, 2H)	2.00-1.85 (m, 2H)
9	1.39 (s, 9H),	1.34 (s, 9H)
10	1.37 (t, J = 6.9 Гц, 3H)	1.32, (t, J = 7 Гц, 3H)
11	0.94 (d, J = 6.8 Гц, 3H)	0.90 (d, J = 6.8 Гц, 3H)
12	0.90 (d, J = 6.7 Гц, 3H)	0.86 (d, J = 6.8 Гц, 3H)
	[α] _D ²³ = +57.7 (c = 1.2 г/100 мл в CHCl ₃)	[α] _D ²³ = +82.957 (c = 1.6 г / 100 мл в CHCl ₃)
		R _f = 0.27 (n-Hex/AcOEt = 6:4) при ТСХ

Этил 2-((1R,3R)-3-(трет-бутоксикарбонил(3-(4-нитробензилокси)пропокси)амино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (17b)



С использованием похожих условий реакции, описанных выше для приготовления (1R,3R)-17а, отдельности получили сырое соединение (1R,3R)-17b (2.7 г, с 80% э.и., выход 43%) и диастереоизомер (1R,3S)-17b (2.5 г, выход 39%). Соединение 17b (сырое) далее очистили посредством хиральной сверхкритической флюидной хроматографии и получили энантиомерно чистую смесь (1R,3R)-17b (1.7 г, выход 63%) в виде желтого масла. Хиральность (1R,3R)-17b определили при помощи того же способа, который был описан для 17а.

Для (1R,3R)-17b ESI м/з: 604 (M + Na)⁺.

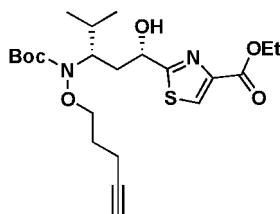
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.20 (d, J=8.7 Гц, 2H), 8.13 (s, 1H), 7.52 (d, J=8.7 Гц, 2H), 4.97 (d, J=10.0 Гц, 1H), 4.64 (s, 2H), 4.42 (q, J=7.1 Гц, 2H), 4.15-4.03 (m, 3H), 3.91 (t, J=9.7 Гц, 1H), 3.69 (t, J=6.4 Гц, 2H), 2.43-2.36 (m, 1H), 2.03-1.86 (m, 4H), 1.52 (s, 9H), 1.41 (t, J=7.1 Гц, 3H), 1.02 (d, J=6.6 Гц, 3H), 0.94 (d, J=6.7 Гц, 3H) ppm. Хиральная СФХ, колонка OD-H, CO₂/MeOH (0.2% метанол аммоний). Время удерживания: 5.58 мин, площадь %: >99%.

Для (1S,3S)-17b ESI м/з: 604 (M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.21 (d, J=8.7 Гц, 2H), 8.13 (s, J=4.0 Гц, 1H), 7.51 (d, J=8.6 Гц, 2H), 5.15-5.12 (m, 1H), 4.62 (s, 2H), 4.45-4.41 (m, 2H), 4.15 (dd, J=14.4, 6.3 Гц, 1H), 4.05 (dd, J=14.2, 6.1 Гц, 1H), 3.95 (s, 1H), 3.80 (t, J=8.1 Гц, 1H), 3.66 (t, J=6.3 Гц, 2H), 2.43 (dt, J=14.8, 3.5 Гц, 1H), 2.13-1.89 (m, 4H), 1.50 (s, 9H), 1.42 (t, J=7.1 Гц, 3H), 1.00-0.98 (m, 6H) ppm. Хиральная СФХ, колонка OD-H, CO₂/MeOH (0.2% метанол аммоний). Время удерживания: 4.37 мин, площадь %: >99%.

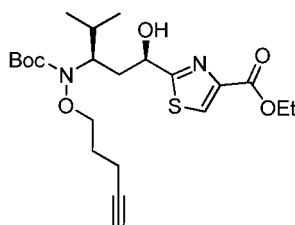
Этил 2-((1R,5R)-3-(трет-бутоксикарбонил(пент-4-инилокси)амино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (17c-P2); и этил 2-((1S,3S)-3-(трет-бутоксикарбонил(пент-4-инилокси)амино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (17c-P1); этил 2-((1R,3S)-3-(трет-бутоксикарбонил(пент-4-инилокси)амино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (17c-P3); и этил 2-((1S,3R)-3-(трет-бутоксикарбонил(пент-4-инилокси)амино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (17c-P4).

К раствору соединения 16с (93 г, 0.21 моль) в этаноле (0.30 л) добавили борогидрид натрия (7.8 г, 0.21 моль) при 0°C по частям. Раствор перемешивали при 0°C в течение 3 ч до завершения реакции согласно ЖХМС. Реакционную смесь охладили водой (1 л) при 0°C и водный раствор экстрагировали DCM (1.5 л). Объединенные органические слои сконцентрировали in vacuo. Сырой продукт очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали 5-20% этилацетатом в петролейном эфире) и получили цис-17с (сырое соединение) (29 г, выход 31%) и транс-17с (26 г, выход 27%). Цис-изомер далее очистили посредством хиральной СФХ и получили (1S,3S)-17с (пик 1) (6 г, выход 21%) и чистый (1R,3R)-17с (пик 2) (8.2 г, выход 28%, 99% е.и.). Транс-17с (2 г) отделили посредством СФХ и получили (1R,3S)-17с-P3 (0.52 г, выход 26%) и (1S,3R)-17с-P4 (0.55 г, выход 27%).



Для (1S,3S)-17с (пик 1): ESI м/з: 477 (M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.13 (s, 1H), 4.98 (d, J=9.5 Гц, 1H), 4.41 (q, J=7.1 Гц, 2H), 4.10 (dd, J=14.0, 6.2 Гц, 1H), 4.03 (dd, J=13.6, 6.3 Гц, 1H), 3.92 (t, J=9.8 Гц, 1H), 2.48-2.39 (m, 1H), 2.36 (td, J=6.9, 2.5 Гц, 2H), 2.08 (t, J=2.4 Гц, 1H), 2.06-1.95 (m, 1H), 1.87 (dt, J=13.0, 8.9 Гц, 3H), 1.52 (s, 9H), 1.40 (t, J=7.1 Гц, 3H), 1.02 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.95 (d, J=6.7 Гц, 3H) ppm.



(1R,3R)-17с (пик 2): ESI м/з: 477 (M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.13 (s, 1H), 4.98 (d, J=9.5 Гц, 1H), 4.41 (q, J=7.1 Гц, 2H), 4.10 (dd, J=14.0, 6.2 Гц, 1H), 4.03 (dd, J=13.6, 6.3 Гц, 1H), 3.92 (t, J=9.8 Гц, 1H), 2.48-2.39 (m, 1H), 2.36 (td, J=6.9, 2.5 Гц, 2H), 2.08 (t, J=2.4 Гц, 1H), 2.06-1.95 (m, 1H), 1.87 (dt, J=13.0, 8.9 Гц, 3H), 1.52 (s, 9H), 1.40 (t, J=7.1 Гц, 3H), 1.02 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.95 (d, J=6.7 Гц, 3H).

Хиральная СФХ, колонка EnantioPak OZ-H, CO₂/EtOH (0.2% метанол аммоний). Время удерживания: 0.71, площадь %: 100%.

Для (1R,3S)-17с-P3: ESI м/з: 477 (M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.12 (s, 1H), 5.19-5.06 (m, 1H), 4.42 (q, J=7.1 Гц, 2H), 4.09 (dd, J=14.3, 6.1 Гц, 1H), 3.98 (dd, J=14.3, 6.1 Гц, 1H), 3.91 (s, 1H), 3.80 (t, J=8.4 Гц, 1H), 2.42 (dt, J=14.9, 3.4 Гц, 1H), 2.32 (td, J=7.0, 2.6 Гц, 2H), 2.12 (ddd, J=14.9, 10.4, 8.9 Гц, 1H), 1.94 (dt, J=16.4, 4.7 Гц, 2H), 1.83 (p, J=6.7 Гц, 2H), 1.50 (s, 9H), 1.40 (t, J=7.1 Гц, 3H), 0.99 (s, 3H), 0.98 (d, J=0.8 Гц, 3H).

Для (1S,3R)-17с-P4: ESI м/з: 477 (M + Na)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.12 (s, 1H), 5.16-5.10 (m, 1H), 4.44-4.39 (m, 2H), 4.13-4.05 (m, 1H), 3.98 (dd, J=14.2, 6.2 Гц, 1H), 3.91 (s, 1H), 3.80 (t, J=8.2 Гц, 1H), 2.42 (dt, J=14.9, 3.4 Гц, 1H), 2.32 (td, J=7.0, 2.6 Гц, 2H), 2.18-2.07 (m, 1H), 1.94 (dt, J=16.5, 4.6 Гц, 2H), 1.83 (p, J=6.6 Гц, 2H), 1.50 (s, 9H), 1.40 (t, J=7.1 Гц, 3H), 0.99 (s, 3H), 0.98 (s, 3H).

Хиральность изомеров 17с определили при помощи того же способа, который был описан для 17а. Для двух 17с цис-изомеров: 17с-P2 преобразовали в (1R,3R)-17А и 17с-P1 преобразовали в (1S,3S)-17А. Для двух 17с транс-изомеров: 17с-P3 преобразовали в (1R,3S)-17В и 17с-P4 преобразовали в (1S,3R)-17В.

¹H ЯМР химические сдвиги изомеров 17А и 17В от 17с (P1, P2, P3, P4) в хлороформ-*d* приведены далее в табл. 5. На основании изучения всех аналитических данных было сделано заключение о том, что 17с-P2 - (1R,3R)-17с, что можно преобразовать в (1R,3R)-17А (опубликовано), и 17с-P4 - (1S,3R)-17с, что можно преобразовать в (1S,3R)-17В (опубликовано).

Таблица 5

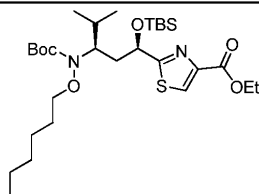
ЯМР данные (1R,3R)-17А, (1R,3R)-17А, (1S,3S)-17А, (1R,3S)-17В, (1S,3R)-17В и (1R,3S)-17В

	(1R,3R)-17А (справочные данные)	(1R,3R)-17А	(1S,3S)-17А
		от (1R,3R)-17с; цис-P2	от (1S,3S)-17с; цис-P1
1	8.08 (s, 1H)	8.13 (s, 1H)	8.12 (s, 1H)
2 (NH)	5.14 (br s, 1H)	3.84 (br s, 1H)	Н/П
3	4.98 (br d, <i>J</i> = 11 Гц, 1H)	5.02 (d, <i>J</i> = 11 Гц, 1H)	5.02 (d, <i>J</i> = 11 Гц, 1H)
4	4.58 (d, <i>J</i> = 9.4 Гц, 1H)	4.59 (d, <i>J</i> = 9.6 Гц, 1H)	4.56 (d, <i>J</i> = 9.6 Гц, 1H)
5	4.36 (q, <i>J</i> = 7.3 Гц, 2H)	4.42 (q, <i>J</i> = 7.1 Гц, 2H)	4.42 (q, <i>J</i> = 7.1 Гц, 2H)
6	3.75-3.64 (m, 1H),	3.77-3.69 (m, 1H)	3.77-3.67 (m, 1H)
7	2.04 (dt, <i>J</i> = 12, 2.2 Гц, 1H)	2.12-2.03 (m, 1H)	2.13-2.04 (m, 1H)
8	1.81-1.63 (m, 2H)	1.85-1.68 (m, 2H)	1.82-1.70 (m, 2H)
9	1.40 (s, 9H),	1.44 (s, 9H)	1.45 (s, 9H)
10	1.37 (t, <i>J</i> = 7.3 Гц, 3H)	1.40 (t, <i>J</i> = 7.1 Гц, 3H)	1.40 (t, <i>J</i> = 7.1 Гц, 3H)
11	0.93 (d, <i>J</i> = 7.0 Гц, 3H)	0.96 (d, <i>J</i> = 6.8 Гц, 3H)	0.97 (d, <i>J</i> = 6.8 Гц, 3H)
12	0.91 (d, <i>J</i> = 6.8 Гц, 3H)	0.95 (d, <i>J</i> = 6.8 Гц, 3H)	0.95 (d, <i>J</i> = 6.8 Гц, 3H)
	[α] _D ²³ = +4.5 (с = 1.74 г/100 мл в CHCl ₃)	[α] _D ²³ = +10.244 (с = 2.46 г/100 мл в CHCl ₃)	[α] _D ²³ = -12.045 (с = 0.88 г/100 мл в CHCl ₃)
	(1R,3S)-17В (справочные данные)	(1S,3R)-17В	(1R,3S)-17В
		от (1S,3R)-17с; транс-P4	от (1R,3S)-17с; транс-P3
1	8.07 (s, 1H)	8.11 (s, 1H)	8.11 (s, 1H)
2 (NH)	4.82 (br s, 1H),	Н/П	1.86 (br s, 1H)
3	5.18-5.04 (m, 1H)	5.13 (d, <i>J</i> = 4.4 Гц, 1H)	5.13 (d, <i>J</i> = 4.5 Гц, 1H)
4	4.56 (br d, <i>J</i> = 8.6 Гц, 1H)	4.59 (d, <i>J</i> = 8.5 Гц, 1H)	4.58 (d, <i>J</i> = 8.2 Гц, 1H)
5	4.38 (q, <i>J</i> = 6.9 Гц, 2H)	4.41 (q, <i>J</i> = 7.1 Гц, 2H)	4.41 (q, <i>J</i> = 7.1 Гц, 2H)
6	3.68-3.56 (m, 1H)	3.67-3.63 (m, 1H)	3.71-3.58 (m, 1H)
7	2.39-2.26 (m, 1H)	2.40-2.33 (m, 1H)	2.41-2.31 (m, 1H)
8	1.98-1.77 (m, 2H)	1.99-1.91 (m, 2H)	1.98-1.89 (m, 2H)
9	1.39 (s, 9H),	1.41 (s, 9H)	1.42 (s, 9H)
10	1.37 (t, <i>J</i> = 6.9 Гц, 3H)	1.40 (t, <i>J</i> = 7.0 Гц, 3H)	1.40 (t, <i>J</i> = 6.7 Гц, 3H)
11	0.94 (d, <i>J</i> = 6.8 Гц, 3H)	0.97 (d, <i>J</i> = 6.8 Гц, 3H)	0.97 (d, <i>J</i> = 6.7 Гц, 3H)
12	0.90 (d, <i>J</i> = 6.7 Гц, 3H)	0.93 (d, <i>J</i> = 6.8 Гц, 3H)	0.93 (d, <i>J</i> = 6.8 Гц, 3H)
	[α] _D ²³ = +57.7 (с = 1.2 г/100мл в CHCl ₃)	[α] _D ²³ = -73.140 (с = 0.86 г/100 мл в CHCl ₃)	[α] _D ²³ = +61.579 (с = 1.52 г/100 мл в CHCl ₃)

Условия разделения хиральной СЖХ для цис-17с и транс-17с приведены далее в табл. 6.

Таблица 6

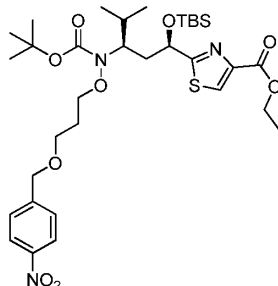
Соединение	Цис 17с	Транс 17с
Прибор	SFC-200 (Thar, Waters)	SFC-200 (Thar, Waters)
Колонка	OZ 30*250 мм, 5 мкм (Decial)	AD 20*250 мм, 5 мкм (Dacel)
Температура колонки	35°C	35°C
Подвижная фаза	CO ₂ / Метанол (0.1% NH ₄ OH) = 90/10	CO ₂ / MeOH 0.2% NH ₄ OH (7M метанол) = 85/15
Расход	70 г/мин	120 г/мин
Обратное давление	100 бар	100 бар
Длина волны	214 нм	214 нм
детектирования		
Время цикла	2.0 мин	3.6 мин
Раствор образца	1.8 г, растворенных в 20 мл метанола	1.8 г, растворенных в 35 мл метанола
Объем вводимой пробы	0.35 мл	1.0 мл



Этил 2-[(1R,3R)-3-[(трет-бутоксикарбонил)(гексилокси)амино]-1-[(трет-бутилдиметилсилил)окси]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (18a)

К раствору соединения 17a (3.2 ммоль) в DCM (16 мл) добавили 2,6-лутидин (1.8 мл, 38.4 ммоль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (TBSCl, 1.7 мл, 19.2 ммоль) последовательно при 4°C. Смесь перемешивали при 4°C в течение 30 мин. Полученной смеси дали нагреться до КТ и ее перемешивали в течение 2 ч до завершения реакции согласно ЖХМС. Реакционную смесь затем вылили в рассол. Водный раствор экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промыли рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (элюировали 25% этилацетатом в гексане) и получили соединение 18a (1.8 г, выход 95%) в виде бесцветного масла.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 9.92 (s, 1H), 5.24 (d, J=2.5 Гц, 1H), 4.43-4.36 (m, 2H), 4.13-4.10 (m, 1H), 4.02-3.99 (m, 1H), 3.86 (m, 1H), 2.15-2.09 (m, 1H), 1.89-1.83 (m, 2H), 1.67-1.56 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.41-1.25 (m, 9H), 0.95-0.83 (m, 18H), 0.15 (s, 3H), 0.0 (s, 3H) ppm.

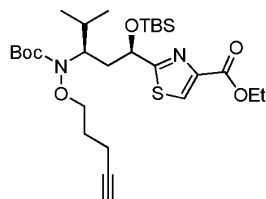


Этил 2-[(1R,3R)-1-[(трет-бутилдиметилсилил)окси]-3-[10,10-диметил-1-(4-нитрофенил)-8-оксо-2,6,9-триокса-7-азаундекан-7-ил]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (18b)

К смеси соединения 17b (1.7 г, 2.9 ммоль) в DMF (50 мл) добавили имидазол (2.37 г, 34.8 ммоль) и TBSCl (2.69 г, 17.4 ммоль) и смесь перемешивали при КТ в течение 3 дней. Смесь вылили в воду (140 мл) и экстрагировали этилацетатом (дважды). Объединенные органические слои промыли рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (элюировали 0-15% этилацетатом в петролейном эфире) и получили соединение 18b (1.8

г, выход 88%) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 696 (M+H)⁺.

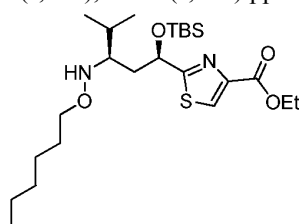
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.17 (d, J=8.6 Гц, 2H), 8.09 (s, 1H), 7.47 (d, J=8.5 Гц, 2H), 5.24 (d, J=8.6 Гц, 1H), 4.60 (s, 2H), 4.39 (m, 2H), 4.19 (m, 2H), 3.90 (s, 1H), 3.70 (m, 2H), 2.14 (m, 1H), 2.01 (m, 2H), 1.84 (m, 2H), 1.52 (s, 9H), 1.39 (t, J=7.1 Гц, 3H), 0.92 (m, 15H), 0.16 (s, 3H), -0.08 (s, 3H) ppm.



Этил 2-[(1R,3R)-3-[[трет-бутоксикарбонил](пент-4-ин-1-илокси)амино]-1-[(трет-бутилдиметилсилил)окси]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (18с)

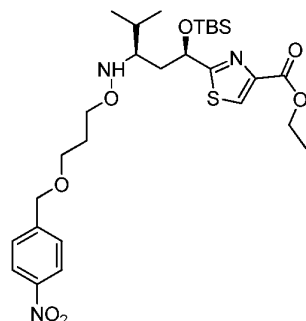
При соблюдении процедуры для приготовления 18b получили соединение 18с (4.4 г, выход 70%) в виде масла. ESI м/з: 569 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7.96 (s, 1H), 5.08 (d, J=8.5 Гц, 1H), 4.33-4.18 (m, 2H), 4.02 (dd, J=12.8, 7.1 Гц, 1H), 3.99-3.92 (m, 1H), 3.74 (br s, 1H), 2.23-2.17 (m, 2H), 2.04-1.95 (m, 1H), 1.78-1.65 (m, 5H), 1.36 (s, 9H), 1.25 (s, 3H), 0.80-0.76 (m, 15H), 0.00 (s, 3H), -0.25 (s, 3H) ppm.



Этил 2-[(5R,7R)-2,2,3,3-тетраметил-7-(пропан-2-ил)-4,9-диокса-8-аза-3-силапентадекан-5-ил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (19а)

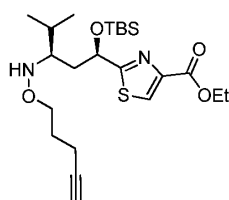
Смесь 18а (1.8 г, 3.1 ммоль) в 10% TFA в DCM (10 мл) перемешивали при КТ в течение 24 ч и затем сконцентрировали in vacuo и получили сырое соединение 19а (1.7 г, выход 80%), которое использовали на следующем этапе без дальнейшей очистки.



Этил 2-[(8R,10R)-12,12,13,13-тетраметил-1-(4-нитрофенил)-8-(пропан-2-ил)-2,6,11-триокса-7-аза-12-силатетрадекан-10-ил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (19b)

К смеси соединения 18b (1.4 г, 2.0 ммоль) в DCM (50 мл) добавили TFA (5.0 мл), реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 4 ч до полного удаления Boc защитной группы согласно ЖХМС. Затем смесь вылили в нас. вод. бикарбонат натрия (100 мл) и экстрагировали DCM (3 раза). Объединенные органические слои высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали in vacuo и получили соединение 19b (1.2 г, сырое, в виде соли трифторуксусной кислоты) в виде светло-желтого масла. ESI м/з: 596 (M+H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.22 (d, J=8.8 Гц, 2H), 8.11 (s, 1H), 7.52 (d, J=8.8 Гц, 2H), 5.33 (dd, J=6.8, 3.8 Гц, 1H), 4.62 (s, 2H), 4.50-4.35 (m, 2H), 3.81 (t, J=6.3 Гц, 2H), 3.62 (t, J=6.4 Гц, 2H), 2.89-2.85 (m, 1H), 2.04-1.98 (m, 1H), 1.97-1.84 (m, 3H), 1.73-1.66 (m, 1H), 1.42 (t, J=7.2 Гц, 3H), 0.96 (s, 9H), 0.83 (d, J=6.9 Гц, 6H), 0.17 (s, 3H), 0.00 (s, 3H) ppm.



Этил 2-[(5R,7R)-2,2,3,3-тетраметил-7-(пропан-2-ил)-4,9-диокса-8-аза-3-силатетрадек-13-ин-5-ил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (19с)

При соблюдении процедуры для приготовления 19b получили соединение 19c (3.4 г, выход сырого продукта 94%, в виде соли трифторуксусной кислоты). ESI м/з: 469 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.11 (s, 1H), 5.80 (s, 1H), 5.33 (dd, J=7.1, 3.5 Гц, ш), 4.49-4.36 (m, 2H), 3.75 (t, J=6.2 Гц, 2H), 2.84 (ddd, J=10.0, 4.0, 1.7 Гц, 1H), 2.27 (td, J=7.2, 2.6 Гц, 2H), 2.05-1.98 (m, 1H), 1.96 (t, J=2.6 Гц, 1H), 1.86 (ddd, J=14.6, 7.1, 1.8 Гц, 1H), 1.82-1.76 (m, 2H), 1.72-1.65 (m, 1H), 1.41 (t, J=7.1 Гц, 3H), 0.97 (s, 9H), 0.82 (dd, J=6.9, 2.3 Гц, 6H), 0.16 (s, 3H), 0.00 (s, 3H) ppm.

Синтез 19e показан на фиг. 11.

Метил 2-(диметоксиметил)тиазол-4-карбоксилат (Т2) (фиг. 11)

К раствору соединения Т1 (0.57 кг, 2.7 моль, R_f = 0.5 и 0.6, PE:EA = 2:1, 20% PMA) в ацетонитриле (15 л) добавили диоксид марганца (2.5 кг) при комнатной температуре и смесь нагрели до 60°C и перемешивали в течение 6 ч. Затем смесь отфильтровали через целитовую прокладку и сконцентрировали. Соединение Т2 (0.65 кг, R_f = 0.55 и 0.65, PE:EA = 2:1, УФ) получили в виде желтого твердого вещества и использовали без дальнейшей очистки.

Метил 2-формилтиазол-4-карбоксилат (Т3).

К раствору соединения Т2 (0.65 кг, 3.0 моль, R_f = 0.55 и 0.65, PE:EA=2:1, УФ) в ацетоне (15 л) добавили конц. гидрохлорид (2.0 л, 6Н) при комнатной температуре и смесь нагрели с обратным холодильником и перемешивали в течение 1 ч. Затем смесь охладил до КТ и сконцентрировали при пониженном давлении. Сырое соединение растворили в этилацетате и органическую фазу промыли нас. вод. бикарбонатом натрия, высушили над сульфатом магния, отфильтровали и сконцентрировали. Остаток рекристаллизовали из 50% этилацетата в петролейном эфире и получили соединение Т3 (66 г, общий выход за три этапа 14%, R_f=0.7, PE:EA=2:1, УФ) в виде желтого твердого вещества.

Метил 2-((R)-3-((S)-трет-бутилсульфинилимино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (Т6)

(S)-2-метилпропан-2-сульфинамид Т4 (7.3 мл, 68 ммоль) растворили в 100 мл тетрагидрофурана (THF), к смеси добавили Ti(OEt)₄ (27 мл, 130 ммоль) и 3-метил-2-бутанон (8 г, 41 ммоль) при КТ. Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником на протяжении ночи, затем охладил и добавили к раствору рассола. Полученную смесь отфильтровали и фильтрат промыли EtOAc. Органическую фазу сконцентрировали до получения остатка, который подвергли колоночной хроматографии на силикагеле (DCM:EtOAc, 4:1) и получили сульфанимин Т5 (9.5 г, 37 ммоль, 75%) в виде масла. (см. US 9226974, 2016) 0.5 М раствор диизопропиламина (27 мл, 0.27 моль) в этиловом эфире (0.63 л) охладил до 0°C и к раствору добавили n-бутиллитий (0.12 л, 0.29 моль, 2.5 М раствор в гексанах). Раствор перемешивали при 0°C в течение 20 мин и затем охладил до -78°C. Медленно добавили раствор сульфанимида Т5 (50 г, 0.27 моль) в этиловом эфире (0.55 л) и реакционную смесь перемешивали при -78°C еще на протяжении 30 мин, к смеси добавили раствор хлортитантриизопропоксид (0.14 кг, 0.53 моль) в этиловом эфире (150 мл) и реакционную смесь перемешивали при -78°C еще на протяжении 20 мин. Затем к смеси добавили альдегид Т3 (29 г, 0.17 моль) одной частью и смешанный раствор перемешивали при -78°C в течение 12 ч. Затем раствор нейтрализовали раствором THF/AcOH (150 мл, об/об = 4:1) при -78°C и затем дали ему нагреться до КТ. После разбавления водой (250 мл) полученную смесь отфильтровали через целит и фильтрат тщательно промыли этилацетатом. Объединенный фильтрат промыли рассолом, высушили над сульфатом магния, отфильтровали и сконцентрировали при пониженном давлении. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле и получили соединение Т6 (50 г, 79%; R_f = 0.6, PE:EA = 1:1, УФ) в виде желтого масла.

Метил 2-((1R,3R)-3-((S)-1,1-диметилэтилсульфинамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (Т7)

К 0.4 М раствору имина Т6 (62 г, 0.17 моль) в THF (0.52 л) при -78°C добавили этилат титана (76 мл, 0.33 моль), затем борогидрид натрия (26 г, 0.69 моль) и раствору дали медленно нагреться до -45°C в течение 30 мин. Реакционную смесь перемешивали при -45°C в течение 12 ч и затем медленно разбавили метанолом (125 мл), поддерживая внутреннюю температуру реакционной смеси ниже -30°C до прекращения газоотделения. Раствор нагрели до КТ и далее охладил водой (1.4 л). Полученную суспензию отфильтровали через целитовую прокладку и фильтрат тщательно промыли этилацетатом. Объединенный фильтрат промыли один раз рассолом, высушили, отфильтровали и сконцентрировали. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле и получили Т7 (31 г, выход 50%, R_f = 0.4, PE:EA = 1:1, УФ) в виде желтого масла.

Метил 2-((1R,R)-3-амино-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат гидрохлорид (Т8)

К раствору соединения Т7 (31 г, 86 ммоль) в метаноле (0.50 л) добавили гидрохлорид в диоксане (1.0 л, 4.0Н). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 3 часов и затем летучие соединения удалили in vacuo и получили сырой продукт Т8 в виде желтого твердого вещества, который использовали на следующем этапе без очистки (см. J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 16018-16019).

Метил 2-((1R,3R)-3-(трет-бутоксикарбониламино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (Т9)

К раствору аминокспирта Т8 (39 г, 86 ммоль) в THF (1.5 л) при 0°C добавили триэтиламин (21 г, 0.21 моль) и ди-трет-бутилдикарбонат (21 г, 98 ммоль). Реакционной смеси дали нагреться до КТ и переме-

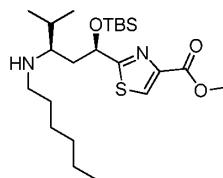
шивали ее на протяжении ночи. Реакционную смесь отфильтровали и фильтрат сконцентрировали и получили соединение Т9 (34 г, $R_f = 0.6$, РЕ:ЕА = 2:1, УФ) в виде белого твердого вещества, которое использовали на следующем этапе без очистки.

Метил 2-((5R,7R)-7-изопропил-2,2,3,3,11,11-гексаметил-9-оксо-4,10-диокса-8-аза-3-силадодекан-5-ил)тиазол-4-карбоксилат (Т10)

Раствор Т9 (34 г, 86 ммоль, $R_f = 0.3$, РЕ:ЕА = 3:1, УФ) в DMF (450 мл) охладили до 0°C, к нему добавили имидазол (15 г, 0.22 моль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (32 г, 0.22 моль). Затем реакционной смеси дали нагреться до КТ и перемешивали ее на протяжении ночи. Полученную смесь охладили рассолом (1.0 л) и водный слой экстрагировали этилацетатом. Объединенный органический раствор промыли рассолом, высушили над сульфатом магния, отфильтровали и сконцентрировали при пониженном давлении. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле и получили соединение Т10 (32 г, выход за три этапа 78%, $R_f = 0.7$, РЕ:ЕА = 3:1, УФ) в виде бесцветного масла.

Метил 2-((1R,3R)-3-амино-1-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (Т11)

К раствору Т10 (32 г, 68 ммоль) в DCM (800 мл) при 0°C добавили TFA (160 мл) по каплям. Полученную смесь перемешивали при 0°C в течение 5 ч и затем летучие соединения удалили при пониженном давлении. Остаток растворили в DCM и промыли бикарбонатом натрия. Органический раствор высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и сконцентрировали. Остаток Т11 (26 г, $R_f = 0.3$, РЕ:ЕА = 3:1, УФ) применили на следующем этапе без очистки.



Метил 2-((1R,3R)-1-(трет-бутилдиметилсилилокси)-3-(гексиламино)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (19d)

При соблюдении нижеприведенной процедуры для 19e соединение Т11а (4.2 г, 9.9 ммоль) и капроальдегид использовали для получения 19d (3.0 г, выход 66%) в виде желтого масла.

Метил 2-((1R,3R)-1-(трет-бутилдиметилсилилокси)-3-(гекс-5-иниламино)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (19e)

К раствору гекс-5-ин-1-ола 30 (23 г, 0.23 моль) в DCM (0.75 л) добавили пиридинийхлорхромат (PCC, 0.10 кг, 0.47 моль) частями и реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Затем реакционную смесь разбавили диэтиловым эфиром и отфильтровали через целит. Фильтрат сконцентрировали и дистиллировали и получили желаемый гекс-5-инал 31 (12 г, выход 52%). К раствору соединения Т11 (26 г, 67 ммоль, $R_f = 0.3-0.5$, РЕ:ЕА = 1:1, УФ) в DEM (0.30 л) добавили при 0°C гекс-5-инал (6.5 г, 67 ммоль) и триацетоксиборгидрид натрия (43 г, 0.20 моль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 6 ч и затем охладили бикарбонатом натрия. Смесь экстрагировали DCM и органический раствор высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и сконцентрировали *in vacuo*. Сырой продукт очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле и получили соединение 19e (24 г, выход за три этапа 78%, $R_f = 0.3-0.5$, РЕ:ЕА = 1:1, УФ) в виде желтого масла.

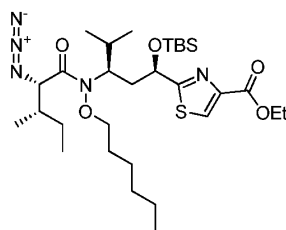
(2S,3S)-2-азидо-3-метилпентановая кислота (21) (фиг. 12).

Раствор азида натрия (1.78 г, 27.45 ммоль) в дистиллированной H₂O (4.5 мл) и CH₂Cl₂ (7.5 мл) охладили в ледяной бане. Трифлатный ангидрид (0.93 мл, 5.55 ммоль) медленно добавили в течение 5 мин при перемешивании и полученный раствор перемешивали в течение 2 ч. Фазу CH₂Cl₂ отделили и водную часть экстрагировали CH₂Cl₂ (2×3.75 мл). Органические фракции, содержащие трифлилазид, смешали и промыли один раз насыщенным Na₂CO₃ и использовали на следующем этапе без дальнейшей очистки. (2S,3S)-2-хлор-3-метил-N-валериановую кислоту (20, 366 мг, 2.79 ммоль) смешали с K₂CO₃ (577.5 мг, 4.19 ммоль) и пентагидратом CuSO₄ (6.98 мг, 27.9 мкмоль) в дистиллированной H₂O (9 мл) и CH₃OH (18 мл). К смеси добавили трифторметансульфонилазид в CH₂Cl₂ (15 мл) и полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды на протяжении ночи. Органические растворители удалили *in vacuo* и водную суспензию разбавили H₂O (50 мл) и затем окислили до pH 6 конц. HCl, затем разбавили фосфатным буфером pH 6.2 (0.25 М, 50 мл) и экстрагировали EtOAc (4 раза) и удалили сульфонамидный побочный продукт. Затем водную фазу окислили до pH 2 конц. HCl и затем экстрагировали EtOAc (3 раза). Экстракты EtOAc объединили, высушили MgSO₄ и затем испарили до сухого состояния и получили сырое соединение 21 в виде светлого масла (390 мг, выход 89%). 21 использовали без дальнейшей очистки. Для 21: ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 3.84 (d, J=5.8 Гц, 1H), 2.15-1.95 (m, 2H), 1.70-1.55 (m, 1H), 1.45-1.25 (m, 1H), 1.04 (d, J=6.8 Гц, 3H), 0.94 (t, J=7.4 Гц, 3H) ppm.

(2S,3S)-2-азидо-3-метилпентаноилхлорид (22) (фиг. 12)

Оксалилхлорид (2.44 мл, 28.0 ммоль) и DMF (0.464 мл, 5.97 ммоль) добавили к 0.024 М раствору азида изолейцина 21 (0.938 г, 5.97 ммоль) в гексане. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение

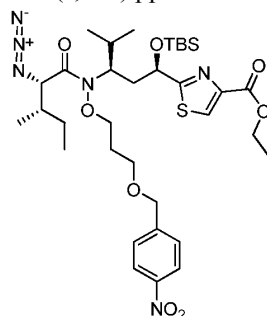
1 ч, отфильтровали и сконцентрировали *in vacuo*. Хлорангидрид 22 отделили и использовали сразу же без дальнейшей очистки.



Этил 2-[(1R,3R)-3-[(2S,3S)-2-азидо-N-(гексилокси)-3-метилпентанамидо]-1-[(трет-бутилдиметилсилил)окси]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (23a)

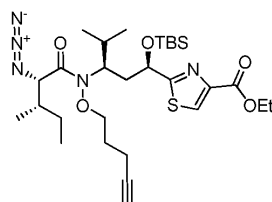
0.10 M раствор 19a (1.46 г, 3.0 ммоль, 1.0 эквив.) в CH_2Cl_2 (37.3 мл) охладили до 0°C . К раствору добавили диизопропилэтиламин (3.25 мл, 5.0 эквив.) и хлорангидрид 22 (1.6 эквив.). Реакционной смеси дали нагреться до КТ и перемешивали ее на протяжении 18 ч. Затем к реакционной смеси добавили рас-сол (50 мл) и водный слой экстрагировали EtOAc (2×75 мл). Объединенные органические части высушили, отфильтровали и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии (1:1 гексаны/ EtOAc) и получили 23a (1.31 г, 70%) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 626 ($\text{M} + \text{H}$)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): 8.08 (s, 1H), 4.35 (q, 2H, J=7.2 Гц), 4.23 (t, 2H, J=7.2 Гц), 3.83 (q, 1H, J=6.4 Гц), 3.68 (d, 1H, J=9 Гц), 2.24 (m, 1H), 2.09 (m, 1H), 1.89 (m, 2H), 1.75 (m, 1H), 1.58 (m, 2H), 1.35 (m, 5H), 1.26 (m, 6H), 0.95 (m, 24H), 0.09 (s, 3H), -0.15 (s, 3H) ppm.



Этил 2-((8R,10R)-7-((2S,3S)-2-азидо-3-метилпентаноил)-8-изопропил-12,12,13,13-тетраметил-1-(4-нитрофенил)-2,6,11-триокса-7-аза-12-силатетрадекан-10-ил)тиазол-4-карбоксилат (23b)

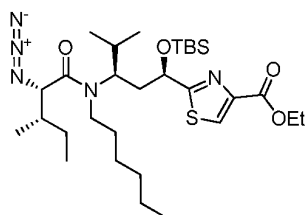
При применении тех же условий реакции, которые применялись для приготовления 23a, получили соединение 23b (310 мг, 63%) из 400 мг соединения 19b. ESI м/з: 735 ($\text{M} + \text{H}$)⁺.



Этил 2-[(1R,3R)-3-[(2S,3S)-2-азидо-3-метил-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]-1-[(трет-бутилдиметилсилил)окси]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (23c)

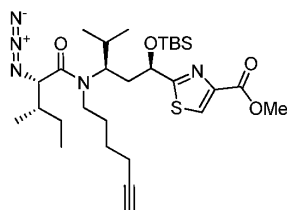
При применении тех же условий реакции, которые применялись для приготовления 23b, получили соединение 23c (2.3 г, 60%) из 3 г 19c.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 8.04 (s, 1H), 5.05 (dd, J=25.8, 7.8 Гц, 1H), 4.40-4.22 (m, 4H), 4.09-4.03 (m, 1H), 3.69 (t, J=10.0 Гц, 1H), 2.33-2.28 (m, 2H), 2.27-2.20 (m, 1H), 2.10-2.01 (m, 1H), 1.97-1.86 (m, 3H), 1.81 (dd, J=12.1, 6.2 Гц, 2H), 1.76-1.64 (m, 1H), 1.33 (t, J=7.1 Гц, 3H), 1.27-1.23 (m, 1H), 0.93-0.86 (m, 21H), 0.00 (s, 3H), -0.07 (s, 3H) ppm.



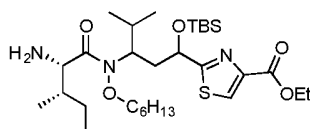
Метил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-азидо-N-гексил-3-метилпентанамидо)-1-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (23d)

При применении тех же условий реакции, которые применялись для приготовления 23a, получили соединение 23d (4.1 г, выход 92%) в виде бесцветного масла из 3.3 г соединения 19d.



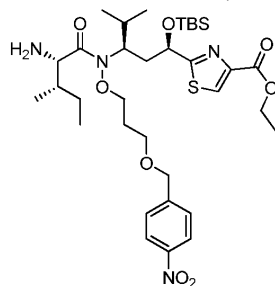
Метил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-азидо-N-(гекс-5-инил)-3-метилпентанамидо)-1-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (23e)

При использовании тех же условий реакции, которые применялись для приготовления 23a, получили соединение 23e (33 г, выход 92%, $R_f = 0.95$, PE:EA = 3:1, УФ) в виде бесцветного масла из 27 г соединения 19e.



Этил 2-((5R,7R)-7-изопропил-2,2,3,3-тетраметил-8-((2R,3S)-3-метил-2-((S)-1-метилпиперидин-2-ил)пентаноил)-4,9-диокса-8-аза-3-силапентадекан-5-ил)тиазол-4-карбоксилат (24a)

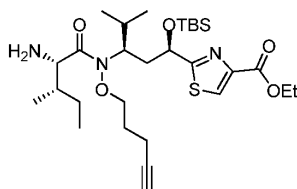
К раствору азида 23a (2.50 г, 3.99 ммоль) в EtOAc (50 мл) добавили 10% Pd/C (1.38 мг). Затем реакцию смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 27 ч. Реакционную смесь отфильтровали через целитовую прокладку и фильтрующую прокладку промыли EtOAc. Объединенный фильтрат использовали на следующем этапе без очистки. ESI м/з 600.4 (M + H)⁺.



Этил 2-((8R,10R)-7-((2S,3S)-2-азидо-3-метилпентаноил)-8-изопропил-12,12,13,13-тетраметил-1-(4-нитрофенил)-2,6,11-триокса-7-аза-12-силатетрадекан-10-ил)тиазол-4-карбоксилат (24b)

Смесь соединения 23b (300 мг, 0.41 ммоль) и Ph_3P (300 мг, 1.15 ммоль) в THF (10 мл) и воды (5 мл) перемешивали при КТ на протяжении ночи. Смесь разбавили DCM (100 мл), высушили над Na_2SO_4 и отфильтровали. Фильтрат сконцентрировали *in vacuo* и очистили посредством колоночной флэш-хроматографии (20 г силикагеля, от DCM к DCM/MeOH=95/5) и получили соединение 24b в виде бесцветного масла (210 мг, 72%). ESI м/з: 709 (M+H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.17 (d, J=8.6 Гц, 2H), 8.09 (s, 1H), 7.46 (d, J=8.6 Гц, 2H), 5.11-5.09 (m, 1H), 4.60 (s, 2H), 4.35 (m, 4H), 4.11 (dd, J=14.6, 6.3 Гц, 1H), 3.68 (t, J=6.2 Гц, 2H), 3.53 (d, J=6.6 Гц, 1H), 2.35-2.29 (m, 1H), 2.06-1.94 (m, 4H), 1.77-1.71 (m, 2H), 1.39 (t, J=7.1 Гц, 3H), 1.16-1.07 (m, 1H), 0.93 (m, 23H), 0.13 (s, 3H), -0.10 (s, 3H) ppm.

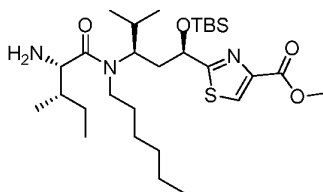


Этил 2-[(1R,3R)-3-[(2S,3S)-2-амино-3-метил-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]-1-[(трет-бутилдиметилсилил)окси]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (24c)

При применении тех же условий реакции, которые применялись для приготовления 24b, получили соединение 24c (1.2 г, 57%) из 2.2 г соединения 23c. ESI м/з: 582 (M + H)⁺.

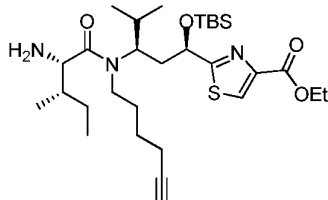
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 8.11 (s, 1H), 5.10 (d, J=7.1 Гц, 1H), 4.50-4.00 (m, 5H), 3.54 (d, J=6.6 Гц, 1H), 2.35-2.20 (m, 3H), 2.05-1.90 (m, 5H), 1.90-1.83 (m, 2H), 1.80-1.70 (m, 2H), 1.40 (t, J=7.1 Гц, 3H), 1.40-0.91 (m, 23H), 0.13 (s, 3H), -0.10 (s, 3H) ppm.

047625



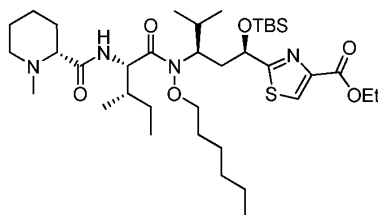
Метил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N-гексил-3-метилпентанамидо)-1-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (24d)

При использовании тех же условий реакции, которые применялись для приготовления 24а, получили сырое соединение 24d из 1.6 г соединения 23d. Сырой продукт 24d использовали на следующем этапе без очистки.



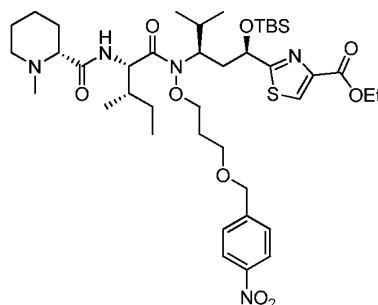
Этил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N-(гекс-5-инил)-3-метилпентанамидо)-1-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (24e)

При использовании тех же условий реакции, которые применялись для приготовления 24а, получили сырое соединение 24е из 24 г соединения 23е. Сырой продукт 24е использовали на следующем этапе без очистки.



Этил 2-[(1R,3R)-1-[(трет-бутилдиметилсилил)окси]-3-[(2S,3S)-N-(гексилокси)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо}пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (26а)

К 0.4 М раствору соединения 25 (1.72 г, 12 ммоль) в EtOAc (30 мл, отфильтровано через активированный оксид алюминия) добавили пентафторфенол (2.43 г, 13.2 ммоль, 1.1 эквив.) и DCC (2.72 г, 13.2 ммоль, 1.1 эквив.). Реакционную смесь перемешивали в течение 21 ч при КТ и затем отфильтровали и остаток промыли EtOAc (10 мл). Данный активированный сложный эфир использовали немедленно без очистки или концентрации. Раствор активированного сложного эфира (0.3 М, 40 мл) добавили в раствор 24а в EtOAc (50 мл, 4.0 ммоль), полученный так, как было описано выше. Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Летучие соединения удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-10% метанол в EtOAc) и получили соединение 26а (2.0 г, выход 69%) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 725 (M + H)⁺.



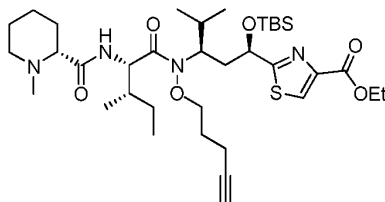
Этил 2-((8R,10R)-8-изопропил-12,12,13,13-тетраметил-7-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-1-(4-нитрофенил)-2,6,11-триокса-7-аза-12-силатетрадекан-10-ил)тиазол-4-карбоксилат (26b)

Раствор соединения 25 (185 мг, 1.3 ммоль) и пентафторфенола (357 мг, 1.9 ммоль) в сухом метиленхлориде (25 мл) добавили по каплям к раствору DIC (245 мг, 1.9 ммоль) в метиленхлориде (1.0 мл) при 0°C шприцем. Полученный раствор перемешивали еще на протяжении 1 ч. Затем раствор отфильтровали и фильтрат сконцентрировали и получили сырой пентафторфениловый сложный эфир (400 мг). ESI м/з: 310.0 (M + H)⁺.

Сырой пентафторфениловый сложный эфир растворили в сухом DCM (11 мл). К раствору добавили

24b (400 мг, 565 мкмоль) и DIPEA (275 мг, 889 мкмоль). Полученный раствор перемешивали при КТ на протяжении ночи. Реакционный раствор сконцентрировали до сухого состояния и остаток очистили посредством колоночной флэш-хроматографии (элюировали EtOAc/PE=1/2, затем 2/1) и получили 26b (320 мг, выход 68% за два этапа) в виде светло-желтого твердого вещества. ESI м/з: 834.4 (M + H)⁺.

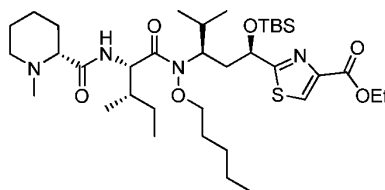
¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц) δ 8.99 (d, J=9.0 Гц, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.17 (d, J=8.5 Гц, 2H), 7.51 (d, J=8.5 Гц, 2H), 4.90 (d, J=9.5 Гц, 1H), 4.75 (t, J=9.0 Гц, 1H), 4.58 (s, 2H), 4.38-4.34 (m, 1H), 4.28 (q, J=7.5 Гц, 2H), 4.16-4.06 (m, 3H), 3.82-3.77 (m, 1H), 3.72-3.67 (m, 1H), 3.64-3.60 (m, 1H), 3.36-3.34 (m, 1H), 3.13-3.06 (m, 1H), 2.66 (d, J=4.0 Гц, 3H), 2.29-2.23 (m, 1H), 2.07-1.96 (m, 3H), 1.94-1.87 (m, 3H), 1.81-1.78 (m, 2H), 1.68-1.57 (m, 2H), 1.47-1.39 (m, 2H), 1.29 (t, J=7.0 Гц, 3H), 1.10-1.05 (m, 1H), 0.93-0.89 (m, 14H), 0.85 (d, J=6.0 Гц, 3H), 0.81 (t, J=7.5 Гц, 3H), 0.08 (s, 3H), -0.16 (s, 3H) ppm.



Этил 2-[(1R,3R)-1-[(трет-бутилдиметилсилил)окси]-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[[2-(R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (26c)

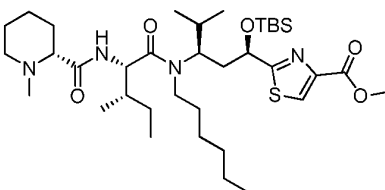
При применении тех же условий реакции, которые применялись для приготовления 26b, получили соединение 26c (1.7 г, 78%) из 1.8 г соединения 24c. ESI м/з: 707 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 8.38 (s, 1H), 5.03 (d, J=8.1 Гц, 1H), 4.85 (t, J=6.3 Гц, 1H), 4.40 (q, J=7.5 Гц, 3H), 4.13-4.07 (m, 1H), 4.03-3.86 (m, 2H), 3.52-3.45 (m, 1H), 3.35-3.29 (m, 1H), 2.87 (s, 3H), 2.51-2.35 (m, 3H), 2.25 (t, J=2.4 Гц, 1H), 2.23-2.15 (m, 1H), 2.10-1.53 (m, 11H), 1.40 (t, J=7.1 Гц, 3H), 1.27-1.19 (m, 1H), 1.08-0.94 (m, 12H), 0.94 (s, 9H), 0.13 (s, 3H), -0.16 (s, 3H) ppm.



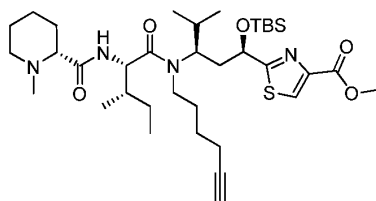
Этил 2-((5R,7R)-7-изопропил-2,2,3,3-тетраметил-8-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-4,9-диокса-8-аза-3-силатетрадекан-5-ил)тиазол-4-карбоксилат (26f)

К раствору соединения 26c (20 мг, 28 мкмоль) в метаноле (5 мл) добавили 5% палладиевую чернь (5 мг) и смесь дегазировали и обратно наполняли водородом 3 раза. Полученную смесь перемешивали в атмосфере водорода при КТ в течение 6 ч до полного восстановления тройной связи под контролем ЖХМС. Смесь отфильтровали через целит и целит промыли метанолом (3 раза). Объединенный фильтрат сконцентрировали in vacuo и получили соединение 26f (18 мг, выход сырого соединения 90%) в виде белого твердого вещества, которое использовали на следующем этапе без очистки. ESI м/з: 712 (M + H)⁺.



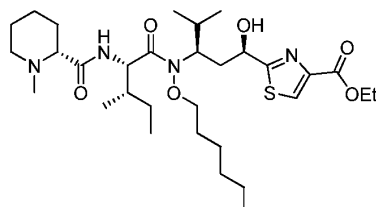
Метил 2-((3S,6R,8R)-3-втор-бутил-5-гексил-6-изопропил-10,10,11,11-тетраметил-1-((R)-1-метилпиперидин-2-ил)-1,4-диоксо-9-окса-2,5-диаза-10-силадодекан-8-ил)тиазол-4-карбоксилат (26d)

Сырое соединение 24d, полученное описанным выше способом, растворили в DCM (27 мл). К раствору добавили HOBt (0.40 г, 3.0 ммоль) и соединение 25 (0.42 г, 2.34 ммоль). После охлаждения реакционной смеси до 0°C последовательно добавили EDCI (0.56 г, 2.92 ммоль) и DIPEA (0.49 мл, 2.813 ммоль). Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Летучие соединения удалили и остаток отделили этилацетатом и вод. бикарбонатом натрия. Водный раствор экстрагировали этилацетатом и объединенный органический раствор высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и сконцентрировали и получили сырое соединение 26d (1.7 г, выход 89% из 23d), которое использовали на следующем этапе без очистки.



Метил 2-((3S,6R,8R)-3-втор-бутил-5-(гекс-5-инил)-6-изопропил-10,10,11,11-тетраметил-1-((R)-1-метилпиперидин-2-ил)-1,4-диоксо-9-окса-2,5-диаза-10-силадодекан-8-ил)тиазол-4-карбоксилат (26e)

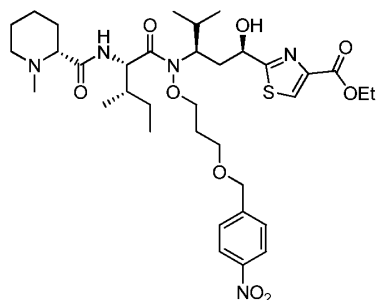
При использовании тех же условий реакции, которые применялись для приготовления 26d, получили соединение 26e (39 г, выход, $R_f = 0.6$, DCM:метанол = 10:1, УФ) из 53 г соединения 24e.



Этил 2-[(1R,3R)-3-[(2S,3S)-N-(гексилокси)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо}пентанамидо]-1-гидрокси-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (27a)

К раствору 26a (2.0) в THF (40 мл) добавили TBAF (10 мл, 1 М в THF) и полученный раствор перемешивали при КТ в течение 16 ч и затем сконцентрировали. Остаток очистили посредством очистки ВЭФХ (0-5% метанол в этилацетате) и получили 27a (1.5 г, выход 75%). ESI м/з: 611 (M + H)⁺.

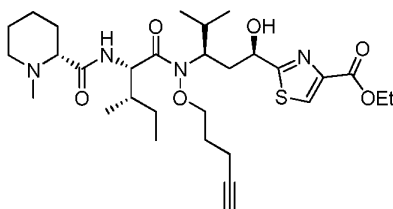
¹H ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 8.33 (s, 1H), 4.88 (m, 2H), 4.40 (q, J=7 Гц, 2H), 4.33 (t, J=7.6 Гц, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.0 (m, 2H), 2.65 (m, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.32 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 2.0 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 1.62-1.70 (m, 6H), 1.5 (m, 2H), 1.40 (t, J=7 Гц, 3H), 1.30-1.38 (m, 8H), 1.0 (m, 9H), 0.95 (m, 6H) ppm.



Этил 2-((1R,3R)-1-гидрокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(3-(4-нитробензилокси)пропокси)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоксилат (27b)

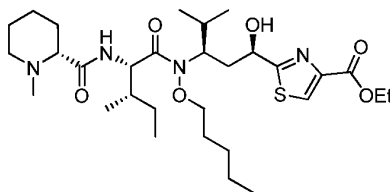
Смесь соединения 26b (130 мг, 240 мкмоль) и фторида цезия (109 мг, 720 ммоль) в DMSO (2.5 мл) перемешивали при КТ в течение 2 ч. Затем раствор очистили посредством ОФ колоночной хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде) и получили соединение 27b (140 мг, выход 81%) в виде светло-желтого твердого вещества. ESI м/з: 720.3 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.42 (s, 1H), 8.16 (d, J=8.5 Гц, 2H), 7.59 (d, J=8.5 Гц, 2H), 7.52 (d, J=9.0 Гц, 1H), 6.37 (br s, 1H), 4.74 (t, J=9.0 Гц, 1H), 4.66 (s, 2H), 4.63 (d, J=11.0 Гц, 1H), 4.31-4.26 (m, 3H), 4.20-4.15 (m, 1H), 4.01 (br s, 1H), 3.74-3.62 (m, 2H), 2.83-2.80 (m, 1H), 2.47-2.44 (m, 2H), 2.07 (s, 3H), 1.98-1.92 (m, 4H), 1.82-1.77 (m, 2H), 1.59-1.33 (m, 6H), 1.29 (t, J=7.0 Гц, 3H), 1.14-1.04 (m, 2H), 0.86 (d, J=6.5 Гц, 9H), 0.79 (t, J=7.5 Гц, 3H) ppm. Хиральная СФХ > 99% (AD-H, AS-H, OJ-H и OD-H), R_i: 2.04 мин (AD-H), 4.39 мин (AS-H), 3.56 мин (OD-H) и 3.72 мин (OJ-H).



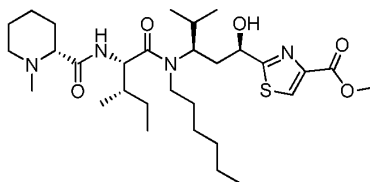
Этил 2-((1R,3R)-1-гидрокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(пент-4-инилокси)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоксилат (27c)

При соблюдении процедуры для приготовления 27b получили соединение 27c (43 мг, выход 86%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 593 (M + H)⁺.



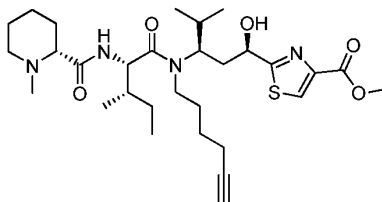
Этил 2-((1R,3R)-1-гидрокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(пентилокси)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоксилат (27f)

При соблюдении процедуры, которую применили для приготовления 27a, получили соединение 27f (13 мг, выход 86%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 597 (M + H)⁺.



Метил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (27d)

При соблюдении процедуры, которую применили для приготовления 27a, получили сырое соединение 27d (1.8 г) в виде вязкого желтого масла, которое использовали на следующем этапе без очистки.

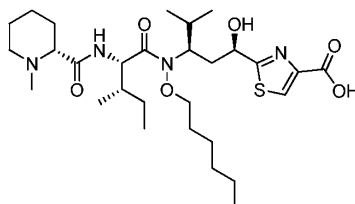


Метил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N-(гекс-5-инил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (27e)

При соблюдении процедуры, которую применили для приготовления 27a, получили сырое соединение 27e (44 г, R_f = 0.55 и 0.5, DCM:метанол = 10:1, УФ) и использовали его без дальнейшей очистки.

Общая процедура для промежуточного соединения II.

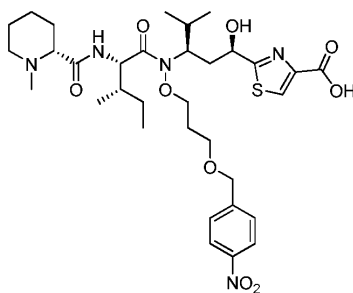
К раствору 27 (1.0 эквив.) в THF (15-20 мг/мл) добавили вод. гидроксид лития (0.5 М, V_{H₂O}/V_{THF} = 1) и смесь перемешивали при КТ в течение 10 ч до завершения гидролиза под контролем ЖХМС. Затем реакционную смесь окислили уксусной кислотой до pH 3 и сконцентрировали до 1/3 объема. Остаточный водный раствор очистили посредством преп-ВЭЖХ (система бикарбоната аммония) и получили промежуточное соединение IIa,b,c,e (выход 66-90%) в виде белого твердого вещества.



2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N-(гексилокси)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIa)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения II получили IIa (0.25 г, выход 66%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 583 (M + H)⁺.

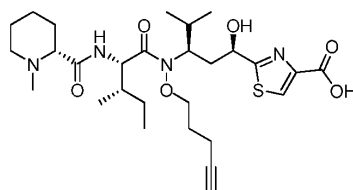
¹H ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 8.05 (s, 1H), 4.77 (d, J=6.9 Гц, 1H), 4.34-4.11 (m, 2H), 3.88 (d, J=10.1 Гц, 1H), 3.73 (t, J=9.8 Гц, 1H), 3.46 (d, J=12.9 Гц, 1H), 2.99 (t, J=11.9 Гц, 1H), 2.74 (s, 3H), 2.74-2.62 (m, 1H), 2.24-2.15 (m, 2H), 2.02-1.86 (m, 4H), 1.83-1.71 (m, 6H), 1.40-1.50 (m, 2H), 1.23-1.4 (m, 6H), 1.06-0.90 (m, 17H) ppm.



