

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392036** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.06.13

(22) Дата подачи заявки
2022.01.14

(51) Int. Cl. **C07D 403/12** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/4184 (2006.01)
C07H 15/203 (2006.01)

(54) **ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ КОНЪЮГАТЫ АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ
СРЕДСТВО**

(31) **63/138,360; 63/292,779**

(32) **2021.01.15; 2021.12.22**

(33) **US**

(86) **PCT/US2022/012599**

(87) **WO 2022/155518 2022.07.21**

(71) Заявитель:
СИДЖЕН ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Хилл Адам Г., Грей Элизабет И.,
Камминс Элизабет Дж., Бёрк Патрик
Дж., Гардай Шира Дж. (US)**

(74) Представитель:

Можайский М.А. (RU)

(57) Изобретение предлагает, в частности, конъюгаты антитело-лекарственное средство, которые являются пригодными для лечения различных заболеваний, в частности, онкологических заболеваний.

A1

202392036

202392036

A1

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ КОНЪЮГАТЫ АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По данной заявке испрашивается приоритет на основании предварительной заявки США №63/138,360, поданной 15 января 2021 г., и предварительной заявки США №63/292,779, поданной 22 декабря 2021 г., обе из которых озаглавлены “ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ КОНЪЮГАТЫ АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО” и в полном объеме включены в настоящее описание в качестве ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

[0002] Настоящее изобретение относится к области химии и медицины. Более конкретно, настоящее изобретение относится к конъюгатам антитело-лекарственное средство, к композициям, к их получению и к их применению в качестве лекарственных препаратов.

Уровень техники

[0003] Путь cGAS (цикло-ГМФ-АМФ-синтаза)-STING представляет собой врожденный иммунный путь, который распознает внутриклеточную ДНК и инициирует интерфероновый ответ I типа и ответ провоспалительных цитокинов, что является важным, как для противовирусного, так и для противоопухолевого иммунитета. При связывании ДНК cGMP-AMP синтаза (cGAS) продуцирует cGAMP (циклический гуанозинмонофосфат-аденозинмонофосфат), который представляет собой эндогенный лиганд белка STING. См., например, Виллануева, *Нейчура Ревьюс Драг Дискавери* 2019: 18, 15. На молекулярном уровне после активации под действием cGAMP трансмембранный димер STING транслоцируется из эндоплазматического ретикулума в комплекс Гольджи, в конечном итоге привлекая TANK-связывающую киназу 1 (TBK1) и регуляторный фактор 3 интерферона (IRF3) группы факторов транскрипции, что приводит к индукции интерферонов типа I (IFNs) и к воспалительному ответу. См. Коннои др., *Сэл* 2013: 155, 688–698. Этот врожденный иммунный путь необходимо тщательно регулировать, поскольку чрезмерная активность cGAS-STING связана с различными аутоиммунными и воспалительными

нарушениями. См. Барбер, *Нейчурал Ревьюс Иммунологии* 2015: 15, 760-770, см. также Люи др., *Зе Нью Инглэнд Журнел оф Медисин* 2014: 371, 507-518.

[0004] Экзогенные агонисты STING могут способствовать преодолению иммунодепрессивной микросреды опухоли путем активации иммунного ответа против развития опухоли, что приводит к ее регрессии. См. Сани др., *Сайенс* 2013: 6121, 786-791, см. также Корралес и Гаевски, *Клиникл Кэнсер Рисерч.* 2015: 21, 4774-4779. Примеры включают агонистов STING на основе нуклеотидов, которые, как и эндогенные лиганды, представляют собой циклические динуклеотиды. Эти соединения, как правило, являются заряженными и гидрофильными, подвержены ферментативному расщеплению и имеют плохую биодоступность и фармакокинетику. Таким образом, сохраняется потребность в агонистах STING с улучшенными фармакологическими свойствами, которые позволяют избежать системной индукции цитокинов.

РАСКРЫТИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] Некоторые варианты осуществления, раскрытые в данном описании, относятся к конъюгатам антитело-лекарственное средство (ADC), которые могут вызывать локализованный иммунный ответ в клетках-мишенях, и, следовательно, проявляют такую же пониженную нецелевую токсичность, как наблюдаемая при системном введении иммуностимулирующих препаратов.

[0006] Некоторые варианты осуществления предлагают конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), содержащий:

антитело,

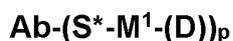
линкер согласно данному описанию и

соединение формулы (I) согласно данному описанию,

при этом соединение формулы (I) конъюгировано с линкером, и

при этом каждый линкер конъюгирован с антителом посредством сукцинимиды или гидролизованного сукцинимиды, ковалентно связанного с атомом серы цистеинового остатка антитела.