2-((1R,3R)-1-гидрокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(3-(4-нитробензилокси)пропокси)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIb)

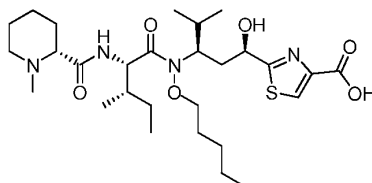
В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения II получили IIb (0.10 г, выход 81%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 692 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.26 (s, 1H), 8.17 (d, J=8.5 Гц, 2H), 7.60 (d, J=8.5 Гц, 3H), 6.27 (brs, 1H), 4.74 (t, J=8.5 Гц, 1H), 4.66 (s, 2H), 4.63 (d, J=8.0 Гц, 1H), 4.32-4.28 (m, 1H), 4.20-4.15 (m, 1H), 4.02 (brs, 1H), 3.73-3.62 (m, 3H), 2.86-2.83 (m, 1H), 2.55-2.53 (m, 1H), 2.47-2.41 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.01-1.94 (m, 4H), 1.83-1.78 (m, 2H), 1.61-1.52 (m, 3H), 1.47-1.35 (m, 3H), 1.16-1.04 (m, 2H), 0.86 (d, J=6.5 Гц, 9H), 0.79 (t, J=7.5 Гц, 3H) ppm. Хиральная СФХ >95% (AD-H, AS-H и OJ-H), R_t: 2.05 мин (AD-H), 2.66 мин (AS-H) и 1.77 мин (OJ-H).



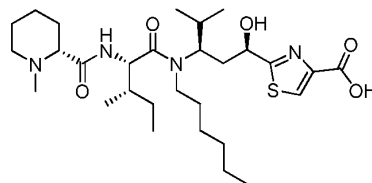
2-((1R,3R)-1-гидрокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(пент-4-инилокси)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIc)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения II получили IIc (37 мг, выход 90%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 565 (M + H)⁺.



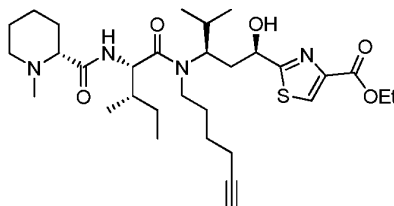
2-((1R,3R)-1-гидрокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(пентилокси)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIf)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения II получили IIf (20 мг, выход 88%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 569 (M + H)⁺.



2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIId)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения II получили сырое соединение IIId, которое использовали на следующем этапе без очистки.

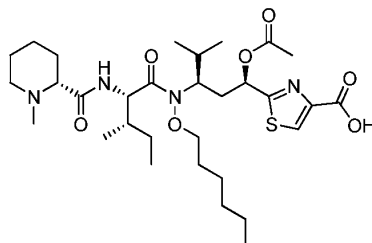


2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N-(гекс-5-инил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIe)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения II получили сырое соединение IIe (R_f = 0.05, DCM:метанол = 10:1, УФ), которое использовали на следующем этапе без очистки.

Общая процедура для промежуточного соединения III.

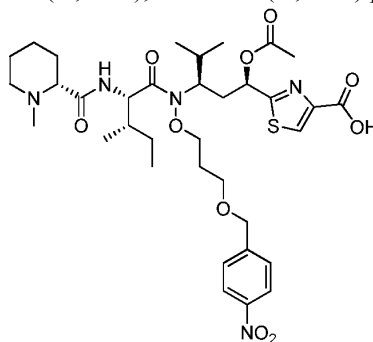
К раствору соединения II (1.0 эквив.) в пиридине (15 мг/мл) добавили ангидрид уксусной кислоты (3.0 эквив.) шприцем при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 10 часов под контролем ЖХМС. Реакционную смесь охладили при КТ метанолом (20 мл) и затем перемешивали при этой температуре на протяжении ночи. Летучие соединения удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ и получили Промежуточное соединение III (выход 88-99%) в виде белого твердого вещества.



2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гексилокси)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIIa)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения III получили сырое соединение IIIa (40 мг, выход >99%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 625.3 (M + H)⁺.

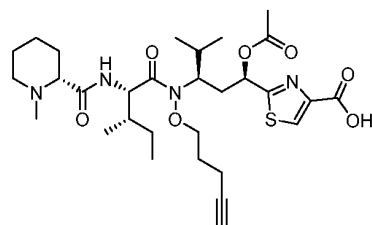
¹H ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 8.38 (s, 1H), 7.60 (m, 1H), 4.81 (d, J=6.8 Гц, 1H), 4.01-3.95 (m, 2H), 3.67-3.63 (m, 1H), 3.49-3.46 (m, 1H), 3.33-3.25 (m, 1H), 3.21-3.12 (m, 1H), 2.91 (s, 3H), 2.66-2.60 (m, 1H), 2.38-2.19 (m, 3H), 2.15 (s, 3H), 1.99-1.19 (m, 15H), 1.06-0.92 (m, 17H) ppm.



2-((8R,10R)-8-изопропил-7-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-1-(4-нитрофенил)-12-оксо-2,6,11-триокса-7-азатридекан-10-ил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIIb)

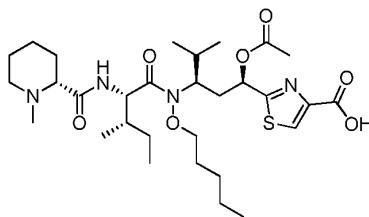
В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения III получили IIIb (94 мг, выход 88%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 734 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц) δ 8.34 (s, 1H), 8.18 (d, J=8.5 Гц, 2H), 7.67-7.66 (m, 1H), 7.59 (d, J=8.5 Гц, 2H), 5.74 (d, J=11.5 Гц, 1H), 4.76 (t, J=8.5 Гц, 1H), 4.64 (s, 2H), 4.28-4.24 (m, 1H), 4.09-4.05 (m, 1H), 3.99 (brs, 1H), 3.68-3.58 (m, 3H), 2.88-2.85 (m, 1H), 2.63-2.59 (m, 1H), 2.40-2.36 (m, 1H), 2.29-2.25 (m, 1H), 2.14-2.08 (m, 7H), 1.98-1.94 (m, 3H), 1.78-1.76 (m, 1H), 1.67-1.55 (m, 3H), 1.46-1.37 (m, 3H), 1.24-1.15 (m, 1H), 1.05-0.98 (m, 1H), 0.91 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.86-0.84 (m, 6H), 0.80 (t, J=7.0 Гц, 3H) ppm. Хиральная СФХ > 95% (AD-H, AS-H, OJ-H и OD-H), R_t: 1.92 мин (AD-H), 2.06 мин (AS-H), 2.33 мин (OD-H) и 1.60 мин (OJ-H).



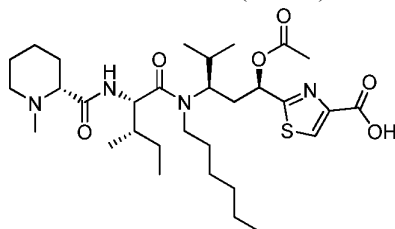
2-((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(пент-4-инилокси)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIIc)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения III получили IIIc (18 мг, выход 93%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 607 (M + H)⁺.



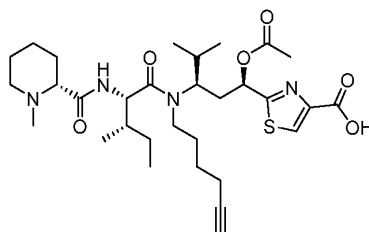
2-((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(пентилокси)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIIf)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения III получили IIIf (20 мг, выход 89%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 611 (M + H)⁺.



2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIIд)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения III получили IIIд (0.81 г, выход за 5 этапов 49% из 19d).



2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIIe)

В соответствии с общей процедурой для промежуточного соединения III получили сырое соединение IIIe (12 г, выход за 5 этапов 50%, R_f = 0.1, DCM:метанол = 10:1, УФ). ESI м/з: 603 (M - H)⁻.

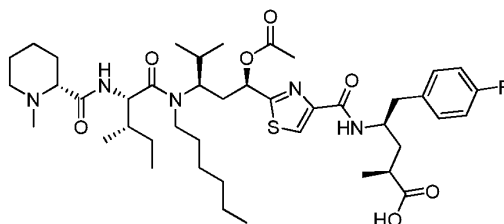
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.11 (s, 1H), 7.75 (br s, 1H), 5.61 (d, 1H), 4.45 (t, 1H), 3.71 (t, 1H), 3.68-2.50 (m, 5H), 2.40-1.90 (m, 11H), 1.90-1.30 (m, 12H), 1.27-0.60 (m, 14H) ppm.

Синтез С-тубулизина IV (фиг. 5)

Общая процедура для IV.

К смеси промежуточного соединения III (1.0 эквив.) и PFP (1.5 эквив.) в сухом DCM (10-15 мг/мл) добавили раствор N,N'-диизопропилкарбодимида (DIC, 1.5 эквив.) в DCM (7 мг/мл) по каплям при 0°C шприцем. Полученной смеси дали нагреться до КТ и ее перемешивали в течение 16 ч под контролем ЖХМС. Летучие соединения удалили in vacuo и остаток суспендировали в этилацетате (III/этилацетат: 1 мг/мл). Суспензию перемешивали в течение 20 мин и твердые частицы отфильтровали. Фильтрат сконцентрировали in vacuo и получили сырой пентафторфениловый сложный эфир 28 в виде светло-желтого масла, который растворили в сухом DMF (20 мг/мл). К раствору добавили DIPEA (2.5 эквив.) и промежуточное соединение I (0.9-1.2 эквив.) последовательно при КТ. Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи до завершения реакции согласно ЖХМС. Для R⁴ = NHFmoc к реакционной смеси затем добавили пиперидин (0.5-1.0 мл) шприцем и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч до удаления Fmoc согласно ЖХМС. Затем смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (система бикарбоната аммония) и получили IV (выход 10-60%) в виде белого твердого вещества.

(IVa)



(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-фторфенил)-2-

метилпентановая кислота (IVa)

В соответствии с общей процедурой для IV получили IVa (17 мг, выход 3%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 816.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.18 (s, 1H), 7.90-7.80 (m, 1H), 7.72-7.61 (m, 1H), 7.25-7.17 (m, 2H), 7.10-7.00 (m, 2H), 5.64 (d, J=13.2 Гц, 1H), 4.48 (t, J=9.2 Гц, 1H), 4.22-4.10 (m, 1H), 3.75-3.60 (m, 1H), 3.11-2.73 (m, 4H), 2.45-2.24 (m, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.00-1.78 (m, 5H), 1.65-1.43 (m, 7H), 1.41-1.20 (m, 9H), 1.10-0.91 (m, 8H), 0.90-0.76 (m, 10H), 0.72-0.62 (m, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t: 8.51 мин (способ А).

(IVb)

(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-[[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-2,2-диметил-5-фенилпентановая кислота (IVb)

В соответствии с общей процедурой для IV получили IVb (2.0 мг, выход 10%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 808.3 (M + H)⁺.

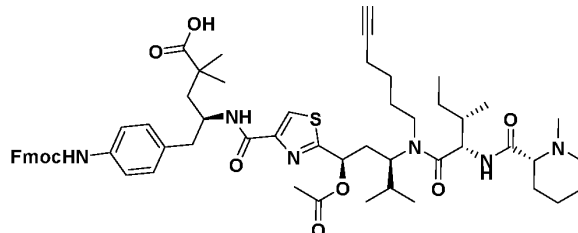
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.15 (s, 1H), 7.72 (s, 2H), 7.28-7.21 (m, 2H), 7.19-7.16 (d, J=5.9 Гц, 2H), 5.65 (d, J=13.2 Гц, 1H), 4.46 (t, J=9.4 Гц, 1H), 4.34-4.24 (m, 1H), 3.76-3.70 (m, 1H), 3.03-2.97 (m, 1H), 2.85-2.81 (m, 2H), 2.76-2.72 (m, 2H), 2.29-2.17 (m, 4H), 2.13 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 1.97-1.84 (m, 4H), 1.84-1.80 (m, 3H), 1.61 (d, J=10.3 Гц, 2H), 1.54-1.32 (m, 7H), 1.19-1.06 (m, 10H), 0.95 (d, J=6.0 Гц, 3H), 0.86-0.80 (m, 6H), 0.69 (d, J=6.0 Гц, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t: 8.51 мин (способ А).

(IVc)

(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-[[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-фторфенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVc)

В соответствии с общей процедурой для IV получили IVc (3.1 мг, выход 16%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 826.2 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.14 (s, 1H), 7.12-7.68 (m, 2H), 7.21-7.18 (m, 2H), 7.07-7.03 (m, 2H), 5.65 (d, J=13.0 Гц, 1H), 4.46 (t, J=9.5 Гц, 1H), 4.26-4.23 (m, 1H), 3.75-3.69 (m, 1H), 3.03-2.97 (m, 1H), 2.87-2.79 (m, 2H), 2.76-2.72 (m, 2H), 2.29-2.18 (m, 4H), 2.13 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 1.97-1.84 (m, 4H), 1.77-1.68 (m, 3H), 1.62-1.61 (m, 2H), 1.54-1.37 (m, 6H), 1.27-1.21 (m, 1H), 1.19-1.11 (m, 2H), 1.08-1.06 (m, 6H), 0.96-0.94 (m, 4H), 0.84-0.80 (m, 6H), 0.70-0.68 (m, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t: 8.44 мин (способ В).



(IVd)

(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-[[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVd)

В соответствии с общей процедурой для IV получили IVd (5.8 мг, выход 14%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 412.3 (M/2 + H)⁺, 823.3 (M + H)⁺ (10%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.16 (s, 1H), 7.77-7.61 (m, 2H), 6.82 (d, J=8.5 Гц, 2H), 6.45 (d, J=8.0 Гц, 2H), 5.66 (d, J=13.5 Гц, 1H), 4.84 (s, 2H), 4.47 (t, J=9.5 Гц, 1H), 4.19-4.16 (m, 1H), 3.76-3.71 (m, 1H), 3.05-2.99 (m, 1H), 2.85-2.82 (m, 1H), 2.74 (t, J=2.5 Гц, 1H), 2.64 (dd, J=13.5, 6.0 Гц, 1H), 2.58-2.53 (m, 1H), 2.31-2.14 (m, 7H), 2.07 (s, 3H), 1.87-1.72 (m, 7H), 1.69-1.52 (m, 10H), 1.19-1.08 (m, 2H), 1.05 (d, J=7.5 Гц, 6H), 0.96 (d, J=7.5 Гц, 3H), 0.85-0.81 (m, 6H), 0.69 (d, J=6.0 Гц, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t: 6.92 мин (способ А).

(IVe)

(2S,4R)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-[[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-фторфенил)-2-метилпентановая кислота (IVe)

В соответствии с общей процедурой для IV получили IVe (9.0 мг, выход 45%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 812.4 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 8.11 (s, 1H), 7.26 (dd, J=8.4, 5.5 Гц, 2H), 6.98 (s, 2H), 5.80 (d, J=13.0 Гц, 1H), 4.93 (m, 1H), 4.88-4.84 (m, 1H), 4.66 (d, J=9.3 Гц, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.86 (s, 1H), 3.19-3.01 (m, 2H), 2.92 (d, J=6.8 Гц, 2H), 2.55 (s, 1H), 2.44-2.30 (m, 6H), 2.27-2.22 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.05-1.96 (m, 3H), 1.95-1.86 (m, 3H), 1.82-1.58 (m, 9H), 1.45-1.36 (m, 1H), 1.27-1.20 (m, 1H), 1.19 (d, J=7.1 Гц, 3H), 1.07 (d, J=6.5 Гц, 3H), 1.01 (d, J=6.8 Гц, 3H), 0.95 (m, 3H), 0.85 (d, J=6.1 Гц, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t: 8.14 мин

(способ А). Хиральная ВЭЖХ: >99%, R_t : 1.05 мин (AD); >99%, 1.42 мин (AS); >99%, 0.92 мин (OD); >99%, 2.92 мин (OJ).

(IVf)

(2S,4R)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-гидроксифенил)-2-метилпентановая кислота (IVf)

В соответствии с общей процедурой для IV получили IVf (8.5 мг, выход 43%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 810.3 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.19 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.71 (d, J=10.0 Гц, 1H), 6.96 (d, J=10.0 Гц, 2H), 6.63 (d, J=8.4 Гц, 2H), 5.64 (d, J=12.9 Гц, 1H), 4.46 (t, J=9.5 Гц, 1H), 4.14 (s, 1H), 3.74 (s, 1H), 3.01 (s, 1H), 2.82 (d, J=11.4 Гц, 1H), 2.75-2.70 (m, 2H), 2.68-2.62 (m, 1H), 2.47-2.45 (m, 1H), 2.39-2.15 (m, 6H), 2.13-2.08 (m, 4H), 2.06 (s, 3H), 1.95-1.72 (m, 6H), 1.62-1.60 (m, 2H), 1.54-1.32 (m, 7H), 1.20-1.08 (m, 2H), 1.05 (d, J=7.1 Гц, 3H), 0.96 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.85-0.80 (m, 6H), 0.68 (d, J=6.1 Гц, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t : 6.83 мин (способ B).

(IVg)

(2S,4R)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-аминофенил)-2-метилпентановая кислота (IVg)

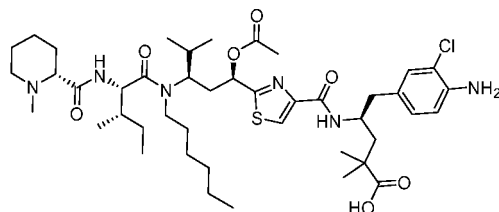
В соответствии с общей процедурой для IV получили IVg (6.0 мг, выход 30%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 809.2 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.18 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.70 (d, J=9.3 Гц, 1H), 6.82 (d, J=8.3 Гц, 2H), 6.45 (d, J=8.3 Гц, 2H), 5.65 (d, J=13.0 Гц, 1H), 4.84 (s, 2H), 4.46 (t, J=9.5 Гц, 1H), 4.09 (s, 1H), 3.74 (s, 1H), 3.05-2.97 (m, 1H), 2.83-2.80 (m, 1H), 2.74 (t, J=8.3 Гц, 1H), 2.71-2.63 (m, 3H), 2.60-2.56 (m, 1H), 2.37-2.33 (m, 1H), 2.28-2.24 (m, 2H), 2.19-2.16 (m, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.98-1.73 (m, 7H), 1.62-1.60 (m, 2H), 1.49-1.44 (m, 5H), 1.39-1.34 (m, 1H), 1.23 (s, 3H), 1.03 (d, J=7.5 Гц, 3H), 0.96 (d, J=6.0 Гц, 3H), 0.85-0.80 (m, 6H), 0.68 (d, J=6.0 Гц, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t : 6.87 мин (способ B). Хиральная ВЭЖХ: >99%, R_t : 0.8 мин (AD); >99%, 1.24 мин (AS); >99%, 3.1 мин (OD); >99%, 1.47 мин (OJ).

Синтез С-тубулизина VII и VIII (фиг. 5A).

Общая процедура для VII и VIII.

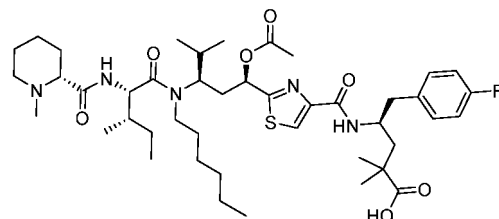
К раствору соединения А-1 (1.0 эквив.) в DCM (50 мМ) добавили соединение А-2 (1.5 эквив.) и DI-PEA (4.0 эквив.) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 4 ч под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-30% ацетонитрил в вод. TFA (0.01%)) и получили VII или VIII (выход 7-57%) в виде грязно-белого твердого вещества.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-амино-3-хлорфенил)-2,2-диметилпентановая кислота (VII)

В соответствии с общей процедурой для VII и VIII из соединения А-1а, на которое воздействовали соединением А-2b, получили нагрузку VII (5.0 мг, выход 14%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 861.3 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.16 (s, 1H), 7.67 (d, J=9.6 Гц, 1H), 7.56 (br s, 1H), 7.21 (br s, 1H), 6.94 (d, J=0.8 Гц, 1H), 6.82 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.65 (d, J=8.4 Гц, 1H), 5.65 (d, J=13.2 Гц, 1H), 5.32 (t, J=5.2 Гц, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.48 (t, J=9.6 Гц, 1H), 4.22-4.18 (m, 1H), 3.74-3.70 (m, 1H), 3.03-2.96 (m, 1H), 2.83 (d, J=11.2 Гц, 1H), 2.60 (d, J=6.0 Гц, 1H), 2.33-2.16 (m, 3H), 2.14 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.03-1.90 (m, 3H), 1.76-1.55 (m, 3H), 1.33-1.20 (m, 10H), 1.16-1.13 (m, 2H), 1.07-1.04 (m, 7H), 0.95 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.86-0.80 (m, 11H), 0.68 (d, J=5.6 Гц, 3H) ppm.



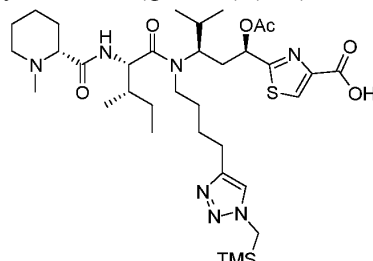
(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-фторфенил)-2,2-

диметилпентановая кислота (VIII)

В соответствии с общей процедурой для VII и VIII из соединения A-1a, на которое воздействовали соединением A-2c, получили нагрузку VIII (7.0 мг, выход 26%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 830.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.16 (s, 1H), 7.67 (d, J=9.6 Гц, 1H), 7.19 (dd, J=8.0 и 6.0 Гц, 2H), 7.06 (t, J=8.8 Гц, 2H), 5.64 (d, J=12.0 Гц, 1H), 4.48 (t, J=9.2 Гц, 1H), 4.27-4.23 (m, 1H), 3.73-3.65 (m, 1H), 3.02-2.93 (m, 1H), 2.84-2.75 (m, 3H), 2.33-1.83 (m, 12H), 1.90-1.40 (m, 8H), 1.28-1.23 (m, 11H), 1.17-1.13 (m, 1H), 1.06 (d, J=4.0 Гц, 6H), 0.96 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.87-0.79 (m, 9H), 0.68 (d, J=6.0 Гц, 3H) ppm.

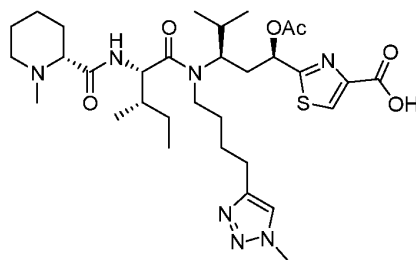
Синтез нагрузок С-триазол тубулизина IV (фиг. 6A) (IVh)



2-((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(4-(1-(триметилсилил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)бутил)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIIg1)

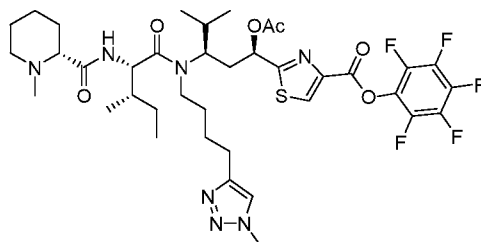
К смеси IIIe (80 мг, 132 мкмоль), триметилсилилметилазида (34 мг, 264 мкмоль) и аскорбата натрия (80 мг, 132 мкмоль) в THF (3 мл) и воде (1 мл) добавили 1 каплю водного сульфата меди (2.1 мг, 13 мкмоль). Полученную смесь перемешивали при КТ в течение 1 ч и затем отфильтровали и сконцентрировали и получили IIIg1 (87 мг, выход 89.6%) в виде

белого твердого вещества. ESI м/з: 734.1 (M+H)⁺.



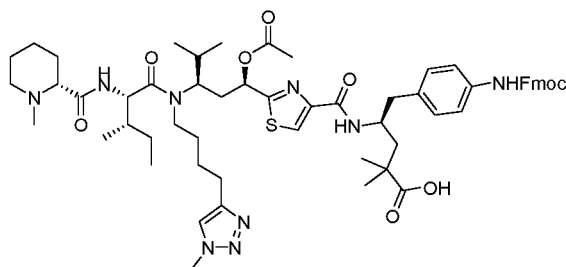
2-((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-N-(4-(1-метил-1H-1,2,3-триазол-4-ил)бутил)-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоновая кислота (IIIg2)

Смесь IIIg1 (87 мг, 118 дмоль) и CsF (72 мг, 474 мкмоль) в DMF (1 мл) перемешивали при 60°C в течение 1 ч. Реакционный раствор очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH 15:1) и получили IIIg2 (59 мг, выход 75%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 663.3 (M+H)⁺.



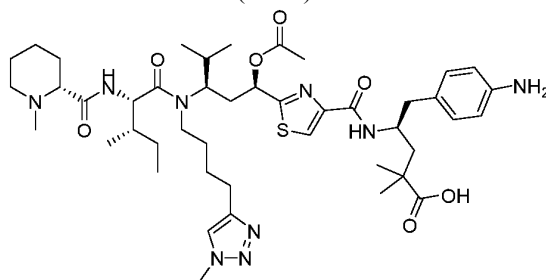
Перфторфенил 2-((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-N-(4-(1-метил-1H-1,2,3-триазол-4-ил)бутил)-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоксилат (31)

Смесь IIIg2 (59 мг, 89 мкмоль), PFP (33 мг, 178 мкмоль) и DIC (23 мг, 178 мкмоль) в THF (2 мл) перемешивали при 25°C в течение 18 ч. Реакционный раствор очистили посредством колоночной хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH 15:1) и получили 31 (59 мг, выход 75%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 828.3 (M+H)⁺.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-N-[4-(1-метил-1H-1,2,3-триазол-4-ил)бутил]-2-}[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо} пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино} фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (32)

Смесь соединения 31 (40 мг, 40 мкмоль), DIPEA (15 мг, 119 мкмоль) и промежуточного соединения Ic (22 мг, 119 мкмоль) в DMF (3 мл) перемешивали при 25°C в течение 16 ч и реакционный раствор очистили посредством ОФ хроматографии (CH₃CN/H₂O, 0-100% CH₃CN) и получили 32 (23 мг, выход 53%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 1102.1 (M+H)⁺.



(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-N-(4-(1-метил-1H-1,2,3-триазол-4-ил)бутил)-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVh)

Смесь соединения 32 (23 мг, 21 мкмоль) и пиперидина (5 мг, 63 мкмоль) в DMF (1 мл) перемешивали при 25°C в течение 16 ч и реакционный раствор очистили посредством ОФ хроматографии (0-100% CH₃CN в H₂O) и получили IVh (5 мг, выход 27%) в виде белого твердого вещества. EIS м/з: 880.4 (M+H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 8.10 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 6.96 (d, J=8.2 Гц, 2H), 6.64 (d, J=8.2 Гц, 2H), 5.76 (d, J=12.5 Гц, 1H), 4.57 (d, J=9.3 Гц, 1H), 4.36-4.30 (m, 1H), 4.04 (s, 3H), 3.89-3.78 (m, 1H), 3.19-3.08 (m, 2H), 3.00-2.93 (m, 1H), 2.81-2.63 (m, 5H), 2.38-2.33 (m, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.20-2.15 (m, 4H), 2.09-1.86 (m, 4H), 1.84-1.63 (m, 9H), 1.61-1.48 (m, 3H), 1.36-1.27 (m, 1H), 1.13 (s, 3H), 1.10 (s, 3H), 1.05 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.92-0.87 (m, 6H), 0.86-0.80 (m, 3H) ppm.

Общая процедура для IVj-р

К смеси Fmoc-IVd (1 эквив.), R⁵-азида (2 эквив.) и аскорбата натрия (2 эквив.) в THF (0.3 мл на мг Fmoc-IVd) и воде (0.1 мл на мг Fmoc-IVd) добавили водный сульфат меди (0.1 эквив., 1 M). Полученную смесь перемешивали при КТ в течение 16 ч. Смесь очистили посредством ОФ хроматографии и получили 32 (выход 64-76%) в виде белого твердого вещества. Затем 32 растворили в DMF и добавили пиперидин (0.1-1.0 мл, избыток) шприцем. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч до удаления Fmoc согласно ЖХМС. Затем смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ B) и получили IVj-р в виде белого твердого вещества.

(IVj)

(S)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N-(4-(1H-1,2,3-триазол-5-ил)бутил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-ацетокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVj)

В соответствии с общей процедурой для IVj-р получили IVj (2 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 866.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.15 (s, 1H), 7.70-7.62 (m, 1H), 7.48 (s, 1H), 6.82 (d, J=8.2 Гц, 2H), 6.45 (d, J=8.1 Гц, 2H), 5.61-5.55 (m, 1H), 5.32 (s, 1H), 4.85 (s, 2H), 4.38 (s, 1H), 4.12-4.03 (m, 1H), 3.77-3.63 (m, 1H), 3.11-2.96 (m, 1H), 2.87-2.79 (m, 1H), 2.74 (s, 2H), 2.69 (s, 1H), 2.67 (s, 1H), 2.33 (s, 1H), 2.25-2.19 (m, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.00 (d, J=7.4 Гц, 2H), 1.97-1.89 (m, 3H), 1.83-1.73 (m, 3H), 1.63 (s, 3H), 1.47 (s, 4H), 1.45-1.44 (m, 1H), 1.27 (s, 2H), 1.18-1.10 (m, 2H), 0.96 (t, J=9.0 Гц, 9H), 0.85 (s, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.66 (s, 3H) ppm.

(IVk)

(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(4-(1-(2-аминоэтил)-1H-1,2,3-триазол-5-ил)бутил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-

5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVk)

В соответствии с общей процедурой для IVj-р получили IVk (2 мг, выход 36%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 910.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.17 (s, 1H), 7.83 (d, J=10.6 Гц, 1H), 7.67 (s, 1H), 6.79 (d, J=8.1 Гц, 2H), 6.44 (d, J=8.2 Гц, 2H), 5.64 (s, 1H), 5.32 (s, 1H), 4.85 (s, 2H), 4.43 (s, 1H), 4.28 (s, 2H), 4.15 (s, 1H), 3.06-3.02 (m, 1H), 2.94 (s, 2H), 2.79 (s, 4H), 2.67 (s, 3H), 2.33 (s, 1H), 2.12 (t, J=11.7 Гц, 4H), 2.06 (s, 3H), 1.99 (s, 4H), 1.86-1.77 (m, 3H), 1.59 (s, 6H), 1.50 (s, 4H), 1.45-1.35 (m, 3H), 0.97 (dd, J=14.6, 5.2 Гц, 8H), 0.85 (s, 1H), 0.78 (dd, J=16.6, 7.2 Гц, 6H), 0.66 (s, 3H) ppm.

(IVl)

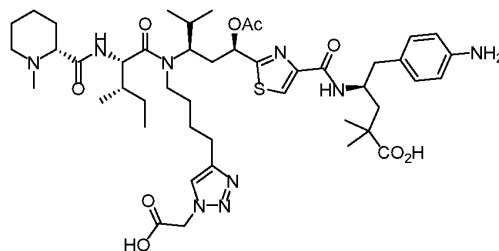
(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(4-(1-(2-гидроксиэтил)-1H-1,2,3-триазол-5-ил)бутил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVl)

В соответствии с общей процедурой для IVj-р получили IVl (2 мг, выход 36%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 910.4 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.18 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 6.80 (d, J=8.2 Гц, 2H), 6.43 (d, J=8.2 Гц, 2H), 5.62 (d, J=12.5 Гц, 1H), 4.84 (s, 2H), 4.44 (s, 1H), 4.31 (t, J=5.4 Гц, 2H), 4.12 (s, 1H), 3.74 (d, J=5.5 Гц, 2H), 3.04 (s, 2H), 2.82 (d, J=11.7 Гц, 1H), 2.69 (d, J=20.5 Гц, 5H), 2.29 (d, J=28.0 Гц, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.00 (d, J=7.2 Гц, 1H), 1.92 (d, J=11.8 Гц, 2H), 1.82 (s, 4H), 1.62 (s, 4H), 1.53-1.50 (m, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.38-1.34 (m, 1H), 1.23 (s, 3H), 1.17-1.12 (m, 1H), 0.98 (d, J=6.7 Гц, 5H), 0.95 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.78 (dd, J=13.5, 6.8 Гц, 6H), 0.67 (s, 3H) ppm.

(IVm)

(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(4-(1-(карбоксиметил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)бутил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVm)

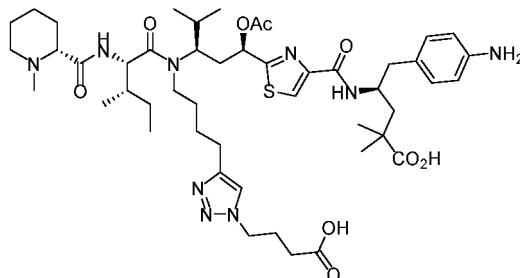


В соответствии с общей процедурой для IVj-р получили IVm (2 мг, выход за 2 этапа 16%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 924.2 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.86 (s, 1H), 8.37-8.23 (m, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.13-7.81 (m, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 6.79 (d, J=8.3 Гц, 2H), 6.42 (d, J=8.2 Гц, 2H), 5.61 (d, J=13.2 Гц, 1H), 5.31 (s, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.48 (s, 1H), 4.17 (s, 3H), 3.66 (s, 2H), 3.00 (s, 3H), 2.66 (s, 2H), 2.32 (s, 1H), 2.22 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 1.99 (d, J=7.5 Гц, 2H), 1.91-1.79 (m, 4H), 1.62 (d, J=5.3 Гц, 4H), 1.54 (d, J=5.2 Гц, 4H), 1.44 (s, 4H), 1.01 (d, J=2.3 Гц, 6H), 0.95 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.80 (t, J=5.6 Гц, 6H), 0.69 (s, 3H) ppm.

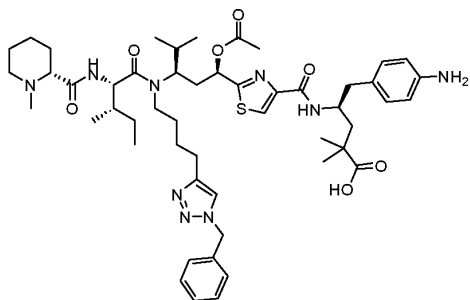
(IVn)

(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(4-(1-(3-карбоксипропил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)бутил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVn)



В соответствии с общей процедурой для IVj-р получили IVn (1 мг, выход за 2 этапа 11%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 952.1 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.17 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.80-7.72 (m, 1H), 7.67 (d, J=9.1 Гц, 1H), 6.79 (d, J=8.3 Гц, 2H), 6.44 (d, J=8.3 Гц, 2H), 5.62 (d, J=12.9 Гц, 1H), 4.42 (t, J=9.5 Гц, 1H), 4.27 (t, J=6.7 Гц, 2H), 4.14 (s, 2H), 3.76 (s, 1H), 3.03-3.00 (m, 1H), 2.82 (d, J=5.5 Гц, 5H), 2.66 (s, 3H), 2.22 (d, J=12.4 Гц, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.93 (s, 3H), 1.81 (d, J=7.0 Гц, 2H), 1.74 (s, 1H), 1.65 (s, 2H), 1.59 (s, 2H), 1.51 (s, 6H), 1.48-1.30 (m, 4H), 1.15 (d, J=11.9 Гц, 1H), 1.07-1.00 (m, 1H), 0.96 (dd, J=11.2, 5.0 Гц, 9H), 0.81-0.72 (m, 6H), 0.66 (d, J=5.8 Гц, 3H) ppm.

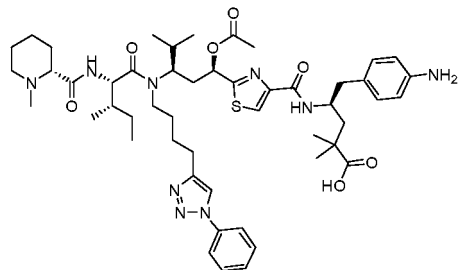


(IVo)

(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(4-(1-бензил-1H-1,2,3-триазол-4-ил)бутил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVo)

В соответствии с общей процедурой для IVj-р получили IVo (2.5 мг, выход 50%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 956.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.19 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.35-7.26 (m, 5H), 6.78 (d, J=8.2 Гц, 2H), 6.43 (d, J=8.1 Гц, 2H), 5.62 (d, J=13.2 Гц, 1H), 5.51 (s, 2H), 4.84 (s, 2H), 4.43 (t, J=9.1 Гц, 1H), 4.07 (s, 1H), 3.77-3.67 (m, 1H), 3.07-2.96 (s, 1H), 2.82 (d, J=11.5 Гц, 1H), 2.66 (s, 3H), 2.48-2.42 (m, 2H), 2.24 (t, J=12.7 Гц, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.01-1.88 (m, 2H), 1.89-1.72 (m, 4H), 1.72-1.32 (m, 10H), 1.23 (s, 2H), 1.20-1.10 (m, 1H), 1.06-0.97 (m, 1H), 0.97-0.83 (m, 9H), 0.76 (dd, J=17.4, 7.0 Гц, 6H), 0.65 (s, 3H) ppm.

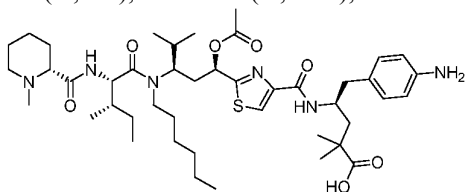


(IVp)

(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(4-(1-фенил-1H-1,2,3-триазол-4-ил)бутил)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVp)

В соответствии с общей процедурой для IVj-р получили IVp (3.5 мг, выход 40%) в виде бесцветного твердого вещества. ESI м/з: 942.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.64 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.85 (d, J=7.8 Гц, 2H), 7.73-7.61 (m, 1H), 7.56 (t, J=7.9 Гц, 2H), 7.45 (t, J=7.4 Гц, 1H), 6.80 (d, J=8.2 Гц, 2H), 6.43 (d, J=8.2 Гц, 2H), 5.64 (d, J=13.0 Гц, 1H), 4.84 (s, 2H), 4.38 (t, J=9.1 Гц, 1H), 4.09 (s, 1H), 3.84-3.70 (s, 1H), 3.10-3.01 (s, 1H), 2.85-2.62 (m, 4H), 2.48-2.44 (m, 2H), 2.29-2.19 (m, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.01-1.90 (m, 2H), 1.88-1.75 (m, 4H), 1.69-1.29 (m, 10H), 1.23 (s, 2H), 1.19-1.10 (m, 1H), 1.02-0.89 (m, 10H), 0.72-0.62 (m, 9H) ppm.

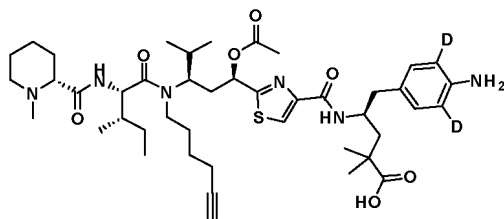


(IVq)

(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVq)

В соответствии с общей процедурой для IV получили IVg (4.0 мг, выход 72%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 828.3 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.19 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.65 (d, J=8.9 Гц, 1H), 6.81 (d, J=8.1 Гц, 2H), 6.44 (d, J=8.2 Гц, 2H), 5.64 (d, J=13.0 Гц, 1H), 4.84 (s, 2H), 4.49 (t, J=9.3 Гц, 1H), 4.43-4.20 (m, 1H), 4.11 (s, 1H), 3.67 (d, J=14.8 Гц, 2H), 3.01 (d, J=11.0 Гц, 2H), 2.83 (d, J=11.4 Гц, 1H), 2.68 (d, J=4.7 Гц, 2H), 2.28 (dd, J=24.7, 12.1 Гц, 2H), 2.13 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 1.98-1.88 (m, 2H), 1.87-1.81 (m, 2H), 1.73 (s, 1H), 1.59 (s, 2H), 1.54 (s, 2H), 1.45 (s, 2H), 1.29 (s, 6H), 1.19-1.06 (m, 2H), 1.00 (d, J=9.8 Гц, 6H), 0.95 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.83 (dd, J=16.5, 9.4 Гц, 10H), 0.68 (d, J=5.8 Гц, 3H) ppm.

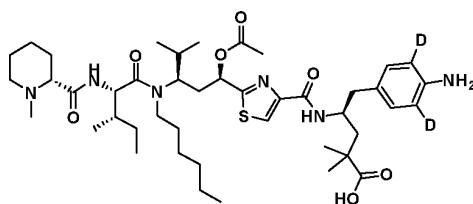


(IVr)

(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-аминофенил-3,5-d₂)-2,2-диметилпентановая кислота (IVr)

В соответствии с общей процедурой для IV получили IVr (2.0 мг, выход 34%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 825.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.15 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 6.81 (s, 2H), 5.65 (d, J=12.4 Гц, 1H), 4.84 (s, 2H), 4.46 (t, J=9.3 Гц, 1H), 4.18 (s, 1H), 3.73 (s, 1H), 3.01 (s, 1H), 2.83 (d, J=10.7 Гц, 1H), 2.74 (s, 1H), 2.63 (dd, J=13.2, 6.2 Гц, 1H), 2.57-2.53 (m, 1H), 2.40-2.10 (m, 7H), 2.07 (s, 3H), 2.03-1.69 (m, 7H), 1.69-1.29 (m, 10H), 1.23 (s, 2H), 1.04 (d, J=6.7 Гц, 6H), 0.95 (d, J=6.1 Гц, 3H), 0.88-0.76 (m, 6H), 0.67 (s, 3H) ppm.



(IVs)

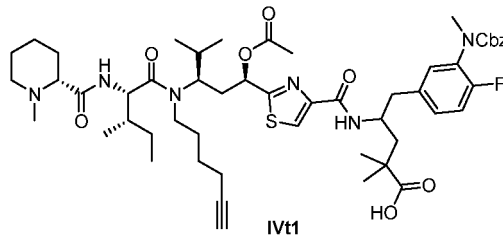
(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-аминофенил-3,5-d₂)-2,2-диметилпентановая кислота (IVs)

В соответствии с общей процедурой для IV получили IVs (0.80 мг, выход 6%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 829.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.16 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 6.80 (s, 2H), 5.65 (d, J=13.0 Гц, 1H), 4.80 (s, 2H), 4.48 (t, J=9.4 Гц, 1H), 4.19 (s, 1H), 3.70 (s, 1H), 2.99 (s, 1H), 2.81 (d, J=15.3 Гц, 1H), 2.68-2.52 (m, 2H), 2.43-2.10 (m, 7H), 2.07 (s, 3H), 2.02-1.73 (m, 7H), 1.73-1.33 (m, 10H), 1.33-1.28 (m, 2H), 1.23 (s, 2H), 1.05 (d, J=5.1 Гц, 6H), 0.95 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.89-0.78 (m, 9H), 0.68 (s, 3H) ppm.

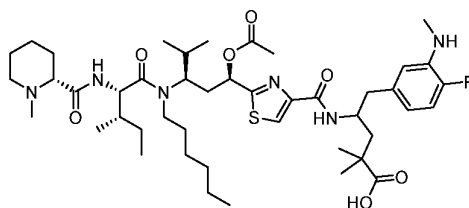
(IVt)

2-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гекс-5-инил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(3-((бензилоксикарбонил)(метил)амино)-4-фторфенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVt1) (фиг. 6B)



В соответствии с общей процедурой для IV получили IVt1 (6.0 мг, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 989.1 (M + H)⁺.

4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-фтор-3-(метиламино)фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVt) (фиг. 6B)



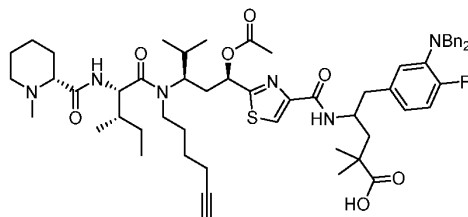
К раствору соединения IVt1 (6 мг, 6.1 мкмоль) добавили влажный Pd/C (10% Pd, 2 мг) в атмосфере азота. Суспензию дегазировали и атмосферу заменяли на водород 3 раза и смесь затем перемешивали при КТ в атмосфере водорода из баллона в течение 30 мин под контролем ЖХМС. Реакционную смесь

отфильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В) и получили соединение IVt (2 мг, выход 38%) в виде белого твердого вещества. ESI m/z 859.1 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.19 (d, J=6.2 Гц, 1H), 7.66 (d, J=9.7 Гц, 1H), 6.90-6.77 (m, 1H), 6.38 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.32 (s, 1H), 5.63 (d, J=12.6 Гц, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.48 (d, J=6.9 Гц, 1H), 4.21 (s, 1H), 3.70 (s, 1H), 2.97 (s, 1H), 2.81 (s, 1H), 2.70 (d, J=21.9 Гц, 2H), 2.55 (d, J=4.9 Гц, 3H), 2.22 (s, 2H), 2.12 (d, J=3.5 Гц, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.97-1.83 (m, 4H), 1.68-1.34 (m, 9H), 1.29 (s, 8H), 1.18-1.13 (m, 1H), 1.04 (s, 7H), 0.95 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.88-0.79 (m, 10H), 0.68 (d, J=5.9 Гц, 3H) ppm.

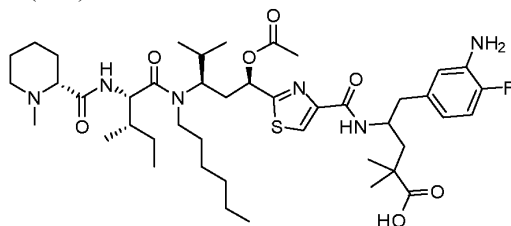
(IVuA/B)

4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-[3-(добензиламино)-4-фторфенил]-2,2-диметилпентановая кислота (IVu1)



В соответствии с общей процедурой для IV получили IVu1 (10 мг, выход 40%) в виде белого твердого вещества. ESI m/z 511.3 (M/2 + H)⁺.

4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(3-амино-4-фторфенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVu)



К раствору соединения IVu1 (10 мг, 9.8 мкмоль) добавили влажный Pd/C (10% Pd, 3 мг) в атмосфере азота. Суспензию дегазировали и атмосферу заменяли на водород 3 раза и смесь затем перемешивали при КТ в атмосфере водорода из баллона в течение 24 ч под контролем ЖХМС. Реакционную смесь отфильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Смесь сырого продукта очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А) и получили соединение IVu в виде белого твердого вещества.

IVuA (2 мг, выход 23%): ESI m/z 845.5 (M + H)⁺, время удерживания ЖХМС: 1.41 мин;

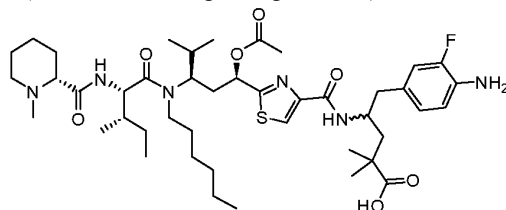
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.21 (d, J=8.0 Гц, 1H), 7.64 (d, J=9.2 Гц, 1H), 6.83 (dd, J=11.4, 8.2 Гц, 1H), 6.60 (t, J=10.0 Гц, 1H), 6.30 (s, 1H), 5.64 (d, J=13.2 Гц, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.48 (t, J=9.4 Гц, 1H), 4.13 (s, 1H), 3.68 (s, 1H), 3.00 (s, 2H), 2.87-2.65 (m, 3H), 2.25 (d, J=11.9 Гц, 2H), 2.12 (d, J=4.7 Гц, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.00-1.81 (m, 4H), 1.72 (br s, 1H), 1.65-1.25 (m, 15H), 1.18-1.04 (m, 2H), 0.98-0.59 (m, 22H) ppm.

IVuB (2 мг, выход 23%): ESI m/z 845.5 (M + H)⁺, время удерживания ЖХМС: 1.42 мин;

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.18 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 6.82 (dd, J=11.5, 8.2 Гц, 1H), 6.67-6.52 (m, 1H), 6.29 (s, 1H), 5.66 (s, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.48 (t, J=9.1 Гц, 1H), 4.26 (s, 1H), 3.68 (s, 1H), 3.02 (s, 2H), 2.77-2.54 (m, 3H), 2.25 (s, 2H), 2.13 (d, J=9.8 Гц, 6H), 1.95-1.50 (m, 12H), 1.35-1.03 (m, 15H), 0.98-0.59 (m, 17H) ppm.

(IVvA/B)

4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-амино-3-фторфенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVv, два диастереомера А и В)



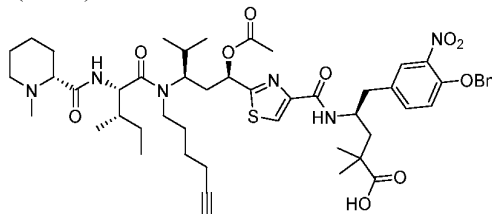
С соблюдением процедуры преобразования из Ii и IIIe в IVu, за исключением замены Ij вместо Ii, получили соединение IVv в качестве диастереомеров, затем его разделили посредством преп-ВЭЖХ (способ А) и получили диастереомер А и диастереомер В в виде белого твердого вещества.

IVvA (5 мг, выход 10%): ESI м/з 845 (M + H)⁺, время удерживания ЖХМС: 1.40 мин.

IVvB (5 мг, выход 10%): ESI м/з 845 (M + H)⁺, время удерживания ЖХМС: 1.41 мин. Диастереомер IVvB показан на фиг. 5A.

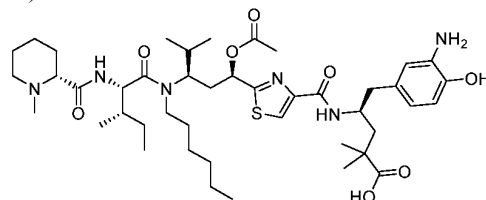
(IVw)

(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гекс-5-инил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-(бензилокси)-3-нитрофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVw1)



При соблюдении общей процедуры для соединения IV получили соединение IVw1 (10 мг, выход 40%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 959.5 (M + H)⁺.

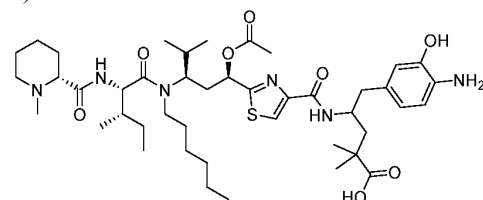
(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(3-амино-4-гидроксифенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVw)



К раствору соединения IVw1 (10 мг, 0.10 ммоль) в этаноле (5 мл) добавили конц. HCl (0.1 мл) и влажный Pd/C (10% Pd, 3 мг) в атмосфере азота. Суспензию дегазировали и атмосферу заменяли на водород 3 раза и смесь затем перемешивали при КТ в атмосфере водорода из баллона в течение 30 мин под контролем ЖХМС. Реакционную смесь отфильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали in vacuo. Сырой продукт очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А) и получили соединение IVw (1 мг, выход 12%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 843.5 (M + H)⁺.

(IVx)

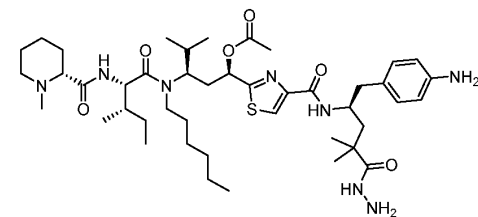
4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-амино-3-гидроксифенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IVx)



При соблюдении процедуры для IVw, за исключением замены Iк на II, получили соединение IVx в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 843.5 (M + H)⁺.

(IVy)

(1R,3R)-1-(4-((S)-1-(4-аминофенил)-5-гидразинил-4,4-диметил-5-оксопентан-2-илкарбамоил)тиазол-2-ил)-3-((2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентилацетат (IVy)

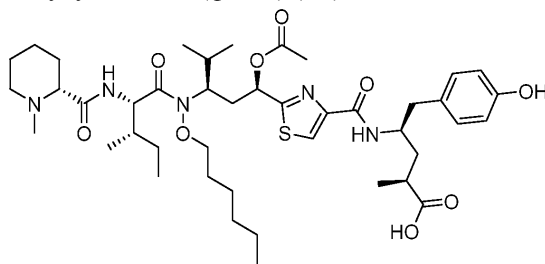


К раствору Fmoc-IVq (60 мг, 60 мкмоль, см. процедуру соединения IVq) в сухом DMF (2 мл) добавили HATU (24 мг, 66 мкмоль) и DIPEA (24 мг, 0.18 ммоль). Смесь перемешивали при КТ в течение 10 мин и затем добавили Вос-гидразин (8.0 мг, 60 мкмоль). Полученную смесь перемешивали при КТ в течение одного часа под контролем ЖХМС. Смесь разделили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (5-95% ацетонитрил в воде (с 0.03% TFA)) и получили промежуточное соединение Вос-гидразид (70 мг, ESI м/з: 1163.6 (M + H)⁺) в виде белого твердого вещества. Промежуточное соединение

(10 мг, 10 мкмоль) растворили в DMF (2 мл) и к раствору добавили 1 каплю пиперидина (са. 0.02 мл). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение часа до удаления Fmoc согласно ЖХМС. Смесь разделили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (5-95% ацетонитрил в воде (с 0.03% TFA)) и получили сырое промежуточное соединение de-Fmoc (5 мг, ESI м/з: 421.3 ((M - Boc)/2 + H)⁺) в виде белого твердого вещества, которое растворили в DCM (2 мл). К раствору добавили TFA (0.4 мл) и смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч до удаления Boc согласно ЖХМС. Летучие соединения удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В) и получили соединение IVy (1 мг, выход 11% из Fmoc-IVq) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 841.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.75 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.64 (d, J=9.1 Гц, 1H), 7.50 (d, J=8.8 Гц, 1H), 6.80 (d, J=8.2 Гц, 2H), 6.44 (d, J=8.3 Гц, 2H), 5.60 (d, J=12.7 Гц, 1H), 4.85 (s, 2H), 4.49 (t, J=9.4 Гц, 1H), 4.07 (s, 1H), 3.91 (s, 2H), 3.68 (br s, 1H), 2.99 (s, 1H), 2.82 (d, J=11.5 Гц, 1H), 2.63 (dd, J=13.0, 6.2 Гц, 1H), 2.47-2.27 (m, 4H), 2.12 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.03-1.79 (m, 5H), 1.77-1.39 (m, 8H), 1.32 (s, 7H), 1.23 (s, 2H), 1.00 (d, J=8.5 Гц, 6H), 0.96 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.90-0.77 (m, 9H), 0.68 (d, J=5.5 Гц, 3H) ppm.

Синтез сложного эфира О-тубулизина V (фиг. 5) (Va)

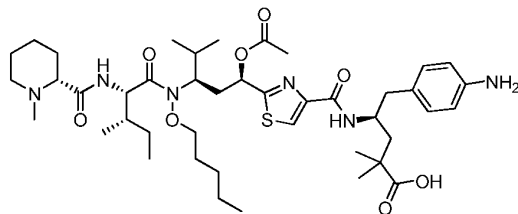


(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гексилокси)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-гидроксифенил)-2-метилпентановая кислота (Va)

В соответствии с общей процедурой для VI (*infra*) получили Va (8.5 мг, выход 28%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 830.1 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.19 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.83 (d, J=9.0 Гц, 1H), 7.48 (d, J=9.5 Гц, 1H), 6.97 (d, J=8.5 Гц, 2H), 6.63 (d, J=8.5 Гц, 2H), 5.77 (d, J=8.5 Гц, 1H), 4.81-4.78 (m, 1H), 4.16-4.06 (m, 3H), 3.97-3.95 (m, 1H), 2.85-2.83 (m, 1H), 2.75-2.71 (m, 1H), 2.68-2.64 (m, 1H), 2.47-2.36 (m, 4H), 2.11 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.07-1.94 (m, 2H), 1.80-1.79 (m, 2H), 1.63-1.61 (m, 4H), 1.54-1.44 (m, 3H), 1.42-1.37 (m, 4H), 1.33-1.26 (m, 5H), 1.18-1.09 (m, 2H), 1.06 (d, J=7.5 Гц, 3H), 0.98 (d, J=7.0 Гц, 3H), 0.89-0.82 (m, 12H) ppm.

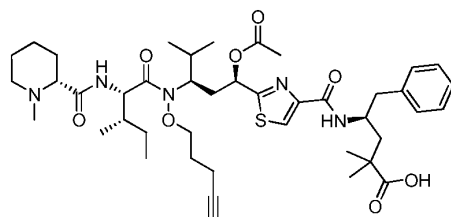
(Vb)



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо}-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (Vb)

В соответствии с общей процедурой для VI получили Vb (6.0 мг, выход 30%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 829.4 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.17 (s, 1H), 7.74 (br s, 1H), 7.51 (d, J=9.5 Гц, 1H), 6.81 (d, J=8.0 Гц, 2H), 6.43 (d, J=8.0 Гц, 2H), 5.80 (d, J=11.5 Гц, 1H), 4.91-4.78 (m, 3H), 4.19-4.11 (m, 2H), 4.10-4.02 (m, 1H), 3.98-3.93 (m, 1H), 2.87-2.81 (m, 1H), 2.65-2.61 (m, 1H), 2.44-2.32 (m, 2H), 2.11 (d, J=14 Гц, 6H), 2.02-1.92 (m, 2H), 1.88-1.78 (m, 2H), 1.66-1.5 (m, 5H), 1.55-1.23 (m, 11H), 1.18-1.14 (m, 1H), 1.03 (d, J=11 Гц, 6H), 0.96 (d, J=7.0 Гц, 3H), 0.88-0.81 (m, 12H) ppm. Анал. ВЭЖХ: 95%, R_t: 8.55 мин (способ В). (Vc)

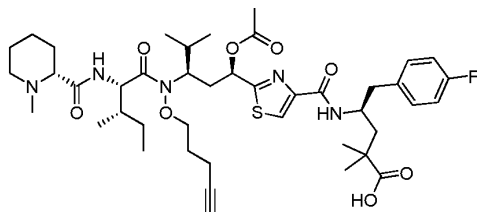


(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-2,2-диметил-5-фенилпентановая кислота (Vc)

В соответствии с общей процедурой для VI получили Vc (7.0 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 810.0 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.15 (s, 1H), 7.74 (d, J=8.5 Гц, 1H), 7.55 (d, J=10.0 Гц, 1H), 7.25-7.22 (m, 2H), 7.18-7.16 (m, 3H), 5.81 (d, J=5.0 Гц, 1H), 4.77-4.74 (m, 1H), 4.31-4.22 (m, 2H), 4.08-4.04 (m, 2H), 2.83-2.81 (m, 3H), 2.76-2.71 (m, 1H), 2.34-2.33 (m, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.99-1.91 (m, 3H), 1.81-1.80 (m, 3H), 1.69-1.60 (m, 3H), 1.52-1.37 (m, 4H), 1.09-1.08 (m, 1H), 1.06-1.04 (m, 6H), 0.97-0.95 (m, 6H), 0.87-0.81 (m, 9H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t: 8.63 мин (способ B).

(Vd)

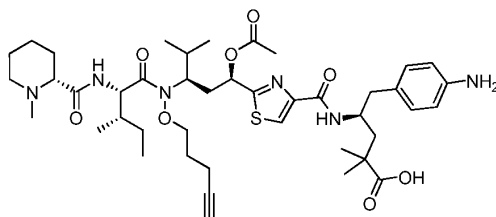


(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-фторфенил)-2,2-диметилпентановая кислота (Vd)

В соответствии с общей процедурой для VI получили Vd (8.0 мг, выход 40%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 828.4 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.08 (s, 1H), 7.71 (d, J=9.2 Гц, 1H), 7.51 (d, J=10.0 Гц, 1H), 7.14-7.11 (m, 2H), 7.00-6.95 (m, 2H), 5.74 (d, J=10.8 Гц, 1H), 4.68 (t, J=9.6 Гц, 1H), 4.18-4.12 (m, 2H), 4.00-3.95 (m, 2H), 2.77-2.64 (m, 4H), 2.29-2.20 (m, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.93-1.81 (m, 3H), 1.67-1.62 (m, 3H), 1.57-1.28 (m, 9H), 1.13-1.10 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.90-0.88 (m, 3H), 0.81-0.76 (m, 9H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t: 8.40 мин (способ B).

(Ve)

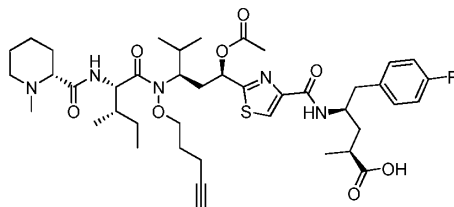


(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-аминофенил)-2,2-диметилпентановая кислота (Ve)

В соответствии с общей процедурой для VI получили Ve (5.3 мг, выход 27%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 413.3 (M/2 + H)⁺, 825.3 (M + H)⁺ (30%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.16 (s, 1H), 7.78 (d, J=8.5 Гц, 1H), 7.56 (d, J=10.0 Гц, 1H), 6.81 (d, J=8.5 Гц, 2H), 6.44 (d, J=8.0 Гц, 2H), 5.81 (d, J=11.0 Гц, 1H), 4.90-4.74 (m, 3H), 4.26-4.23 (m, 1H), 4.15-4.05 (m, 3H), 2.85-2.82 (m, 2H), 2.77 (br s, 1H), 2.68-2.64 (m, 1H), 2.36-2.31 (m, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.03-1.96 (m, 2H), 1.89-1.78 (m, 4H), 1.62-1.35 (m, 9H), 1.19-1.05 (m, 2H), 1.04 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.96 (d, J=5.5 Гц, 3H), 0.89-0.82 (m, 9H) ppm. Анал. ВЭЖХ: 95%, R_t: 6.98 мин (способ B).