[0007] Некоторые варианты осуществления предлагают конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), имеющий формулу:



где:

Ab - антитело,

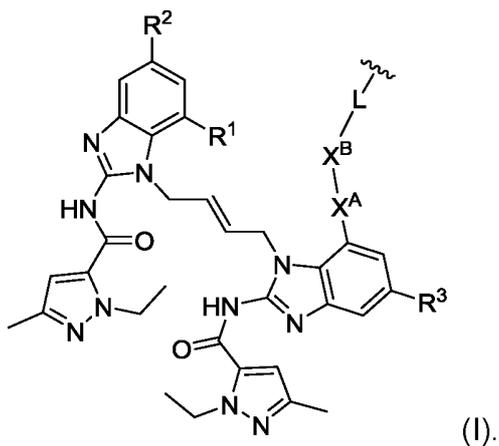
каждый S* - атом серы из цистеинового остатка антитела,

M¹ - сукцинимид или гидролизованый сукцинимид,

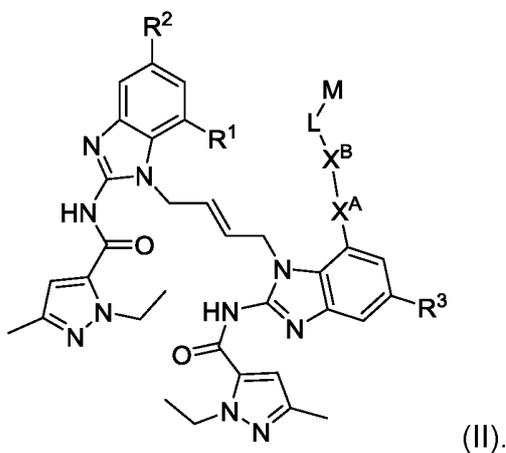
нижний индекс p - целое число от 2 до 8, и

каждый (D) – группа лекарственного средства формулы (I) согласно данному описанию.

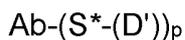
[0008] В некоторых вариантах осуществления формула (I) имеет структуру:



[0009] Некоторые варианты осуществления предлагают соединение формулы (II):



[0010] Некоторые варианты осуществления предлагают конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), имеющий формулу:



где:

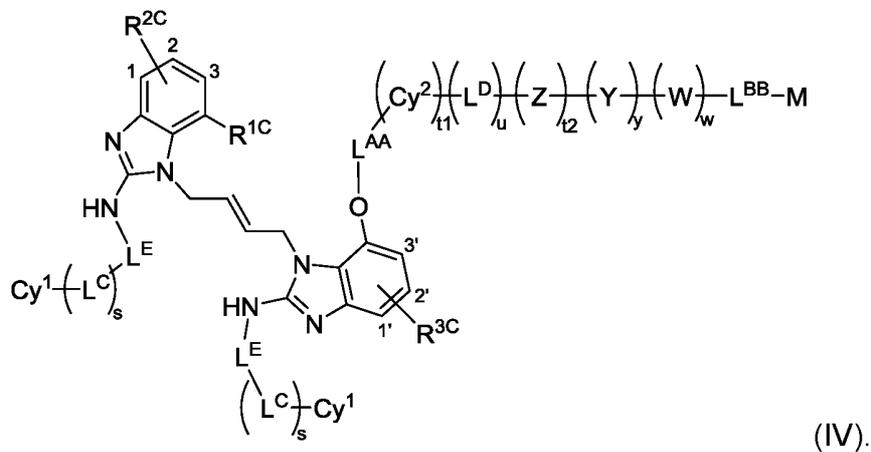
Ab - антитело,

каждый S* - атом серы из цистеинового остатка антитела,

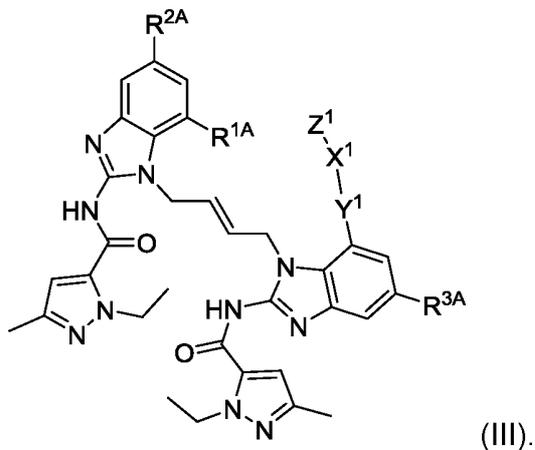
D' – группа лекарственного средства, которая представляет собой радикал соединения формулы (IV), согласно данному описанию, и

нижний индекс p - целое число от 2 до 8.

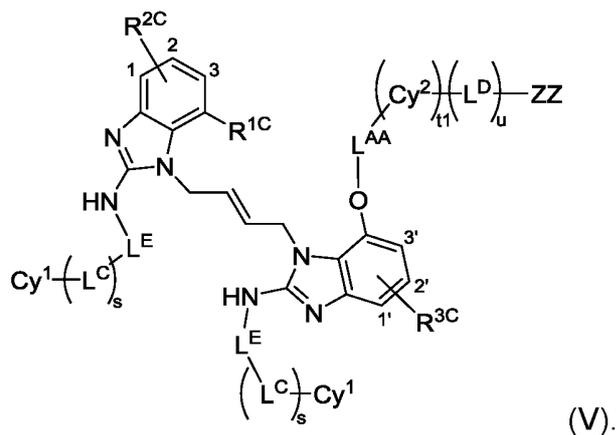
[0011] В некоторых вариантах осуществления формула (IV) имеет структуру:



[0012] Некоторые варианты осуществления предлагают соединение формулы (III):



[0013] Некоторые варианты осуществления предлагают соединение, имеющее структуру формулы (V):



[0014] Некоторые варианты осуществления предлагают композицию, содержащую распределение конъюгатов ADC согласно данному описанию.

[0015] Некоторые варианты осуществления предлагают способ лечения онкологического заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества композиции конъюгата ADC согласно данному описанию.

[0016] Некоторые варианты осуществления предлагают способ лечения онкологического заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества конъюгата ADC согласно данному описанию.

[0017] Некоторые варианты осуществления предлагают способ индуцирования противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества композиции конъюгата ADC согласно данному описанию.