(Vf)

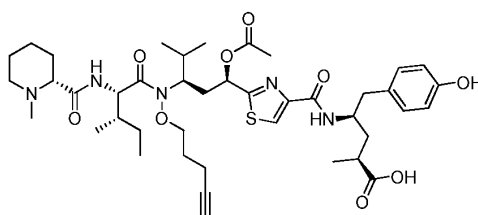


(2S,4R)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-фторфенил)-2-метилпентановая кислота (Vf)

В соответствии с общей процедурой для VI получили Vf (4.0 мг, выход 20%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 814.3 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 8.11 (s, 1H), 7.25 (dd, J=8.5, 5.5 Гц, 2H), 6.96 (t, J=9.0 Гц, 2H), 5.92-5.90 (m, 1H), 4.91-4.87 (m, 1H), 4.42-4.38 (m, 1H), 4.36-4.30 (m, 1H), 4.20 (dd, J=13.9, 6.5 Гц, 1H), 4.09-4.03 (m, 1H), 3.15-3.02 (m, 2H), 2.97-2.90 (m, 2H), 2.75-2.65 (m, 1H), 2.56-2.48 (m, 1H), 2.45-2.34 (m, 8H), 2.20-2.10 (m, 4H), 2.04-1.90 (m, 5H), 1.80-1.57 (m, 6H), 1.46-1.36 (m, 1H), 1.27-1.21 (m, 1H), 1.18 (d, J=7.0 Гц, 3H), 1.07 (d, J=6.5 Гц, 3H), 1.03-1.01 (m, 6H), 0.95 (t, J=7.5 Гц, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: 98%, R_t: 7.63 мин

(способ В).
(Vg)

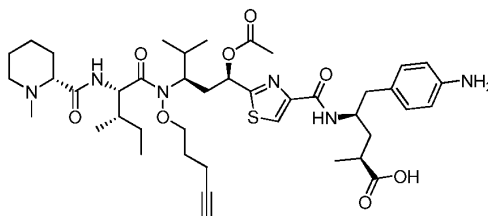


(2S,4R)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-гидроксифенил)-2-метилпентановая кислота (Vg)

В соответствии с общей процедурой для VI получили Vg (7.8 мг, выход 39%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 812.3 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 8.11 (s, 1H), 7.06 (d, J=8.4 Гц, 2H), 6.69 (d, J=8.4 Гц, 2H), 5.90 (d, J=9.0 Гц, 1H), 4.89-4.85 (m, 1H), 4.64 (br s, 1H), 4.41-4.39 (m, 1H), 4.31-4.26 (m, 1H), 4.20-4.16 (m, 1H), 4.05-3.98 (s, 1H), 3.12-3.30 (m, 1H), 2.86-2.84 (m, 2H), 2.74-2.66 (m, 1H), 2.54-2.49 (m, 1H), 2.43-2.30 (m, 8H), 2.18 (s, 4H), 2.04-1.90 (m, 5H), 1.79-1.56 (m, 6H), 1.46-1.38 (m, 1H), 1.25-1.20 (m, 1H), 1.19 (d, J=7.0 Гц, 3H), 1.07 (d, J=7.0 Гц, 3H), 1.02 (d, J=7.0 Гц, 6H), 0.95 (t, J=7.0 Гц, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t: 7.68 мин (способ А).

(Vh)

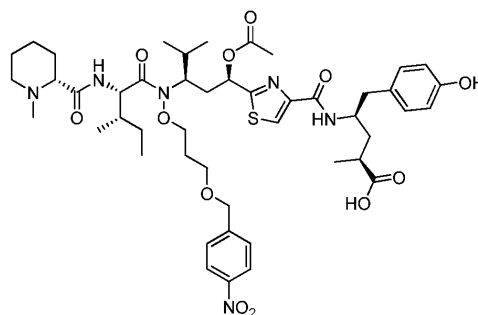


(2S,4R)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-аминофенил)-2-метилпентановая кислота (Vh)

В соответствии с общей процедурой для VI получили Vh (12 мг, выход 60%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 406.2 (M/2 + H)⁺, 811.2 (M + H)⁺ (10%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.18 (s, 1H), 7.82 (d, J=9.0 Гц, 1H), 7.53 (d, J=9.5 Гц, 1H), 6.83 (d, J=8.5 Гц, 2H), 6.44 (d, J=8.5 Гц, 2H), 5.78 (d, J=12 Гц, 1H), 4.76 (t, J=9.6 Гц, 1H), 4.26-4.12 (m, 1H), 4.10-4.03 (m, 3H), 2.83-2.80 (m, 2H), 2.70-2.65 (m, 1H), 2.60-2.56 (m, 1H), 2.47-2.46 (m, 1H), 2.39-2.28 (m, 4H), 2.12 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.03-1.91 (m, 2H), 1.84-1.78 (m, 4H), 1.62-1.35 (m, 8H), 1.18-1.07 (m, 2H), 1.04 (d, J=10.5 Гц, 3H), 0.97 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.89-0.81 (m, 9H) ppm. Анал. ВЭЖХ: >99%, R_t: 6.84 мин (способ А).

(Vi)

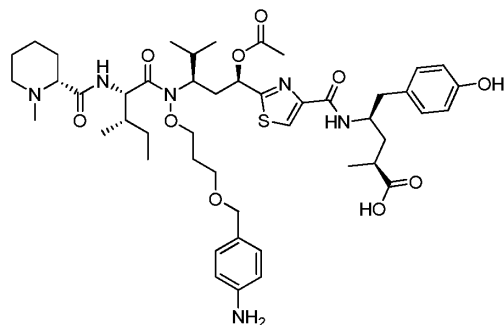


(2S,4R)-5-(4-гидроксифенил)-4-(2-((8R,10R)-8-изопропил-7-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-1-(4-нитрофенил)-12-оксо-2,6,11-триокса-7-азатридекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метилпентановая кислота (Vi)

В соответствии с общей процедурой для VI получили Vi (30 мг, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 939.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 12.08 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.17 (d, J=8.5 Гц, 2H), 7.86 (d, J=8.5 Гц, 1H), 7.56 (d, J=8.5 Гц, 2H), 7.51 (d, J=10.0 Гц, 1H), 6.96 (d, J=8.5 Гц, 2H), 6.62 (d, J=8.5 Гц, 2H), 5.77 (d, J=12.5 Гц, 1H), 5.77 (t, J=8.5 Гц, 1H), 4.59 (s, 2H), 4.31-4.27 (m, 1H), 4.15-4.04 (m, 3H), 3.68-3.58 (m, 2H), 2.85-2.82 (m, 1H), 2.75-2.70 (m, 1H), 2.67-2.62 (m, 1H), 2.42-2.28 (m, 4H), 2.10 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 1.98-1.91 (m, 4H), 1.85-1.74 (m, 2H), 1.63-1.32 (m, 7H), 1.20-1.11 (m, 1H), 1.05-0.99 (m, 4H), 0.93 (d, J=6.0 Гц, 3H), 0.84 (d, J=7.0 Гц, 6H), 0.79 (t, J=7.5 Гц, 3H) ppm.

(Vj)

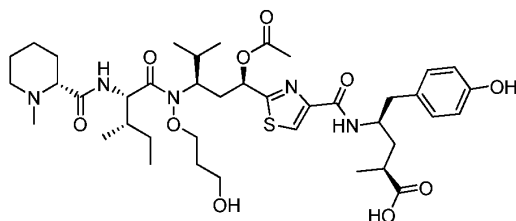


(2S,4R)-4-(2-((8R,10R)-1-(4-аминофенил)-8-изопропил-7-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-12-оксо-2,6,11-триокса-7-азатридекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-гидроксифенил)-2-метилпентановая кислота (Vj)

К раствору соединения Vi (4.0 мг, 4.2 мкмоль) в этаноле (2.0 мл) добавили палладиевую чернь (5% Pd, 0.6 мг) и смесь дегазировали и обратно наполняли водородом 3 раза. Полученную смесь перемешивали в атмосфере водорода при КТ в течение 2 часов до полного восстановления нитро группы под контролем ЖХМС. Смесь отфильтровали через целит и целит промыли этанолом (3 раза). Объединенный фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (система бикарбоната аммония) и получили соединение Vj (2.0 мг, выход 53%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 909 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.16 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.84 (d, J=9.2 Гц, 1H), 7.48 (d, J=9.6 Гц, 1H), 6.96 (d, J=8.4 Гц, 2H), 6.90 (d, J=8.0 Гц, 2H), 6.62 (d, J=8.4 Гц, 2H), 6.46 (d, J=8.4 Гц, 2H), 5.76 (d, J=9.6 Гц, 1H), 4.75 (t, J=8.4 Гц, 1H), 4.23-4.16 (m, 3H), 4.11 (br s, 1H), 4.04-3.98 (m, 2H), 3.50-3.43 (m, 2H), 2.84-2.81 (m, 1H), 2.75-2.60 (m, 2H), 2.37-2.30 (m, 3H), 2.09-2.07 (m, 9H), 1.97-1.74 (m, 6H), 1.63-1.60 (m, 2H), 1.51-1.33 (m, 5H), 1.23-1.05 (m, 2H), 1.02 (d, J=7.6 Гц, 3H), 0.93 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.87-0.80 (m, 9H) ppm. Хиральная СФХ > 99% (AD-H, AS-H, OJ-H и OD-H), R_t: 1.61 мин (AD-H), 2.71 мин (AS-H), 4.32 мин (OD-H) и 1.97 мин (OJ-H).

(Vk)



(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(3-гидроксипропокси)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-гидроксифенил)-2-метилпентановая кислота (Vk)

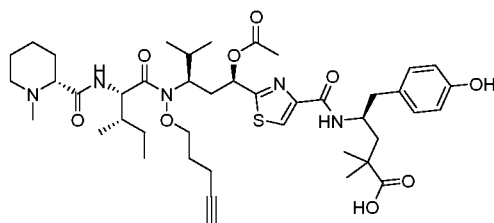
К раствору соединения Vi (17 мг, 18 мкмоль) в метаноле (4.0 мл) добавили палладиевую чернь (5% Pd, 1.7 мг) и смесь дегазировали и обратно наполняли водородом 3 раза. Полученную смесь перемешивали в атмосфере водорода при КТ на протяжении ночи и затем при 50°C еще на протяжении 6 ч. ЖХМС показала, что не осталось ни Vi, ни Vj. Смесь отфильтровали через целит и целит промыли этанолом (3 раза). Объединенный фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (система бикарбоната аммония) и получили соединение Vk (6.0 мг, выход 41%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 804.2 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.16 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.95 (br s, 1H), 7.51 (d, J=10.0 Гц, 1H), 6.98 (d, J=8.5 Гц, 2H), 6.63 (d, J=8.5 Гц, 2H), 6.80 (d, J=11.5 Гц, 1H), 4.79 (t, J=8.5 Гц, 1H), 4.26-4.22 (m, 1H), 4.14-4.06 (m, 3H), 3.58-3.56 (m, 2H), 2.85-2.82 (m, 1H), 2.77-2.72 (m, 1H), 2.67-2.63 (m, 1H), 2.48-2.46 (m, 1H), 2.40-2.30 (m, 2H), 2.13 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.04-1.91 (m, 2H), 1.85-1.79 (m, 4H), 1.64-1.62 (m, 2H), 1.55-1.32 (m, 6H), 1.20-1.09 (m, 2H), 1.05 (d, J=7.0 Гц, 3H), 0.96 (d, J=7.0 Гц, 3H), 0.89-0.82 (m, 10H) ppm.

Синтез О-тубулизина (фиг. 5А).

Общая процедура для IX и X.

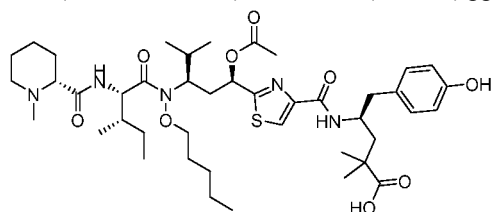
К раствору соединения А-1 (1.0 эквив.) в DCM (50 мМ) добавили соединение А-2 (1.5 эквив.) и DI-PEA (4.0 эквив.) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 4 ч под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-30% ацетонитрил в вод. TFA (0.01%)) и получили IX или X (выход 7-57%) в виде грязно-белого твердого вещества.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-гидроксифенил)-2,2-диметилпентановая кислота (IX)

В соответствии с общей процедурой для IX и X из соединения A-1b, на которое воздействовали соединением A-2e, получили нагрузку IX (15 мг, выход 12%) в виде белого твердого вещества. ESI m/z 826.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.16 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.65 (d, J=8.4 Гц, 1H), 7.59 (d, J=9.6 Гц, 1H), 6.95 (d, J=8.4 Гц, 2H), 6.62 (d, J=8.4 Гц, 2H), 5.82 (d, J=10.0 Гц, 1H), 4.76 (t, J=8.4 Гц, 1H), 4.23-4.20 (m, 2H), 4.09-4.01 (m, 2H), 2.90-2.80 (m, 2H), 2.73-2.68 (m, 1H), 2.63-2.58 (m, 1H), 2.39-2.31 (m, 3H), 2.14-2.06 (m, 6H), 2.01-1.87 (m, 3H), 1.84-1.80 (m, 3H), 1.66-1.61 (m, 3H), 1.56-1.53 (m, 1H), 1.46-1.36 (m, 3H), 1.22-1.11 (m, 2H), 1.05-1.03 (m, 7H), 0.96 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.88-0.81 (m, 10H) ppm.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-гидроксифенил)-2,2-диметилпентановая кислота (X)

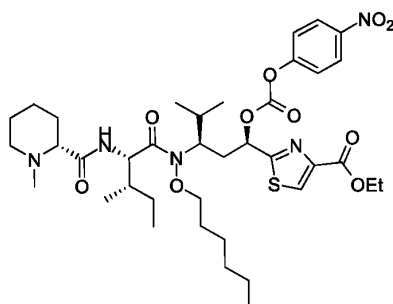
В соответствии с общей процедурой для IX и X из соединения A-1c, на которое воздействовали соединением A-2e, получили нагрузку X (20 мг, выход 57%) в виде грязно-белого твердого вещества. ESI m/z 830.1 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.15 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.67 (br s, 1H), 7.47 (d, J=10.0 Гц, 1H), 6.94 (d, J=8.4 Гц, 2H), 6.61 (d, J=8.4 Гц, 2H), 5.80 (d, J=9.6 Гц, 1H), 4.79 (t, J=9.2 Гц, 1H), 4.19-4.04 (m, 3H), 3.95-3.93 (m, 1H), 2.85-2.81 (m, 1H), 2.71-2.62 (m, 2H), 2.43-2.30 (m, 3H), 2.11 (d, J=9.6 Гц, 6H), 2.10-1.76 (m, 4H), 1.66-1.10 (m, 15H), 1.04 (d, J=6.0 Гц, 6H), 0.96 (d, J=6.8 Гц, 3H), 0.88-0.81 (m, 12H) ppm.

Синтез карбонатов O-тубулизина (VI).

Общая процедура для соединения 33A, F, H (фиг. 7A).

К смеси соединения 27a,c,f (1.0 эквив.) и бис(4-нитрофенил)карбоната (NPC) (5.0 эквив.) в сухом DMF (10 мл на грамм 27) добавили DIPEA (3 эквив.) и смесь перемешивали при КТ в течение 16 ч до полного разрушения соединения 27a,c,f под контролем ЖХМС. Полученную смесь вылили в нас. вод. бикарбонат натрия и водный раствор экстрагировали этилацетатом (4 раза). Объединенный органический раствор промыли рассолом, высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и сконцентрировали до сухого состояния и получили сырое соединение 33A,F,H в виде желтого масла, которое использовали на следующем этапе без очистки.



Этил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N-(гексилокси)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-((4-нитрофенокси)карбонилокси)пентил)тиазол-4-карбоксилат (33A)

К смеси соединения 27a (0.10 г, 0.16 ммоль) и бис(4-нитрофенил)карбоната (NPC) (0.25 г, 0.82 ммоль) в сухом DMF (1 мл) добавили DIPEA (63 мг, 0.49 ммоль) и смесь перемешивали при КТ в течение 16 ч до полного разрушения соединения 27a согласно ЖХМС. Полученную смесь вылили в нас. вод. бикарбонат натрия (10.0 мл) и водный раствор экстрагировали этилацетатом (4 раза). Объединенный орга-

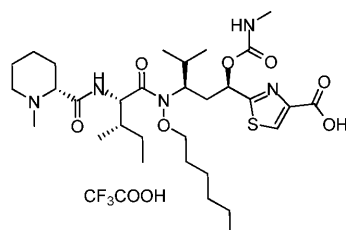
нический раствор промыли рассолом, высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и сконцентрировали до сухого состояния и получили сырое соединение 33A (430 мг) в виде желтого масла, которое использовали на следующем этапе без очистки. ESI м/з: 775.8 (M+ H)⁺.

Общая процедура для соединения 34a-e, F, H (фиг. 7A)

На раствор сырого соединения 33A,F,H, полученного описанным выше способом (1.0 эквив. по результатам расчетов для соединения 27a,c,f), в DCM (5.0 мл) действовали R²NH₂ (2 М раствор в THF, 4.0 эквив.) шприцем. Полученный раствор перемешивали при КТ в течение 16 ч. Затем реакционную смесь разбавили DCM (5.0 мл) и промыли нас. вод. бикарбонатом натрия (10 мл). Водный раствор экстрагировали DCM (дважды). Объединенный органический раствор высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и сконцентрировали *in vacuo* и получили сырой карбамат, который растворили в воде и THF. К раствору добавили гидрат гидроксида лития (7-8 эквив.). Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Летучие соединения удалили *in vacuo* и оставшуюся водную смесь окислили вод. раствором лимонной кислоты (1 М) до pH 6.0. Смесь экстрагировали DCM (3 раза). Объединенные органические слои сконцентрировали и остаток очистили посредством ОФ хроматографии (0-80% ацетонитрил в воде (с или без 0.01% TFA)) и получили соединение 34a-e, F, H в виде белого твердого вещества.

Общая процедура для нагрузок VIa-f, h (фиг. 7A).

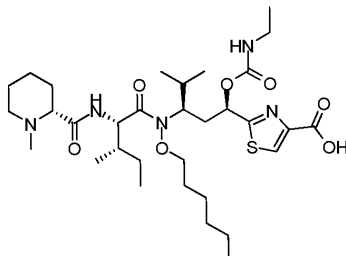
К смеси соединения 34 (1.0 эквив.) и PFP (1.5 эквив.) в сухом DCM (10-15 мг/мл) добавили раствор DIC (1.1 эквив.) в DCM (5-10 мг/мл) по каплям при 0°C шприцем. Полученному раствору дали нагреться до КТ и его перемешивали в течение 16 ч под контролем ЖХМС. Летучие соединения удалили *in vacuo* и остаток суспендировали в этилацетате. Твердые частицы отфильтровали и фильтрат сконцентрировали. Остаток растворили в сухом DMF (15-20 мг/мл) и к раствору добавили DIPEA (3.0 эквив.) и промежуточное соединение Ie или Ic (1.0 эквив.) последовательно. Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи под контролем ЖХМС. Реакционную смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (система бикарбоната аммония) и получили VIa-e или Fmoc-VI,f,h в виде белого твердого вещества. Соединение Fmoc-VI,f,h (1 эквив.) растворили в DMF (0.15 мл на мг Fmoc-VI,f,h). К раствору добавили пиперидин (V_{pip}/V_{DMF} = 1/20, избыток) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение часа до полного удаления Fmoc под контролем ЖХМС. Реакционную смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ B) и получили VI,f,h в виде белого твердого вещества.



2-((5R,7R)-7-изопропил-8-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-3-оксо-4,9-диокса-2,8-диазапентадекан-5-ил)тиазол-4-карбоновая кислота, соль трифторуксусной кислоты (34a)

В соответствии с общей процедурой для 34a-e, F, H получили соединение 34a (43 мг, выход 40% из 27a) в виде соли трифторуксусной кислоты. ESI м/з: 640.0 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.70 (br s, 1H), 8.98-8.96 (m, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.46 (d, J=4.8 Гц, 1H), 5.62 (d, J=7.6 Гц, 1H), 4.78-4.73 (m, 1H), 4.08-4.05 (m, 1H), 3.92-3.82 (m, 2H), 3.63-3.61 (m, 1H), 3.06-2.99 (m, 1H), 2.71 (s, 3H), 2.54-2.51 (m, 3H), 2.17-2.05 (m, 3H), 1.87-1.75 (m, 1H), 1.67-1.66 (m, 2H), 1.58-1.54 (m, 4H), 1.46-1.36 (m, 4H), 1.28-1.27 (m, 4H), 1.16-1.12 (m, 1H), 0.96-0.82 (m, 17H) ppm.

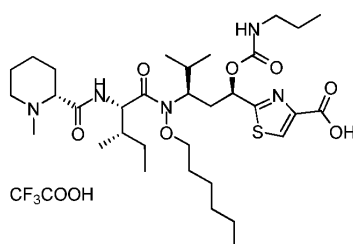


2-((6R,8R)-8-изопропил-9-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-4-оксо-5,10-диокса-3,9-диазагексадекан-6-ил)тиазол-4-карбоновая кислота (34b)

В соответствии с общей процедурой для 34a-e, F, H получили соединение 34b (10 мг, выход 10% из 27a) в виде соли трифторуксусной кислоты. ESI м/з: 654.3 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.31 (s, 1H), 7.59 (br s, 1H), 7.51-7.48 (m, 1H), 5.60 (d, J=7.0 Гц, 1H), 4.79-4.76 (m, 1H), 4.10-4.06 (m, 1H), 3.95-3.90 (m, 1H), 3.84-3.83 (m, 1H), 3.00-2.94 (m, 2H), 2.89-2.86 (m, 1H), 2.18-2.16 (m, 4H), 2.05-2.03 (m, 2H), 1.82-1.80 (m, 1H), 1.69-1.54 (m, 6H), 1.47-1.37 (m, 6H), 1.29-1.27

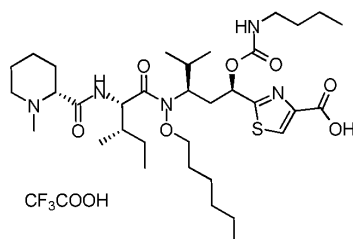
(m, 5H), 1.19-1.16 (m, 1H), 1.10-1.06 (m, 1H), 0.99 (t, J=7.5 Гц, 3H), 0.94 (d, J=6.0 Гц, 3H), 0.91-0.84 (m, 12H) ppm.



2-((7R,9R)-9-изопропил-10-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-5-оксо-6,11-диокса-4,10-дизагептадекан-7-ил)тиазол-4-карбоновая кислота, соль трифторуксусной кислоты (34c)

В соответствии с общей процедурой для 34a-e, F, H получили соединение 34c (45 мг, выход 36% из 27a) в виде соли трифторуксусной кислоты. ESI м/з: 667.9 (M + H)⁺.

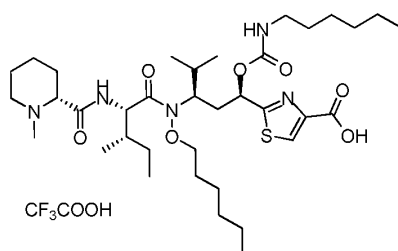
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 13.17 (br s, 1H), 9.67 (br s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.59 (t, J=5.6 Гц, 1H), 5.62 (d, J=11.8 Гц, 1H), 4.77 (t, J=8.6 Гц, 1H), 4.16-4.01 (m, 1H), 3.94-3.87 (m, 1H), 3.83 (br s, 1H), 3.63 (br s, 1H), 3.11-2.95 (m, 1H), 2.89 (q, J=6.8 Гц, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.62-2.53 (m, 1H), 2.26-1.96 (m, 3H), 1.93-1.82 (m, 1H), 1.82-1.52 (m, 6H), 1.51-1.33 (m, 6H), 1.33-1.21 (m, 4H), 1.20-1.08 (m, 1H), 1.00-0.88 (m, 9H), 0.88-0.75 (m, 9H) ppm.



2-((8R,10R)-10-изопропил-11-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-6-оксо-7,12-диокса-5,11-дизаоктадекан-8-ил)тиазол-4-карбоновая кислота, соль трифторуксусной кислоты (34d)

В соответствии с общей процедурой для 34a-e, F, H получили соединение 34d (50 мг, выход 44% из 27a) в виде соли трифторуксусной кислоты. ESI м/з: 682.0 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 13.16 (br s, 1H), 9.69 (s, 1H), 9.01 (d, J=9.1 Гц, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.57 (t, J=5.6 Гц, 1H), 5.62 (d, J=11.9 Гц, 1H), 4.76 (t, J=8.7 Гц, 1H), 4.11-4.02 (m, 1H), 3.94-3.80 (m, 2H), 3.62 (s, 1H), 3.34 (d, J=12.1 Гц, 1H), 3.09-3.00 (m, 1H), 2.97-2.88 (m, 2H), 2.74-2.67 (m, 3H), 2.62-2.54 (m, 1H), 2.18-2.04 (m, 3H), 1.92-1.83 (m, 1H), 1.83-1.54 (m, 6H), 1.49-1.20 (m, 12H), 1.20-1.10 (m, 1H), 0.98-0.88 (m, 9H), 0.88-0.80 (m, 9H) ppm.



2-((9R,11R)-9-изопропил-8-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-13-оксо-7,12-диокса-8,14-дизаикосан-11-ил)тиазол-4-карбоновая кислота, соль трифторуксусной кислоты (34e)

В соответствии с общей процедурой для 34a-e, F, H получили соединение 34e (40 мг, выход 46% из 27a) в виде соли трифторуксусной кислоты. ESI м/з: 709.9 (M + H)⁺.

(VIa)

(2S,4R)-5-(4-гидроксибензил)-4-(2-((5R,7R)-7-изопропил-8-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-3-оксо-4,9-диокса-2,8-дизапентадекан-5-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метилпентановая кислота (VIa)

В соответствии с общей процедурой для VIa-f, h получили VIa (16 мг, выход 36%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 845.0 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.70 (s, 1H), 9.22 (br s, 1H), 8.96 (d, J=8.5 Гц, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.82 (d, J=8.5 Гц, 1H), 7.44 (d, J=4.5 Гц, 1H), 6.98 (d, J=8.0 Гц, 2H), 6.63 (d, J=8.0 Гц, 2H), 5.65 (d, J=11.5 Гц, 1H), 4.80-4.76 (m, 1H), 4.13-4.11 (m, 2H), 3.98-3.96 (m, 1H), 3.85-3.81 (m, 2H), 3.32 (d, J=11.0 Гц, 1H), 3.08-3.01 (m, 1H), 2.74-2.66 (m, 5H), 2.55-2.53 (d, J=8.5 Гц, 3H), 2.42-2.38 (m, 1H), 2.25-2.20 (m, 1H), 2.09-2.07 (m,

2H), 1.88-1.82 (m, 4H), 1.78-1.66 (m, 4H), 1.62-1.23 (m, 10H), 1.16-1.11 (m, 1H), 1.07 (d, J=7.0 Гц, 3H), 0.98 (d, J=7.0 Гц, 3H), 0.92-0.90 (m, 6H), 0.86-0.83 (m, 6H) ppm. Хиральная СФХ: > 99% (AD-H и AS-H).

(VIb)

(2S,4R)-5-(4-гидроксифенил)-4-(2-((6R,8R)-8-изопропил-9-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-4-оксо-5,10-диокса-3,9-диазагексадекан-6-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метилпентановая кислота (VIb)

В соответствии с общей процедурой для VIa-f, h получили VIb (2.0 мг, выход 15%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 859.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.17 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.76 (br s, 1H), 7.49 (t, J=5.5 Гц, 1H), 7.44 (d, J=9.5 Гц, 1H), 6.97 (d, J=8.5 Гц, 2H), 6.64 (d, J=8.5 Гц, 2H), 5.65 (d, J=11.0 Гц, 1H), 4.81-4.77 (m, 1H), 4.16-4.11 (m, 2H), 3.97-3.94 (m, 2H), 3.02-2.96 (m, 1H), 2.85-2.82 (m, 1H), 2.75-2.64 (m, 4H), 2.37-2.36 (m, 1H), 2.25-2.19 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.04-1.92 (m, 3H), 1.87-1.81 (m, 2H), 1.65-1.48 (m, 7H), 1.41-1.35 (m, 4H), 1.28-1.25 (m, 5H), 1.18-1.15 (m, 2H), 1.05 (d, J=7.0 Гц, 3H), 1.02-0.97 (m, 6H), 0.89 (d, J=7.0 Гц, 6H), 0.86-0.82 (m, 6H) ppm.

(VIc)

(2S,4R)-5-(4-гидроксифенил)-4-(2-((7R,9R)-9-изопропил-10-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-5-оксо-6,11-диокса-4,10-диазагептадекан-7-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метилпентановая кислота (VIc)

В соответствии с общей процедурой для VIa-f, h получили VIc (20 мг, выход 40%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 873.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.16(s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.70 (d, J=8.8 Гц, 1H), 7.51 (t, J=5.6 Гц, 1H), 7.45 (d, J=9.4 Гц, 1H), 6.97 (d, J=8.3 Гц, 2H), 6.63 (d, J=8.3 Гц, 2H), 5.65 (d, J=10.8 Гц, 1H), 4.79 (d, J=8.0 Гц, 1H), 4.20-4.07 (m, 2H), 4.07-3.90 (m, 2H), 2.91 (q, J=6.5 Гц, 2H), 2.87-2.79 (m, 1H), 2.76-2.61 (m, 2H), 2.47-2.34 (m, 3H), 2.27-2.17 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.07-1.90 (m, 2H), 1.88-1.76 (m, 2H), 1.67-1.56 (m, 4H), 1.56-1.44 (m, 3H), 1.44-1.31 (m, 6H), 1.29-1.22 (m, 4H), 1.21-1.08 (m, 2H), 1.05 (d, J=7.1 Гц, 3H), 0.97 (d, J=6.6 Гц, 3H), 0.91-0.78 (m, 16H) ppm. Хиральная СФХ: > 99% (AD-H и AS-H).

(VI d)

(2S,4R)-5-(4-гидроксифенил)-4-(2-((8R,10R)-10-изопропил-11-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-6-оксо-7,12-диокса-5,11-диазаоктадекан-8-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метилпентановая кислота (VI d)

В соответствии с общей процедурой для VIa-f, h получили VI d (33 мг, выход 50%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 887.3 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.16 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.70 (d, J=8.6 Гц, 1H), 7.49 (t, J=5.7 Гц, 1H), 7.45 (d, J=9.6 Гц, 1H), 6.97 (d, J=8.3 Гц, 2H), 6.63 (d, J=8.3 Гц, 2H), 5.65 (d, J=9.6 Гц, 1H), 4.93-4.62 (m, 1H), 4.20-4.05 (m, 2H), 4.05-3.86 (m, 2H), 2.95 (q, J=6.5 Гц, 2H), 2.87-2.78 (m, 1H), 2.78-2.60 (m, 2H), 2.48-2.34 (m, 3H), 2.21 (t, J=11.5 Гц, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.07-1.90 (m, 2H), 1.89-1.75 (m, 2H), 1.68-1.56 (m, 4H), 1.56-1.44 (m, 3H), 1.42-1.31 (m, 6H), 1.31-1.21 (m, 6H), 1.21-1.07 (m, 2H), 1.05 (d, J=7.1 Гц, 3H), 0.97 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.93-0.72 (m, 16H) ppm. Хиральная СФХ: > 96% (AD-H и AS-H).

(VIe)

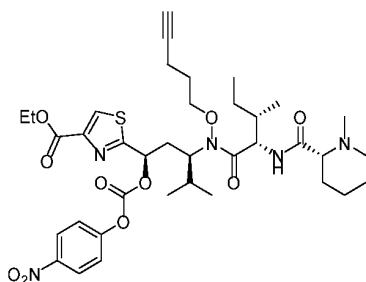
(2S,4R)-5-(4-гидроксифенил)-4-(2-((9R,11R)-9-изопропил-8-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-13-оксо-7,12-диокса-8,14-диазаикосан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метилпентановая кислота (VIe)

В соответствии с общей процедурой для VIa-f, h получили VIe (21 мг, выход 40%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 915.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.17 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.71 (d, J=9.0 Гц, 1H), 7.58-7.35 (m, 2H), 6.97 (d, J=8.3 Гц, 2H), 6.63 (d, J=8.3 Гц, 2H), 5.65 (d, J=10.0 Гц, 1H), 4.78 (d, J=8.4 Гц, 1H), 4.21-4.04 (m, 2H), 4.04-3.86 (m, 2H), 3.01-2.89 (m, 2H), 2.89-2.77 (m, 1H), 2.77-2.59 (m, 2H), 2.48-2.31 (m, 3H), 2.30-2.16 (m, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.07-1.90 (m, 2H), 1.90-1.74 (m, 2H), 1.66-1.55 (m, 4H), 1.54-1.44 (m, 3H), 1.43-1.31 (m, 6H), 1.29-1.16 (m, 12H), 1.05 (d, J=7.0 Гц, 3H), 0.96 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.92-0.77 (m, 16H) ppm.

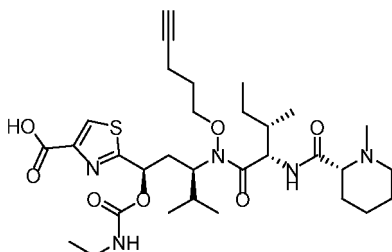
(VI f)

Этил 2-[(1R,3R)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[[2(R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]-1-[(4-нитрофеноксикарбонил)окси]пентил]-1,3-тиазол-4-карбоксилат (33F) (фиг. 7B)



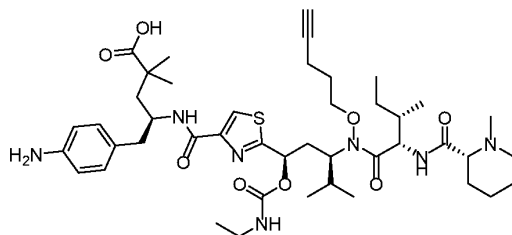
В соответствии с процедурой для 33A, за исключением замены 27a на 27c, получили соединение 33F (120 мг, сырое) которое использовали на следующем этапе без дальнейшей очистки. ESI м/з: 758.3 (M + H)⁺.

2-[(1R,3R)-1-[(этилкарбамоил)окси]-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-карбоновая кислота (34F) (фиг. 7B)



В соответствии с процедурой для 34b, за исключением замены 33A на 33F, получили соединение 34F (25 мг, выход за 3 этапа 52%) в виде бесцветного масла после очистки посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (45-55% ацетонитрил в вод. TFA (0.01%)). ESI м/з: 636.2 (M + H)⁺.

(4S)-5-(4-аминофенил)-4-({2-[(1R,3R)-1-[(этилкарбамоил)окси]-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-2,2-диметилпентановая кислота (VIg) (фиг. 7B)

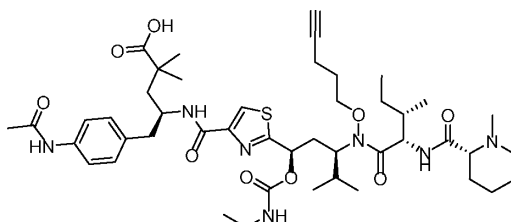


В соответствии с общей процедурой для VI, за исключением замены 34 на 34F и Ic на Ie, получили Fmoc-VIg (15 мг) в виде светло-коричневого твердого вещества. ESI м/з: 1076.3 (M + H)⁺. Соединение Fmoc-VIg (15 мг) растворили в DMF (2.0 мл). К раствору добавили пиперидин (0.10 мл) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение одного часа до полного удаления Fmoc под контролем ВЭЖХ. Реакционную смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ B) и получили VIg (8 мг, выход за 3 этапа 27%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 854.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (метанол-d₄, 500 МГц) δ 8.07 (s, 1H), 6.99 (d, J=8.4 Гц, 2H), 6.66 (d, J=8.4 Гц, 2H), 5.78 (dd, J=11.2, 1.2 Гц, 1H), 4.90-4.88 (m, 1H), 4.38-4.27 (m, 2H), 4.20-4.15 (m, 1H), 4.00-3.91 (m, 1H), 3.16-3.09 (m, 3H), 3.04-3.01 (m, 1H), 2.94-2.91 (m, 1H), 2.85-2.66 (m, 3H), 2.49-2.12 (m, 9H), 2.06-1.55 (m, 12H), 1.43-1.31 (m, 1H), 1.24-1.00 (m, 17H), 0.94 (t, J=7.2 Гц, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: > 99%, время удерживания: 7.85 мин (способ B).

(VIg)

(4S)-5-(4-ацетиламинофенил)-4-({2-[(1R,3R)-1-[(этилкарбамоил)окси]-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-2,2-диметилпентановая кислота (VIg) (фиг. 7B)

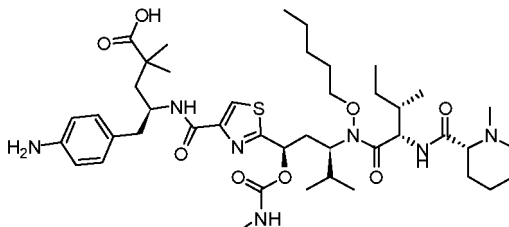


Соединение VIg (1.0 мг, 1.2 мкмоль) растворили в DCM (1.0 мл) и раствор охладили до 0°C в ледя-

ной ванне. К раствору добавили раствор As_2O (0.24 мг, 2.4 мкмоль) в DCM (50 мкл) и раствор DIPEA (0.30 мг, 2.4 мкмоль) в DCM (50 мкл). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч. ЖХМС показала полное разрушение исходных материалов, и был обнаружен желаемый продукт. Летучие соединения удалили *in vacuo* и сырой продукт очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В) и получили VIg (0.3 мг, выход 28%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 896.5 ($\text{M} + \text{H}$)⁺. Анал. ВЭЖХ: 100%, время удерживания: 7.49 мин (способ В).

(VIh)

(S)-5-(4-аминофенил)-4-(2-((5R,7R)-7-изопропил-8-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентаноил)-3-оксо-4,9-диокса-2,8-диазатетрадекан-5-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2,2-диметилпентановая кислота (VIh) (фиг. 7B)



В соответствии с процедурой преобразования из 27с в соединение VIh, за исключением замены 27с на 27f, получили соединение VIh (2 мг, 4.5% из 27f) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 844.2 ($\text{M} + \text{H}$)⁺.

¹H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц) δ 8.10 (d, J=21.6 Гц, 1H), 7.45 (dd, J=30.2, 7.1 Гц, 2H), 6.81 (d, J=8.2 Гц, 2H), 6.44 (d, J=8.3 Гц, 2H), 5.79-5.56 (m, 1H), 4.94-4.63 (m, 3H), 4.14 (s, 2H), 3.95 (d, J=7.1 Гц, 1H), 2.85 (d, J=11.4 Гц, 2H), 2.70-2.60 (m, 2H), 2.56 (d, J=4.6 Гц, 2H), 2.45-2.41 (m, 1H), 2.20 (d, J=11.4 Гц, 1H), 2.09 (d, J=12.0 Гц, 3H), 2.05-1.90 (m, 3H), 1.81 (s, 3H), 1.61 (s, 6H), 1.50 (d, J=20.7 Гц, 2H), 1.35 (d, J=4.8 Гц, 6H), 1.14 (d, J=28.2 Гц, 2H), 1.08 (d, J=9.2 Гц, 1H), 1.03 (d, J=7.9 Гц, 6H), 0.96 (d, J=6.6 Гц, 2H), 0.90-0.79 (m, 12H) ppm.

Примеры схем приготовления E, H, J, K, M и N.

Схема E (102 и 102a).

К раствору Fmoc-vc-PAВ-X (X = Br, Cl или -OTf) в DMF добавляют пиперидин и раствор перемешивают при КТ до полного разрушения Fmoc-vc-PAВ-X согласно ЖХМС. Выход улучшается в присутствии каталитического NaI. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырое соединение vc-PAВ-X растворяют в DMF и добавляют 6-малеимидокапроновую кислоту (избыток), NATU и DIPEA. Реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения vc-PAВ-X согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 102. При соблюдении такой же процедуры, за исключением замены 6-малеимидокапроновой кислоты (избыток) на L-3 (избыток), получают 102a. В качестве варианта, сырое соединение vc-PAВ-X растворяют в DMF и добавляют L-4 (избыток) и DIPEA. Реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения vc-PAВ-X согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 102a.

Схема E (104 и 104a).

К раствору 100 в DMF добавляют 102 или 102a (избыток). Отдельные реакционные смеси перемешивают при КТ до полного разрушения 100 согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями отдельные сырые материалы очищают посредством ВЭЖХ и получают 104 или 104a, соответственно. В качестве варианта, известное соединение 102aa растворяют в THF (или другом полярном апротонном растворителе) и восстанавливают при помощи DIBAL и получают 102b после разрушения 102aa под контролем ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями и условиями выделения 102b растворяют в DMF (или другом полярном апротонном растворителе) и связывают с 102с в присутствии RuVoc и DIPEA при комнатной температуре и получают 102dd, также после стандартных экспериментальных условий и условий выделения (примечание: известное соединение 102d имеет равноценные свойства на следующих этапах). Fmoc-vc-PAВ-X (X = Br, Cl или -OTf) растворяют в DMF (или другом полярном апротонном растворителе) и подвергают воздействию 102d или 102dd в присутствии кат. NaI, DMAP и пиридина и получают сырое соединение 102f. В результате последующего воздействия пиперидином в DMF (или другом полярном апротонном растворителе) получают 102f, после применения стандартных экспериментальных условий и условий выделения. 102f растворяют в DMF (или другом полярном апротонном растворителе) и подвергают воздействию L-4 и DIPEA и получают 102h, при применении стандартных экспериментальных условий и условий выделения. Возможны дальнейшие манипуляции с 102h согласно описаниям на фиг. 4 и 5 (сравн. фиг. 4, связывание 24a-e с 25) по направлению к получению 104a (сравн. фиг. 5, например, A = Q).

Схема H (108 и 108a).

К раствору Fmoc-vc-PAВ-Br в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе)

добавляют NaN_3 и раствор перемешивают при КТ до полного разрушения Fmoc-vc-PAB-Vg согласно ЖХМС. Затем добавляют пиперидин и смесь перемешивают до завершения удаления Fmoc защитной группы согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырое соединение vc-PAB- N_3 растворяют в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) и добавляют 6-малеимидокапроновую кислоту (избыток), NATU и DIPEA. Реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения vc-PAB-Vg согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 108. При соблюдении такой же процедуры, за исключением замены 6-малеимидокапроновой кислоты (избыток) на L-3 (избыток), получают 108a. В качестве варианта сырое соединение VC-PAB- N_3 растворяют в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) и добавляют L-4 (избыток) и DIPEA. Реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения VC-PAB- N_3 согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 108a.

Схема H (110 и 110a).

К раствору 108 или 108a (избыток) и аскорбату натрия в THF:воде (3:1) добавляют 106. Затем добавляют 1 каплю вод. сульфата меди. Отдельные смеси перемешивают при КТ до разрушения 106 согласно ЖХМС. В результате применения стандартных экспериментальных условий и очистки посредством ВЭЖХ получают 110 и 110a, соответственно.

Схема J (116, 116a, 116b и 116c).

К раствору 112, L-1 (избыток) и NOVt в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют DIPEA и реакционную смесь перемешивают до разрушения 112 согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 116. В качестве варианта к раствору 112, L-2 (избыток) и NOVt в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют DIPEA и реакционную смесь перемешивают до разрушения 112 согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 116a. К раствору 116a в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют пиперидин и реакцию контролируют посредством ЖХМС до завершения удаления Fmoc защитной группы. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 116b. К раствору 116b в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют L-3 (избыток), NATU и DIPEA. Реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения 116b согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 116c. Или к раствору 116b в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют L-4 (избыток) и DIPEA и реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения 116b согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 116c.

Схема K (120 и 120a).

К раствору Fmoc-vc-PAB-OH в DCM (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют TBSCl и NEt_3 . Реакционную смесь перемешивают до разрушения Fmoc-vc-PAB-OH согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырое соединение Fmoc-vc-PAB-OTBS растворяют в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) и добавляют пиперидин. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырое соединение vc-PAB-OTBS растворяют в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) и добавляют 6-малеимидокапроновую кислоту (избыток), NATU и DIPEA. Реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения vc-PAB-OTBS согласно ЖХМС. Затем добавляют TBAF в избытке в THF и после полного удаления защитной группы согласно ЖХМС сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 120. При соблюдении такой же процедуры, за исключением замены 6-малеимидокапроновой кислоты (избыток) на L-3 (избыток), получают 120a. В качестве варианта сырое соединение vc-PAB-OTBS растворяют в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) и добавляют L-4 (избыток) и DIPEA. Реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения vc-PAB-OTBS согласно ЖХМС. Затем добавляют TBAF в избытке в THF и после полного удаления защитной группы согласно ЖХМС сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 120a.

Схема K (122 и 122a).

К раствору 118 и PFP в DCM (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют по каплям раствор DIC в DCM (или другом непротонированном органическом растворителе) при 0°C шприцем. Полученный раствор перемешивают до разрушения 118 согласно ЖХМС. Затем летучие соединения удаляют *in vacuo* и остаток растворяют в этилацетате. Твердые частицы отфильтровывают и фильтрат концентрируют и получают промежуточное соединение пентафторфениловый сложный эфир. Промежуточный сложный эфир растворяют в DMF и добавляют DIPEA, а затем 120 или 120a. Отдельные растворы перемешивают на протяжении ночи и очищают посредством ВЭЖХ и получают сложные эфиры 122 или 122a.

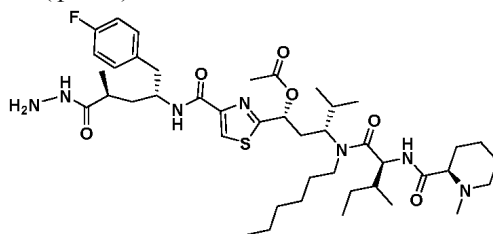
Схема M (128, 128a, 128b и 128c).

К раствору 124, L-1 (избыток) и HOBT в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют DIPEA и реакционную смесь перемешивают до разрушения 124 согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 128. В качестве варианта к раствору 124, L-2 (избыток) и HOBT в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют DIPEA и реакционную смесь перемешивают до разрушения 124 согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 128а. К раствору 128а в DMF добавляют пиперидин и реакцию контролируют посредством ЖХМС до завершения удаления Fmoc защитной группы. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 128b. К раствору 128b в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют L-3 (избыток), NATU и DIPEA. Реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения 128b согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 128с. Или к раствору 128b в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют L-4 (избыток) и DIPEA и реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения 128b согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 128с.

Схема N (134, 134а, 134b и 134с).

К раствору 130, L-1 (избыток) и HOBT в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют DIPEA и реакционную смесь перемешивают до разрушения 130 согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 134. В качестве варианта к раствору 130, L-2 (избыток) и HOBT в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют DIPEA и реакционную смесь перемешивают до разрушения 130 согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 134а. К раствору 134а в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют пиперидин и реакцию контролируют посредством ЖХМС до завершения удаления Fmoc защитной группы. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 134b. К раствору 134b в DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют L-3 (избыток), NATU и DIPEA. Реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения 134b согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 134с. Или к раствору 134b in DMF (или другом непротонированном органическом растворителе) добавляют L-4 (избыток) и DIPEA, и реакционную смесь перемешивают при КТ до полного разрушения 134b согласно ЖХМС. В соответствии со стандартными экспериментальными условиями сырой материал очищают посредством ВЭЖХ и получают 134с.

Синтез MC-линкер-нагрузок (фиг. 8)



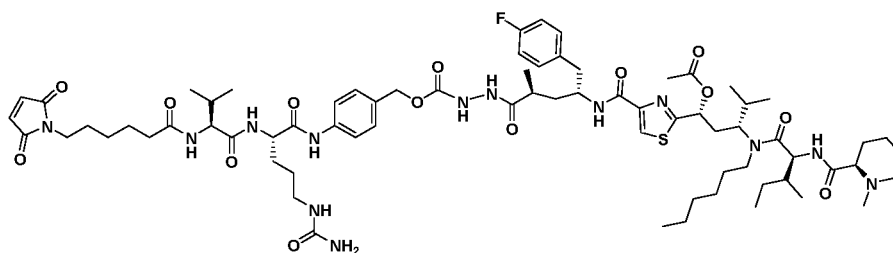
(1R,3R)-1-(4-((2R,4S)-1-(4-фторфенил)-5-гидразинил-4-метил-5-оксопентан-2-илкарбамоил)тиазол-2-ил)-3-((2S,3R)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил ацетат (IVa')

К раствору IVa (9 мг, 0.011 ммоль) в сухом этилацетате (1 мл) в атмосфере азота при -15°C добавили смесь диизопропилэтиламина (14 мг, 0.11 ммоль) и изобутилхлорформата (15 мг, 0.11 ммоль). После перемешивания раствора при -15°C еще на протяжении 2 ч в атмосфере азота к нему добавили NH₂NH₂·H₂O (8 мг, 0.17 ммоль) в DMF (0.5 мл). Реакционную смесь перемешивали при -15°C на протяжении ночи и затем нагрели до 20°C на протяжении 45 мин. Сырой продукт очистили посредством базовой преп-ВЭЖХ и получили IVa' (4 мг, выход 44%) в виде белого твердого вещества. ESI-MS (EГ⁺, м/з): 830 [M+H]⁺.

(1R,3R)-3-[(2S,3S)-N-(гексилокси)-3-метил-2-[[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо} пентанамидо]-1-(4-[[(2R,4S)-4-(гидразинкарбонил)-1-(4-гидроксифенил)-4-метилбутан-2-ил]карбамоил]-1,3-тиазол-2-ил)-4-метилпентил ацетат (Va')

Смесь соединения Va (50 мг, 60.2 мкмоль), NATU (34 мг, 90.3 мкмоль) и DIPEA (16 мг, 120.4 мкмоль) в сухом DMF (5.0 мл) перемешивали при КТ в течение 10 мин и к смеси затем добавили гидразингидрат (95%, 9 мг, 180.7 мкмоль). Полученный раствор перемешивали еще на протяжении 1 ч до завершения реакции согласно ЖХ-МС. Реакционную смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ B) и получили Va' (34 мг, выход 68%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 844.3 (M + H)⁺.

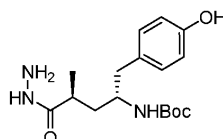
^1H ЯМР (500 МГц DMSO- d_6) δ 9.15 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.79 (d, $J=9.0$ Гц, 1H), 7.46 (d, $J=10.0$ Гц, 1H), 6.96 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 6.62 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 5.76 (d, $J=10.5$ Гц, 1H), 4.81-4.78 (m, 1H), 4.18-3.94 (m, 6H), 2.85-2.82 (m, 1H), 2.73-2.62 (m, 2H), 2.47-2.28 (m, 4H), 2.12 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.03-1.93 (m, 2H), 1.84-1.77 (m, 2H), 1.64-1.61 (m, 4H), 1.56-1.53 (m, 1H), 1.47-1.45 (m, 2H), 1.39-1.35 (m, 4H), 1.27-1.26 (m, 4H), 1.18-1.05 (m, 2H), 0.97 (d, $J=6.5$ Гц, 6H), 0.89-0.82 (m, 12H) ppm.



4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамидо)-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензил-((2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3R)-N-гексил-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-фторфенил)-2-метилпентаноил)гидразинкарбоксилат (LP1)

К раствору IVa' (3.0 мг, 0.036 ммоль), *ms-vc*-PAB-PNP (L-1) (8.1 мг, 0.108 ммоль) и HOBT (9 мг, 0.07 ммоль) в DMF (1 мл) добавили DIPEA (0.9 мг, 0.007 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в атмосфере N_2 на протяжении ночи. Сырой продукт очистили посредством кислой преп-ВЭЖХ и получили LP1 (3.4 мг, 66%) в виде белого твердого вещества. ESI-MS (ЕГ, м/з): 1428.7 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 715.0 [$\text{M}/2+\text{H}$] $^+$.

Синтез DIBAC-линкер-нагрузок (фиг. 9)

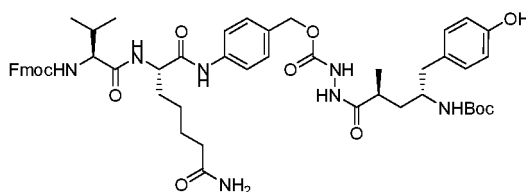


трет-Бутил (2R,4S)-5-гидразинил-1-(4-гидроксифенил)-4-метил-5-оксопентан-2-илкарбамат (35)

Раствор промежуточного соединения Ie (500 мг, 1.5 ммоль), HATU (706 мг, 1.9 ммоль) и DIPEA (399 мг, 3.1 ммоль) в сухом DMF (7.5 мл) перемешивали при КТ в течение 30 мин и затем добавили гидразингидрат (95%, 712 мг, 15.5 ммоль). Полученный раствор перемешивали на протяжении ночи до завершения реакции согласно ЖХМС.

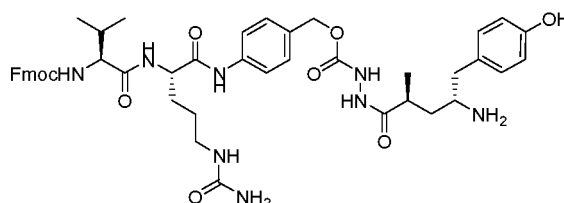
Реакционную смесь очистили посредством ОФ хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде с 10 mM NH_4HCO_3) и получили соединение 35 (450 мг, 72%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 338.0 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 9.10 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 6.91 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 6.64-6.60 (m, 3H), 4.11-4.07 (m, 2H), 3.40-3.37 (m, 1H), 2.49-2.46 (m, 2H), 2.29-2.25 (m, 1H), 1.68-1.62 (m, 1H), 1.34-1.21 (m, 10H), 0.96 (d, $J=6.5$ Гц, 3H) ppm.



4-((S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)-3-метилбутанамидо)-7-амино-7-оксогептанамидо)бензил 2-((2S,4R)-4-(трет-бутоксикарбониламино)-5-(4-гидроксифенил)-2-метилпентаноил)гидразинкарбоксилат (36)

На раствор соединения 35 (430 мг, 1275.9 мкмоль), DIPEA (317 мг, 2551.8 мкмоль) и HOBT (258 мг, 1913.9 мкмоль) в сухом DMF (7.0 мл) воздействовали Fmoc-*vc*-PAB-PNP (L-2) (1075 мг, 1403.5 мкмоль) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 3 ч до завершения реакции под контролем ЖХМС. Готовый раствор очистили посредством ОФ хроматографии (0-80% ацетонитрил в воде с 0.1% TFA) и получили соединение 36 (800 мг, выход 65%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 965.4 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$.



4-((S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)-3-метилбутанамидо)-5-

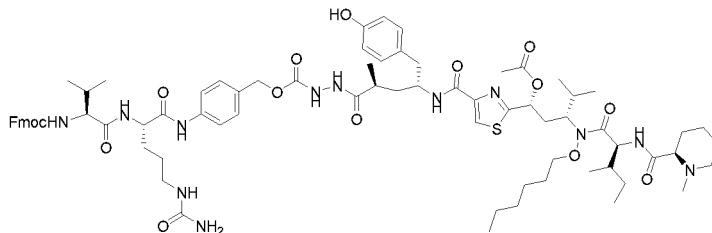
уреидопентанамидо)бензил

2-((2S,4R)-4-амино-5-(4-гидроксифенил)-2-

метилпентаноил)гидразинкарбоксилат (37)

Раствор соединения 36 (500 мг, 518.7 мкмоль) в DCM (9.5 мл) подвергли воздействию TFA (0.5 мл) и перемешивали при КТ в течение 1 ч до завершения реакции. Затем раствор охладил до 0°C и нейтрализовали N-метилморфолином (NMM) до достижения pH 7.0. Затем раствор сконцентрировали и остаток очистили посредством ОФ хроматографии (0-100% ацетонитрил в деионизированной воде) и получили соединение 37 (167 мг, выход 37%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 865.4 (M + H)⁺.

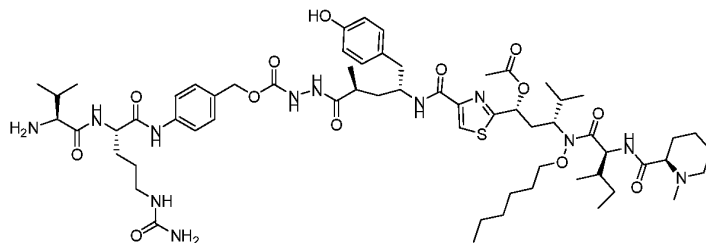
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10.09 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 9.24 (s, 1H), 8.13-8.10 (m, 1H), 7.90-7.86 (m, 2H), 7.75-7.71 (m, 2H), 7.68-7.67 (m, 2H), 7.61-7.58 (m, 2H), 7.44-7.38 (m, 3H), 7.33-7.29 (m, 4H), 7.04-7.69 (m, 2H), 6.71 (d, J=8.0 Гц, 2H), 5.99-5.96 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 4.41-4.37 (m, 1H), 4.31-4.19 (m, 3H), 3.94-3.90 (m, 1H), 3.29-3.28 (m, 1H), 3.04-2.90 (m, 2H), 2.71-2.66 (m, 2H), 2.00-1.95 (m, 1H), 1.78-1.33 (m, 6H), 1.00 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.88-0.83 (m, 6H) ppm. Хиральная СФХ: > 99% (AD-H, AS-H, OJ-H и OD-H), R_t: 2.14 мин (AD-H), 3.89 мин (AS-H), 1.99 мин (OJ-H) и 4.97 мин (OD-H).



4-((S)-2-((S)-2-((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензил 2-((2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гексилокси)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-гидроксифенил)-2-метилпентаноил)гидразинкарбоксилат (38)

Раствор соединения IIIa (125 мг, 200 мкмоль) и PFP (55 мг, 300 мкмоль) в сухом метиленхлориде (4.0 мл) добавили по каплям раствор DIC (38 мг, 300 мкмоль) в метиленхлориде (1.0 мл) при 0°C шприцем. Полученный раствор перемешивали еще на протяжении 1 ч. Затем летучие соединения удалили *in vacuo* и остаток растворили в этилацетате (4.0 мл). Твердые частицы отфильтровали и фильтрат сконцентрировали и получили пентафторфениловый сложный эфир (сырое соединение 200 мг) в виде светло-желтого масла, который растворили в сухом DMF (3.0 мл). Затем к раствору добавили диизопропилэтиламин (DIPEA, 62 мг, 480 мкмоль), а затем соединение 37 (138 мг, 160 мкмоль). Раствор перемешивали на протяжении ночи и затем очистили посредством ОФ хроматографии (0-100% ацетонитрил в деионизированной воде) и получили соединение 38 (70 мг, выход 30% за два этапа) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 1471.4 (M + H)⁺, 736.3 (M/2 + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 10.10 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 9.15 (br s, 2H), 8.22 (s, 1H), 8.14-8.13 (m, 1H), 7.91-7.88 (m, 3H), 7.77-7.73 (m, 2H), 7.62-7.57 (m, 2H), 7.46-7.40 (m, 3H), 7.35-7.23 (m, 4H), 7.00-6.90 (m, 2H), 6.61 (d, J=8.0 Гц, 2H), 5.99-5.98 (m, 1H), 5.78-5.74 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.02-5.01 (m, 2H), 4.81-4.78 (m, 1H), 4.44-4.40 (m, 1H), 4.32-4.23 (m, 3H), 4.17-4.05 (m, 3H), 3.97-3.92 (m, 2H), 3.04-2.84 (m, 3H), 2.74-2.71 (m, 2H), 2.48-2.34 (m, 3H), 2.11 (s, 6H), 2.03-1.98 (m, 3H), 1.82-1.79 (m, 2H), 1.69-1.32 (m, 16H), 1.27-1.24 (m, 5H), 1.18-1.07 (m, 2H), 1.06-1.03 (m, 2H), 1.00 (d, J=7.0 Гц, 3H), 0.90-0.82 (m, 19H) ppm. Хиральная СФХ: > 99% (AS-H, OJ-H и OD-H), R_t: 2.19 мин (AD-H), 3.99 мин (AS-H), 2.06 мин (OJ-H) и 6.24 мин (OD-H).