[0018] Некоторые варианты осуществления предлагают способ индуцирования противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества конъюгата ADC согласно данному описанию.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0019] Фиг. 1 иллюстрирует ответ клеток THP1-Dual™ (называемых также дуальными репортерными клетками THP1) на различные низкомолекулярные агонисты STING.

[0020] Фиг. 2 иллюстрирует ответ макрофагов дикого типа (WT) и STING-дефицитных макрофагов, полученных из костного мозга мышей, на различные низкомолекулярные агонисты STING.

[0021] Фиг. 3 иллюстрирует ответ дуальных репортерных клеток THP1 на конъюгаты ADC, содержащие нецелевое или целевое антитело, конъюгированное с соединением **11** (расщепляемый линкер с соединением **1**), с соединением **12** (нерасщепляемый линкер с соединением **12a**) или с соединениями **13** или **14** (расщепляемые линкеры с соединением **12a**).

[0022] Фиг. 4 иллюстрирует ответ дуальных репортерных клеток THP1 на соединение **12** (нерасщепляемый линкер с соединением **12a**) и соединение **16** (цистеиновый аддукт соединения **12** и свободного лекарственного средства, высвобождаемого из конъюгатов ADC, содержащих соединение **12**).

[0023] Фиг. 5 иллюстрирует ответ дуальных репортерных клеток THP1 на соединения **12a** и **15b** в виде свободного лекарственного средства или конъюгированного с несвязывающим или целевым антителом (конъюгат ADC соединений **12** и **15**) с последующей инкубацией в течение 48 часов.

[0024] Фиг. 6A и 6B иллюстрируют ответ лимфоцитов SU-DHL-1 на конъюгаты ADC, содержащие нецелевое, нацеленное на антиген C или нацеленное на лиганд PD-L1 антитело, конъюгированное с соединением **11** (расщепляемый линкер с соединением **1**). На графике представлены продуцирование цитокина (MIP-1 α) (Фиг. 6A) и жизнеспособность (Фиг. 6B).

[0025] Фиг. 7 иллюстрирует ответ дуальных репортерных клеток THP1, культивированных отдельно или совместно с клетками HEK 293T, сконструированными для экспрессии целевого антигена C, на конъюгаты ADC, содержащие моноклональное антитело (mAb), нацеленное на антиген C, с каркасом LALAPG hIgG1, конъюгированное с соединениями **12**, **13** или **14**.

[0026] Фиг. 8 иллюстрирует байстендерную активность конъюгатов ADC, содержащих mAb, нацеленное на EphA2, или несвязывающее mAb с mIgG2a дикого типа или каркасом LALAPG, конъюгированное с соединением **12** при помощи опухолевых клеток почки и дуальных репортерных клеток THP1.

[0027] Фиг. 9A и 9B иллюстрируют ответ на введение конъюгата ADC q7dx3 (3 еженедельные дозы) в мышиную модель опухоли почки для оценки различных

конъюгатов ADC, содержащих несвязывающее mAb или mAb, нацеленное на EphA2, с каркасом LALAPG mIgG2a, конъюгированное с соединением 11 (вводилось внутривенно) или с соединением 1 или с (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-(3-морфолинопропокси)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид трис(2,2,2-трифторацетатом) (соединение А - эталонное соединение, вводилось внутривенно). Фиг. 9А: рост опухоли, Фиг. 9В: изменение массы в процентах.

[0028] Фиг. 10А и 10В иллюстрируют ответ на введение конъюгата ADC q7dx3 (3 еженедельные дозы) в мышиную модель опухоли почки для оценки различных конъюгатов ADC, содержащих несвязывающее mAb или mAb, нацеленное на EphA2, с каркасом LALAPG mIgG2a, конъюгированное с соединениями 11 или 12 (вводилось внутривенно). Фиг. 10А: рост опухоли, Фиг. 10В: изменение массы в процентах.

[0029] Фиг. 11А и 11В иллюстрируют ответ на введение конъюгата ADC q7dx3 (3 еженедельные дозы) в мышиную модель опухоли почки, которая сконструирована для выделения человеческого белка, для оценки различных конъюгатов ADC, содержащих несвязывающее mAb или mAb, нацеленное на EphA2, с каркасом mIgG2a дикого типа (WT) или каркасом LALAPG mIgG2a, конъюгированное с соединениями 12 или 15. Фиг. 11А: рост опухоли, Фиг. 11В: изменение массы в процентах.

[0030] Фиг. 12 иллюстрирует ответ на введение q7dx3 (3 еженедельные дозы, внутривенно) в мышиную модель опухоли почки для оценки конъюгата ADC, содержащего mAb, нацеленное на EphA2, с каркасом LALAPG mIgG2a, конъюгированное с соединением 12, или неконъюгированное соединение 12a.

[0031] Фиг. 13 иллюстрирует ответ на введение q7dx3 (3 еженедельные дозы) различных соединений в опухолевую модель почки для оценки моноклонального антитела, нацеленного на PD-L1, и различных конъюгатов ADC, содержащих несвязывающее моноклональное антитело, нацеленное на PD-L1 или на антиген С, конъюгированное с соединением 11.

[0032] Фиг. 14 иллюстрирует ответ на введение q7dx3 (3 еженедельные дозы) различных соединений в опухолевую модель СТ26 для оценки неконъюгированного соединения 1, моноклонального антитела, нацеленного на PD-L1, и различных конъюгатов ADC, содержащих несвязывающее моноклональное

антитело, нацеленное на антиген С, PD-L1 или EphA2, конъюгированное с соединением **11**.

[0033] Фиг. 15A-D иллюстрируют ответ на введение q7dx3 (3 еженедельные дозы) или одной дозы конъюгата ADC, как указано, в опухолевую модель MC38 для оценки различных конъюгатов ADC, содержащих несвязывающее или нацеленное на EphA2 моноклональное антитело с каркасом LALAPG mIgG2a, конъюгированное с соединением **12**. Мышам, у которых наблюдалась полная регрессия в ответ на терапию ADC, повторно ввели раковые клетки MC38 и осуществляли мониторинг роста опухоли. Фиг. 15A: рост опухоли (мышь дикого типа), Фиг. 15B: потеря массы (мышь дикого типа), Фиг. 15C: рост опухоли (мышь со STING-дефицитным *Tmem173^{9t}*), Фиг. 15D: рост опухоли после повторного введения опухолевых клеток MC38.

[0034] Фиг. 16A и 16B иллюстрируют ответ на введение q7dx3 mAb или конъюгата ADC (3 еженедельные дозы, указанные стрелками) в опухолевую модель 4T1 для оценки различных конъюгатов ADC, содержащих несвязывающее или нацеленное на EphA2 моноклональное антитело с каркасом LALAPG mIgG2a, конъюгированное с соединением **12**. Фиг. 16A: рост опухоли, Фиг. 16B: изменение массы в процентах.

[0035] Фиг. 17 иллюстрирует фармакокинетический профиль конъюгата ADC, содержащего [дегликозилированное] несвязывающее моноклональное антитело, конъюгированное с соединением **12** после введения самцам мышей линии C57BL/6.

ОСУЩЕСТВЛЕНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0036] Настоящее изобретение предлагает конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC), которые могут вызывать локализованный иммунный ответ в клетках-мишенях, и, следовательно, уменьшенную нецелевую токсичность, например, по сравнению с токсичностью часто наблюдаемой при системном введении иммуностимулирующих препаратов, в частности, агонистов STING. Токсичность таких соединений часто связана с системной активацией цитокинов, которая приводит, как к целевым, так и к нецелевым иммунным ответам. При этом описанные конъюгаты ADC включают агонистов STING в качестве полезной нагрузки лекарственным средством для обеспечения локализованной селективной индукции цитокинов. См., например, Миллинг и др., *Эдвансд Драг Деливери Ревью* 2017: 114, 79-101, см. также

Ху и др., *ЭБайоМедисин* 2019: 41, 497-508. Такой подход может обеспечить специфическую активацию STING, а также локализованный рекрутинг иммунных клеток, уменьшая при этом системное высвобождение цитокинов и сопутствующие ему нежелательные эффекты.

Определения

[0037] Если нет иного определения, все технические и научные термины в контексте настоящего описания имеют значение, как правило, понимаемое специалистом в области техники, к которой относится это изобретение. При этом способы и материалы описаны для применения согласно настоящей заявке, однако, другие пригодные способы и материалы, известные из уровня техники, также используются в некоторых аспектах данного изобретения. Материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не должны толковаться как ограничительные. Все публикации, патентные заявки, патенты, последовательности, значения в базах данных и другие ссылки, упомянутые в данном описании, включены в него в полном объеме в качестве ссылки. В случае противоречия настоящее описание, включая определения, будет иметь преимущественную силу. При использовании в данном описании торговых наименований, торговое наименование включает в себя состав продукта, генерическую форму и активный фармацевтический ингредиент (ингредиенты) продукта, если из контекста не следует иного.

[0038] Упоминание элемента в единственном числе включает не только аспекты с одним элементом, но и аспекты более чем с одним элементом. В частности, форма единственного числа объекта включает в себя множество таких объектов. Так, например, ссылка на “линкер” включает ссылку на один или более таких линкеров, а ссылка на “клетку” включает ссылку на множество таких клеток.

[0039] Термин “примерно”, относящийся к числовому значению или к диапазону числовых значений, означает, что данное числовое значение или диапазон числовых значений относятся к аппроксимации, например, в пределах колебаний показаний от эксперимента к эксперименту и/или к статистической погрешности эксперимента, поэтому такое числовое значение или диапазон числовых значений может изменяться до $\pm 10\%$ указанного числового значения или диапазона числовых значений. Что касается композиции конъюгата ADC, содержащей распределение

конъюгатов ADC согласно данному описанию, среднее числовое значение конъюгированных соединений агонистов STING с антителом в композиции может быть целым или нецелым числом, в частности, если антитело должно быть загружено частично. Таким образом, термин “примерно”, указанный перед средним значением загрузки лекарственного средства, служит для отражения ожидаемых вариаций загрузки лекарственного средства в композиции конъюгата ADC.