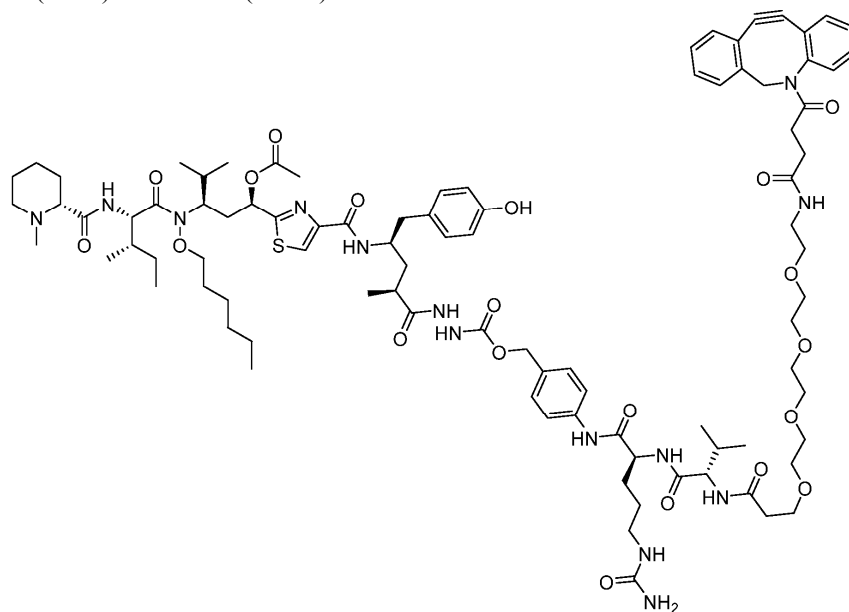


4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензил2-((2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гексилокси)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-гидроксифенил)-2-метилпентаноил)гидразинкарбоксилат (39)

Раствор соединения 38 (70.0 мг, 47.5 мкмоль) в сухом DMF (2.0 мл) подвергли воздействию пиперидина (0.5 мл) и перемешивали при КТ в течение 30 мин. Затем раствор сконцентрировали до сухого состояния и тритуровали петролейным эфиром (3 × 5 мл) и очистили посредством преп-ВЭЖХ (система бикарбоната аммония) и получили соединение 39 (35 мг, 59%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 1249.5 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 10.16 (s, 1H), 9.67 (s, 1H), 9.16 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.14-8.13 (m, 1H), 7.91-7.85 (m, 1H), 7.61 (d, J=8.0 Гц, 2H), 7.45 (d, J=10.0 Гц, 1H), 7.31 (d, J=8.0 Гц, 2H), 6.99

(d, J=8.0 Гц, 2H), 6.61 (d, J=7.5 Гц, 2H), 6.00-5.99 (m, 1H), 5.76 (dd, J=10.5, 2.5 Гц, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 4.82-4.78 (m, 1H), 4.49-4.47 (m, 1H), 4.47-3.95 (m, 4H), 3.05-3.00 (m, 2H), 2.96-2.91 (m, 1H), 2.85-2.82 (m, 1H), 2.73-2.64 (m, 2H), 2.47-2.34 (m, 4H), 2.10 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.03-1.91 (m, 3H), 1.81-1.77 (m, 3H), 1.70-1.68 (m, 1H), 1.64-1.53 (m, 7H), 1.50-1.32 (m, 7H), 1.30-1.24 (m, 5H), 1.20-1.16 (m, 1H), 1.08-1.02 (m, 2H), 0.97 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.90-0.82 (m, 17H), 0.78 (d, J=7.0 Гц, 3H) ppm. Хиральная СФХ: R_i: 2.37 мин (AD-H), 2.11 мин (OJ-H) и 5.73 мин (OD-H).

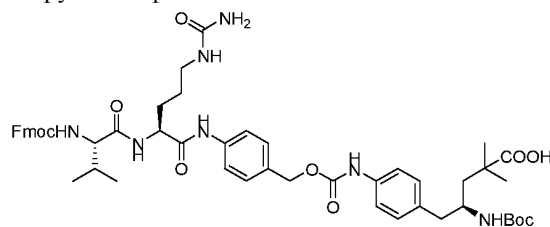


(1R,3R)-1-(4-{{(2R,4S)-4-{N'-[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-охобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо}-5-(карбамоиламино)пентанамидо}фенил}метокси)карбонил}гидразинкарбонил}-1-(4-гидроксифенил)-4-метилбутан-2-ил}карбамоил}-1,3-тиазол-2-ил}-3-[(2S,3S)-N-(гексилокси)-3-метил-2-[[{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}пентанамидо]-4-метилпентилацетат (LP2)

Раствор DIBAC-suc-PEG4-COOH (L-3) (5.7 мг, 10.4 мкмоль), HATU (5.9 мг, 15.6 мкмоль) и DIPEA (2.7 мг, 20.8 мкмоль) в сухом DMF (1.0 мл) перемешивали при КТ в течение 30 мин и затем добавили соединение 39 (13.0 мг, 10.4 мкмоль). Полученный раствор перемешивали на протяжении ночи до завершения реакции согласно ЖХМС. Реакционную смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В) и получили LP2 (5 мг, 27%) в виде грязно-белого твердого вещества. ESI м/з: 892.5 (M/2 + H)⁺.

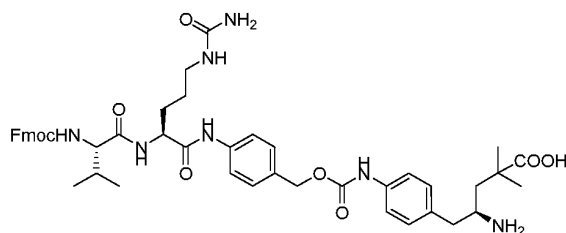
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 10.02 (s, 1H), 9.67 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 8.24-8.18 (m, 1H), 8.13 (d, J=6.8 Гц, 1H), 7.88 (d, J=8.7 Гц, 2H), 7.77 (t, J=5.5 Гц, 1H), 7.68 (d, J=7.2 Гц, 1H), 7.64-7.41 (m, 6H), 7.40-7.20 (m, 4H), 7.02-6.84 (m, 2H), 6.70-6.29 (m, 2H), 6.04-5.95 (m, 1H), 5.76 (d, J=7.8 Гц, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.23-4.93 (m, 3H), 4.84-4.75 (m, 1H), 4.43-4.36 (m, 1H), 4.27-4.20 (m, 1H), 4.20-4.01 (m, 3H), 3.96 (d, J=6.6 Гц, 1H), 3.65-3.42 (m, 12H), 3.31-3.24 (m, 3H), 3.15-2.99 (m, 3H), 2.97-2.91 (m, 1H), 2.87-2.81 (m, 1H), 2.77-2.54 (m, 3H), 2.48-2.33 (m, 5H), 2.29-2.19 (m, 1H), 2.15-2.05 (m, 5H), 2.04-1.91 (m, 4H), 1.89-1.68 (m, 4H), 1.67-1.49 (m, 9H), 1.45-1.22 (m, 13H), 1.12-0.92 (m, 9H), 0.92-0.77 (m, 20H) ppm.

Синтез DIBAC-линкер-нагрузок на фиг. 10А



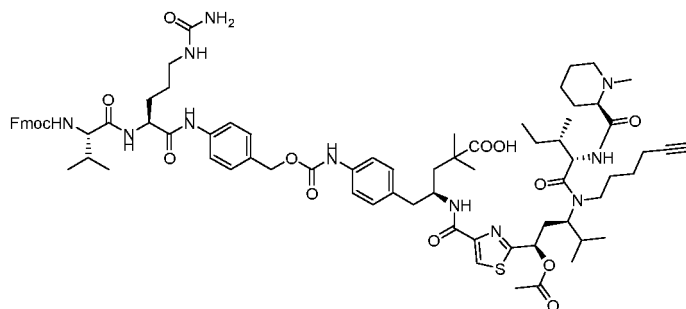
(S)-5-(4-((4-((S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензилокси)карбониламино)фенил)-4-амино-2,2-диметилпентановая кислота (40)

К смеси соединения 7e (20 мг, 59 мкмоль) и L-2 (50 мг, 65 мкмоль) в DMF (2 мл) добавили НОВт (8.0 мг, 59 мкмоль) и DIPEA (15 мг, 0.12 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 16 ч под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.01%)) и получили 40 (31 мг, выход 54%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 964.1 (M+H)⁺.



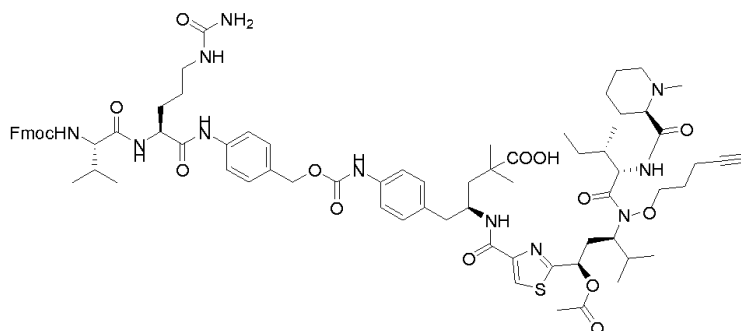
(S)-5-(4-((4-((S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензилокси)карбониламино)фенил)-4-амино-2,2-диметилпентановая кислота (41)

Смесь соединения 40 (40 мг, 41 мкмоль) и TFA (0.5 мл) в DCM (5 мл) перемешивали при 25°C в течение 0.5 ч, затем сконцентрировали *in vacuo* и получили 41 (36 мг, выход 100%) в виде коричневого масла. ESI м/з: 432.6 (M+2H)²⁺.



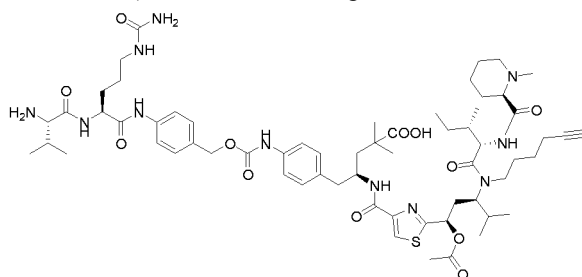
(S)-5-(4-((4-((S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензилокси)карбониламино)фенил)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гекс-5-инил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2,2-диметилпентановая кислота (42a)

Смесь соединения 41 (36 мг, 41 мкмоль), DIPEA (21 мг, 167 мкмоль) и соединения 28e (32 мг, 41 мкмоль) в DMF (2 мл) перемешивали при 25°C в течение 16 ч, и затем реакционный раствор очистили посредством ОФ хроматографии и получили 42a (28 мг, выход 48%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 725 (M+2H)²⁺.



(S)-5-(4-((4-((S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензилокси)карбониламино)фенил)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-3-((2S,3S)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N-(пент-4-инилокси)пентанамидо)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2,2-диметилпентановая кислота (42b)

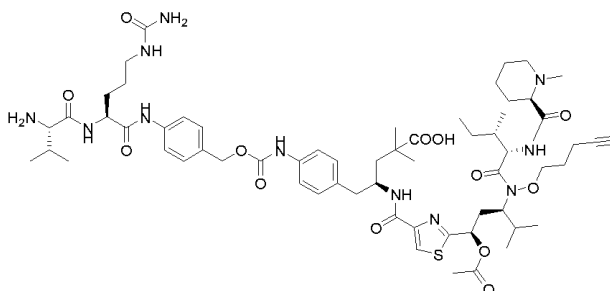
Смесь соединения 41 (40 мг, 46 мкмоль), DIPEA (18 мг, 139 мкмоль) и соединения 28c (36 мг, 46 мкмоль) в DMF (3 мл) перемешивали при 25°C в течение 16 ч и очистили посредством ОФ хроматографии и получили 42b (30 мг, выход 34%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 727 (M+2H)²⁺.



(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гекс-5-инил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-((4-((S)-2-((S)-амино-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензилокси)карбониламино)фенил)-2,2-диметилпентановая

кислота (43а)

К раствору соединения 42а (40 мг, 41 мкмоль) в DMF (1 мл) добавили пиперидин (10 мг, 0.12 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч до полного удаления Fmoc согласно ЖХМС. Полученную смесь подвергли обращенно-фазовой хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.01%)) и получили 43а (36 мг) в виде коричневого масла. ESI м/з: 432.6 (M+2H)/2⁺.



(S)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N-(гекс-5-инил)-3-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(4-((4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензилокси)карбониламино)фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (43b)

Смесь соединения 42b (30 мг, 20.68 мкмоль) и пиперидина (7.98 мг, 165.43 мкмоль) в DMF (1 мл) перемешивали при 25°C в течение 16 ч, и затем реакционный раствор очистили посредством ОФ хроматографии и получили желаемый продукт 43b (17 мг, выход 67%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 615.8 (M+2H)/2⁺.

Синтез LP3.

(4S)-4-(2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил]формамидо)-5-(4-[[4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.04,9]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил]метокси)карбонил]амино]фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (LP3)

Смесь соединения 43а (30 мг, 24.42 мкмоль), DIBAC-suc-PEG4-NHS (L-4) (15.86 мг, 24.42 мкмоль) и DIPEA (5.37 мг, 41.51 мкмоль) в DMF (2 мл) перемешивали при 25°C в течение 16 и затем реакционный раствор очистили посредством ОФ хроматографии (ацетонитрил/вода) и получили LP3 (5 мг, 35%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 882.1 (M+2H)/2⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 12.15 (s, 1H), 10.02 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 8.16 (s, 2H), 7.89 (d, J=8.7 Гц, 1H), 7.78 (d, J=5.5 Гц, 2H), 7.68 (d, J=6.9 Гц, 1H), 7.62 (d, J=8.3 Гц, 4H), 7.51-7.43 (m, 3H), 7.35 (d, J=8.0 Гц, 7H), 7.07 (d, J=8.4 Гц, 2H), 6.00 (s, 1H), 5.65 (d, J=13.0 Гц, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.03 (d, J=14.5 Гц, 3H), 4.46 (s, 1H), 4.38 (d, J=5.3 Гц, 1H), 4.24 (d, J=6.9 Гц, 2H), 3.74 (s, 1H), 3.59 (s, 3H), 3.47 (s, 14H), 3.31-3.25 (m, 4H), 3.08 (s, 2H), 3.04-2.97 (m, 2H), 2.94 (dd, J=13.1, 6.4 Гц, 1H), 2.83 (d, J=10.7 Гц, 1H), 2.75 (s, 2H), 2.67 (dd, J=15.9, 9.1 Гц, 1H), 2.59 (dd, J=16.2, 8.0 Гц, 1H), 2.48-2.45 (m, 1H), 2.36 (dd, J=14.3, 6.4 Гц, 1H), 2.23 (dd, J=15.6, 7.8 Гц, 3H), 2.14 (s, 4H), 2.07 (s, 3H), 1.98 (ddd, J=20.0, 13.8, 6.5 Гц, 4H), 1.87 (s, 3H), 1.76 (dd, J=15.2, 6.8 Гц, 2H), 1.68 (d, J=11.2 Гц, 2H), 1.61 (d, J=9.8 Гц, 3H), 1.40 (dd, J=35.4, 22.6 Гц, 7H), 1.26-1.12 (m, 2H), 1.06 (d, J=4.2 Гц, 6H), 0.95 (d, J=6.3 Гц, 3H), 0.82 (d, J=6.6 Гц, 12H), 0.67 (s, 3H) ppm.

Синтез LP4.

(4S)-4-(2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил]формамидо)-5-(4-[[4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.04,9]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-2-[2-(карбамоиламино)этокси]ацетида]фенил]метокси)карбонил]амино]фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (LP4)

Смесь соединения 43b (17 мг, 14 мкмоль), DIBAC-suc-PEG4-NHS (L-4) (9 мг, 14 мкмоль) и DIPEA (5.4 мг, 42 мкмоль) в DMF (2 мл) перемешивали при 25°C в течение 16 ч, и затем реакционный раствор очистили посредством ОФ хроматографии (ацетонитрил и вода) и получили LP4 (5 мг, 20%; 67% при повторном синтезе) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 883.1 (M+2H)/2⁺.

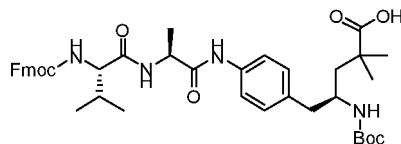
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 12.01 (s, 1H), 11.16 (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 9.63 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.87 (d, J=8.7 Гц, 1H), 7.76 (s, 2H), 7.67 (d, J=7.2 Гц, 1H), 7.62 (d, J=8.4 Гц, 3H), 7.52-7.42 (m, 3H), 7.33 (s, 7H), 7.07 (d, J=8.5 Гц, 2H), 5.99 (s, 1H), 5.82 (d, J=10.8 Гц, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.05 (s, 3H), 4.75 (t, J=8.6 Гц, 1H), 4.42-4.34 (m, 1H), 4.23 (d, J=8.4 Гц, 3H), 4.10-3.73 (m, 2H), 3.59 (s, 3H), 3.50-3.43 (m, 12H), 3.29 (s, 4H), 3.08 (d, J=5.7 Гц, 2H), 3.02 (dd, J=13.4, 6.7 Гц, 2H), 2.96-2.91 (m, 1H), 2.83 (s, 1H), 2.77-2.73 (m, 1H), 2.67 (d, J=7.4 Гц, 1H), 2.58 (dd, J=16.2, 8.0 Гц, 3H), 2.46-2.44 (m, 1H), 2.36 (dt, J=23.7, 9.1 Гц, 5H), 2.23 (dd, J=15.5, 7.7 Гц, 1H), 2.14 (s, 3H), 2.07 (s, 1H), 2.03-1.88 (m, 4H),

1.83 (d, J=6.5 Гц, 2H), 1.75 (dd, J=14.0, 8.2 Гц, 2H), 1.68 (d, J=11.1 Гц, 2H), 1.59 (d, J=9.1 Гц, 2H), 1.47-1.34 (m, 4H), 1.24 (s, 1H), 1.13 (s, 1H), 1.06 (d, J=11.9 Гц, 6H), 0.97 (d, J=6.6 Гц, 3H), 0.89 (s, 6H), 0.87-0.80 (m, 10H) ppm.

Синтез DIBAC-VA-линкер-нагрузки (фиг. 10B).

Синтез LP5.

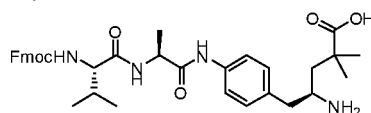
(4S)-4-{{(трет-бутокси)карбонил}амино}-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{{(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил}амино}]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (40b)



К раствору соединения L-5 (Fmoc-VA-OH, 0.21 г, 0.50 ммоль) в DMF (3.0 мл) добавили HATU (0.19 г, 0.50 ммоль) и DIPEA (0.13 г, 1.0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 10 мин и затем добавили соединение 7e (0.17 г, 0.50 ммоль). Смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч под контролем ЖХМС. Смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В) и получили соединение 40b (0.15 г, выход 40%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 746.3 (M + H₂O)⁺.

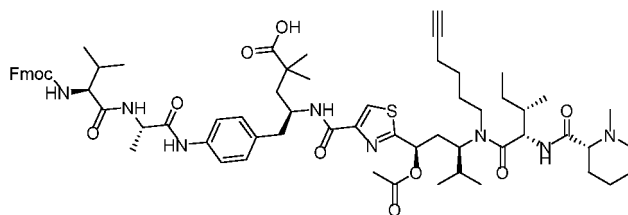
¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) (с ротамерами) δ 9.88 и 9.72 (s, 1H), 8.35 и 8.17 (d, J=7.2 Гц, 1H), 7.90-7.87 (m, 2H), 7.76-7.71 (m, 2H), 7.56-7.38 (m, 5H), 7.32 (t, J=7.2 Гц, 2H), 7.05 (t, J=8.4 Гц, 2H), 6.46 (d, J=8.8 Гц, 1H), 7.46-7.39 (m, 1H), 4.33-4.18 (m, 3H), 3.93-3.85 (m, 1H), 3.70-3.60 (m, 1H), 2.60-2.50 (m, 2H), 2.02-1.93 (m, 1H), 1.72-1.65 (m, 1H), 1.57-1.53 (m, 1H), 1.29-1.17 (m, 12H), 1.06-1.02 (m, 6H), 0.89-0.84 (m, 6H) ppm. Анал. ВЭЖХ: 100%, время удерживания: 7.39 мин (способ В).

(4S)-4-амино-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{{(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил}амино}]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (41b)



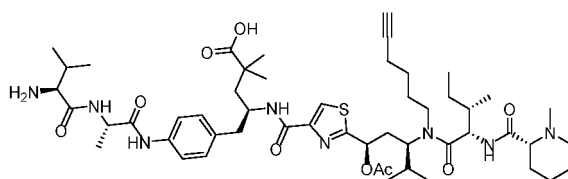
В соответствии с процедурой 40-41, за исключением замены 40 на 40b, получили соединение 41b (15 мг в виде соли трифторуксусной кислоты, выход сырого соединения 100%) в виде коричневого масла, которое использовали на следующем этапе. ESI м/з: 629.3 (M + H)⁺.

(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]пропанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (42c)



В соответствии с процедурой 41-42а, за исключением замены 41 на 41b (15 мг, 18 мкмоль), получили соединение 42с (10 мг, выход за 2 этапа 46%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 1215.6 (M + H)⁺.

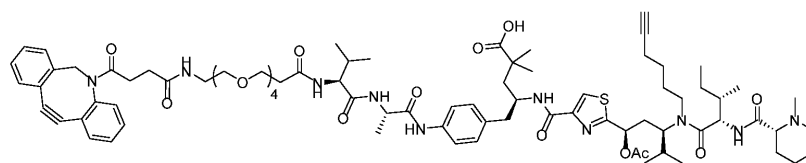
(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]пропанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (43с)



В соответствии с процедурой 42а-43а, за исключением замены 42а на 42с (10 мг, 8.2 мкмоль), получили соединение 43с (5 мг, выход 61%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 497.4 (M/2 + H)⁺.

(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо} пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]}гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-

оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (LP5)

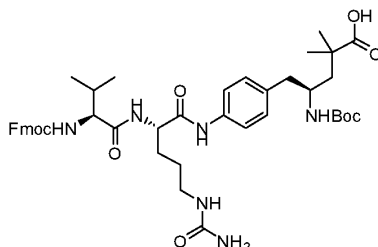


К раствору соединения L-3 (4.1 мг, 7.4 мкмоль) в DMF (1 мл) добавили HATU (2.9 мг, 7.5 мкмоль) и раствор DIPEA (1.3 мг, 0.01 ммоль) в DMF (25 мкл). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 10 мин и затем добавили соединение 43с (5.0 мг, 5.0 мкмоль). Смесь перемешивали при КТ в течение 1 ч под контролем ЖХМС. Смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В) и получили соединение LP5 (3 мг, выход 39%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 764.5 (M/2 + H)⁺.

¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) (с ротамерами) δ 9.85 и 9.73 (s, 1H), 8.39-8.37 и 8.17-8.12 (m, 2H), 7.99 и 7.87 (d, J=8.4 Гц, 1H), 7.78-7.26 (m, 12H), 7.10-7.06 (m, 2H), 5.64 (d, J=11.2 Гц, 1H), 5.02 (d, J=13.6 Гц, 1H), 4.47-4.07 (m, 5H), 3.75-3.26 (m, 22 H), 3.09-2.74 (m, 6H), 2.60-2.42 (m, 2H), 2.35-1.03 (m, 42H), 0.94-0.65 (m, 16H) ppm. Анал. ВЭЖХ: 100%, время удерживания: 8.18 мин (способ В).

Синтез LP6 и LP7 (фиг. 10С).

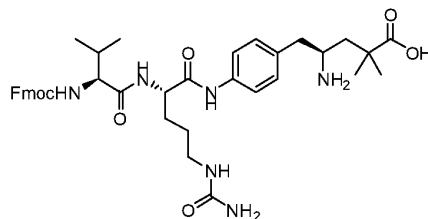
(4S)-4-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-5-{4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (40с)



К смеси соединения L-6 (Fmoc-Val-Cit-OH, 0.60 г, 1.2 ммоль), соединения 7e (0.20 г, 0.06 ммоль) и EEDQ (0.22 г, 0.90 ммоль) в DCM (20 мл) добавили 10 мл метанола в атмосфере азота, и смесь стала прозрачной. Раствор перемешивали в темноте при КТ на протяжении ночи под контролем ЖХМС. Смесь сконцентрировали in vacuo и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В) и получили соединение 40с (85 мг, выход 17%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 815.3 (M + H)⁺.

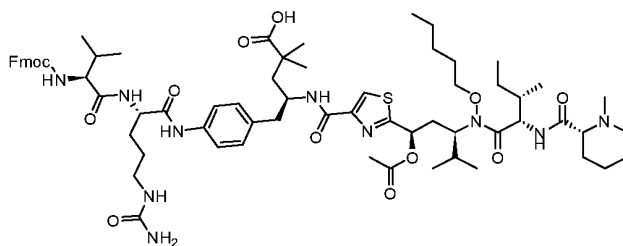
¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ 9.94 (s, 1H), 8.11 (d, J=7.2 Гц, 1H), 7.89 (d, J=7.6 Гц, 2H), 7.75 (t, J=7.6 Гц, 1H), 7.54-7.30 (m, 7H), 7.05 (t, J=8.0 Гц, 2H), 6.47 (d, J=8.8 Гц, 1H), 6.02-5.94 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.45-4.20 (m, 4H), 3.94-3.90 (m, 1H), 3.70-3.62 (m, 1H), 3.04-2.89 (m, 2H), 2.61-2.50 (m, 2H), 2.02-1.94 (m, 1H), 1.72-1.19 (m, 15H), 1.07-1.03 (m, 6H), 0.89-0.84 (m, 6H) ppm. Анал. ВЭЖХ: 99%, время удерживания: 6.90 мин (способ В).

(4S)-4-амино-5-{4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (41с)



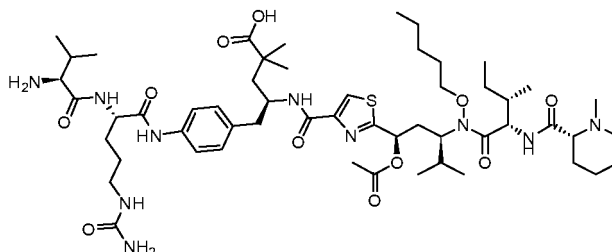
В соответствии с процедурами 40-41, за исключением замены 40 на 40с, получили соединение 41с (25 мг в виде соли трифторуксусной кислоты, выход сырого соединения 100%) в виде коричневого масла, которое использовали на следующем этапе. ESI м/з: 715.3 (M + H)⁺.

(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (42d)



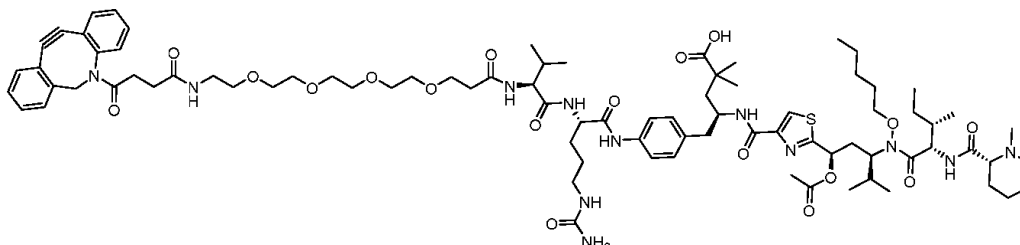
В соответствии с процедурами 41-42а, за исключением замены 41 на 41с (52 мг, 60 мкмоль) и замены 28е на 28d (61 мг, 78 мкмоль), получили соединение 42d (52 мг, выход за 2 этапа 66%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 654.3 (M/2 + H)⁺.

(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (43d)



В соответствии с процедурами 42а-43а, за исключением замены 42а на 42d (52 мг, 40 мкмоль), получили соединение 43d (37 мг, выход 85%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 543.5 (M/2 + H)⁺.

(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (LP6)

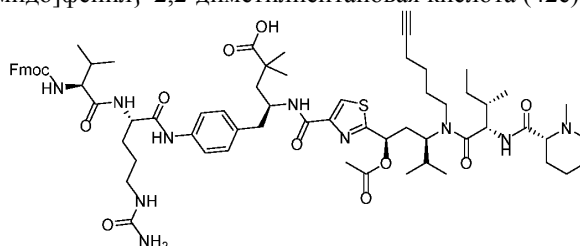


В соответствии с процедурой 43а-LP3, за исключением замены 43а на 43d (24 мг, 22 мкмоль), получили соединение LP6 (24 мг, выход 67%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 810.5 (M/2 + H)⁺.

¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ 9.87 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.08 (d, J=7.6 Гц, 1H), 7.95-7.86 (m, 1H), 7.86 (d, J=9.2 Гц, 1H), 7.76 (t, J=5.6 Гц, 1H), 7.69-7.66 (m, 1H), 7.62 (d, J=6.8 Гц, 1H), 7.55-7.43 (m, 5H), 7.40-7.28 (m, 3H), 7.09 (d, J=8.4 Гц, 2H), 6.00 (t, J=5.6 Гц, 1H), 5.80 (dd, J=6.8, 2.4 Гц, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.03 (t, J=14.4 Гц, 1H), 4.82-4.78 (m, 1H), 4.40-4.34 (m, 1H), 4.24-4.03 (m, 4H), 3.98-3.92 (m, 1H), 3.62-3.28 (m, 23H), 3.13-2.89 (m, 4H), 2.85-2.75 (m, 2H), 2.70-2.62 (m, 1H), 2.62-2.32 (m, 5H), 2.28-2.19 (m, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.03-1.86 (m, 5H), 1.81-1.28 (m, 17H), 1.04 (d, J=8.4 Гц, 6H), 0.97-0.94 (m, 3H), 0.89-0.80 (m, 18H) ppm. Анал. ВЭЖХ: 100%, время удерживания: 8.52 мин (способ В).

Синтез LP7.

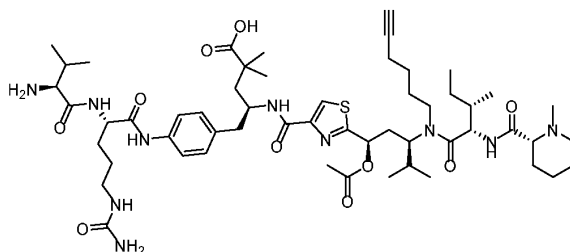
(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-[[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-{4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (42е)



В соответствии с процедурой 41-42а, за исключением замены 41 на 41с (25 мг, 40 мкмоль), получили соединение 42е (36 мг, выход за 2 этапа 70%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 651.3 (M/2 + H)⁺.

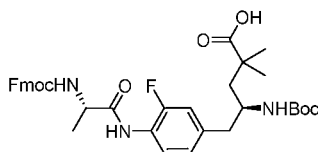
¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ 9.97 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.09 (d, J=7.2 Гц, 1H), 7.89 (d, J=7.2 Гц, 2H), 7.76-7.67 (m, 3H), 7.52-7.38 (m, 5H), 7.32 (t, J=7.2 Гц, 2H), 7.10 (d, J=8.0 Гц, 2H), 6.01 (t, J=4.8 Гц, 1H), 5.67-5.63 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.48-4.21 (m, 7H), 3.94-3.90 (m, 1H), 3.78-3.69 (m, 1H), 3.04-2.90 (m, 3H), 2.83-2.67 (m, 4H), 2.33-1.04 (m, 41H), 0.94-0.80 (m, 14H), 0.68-0.66 (m, 3H) ppm. Анал. ВЭЖХ: 99%, время удерживания: 8.35 мин (способ В).

(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-(гекс-5-ин-1-ил)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо}пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (43е)



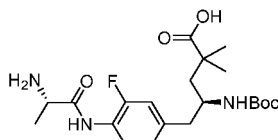
В соответствии с процедурой 42а-43а, за исключением замены 42а на 42е (26 мг, 20 мкмоль), получили соединение 43е (21 мг, выход 97%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 540.3 (M/2 + H)⁺.

Синтез LP9, LP11 и LP12 (фиг. 10D)



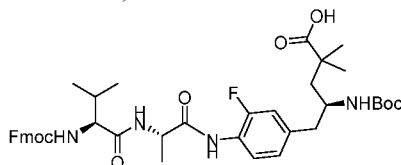
(4S)-4-{{(трет-бутоксикарбонил)амино}-5-{4-[(S)-2-{{(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил}амино}пропанамидо]-3-фторфенил}-2,2-диметилпентановая кислота (B-2)

К раствору соединения B-1 (0.65 г, 1.8 ммоль) в пиридине (10 мл) добавили Fmoc-Ala-Cl (0.91 г, 1.5 ммоль) и DMAP (10 мг, 82 мкмоль) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 12 часов под контролем ЖХМС. Летучие соединения удалили in vacuo и остаток очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.03%)) и получили сырое соединение B-2 (0.66 г, чистота 80%, выход 57%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 548.3 (M - Boc + H)⁺, 670.3 (M + Na)⁺.



(4S)-5-{4-[(2S)-2-аминопропанамидо]-3-фторфенил}-4-{{(трет-бутоксикарбонил)амино}-2,2-диметилпентановая кислота (B-3)

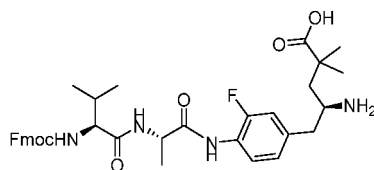
Сырое соединение B-2 (0.66 г, 1.0 ммоль), полученное так, как было описано выше, растворили в DMF (2 мл) и добавили пиперидин (0.26 г, 3.1 ммоль) и смесь перемешивали при КТ в течение 12 ч под контролем ЖХМС. Реакционную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.03%)) и получили соединение B-3 (0.35 г, выход 80%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 370.2 (M - tBu + H)⁺.



(4S)-4-{{(трет-бутоксикарбонил)амино}-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{{(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил}амино}-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-3-фторфенил}-2,2-диметилпентановая кислота (B-4)

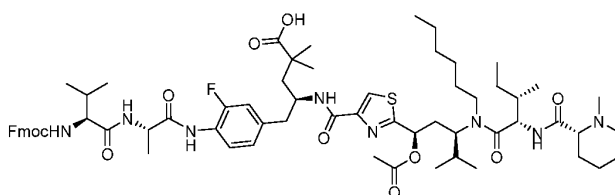
К раствору соединения B-3 (42 мг, 0.10 ммоль) в DMF (3 мл) добавили Fmoc-Val-OSu (45 мг, 0.11 ммоль) и DIPEA (40 мг, 0.31 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 16 ч под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.03%)) и получили соединение B-4 (37 мг, выход 50%) в виде белого

твердого вещества. ESI м/з 647.3 (M - Вос + H)⁺, 770.3 (M + Na)⁺.



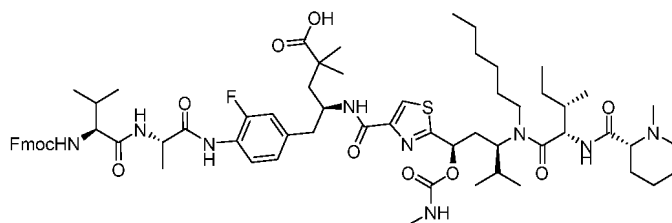
(4S)-4-амино-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-3-фторфенил}-2,2-диметилпентановая кислота (B-5)

К раствору соединения B-4 (75 мг, 0.10 ммоль) в DCM (5 мл) добавили TFA (1 мл) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч до полного удаления Вос под контролем ЖХМС. Полученную смесь сконцентрировали in vacuo и получили сырое соединение B-5 (60 мг, выход 92%) в виде белого твердого вещества, которое использовали на следующем этапе без дальнейшей очистки. ESI м/з 647.3 (M + H)⁺.



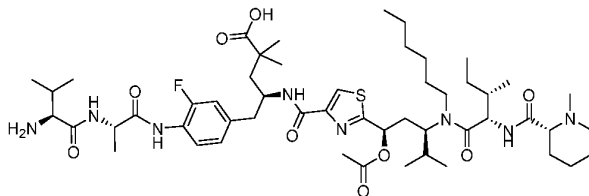
(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]пентанамидо]-4-метилпентил}-1,3-тиазол-4-ил)формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-3-фторфенил}-2,2-диметилпентановая кислота (B-6a)

К раствору соединения B-5 (65 мг, 0.10 ммоль) в DMF (5 мл) добавили соединение A-1a (77 мг, 0.10 ммоль) и DIPEA (40 мг, 0.31 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.03%)) и получили соединение B-6a (61 мг, выход 50%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 619.5 (M/2 + H)⁺, 1238.7 (M + H)⁺.



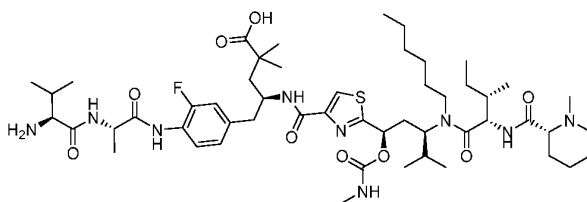
(4S)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-3-фторфенил}-4-({2-[(1R,3R)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]пентанамидо]-4-метил-1-[(метилкарбамоил)окси]пентил}-1,3-тиазол-4-ил)формамидо)-2,2-диметилпентановая кислота (B-6b)

В соответствии с процедурой для B-6a, за исключением замены A-1b на A-1d, получили соединение B-6b (0.10 г, выход 64%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 626.9 (M/2 + H)⁺.



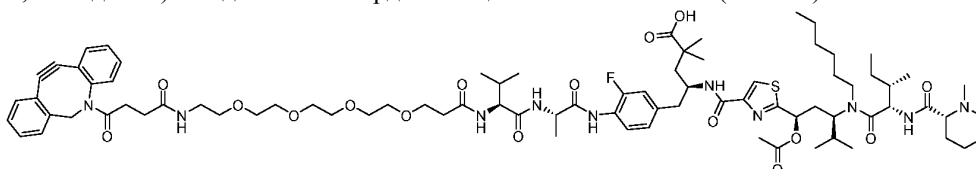
(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]пентанамидо]-4-метилпентил}-1,3-тиазол-4-ил)формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-3-фторфенил}-2,2-диметилпентановая кислота (B-7a)

К раствору соединения B-6a (61 мг, 49 мкмоль) в DMF (5 мл) добавили пиперидин (13 мг, 0.15 ммоль) и смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч до полного удаления Fmoc под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.03%)) и получили соединение B-7a (41 мг, выход 80%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 508.1 (M/2 + H)⁺.



(4S)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-3-фторфенил}-4-(2-[(1R,3R)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]пентанамидо]-4-метил-1-[(метилкарбамоил)окси]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-2,2-диметилпентановая кислота (B-7b)

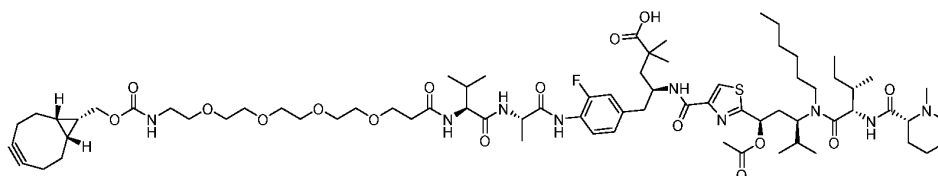
В соответствии с процедурой для B-7a, за исключением замены B-6a на B-6b, получили соединение B-7b (60 мг, выход 70%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 516.0 (M/2+H)⁺.



(4S)-4-(2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-3-фторфенил}-2,2-диметилпентановая кислота (LP9)

К раствору соединения B-7a (20 мг, 20 мкмоль) в DMF (2 мл) добавили B-8a (16 мг, 25 мкмоль) и DIPEA (7.3 мг, 57 мкмоль) и реакционный раствор перемешивали при КТ в течение 2 часов под контролем ЖХМС. Полученный раствор очистили посредством преп-ВЭЖХ (0-100% ацетонитрил в вод. бикарбонате аммония (10 мМ)) и получили линкер-нагрузку LP9 (20 мг, выход 65%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 115.2 (M/2+H)⁺.

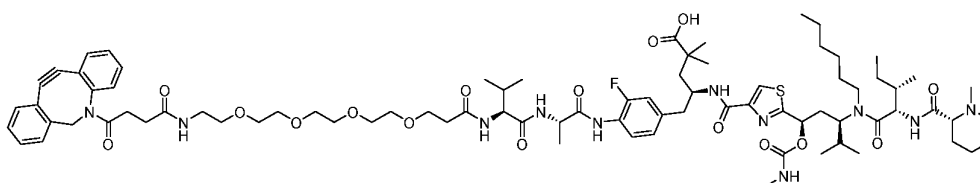
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.56 (s, 1H), 8.22 (d, J=6.8 Гц, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.87 (d, J=8.8 Гц, 1H), 7.81-7.67 (m, 6H), 7.51-7.45 (m, 3H), 7.38-7.28 (m, 3H), 7.05 (d, J=11.6 Гц, 1H), 6.92 (d, J=7.6 Гц, 1H), 5.65 (d, J=12.8 Гц, 1H), 5.03 (d, J=14.0 Гц, 1H), 4.52-4.47 (m, 2H), 4.23-4.19 (m, 2H), 3.62-3.56 (m, 4H), 3.47-3.44 (m, 12H), 3.12-3.03 (m, 2H), 3.01-2.88 (m, 1H), 2.87-2.71 (m, 3H), 2.62-2.55 (m, 1H), 2.47-2.41 (m, 2H), 2.38-2.19 (m, 4H), 2.13 (s, 3H), 2.06 (m, 3H), 2.08-1.81 (m, 6H), 1.79-1.31 (m, 11H), 1.28-1.24 (m, 10H), 1.07 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 0.94 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.84-0.79 (m, 18H), 0.68 (d, J=6.0 Гц, 3H) ppm.



(4S)-4-(2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]пентанамидо]-4-метилпентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-((1R,8S,9R)-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметокси)карбонил]амино)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-3-фторфенил}-2,2-диметилпентановая кислота (LP11)

В соответствии с процедурой для линкер-нагрузки LP9, за исключением замены B-8a на B-8b, получили линкер-нагрузку LP11 (12 мг, выход 48%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 719.7 (M/2+H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.60 (s, 1H), 8.21 (d, J=6.8 Гц, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.87 (d, J=7.2 Гц, 1H), 7.81-7.71 (m, 2H), 7.64 (d, J=7.2 Гц, 1H), 7.07-7.04 (m, 2H), 6.92 (d, J=8.4 Гц, 1H), 5.65 (d, J=11.6 Гц, 1H), 4.51-4.43 (m, 3H), 4.33-4.26 (m, 2H), 4.23-4.19 (m, 2H), 4.03 (d, J=8.0 Гц, 3H), 3.71-3.63 (m, 6H), 3.58-3.56 (m, 12H), 3.13-3.10 (m, 1H), 2.87-2.73 (m, 2H), 2.48-2.42 (m, 2H), 2.39-2.33 (m, 1H), 2.26-2.15 (m, 6H), 2.13 (s, 3H), 2.06 (m, 3H), 1.97-1.82 (m, 5H), 1.75-1.32 (m, 11H), 1.29-1.23 (m, 12H), 1.08 (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 0.95 (d, J=6.4 Гц, 3H), 0.85-0.80 (m, 18H), 0.68 (d, J=6.0 Гц, 3H) ppm.



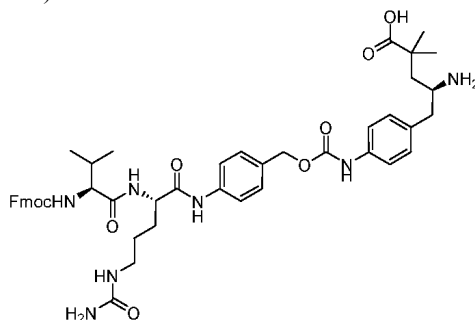
(4S)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-3-фторфенил}-2,2-диметилпентановая кислота (LP9)

3-фторфенил}-4-({2-[(1R,3R)-3-[(2S,3S)-N-гексил-3-метил-2-[[{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо}пентанамидо]-4-метил-1-[(метилкарбамоил)окси]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-2,2-диметилпентановая кислота (LP12)

В соответствии с процедурой для линкер-нагрузки LP9, за исключением замены В-7а на В-7b, получили линкер-нагрузку LP12 (20 мг, 65% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 783.1 (M/2 + H)⁺.

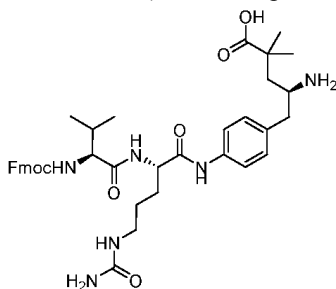
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.62 (s, 1H), 8.24 (d, J=6.7 Гц, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.89 (d, J=8.8 Гц, 1H), 7.77 (s, 2H), 7.68-7.60 (m, 3H), 7.51-7.29 (m, 8H), 7.09-6.89 (m, 2H), 5.55 (s, 1H), 5.03 (d, J=14.0 Гц, 1H), 4.50-4.30 (m, 4H), 3.62 (s, 1H), 3.60-3.55 (m, 4H), 3.49-3.42 (m, 9H), 3.38-3.25 (m, 4H), 3.13-3.03 (m, 3H), 2.95 (s, 1H), 2.90-2.34 (m, 8H), 2.27-2.21 (m, 1H), 2.08-1.70 (m, 7H), 1.70-1.45 (m, 6H), 1.30-1.20 (m, 12H), 1.11-1.02 (m, 8H), 1.00-0.83 (m, 25H), 0.69 (s, 3H) ppm.

Синтез LP10 и LP15 (фиг. 10E)



(4S)-4-амино-5-(4-{{4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-{{(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метокси)карбонил]амино}фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (C-2a)

К смеси соединения D-1 (20 мг, 59 мкмоль) и Fmoc-vcPAB-PNP (C-1a) (50 мг, 65 мкмоль) в DMF (2 мл) добавили HOBT (8.0 мг, 59 мкмоль) и DIPEA (15 мг, 0.12 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.01%)) и получили Вос-C-2a (31 мг, ESI м/з 964.1 (M + H)⁺) в виде белого твердого вещества, которое растворили в DCM (4 мл). К раствору добавили TFA (0.5 мл) и реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении получаса до полного удаления Вос под контролем ЖХМС. Летучие соединения удалили *in vacuo* и получили соединение C-2a (37 мг, выход 54%, соль трифторуксусной кислоты) в виде коричневого масла. ESI м/з 432.6 (M/2 + H)⁺.



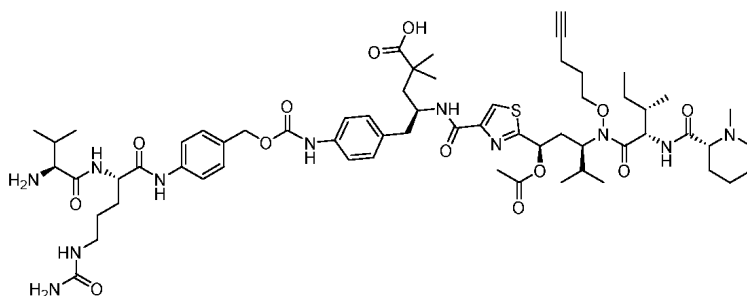
(4S)-4-амино-5-{4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-{{(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (C-2b)

К смеси Fmoc-Val-Cit-OH (C-1b) (0.60 г, 1.2 ммоль) в DCM (20 мл) и метанола (10 мл) добавили соединение D-1 (0.20 г, 0.59 ммоль) и EEDQ (0.22 г, 0.90 ммоль) в атмосфере азота, и смесь стала прозрачной. Раствор перемешивали в темноте при КТ на протяжении ночи под контролем ЖХМС. Смесь концентрировали *in vacuo* и остаток очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. бикарбонате аммония (10 мМ)) и получили соединение Вос-C-2b (85 мг, ESI м/з: 815.3 (M + H)⁺) в виде белого твердого вещества; которое затем растворили в DCM (10 мл). К раствору добавили TFA (1 мл) и смесь перемешивали при КТ в течение часа до полного удаления Вос под контролем ЖХМС. Летучие соединения удалили *in vacuo* и получили соединение C-2b (84 мг, выход 17%, соль трифторуксусной кислоты) в виде коричневого масла. ESI м/з 715.3 (M + H)⁺.

Общая процедура для соединений C-3 и C-4.

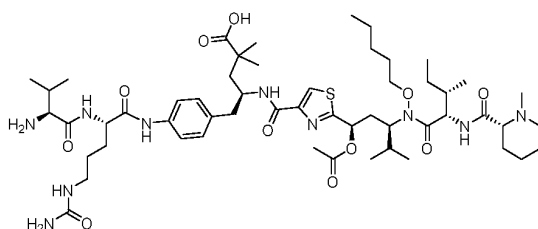
К смеси соединения C-2 (1.0 эквив.) в DMF (15 мМ) добавили DIPEA (3.0 эквив.) и пентафторфеновый сложный эфир (A-1b,c,e) и реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде) и получили соединение C-3 (выход 30-67%) в виде белого твердого вещества; которое затем растворили в DMF (40 мМ). К раствору добавили пиперидин (3.0 эквив.) и смесь пере-

мешивали при КТ в течение 2 ч до полного удаления Fmoc под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.01%)) и получили соединение С-4 (выход 25-67% за 2 этапа из активированного сложного эфира).



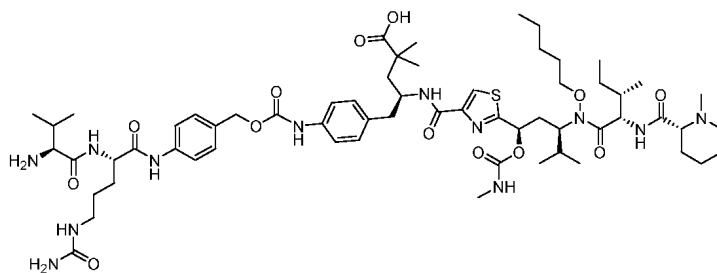
(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-{{(4-(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил}амино}фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (С-4а)

При соблюдении общей процедуры для соединений С-3 и С-4, из С-2а, на которое воздействовали А-1b, получили соединение С-4а (17 мг, выход из А-1b 67%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 615.8 (M/2 + H)⁺.



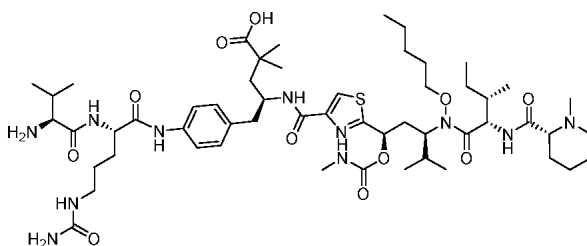
(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (С-4b)

При соблюдении общей процедуры для соединений С-3 и С-4, из С-2b, на которое воздействовали А-1с, получили соединение С-4b (37 мг, выход из А-1с 56%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 543.5 (M/2 + H)⁺.



(4S)-5-(4-{{(4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил}амино}фенил)-2,2-диметил-4-({2-[(1R,3R)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пентилокси)пентанамидо]-1-(метилкарбамоил)окси]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)пентановая кислота (С-4с)

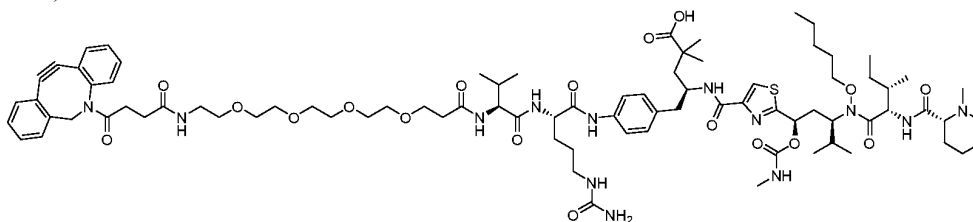
При соблюдении общей процедуры для соединений С-3 и С-4, из С-2а, на которое воздействовали А-1е, получили соединение С-4с (9 мг, выход из А-1е 20%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 1250.1 (M + H)⁺.



(4S)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}-2,2-диметил-4-({2-[(1R,3R)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(метилкарбамоил)окси]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)пентановая кислота (С-4с)

(пентилокси)пентанамидо]-1-[(метилкарбамоил)окси]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)пентановая кислота (С-4d)

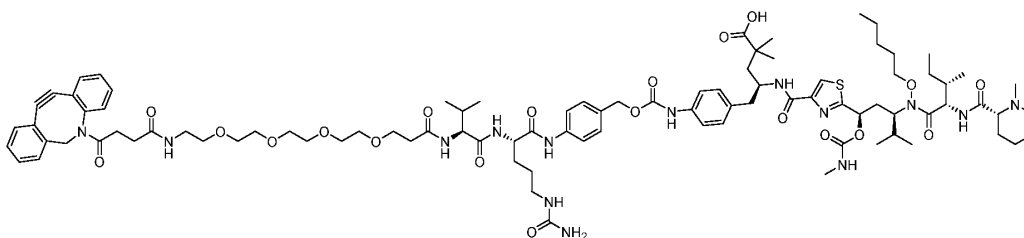
При соблюдении общей процедуры для соединений С-3 и С-4, из С-2b, на которое воздействовали А-1е, получили соединение С-4d (9 мг, выход из А-1е 29%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 1101.1 (M + H)⁺.



(4S)-5-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}-2,2-диметил-4-({2-[(1R,3R)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пентилокси)пентанамидо]-1-[(метилкарбамоил)окси]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)пентановая кислота (LP10)

В соответствии с процедурой для LP9, за исключением замены В-7а на С-4d, получили линкер-нагрузку LP10 (7 мг, выход 52%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 818.0 (M/2 + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.90-9.80 (m, 1H), 8.15 (s, 4H), 7.80 (s, 1H), 7.68 (d, J=7.3 Гц, 1H), 7.62 (d, J=7.2 Гц, 1H), 7.58-7.27 (m, 10H), 7.09 (d, J=8.0 Гц, 2H), 6.01 (s, 1H), 5.67 (d, J=10.9 Гц, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.02 (d, J=13.9 Гц, 1H), 4.78 (s, 1H), 4.35 (s, 1H), 4.25-3.33 (m, 21H), 3.32-2.53 (m, 14H), 2.46-2.43 (m, 1H), 2.32-2.20 (m, 4H), 2.11 (s, 3H), 2.02-1.95 (m, 5H), 1.82-1.70 (m, 2H), 1.65-1.55 (m, 6H), 1.42-1.28 (m, 9H), 1.24 (s, 1H), 1.16-0.80 (m, 29H) ppm.

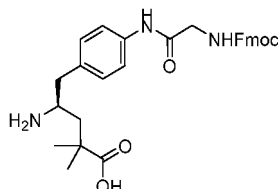


(4S)-5-(4-{{{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил} метокси)карбонил]амино} фенил)-2,2-диметил-4-({2-[(1R,3R)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пентилокси)пентанамидо]-1-[(метилкарбамоил)окси]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)пентановая кислота (LP15)

В соответствии с процедурой для линкер-нагрузки LP9, за исключением замены В-7а на С-4с, получили линкер-нагрузку LP15 (22 мг, выход 80%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 892.5 (M/2 + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.99 (s, 1H), 9.61 (s, 1H), 8.11-8.09 (m, 2H), 7.86 (d, J=9.2 Гц, 1H), 7.75 (t, J=5.6 Гц, 1H), 7.67-7.65 (m, 1H), 7.61-7.59 (m, 3H), 7.50-7.44 (m, 4H), 7.39-7.36 (m, 2H), 7.34-7.20 (m, 7H), 7.05 (d, J=8.4 Гц, 2H), 5.97 (t, J=5.6 Гц, 1H), 5.67 (d, J=11.2 Гц, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.04 (s, 3H), 4.78 (t, J=8.4 Гц, 1H), 4.40-4.34 (m, 1H), 4.23-4.19 (m, 2H), 4.11-4.09 (m, 1H), 4.03-3.92 (m, 3H), 3.65-3.53 (m, 6H), 3.09-2.90 (m, 8H), 2.86-2.81 (m, 1H), 2.76-2.63 (m, 3H), 2.55 (d, J=4.8 Гц, 3H), 2.46-2.43 (m, 2H), 2.39-2.31 (m, 2H), 2.26-2.16 (m, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.01-1.92 (m, 6H), 1.88-1.70 (m, 4H), 1.68-1.48 (m, 9H), 1.46-1.27 (m, 12H), 1.04 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 0.94 (d, J=6.8 Гц, 3H), 0.86-0.80 (m, 18H) ppm.

Синтез LP13, LP14, LP16, LP17, LP18, LP19, LP20, LP21, LP22, LP23 и LP24 (фиг. 10F)

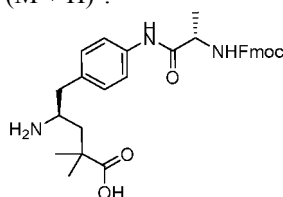


(4S)-4-амино-5-[4-(2-{{(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}ацетидамо)фенил]-2,2-диметилпентановая кислота (D-4а)

К раствору D-1 (Вос-А-2d) (0.34 г, 1.0 ммоль) в DCM (10 мл) добавили 2,6-лутидин (0.21 г, 2.0 ммоль) и Fmoc-Gly-Cl (D-2а) (0.45 г, 1.5 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 3 ч под контролем ЖХМС. Полученную смесь разбавили этилацетатом (50 мл), промыли водой и рассолом, высушили над безводным сульфатом натрия и сконцентрировали in vacuo. Остаток очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.3%)) и получи-

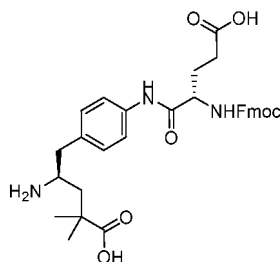
ли соединение D-3a (0.31 г, выход 50%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 516.3 (M - Вос + H)⁺.

К раствору D-3a (0.31 г, способ получения описан выше) в DCM (5 мл) добавили TFA (1.0 мл) и смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч до полного удаления Вос in vacuo под контролем ЖХМС. Летучие соединения удалили in vacuo и получили сырое соединение D-4b (0.30 г, выход из D-1 58%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 516.3 (M + H)⁺.



(4S)-4-амино-5-{4-[(2S)-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}пропанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (D-4b)

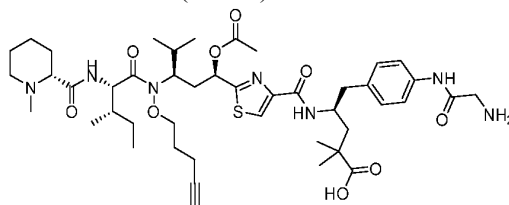
В соответствии с процедурой для соединения D-4a, за исключением замены D-2a на Fmoc-Ala-Cl (D-2b), получили соединение D-4b (0.31 г, выход из D-1 58%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 530.3 (M + H)⁺.



(4S)-4-амино-5-{4-[(2S)-4-карбокси-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}бутанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (D-4c)

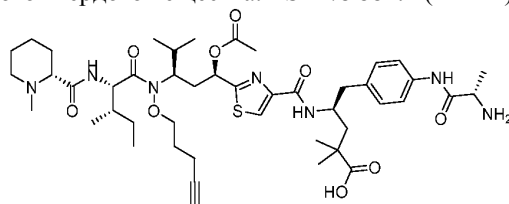
К раствору Fmoc-Glu(OtBu)-OH (0.64 г, 1.5 ммоль) в DCM (10 мл) добавили оксалилхлорид (4.5 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение часа. Полученную смесь сконцентрировали in vacuo и получили соединение Fmoc-Glu(OtBu)-Cl (D-2c), которое использовали на следующем этапе.

В соответствии с процедурой для соединения D-4a, за исключением замены D-2a на соединение D-2c (полученное способом, описанным выше), получили соединение D-4c (0.25 г, выход из D-1 43%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 588.3 (M + H)⁺.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил}-1,3-тиазол-4-ил)формамидо-5-[4-(2-аминоацетиламино)фенил]-2,2-диметилпентановая кислота (D-5a)

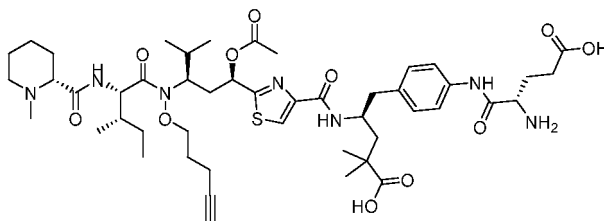
В соответствии с общей процедурой для VII и VIII из соединения D-4a, на которое воздействовали соединением A-1b, получили соединение Fmoc-D-5a (77 мг, выход 70%, ESI м/з 552.0 (M/2 + H)⁺) в виде белого твердого вещества, которое растворили в DMF (1 мл). К раствору добавили пиперидин (26 мг, 0.31 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч до полного удаления Fmoc под контролем ЖХМС. Полученный раствор очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (5-75% ацетонитрил в вод. бикарбонате аммония (10 мМ)) и получили соединение D-5a (26 мг, выход 50%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 882.4 (M + H)⁺.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил}-1,3-тиазол-4-ил)формамидо-5-{4-[(2S)-2-аминопропанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (D-5b)

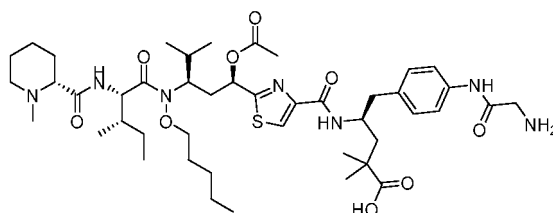
В соответствии с процедурой для соединения D-5a, за исключением замены D-4a на соединение D-

4b, получили соединение D-5b (25 мг, выход 55%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 896.5 (M + H)⁺.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-амино-4-карбоксібуганамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (D-5c)

В соответствии с процедурой для соединения D-5а, за исключением замены D-4а на соединение D-4с, получили соединение D-5с (30 мг, выход 63%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 478.0 (M/2 + H)⁺.

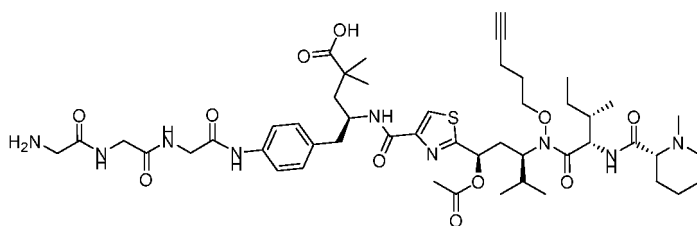


(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-[4-(2-аминоацетиламино)фенил]-2,2-диметилпентановая кислота (D-5d)

В соответствии с процедурой для соединения D-5а, за исключением замены A-1b на соединение A-1с, получили соединение D-5d (15 мг, выход 69%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з 886.2 (M + H)⁺.

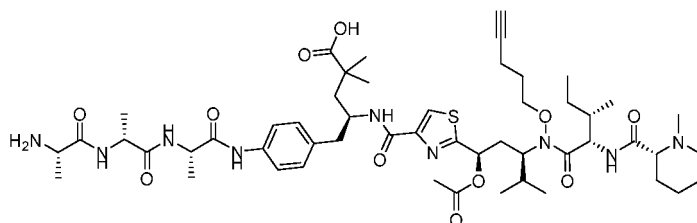
Общая процедура для соединений D-7.

К раствору соединения D-5 (1.0 эквив.) в DMF (6 мМ) добавили DIPEA (2.0 эквив.) и пептидный активный сложный эфир D-6 (1.0 эквив.) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 3 ч под контролем ЖХМС. К реакционной смеси добавили пиперидин (5.0 эквив.) и смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч до полного удаления Fmoc под контролем ЖХМС. Реакционную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (25-75% ацетонитрил в вод. бикарбонате аммония (10 мМ)) и получили соединение D-7 (выход 35-48%) в виде белого твердого вещества.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-{2-[2-(2-аминоацетиламино)ацетиламино]ацетиламино}фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (D-7а)

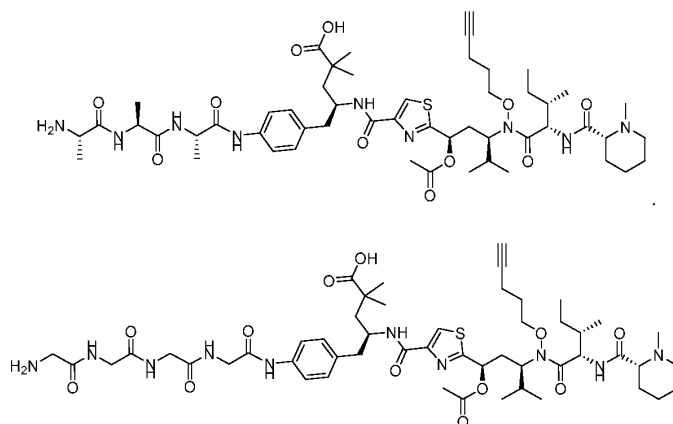
В соответствии с общей процедурой для соединений D-7 из D-5а, на которое воздействовали D-6а, получили соединение D-7а (28 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 498.7 (M/2 + H)⁺.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2R)-2-[(2S)-2-аминопропанамидо]пропанамидо]пропанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (D-7b)

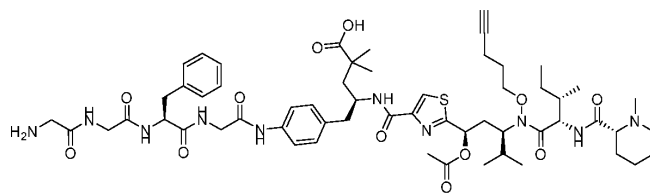
В соответствии с общей процедурой для соединений D-7 из D-5b, на которое воздействовали D-6b,

получили соединение D-7b (30 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 519.8 (M/2 + H)⁺. В соответствии с общей процедурой для соединений D-7, приготавливают следующее соединение



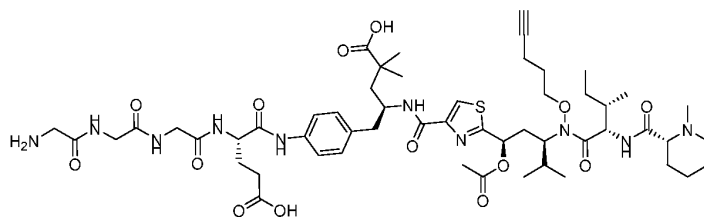
(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-[4-(2-{2-[2-(2-аминоацетиламино)ацетиламино]ацетиламино}ацетиламино)фенил]-2,2-диметилпентановая кислота (D-7c)

К раствору соединения D-7a (20 мг, 20 мкмоль) в DMF (3 мл) добавили Fmoc-Gly-OSu (8 мг, 20 мкмоль) и DIPEA (13 мг, 0.10 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 3 ч и затем добавили пиперидин (6.0 мг, 70 мкмоль). Смесь перемешивали при КТ еще на протяжении 2 ч до полного удаления Fmoc под контролем ЖХМС. Реакционную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (25-75% ацетонитрил в вод. бикарбонате аммония (10 мМ)) и получили соединение D-7c (10 мг, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 527.3 (M/2 + H)⁺.



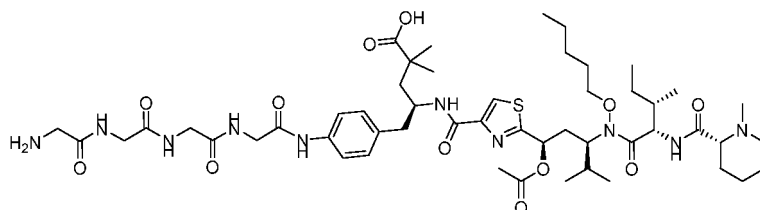
(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-{2-[(2S)-2-[2-(2-аминоацетиламино)ацетиламино]-3-фенилпропанамидо]ацетиламино}фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (D-7d)

В соответствии с общей процедурой для соединений D-7 из D-5a, на которое воздействовали D-6d, получили соединение D-7d (11 мг, выход 43%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 572.3 (M/2 + H)⁺.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-{2-[2-(2-аминоацетиламино)ацетиламино]ацетиламино}-4-карбоксибутанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (D-7e)

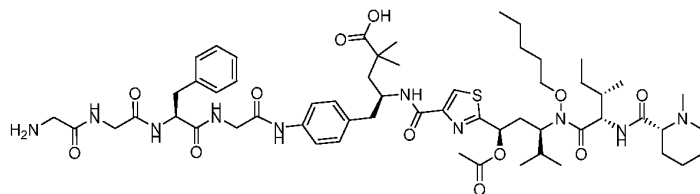
В соответствии с общей процедурой для соединений D-7 из D-5c, на которое воздействовали D-6c, получили соединение D-7e (15 мг, выход 34%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 563.3 (M/2 + H)⁺.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-

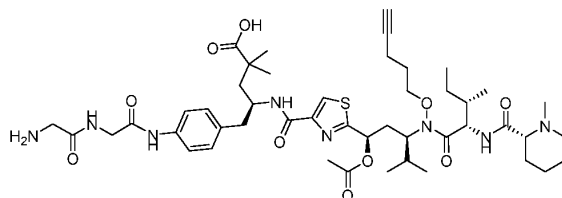
ил]формамидо}-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-[4-(2-{2-[2-(2-аминоацетида)ацетида]ацетида]ацетида]фенил]-2,2-диметилпентановая кислота (D-7f)

В соответствии с общей процедурой для соединений D-7 из D-5d, на которое воздействовали D-6с, получили соединение D-7е (10 мг, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 529.3 (M/2 + H)⁺.



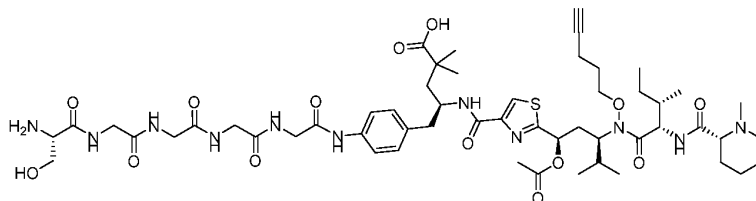
(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-{2-[(2S)-2-[2-(2-аминоацетида)ацетида]-3-фенилпропанамидо]ацетида]ацетида]фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (D-7g)

В соответствии с общей процедурой для соединений D-7 из D-5d, на которое воздействовали D-6d, получили соединение D-7g (11 мг, выход 48%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 574.3 (M/2 + H)⁺.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-{4-[2-(2-аминоацетида)ацетида]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (D-7h)

В соответствии с общей процедурой для соединений D-7 из D-5a, на которое воздействовали D-6е, получили соединение D-7h (9 мг, выход 48%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 470.3 (M/2 + H)⁺.

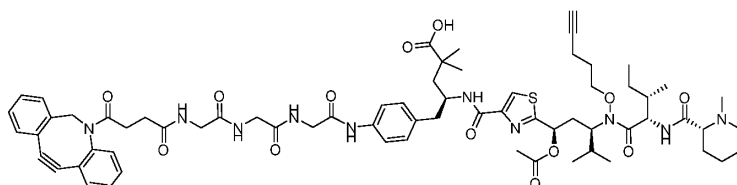


(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-(4-{2-[2-(2-{2-[(2S)-2-амино-3-гидроксипропанамидо]ацетида]ацетида]ацетида]фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (D-7i)

В соответствии с общей процедурой для соединений D-7 из D-5a, на которое воздействовали D-6f, получили соединение D-7i (8 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 570.8 (M/2 + H)⁺.

Общая процедура для линкер-нагрузок LP13, LP14, LP16, LP17, LP18, LP19, LP20, LP21, LP22, LP23 и LP24

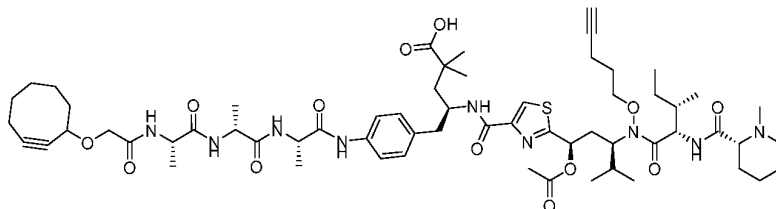
К раствору соединения D-7 (1.0 эквив.) (или соединения D-5) в DMF (10 мМ) добавили активированный сложный эфир D-8 (1.0 эквив.) и DIPEA (5.0 эквив.) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 3 ч под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (0-100% ацетонитрил в вод. бикарбонате аммония (10 мМ)) и получили линкер-нагрузку LP8-17 (33-87%) в виде белого твердого вещества.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил} формамидо)-5-[4-(2-{2-[2-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо]ацетида]ацетида]ацетида]фенил]-2,2-диметилпентановая кислота (LP13)

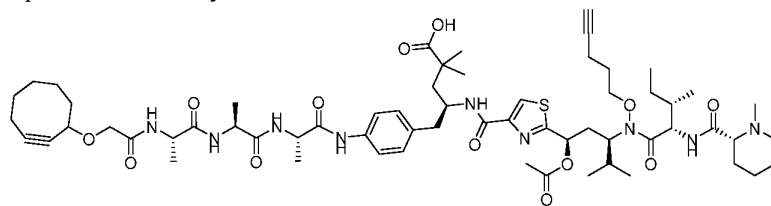
В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24 из D-7a, на которое воздействовали D-8a, получили линкер-нагрузку LP13 (10 мг, выход 33%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 642.5 (M/2 + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9.66 (s, 1H), 8.18-8.12 (m, 4H), 7.78-7.74 (m, 1H), 7.69-7.64 (m, 1H), 7.62-7.60 (m, 1H), 7.58-7.54 (m, 1H), 7.50-7.44 (m, 4H), 7.39-7.28 (m, 3H), 7.10 (d, J=8.0 Гц, 2H), 5.81 (d, J=11.2 Гц, 1H), 5.02 (d, J=14.4 Гц, 1H), 4.75 (t, J=7.2 Гц, 1H), 4.25-4.20 (m, 2H), 4.08-4.04 (m, 2H), 3.72 (t, J=4.4 Гц, 2H), 3.64-3.63 (m, 2H), 3.07-2.96 (m, 1H), 2.85-2.82 (m, 3H), 2.67-2.61 (m, 2H), 2.42-2.27 (m, 6H), 2.12 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.08-1.93 (m, 5H), 1.84-1.77 (m, 4H), 1.67-1.60 (m, 3H), 1.51-1.35 (m, 5H), 1.04 (d, J=10.8 Гц, 6H), 0.96-0.94 (m, 6H), 0.88-0.83 (m, 9H) ppm.

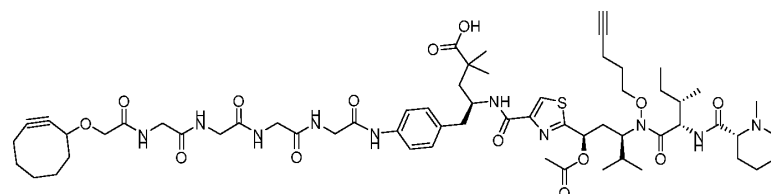


(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-2-[(2R)-2-[(2S)-2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]пропанамидо]пропанамидо]пропанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (LP18)

В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24 из D-7b, на которое воздействовали D-8b, получили линкер-нагрузку LP9 (12 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 601.8 (M/2 + H)⁺. В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24, можно приготовить следующее соединение



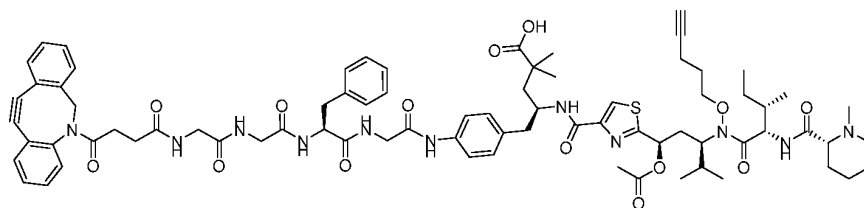
(LP14)



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-{2-[2-(2-{2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]ацетиламино]ацетиламино]ацетиламино]ацетиламино]фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (LP19)

В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24 из D-7c, на которое воздействовали D-8b, получили линкер-нагрузку LP19 (10 мг, выход 87%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 609.4 (M/2 + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.73 (s, 1H), 8.23-8.17 (m, 4H), 7.84 (t, J=5.0 Гц, 1H), 7.55 (d, J=9.5 Гц, 1H), 7.47 (d, J=8.0 Гц, 2H), 7.11 (d, J=8.0 Гц, 2H), 5.80 (d, J=10.5 Гц, 1H), 4.75 (t, J=8.5 Гц, 1H), 4.32-4.30 (m, 1H), 4.25-4.24 (m, 1H), 4.16-4.14 (m, 1H), 4.06-4.03 (m, 2H), 3.94-3.91 (m, 1H), 3.86-3.80 (m, 3H), 3.79-3.73 (m, 6H), 2.84-2.82 (m, 3H), 2.67-2.63 (m, 1H), 2.40-2.29 (m, 4H), 2.25-2.18 (m, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.02-1.90 (m, 6H), 1.87-1.73 (m, 6H), 1.62-1.55 (m, 6H), 1.48-1.32 (m, 5H), 1.18-1.17 (m, 2H), 1.12-1.06 (m, 1H), 1.03-0.95 (m, 9H), 0.88-0.81 (m, 9H) ppm.

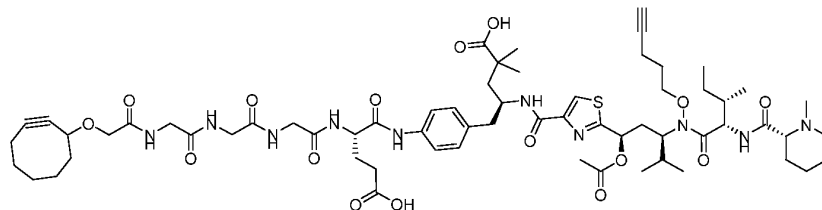


(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-{2-[(2S)-2-2-[2-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-

оксобутанамидо]ацетиамидо]ацетиамидо}-3-фенилпропанамидо]ацетиамидо}фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (LP20)

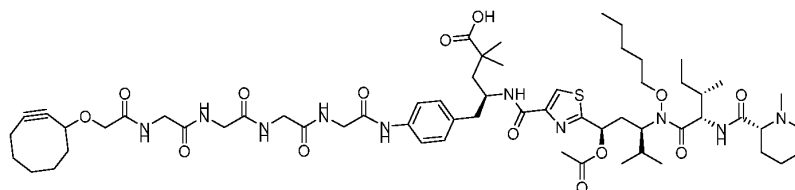
В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24 из D-7d, на которое воздействовали D-8a, получили линкер-нагрузку LP20 (11 мг, выход 80%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 716.0 (M/2 + H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.73 (s, 1H), 8.37-8.35 (m, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.10-8.09 (m, 1H), 8.05-7.99 (m, 1H), 7.88-7.78 (br s, 1H), 7.69-7.63 (m, 1H), 7.59-7.52 (m, 2H), 7.50-7.42 (m, 5H), 7.37-7.27 (m, 3H), 7.26-7.24 (m, 4H), 7.21-7.16 (m, 2H), 7.11 (d, J=8.5 Гц, 2H), 5.82 (d, J=11.0 Гц, 1H), 5.23-4.98 (m, 1H), 4.76 (t, J=8.0 Гц, 1H), 4.51-4.47 (m, 1H), 4.26-4.23 (m, 2H), 4.06-4.05 (m, 2H), 3.86-3.82 (m, 2H), 3.78-3.69 (m, 1H), 3.62-3.51 (m, 4H), 3.06-3.04 (m, 2H), 2.85-2.78 (m, 4H), 2.70-2.63 (m, 2H), 2.37-2.27 (m, 4H), 2.13 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.03-1.94 (m, 5H), 1.84-1.78 (m, 4H), 1.66-1.61 (m, 3H), 1.56-1.52 (m, 1H), 1.47-1.36 (m, 4H), 1.20-1.14 (m, 1H), 1.05 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 0.95 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.89-0.82 (m, 9H) ppm.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-{4-[(2S)-4-карбоксокси-2-[2-(2-{2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиамидо]ацетиамидо}ацетиамидо]бутанамидо]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (LP21)

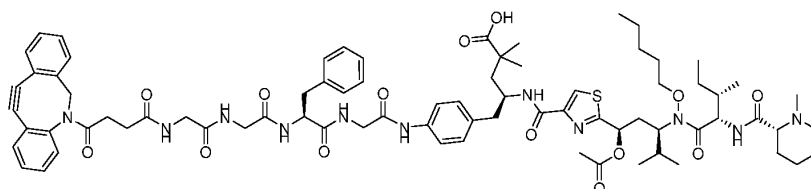
В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24 из D-7e, на которое воздействовали D-8b, получили линкер-нагрузку LP21 (10 мг, выход 58%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 645.4 (M/2 + H)⁺.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-{2-[2-(2-{2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиамидо]ацетиамидо}ацетиамидо]ацетиамидо]ацетиамидо}фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (LP23)

В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24 из D-7f, на которое воздействовали D-8b, получили линкер-нагрузку LP23 (8 мг, выход 69%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 611.5 (M/2 + H)⁺.

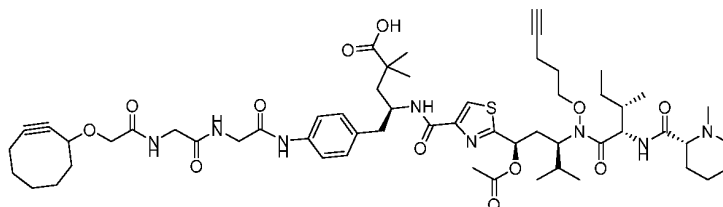
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.73 (s, 1H), 8.23-8.15 (m, 4H), 7.85-7.78 (m, 2H), 7.49-7.46 (m, 3H), 7.11-7.10 (m, 2H), 5.80 (d, J=10.5 Гц, 1H), 4.81-4.78 (m, 1H), 4.33-4.30 (m, 1H), 4.25-4.16 (m, 2H), 4.09-4.04 (m, 1H), 3.98-3.92 (m, 2H), 3.86-3.80 (m, 3H), 3.79-3.73 (m, 6H), 2.85-2.83 (m, 1H), 2.80-2.76 (m, 1H), 2.70-2.64 (m, 1H), 2.44-2.42 (m, 1H), 2.39-2.32 (m, 1H), 2.27-2.14 (m, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.08-2.05 (m, 1H), 2.03-1.90 (m, 5H), 1.85-1.70 (m, 4H), 1.68-1.51 (m, 8H), 1.48-1.29 (m, 9H), 1.20-1.15 (m, 1H), 1.06 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 0.96 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.89-0.83 (m, 12H) ppm.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамидо}-N-(пентилокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил}формамидо)-5-(4-{2-[(2S)-2-{2-[2-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо]ацетиамидо]ацетиамидо}-3-фенилпропанамидо]ацетиамидо}фенил)-2,2-диметилпентановая кислота (LP24) В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24 из D-7g, на которое воздействовали D-8a, получили линкер-нагрузку LP24 (11 мг, выход 80%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 718.0 (M/2 + H)⁺.

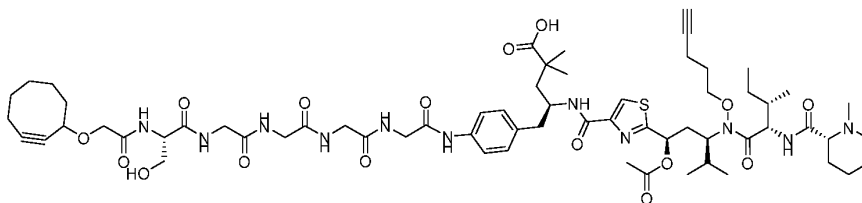
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.26 (s, 1H), 8.37-8.33 (m, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.12-8.08 (m, 1H), 8.04-

7.97 (m, 1H), 7.82-7.75 (br s, 1H), 7.69-7.63 (m, 1H), 7.58 (t, J=6.5 Гц, 1H), 7.48-7.43 (m, 6H), 7.35-7.29 (m, 3H), 7.24-7.23 (m, 4H), 7.21-7.16 (m, 2H), 7.11 (d, J=7.5 Гц, 2H), 6.65 (s, 1H), 5.80 (d, J=10.0 Гц, 1H), 5.32 (t, J=4.5 Гц, 1H), 5.02-4.98 (m, 1H), 4.80 (t, J=8.0 Гц, 1H), 4.52-4.47 (m, 1H), 4.24-4.22 (m, 1H), 4.16-4.15 (m, 1H), 4.08-4.04 (m, 1H), 3.97-3.95 (m, 1H), 3.87-3.81 (m, 2H), 3.77-3.69 (m, 3H), 3.64-3.58 (m, 6H), 3.07-3.04 (m, 1H), 2.85-2.76 (m, 2H), 2.70-2.63 (m, 2H), 2.44-2.42 (m, 1H), 2.37-2.36 (m, 1H), 2.35-2.27 (m, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.02-1.96 (m, 5H), 1.94-1.91 (m, 1H), 1.80-1.78 (m, 2H), 1.68-1.61 (m, 4H), 1.56-1.53 (m, 1H), 1.47-1.44 (m, 2H), 1.39-1.30 (m, 5H), 1.06 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 0.95 (d, J=6.5 Гц, 3H), 0.89-0.81 (m, 9H) ppm.



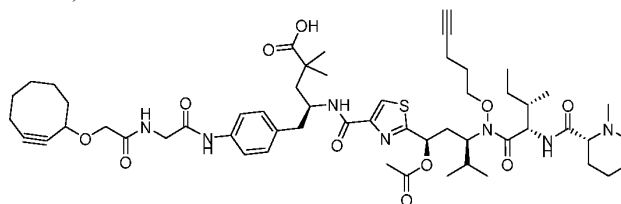
(4S)-4-(2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил)формамидо-5-[4-(2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]ацетамидо)ацетамидо)фенил]-2,2-диметилпентановая кислота (LP17)

В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24 из D-7h, на которое воздействовали D-8b, получили линкер-нагрузку LP17 (5 мг, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 552.3 (M/2 + H)⁺.



(4S)-4-(2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил)формамидо-5-(4-[2-[2-(2-[(2S)-2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]-3-гидроксипропанамидо]ацетамидо)ацетамидо]ацетамидо)фенил]-2,2-диметилпентановая кислота (LP22)

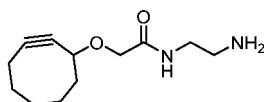
В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24 из D-7i, на которое воздействовали D-8b, получили линкер-нагрузку LP22 (4 мг, выход 44%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 653.0 (M/2 + H)⁺.



(4S)-4-(2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-[(2R)-1-метилпиперидин-2-ил]формамидо]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамидо]пентил]-1,3-тиазол-4-ил)формамидо-5-(4-[2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]ацетамидо]фенил]-2,2-диметилпентановая кислота (LP16)

В соответствии с общей процедурой для линкер-нагрузок LP13, LP14 и LP16-LP24 из D-5a, на которое воздействовали D-8b, получили линкер-нагрузку LP16 (10 мг, выход 48%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 523.8 (M/2 + H)⁺.

Синтез LP25 и LP26 (фиг. 10G)

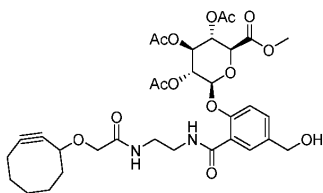


N-(2-аминоэтил)-2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамид (E-1)

К раствору этилендиамина (0.71 г, 12 ммоль) в DMF (2.0 мл) медленно добавили DIPEA (0.30 г, 2.4 ммоль) и раствор соединения D-8b (0.33 г, 1.2 ммоль) в DMF (3.0 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. бикарбонате аммония (0.8 мМ)) и получили соединение E-1 (0.18 г, выход 68%) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 225.2 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7.74-7.63 (m, 1H), 4.28 (t, J=5.8 Гц, 1H), 3.88-3.73 (m, 2H), 3.11-3.00

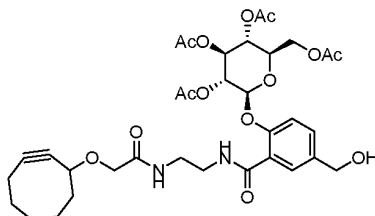
(m, 4H), 2.58 (t, J=6.4 Гц, 2H), 2.27-2.06 (m, 3H), 1.94-1.71 (m, 4H), 1.66-1.54 (m, 2H), 1.45-1.33 (m, 1H) ppm.



Метил (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-трис(ацетилокси)-6-[2-({2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиамидо]этил} карбамоил)-4-(гидрокси-метил)фенокси]оксан-2-карбоксилат (E-3a)

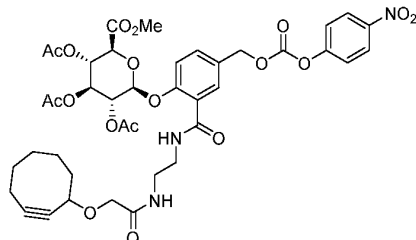
К смеси соединения E-2a (синтезированного в соответствии с WO 2018182341 A1) (0.11 г, 0.23 ммоль) и HATU (96 мг, 0.25 ммоль) в сухом DMF (4 мл) добавили соединение E-1 (51 мг, 0.23 ммоль) и DIPEA (89 мг, 0.69 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов до полного разрушения E-2a под контролем ЖХМС. Полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в вод. TFA (0.01%)) и получили соединение E-3a (0.14 г, выход 90%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 691.4 (M + H)⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.06-8.04 (m, 1H), 7.64-7.59 (m, 1H), 7.50-7.47 (m, 1H), 7.22-7.18 (m, 1H), 7.01-6.98 (m, 1H), 5.44-5.28 (m, 5H), 4.68 (s, 2H), 4.30-4.21 (m, 2H), 4.10-4.06 (m, 1H), 3.93-3.88 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.67-3.48 (m, 2H), 2.21-2.07 (m, 15H), 1.93-1.79 (m, 3H), 1.70-1.38 (m, 3H) ppm.



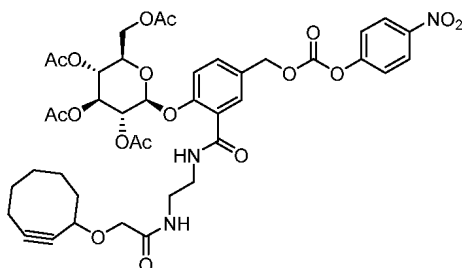
[(2R,3R,4S,5R,6S)-3,4,5-трис(ацетилокси)-6-[2-({2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиамидо]этил} карбамоил)-4-(гидрокси-метил)фенокси]оксан-2-ил]метилацетат (E-3b)

В соответствии с процедурой для E-3a, за исключением замены E-2a на E-2b, получили соединение E-3b (0.10 г, выход 80%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 705.3 (M + H)⁺.



Метил (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-трис(ацетилокси)-6-[2-({2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиамидо]этил} карбамоил)-4-{{(4-нитрофеноксикарбонил)окси}метил} фенокси]оксан-2-карбоксилат (E-4a)

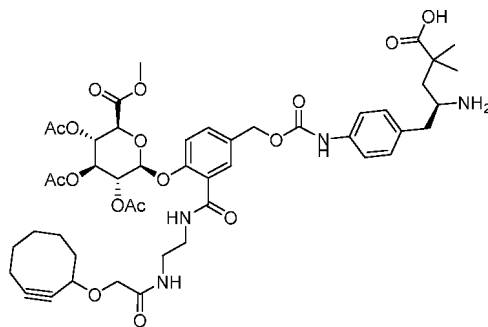
К раствору соединения E-3a (0.14 г, 0.20 ммоль) в DMF (2.0 мл) добавили бис(4-нитрофенил)карбонат (55 мг, 0.18 ммоль) и DIPEA (26 мг, 0.20 ммоль) при 0°C в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин и затем при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавили водой (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (20 мл × 3). Объединенный органический раствор промыли рассолом (10 мл), высушили над безводным сульфатом натрия и сконцентрировали in vacuo. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (40-60% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение E-4a (85 мг, выход 49%) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 856.0 (M + H)⁺.



[(2R,3R,4S,5R,6S)-3,4,5-трис(ацетилокси)-6-[2-({2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиамидо]этил} карбамоил)-4-{{(4-нитрофеноксикарбонил)окси}метил} фенокси]оксан-2-

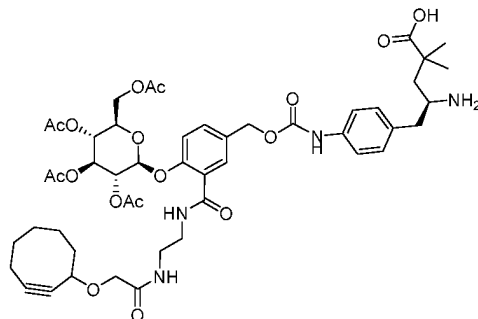
ил]метилацетат (E-4b)

В соответствии с процедурой для E-4a, за исключением замены E-3a на E-3b, получили соединение E-4b (62 мг, выход 50%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 870.3 (M + H)⁺.



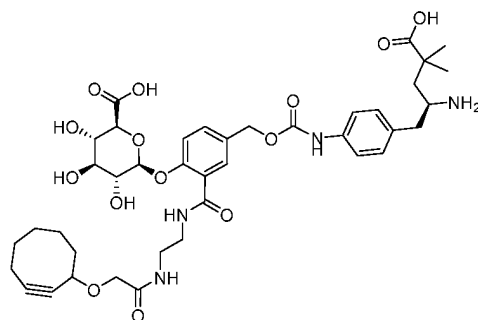
(4S)-4-амино-5-{{4-[[{3-({2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетидамо]этил} карбамоил)-4-{{(2S,3R,4S,5S,6S)-3,4,5-трис(ацетилокси)-6-(метоксикарбонил)оксан-2-ил}окси}фенил]метокси} карбонил)амино]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (E-5a)

В соответствии с процедурой для C-2a, за исключением замены C-1a на E-4a, получили соединение E-5a (30 мг, выход 63%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 953.3 (M + H)⁺.



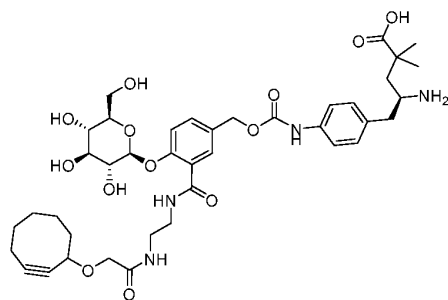
(4S)-4-амино-5-{{4-[[{3-({2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетидамо]этил} карбамоил)-4-{{(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-трис(ацетилокси)-6-[(ацетилокси)метил]оксан-2-ил}окси}фенил]метокси} карбонил)амино]фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (E-5b)

В соответствии с процедурой для C-2a, за исключением замены C-1a на E-4b, получили соединение E-5b (28 мг, выход 58%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 967.3 (M + H)⁺.



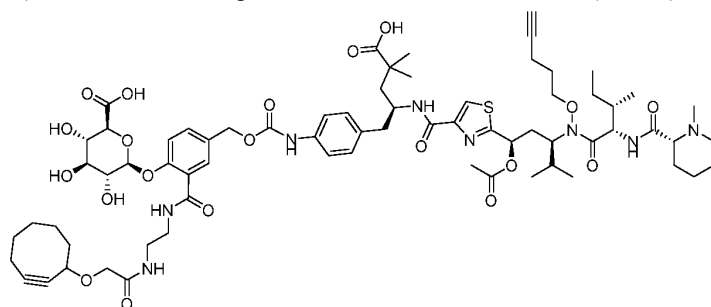
(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-{{4-[(2S)-2-амино-4-карбокси-4,4-диметилбутил]фенил} карбамоил)-окси}метил)-2-((2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетидамо]этил} карбамоил)фенокси)-3,4,5-тригидроксиоксан-2-карбоновая кислота (E-6a)

К смеси соединения E-5a (30 мг, 31 мкмоль) в метаноле (4 мл) добавили вод. гидроксид лития (0.1 М, 4 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение часа под контролем ЖХМС. После охлаждения вод. HCl (1N) до pH 4 полученную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (5-95% ацетонитрил в вод. TFA (0.01%)) и получили линкер-нагрузку E-6a (18 мг, выход 70%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 813.3 (M + H)⁺.



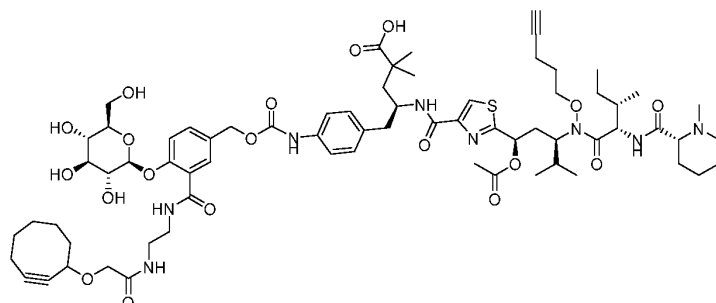
(4S)-4-амино-5-{{3-({2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]этил} карбамоил)-4-{{(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксан-2-ил}окси}фенил}метокси}карбонил)амино}фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (E-6b)

В соответствии с процедурой для E-6a, за исключением замены E-5a на E-5b, получили соединение E-6b (18 мг, выход 78%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 799.3 (M + H)⁺.



(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-{{4-[(2S)-2-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамино}]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамино]пентил}-1,3-тиазол-4-ил}формамино)-4-карбокси-4,4-диметилбутил}фенил} карбамоил)окси}метил}-2-({2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]этил} карбамоил)фенокси)-3,4,5-тригидроксиоксан-2-карбоновая кислота (LP25)

В соответствии с общей процедурой для VII и VIII, за исключением замены A-2 на E-6a, получили линкер-нагрузку LP25 (10 мг, выход 36%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 701.3 (M/2 + H)⁺.



(4S)-4-({2-[(1R,3R)-1-(ацетилокси)-4-метил-3-[(2S,3S)-3-метил-2-{{(2R)-1-метилпиперидин-2-ил}формамино}]-N-(пент-4-ин-1-илокси)пентанамино]пентил}-1,3-тиазол-4-ил}формамино)-5-{{3-({2-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]этил} карбамоил)-4-{{(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксан-2-ил}окси}фенил}метокси}карбонил)амино}фенил}-2,2-диметилпентановая кислота (LP26)

В соответствии с общей процедурой для VII и VIII, за исключением замены A-2 на E-6b, получили линкер-нагрузку LP26 (8 мг, выход 29%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 694.3 (M/2 + H)⁺.

Конъюгация ADC.

Несайт-специфические конъюгации малеимид-спейсер-нагрузок с антителом показаны на фиг. 13, а сайт-специфические конъюгации DIBAC-спейсер-нагрузок с азидо-функционализированным антителом посредством [3+2] клик-реакции показаны на фиг. 14.

Общая процедура для несайт-специфической конъюгации.

В данном примере демонстрируется способ конъюгации малеимид-спейсер-нагрузки с межцепочечными цистеинами антитела или антигенсвязывающего фрагмента посредством образования тиоэфирной связи. В данном примере используются соединения, изображенные на фиг. 13.

Конъюгация через цистеины антитела выполнялась в два этапа с использованием способов, схожих со способами для приготовления Adcetris®-подобных конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC) (см. Mol. Pharm. 2015, 12(6), 1863-71). Моноклональное антитело (mAb) (10 мг/мл в 50 mM HEPES, 150 mM NaCl) при pH 7-8 восстановили с помощью 1 mM дитиотреитола (6 молярный эквив. антитела) или TCEP (2.5 молярные эквиваленты антитела) при 37°C в течение 30 мин. После гель-

фльтрации (G-25, pH 6.3, ацетат натрия), соединение LP1 при 1-10 мг/мл в DMSO добавили к восстановленному антителу и реакционную смесь перемешивали в течение 3-14 ч при КТ. Полученную смесь очистили посредством эксклюзионной хроматографии (SEC) и получили чистый конъюгат ADC.

Общая процедура для сайт-специфической конъюгации.

В данном примере демонстрируется способ сайт-специфической конъюгации циклооктин-линкер-нагрузки с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В данном примере используются соединения, изображенные на фиг. 14.

В данном примере сайт-специфические конъюгаты получили в два этапа. Первый этап представлял собой ферментное присоединение на основе микробной транслугтаминазы (MTG) малой молекулы, например, азидо-PEG₃-амина, к антителу с мутацией N297Q (далее именуется "конъюгация на основе MTG"). Второй этап включал присоединение циклооктин-спейсер-нагрузки к азидо-функционализованному антителу посредством [2+3] циклоприсоединения, например, 1,3-диполярного циклоприсоединения между азидом и циклооктином (также известно как клик-химия без соединений меди). См. Baskin, J. M.; Prescher, J. A.; Laughlin, S. T.; Agard, N. J.; Chang, P. V.; Miller, I. A.; Lo, A.; Codelli, J. A.; Bertozzi, C. R. PNAS 2007, 104 (43), 16793-7. На фиг. 14 показан пример линкер-спейсер-нагрузки с DIBAC группой, конъюгированной с азидо-функционализованным антителом посредством [2+3] циклоприсоединения. В результате данного процесса получили сайт-специфические и стехиометрические конъюгаты с фактическим выходом 50-80%.

Этап 1. Приготовление азидо-функционализованного антитела.

Агликозилированное человеческое антитело IgG (IgG1, IgG4 и т.д.) или изотип человеческого IgG1 с мутацией N297Q, в PBS (pH 6.5-8.0) смешали с ≥ 200 молярными эквивалентами азидо-PEG₃-амина (MW = 218.26 г/моль). Полученный раствор смешали с MTG (ЕС 2.3.2.13 от Zedira, Дармштадт, Германия, или ACTIVA TI, который содержит Мальтодекстрин, от Ajinomoto, Япония) (25 ед/мл; 5 ед MTG на мг антитела), в результате чего конечная концентрация составила 0.5-5 мг/мл антитела, и затем раствор инкубировали при 37°C в течение 4-24 ч с осторожным перемешиванием. Реакцию контролировали посредством ESI-MS. После завершения реакции избыточный амин и MTG удалили посредством эксклюзионной хроматографии (SEC) или колоночной хроматографии на основе белка А и получили азидо-функционализованное антитело. Данный продукт охарактеризовали посредством SDS-PAGE.

В рамках эксперимента антитело N297Q (24 мг) в 7 мл фосфатно-солевого буферного раствора без содержания калия (pH 7.3) инкубировали с > 200 молярными эквивалентами азидо-PEG₃-амина (MW = 218.26) в присутствии MTG (0.350 мл, 35 ед, mTGase, Zedira, Дармштадт, Германия). Реакционную смесь инкубировали при 37°C на протяжении ночи с осторожным перемешиванием. Избыточный азидо-PEG₃-амин и mTGase удалили посредством эксклюзионной хроматографии (SEC, Superdex 200 PG, GE Healthcare).

Этап 2. Приготовление сайт-специфических конъюгатов посредством [2+3] клик-реакции между азидо-функционализованными глутаминил-модифицированными антителами (IgG1, IgG4 и т.д.) и содержащей циклооктин линкер-нагрузкой (LP) в табл. 7.

В общем, конъюгат азидо-функционализованное антитело-LP приготовили посредством инкубирования азидо-функционализованного глутаминил-модифицированного антитела (1 мг) в 1 мл водной среды (например, PBS, PBS с содержанием 5% глицерина, HBS) с ≥ 6 молярными эквивалентами LP, растворенными в подходящем органическом растворителе (например, DMSO, DMF или DMA; реакционная смесь содержит 10-20% органического растворителя, об./об.) при 24°C-32°C в течение более 3 ч. Течение реакции контролировали посредством ESI-MS.

Отсутствие азидо-функционализованного антитела (mAb-PEG₃-N₃) указывало на завершение конъюгации. Избыточную линкер-нагрузку (LP) и органический растворитель удалили посредством эксклюзионной хроматографии (Waters, Superdex 200 Increase, 1.0 x 30 см, GE Healthcare, расход 0.8 мг/мл, PBS, pH 7.2) с элюированием PBS, или посредством колоночной хроматографии на основе белка А через элюирование кислым буфером с последующей нейтрализацией при помощи Tris (pH 8.0). Очищенный конъюгат проанализировали посредством SEC, SDS-PAGE и ESI-MS.

В конкретном примере азидо-функционализованное антитело (1 мг) в 0.800 мл PBSg (PBS, 5% глицерин, pH 7.4) подвергали воздействию шести эквивалентов DIBAC-Suc-PEG4-VC-PABC-нагрузки (конц. 10 мг/мл в DMSO) в течение 6 ч при КТ и избыточную линкер-нагрузку (LP) удалили посредством эксклюзионной хроматографии (SEC, Superdex 200 HR, GE Healthcare). Конечный продукт сконцентрировали посредством ультрацентрифугирования и охарактеризовали посредством UV, SEC, SDS-PAGE и/или ESI-MS.

В табл. 7 представлены LP, голые антитела (анти-PRLR Ab, анти-Fel D1 Ab и анти-STEAP2 Ab), PEG₃-N₃ функционализованные антитела (анти-PRLR N297Q Ab-PEG₃-N₃, анти-FelD1 N297Q Ab-PEG₃-N₃ и анти-STEAP2 N297Q Ab-PEG₃-N₃) и их соответствующие конъюгаты (ADC). В табл. 7 Ab означает антитело, а Ab-PEG₃-N₃ означает азидо-функционализованное антитело с PEG₃ спейсером. Антитела к PRLR имели HCVR и LCVR согласно SEQ ID № 9 и 13 (H1H6958N2 выше). Антитела к STEAP2 имели HCVR и LCVR согласно SEQ ID № 1 и 5 (H1H7814N, выше).

Таблица 7

Список сайт-специфических конъюгатов

Линкер-нагрузка (LP)		Конъюгаты Ab, N297Q Ab-PEG ₃ -N ₃ или N297Q Ab-LP тубулизина		
Обозначение	МВ	Название	МВ (Да)	Отношение DAR
		Анти-PRLR Ab	144591	
PEG ₃ -N ₃	218	Анти-PRLR N297Q Ab-PEG ₃ -N ₃	145387	4
Ex1	1656.9	Анти-PRLR N297Q Ab-LP7	152028	3.9
Ex2	1761.9	Анти-PRLR N297Q Ab-LP3	152438	3.9
Ex3	1763.9	Анти-PRLR N297Q Ab-LP4	152454	3.9
		Анти-Fel D1 Ab (несвязывающий контроль)	145439	
PEG ₃ -N ₃	218	Анти-Fel D1 N297Q Ab-PEG ₃ -N ₃	146235	4
Ex4	1656.9	Анти-Fel D1 N297Q Ab-LP7	152879	4
Ex5	1761.9	Анти-Fel D1 N297Q Ab-LP3	153291	3.8
Ex6	1763.9	Анти-Fel D1 N297Q Ab-LP4	153307	3.8
		Анти-STEAP2 Ab	143986	
PEG ₃ -N ₃	218	Анти-STEAP2 N297Q Ab-PEG ₃ -N ₃	144785	4
Ex7	1656.9	Анти-STEAP2 N297Q Ab-LP7	151410	3.8
Ex8	1761.9	Анти-STEAP2 N297Q Ab-LP3	151833	3.8
Ex9	1763.9	Антитело к STEAP2 N297Q-LP4	151849	3.8
Ex10	1782.9	Анти-STEAP2 N297Q Ab-LP2	151911	3.8

Общая процедура для анализа антитела и конъюгатов ADC.

Очищенные конъюгаты проанализировали посредством SEC (фиг. 15), ESI-MS и SDS-PAGE.

Анализ ADC посредством эксклюзионной хроматографии SEC.

Аналитические эксперименты посредством SEC провели с использованием прибора Waters 1515, на колонке Superdex™ 200 Increase (1.0×30 см), с расходом 0.80 мл/мин с применением PBS pH 7.2 и под контролем при $\lambda = 280$ нм с использованием Waters 2998 PDA. Образец для анализа состоял из 200 мкл PBS (pH 7.4) с 30-100 мкл контрольного образца. Выполняли препаративные очистки посредством SEC с использованием прибора AKTA Avant от GE Healthcare, на колонке Superdex 200 PG (2.6×60 см), с расходом в 2 мл/мин с элюированием с использованием PBS pH 7.2, с контролем при $\lambda = 280$ нм. Результаты SEC на фиг. 15 показывают типичное время удерживания для мономерных mAb и их конъюгатов, с минимальной агрегацией или деградацией.

Анализ ADC посредством LC-ESI-MS.

Измерение массы исходного вещества для образцов ADC выполнили посредством LC-ESI-MS для определения профилей распределения лекарственное средство-нагрузка и вычисления среднего отношения DAR. Каждый анализируемый образец (20-50 нг, 5 мкл) ввели в колонку Acquity UPLC Protein BEH C₄ (10К фунтов на кв. дюйм, 300 Å, 1.7 мкм, 75 мкм × 100 мм; кат. № 186003810). После обессоливания в течение 3 мин белок элюировали и масс-спектры получили при помощи масс-спектрометра Waters Synapt G2-SL Как указано в табл. 7, у большинства сайт-специфических ADC - приблизительно 4DAR.

Анализ ADC посредством SDS-PAGE.

Для анализа целостности и чистоты конъюгатов ADC применили SDS-PAGE. Согласно одному способу, условия SDS-PAGE включали невосстановленные и восстановленные образцы (2-4 мкг) с набором предварительно окрашенных маркерных белков BenchMark Pre-Stained Protein Ladder (Invitrogen, кат. № 10748-010; № партии 1671922.), которые ввели на дорожку в (1.0 mM × 10 лунок) Novex 4-20% трис-глициновом геле, и анализировали при 180 В, 300 мА в течение 80 мин. Образец для анализа приготовили с использованием трис-глицинового SDS буфера Novex (2X) (Invitrogen, кат. № LC2676) и восстановленный образец приготовили с использованием SDS буфера для образца (2X) с содержанием 10% 2-меркаптоэтанола.

Стабильность в плазме *in vitro*.

Для определения стабильности в плазме репрезентативных конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC), содержащих нагрузки тубулизина, ADC инкубировали *in vitro* с плазмой от различных видов, и отношение DAR оценивали после инкубации при физиологической температуре (37°C) на протяжении 3 дней.

В целях анализа каждый образец ADC (антитело к PRLR-LP3 или антитело к PRLR-LP4) в фосфатно-солевом буферном растворе добавили к свежей объединенной плазме самца мыши, яванского макака, крысы или человека, по-отдельности, с конечной концентрацией в 50 мкг/мл в 96-луночном планшете и затем инкубировали при 37°C в течение 72 ч. После инкубации каждый образец (конечный объем 100 мкл) по-отдельности заморозили при -80°C до проведения анализа.

Аффинный захват конъюгатов ADC из образцов плазмы выполнили на процессоре магнитных частиц KingFisher 96 (Thermo Electron). Сначала биотинилированный внеклеточный домен человеческого PRLR, экспрессированного с мус-мус гексагистидиновой меткой (hPRLR ecto-ММН; SEQ ID № 17; 100 мкг/мл) иммобилизовали на покрытых стрептавидином парамагнитных микроносителях (In vitrogen, кат. № 60210). Каждый образец плазмы, содержащий конъюгаты ADC с тубулизином (100 мкл), смешивали на 600 об/мин с 100 мкл микроносителей (стандартный носитель коммерческих микроносителей) при комнатной температуре в течение 2 ч в 96-луночном планшете. Затем микроносители промыли три раза 600 мкл HBS-EP (GE healthcare, кат. № BR100188), один раз 600 мкл H₂O и затем один раз 600 мкл 10% ацетонитрила в воде. После промывок конъюгаты ADC с тубулизином элюировали инкубированием микроносителей с 70 мкл 1% муравьиной кислоты в смеси 30% ацетонитрил/70% вода в течение 15 мин при комнатной температуре. Каждый образец элюата затем перенесли в 96-луночный планшет с v-образным дном и затем восстановили с 5 мМ TCEP (Thermo Fisher, кат. № 77720) при комнатной температуре в течение 20 мин.

Восстановленные образцы конъюгатов ADC с тубулизином (10 мкл/образец) ввели в колонку 1.7 мкм VEN300 C4 (Waters Corporation, кат. № 186005589), соединенную с масс-спектрометром Waters Synapt G2-SL. Расход составлял 0.1 мл/мин (подвижная фаза А: 0.1% муравьиная кислота в воде; подвижная фаза В: 0.1% муравьиная кислота в ацетонитриле). LC градиент начинался с 20% В и повышался до 35% В за 16 мин, затем достигал 95% В за 1 мин.

Деконволюция полученных спектров была выполнена с использованием программного обеспечения MaxEntl (Waters Corporation) со следующими параметрами: диапазон массы: 20-30 кДа для легкой цепи и 40-60 кДа для тяжелой цепи; диапазон м/з: 700 Да-3000 Да; разрешение: 1.0 Да/канал; ширина на полувысоте: 1.0 Да; минимальные коэффициенты интенсивности: 33%; макс. итерация: 25.

Значительной потери линкер-нагрузок по результатам наблюдений проанализированных конъюгатов ADC после инкубирования в течение 72 ч с плазмой человека, мыши, крысы и яванского макака не было. Тем не менее, сообщалось о том, что можно выполнить гидролиз ацетильной группы нагрузок тубулизина до гидроксильной группы (-43 Да) со значительным снижением токсичности. Следовательно, гидролизованные виды, наблюдаемые при ЖХ-МС, посчитали потерей лекарственного средства. Отношение лекарственное средство/антитело (DAR), показанное в табл. 8, рассчитали на основании относительной интенсивности различных видов тяжелых цепей, что описано далее:

$$\text{Отношение лекарственное средство/антитело (DAR)} = \frac{2 \times \text{интенсивность (тяжелая цепь с 2 лекарственными средствами)} + 1 \times \text{интенсивность (тяжелая цепь с 1 лекарственным средством)}}{\text{Суммарная интенсивность (тяжелая цепь с 2, 1 и 0 лекарственных средств)}}$$

Таблица 8

Стабильность в плазме *in vitro* антитело к PRLR N297Q-LP3 и антитело к PRLR N297Q-LP4

Тип плазмы, использованный для инкубации	Антитело к PRLR N297Q-LP3 (DAR=3.8 на 0 ч) DAR после 72 часов инкубации	Антитело к PRLR N297Q-LP4 (DAR=4.0 на 0 ч) DAR после 72 часов инкубации
Плазма мыши	2.7	2.7
Тип плазмы, использованный для инкубации	Антитело к PRLR N297Q-LP3 (DAR=3.8 на 0 ч) DAR после 72 часов инкубации	Антитело к PRLR N297Q-LP4 (DAR=4.0 на 0 ч) DAR после 72 часов инкубации
Плазма яванского макака	2.7	2.7
Плазма крысы	2.7	2.6
Человеческая плазма	3.0	3.0

Исследование нагрузок тубулизина в клеточном киллинг-анализе.

Для изучения способности описанных нагрузок тубулизина к киллингу человеческих клеточных линий провели анализ цитотоксичности *in vitro*. Цитотоксичность *in vitro* описанных нагрузок, а также контрольных соединений, оценили с помощью набора для анализа CellTiter-Glo Assay Kit (Promega, кат. № G7573), в котором количество присутствующего АТФ используется для определения числа жизнеспособных клеток в культуре. Для анализа клетки C4-2, НЕК293 или T47D высевали с концентрацией 4000 клеток на лунку на белые 96-луночные планшеты Nunclon в готовую питательную среду (DME с высоким содержанием глюкозы: среда Хэма F12 с 4:1, 10% FBS, 100 единиц/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 53 мкг/мл глутатмина, 10 мкг/мл инсулина, 220 нг/мл биотина, 12.5 пг/мл Т3, 12.5 мкг/мл

аденина, 4 мкг/мл трансферрина для клеток C42; DME с высоким содержанием глюкозы, 10% FBS, 100 единиц/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 53 мкг/мл глутатмина для HEK293; RPMI, 10% FBS, 100 единиц/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 53 мкг/мл глутатмина, 10 мкг/мл инсулина, 10 мМ HEPES, 200 нМ пирувата натрия для клеток T47D) и выращивали на протяжении ночи при 37°C в 5% CO₂. Для получения кривых жизнеспособности клеток 1:3 последовательно разбавленных нагрузок добавили к клеткам с конечными концентрациями, варьирующимися от 100 нМ до 15 пМ, включая контрольную группу без лечения, и затем их инкубировали в течение 5 дней. После инкубации в течение 5 дней клетки инкубировали при комнатной температуре с 100 μ л реактивов CellTiter-Glo в течение 10 мин. Относительные единицы люминесценции (RLU) определили на планшет-ридере Victor (PerkinElmer). Значения IC₅₀ определили на основании четырехпараметрического логистического уравнения по 10-точечной характеристике (GraphPad Prism). Все значения IC₅₀ выражаются в молярной (M) концентрации. Клеточный киллинг в процентах (% киллинг) при максимальной анализируемой концентрации определяли на основании следующей формулы (100 - % жизнеспособных клеток). Были включены средние значения \pm стандартное отклонение (SD) в случае, когда выполнялись повторные эксперименты.

Как показано в табл. 9, здесь нагрузки продемонстрировали киллинг клеток C4-2 со значениями IC₅₀ от 16.4 пМ до >100 нМ, и максимальный % клеточный киллинг от 8.9% до 96.7%. Подгруппа описанных нагрузок, подвергнутых анализу, продемонстрировала киллинг клеток HEK293 со значениями IC₅₀ от 57.2 пМ до >100 нМ, и максимальный % клеточный киллинг от 4.7% до 88.5%. Подгруппа описанных нагрузок, подвергнутых анализу, продемонстрировала киллинг клеток T47D со значениями IC₅₀ от 35 пМ до >100 нМ, и максимальный % клеточный киллинг от 14.6% до 84.5%. Контрольное соединение, ММАЕ, продемонстрировало киллинг клеток C4-2 со значениями IC₅₀ в 283 пМ и максимальный % клеточный киллинг в 93.7%.

Таблица 9

Цитотоксичность в клетках C4-2, HEK293 и T47D по нагрузкам тубулизина и контрольным соединениям

Соединение	C4-2		T47D		HEK293	
	IC ₅₀ (M)	% киллинг	IC ₅₀ (нМ)	% киллинг	IC ₅₀ (нМ)	% киллинг
TubA	1.09E-10	96.4	HA	HA	HA	HA
IVa	6.53E-11	95.2	HA	HA	HA	HA
IVa'	1.08E-08	94.7	1.06E-08	81.9	1.44E-08	74.8
Va	8.03E-10	92.1	HA	HA	HA	HA
VIa	1.86E-09	94.1	HA	HA	HA	HA
VId	2.4E-09 \pm 2.2E-09	95.5 \pm 2.6	2.51E-09	68.4	5.26E-09	78.5
VIc	1.33E-09 \pm 1.11E-09	95.5 \pm 1.8	HA	HA	HA	HA
VIe	8.22E-09 \pm 6.1E-09	94.4 \pm 0.2	2.27E-09	72.7	4.77E-09	76.7
VIb	1.20E-08	96.5	1.36E-08	76.2	2.03E-08	75.4
Va'	1.62E-08	96.5	HA	HA	HA	HA
Vj	5.31E-08 \pm 6.64E-08	68.5 \pm 39.2	>1.00E-07	14.6	>1.00E-07	4.7
Vk	HO	HO	>1.00E-07	HA	>1.00E-07	HA
Vi	6.333E-09 \pm 1.39 E-09	96.4 \pm 0.5	4.66E-09	71.3	6.79E-09	81.4

Vh	5.09E-10	92	4.58E-10	64.5	7.18E-10	85.6
IVg	1.36E-10	91.7	4.13E-10	62.9	5.39E-10	86.5
IVd	1.64E-11 ± 7.13E-12	93.7 ± 1.8	3.50E-11	84.5	5.72E-11	85.4
Vc	3.60E-11	91.7	6.77E-11	64.9	1.13E-10	86.9
Ve	<4.7E-11	92.6	7.31E-11	69.8	1.03E-10	88.5
IVc	9.24E-11	92.2	2.05E-10	81.4	3.07E-10	84.8
Vd	3.84E-10	91.3	4.44E-10	66	5.90E-10	86.3
IVh	6.47E-10 ± 4.86E-11	82 ± 2.8	1.86E-09	71.6	1.76E-09	82.5
Vb	7.00E-11 ± 4.25E-11	92.3 ± 1.7	1.44E-10	66.5	2.89E-10	87.8
IVe	7.42E-11	91.8	1.55E-10	67.2	2.81E-10	86.7
IVf	2.29E-10	93.8	7.82E-10	67.1	1.64E-09	86.0
Vf	9.00E-10	90	3.96E-10	68	6.66E-10	83.8
Vg	3.69E-10	93.2	5.35E-10	65.2	7.00E-10	86.4
IVj	7.16E-09	94.5	1.77E-08	79.9	1.76E-08	75.5
IVk	>4.0E-08	66.7	4.74E-08	68.5	4.30E-08	62.7
IVl	>2.0E-08	86.5	4.25E-08	66.1	3.98E-08	65.2
VI	3.12E-10	93.9	3.02E-10	63.2	3.83E-10	85.6
IVm	>1.00E-07	8.9	HA	HA	HA	HA
IVn	>1.00E-07	30.2	HA	HA	HA	HA
VIg	>1.00E-07	10.9	HA	HA	HA	HA
VIh	1.59E-10	93.9	HA	HA	HA	HA
IVo	2.62E-10	93.4	HA	HA	HA	HA
IVp	1.77E-10	94.2	HA	HA	HA	HA
IVs	4.99E-11	93.8	HA	HA	HA	HA
IVt	1.10E-10	94.2	HA	HA	HA	HA
IVu	1.14E-10	93.9	HA	HA	HA	HA
IVvA	1.09E-08	96.7	HA	HA	HA	HA
IVy	1.82E-09	94.4	HA	HA	HA	HA
IVw	>1.00E-07	27.9	HA	HA	HA	HA
IVvB	2.15E-11	94.6	HA	HA	HA	HA
VII	2.8E-11 (0.028 нМ)	HA	HA	HA	HA	HA
IX	5.4E-11 (0.054 нМ)	HA	HA	HA	HA	HA
X	6E-11 (0.060 нМ)	HA	HA	HA	HA	HA
ММАЕ	2.87E-10 ± 9.35E-11	93.7 ± 2.5	HA	HA	HA	HA

HA = не анализировалось.