[0040] Термин “антитело” в контексте настоящего описания включает интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, моноспецифические антитела, мультиспецифические антитела (*например*, биспецифические антитела), включая интактные антитела и фрагменты антиген-связывающих антител, а также их восстановленные формы, в которых нарушены одна или более межцепочечных дисульфидных связей, что показывает требуемую биологическую активность и подтверждает, что фрагменты антиген-связывающего антитела имеют необходимое количество сайтов присоединения для присоединения соответствующего числа групп, в частности, линкера (L), согласно данному описанию. В некоторых аспектах линкеры посредством сукцинимидов или гидролизованного сукцинимидов соединены с атомами серы цистеиновых остатков восстановленных межцепочечных дисульфидных связей и/или цистеиновых остатков, введенных при помощи генной инженерии. Нативная форма антитела представляет собой тетрамер и состоит из двух идентичных пар иммуноглобулиновых цепей, при этом каждая пара содержит одну легкую цепь и одну тяжелую цепь. В каждой паре переменные домены (VL и VH) легкой и тяжелой цепи главным образом совместно ответственны за связывание с антигеном. Переменные домены легкой и тяжелой цепей состоят из каркасной области, прерываемой тремя гиперпеременными областями, называемыми также “областями, определяющими комплементарность” или “CDRs”. Легкая и тяжелая цепи содержат также константные области, которые могут распознаваться иммунной системой и взаимодействовать с ней (*см.*, *например*, Джейнвэй и др., 2001, *Иммунология*, 5 издание, Гэрлэнд Паблишинг, Нью-Йорк). Антитело включает любой его изотип (*например*, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA) или субкласс (*например*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2). Антитело может быть получено из любого подходящего вида. В некоторых аспектах антитело имеет человеческое или мышинное происхождение, а в некоторых других аспектах антитело представляет

собой человеческое, гуманизированное или химерное антитело. Антитела могут быть фукозилированы до различной степени или афукозилированы.

[0041] “Интактное антитело” представляет собой антитело, которое содержит антиген-связывающий переменный участок, а также константные домены (CL) легких цепей и константные домены C_H1, C_H2, C_H3 и C_H4 тяжелых цепей в соответствии с классом антитела. Константные домены представляют собой либо константные домены нативной последовательности (например, константные домены нативной последовательности человека), либо варианты их аминокислотной последовательности.

[0042] “Фрагмент антитела” содержит часть интактного антитела, включающую его антиген-связывающий или переменный участок. Фрагменты антител согласно настоящему изобретению включают по меньшей мере один цистеиновый остаток (природный или сконструированный), который обеспечивает сайт для присоединения линкера и/или соединения линкер-лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела включает антигенсвязывающий фрагмент Fab, Fab' или F(ab')₂.

[0043] Термин “сконструированный цистеиновый остаток” или “eCys остаток” в контексте настоящего описания относится к цистеиновой аминокислоте или к ее производному, которое инкорпорировано в антитело. В этих аспектах один или более eCys остатков могут быть инкорпорированы в антитело, при этом eCys остатки как правило, являются инкорпорированными в тяжелую цепь или в легкую цепь антитела. Как правило, инкорпорирование eCys остатка в антитело осуществляется при помощи мутагенеза последовательности нуклеиновой кислоты исходного антитела, чтобы кодировать один или более аминокислотных остатков цистеином или его производным. Пригодные мутации включают замену требуемого остатка в легкой или тяжелой цепи антитела на цистеин или его производное, инкорпорирование дополнительного цистеина или его производного в требуемой позиции в легкой или тяжелой цепи антитела, а также добавление дополнительного цистеина или его производного к N-и/или C-концу соответствующей тяжелой или легкой цепи аминокислоты. Дополнительную информацию можно найти в патенте США № 9,000,130, содержание которого в полном объеме включено в данное описание в

качестве ссылки. Производные цистеина (Cys) включают, в частности, но без ограничения: бета-2-Cys, бета-3-Cys, гомоцистеин и N-метилцистеин.

[0044] В некоторых вариантах осуществления антитела согласно настоящему изобретению включают такие антитела, которые содержат один или более сконструированных цистеиновых (eCys) остатков. В некоторых вариантах осуществления производные цистеина (Cys) включают, в частности, но без ограничения: бета-2-Cys, бета-3-Cys, гомоцистеин и N-метилцистеин.

[0045] “Антиген” представляет собой объект, с которым специфически связывается антитело.

[0046] Термины “специфическое связывание” и “специфически связывается” означает, что антитело или фрагмент этого антитела будет селективно связываться с соответствующим ему целевым антигеном, но не с множеством других антигенов. Как правило, антитело или фрагмент антитела связывается с аффинностью по меньшей мере примерно 1×10^{-7} M, например, от 10^{-8} M до 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M или 10^{-12} M, и при этом связывается с predetermined антигеном с аффинностью, которая по меньшей мере в два раза превышает его аффинность к связыванию с неспецифическим антигеном (*например*, альбумин бычьей сыворотки, казеин), отличным от predetermined антигена или близкородственного антигена.

[0047] Термин “аминокислота” в контексте настоящего описания относится к природным, неприродным и протеогенным аминокислотам. Примеры аминокислот включают, в частности, но без ограничения: аланин, аргинин, аспарагиновую кислоту, аспарагин, гистидин, глицин, глутаминовую кислоту, глутамин, фенилаланин, лизин, лейцин, серин, тирозин, треонин, изолейцин, пролин, триптофан, валин, цистеин, метионин, орнитин, β -аланин, цитруллин, метиловый эфир серина, метиловый эфир аспартата, метиловый эфир глутамата, метиловый эфир гомосерина и N,N-диметил лизин.

[0048] “Сахарный компонент” в контексте настоящего описания относится к одновалентному радикалу моносахарида, например, к пиранозе или фуранозе. Сахарный компонент может содержать полуацеталь или карбоновую кислоту (из окисления пendants группы $-\text{CH}_2\text{OH}$). В некоторых вариантах осуществления сахарный компонент находится в β -D конформации. В некоторых вариантах

осуществления сахарный компонент представляет собой глюкозу, глюкуроновую кислоту или маннозную группу.