Исследование нагрузок тубулизина в киллинг-анализе для клеток с МЛУ.

Для определения способности описанных нагрузок тубулизина провели анализ цитотоксичности с использованием клеточной линии с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) с вепарамиллом или без вепарамилла, лекарственного средства, которое позволяет преодолеть лекарственную устойчивость (Cancer Res. 1989 Sep 15;49(18):5002-6). Цитотоксичность *in vitro* описанных нагрузок, а также контрольных соединений оценили так, как было описано выше, за исключением использования клеток 1000 НСТ15, клеточной линии колоректальной карциномы, в питательной среде (RPMI, 10% FBS, 100 единиц/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 53 мкг/мл глутатмина) с 5 мкг/мл вепарамилла и без него.

Как показано в табл. 10, в отсутствие вепарамилла нагрузки по настоящему изобретению продемонстрировали киллинг клеток НСТ15 со значениями IC_{50} от 20 пМ до >100 нМ и максимальный % клеточный киллинг от -3.8 до 99.7%. В присутствии вепарамилла нагрузки по настоящему изобретению продемонстрировали киллинг клеток НСТ15 со значениями IC_{50} от 15 пМ до > 100 нМ и максимальный % клеточный киллинг от -0.4% до 99.1%. Для каждой нагрузки НСТ-15 IC_{50} в отсутствие вепарамилла разделили на НСТ-15 IC_{50} в присутствии вепарамилла (НСТ-15 IC_{50} /НСТ-15 + Вепарамилл IC_{50}). У некоторых нагрузок коэффициенты были < 2.0, что указывало на то, что влияние на эти нагрузки многокомпонентных эффлюксных насосов является минимальным. У контрольного соединения, М4 (ММАЕ), был коэффициент 23.7.

Цитотоксичность по нагрузкам тубулизина и контрольным соединениям в клетках НСТ15 с верапамилом или без него

Соединение	НСТ-15		НСТ-15 + верапамил		НСТ15 IC ₅₀ / НСТ-15 +Верапамил IC ₅₀
	IC ₅₀ (M)	% киллинг	IC ₅₀ (M)	% киллинг	
TubA	5.09E-10	99.1	1.28E-10	99.1	4.0
Va	3.63E-09	98	2.15E-10	99.1	16.9
VIa	5.80E-09 ± 7.8E-09	97 ± 1.9	2.55E-10	98.4 ± 0.7	16.6 ± 9.9
VIId	>3.00E-08	78.7	4.82E-10	99	>62.2
VIc	1.32E-08	94	2.86E-10	98.8	46.3
VIe	>1.00E-07	36.6	2.95E-10	98.8	>338.6
VIb	>5.00E-08	54.7	2.88E-09	97.8	>17.3
Va'	>1.00E-07	20.9	2.41E-09	98.8	>41.5
Vj	>1.00E-07	-3.8	3.92E-08	77.4	>2.6
Vk	1.00E-07	41.5	4.27E-08	83	>2.3
Vh	1.47E-09	97.7	5.87E-10	98.1	2.5
IVg	4.60E-10	97.1	3.28E-10	97.5	1.4
IVd	5.7E-11 ± 2.01E-11	98.2 ± 0.5	4.07E-11 ± 2.2E-11	97.7 ± 1.8	1.57 ± 0.5
Vc	4.75E-10	97.6	1.46E-10	96.7	3.3
Ve	2.73E-10 ± 1.24E-10	98.6 ± 0.7	6.54E-11 ± 5.36E-11	98.2 ± 1.2	5.6 ± 2.7
IVc	3.02E-10	99.2	1.13E-10	98	2.7
Vd	1.93E-09	99.7	3.52E-10	98.7	5.5
IVb	1.51E-10	98	1.03E-10	98.1	1.5
IVh	2.5E-09 ± 3.33E-09	94.6 ± 3.5	HA	HA	HA
Vb	1.20E-10 ± 1.40E-10	98.8 ± 0.7	3.65E-11 ± 3.12	98.2 ± 0.5	2.8 ± 0.9
IVe	2.95E-10	95.8	1.00E-10	97.6	3.0
IVf	5.54E-10	96.4	6.86E-10	97.7	0.8
Vf	3.36E-09	96.5	3.75E-10	98	9.0
Vg	5.30E-10	94.9	2.37E-10	98	2.2
IVj	7.80E-09	96.4	5.56E-09	98.4	1.4
IVk	>30E-09	48.3	>30E-09	87.2	1.0
IVl	2.50E-08	91.6	1.37E-08	93.6	1.8
VIf	2.06E-09	99.1	8.54E-11	98.8	24.1
IVn	>3.0E-08	30.9	>3.0E-08	72.4	1.0
VIIh	2.63E-10	99	7.16E-11	97.8	3.7
IVo	3.70E-10	98.6	1.09E-10	97.6	3.5
IVp	2.39E-10	98.7	8.64E-11	97.6	2.8
IVr	8.93E-11	99.1	6.24E-11	99	1.4
IVq	4.23E-11 ± 2.21	98.4 ± 0.8	2.25E-11 ± 4.5 E-12	98.6 ± 0.7	1.8 ± 0.6
IVs	1.08E-10	99.1	4.59E-11	98.8	2.4
IVvA	5.27E-09	99.2	1.97E-09	97.1	2.7
IVw	9.73E-09	95.9	4.49E-09	98.3	2.2
IVvB	2.50E-11	97.3	1.50E-11	97.7	1.3
VIIi	(0.410 нМ)		(0.217 нМ)		
VII	1.31E-10 (0.131 нМ)	HA	2.16E-10 (0.216 нМ)	HA	0.61
VIII	(0.295 нМ)	HA	(0.106 нМ)	HA	
IX	(0.171 нМ)	HA	(0.162 нМ)	HA	
X	(0.097 нМ)		(0.116 нМ)		
MMAE	1.77E-08 ± 1.36E-08	97.1 ± 3.7	7.82E-10 ± 4.11E-10	98.4 ± 0.5	23.7 ± 12.0

HA = не анализировалось.

Исследование нагрузок тубулизина в панели клеточных линий с МЛУ.

Для дальнейшего исследования способности описанных нагрузок тубулизина был проведен анализ цитотоксичности с использованием панели клеточных линий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Цитотоксичность *in vitro* описанных нагрузок и контрольных соединений оценивали так, как было описано выше, за исключением использования клеток НСТ-15, клеточной линии колоректальной карциномы; Н69AR, резистентного к доксорубину производного клеточной линии мелкоклеточного рака легкого NCI-H69 с МЛУ; MES-SA/MX2, резистентного к митоксантрону производного клеточной линии саркомы матки MES-SA с МЛУ; и HL60/MX2, резистентного к митоксантрону производного клеточной линии острого промиелоцитарного лейкоза HL60 с МЛУ. В ходе этих анализов цитотоксичность оценивали в нормальной питательной среде (RPMI, 10% FBS, 100 единиц/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 53 мкг/мл глутатмина для НСТ-15 и HL60/MX2; RPMI, 20% FBS, 100 единиц/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 53 мкг/мл глутатмина для Н69-AR; среда Веймаута: среда МакКоя (1:1), 10% FBS, 100 единиц/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 53 мкг/мл глутатмина для MES-SA/MX2) с 1000 клеток на лунку после 72 ч и 144 ч инкубации с нагрузками. Как показано в табл. 11 и 12, несколько нагрузок обеспечили киллинг всей панели клеточных линий с МЛУ с суб нМ IC₅₀ и до околоопорных уровней, что указывало на то, что эти нагрузки позволяют преодолеть МЛУ в исследуемых линиях.

Таблица 11

Цитотоксичность в клетках HL60/MX2 и MES-SA/MX2 по нагрузкам тубулизина и контрольным соединениям

Соединение	HL60/MX2				MES-SA/MX2			
	IC ₅₀		% киллинг		IC ₅₀		% киллинг	
	72ч	144ч	72ч	144ч	72ч	144ч	72ч	144ч
TubA	<1.5E-11	<1.5E-11	98	100	5.73E-10	1.33E-09	98.6	99.9
Va	5.53E-10	1.40E-10	96.8	99.9	>1E-07	>1E-07	80.1	69.8
Vh	1.73E-10	<1.5E-11	97.5	99.9	2.98E-09	8.15E-09	98.4	99.8
IVg	1.24E-10	<1.5E-11	98.5	100	8.38E-10	9.99E-10	99.6	100
IVd	<1.5E-11	<1.5E-11	98.6	99.9	5.41E-11	1.30E-10	99.5	100
Vc	<1.5E-11	<1.5E-11	98.4	99.9	8.95E-11	2.99E-10	99.2	100
Ve	<1.5E-11	<1.5E-11	98.3	100	5.20E-10	7.34E-10	98.9	100
IVc	<1.5E-11	<1.5E-11	97.7	99.9	3.74E-10	6.04E-10	98.2	99.9
IVh	1.11E-09	<1.5E-11	96.4	100	7.49E-09	8.80E-09	98.5	99.9
Vb	<1.5E-11	<1.5E-11	97.9	100	2.13E-10	1.04E-09	99.6	99.9
IVe	<1.5E-11	<1.5E-11	97.3	99.9	7.86E-10	2.81E-09	99.6	99.9
IVf	2.22E-10	<1.5E-11	97.2	100	2.57E-09	3.82E-09	99.1	99.9
Vg	1.31E-10	6.10E-11	98	99.9	3.54E-09	5.30E-09	98	99.8
Vlh	3.91E-11	<1.5E-11	97.6	99.9	1.26E-09	2.72E-09	98.5	99.8
IVo	3.76E-11	<1.5E-11	98.1	100	1.12E-09	2.96E-09	98.9	99.9
IVp	2.37E-11	<1.5E-11	97.5	99.9	7.92E-10	1.66E-09	98.8	99.9
IVr	<1.5E-11	<1.5E-11	98.7	100	1.51E-10	1.76E-10	99.1	100
IVx	9.55E-10	7.70E-10	96.9	100	>1E-07	>1E-07	62.1	33.6
Vli	<1.5E-11	<1.5E-11	98.8	99.9	1.49E-10	1.98E-10	99.3	99.9
VI	1.37E-10	<1.5E-11	97	99.9	4.76E-09	6.91E-09	98.6	99.9
IVq	<1.5E-11	<1.5E-11	98.6	100	5.89E-11	1.05E-10	99.4	100
IVs	<1.5E-11	<1.5E-11	98.4	100	1.02E-10	2.10E-10	99.2	100
IVt	<1.5E-11	<1.5E-11	98.4	100	4.47E-10	7.40E-10	99.3	100
IVu	<1.5E-11	<1.5E-11	98	99.9	5.35E-10	1.21E-09	98.8	100
IVvB	<1.5E-11	<1.5E-11	98.2	99.8	4.56E-11	6.58E-11	99.1	99.9
MMAE	4.18E-10	1.64E-10	88.7	99.6	3.73E-08	6.83E-10	65.6	58.1

Цитотоксичность в клетках HCT-15 и H69AR по нагрузкам тубулизина и контрольным соединениям

Соединение	HCT-15				H69AR			
	IC ₅₀		% киллинг		IC ₅₀		% киллинг	
	72ч	144ч	72ч	144ч	72ч	144ч	72ч	144ч
IVa	1.66E-10	3.18E-10	97.8	99.6	7.49E-10	1.38E-09	96.1	99.3
VIa	5.42E-09	7.17E-09	94	98.9	1.60E-08	8.01E-08	83.5	91.6
Vh	8.71E-10	1.27E-09	97	99.6	2.59E-09	4.21E-09	93.7	98.4
IVg	1.70E-10	2.23E-10	97.6	99.5	5.53E-10	5.71E-10	95.7	99.2
IVd	8.88E-12	2.95E-11	97.6	99.7	5.64E-11	1.33E-10	96.9	99.5
Vc	3.30E-11	6.75E-11	97.6	99.7	1.54E-10	2.87E-10	96.6	99.4
Ve	9.22E-11	1.58E-10	97.5	99.7	3.31E-10	5.59E-10	96.6	99.5
IVc	1.25E-10	1.65E-10	97.3	99.8	3.60E-10	7.25E-10	96.6	99.3
IVh	1.52E-09	1.53E-09	95.4	99.7	2.93E-09	3.30E-09	90.2	97.5
Vb	6.23E-11	1.27E-10	97.8	99.7	2.72E-10	6.60E-10	97	99.4
IVe	1.33E-10	2.30E-10	98.1	99.6	5.85E-10	1.26E-09	96.5	99
IVf	4.19E-10	3.96E-10	96.9	99.8	1.33E-09	1.55E-09	94.6	98.9
Vg	6.80E-10	9.16E-10	97.6	99.5	2.13E-09	2.72E-09	94.2	98.4
Vih	3.66E-10	5.15E-10	97.9	99.7	1.07E-09	1.73E-09	96.3	99.1
IVo	2.47E-10	3.48E-10	97.3	99.7	7.79E-10	1.27E-09	96.2	99.1
IVp	1.81E-10	2.31E-10	97.6	99.7	6.44E-10	1.12E-09	96.3	99.2
IVr	4.01E-11	6.21E-11	98	99.7	1.37E-10	2.11E-10	96.7	99
IVx	3.45E-08	8.48E-08	84.4	91	>1E-07	>1E-07	48.7	38
VIi	2.55E-11	5.44E-11	97.9	99.7	1.45E-10	2.31E-10	96.7	99.2
VI	1.50E-09	1.72E-09	96.3	99.7	5.03E-09	6.62E-09	90.4	97.4
IVq	<1.5E-11	2.77E-11	98	99.8	6.42E-11	1.28E-10	96.9	99.5
IVs	3.71E-11	5.01E-11	97.6	99.7	1.61E-10	2.81E-10	96.8	99.4
IVt	1.43E-10	1.80E-10	97.6	99.8	4.86E-10	8.19E-10	96.3	99.3
IVu	1.34E-10	2.42E-10	97.9	99.8	6.34E-10	1.04E-09	96.4	99
IVvB	<1.5E-11	2.28E-11	97.7	99.6	5.99E-11	1.58E-10	96.9	99.1
MMAE	1.68E-08	HO	93.7	HO	9.23E-10	6.83E-10	66.8	92.7

Исследование конъюгатов ADC, содержащих нагрузки тубулизина, при анализе клеточного киллинга.

Были разработаны биоисследования для оценки эффективности антитела к PRLR, конъюгированного с описанными нагрузками тубулизина и контрольными нагрузками. Цель разработки заключалась в оценке активности нагрузок тубулизина после интернализации конъюгатов антитела к PRLR-тубулизин в клетки, высвобождения нагрузки и последующей цитотоксичности. Для данного исследования была создана линия HCT15, экспрессирующая человеческий полноразмерный PRLR (учетный номер NP000940.1). Полученная стабильная клеточная линия называется здесь HCT15/PRLR. Цитотоксичность *in vitro* описанных нагрузок, контрольных соединений и анализируемых конъюгатов ADC оценивали так, как было описано в данном примере, с использованием клеток HCT15/PRLR с или без 5 мкг/мл верапамила, разведенного в нормальной культуральной среде. Соединения исследовали с концентрациями, начиная с 100 нМ с 3-кратным последовательным разведением. Все значения IC₅₀ выражаются в нМ концентрации, и клеточный киллинг в процентах (% киллинг) при максимальной анализируемой концентрации определяли на основании следующей формулы (100 - % жизнеспособных клеток). Эти данные указаны в табл. 13.

Как показано в табл. 13, в отсутствие верапамила конъюгаты антитела к PRLR с описанными линкер-нагрузками, антитело к PRLR-LP3 и антитело к PRLR-LP4, продемонстрировали цитотоксичность в исследовании для клеток HCT15/PRLR при значении IC₅₀ в 0.525 нМ, с максимальным клеточным киллингом в 90%; и при значении IC₅₀ в 3.31 нМ, с максимальным клеточным киллингом в 65%, соответственно. В этих условиях один конъюгат изотипического контроля, изотипический контроль-LP3, продемонстрировал незначительный киллинг клеток HCT15/PRLR с максимальным киллингом в 51%, однако значение IC₅₀ составляло >50 нМ. В отсутствие верапамила другой изотипический контроль, изотипический контроль-LP4, не продемонстрировал значительного киллинга клеток HCT15/PRLR. В этих услови-

ях свободные нагрузки по изобретению, IVd и Ve, продемонстрировали киллинг клеток HCT15/PRLR со значениями IC₅₀ в 0.037 нМ и 0.203 нМ, и максимальный клеточный киллинг в 99% и 99%, соответственно.

В присутствии верапамила конъюгаты антитела к PRLR с описанными линкер-нагрузками, антитело к PRLR-LP3 и антитело к PRLR-LP4, продемонстрировали цитотоксичность в исследовании для клеток HCT15/PRLR при значении IC₅₀ в 0.309 нМ, с максимальным клеточным киллингом в 91%; и при значении IC₅₀ в 0.196 нМ, с максимальным клеточным киллингом в 91%, соответственно. В этих условиях два конъюгата изотипического контроля, изотипический контроль-LP3 и изотипический контроль-LP4, продемонстрировали киллинг клеток HCT15/PRLR со значением IC₅₀ более 50 нМ, и максимальный клеточный киллинг в 82%; и значением IC₅₀ более 50 нМ и максимальный клеточный киллинг в 76%, соответственно. В этих условиях описанные свободные нагрузки, IVd и Ve, продемонстрировали киллинг клеток HCT15/PRLR со значениями IC₅₀ в 0.015 нМ и 0.033 нМ, и максимальный клеточный киллинг в 99% и 99%, соответственно. Неконъюгированное антитело к PRLR не продемонстрировало киллинг клеток HCT15/PRLR в присутствии или в отсутствие верапамила.

Таблица 13

Цитотоксичность в клетках HCT15/PRLR с верапамилем или без него по нагрузкам тубулизина, контрольным соединениям и ADC

Испытуемый образец	IC ₅₀ (нМ) на HCT15/PRLR без верапамила	% киллинг на HCT15/PRLR без верапамила	IC ₅₀ (нМ) на HCT15/PRLR с верапамилем	% киллинг на HCT15/PRLR с верапамилем
Антитело к PRLR-LP3	0.525	90	0.309	91
Антитело к PRLR-LP4	3.305	65	0.196	91
Изотипический контроль-LP3	нМ>50 нМ	51	нМ>50 нМ	82
Изотипический контроль-LP4	НЗ	НЗ	нМ>50 нМ	76
IVd (нагрузка LP3)	0.037	99	0.015	99
Ve (нагрузка LP4)	0.203	99	0.033	99
Антитело к PRLR	нМ>50 нМ	0	нМ>50 нМ	0

НЗ = Незначительный киллинг при анализируемых концентрациях.

Для дальнейшего исследования способности описанных нагрузок тубулизина, контрольных соединений и конъюгатов антитело-лекарственное средство с использованием этих нагрузок выполнили анализ цитотоксичности, с использованием клеток С4-2 так, как было описано в данном примере (см. выше). Для этих исследований антитела к STEAP2 конъюгировали с выбранными нагрузками тубулизина и соединения проанализировали при концентрациях, начиная с 100 нМ с 3-кратным последовательным разведением. Все значения IC₅₀ выражаются в нМ концентрации, и клеточный киллинг в процентах (% киллинг) при максимальной анализируемой концентрации определяли на основании следующей формулы (100 - % жизнеспособных клеток). Эти данные указаны в табл. 14.

Как показано в табл. 14, конъюгаты антитела к STEAP2 с описанными линкер-нагрузками, антитело к STEAP2-LP3, антитело к STEAP2-LP4 и антитело к STEAP2-LP5 продемонстрировали цитотоксичность в исследовании с использованием клеток С4-2 при значении IC₅₀ в 0.097 нМ, с максимальным киллингом в 99%; значения IC₅₀ в 0.15 нМ, с максимальным киллингом в 99%; и значения IC₅₀ в 0.28 нМ с максимальным киллингом в 96%, соответственно. Контрольный конъюгат ADC, антитело к STEAP2-ММАЕ, продемонстрировал цитотоксичность в исследовании для клеток С4-2 со значением IC₅₀ в 0.53 нМ, с максимальным киллингом в 99%. Все три изотипических контроля, изотипический контроль-LP3, изотипический контроль-LP4 и изотипический контроль-ММАЕ, продемонстрировали незначительный киллинг клеток С4-2 только при максимальных анализируемых концентрациях с максимальным киллингом в 16%-48%, но значение IC₅₀ >100 нМ. В этих условиях IVd (свободная нагрузка LP3) и Ve (свободная нагрузка LP4) продемонстрировали киллинг клеток С4-2 со значениями IC₅₀ в 0.022 нМ и 0.063 нМ, и обе продемонстрировали максимальный киллинг в 99%. Свободная контрольная нагрузка ММАЕ продемонстрировала киллинг клеток С4-2 со значением IC₅₀ в 0.22 нМ и максимальный киллинг в 99%. Неконъюгированное антитело к STEAP2 не продемонстрировало киллинг клеток С4-2.

Таблица 14

Цитотоксичность в клетках C4-2 по нагрузкам тубулизина, контрольным соединениям и конъюгатам ADC

Исследуемые образцы	IC ₅₀ (нМ)	% киллинг
Антитело к STEAP2-LP3	0.097	99
Антитело к STEAP2-LP4	0.15	99
Антитело к STEAP2-ММАЕ	0.53	99
Изотипический контроль-LP3	нМ>50 нМ	48
Изотипический контроль-LP4	нМ>50 нМ	34
Изотипический контроль-ММАЕ	нМ>50 нМ	16
Анти-STEAP2 Ab	нМ>50 нМ	0
IVd (нагрузка LP3)	0.022	99
Ve (нагрузка LP4)	0.063	99
ММАЕ (нагрузка LP8)	0.22	99

Антитела к STEAP2.

Для определения эффективности *in vivo* антител к STEAP2, конъюгированных с тубулизинами, были проведены исследования на иммуноскомпрометированных мышах с ксенотрансплантатами STEAP2-позитивных клеток C4-2 рака простаты.

Для данного исследования 7.5×10^6 клеток C4-2 (ATCC, кат. № CRL-3314), которые эндогенно экспрессируют STEAP2, суспендировали в матригеле Matrigel (BD Biosciences, кат. № 354234) и подкожно имплантировали в левый бок самцам мышей CB17 SCID (Taconic, Hudson NY). После того, как опухоли достигли среднего объема в 220 мм^3 (приблизительно на День 15), мышей рандомизировали в группы по 7 и ввели им по одной дозе либо конъюгированных антител к STEAP2 (антитело к STEAP2-LP3, антитело к STEAP2-LP4, антитело к STEAP2-ММАЕ), конъюгированных антител изотипического контроля или носителя с 2.5 мг/кг посредством инъекции в хвостовую вену. Опухоли измеряли два раза в неделю до того момента, когда средний размер опухоли в группе, получавшей носитель, достиг 1500 мм^3 . Размер опухоли рассчитывали при помощи формулы $(\text{длина} \times \text{ширина}^2)/2$ и затем вычисляли средний размер опухоли +/- СОС. Ингибирование роста опухоли вычисляли в соответствии со следующей формулой: $(1 - ((T_{\text{кон.}} - T_{\text{перв.}})/(C_{\text{кон.}} - C_{\text{перв.}}))) \times 100$, где получающая лечение группа (Т) и контрольная группа (С) представляют среднюю массу опухоли в день, когда размер в группе, получающей носитель, достиг 1500 мм^3 .

В данном исследовании антитело к STEAP2, конъюгированное с ММАЕ, сравнили с антителом к STEAP2, конъюгированным с линкер-нагрузками тубулизина (антитело к STEAP2-LP3 и антитело к STEAP2-LP4), в отношении их способности к уменьшению размера опухоли C4-2. Как указано в табл. 15, лечение контрольным конъюгатом антитело к STEAP2-ММАЕ обусловило среднее ингибирование роста опухоли в 81% по завершении исследования. Для сравнения, лечение конъюгатами антитело к STEAP2-LP3 и антитело к STEAP2-LP4, продемонстрировало, в среднем, уменьшение роста опухоли в 108% и 97%, соответственно. Лечение конъюгатами ADC изотипического контроля обусловило среднее уменьшение роста опухоли в 31-33%. Антитела к STEAP2 содержали мутации N297Q.

Таблица 15
Ингибирование роста в опухоли C4-2 в конце исследования у мышей SCID,
которым вводили конъюгаты антител к STEAP2

Группа лечения	Средний конечный размер опухоли мм ³ (среднее ± СОС)	Среднее ингибирование роста опухоли (%)
Фосфатно-солевой буфер, носитель	1539 ± 177	0
Изотипический контроль-ММАЕ 2.5 мг/кг	1140 ± 213	31
Изотипический контроль-LP3 2.5 мг/кг	1100 ± 202	33
Изотипический контроль-LP4 2.5 мг/кг	1127 ± 192	31
Антитело к STEAP2-ММАЕ 2.5 мг/кг	475 ± 118	81
Антитело к STEAP2 N297Q-LP3 2.5 мг/кг	115 ± 6	108
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4 2.5 мг/кг	258 ± 60	97

Эффективность конъюгата STEAP2-тубулизин в моделях рака простаты PDX CTG-2440 и CTG-2441.

Номера клонов mAb:

AbPID/REGN#	Общее название	Мутация N297Q?
Изотипический контроль-LP4	Контрольный конъюгат с тубулизином	Да
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4	Конъюгат STEAP2-тубулизин	Да

Процедура эксперимента.

Фрагменты опухоли ксенотрансплантатов, полученных у пациентов с раком простаты (PDX), либо CTG-2440, либо CTG-2441 подкожно имплантировали в бок самцам мышей NOG. После того, как объемы опухоли достигли приблизительно 200 мм³, мышей рандомизировали в группы по восемь и ввели им соединения в соответствии с режимом, показанным далее в табл. 16. Рост опухоли контролировали на протяжении 60 дней после имплантации.

Таблица 16

Образец	Отношение DAR	Доза конъюгата ADC	Доза нагрузки	Режим дозирования	Общая доза нагрузки
Изотипический контроль-LP4	3.9-4	3.64-3.72 мг/кг	80 мкг/кг	Раз в неделю x3	240 мкг/кг
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4	3.9-4	1.82-1.86 мг/кг	40 мкг/кг	Раз в неделю x1	40 мкг/кг
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4	3.9-4	1.82-1.86 мг/кг	40 мкг/кг	Раз в неделю x3	мкг/кг
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4	3.9-4	3.64-3.72 мг/кг	80 мкг/кг	Раз в неделю x3	240 мкг/кг

Результаты и заключения.

Противоопухолевую эффективность конъюгатов STEAP2-тубулизин на модели STEAP2-позитивных ксенотрансплантатов PDX оценили относительно контрольных конъюгатов ADC. Опухоли CTG-2440, на которые воздействовали контрольным конъюгатом, выросли до протокольных предельных размеров в пределах 28 дней. Рост опухолей, на которые воздействовали конъюгатом STEAP2-тубулизин ADC при 3.72 мг/кг (3 недельные дозы с нагрузкой 80 мкг/кг), был ингибирован в течение 60 дней без отрицательного влияния на изменение веса тела. Противоопухолевая эффективность была дозозависимой. Полное ингибирование опухоли наблюдалось при общей дозе нагрузки в 240 мкг/кг, а регрессия опухоли начиналась при общих дозах нагрузки 120 мкг/кг и 40 мкг/кг. Данные по объему опухоли

для CTG-2440 показаны на фиг. 16.

Таблица сводных данных для CTG-2440:

Антитело (мг/кг)	Общая доза нагрузки	Конечный объем опухоли при завершении (среднее \pm CO)	Рост опухоли (мм ³) от начала лечения (среднее \pm CO)
Изотипический контроль-LP4 (3.72 мг/кг, раз в неделю x3)	240 мкг/кг	1556.0 \pm 747.7	1355.3 \pm 724.0
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4 (1.86 мг/кг, раз в неделю x1)	40 мкг/кг	179.9 \pm 68.5	-20.0 \pm 65.1
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4 (1.86 мг/кг, раз в неделю x3)	мкг/кг	73.5 \pm 53.4	-129.3 \pm 67.7
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4 (3.72 мг/кг, раз в неделю x3)	240 мкг/кг	6.0 \pm 11.4	-196.5 \pm 37.1

Опухоли CTG-2441, на которые воздействовали контрольным конъюгатом, выросли до протокольных предельных размеров в пределах 30 дней. Рост опухолей, на которые воздействовали конъюгатом STEAP2-тубулизин ADC при 3.64 мг/кг (3 недельные дозы с нагрузкой 80 мкг/кг), был ингибирован в течение 60 дней, при этом наблюдалась только умеренная потеря веса. Противоопухолевая эффективность была дозозависимой. Полное ингибирование опухоли наблюдалось при общей дозе нагрузки либо 120, либо 240 мкг/кг. Регрессия опухоли начиналась после однократного введения общей дозы нагрузки 40 мкг/кг.

Данные по объему опухоли для CTG-2441 показаны на фиг. 17.

Таблица сводных данных для CTG-2441:

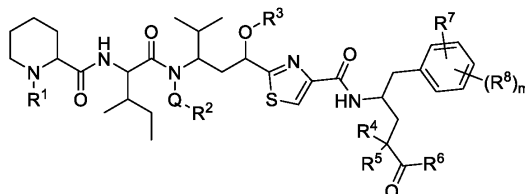
Антитело (мг/кг)	Общая доза нагрузки	Конечный объем опухоли при завершении (среднее \pm CO)	Рост опухоли (мм ³) от начала лечения (среднее \pm CO)
Изотипический контроль-LP4 (3.64 мг/кг, раз в неделю x3)	240 мкг/кг	977.3 \pm 390.0	770.3 \pm 365.8
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4 (1.82 мг/кг, раз в неделю x1)	40 мкг/кг	171.8 \pm 176.1	-36.8 \pm 167.0
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4 (1.82 мг/кг, раз в неделю x3)	мкг/кг	46.0 \pm 15.1	-164.0 \pm 57.3
Антитело к STEAP2 N297Q-LP4 (3.64 мг/кг, раз в неделю x3)	240 мкг/кг	33.5 \pm 13.6	-179.1 \pm 51.3

Информация о модели ксенотрансплантатов, полученных у пациентов (PDX), и экспрессии STEAP2.

Модели рака простаты получили из метастаз в кости пациентов с метастатическим устойчивым к кастрации раком предстательной железы (mCRPC). Экспрессию STEAP2 подтверждали при помощи данных секвенирования РНК и гибридизации РНК in situ.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее структуру формулы I



Формула I

или его фармацевтически приемлемая соль, где

R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил, -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил или -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{3a}R^{3b},

где R^{3a} и R^{3b} представляет собой независимо в каждом случае водород, C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил, где C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по

меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2 - C_{20} -ацил необязательно замещены одной или двумя группами, выбранными из C_1 - C_{20} -алкила, C_2 - C_{20} -алкенила, C_2 - C_{20} -алкинила, C_3 - C_{20} -циклоалкила, C_6 - C_{20} -арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2 - C_{20} -ацила;

R^4 и R^5 представляют собой независимо в каждом случае водород или C_1 - C_5 -алкил;

R^6 представляет собой -ОН или - $NHNH_2$;

R^7 представляет собой независимо в каждом случае водород, -ОН, галоген или $-NR^{7a}R^{7b}$,

где R^{7a} и R^{7b} представляют собой независимо в каждом случае водород, C_1 - C_{20} -алкил, C_2 - C_{20} -алкенил, C_2 - C_{20} -алкинил, C_3 - C_{20} -циклоалкил, C_6 - C_{20} -арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, C_2 - C_{20} -ацил, и аминокислотный остаток, где C_1 - C_{20} -алкил, C_2 - C_{20} -алкенил, C_2 - C_{20} -алкинил, C_3 - C_{20} -циклоалкил, C_6 - C_{20} -арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2 - C_{20} -ацил необязательно замещены одной или двумя группами, выбранными из C_1 - C_{20} -алкила, C_2 - C_{20} -алкенила, C_2 - C_{20} -алкинила, C_3 - C_{20} -циклоалкила, C_6 - C_{20} -арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2 - C_{20} -ацила, и аминокислотного остатка;

R^8 представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, $-NHR^9$ или галоген, где

R^9 представляет собой водород, $-C_1$ - C_5 -алкил или $-C(O)C_1$ - C_5 -алкил; и

m равен одному или двум;

Q представляет собой -О-, где

R^2 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил, C_2 - C_{10} -алкинил, $-C_1$ - C_{10} -алкилен-(5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора), $-C_1$ - C_3 -алкилен- Q^1 -(CH_2) $_n$ C_6 - C_{20} -арил или C_1 - C_3 -гидроксиалкил; и

Q^1 представляет собой $-CH_2-$ или -О-;

где указанный 5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, не замещен или замещен C_1 - C_{20} -алкилом, C_1 - C_{20} -аминоалкилом, C_1 - C_{20} -гидроксиалкилом, C_1 - C_{20} -карбоксилалкилом, бензилом или фенилом;

где указанный C_6 - C_{20} -арил не замещен или замещен нитро или амино; и

где n представляет собой целое число от одного до пяти.

2. Соединение по п.1, где

R^1 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил;

R^3 представляет собой $-C(O)C_1$ - C_5 -алкил, $-C(O)N(H)C_1$ - C_{10} -алкил или $-(C_1$ - C_{10} -алкилен)- $NR^{3a}R^{3b}$,

где R^{3a} и R^{3b} представляют собой независимо в каждом случае водород, C_1 - C_{20} -алкил, C_2 - C_{20} -алкенил, C_2 - C_{20} -алкинил, C_3 - C_{20} -циклоалкил, C_6 - C_{20} -арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2 - C_{20} -ацил, где C_1 - C_{20} -алкил, C_2 - C_{20} -алкенил, C_2 - C_{20} -алкинил, C_3 - C_{20} -циклоалкил, C_6 - C_{20} -арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2 - C_{20} -ацил необязательно замещены одной или двумя группами, выбранными из C_1 - C_{20} -алкила, C_2 - C_{20} -алкенила, C_2 - C_{20} -алкинила, C_3 - C_{20} -циклоалкила, C_6 - C_{20} -арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2 - C_{20} -ацила;

R^4 и R^5 представляет собой независимо в каждом случае водород или C_1 - C_5 -алкил;

R^6 представляет собой -ОН или - $NHNH_2$;

R^7 представляет собой независимо в каждом случае водород, -ОН, галоген или $-NR^{7a}R^{7b}$,

где R^{7a} и R^{7b} независимо в каждом случае представляет собой водород, C_1 - C_{20} -алкил, C_2 - C_{20} -алкенил, C_2 - C_{20} -алкинил, C_3 - C_{20} -циклоалкил, C_6 - C_{20} -арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2 - C_{20} -ацил, где C_1 - C_{20} -алкил, C_2 - C_{20} -алкенил, C_2 - C_{20} -алкинил, C_3 - C_{20} -циклоалкил, C_6 - C_{20} -арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2 - C_{20} -ацил необязательно замещены одной или двумя группами, выбранными из C_1 - C_{20} -алкила, C_2 - C_{20} -алкенила, C_2 - C_{20} -алкинила, C_3 - C_{20} -циклоалкила, C_6 - C_{20} -арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2 - C_{20} -ацила;

R^8 представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, $-NHR^9$ или галоген, где

R^9 представляет собой водород, $-C_1$ - C_5 -алкил или $-C(O)C_1$ - C_5 -алкил; и

m имеет значение один или два;

Q представляет собой -О-, где

R^2 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил, C_2 - C_{10} -алкинил, $-C_1$ - C_{10} -алкилен-(5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора), $-C_1$ - C_3 -алкилен- Q^1 -(CH_2) $_n$ C_6 - C_{20} -арил или C_1 - C_3 -гидроксиалкил; и

Q^1 представляет собой $-CH_2-$ или -О-;

где указанный 5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, не замещен или замещен C_1 - C_{20} -алкилом, C_1 - C_{20} -аминоалкилом, C_1 - C_{20} -гидроксиалкилом, C_1 - C_{20} -карбоксилалкилом, бензилом или фенилом;

где указанный C_6 - C_{20} -арил не замещен или замещен нитро или амино; и

где n представляет собой целое число от одного до пяти.

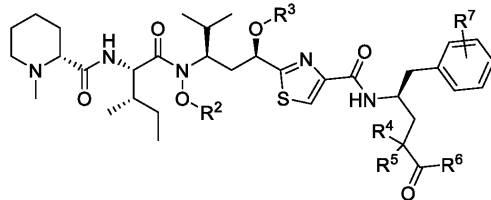
3. Соединение по п.1, где

Q представляет собой $-O-$;

R^2 представляет собой C_2-C_{10} -алкил; и

R^7 представляет собой $-OH$ или $-NH_2$.

4. Соединение по п.3 согласно структуре формулы VIII

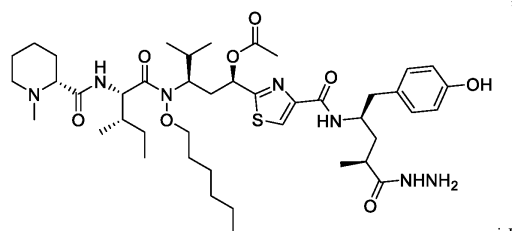
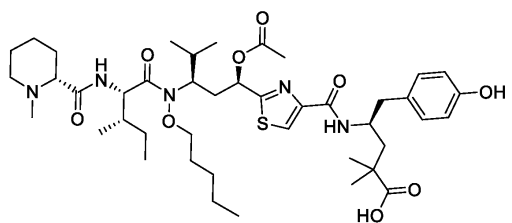
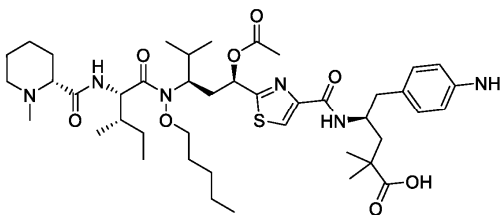
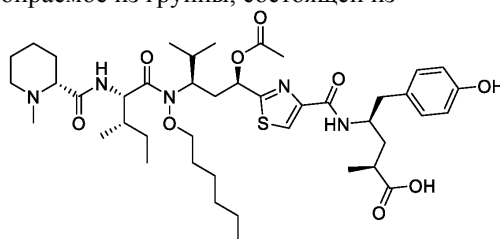


Формула VIII

или его фармацевтически приемлемая соль.

5. Соединение по п.4, где R^3 представляет собой $-C(O)Me$.

6. Соединение по п.5, выбираемое из группы, состоящей из



его фармацевтически приемлемая соль.

7. Соединение по п.4, где

R^3 представляет собой $-C(O)N(H)C_1-C_{10}$ -алкил;

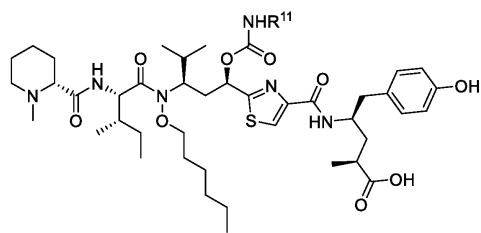
R^4 представляет собой водород;

R^5 представляет собой C_1-C_5 -алкил; и

R^6 и R^7 представляют собой $-OH$.

8. Соединение по п.7, имеющее структуру формулы IX

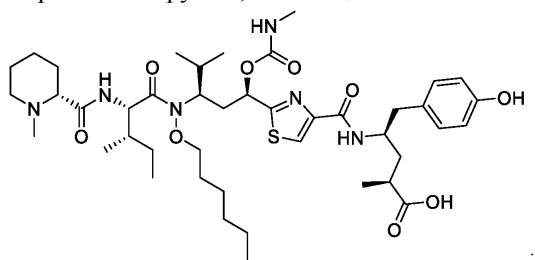
047625



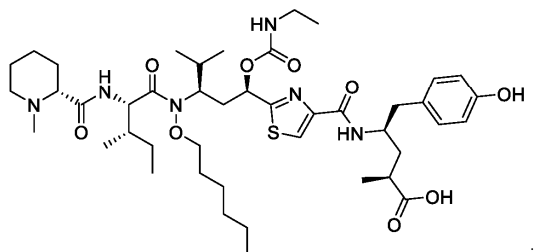
Формула IX

где R¹¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил; или его фармацевтически приемлемая соль.

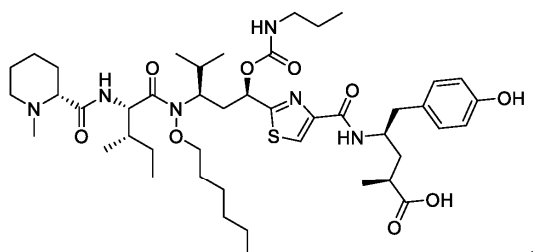
9. Соединение по п.8, выбираемое из группы, состоящей из



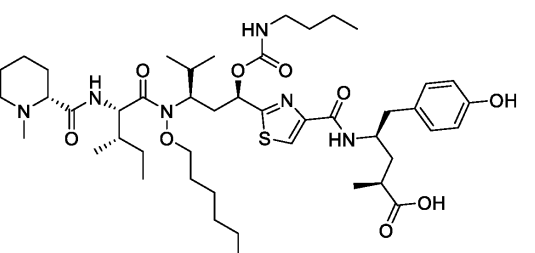
;



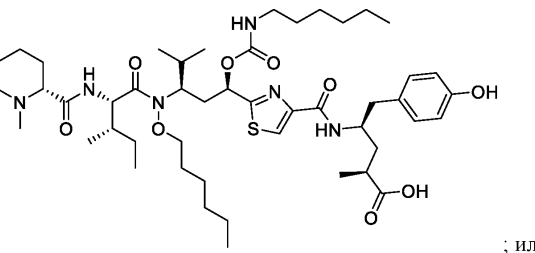
;



;



; и

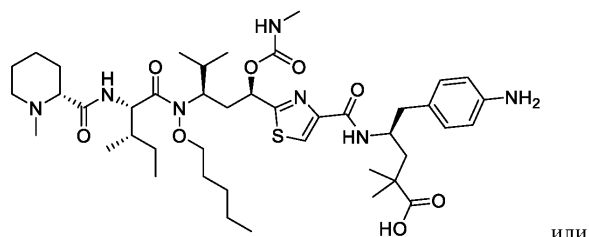


; или

его фармацевтически приемлемая соль.

10. Соединение по п.4, где R³ представляет собой -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил.

11. Соединение по п.10, где соединение представляет собой



или

его фармацевтически приемлемая соль.

12. Соединение по п.1, где

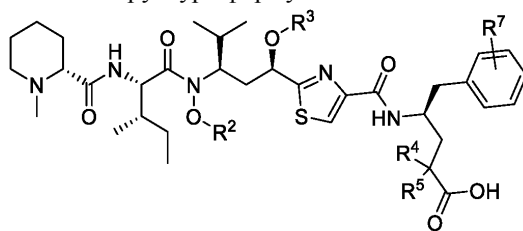
Q представляет собой -O-;

R² представляет собой C₂-C₁₀-алкинил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил; и

R⁶ представляет собой -OH.

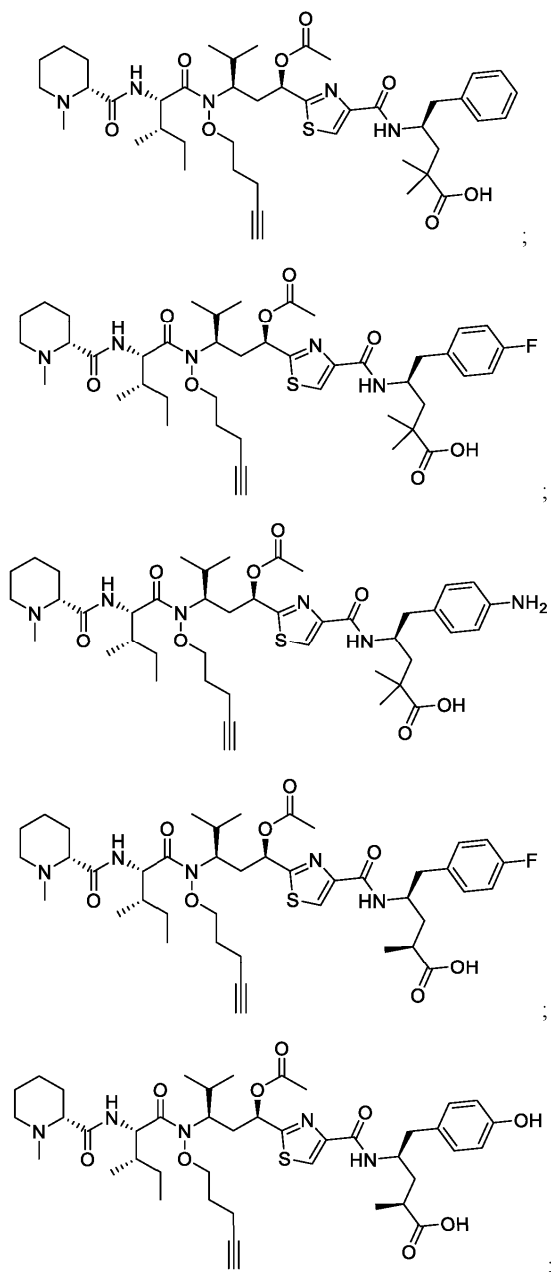
13. Соединение по п.12 согласно структуре формулы X

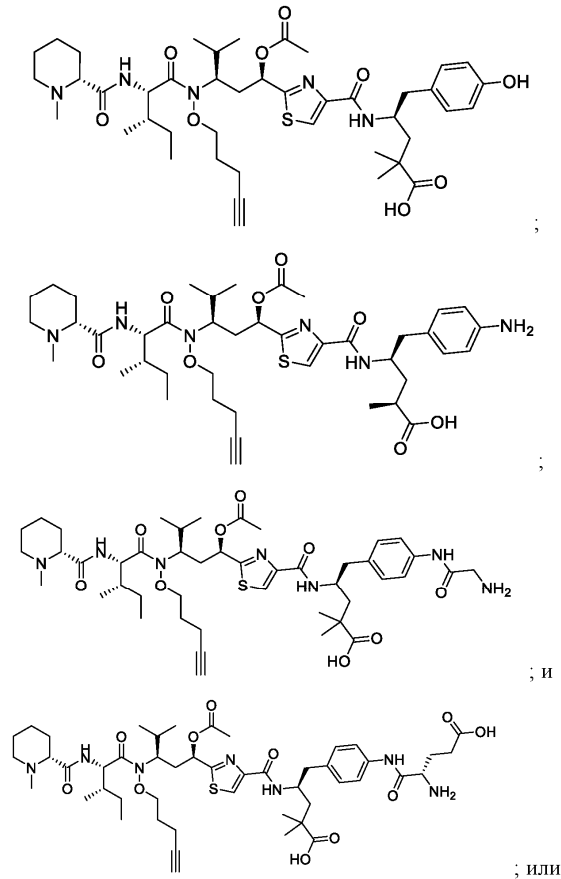


Формула X

или его фармацевтически приемлемая соль.

14. Соединение по п.13, выбираемое из группы, состоящей из





его фармацевтически приемлемая соль.

15. Соединение по п.1, где

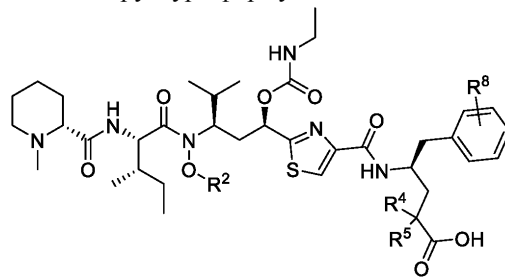
Q представляет собой -O-;

R² представляет собой C₂-C₁₀-алкинил;

R³ представляет собой -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил; и

R⁶ представляет собой -OH.

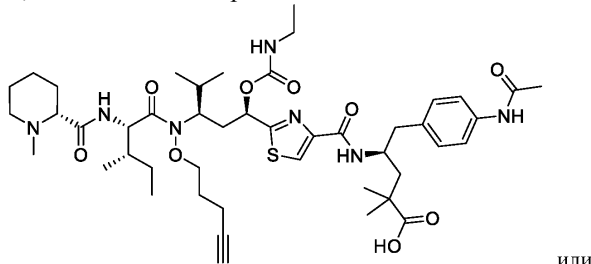
16. Соединение по п.15 согласно структуре формулы XI



Формула XI

или его фармацевтически приемлемая соль.

17. Соединение по п.16, где соединение представляет собой



его фармацевтически приемлемая соль.

18. Соединение по п.1, где

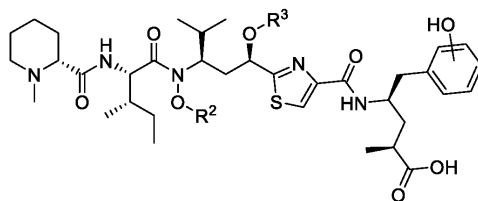
Q представляет собой -O-;

R² представляет собой C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_nC₆-C₂₀-арил или C₁-C₃-гидроксиалкил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил;

R⁴ представляет собой водород;
 R⁵ представляет собой C₁-C₅-алкил; и
 R⁶ и R⁷ представляет собой -OH.

19. Соединение по п.18, имеющее структуру формулы XII

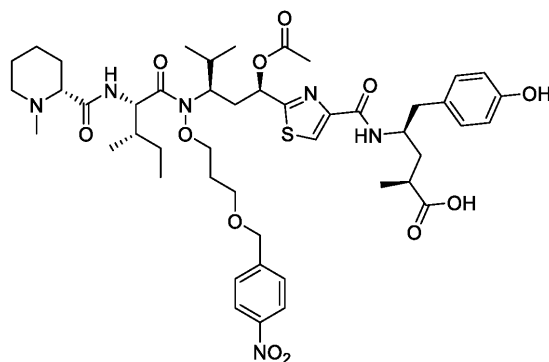


Формула XII

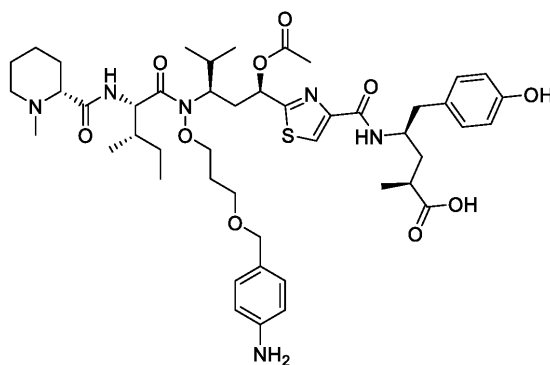
или его фармацевтически приемлемая соль.

20. Соединение по п.19, где R² представляет собой C₁-C₃-алкилен-O-(CH₂)_nC₆-C₂₀-арил.

21. Соединение по п.20, выбираемое из группы, состоящей из



и;

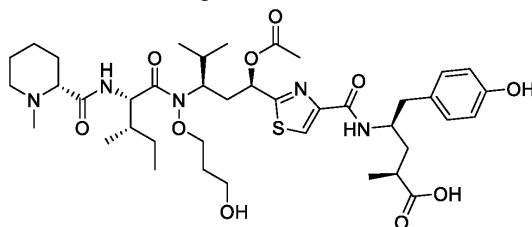


; или

его фармацевтически приемлемая соль.

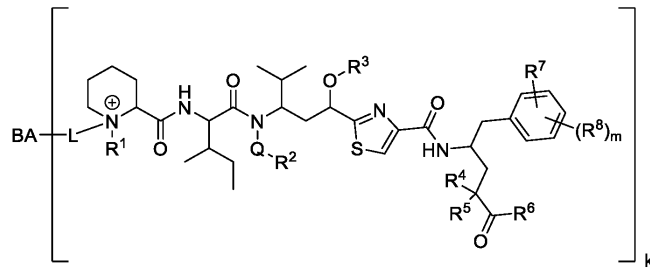
22. Соединение по п.19, где R² представляет собой C₁-C₃-гидроксиалкил.

23. Соединение по п.22, где соединение представляет собой

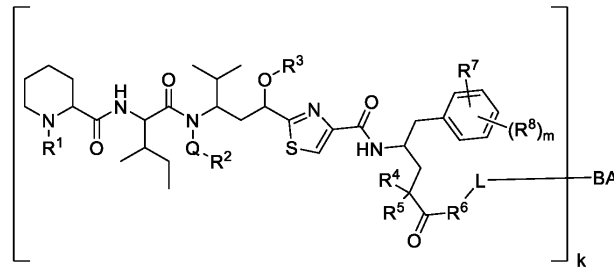


или его фармацевтически приемлемая соль.

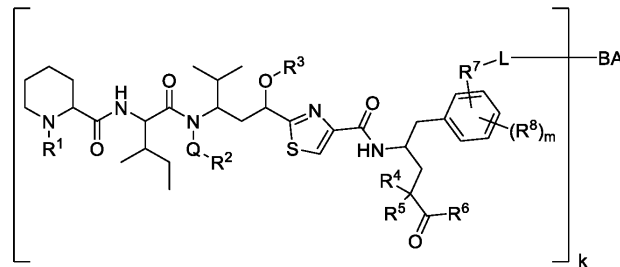
24. Соединение формулы A, B, C или D



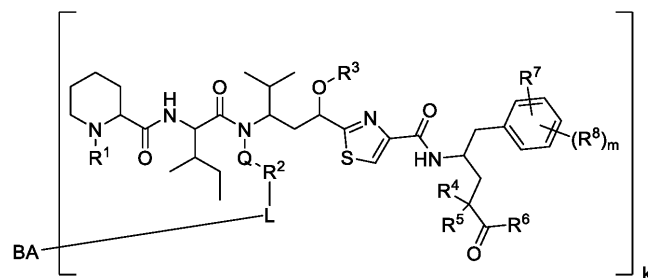
(A)



(B)



(C)



(D)

или его фармацевтически приемлемая соль, где

L представляет собой линкер;

BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент;

k представляет собой целое число от одного до тридцати;

R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил, -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил или -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{3a}R^{3b},

где R^{3a} и R^{3b} представляют собой независимо в каждом случае водород, C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, или C₂-C₂₀-ацил, где C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил необязательно замещены одной или двумя группами, выбранными из C₁-C₂₀-алкила, C₂-C₂₀-алкенила, C₂-C₂₀-алкинила, C₃-C₂₀-циклоалкила, C₆-C₂₀-арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающих по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил;

R⁴ и R⁵ представляют собой независимо в каждом случае водород или C₁-C₅-алкил; R⁶ представляет собой -OH, -O-, -NHNH₂ или -NHNH-;

R⁷ представляет собой независимо в каждом случае, водород, -OH, -O-, галоген или -NR^{7a}R^{7b},

где R^{7a} и R^{7b} представляют собой независимо в каждом случае связь, водород, C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по

меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, C₂-C₂₀-ацил и аминокислотный остаток, где C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил необязательно замещены одной или двумя группами, выбранными из C₁-C₂₀-алкила, C₂-C₂₀-алкенила, C₂-C₂₀-алкинила, C₃-C₂₀-циклоалкила, C₆-C₂₀-арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, C₂-C₂₀-ацила, и аминокислотного остатка;

R⁸ представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, -NHR⁹ или галоген,

где R⁹ представляет собой водород, -C₁-C₅-алкил или -C(O)C₁-C₅-алкил; и

m имеет значение один или два;

Q представляет собой -O-, где

R² представляет собой C₁-C₁₀-алкил, C₂-C₁₀-алкинил, региоизомерный C₁-C₁₀-алкилен-триазиолил, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора), -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_nC₆-C₂₀-арил, C₁-C₃-гидроксиалкил или C₁-C₁₀-алкилен-O-; и

Q¹ представляет собой -CH₂- или -O-;

где указанный региоизомерный триазиолил не замещен или замещен C₁-C₂₀-алкилом, C₂-C₂₀-алкенилом, C₂-C₂₀-алкинилом, C₃-C₂₀-циклоалкилом, C₆-C₂₀-арилом, 5- до 20-членным гетероарилом, включающим по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацилом;

где указанный 5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, не замещен или замещен C₁-C₂₀-алкилом, C₁-C₂₀-аминоалкилом, C₁-C₂₀-алкилен-NH-, C₁-C₂₀-гидроксиалкилом, C₁-C₂₀-алкилен-O-, C₁-C₂₀-карбоксилалкилом, C₁-C₂₀-алкилен-COO-, бензилом или фенилом;

где указанный C₆-C₂₀-арил не замещен или замещен нитро, amino или -NH-; и

где n представляет собой целое число от одного до пяти.

25. Соединение по п.24 или его фармацевтически приемлемая соль, где

L представляет собой линкер;

VA представляет собой антителио или его антигенсвязывающий фрагмент;

k представляет собой целое число от одного до тридцати;

R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил, -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил или -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{3a}R^{3b},

где R^{3a} и R^{3b} представляют собой независимо в каждом случае водород, C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил, где C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил незамещен или замещен одной или двумя группами, выбранными из C₁-C₂₀-алкила, C₂-C₂₀-алкенила, C₂-C₂₀-алкинила, C₃-C₂₀-циклоалкила, C₆-C₂₀-арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацила;

R⁴ и R⁵ представляет собой независимо в каждом случае водород или C₁-C₅-алкил;

R⁶ представляет собой -OH, -O-, -NHNH₂ или -NHNH-;

R⁷ представляет собой независимо в каждом случае, водород, -OH, -O-, галоген или -NR^{7a}R^{7b},

где R^{7a} и R^{7b} представляет собой независимо в каждом случае связь, водород, C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил, где C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил незамещен или замещен одной или двумя группами, выбранными из C₁-C₂₀-алкила, C₂-C₂₀-алкенила, C₂-C₂₀-алкинила, C₃-C₂₀-циклоалкила, C₆-C₂₀-арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацила;

R⁸ представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, -NHR⁹ или галоген, где

R⁹ представляет собой водород, -C₁-C₅-алкил или -C(O)C₁-C₅-алкил; и

m имеет значение один или два;

Q представляет собой -O-, где

R² представляет собой C₁-C₁₀-алкил, C₂-C₁₀-алкинил, региоизомерный C₁-C₁₀-алкилен-триазиолил, -C₁-C₁₀-алкилен-(5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора), -C₁-C₃-алкилен-Q¹-(CH₂)_nC₆-C₂₀-арил, C₁-C₃-гидроксиалкил или C₁-C₁₀-алкилен-O-; и

Q¹ представляет собой -CH₂- или -O-;

где указанный региоизомерный триазиолил не замещен или замещен C₁-C₂₀-алкилом, C₂-C₂₀-алкенилом, C₂-C₂₀-алкинилом, C₃-C₂₀-циклоалкилом, C₆-C₂₀-арилом, 5- до 20-членным гетероарилом, включающим по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацилом;

где указанный 5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, не замещен или замещен C₁-C₂₀-алкилом, C₁-C₂₀-аминоалкилом, C₁-C₂₀-алкилен-NH-, C₁-C₂₀-гидроксиалкилом, C₁-C₂₀-алкилен-O-, C₁-C₂₀-карбоксилалкилом, C₁-C₂₀-алкилен-COO-, бензилом

или фенилом;

где указанный C₆-C₂₀-арил не замещен или замещен нитро, amino или -NH-; и где p представляет собой целое число одного до пяти.

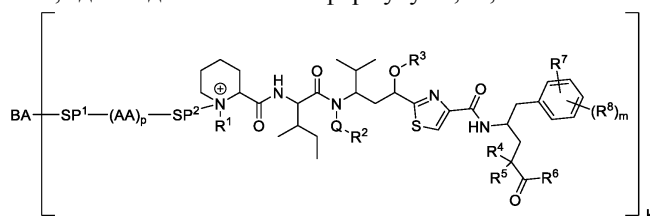
26. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-25 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, носитель или разбавитель.

27. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного терапевтического количества соединения по любому из пп.1-25 или фармацевтической композиции по п.26.

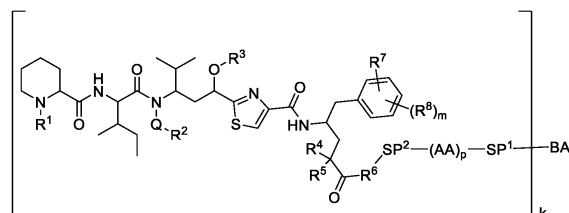
28. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного терапевтического количества соединения по любому из пп.1-25 или фармацевтической композиции по п.26, отличающийся тем, что такой рак выбирается из группы, состоящей из почечно-клеточной карциномы, рака поджелудочной железы, рака головы и шеи, рака простаты, кастрационно-резистентного рака простаты, злокачественной глиомы, остеосаркомы, колоректального рака, рака желудка, мезотелиомы, злокачественной мезотелиомы, множественной миеломы, рака яичников, рака легких, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, синовиальной саркомы, рака щитовидной железы, рака молочной железы, PRLR-положительного (PRLR+) рака молочной железы, меланомы, острого миелоцитарного лейкоза, T-клеточного лейкоза взрослых, астроцитомы, рака мочевого пузыря, рака шейки матки, холангиокарциномы, рака эндометрия, рака пищевода, глиобластомы, саркомы Капоши, рака почки, лейомиосаркомы, рака печени, лимфом, злокачественной фиброзной гистиоцитомы/фибросаркомы, рака носоглотки, рабдомиосаркомы, рака ободочной кишки, рака желудка, рака матки, остаточного рака и опухоли Вильмса.