[0049] Термин “ингибировать” или “ингибирование” означает уменьшение на измеряемую величину или полное предотвращение (например, 100% ингибирование).

[0050] Термин “терапевтически эффективное количество” относится к количеству конъюгата ADC согласно данному описанию, которое является эффективным для терапии заболевания или нарушения у млекопитающего. В случае онкологического заболевания терапевтически эффективное количество конъюгата ADC обеспечивает один или более следующих биологических эффектов: уменьшение количества раковых клеток, уменьшение размера опухоли, ингибирование инфильтрации раковых клеток в периферические органы, ингибирование метастазов опухоли, ингибирование до некоторой степени роста опухоли и/или облегчение до некоторой степени одного или более симптомов, связанных с онкологическим заболеванием. Эффективность терапии онкологического заболевания в некоторых аспектах измеряется оценкой времени до прогрессирования заболевания (ТТР) и/или определением частоты ответа (RR).

[0051] Если иное не указано или не подразумевается контекстом, термин “существенный” или “по существу” относится к большей части, *m. e.*, >50% популяции, смеси или выборки, обычно – более чем 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98% или 99%.

[0052] Термины “расщеплен внутриклеточно” и “внутриклеточное расщепление” относятся к метаболическому процессу или к реакции, которая происходит внутри клетки, и во время которой клеточный механизм действует на конъюгат ADC или на его фрагмент для внутриклеточного выделения из конъюгата ADC свободного лекарственного средства или других продуктов его разложения. Таким образом, компоненты, полученные в результате этого метаболического процесса или реакции, являются внутриклеточными метаболитами.

[0053] Термины “онкологическое заболевание” и “раковый” относятся или описывают физиологическое состояние или нарушение у млекопитающих, которое обычно характеризуется нерегулируемым ростом клеток. “Опухоль” содержит множество раковых клеток.

[0054] “Субъект” в контексте настоящего описания относится к индивиду, которому вводится конъюгат ADC. Примеры “субъекта” включают, в частности, но без ограничения: млекопитающее, в частности, человека, крысу, мышь, морскую свинку, нечеловекообразных приматов, свинью, козу, корову, лошадь, собаку, кошку, домашнюю и дикую птицу. Как правило, субъектом является крыса, мышь, собака, нечеловекообразные приматы или человек. В некоторых аспектах субъект представляет собой человека.

[0055] Термины “подвергать лечению” или “терапия”, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относятся к терапевтическому лечению и профилактическим мерам для предотвращения обострения заболевания, при этом задача заключается в том, чтобы ингибировать нежелательное физиологическое изменение или нарушение, как, например, развитие или распространение онкологического заболевания. Для целей настоящего изобретения предпочтительные или желательные результаты клинических испытаний включают, в частности, но без ограничения: ослабление симптомов, уменьшение степени тяжести заболевания, стабилизация (*m. e.*, отсутствие ухудшения) состояния заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, смягчение или временное облегчение состояния заболевания и ремиссию (частичную или полную), определяемую или не поддающуюся определению. “Лечение” в некоторых аспектах означает также повышение выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью при отсутствии получения лечения.

[0056] В контексте онкологического заболевания, термин “терапия” включает один или все следующие факторы: ингибирование роста раковых клеток или опухоли, ингибирование репликации раковых клеток, уменьшение общей опухолевой массы или уменьшение количества раковых клеток и уменьшение интенсивности одного или более симптомов, связанных с заболеванием.

[0057] Термин “соль”, в контексте настоящего описания относится к органическим или неорганическим солям такого соединения, как группа (D) лекарственного средства, линкер, в частности, раскрытый в данном описании, или конъюгат ADC. В некоторых аспектах соединение содержит по меньшей мере одну аминогруппу, и, соответственно, соли присоединения кислоты могут быть сформированы с аминогруппой. Примеры солей включают, в частности, но без

ограничения: сульфатные, трифторацетатные, цитратные, ацетатные, оксалатные, хлоридные, бромидные, йодидные, нитратные, бисульфатные, фосфатные, кислые фосфатные, изоникотинатные, лактатные, салицилатные, кислые цитратные, тартратные, олеатные, таннатные, пантотенатные, битартратные, аскорбатные, сукцинатные, малеатные, гентизинатные, фумаратные, глюконатные, глюкуронатные, сахаратные, формиатные, бензоатные, глутаматные, метансульфонатные, этансульфонатные, бензолсульфонатные, *p*-толуолсульфонатные и памоатные (*m. e.*, 1,1'-метилден-бис-(2-гидрокси-3-нафтоатные)) соли. Соль может содержать включение другой молекулы, в частности, ацетатный ион, сукцинатный ион или другой противоион. Противоион может представлять собой любой органический или неорганический фрагмент молекулы, который стабилизирует заряд исходного соединения. Кроме того, соль содержит в своей структуре один или более чем один заряженный атом. В тех случаях, когда множество заряженных атомов являются частью соли, может присутствовать множество ионов. Следовательно, соль может содержать один или более заряженных атомов и/или один или более противоионов. “Фармацевтически приемлемая соль” представляет собой соль, пригодную для введения субъекту согласно данному описанию и в некоторых аспектах включающую соли, описанные в работе П. Х. Шталь и К. Г. Вермут, издатели, Справочник по фармацевтическим солям: свойства, выбор и применение, Вайнхайм/Цюрих: Вилей-ФЦХ/ФХЦФ, 2002, перечень которых в полном объеме специально включен в данное описание в качестве ссылки.

[0058] Термин “таутомер”, в контексте настоящего описания относится к соединениям, структуры которых существенно отличаются по расположению атомов, но которые существуют в простом и динамичном равновесии, при этом следует понимать, что соединения, представленные в данном описании, могут быть описаны как разные таутомеры, и, если соединения имеют таутомерные формы, предполагается, что все таутомерные формы включены в объем изобретения, при этом наименование соединений не исключает какой-либо таутомер.

[0059] Термин “галоген” относится к фтору, хлору, бромю или йоду.

[0060] Термин “алкил” относится к незамещенному неразветвленному или разветвленному насыщенному углеводороду, содержащему указанное количество атомов углерода (например, “C₁-C₄ алкил”, “C₁-C₆ алкил”, “C₁-C₈ алкил” или “C₁-C₁₀

алкил” содержат от 1 до 4, от 1 до 6, от 1 до 8 или от 1 до 10 атомов углерода, соответственно), который образуется путем удаления одного атома водорода из исходного алкана. Репрезентативные группы неразветвленных C₁-C₈ алкилов включают, в частности, но без ограничения: метил, этил, н-пропил, н-бутил, н-пентил, н-гексил, н-гептил и н-октил, в то время как разветвленные C₁-C₈ алкилы включают, в частности, но без ограничения: изопропил *втор*-бутил, изобутил, *трет*-бутил, изопентил и 2-метилбутил.

[0061] Термин “алкилен” относится к двухвалентному незамещенному насыщенному разветвленному или неразветвленному углеводороду с указанным количеством атомов углерода (например, а C₁-C₆ алкилен содержит от 1 до 6 атомов углерода), содержащему два одновалентных радикальных центра, полученных путем удаления двух атомов водорода от одного и того же или двух разных атомов углерода исходного алкана. Алкиленовые группы могут быть замещены 1-6 группами фтора, например, в углеродном каркасе (в виде -CHF- или -CF₂-) или на концевых атомах углерода неразветвленных или разветвленных алкиленов (в частности, -CHF₂ или -CF₃). Радикалы алкиленов включают, в частности, но без ограничения: метилен (-CH₂-), этилен (-CH₂CH₂-), н-пропилен (-CH₂CH₂CH₂-), н-пропилен (-CH₂CH₂CH₂-), н-бутилен (-CH₂CH₂CH₂CH₂-), дифторметилен (-CF₂-), тетрафторэтилен (-CF₂CF₂-) и т. п..

[0062] Термин “алкенил” относится к незамещенному неразветвленному или разветвленному углеводороду, содержащему по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь и указанное количество атомов углерода (*например*, “C₂-C₈ алкенил” или “C₂-C₁₀ алкенил” содержат от 2 до 8 или от 2 до 10 атомов углерода, соответственно). Если количество атомов углерода не указано, алкенильная группа содержит от 2 до 6 атомов углерода.

[0063] Термин “алкинил” относится к незамещенному неразветвленному или разветвленному углеводороду, содержащему по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь и указанное количество атомов углерода (*например*, “C₂-C₈ алкинил” или “C₂-C₁₀ алкинил” содержат от 2 до 8 или от 2 до 10 атомов углерода, соответственно). Если количество атомов углерода не указано, алкинильная группа содержит от 2 до 6 атомов углерода.

[0064] Термин “гетероалкил” относится к стабильному неразветвленному или разветвленному насыщенному углеводороду, содержащему указанное количество всех атомов и по меньшей мере один (например, от 1 до 15) гетероатом, выбранный из группы, включающей: O, N, Si и S. Углерод и гетероатомы гетероалкильной группы могут быть окислены (например, для образования кетонов, N-окислов, сульфонов и т. п.), а атомы азота могут быть кватернизованы. Один или более гетероатомов могут быть расположены в любой внутренней позиции гетероалкильной группы и/или в позиции, в которой гетероалкильная группа присоединяется к остальной части молекулы. Гетероалкильные группы могут быть замещены 1-6 группами фтора, например, в углеродном каркасе (в виде $-\text{CHF}-$ или $-\text{CF}_2-$) или на концевых атомах углерода неразветвленных или разветвленных гетероалкилов (в частности, $-\text{CHF}_2$ или $-\text{CF}_3$). Примеры гетероалкильных групп включают, в частности, но без ограничения: $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}(\text{CH}_3)$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}(\text{CH}_3)$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CF}_3$ и $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$. Не более двух гетероатомов могут следовать друг за другом, как, например, $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ и $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$. Концевой фрагмент молекулы полиэтиленгликоля (PEG) является примером гетероалкильной группы.

[0065] Термин “гетероалкилен” относится к двухвалентной незамещенной неразветвленной или разветвленной группе, полученной из гетероалкила (согласно определению, приведенному в данном описании). Примеры гетероалкиленовых групп включают, в частности, но без ограничения:

$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CF}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}(\text{CH}_3)-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$

$\text{H}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-}$, $\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-H}^+(\text{CH}_3)_2\text{-}$, $\text{-NH-CH}_2\text{-CH}_2(\text{NH}_2)\text{-CH}_2\text{-}$ и $\text{-NH-CH}_2\text{-CH}_2(\text{NHCH}_3)\text{-CH}_2\text{-}$. Двухвалентный фрагмент молекулы полиэтиленгликоля (PEG) является примером гетероалкиленовой группы.

[0066] Термин “алкокси” относится к алкильной группе согласно определению, приведенному в данном описании, которая присоединена к молекуле посредством атома кислорода. Так, например, алкокси-группы включают, в частности, но без ограничения: метокси-, этокси-, н-пропокси-, изо-пропокси-, н-бутокси-, втор-бутокси-, трет-бутокси-, н-пентокси- и н-гексокси-группу.