29. Способ лечения опухолей, которые экспрессируют антиген, выбираемый из группы, состоящей из PRLR и STEAP2.

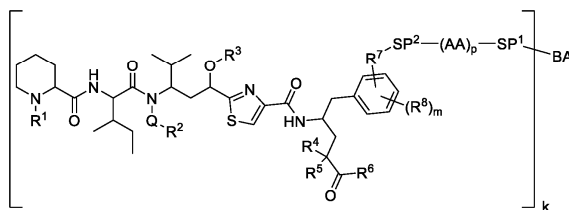
30. Соединение по п.25, где соединение имеет формулу A', B', C' или D':



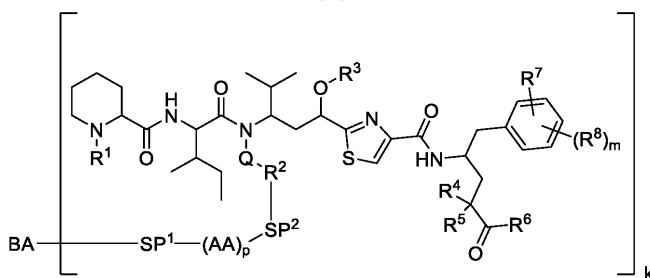
(A')



(B')



(C')

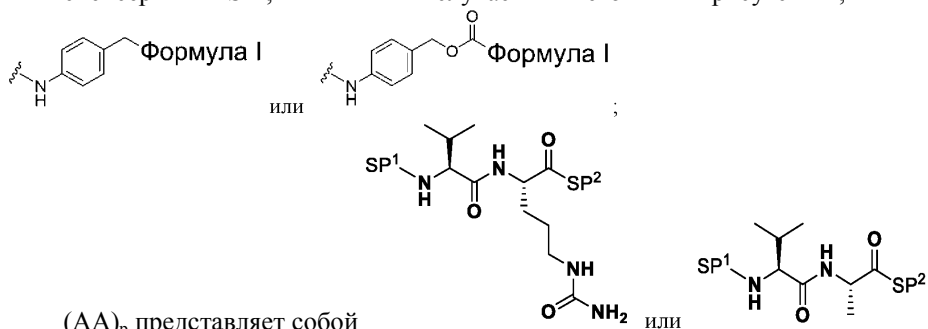


(D')

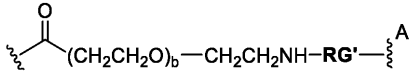
или его фармацевтически приемлемая соль, где


SP¹ и SP², в случае их присутствия, являются спейсерными группами; каждая AA представляет собой аминокислоту; и r представляет собой целое число от одного до десяти.

31. Соединение по п.30, где спейсер SP², в случае его присутствия, представляет собой



(AA)_p представляет собой

SP¹ представляет собой  , где RG' представляет собой остаток реакционноспособной группы после реакции реакционноспособной группы RG со связующим агентом;

 представляет собой связь со связующим агентом; и b представляет собой целое число от одного до четырех.


32. Соединение по любому из пп.25-31, где связующий агент представляет собой антитело, модифицированное первичным аминным соединением согласно формуле H₂N-LL-X, где LL представляет собой двухвалентный линкер, выбираемый из группы, состоящей из двухвалентной полиэтиленгликольной (PEG) группы;

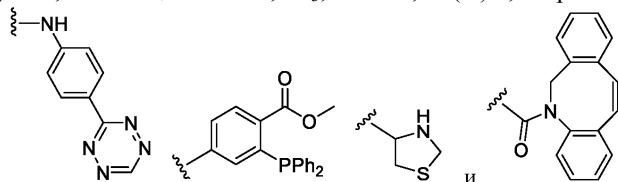
-(CH₂)_n-;
 -(CH₂CH₂O)_n-(CH₂)_p-;
 -(CH₂)_n-N(H)C(O)-(CH₂)_m-;
 -(CH₂CH₂O)_n-N(H)C(O)-(CH₂CH₂O)_m-(CH₂)_p-;
 -(CH₂)_n-C(O)N(H)-(CH₂)_m-;
 -(CH₂CH₂O)_n-C(O)N(H)-(CH₂CH₂O)_m-(CH₂)_p-;
 -(CH₂)_n-N(H)C(O)-(CH₂CH₂O)_m-(CH₂)_p-;
 -(CH₂CH₂O)_n-N(H)C(O)-(CH₂)_m-;
 -(CH₂)_n-C(O)N(H)-(CH₂CH₂O)_m-(CH₂)_p-; и
 -(CH₂CH₂O)_n-C(O)N(H)-(CH₂)_m-;

где n представляет собой целое число от одного до двенадцати;

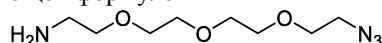
m представляет собой целое число от нуля до двенадцати;

p представляет собой целое число от нуля до двух; и

X выбирается из группы, состоящей из -SH, -N₃, -C≡CH, -C(O)H, тетразола,  ;



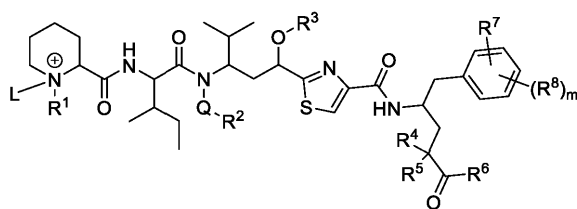
33. Соединение по п.32, где связующий агент представляет собой антитело, модифицированное первичным амином, согласно следующей формуле



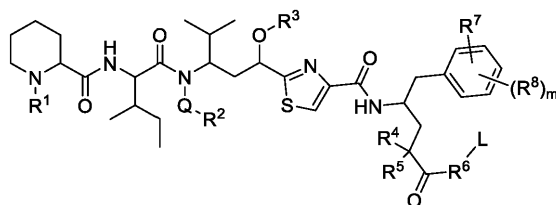
34. Линкер-нагрузка, содержащая соединение по любому из пп.1-23, связанное с линкером, где указанный линкер содержит группу, способную вступать в реакцию с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

35. Линкер-нагрузка по п.34, где линкер связан с азотом пиперидина, R², R⁶ или R⁷ соединения по любому из пп.1-23.

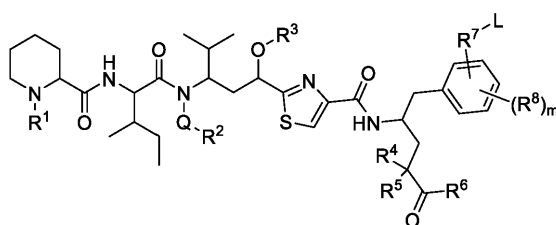
36. Линкер-нагрузка формулы LPa, LPb, LPc или LPd



(LPa)

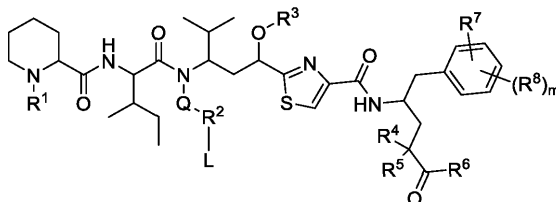


(LPb)



(LPc)

или



(LPd)

или ее фармацевтически приемлемая соль, где

L представляет собой линкер;

R¹ представляет собой C₁-C₁₀-алкил;

R³ представляет собой -C(O)C₁-C₅-алкил, -C(O)N(H)C₁-C₁₀-алкил или -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{3a}R^{3b},

где R^{3a} и R^{3b} представляют собой независимо в каждом случае водород, C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил, где C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил необязательно замещены одной или двумя группами, выбранными из C₁-C₂₀-алкила, C₂-C₂₀-алкенила, C₂-C₂₀-алкинила, C₃-C₂₀-циклоалкила, C₆-C₂₀-арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацила;

R⁴ и R⁵ представляют собой независимо в каждом случае водород или C₁-C₅-алкил;

R⁶ представляет собой -OH, -O-, -NHNH₂ или -NHNH-;

R⁷ представляет собой независимо в каждом случае, водород, -OH, -O-, галоген или -NR^{7a}R^{7b},

где R^{7a} и R^{7b} представляет собой независимо в каждом случае связь, водород, C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, C₂-C₂₀-ацил и аминокислотный остаток, где C₁-C₂₀-алкил, C₂-C₂₀-алкенил, C₂-C₂₀-алкинил, C₃-C₂₀-циклоалкил, C₆-C₂₀-арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C₂-C₂₀-ацил необязательно замещены одной или двумя группами, выбранными из C₁-C₂₀-алкила, C₂-C₂₀-алкенила, C₂-C₂₀-алкинила, C₃-C₂₀-циклоалкила, C₆-C₂₀-арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, C₂-C₂₀-ацила, и аминокислотного остатка;

R^8 представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, $-NHR^9$ или галоген, где

R^9 представляет собой водород, $-C_1-C_5$ -алкил или $-C(O)C_1-C_5$ -алкил; и

m имеет значение один или два;

Q представляет собой $-O-$, где

R^2 представляет собой C_1-C_{10} -алкил, C_2-C_{10} -алкинил, региоизомерный C_1-C_{10} -алкилен-триазилилен, $-C_1-C_{10}$ -алкилен-(5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора), региоизомерный $-C_1-C_{10}$ -алкилен-(5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора), $-C_1-C_3$ -алкилен- $Q^1-(CH_2)_n C_6-C_{20}$ -арил, C_1-C_3 -гидроксиалкил или C_1-C_{10} -алкил- $O-$; и

Q^1 представляет собой $-CH_2-$ или $-O-$;

где указанный региоизомерный триазилилен не замещен или замещен C_1-C_{20} -алкилом, C_2-C_{20} -алкенилом, C_2-C_{20} -алкинилом, C_3-C_{20} -циклоалкилом, C_6-C_{20} -арилом, 5-членным гетероарилом, включающим по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2-C_{20} -ацилом;

где указанный 5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, или региоизомерный 5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, не замещен или замещен C_1-C_{20} -алкилом, C_1-C_{20} -аминоалкилом, C_1-C_{20} -алкилен- $NH-$, C_1-C_{20} -гидроксиалкилом, C_1-C_{20} -алкилен- $O-$, C_1-C_{20} -карбоксииалкилом, C_1-C_{20} -алкилен- $COO-$, бензилом или фенилом;

где указанный C_6-C_{20} -арил не замещен или замещен нитро, amino или $-NH-$; и где

n представляет собой целое число от одного до пяти.

37. Линкер-нагрузка по п.36 или ее фармацевтически приемлемая соль, где

L представляет собой линкер;

R^1 представляет собой C_1-C_{10} -алкил;

R^3 представляет собой $-C(O)C_1-C_5$ -алкил, $-C(O)N(H)C_1-C_{10}$ -алкил или $-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{3a}R^{3b}$,

где R^{3a} и R^{3b} представляют собой независимо в каждом случае водород, C_1-C_{20} -алкил, C_2-C_{20} -алкенил, C_2-C_{20} -алкинил, C_3-C_{20} -циклоалкил, C_6-C_{20} -арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2-C_{20} -ацил, где C_1-C_{20} -алкил, C_2-C_{20} -алкенил, C_2-C_{20} -алкинил, C_3-C_{20} -циклоалкил, C_6-C_{20} -арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2-C_{20} -ацил необязательно замещены одной или двумя группами, выбранными из C_1-C_{20} -алкила, C_2-C_{20} -алкенила, C_2-C_{20} -алкинила, C_3-C_{20} -циклоалкила, C_6-C_{20} -арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, C_2-C_{20} -ацила;

R^4 и R^5 представляет собой независимо в каждом случае водород или C_1-C_5 -алкил;

R^6 представляет собой $-OH$, $-O-$, $-NHNH_2$ или $-NHNH-$;

R^7 представляет собой независимо в каждом случае, водород, $-OH$, $-O-$, галоген или $-NR^{7a}R^{7b}$,

где R^{7a} и R^{7b} представляют собой независимо в каждом случае связь, водород, C_1-C_{20} -алкил, C_2-C_{20} -алкенил, C_2-C_{20} -алкинил, C_3-C_{20} -циклоалкил, C_6-C_{20} -арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2-C_{20} -ацил, где C_1-C_{20} -алкил, C_2-C_{20} -алкенил, C_2-C_{20} -алкинил, C_3-C_{20} -циклоалкил, C_6-C_{20} -арил, 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2-C_{20} -ацил необязательно замещены одной или двумя группами, выбранными из C_1-C_{20} -алкила, C_2-C_{20} -алкенила, C_2-C_{20} -алкинила, C_3-C_{20} -циклоалкила, C_6-C_{20} -арила, 5- до 20-членного гетероарила, включающего по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, C_2-C_{20} -ацила;

R^8 представляет собой независимо в каждом случае водород, дейтерий, $-NHR^9$ или галоген, где

R^9 представляет собой водород, $-C_1-C_5$ -алкил или $-C(O)C_1-C_5$ -алкил; и

m имеет значение один или два;

Q представляет собой $-O-$, где

R^2 представляет собой C_1-C_{10} -алкил, C_2-C_{10} -алкинил, региоизомерный C_1-C_{10} -алкилен-триазилилен, $-C_1-C_{10}$ -алкилен-(5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора), региоизомерный $-C_1-C_{10}$ -алкилен-(5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора), $-C_1-C_3$ -алкилен- $Q^1-(CH_2)_n C_6-C_{20}$ -арил, C_1-C_3 -гидроксиалкил или C_1-C_{10} -алкил- $O-$;

и Q^1 представляет собой $-CH_2-$ или $-O-$;

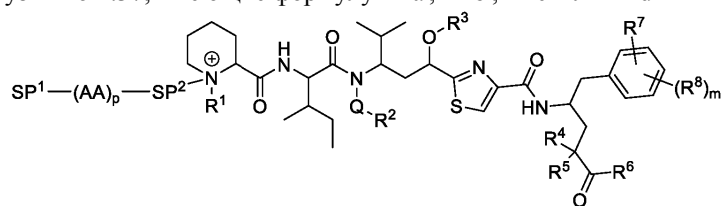
где указанный региоизомерный триазилилен не замещен или замещен C_1-C_{20} -алкилом, C_2-C_{20} -алкенилом, C_2-C_{20} -алкинилом, C_3-C_{20} -циклоалкилом, C_6-C_{20} -арилом, 5- до 20-членным гетероарилом, включающим по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, и C_2-C_{20} -ацилом;

где указанный 5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, или региоизомерный 5-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, не замещен или замещен C_1-C_{20} -алкилом, C_1-C_{20} -аминоалкилом, C_1-C_{20} -алкилен- $NH-$, C_1-C_{20} -гидроксиалкилом, C_1-C_{20} -алкилен- $O-$, C_1-C_{20} -карбоксииалкилом, C_1-C_{20} -алкилен- $COO-$, бензилом или фенилом;

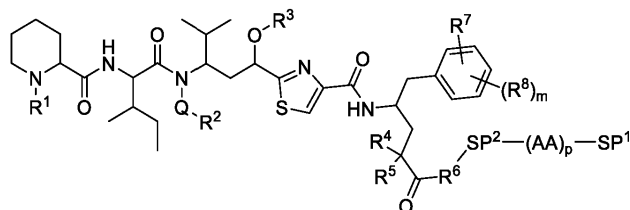
где указанный C_6-C_{20} -арил не замещен или замещен нитро, amino или $-NH-$; и

где n представляет собой целое число от одного до пяти.

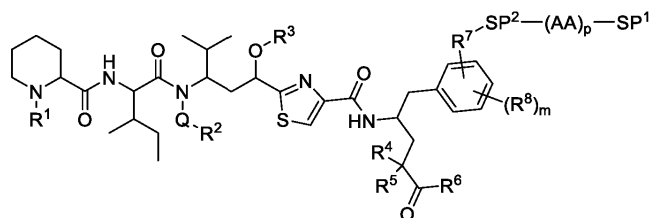
38. Линкер-нагрузки по п.37, имеющие формулу LPa', LPb', LPe' или LPd'



(LPA')

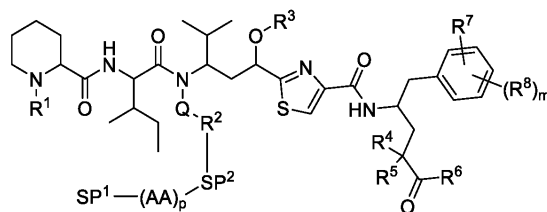


(LPb')



(LPe')

или



(LPd')

или их фармацевтически приемлемая соль, где

SP^1 и SP^2 , в случае их присутствия, являются спейсерными группами;

каждая AA представляет собой аминокислоту; и

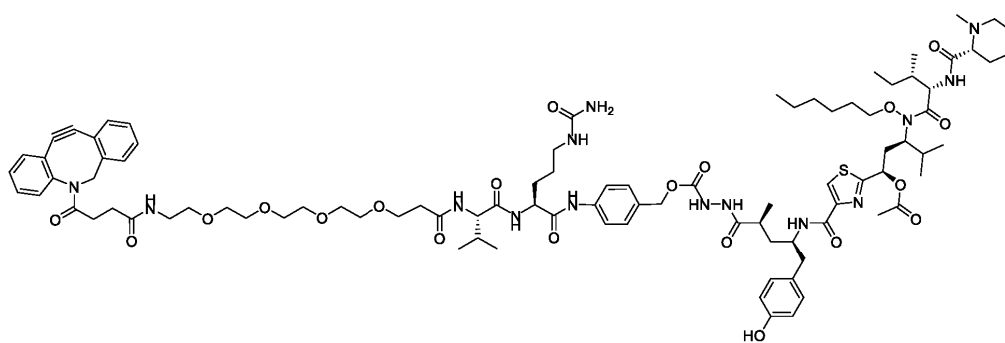
p представляет собой целое число от одного до десяти.

39. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с соединением по пп.1-23.

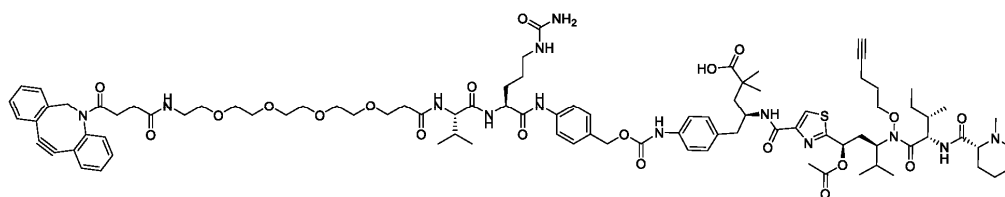
40. Соединение по любому из пп.1-25 или 30-33, 51 или линкер-нагрузка по любому из пп.34-38, где арил включает фенил, нафтил, флуоренил, азуленил, антрил, фенантрил и пиренил; гетероарил включает пиридил, пиразинил, пиримидинил, пиридазинил, хинолинил, изохинолинил, циннолинил, хиназолинил, хиноксалинил, фталазинил, птеридинил, бензофуранил, дибензофуранил, бензотиофенил, бензоксазолил, бензотриазолил, бензотиазолил, индолил, индолинил, бензимидазолил, индазолил и бензтриазолил; и

ацил включает $-C(O)R^{3c}$, где R^{3c} выбран из группы, включающей C_1 - C_{20} -алкил, C_2 - C_{20} -алкенил, C_2 - C_{20} -алкинил, C_3 - C_{20} -циклоалкил, C_6 - C_{20} -арил, и от 5- до 20-членный гетероарил, включающий по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора.

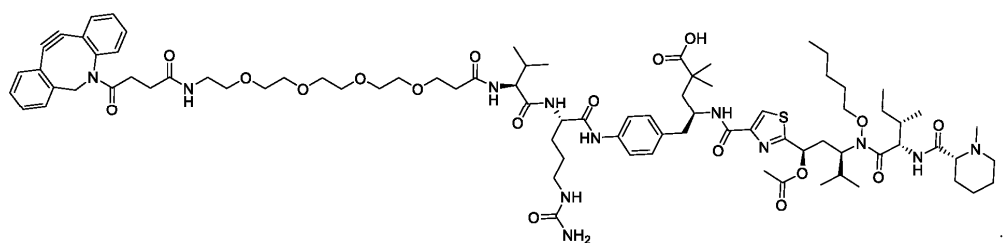
41. Линкер-нагрузка по п.38, отличающаяся тем, что такая линкер-нагрузка выбирается из группы, состоящей из



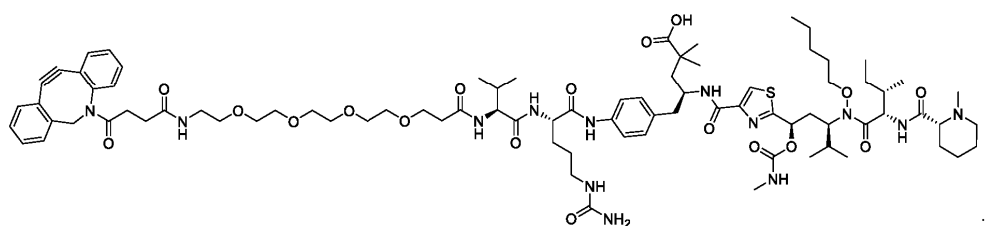
;



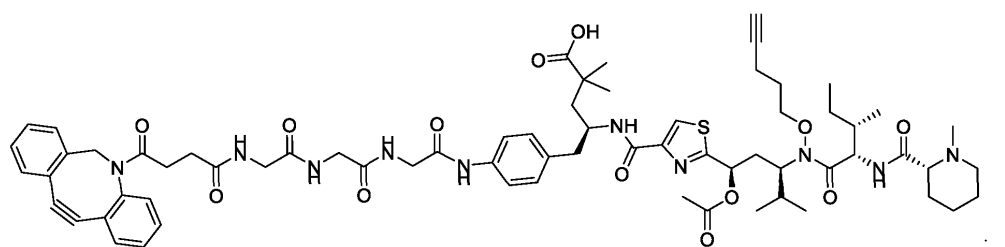
;



;

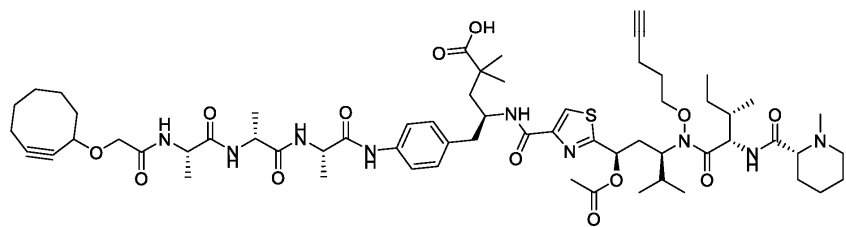
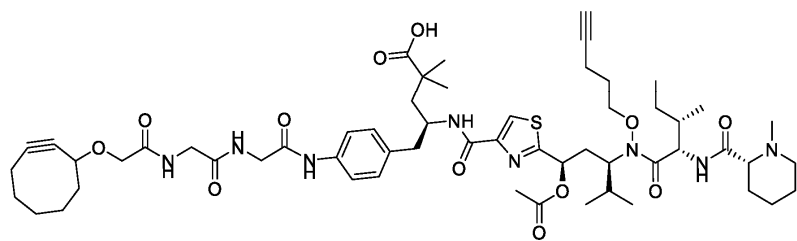
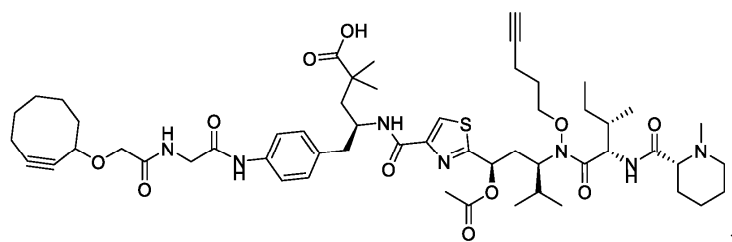
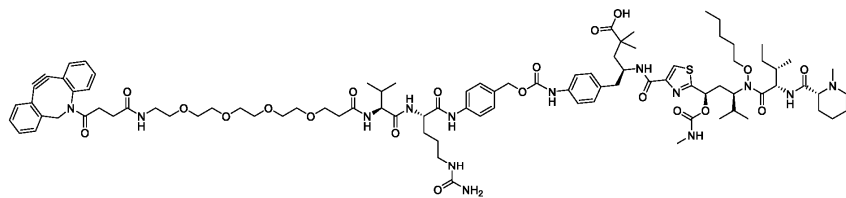
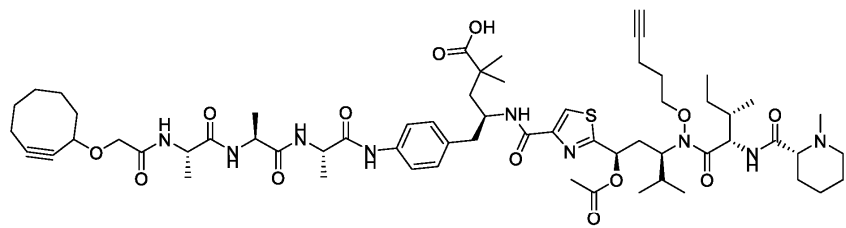


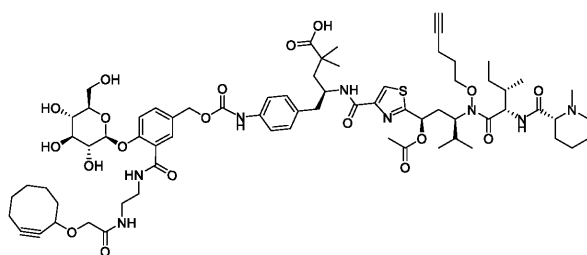
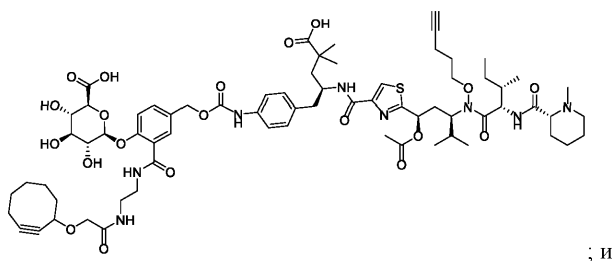
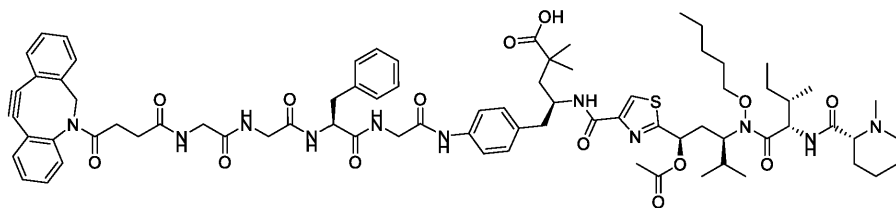
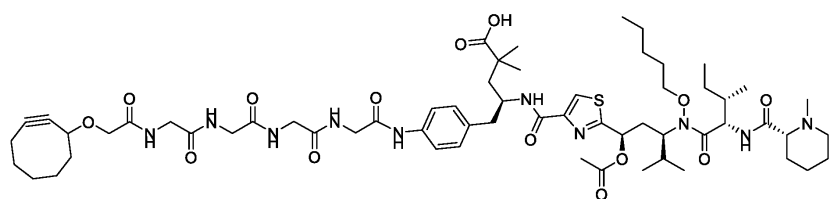
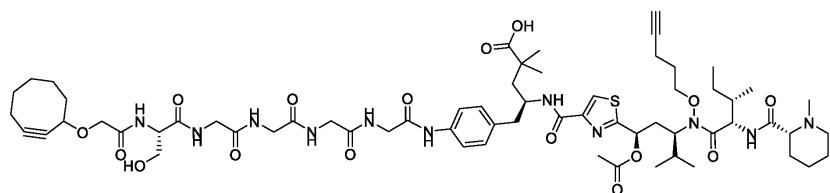
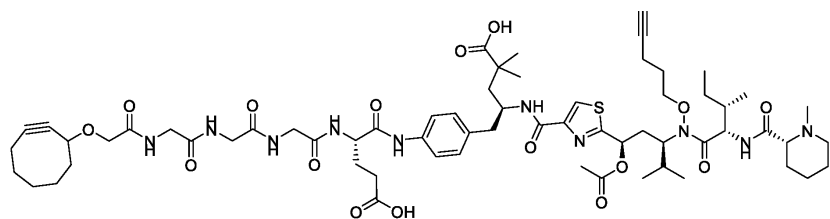
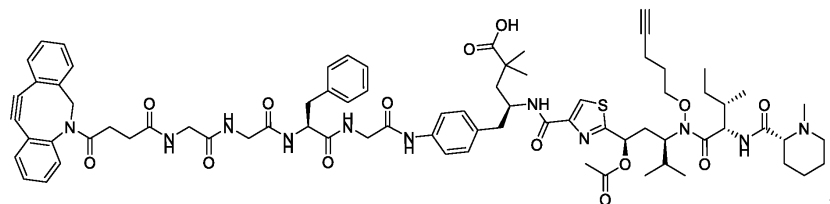
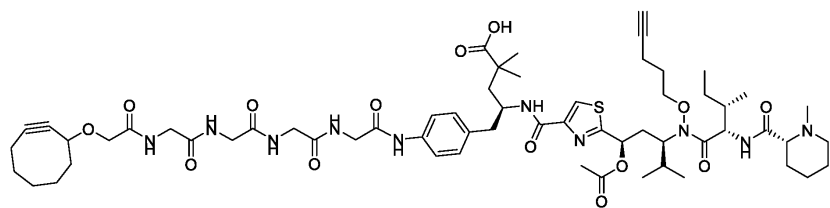
;



;

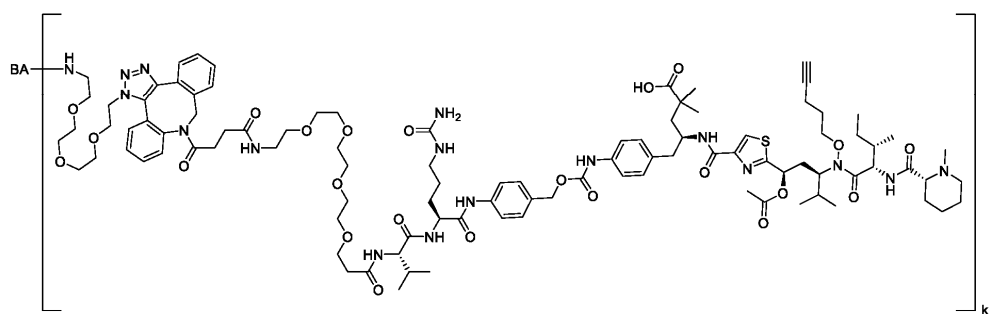
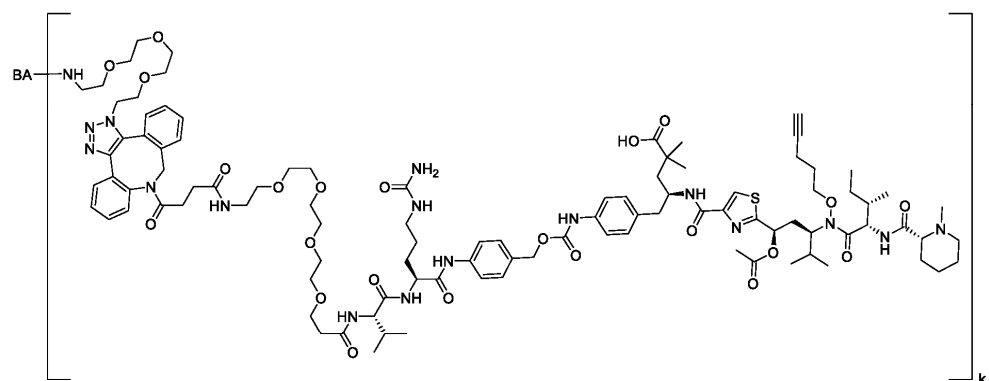
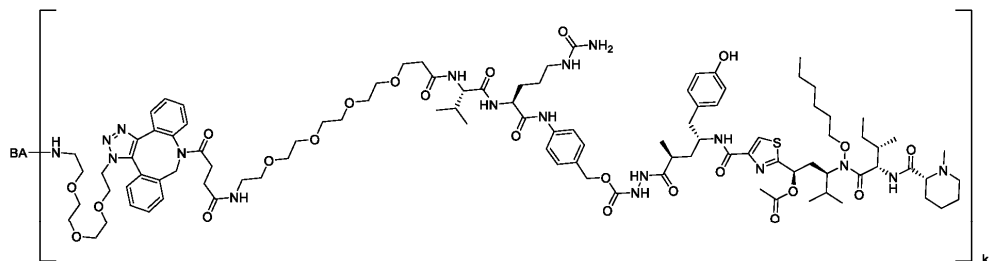
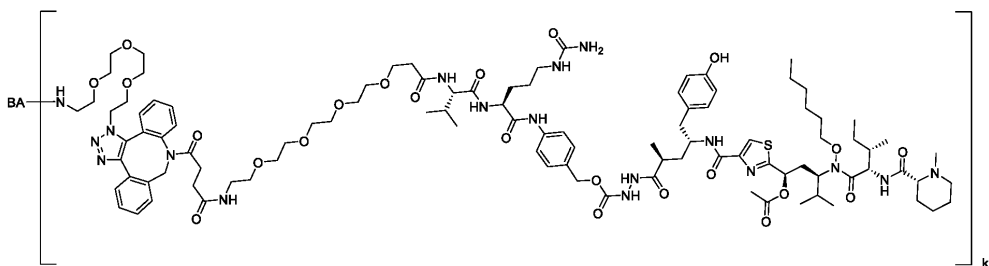
047625

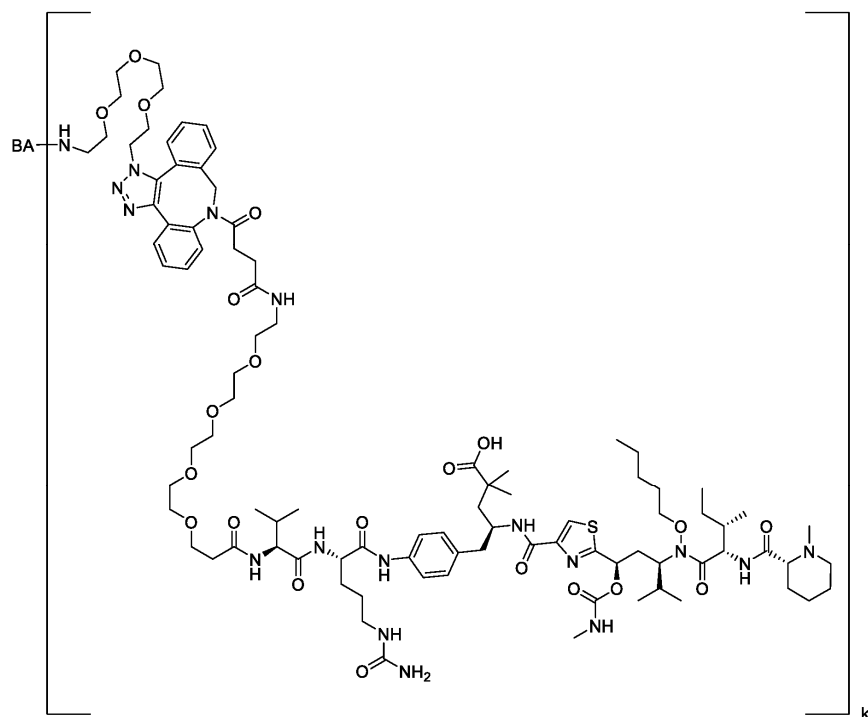
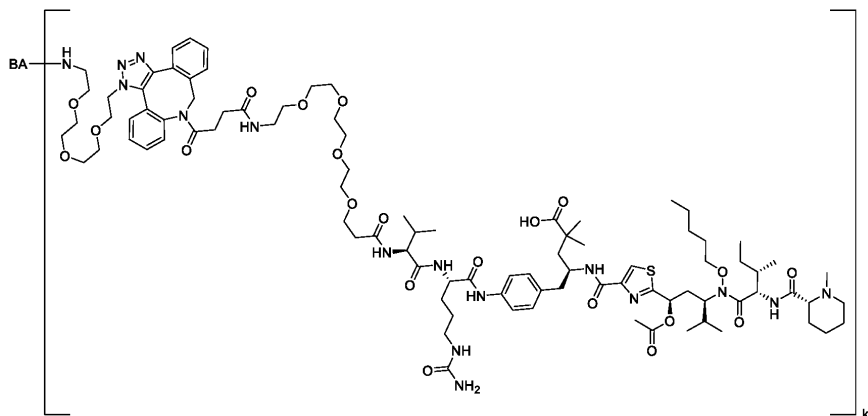
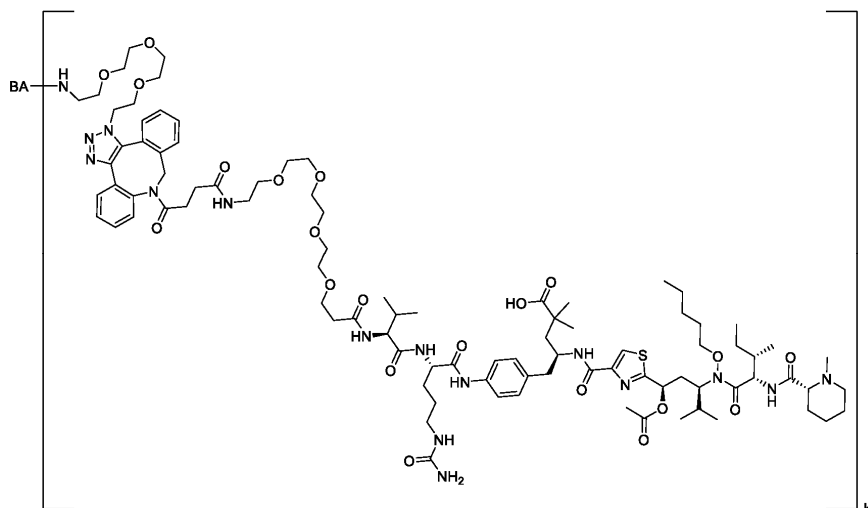


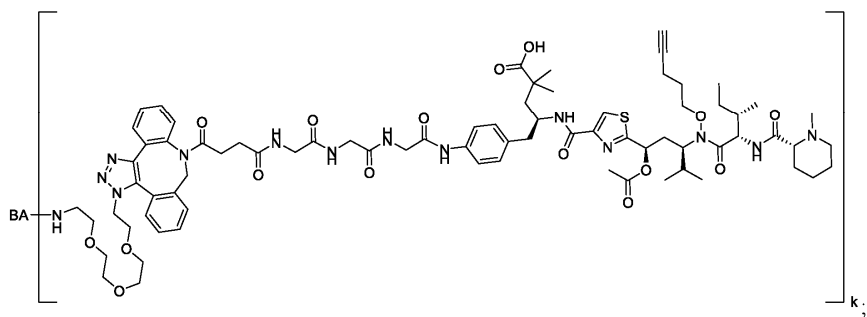
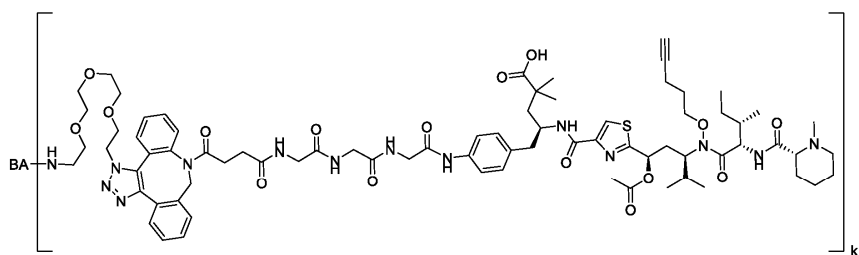
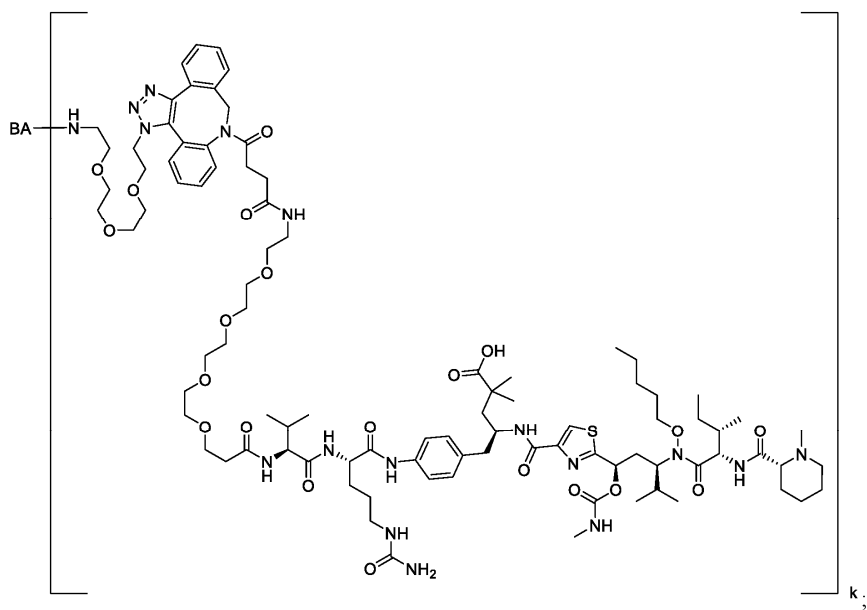


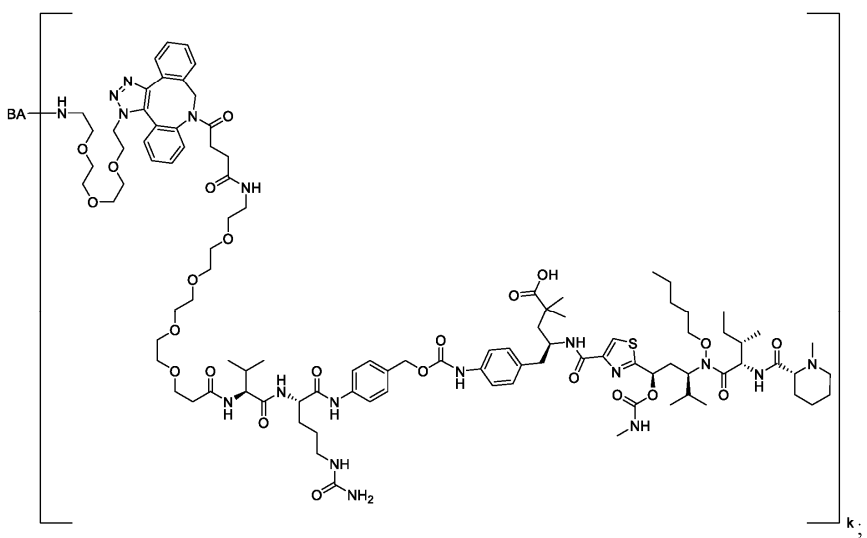
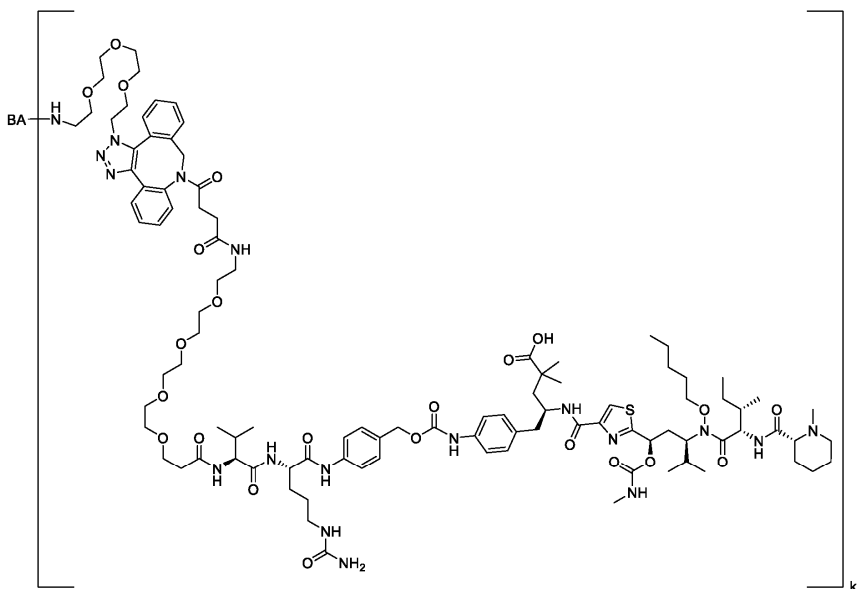
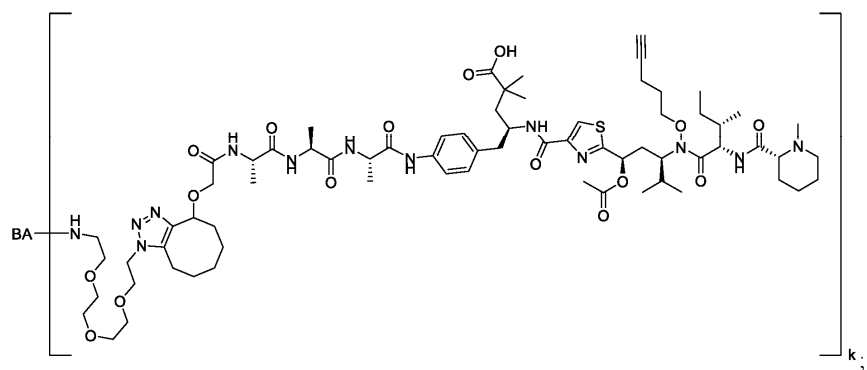
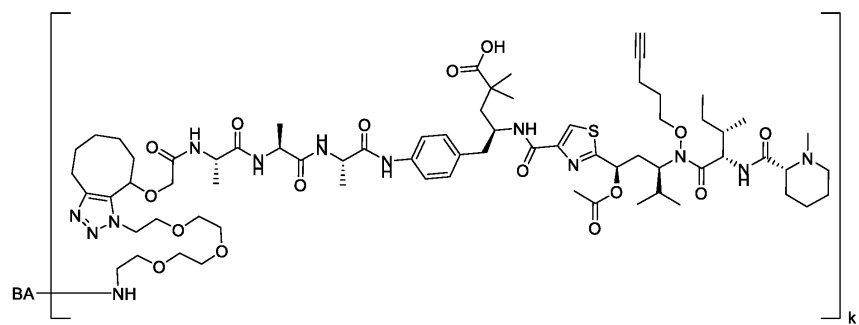
42. Способ приготовления конъюгата антитело-лекарственное средство, включающий взаимодействие антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с линкер-нагрузкой по п.40.

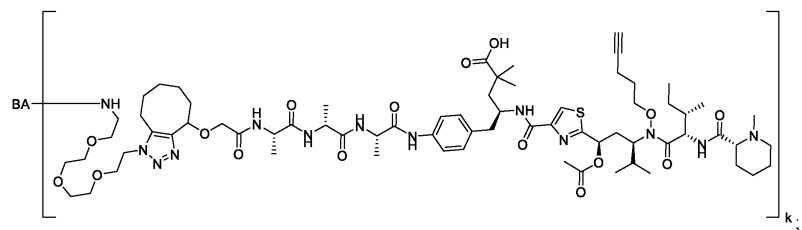
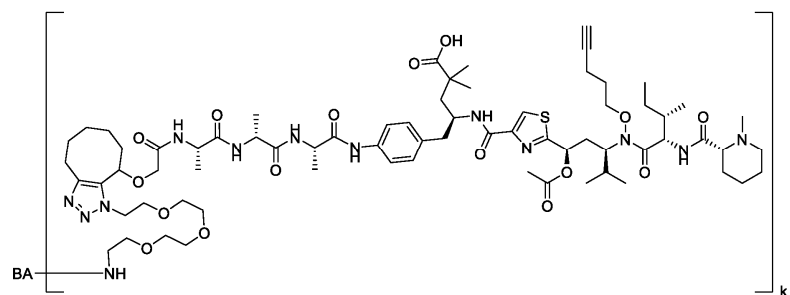
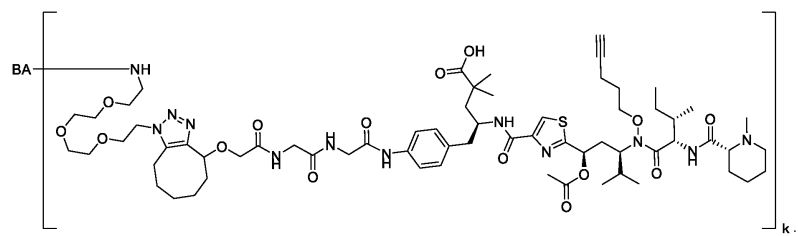
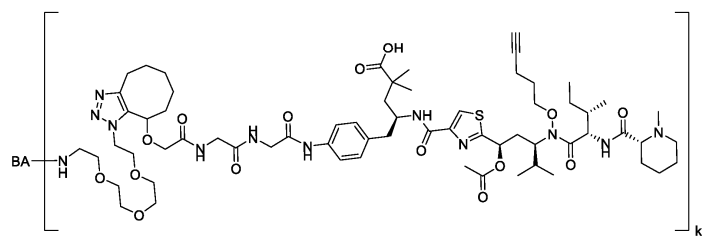
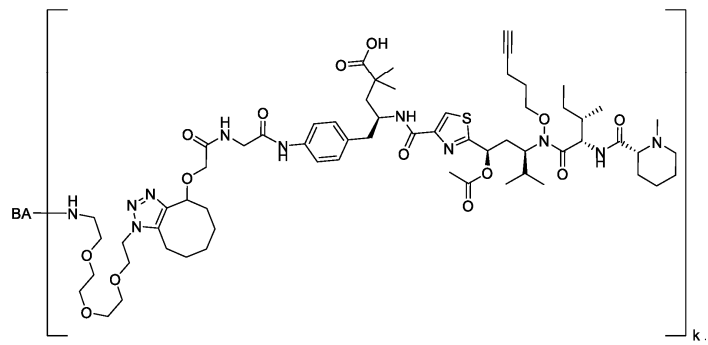
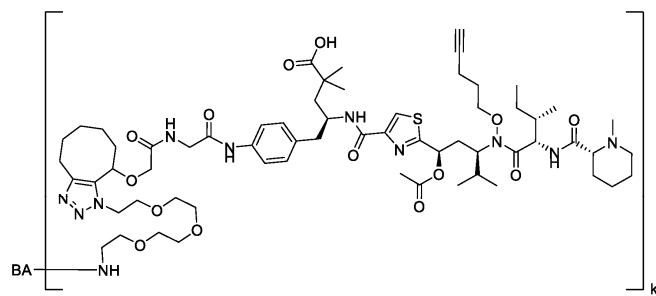
43. Соединение, выбираемое из группы, состоящей из

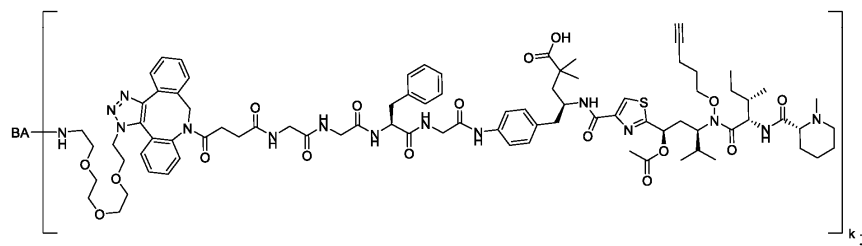
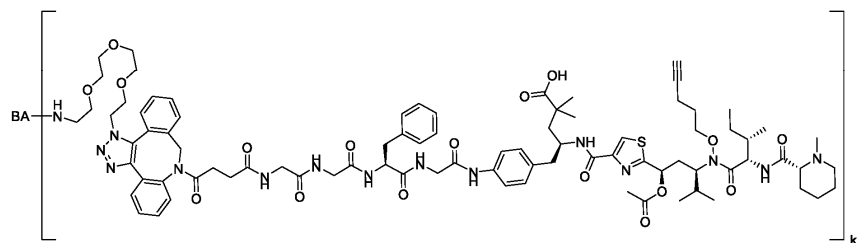
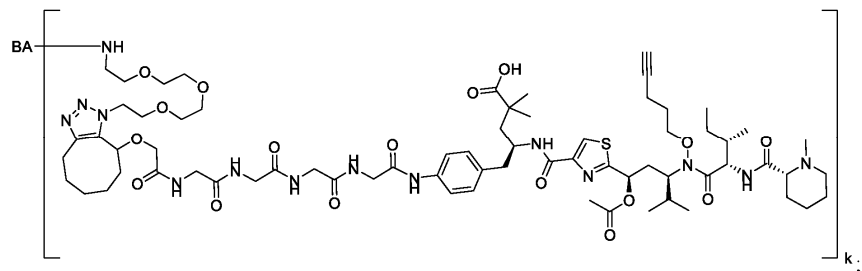
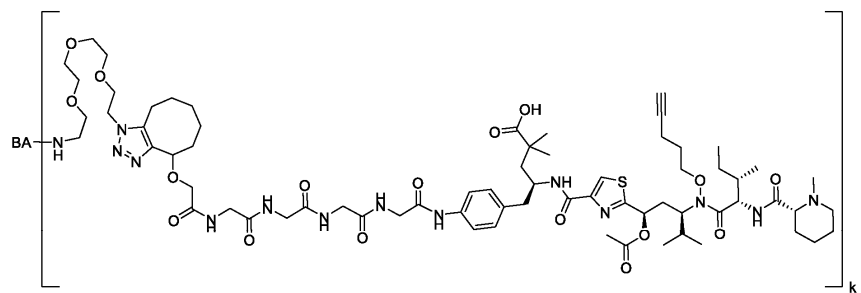


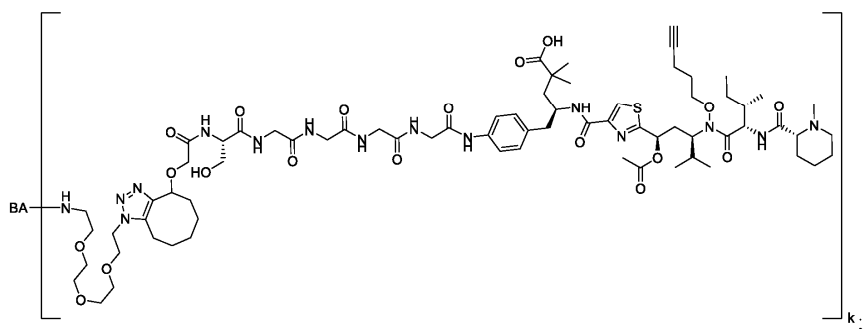
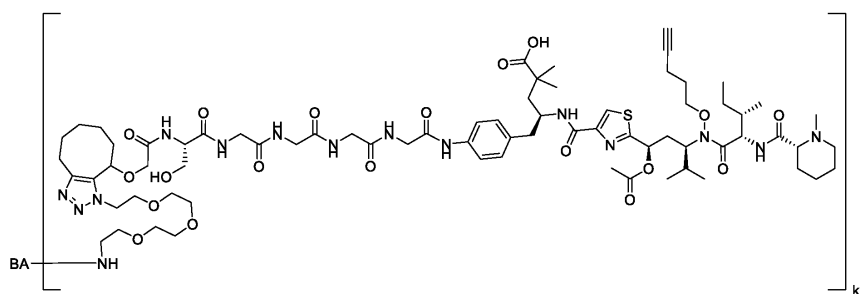
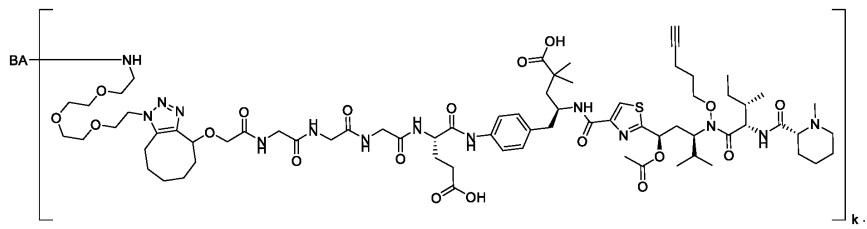
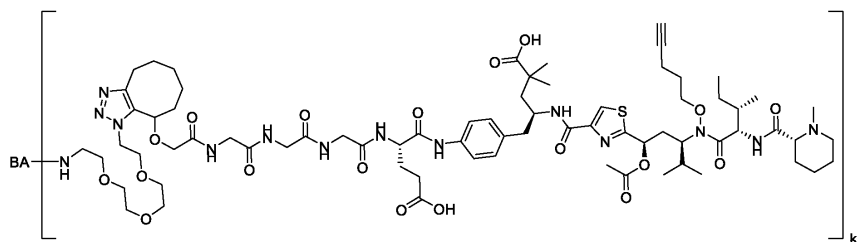


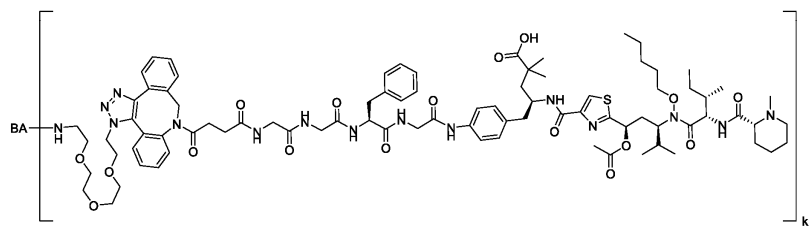
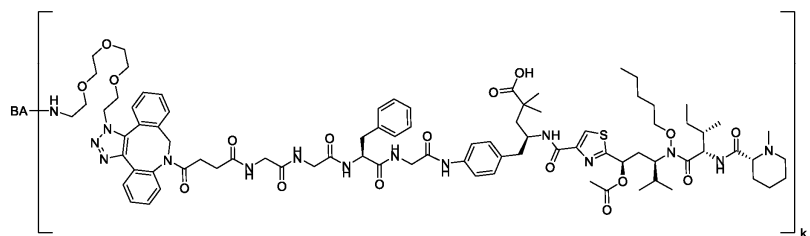
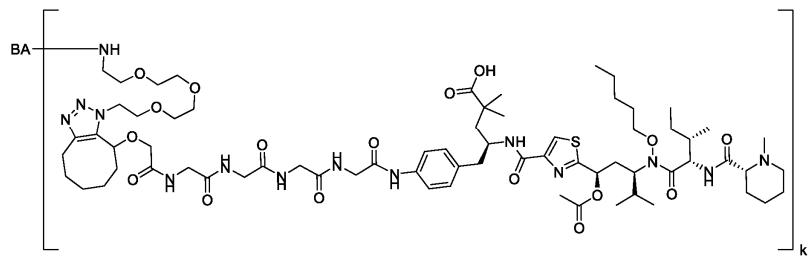
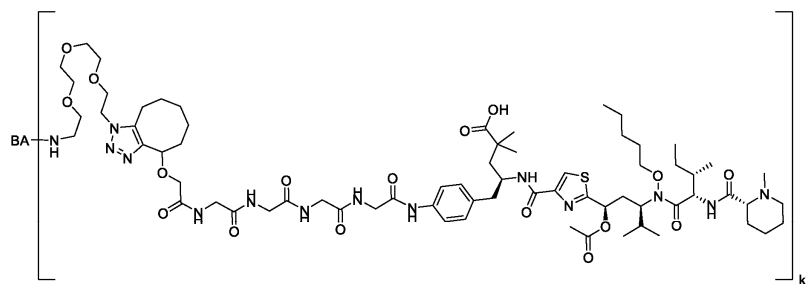


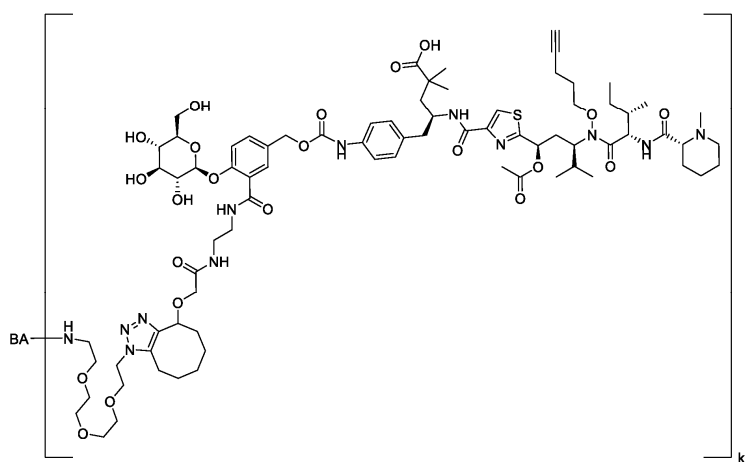
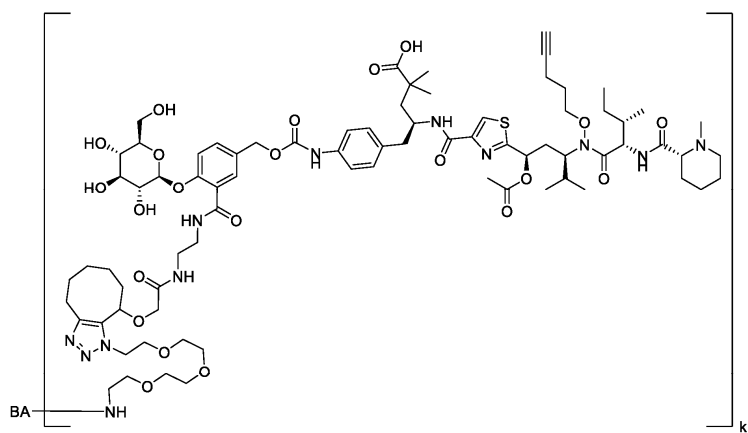
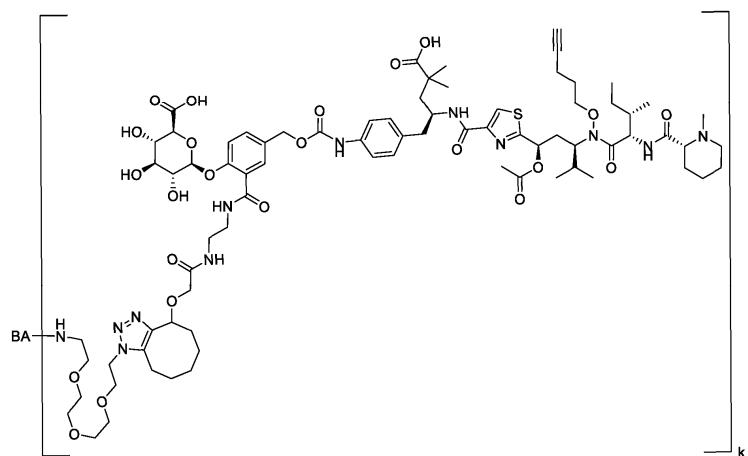
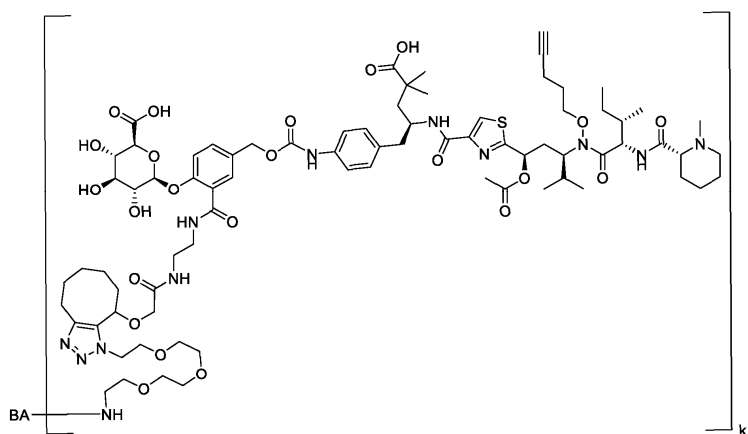












где ВА представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и k равен одному, двум, трем или четырем.

44. Соединение по п.43, где ВА представляет собой модифицированное трансклутаминой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие по меньшей мере один глутаминовый остаток, используемый для конъюгации.

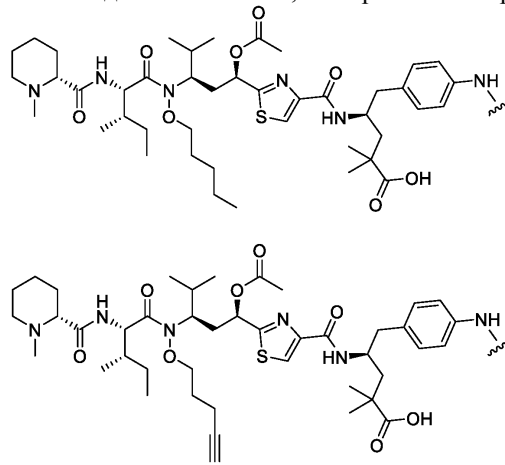
45. Соединение по п.43, где ВА представляет собой модифицированное трансклутаминой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие по меньшей мере два глутаминовых остатка, используемых для конъюгации.

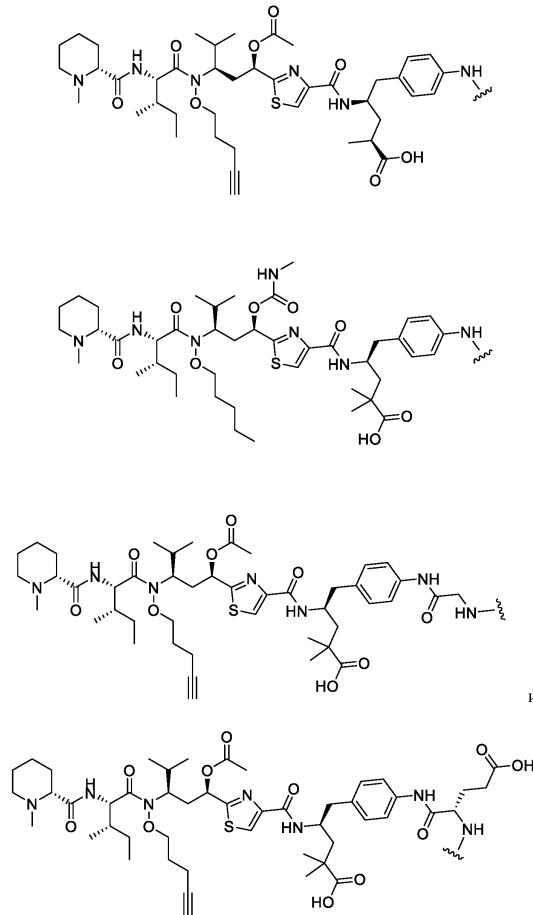
46. Соединение по п.43, где ВА представляет собой модифицированное трансклутаминой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие по меньшей мере четыре глутаминовых остатка, используемых для конъюгации.

47. Соединение по п.46, где ВА представляет собой модифицированное трансклутаминой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где конъюгация осуществляется на двух остатках Q295; и k равен двум.

48. Соединение по п.46, где ВА представляет собой модифицированное трансклутаминой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где конъюгация осуществляется на двух остатках Q295 и двух остатках N297Q; и k равен четырем.

49. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с соединением по п.1, выбираемым из группы, состоящей из

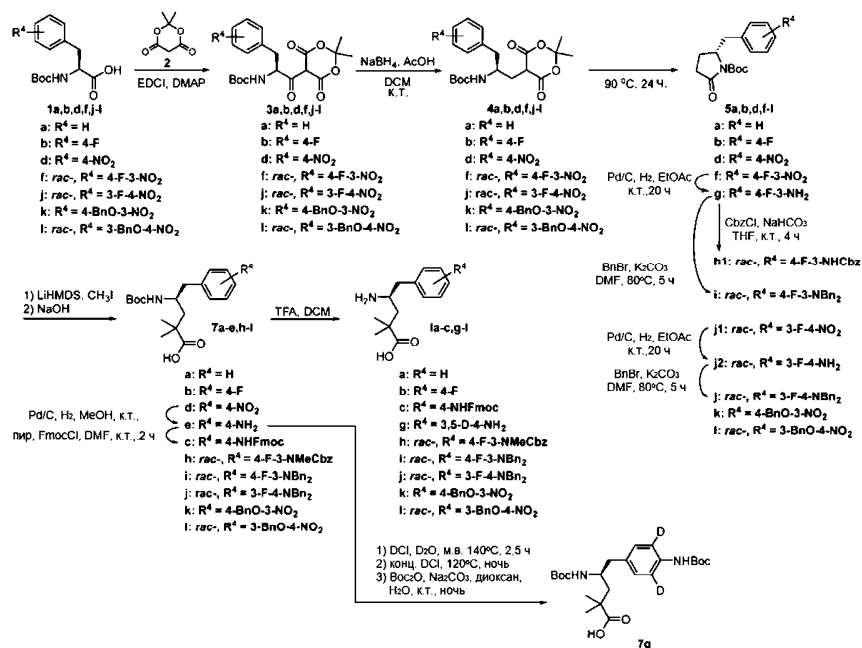




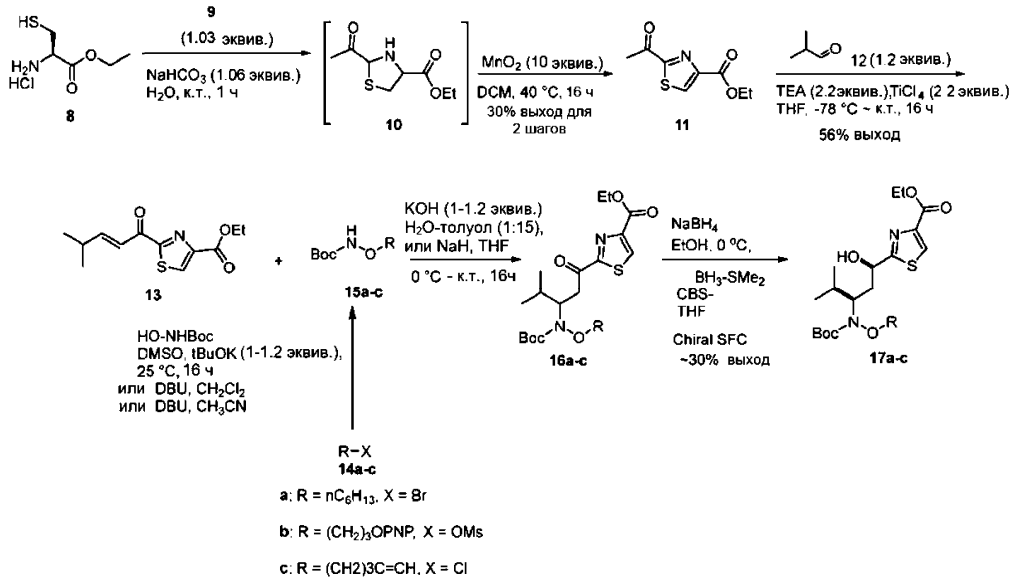
50. Соединение по любому из пп.43-48, где ВА представляет собой анти-PRLR или анти-STEAP2 антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент.

51. Соединение по п.24, где региоизомерный C₁-C₁₀-алкилен-триазиолилен включает триазиолилен,

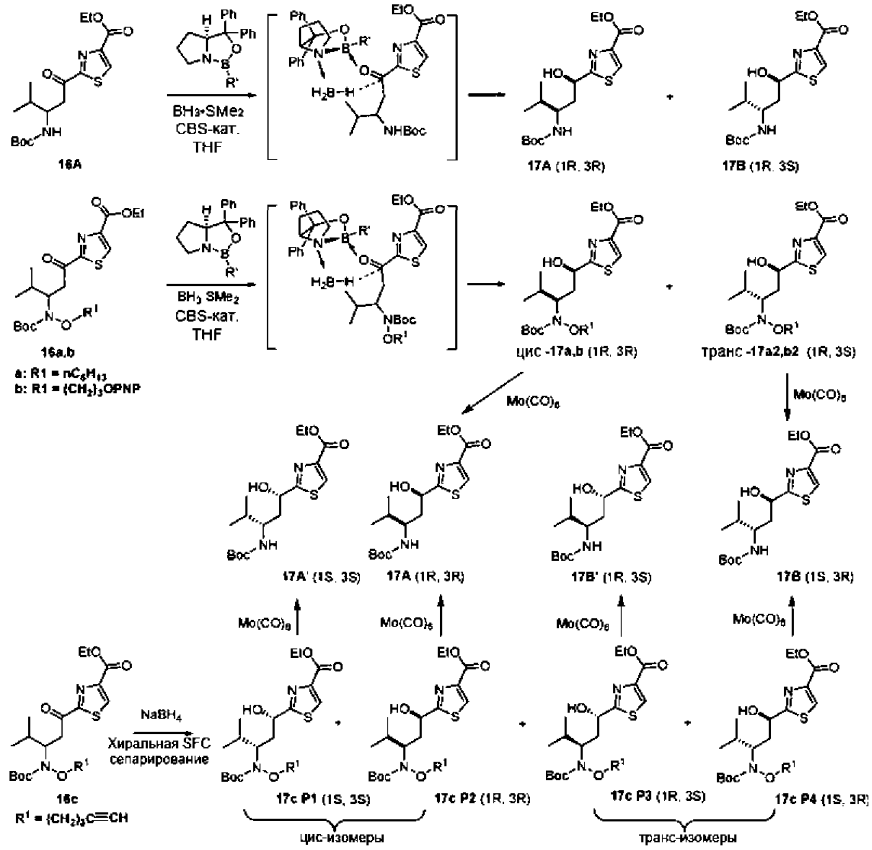
выбранный из группы, состоящей из



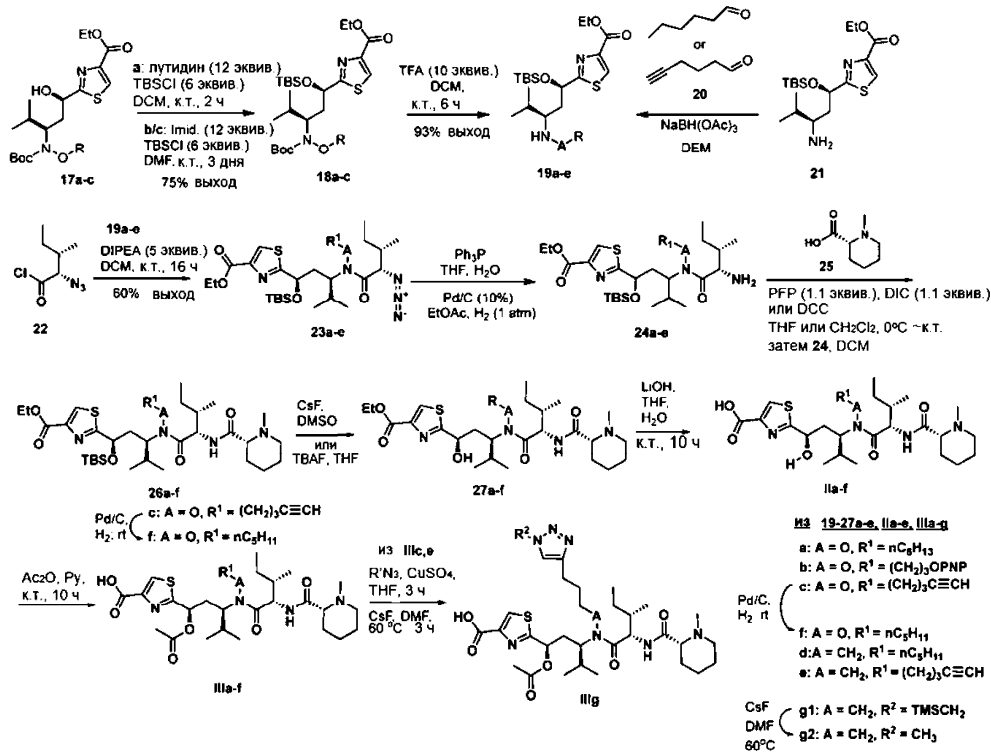
Фиг. 1



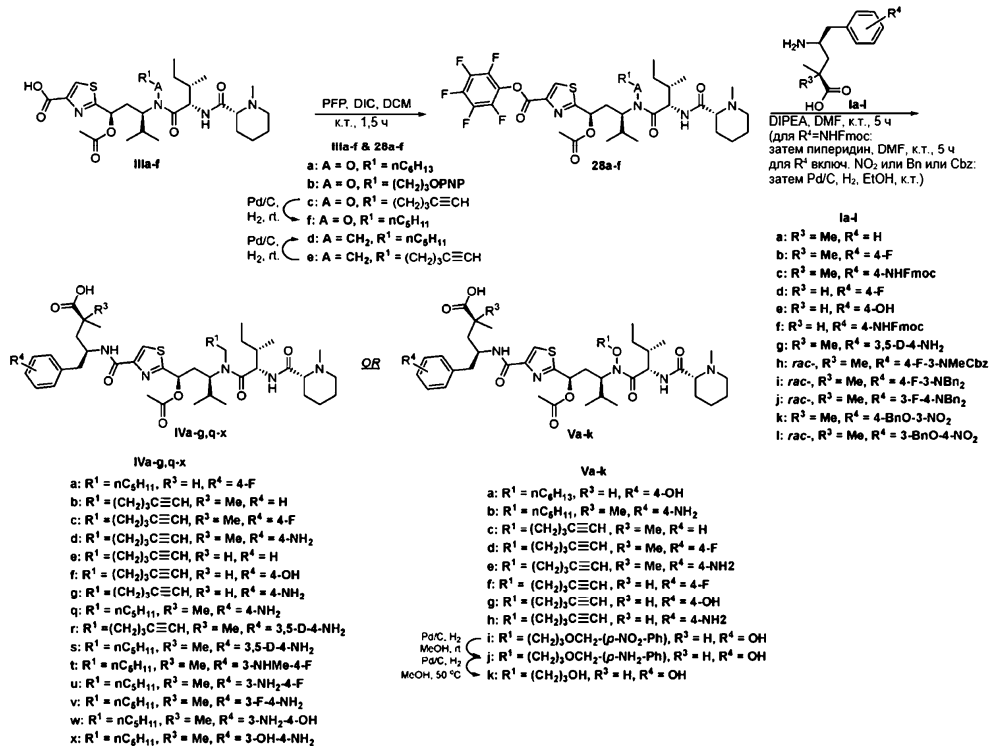
Фиг. 2



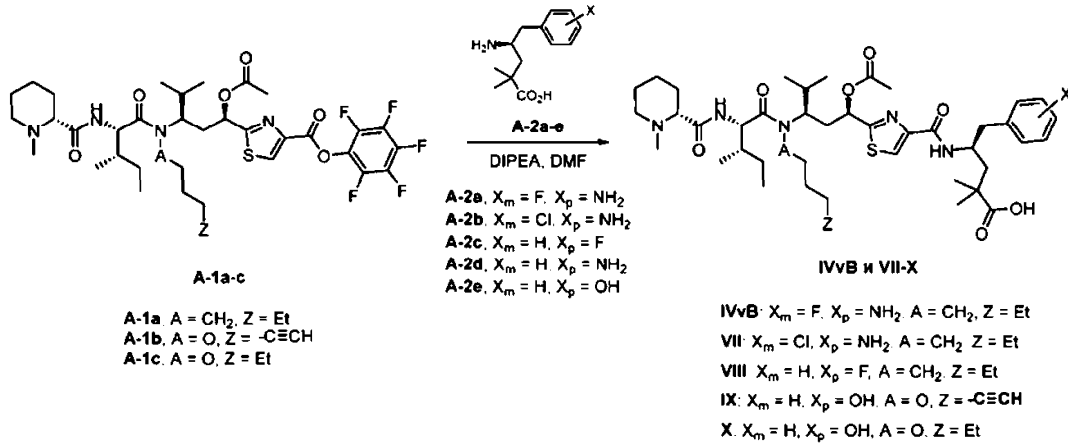
Фиг. 3



Фиг. 4

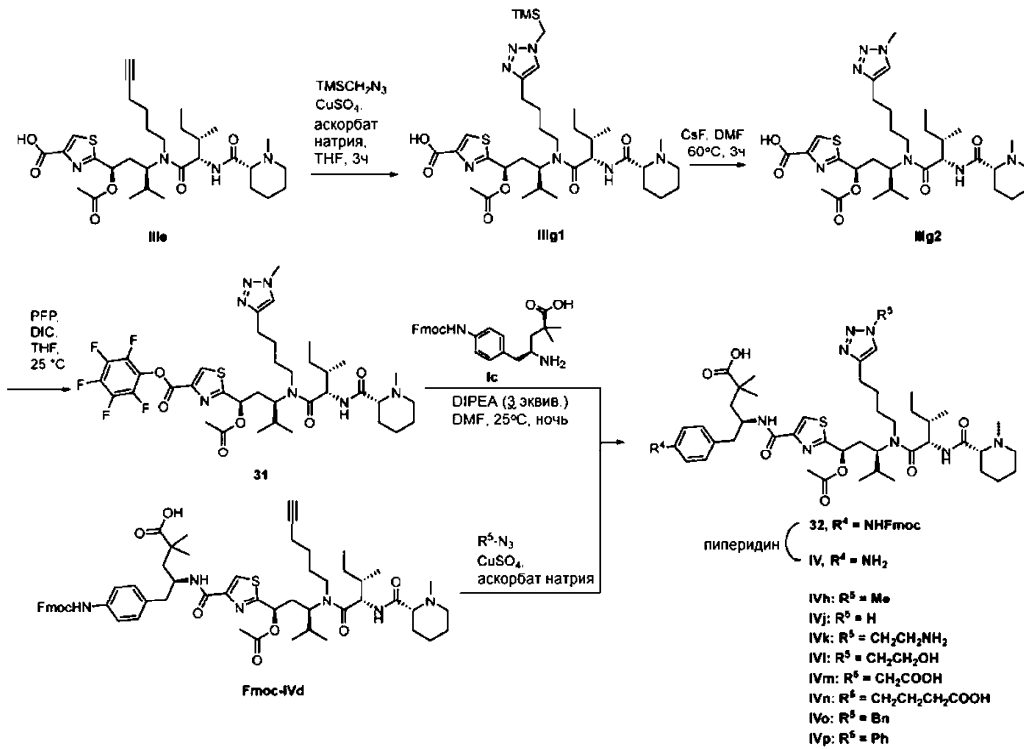


047625

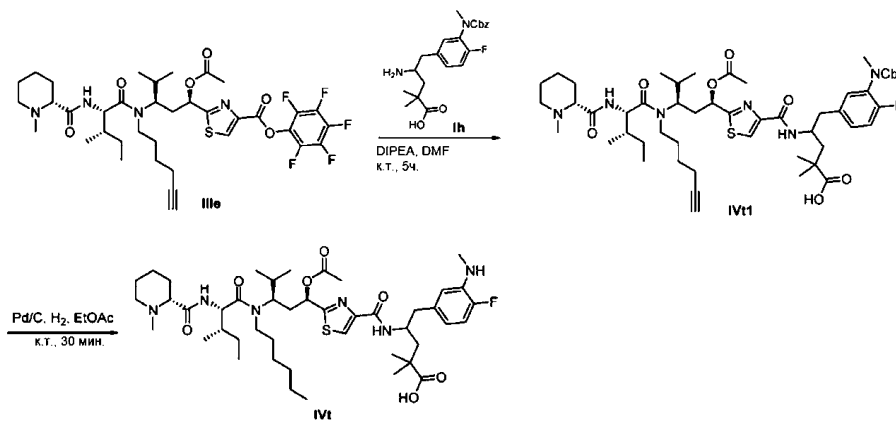


где m означает мета; и
p означает пара

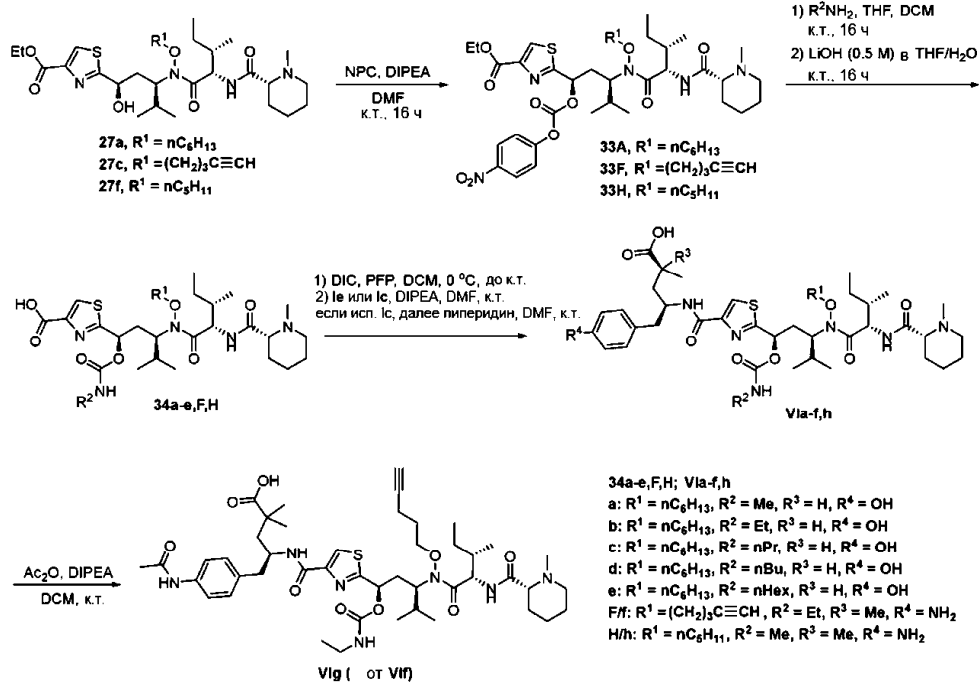
Фиг. 5А



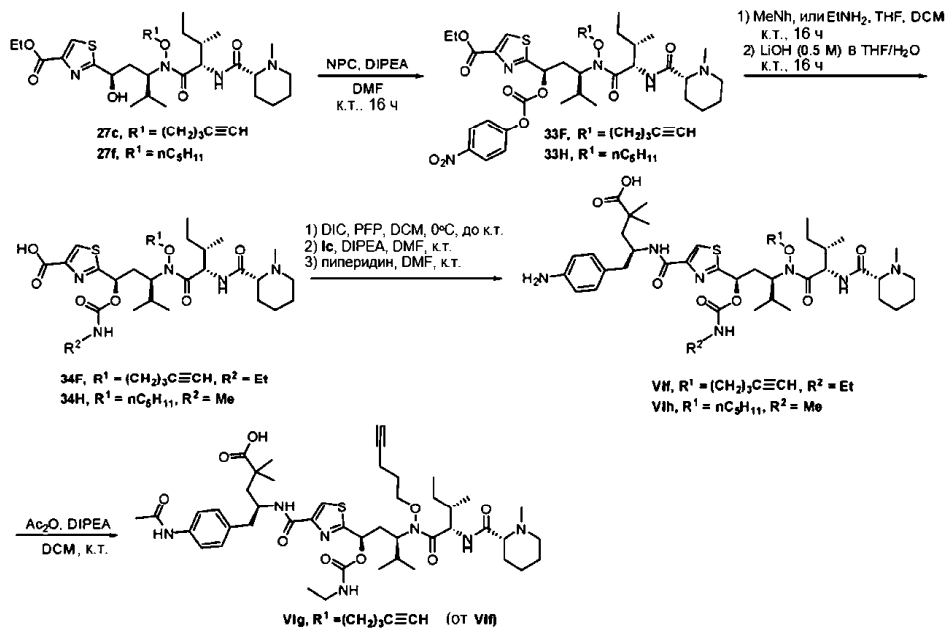
Фиг. 6А



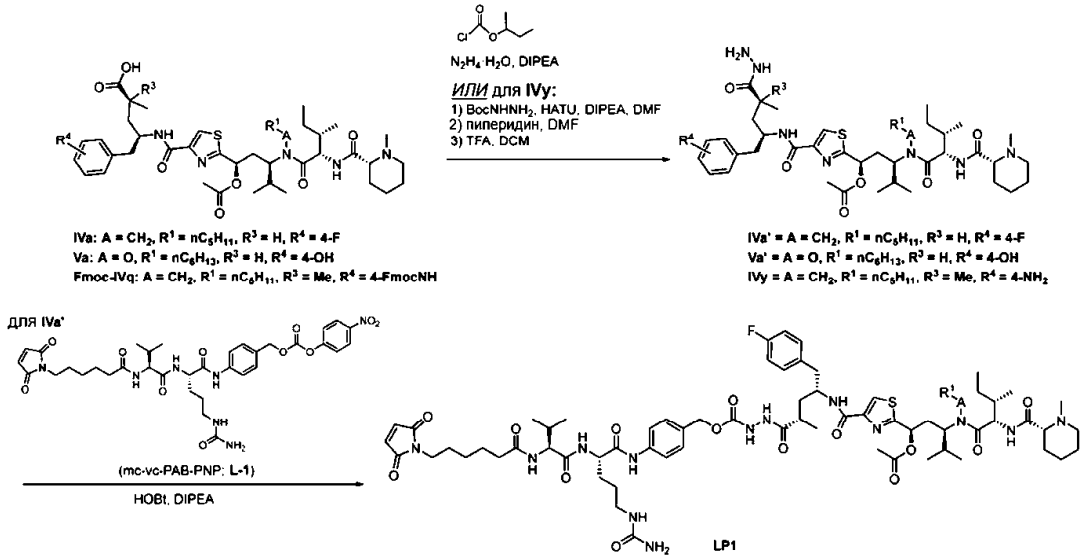
Фиг. 6В



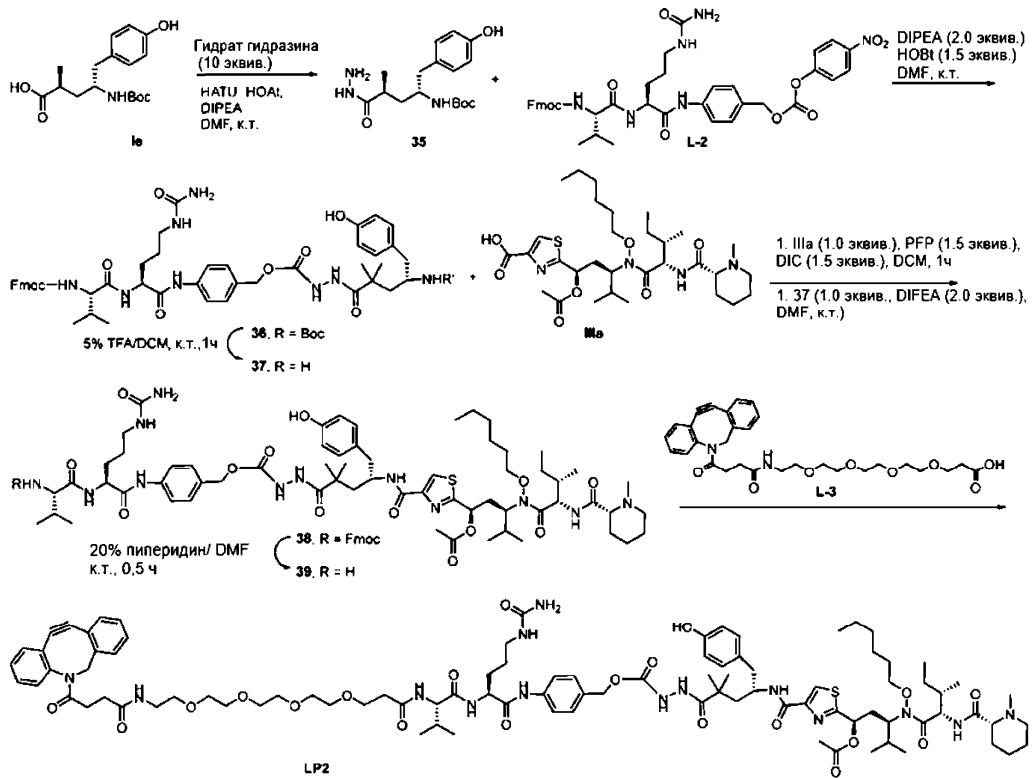
Фиг. 7А



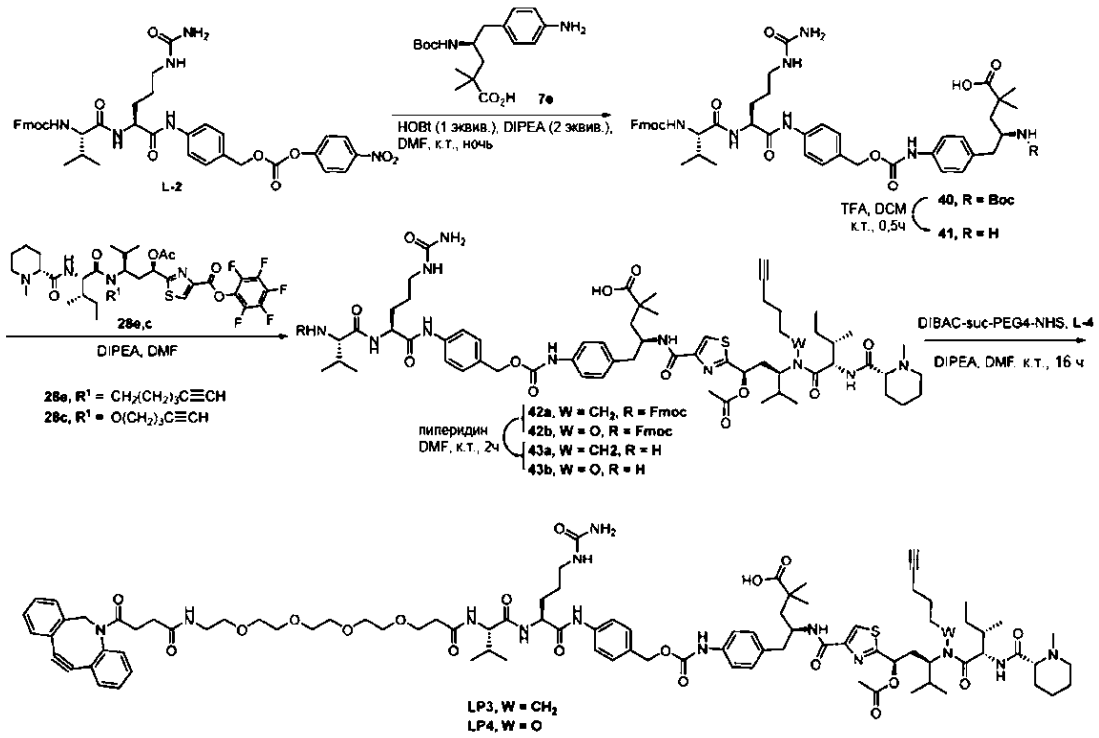
Фиг. 7В



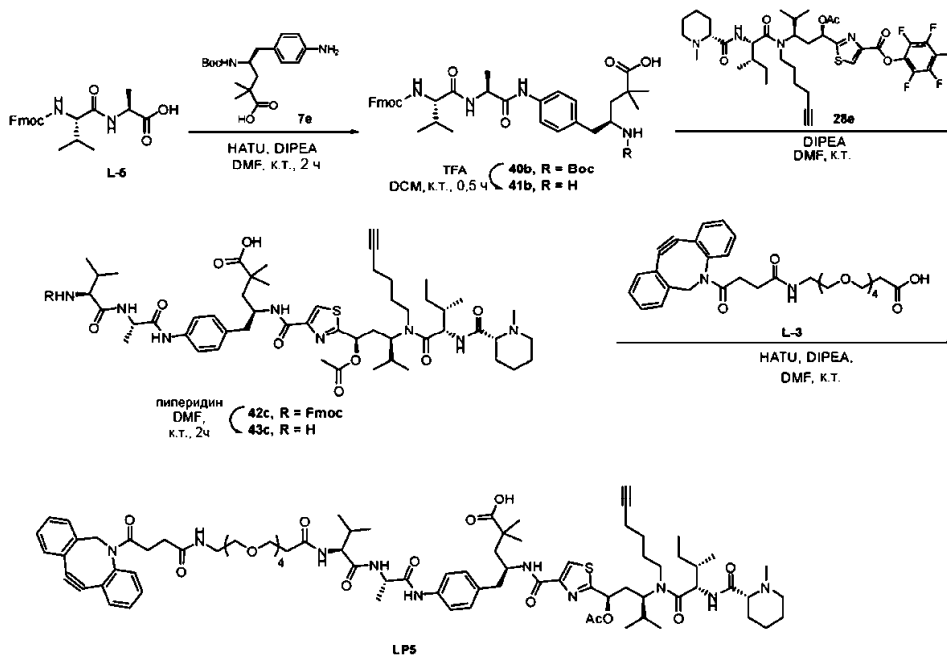
Фиг. 8



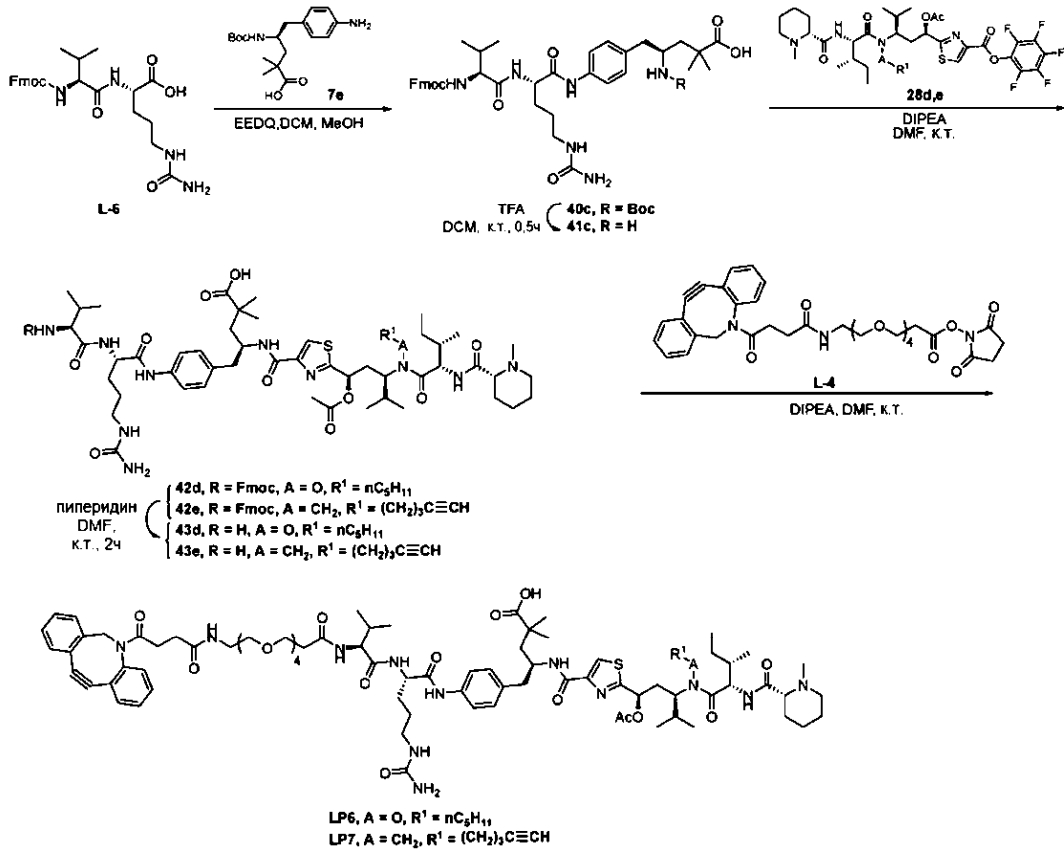
Фиг. 9



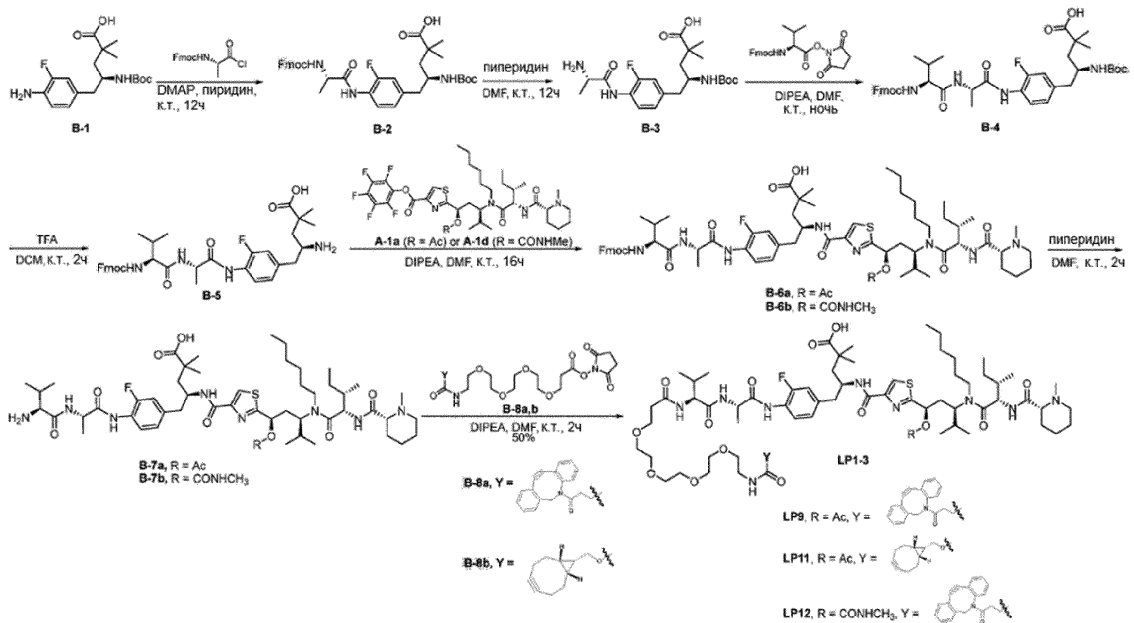
Фиг. 10А



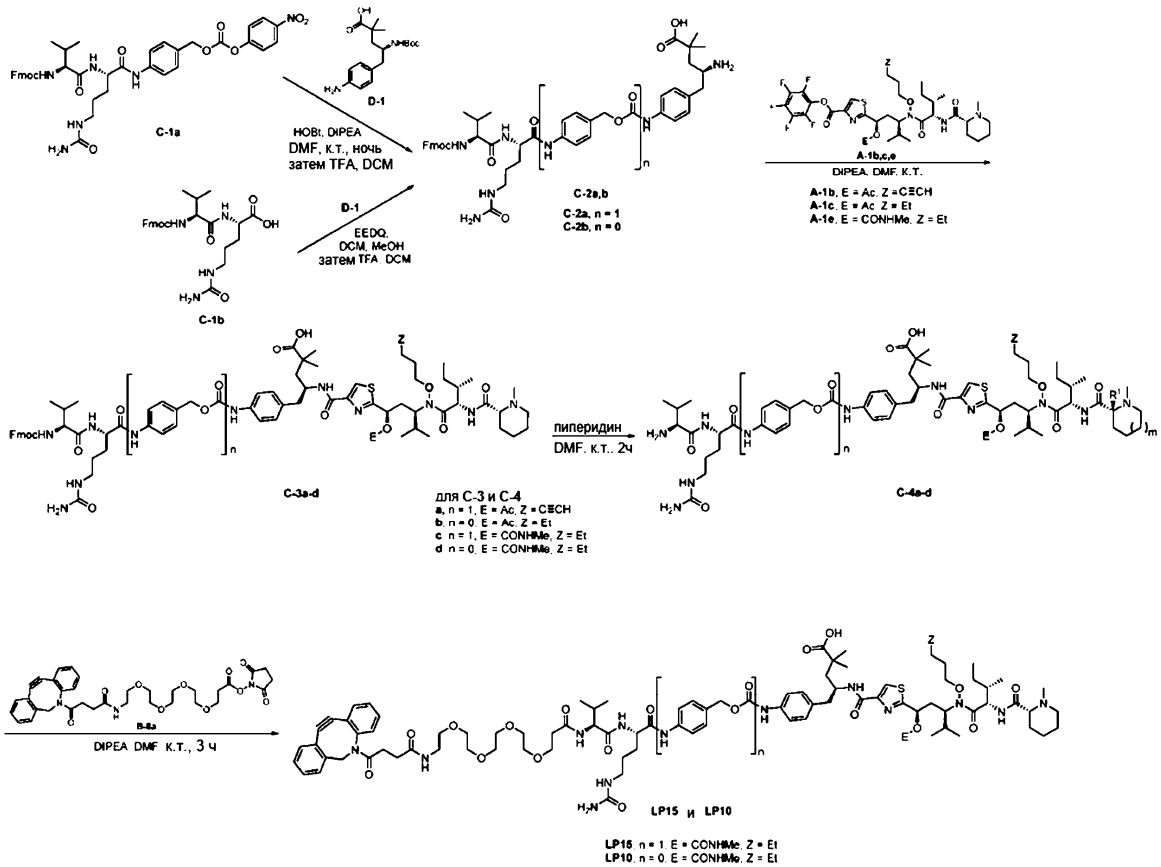
Фиг. 10В



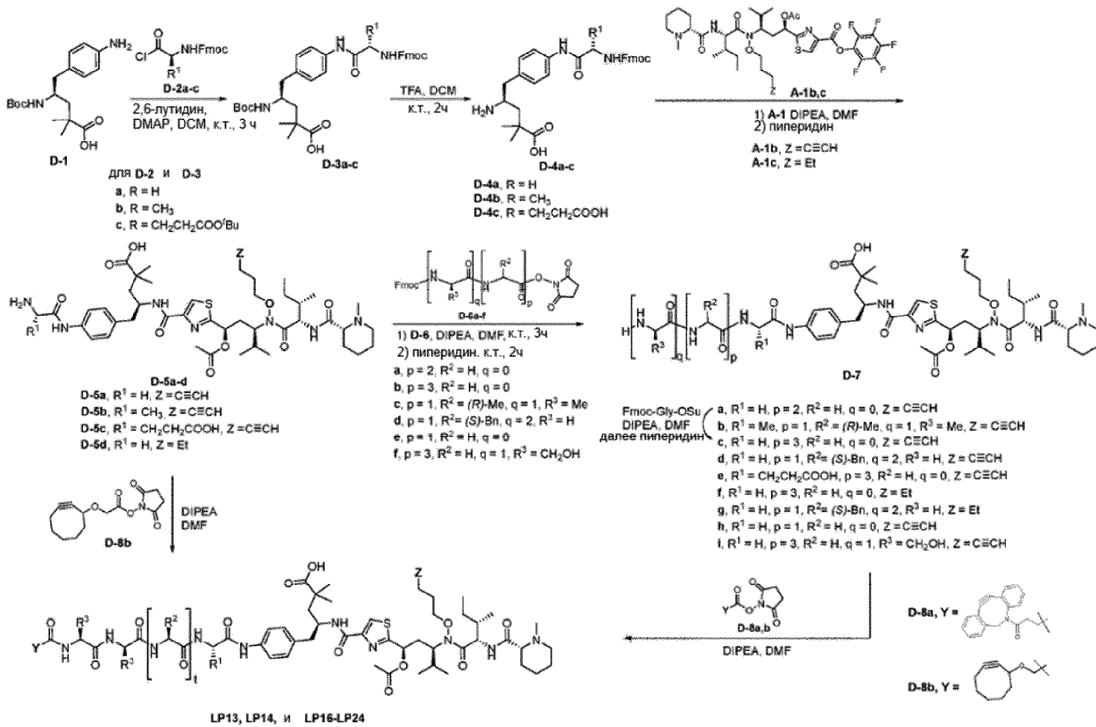
Фиг. 10C



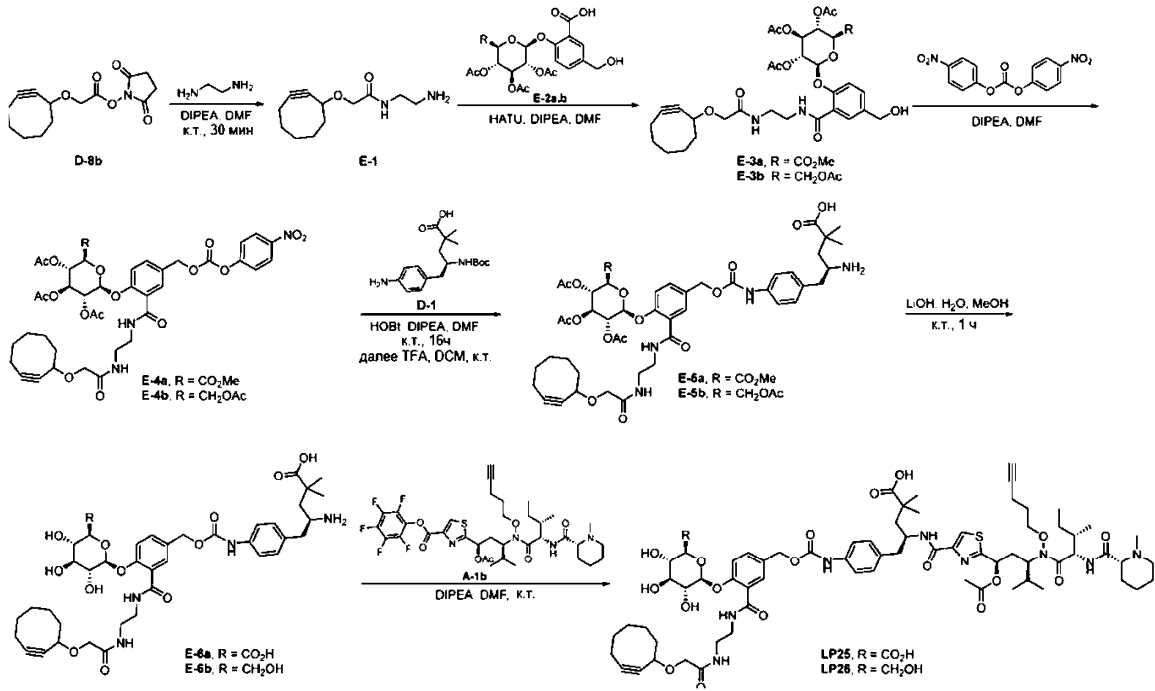
Фиг. 10D



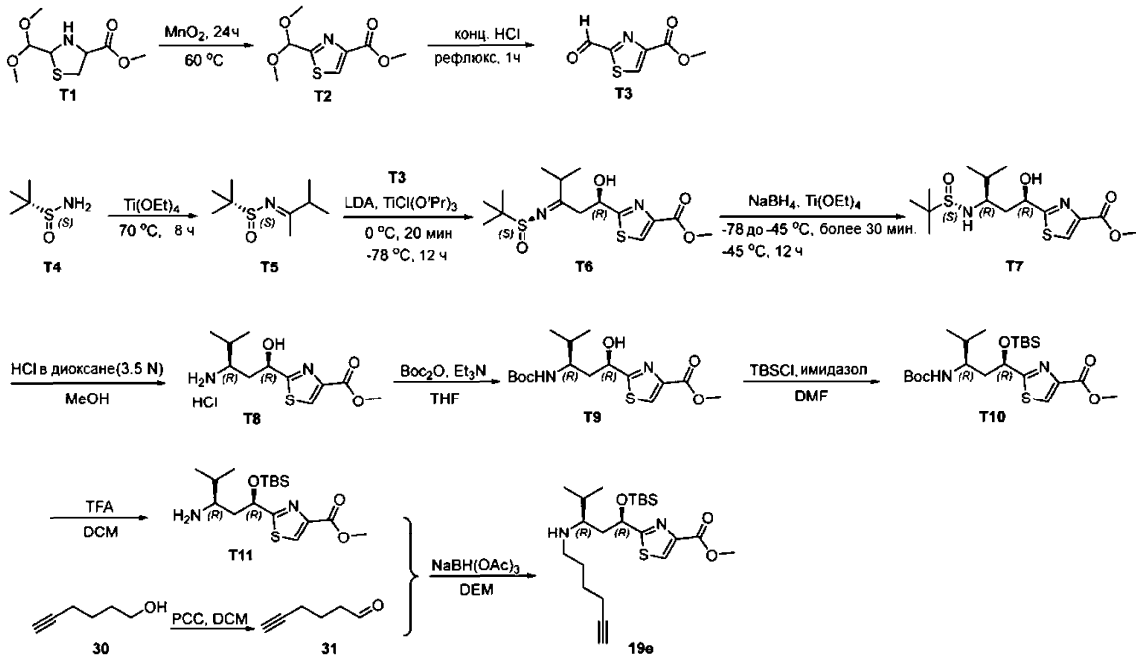
Фиг. 10Е



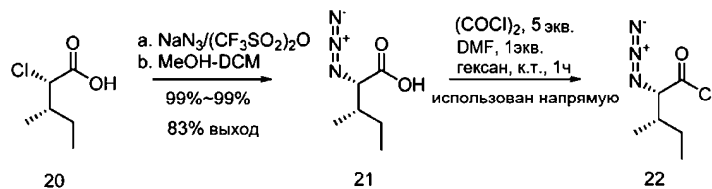
Фиг. 10F



Фиг. 10G

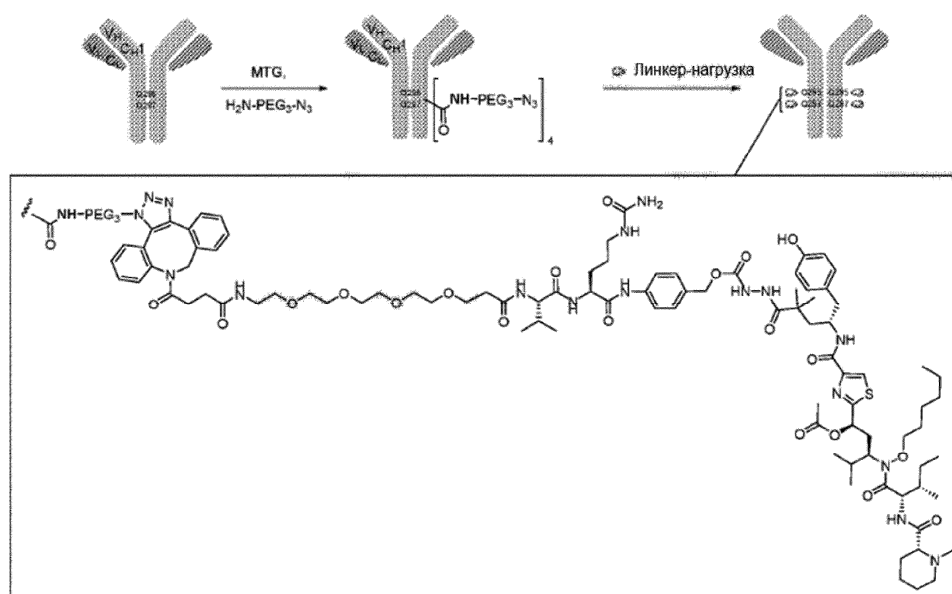
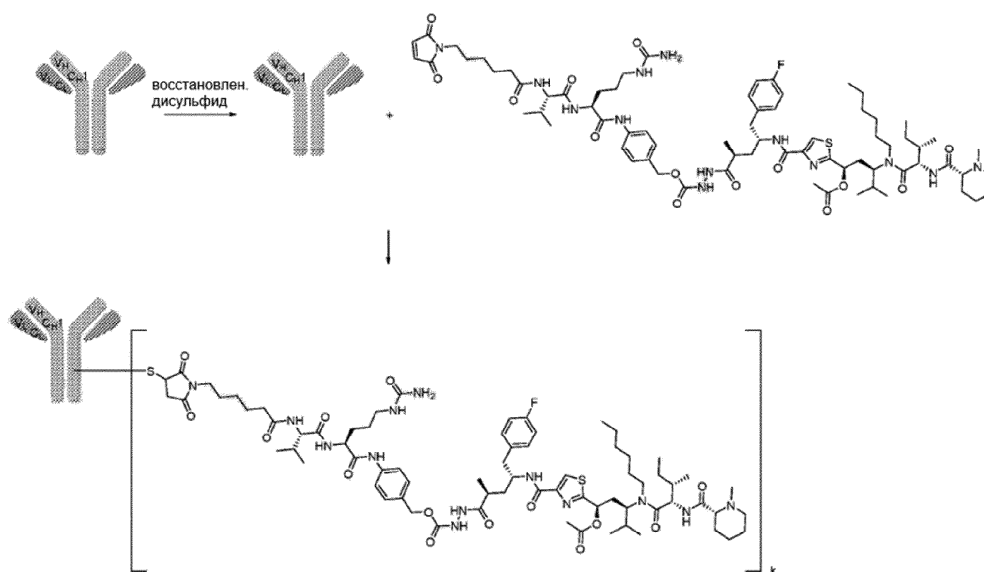


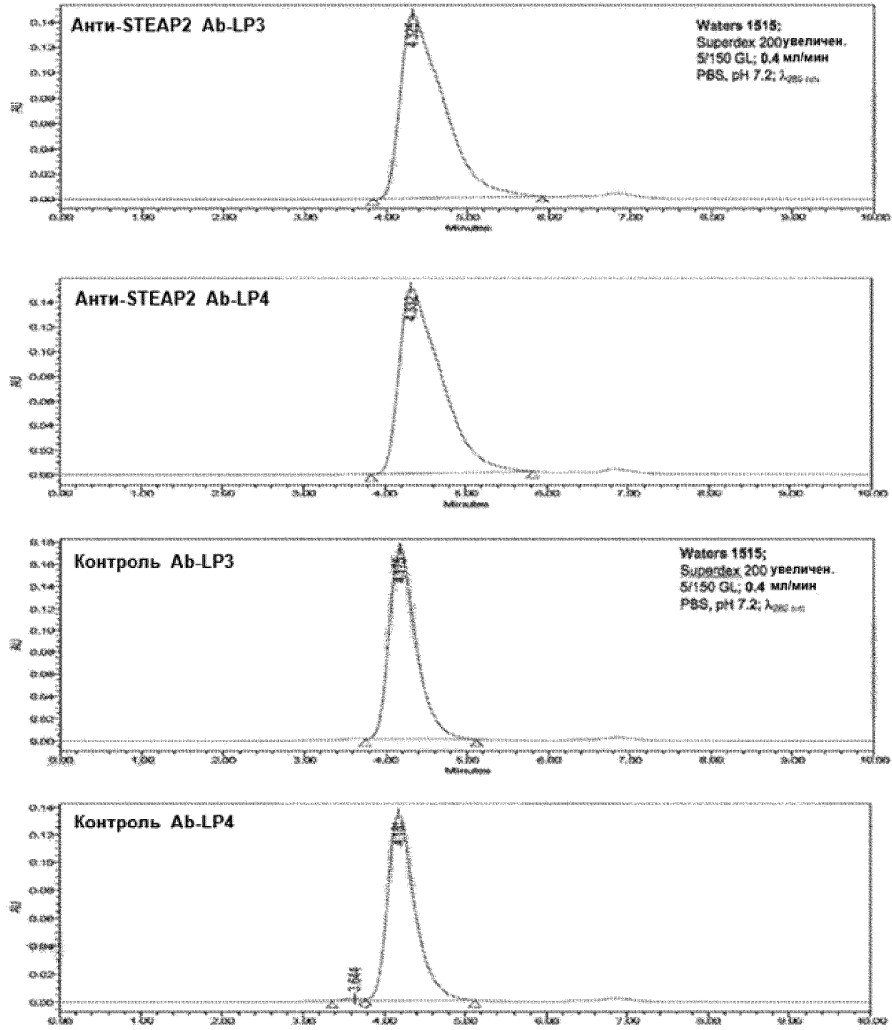
Фиг. 11



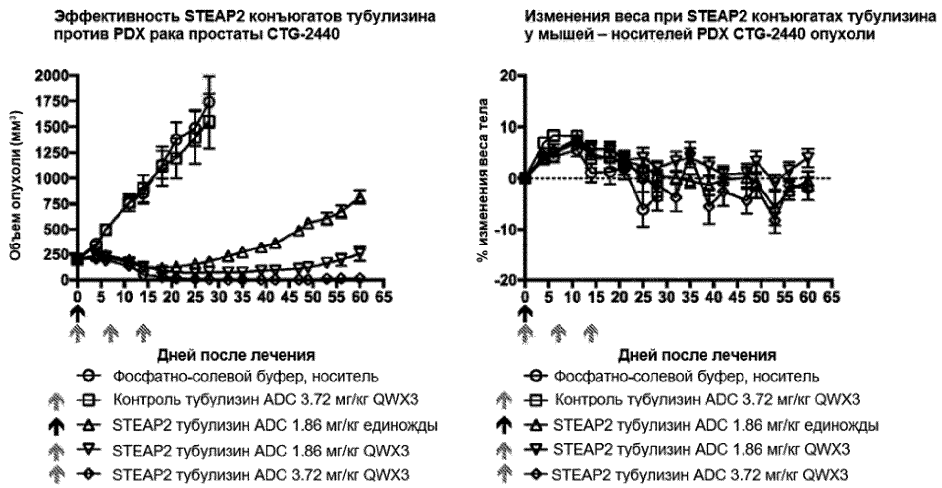
Фиг. 12

047625





Фиг. 15

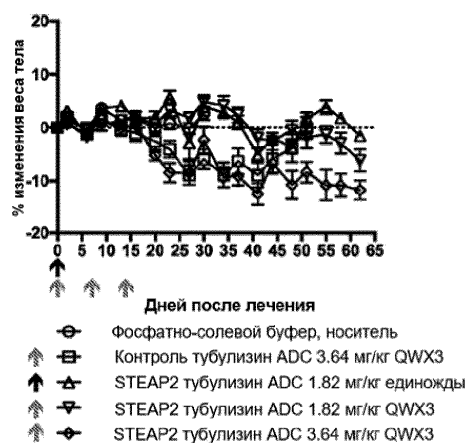


Фиг. 16

Эффективность STEAP2 конъюгатов тубулина против PDX рака простаты CTG-2441



Изменения веса при STEAP2 конъюгатах тубулина у мышей – носителей PDX CTG-2441 опухоли



Фиг. 17



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2