[0067] Термин “алкилтио” относится к алкильной группе согласно определению, приведенному в данном описании, которая присоединена к молекуле посредством атома серы. Так, например, алкилтио-группы включают, в частности, но без ограничения: тиометил, тиоэтил, тио-н-пропил тио-изо-пропил и т. п.

[0068] Термин “галоалкил” относится к незамещенному неразветвленному или разветвленному насыщенному углеводороду, содержащему указанное количество атомов углерода (*например*, “C₁-C₄ алкил”, “C₁-C₆ алкил”, “C₁-C₈ алкил” или “C₁-C₁₀ алкил” содержат от 1 до 4, от 1 до 6, от 1 до 8 или от 1 до 10 атомов углерода, соответственно), при этом по меньшей мере один атом водорода алкильной группы замещен галогеном (*например*, фтором, хлором, бромом или йодом). Если количество атомов углерода не указано, галоалкильная группа содержит от 1 до 6 атомов углерода. Репрезентативные C₁₋₆ галоалкильные группы включают, в частности, но без ограничения: трифторметил, 2,2,2-трифторэтил и 1-хлоризопропил.

[0069] Термин “галоалкокси” относится к галоалкильной группе согласно определению, приведенному в данном описании, которая присоединена к молекуле посредством атома кислорода. *Например*, галоалкокси-группы включают, в частности, но без ограничения: трифторметокси-, 2,2,2-трифторэтокси- и 1,1,1-трифтор-2-метилпропокси-группу.

[0070] Термин “циклоалкил” относится к циклическому насыщенному или частично ненасыщенному углеводороду, содержащему указанное количество атомов углерода (*например*, “C₃₋₈ циклоалкил” или “C₃₋₆ циклоалкил” содержат от 3 до 8 или от 3 до 6 атомов углерода, соответственно). Если количество атомов углерода не указано, циклоалкильная группа содержит от 3 до 6 атомов углерода. Циклоалкильные группы включают мостиковые, конденсированные и спирокольцевые системы, а также

мостиковые бициклические системы, в которых одно кольцо является ароматическим, а другое - ненасыщенным. Репрезентативные "C₃₋₆ циклоалкильные" группы включают циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил.

[0071] Термин "арил" относится к незамещенному одновалентному карбоциклическому ароматическому углеводородному радикалу, содержащему 6-10 атомов углерода и полученному путем удаления одного атома водорода от одного атома углерода исходной ароматической кольцевой системы. Арильные группы включают, в частности, но без ограничения: фенил, нафтил, антраценил, бифенил и т. п.

[0072] Термин "гетероцикл" относится к насыщенному или частично ненасыщенному кольцу или к множественной конденсированной кольцевой системе, включая мостиковые, конденсированные и спирокольцевые системы. Гетероциклы могут быть описаны общим количеством атомов в кольцевой системе, например, 3-10-членный гетероцикл в целом содержит от 3 до 10 атомов кольца. Этот термин включает одиночные насыщенные или частично ненасыщенные кольца (например, 3, 4, 5, 6 или 7-членные кольца), содержащие в кольце примерно от 1 до 6 атомов углерода и примерно от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из группы, включающей: кислород, азот и серу. Кольцо может быть замещено одной или более (например, 1, 2 или 3) оксо-группами, при этом атомы серы и азота также могут присутствовать в их окисленных формах. Такие кольца включают, в частности, но без ограничения: азетидинил, тетрагидрофуранил и пиперидинил. Термин "гетероцикл" включает также множественные конденсированные кольцевые системы (например, кольцевые системы, содержащие 2, 3 или 4 кольца), при этом одно гетероциклическое кольцо (согласно приведенному выше описанию) может быть сконденсировано с одним или более гетероциклами (например, декагидронафтиридинил), карбоциклами (например, декагидрохинолил) или арилами. Кольца множественной конденсированной кольцевой системы могут быть соединены друг с другом при помощи слитых, спиро- и мостиковых связей, если это допустимо требованиями валентности. Следует понимать, что точка соединения множественной конденсированной кольцевой системы (согласно приведенному выше описанию гетероцикла) может находиться в любой позиции множественной конденсированной кольцевой системы, включая гетероциклическую, арильную и карбоциклическую часть кольца. Следует также

понимать, что точка соединения гетероцикла или гетероциклической множественной конденсированной кольцевой системы может находиться на любом пригодном атоме гетероцикла или гетероциклической множественной конденсированной кольцевой системы, включая атом углерода и гетероатом (например, азот). Примеры гетероциклов включают, в частности, но без ограничения: азиридинил, азетидинил, пирролидинил, пиперидинил, гомопиперидинил, морфолинил, тиоморфолинил, пиперазинил, тетрагидрофуранил, дигидрооксазолил, тетрагидропиранил, тетрагидротиопиранил, 1,2,3,4-тетрагидрохинолил, бензоксазинил, дигидрооксазолил, хроманил, 1,2-дигидропиридинил, 2,3-дигидробензофуранил, 1,3-бензодиоксилил и 1,4-бензодиоксанил.

[0073] Термин “гетероарил” относится к ароматической углеводородной кольцевой системе, содержащей в одинарном кольце или в конденсированной кольцевой системе по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, включающей: O, N и S. Кольцо или кольцевая система содержит $4n+2$ электрона в конъюгированной π -системе, при этом все атомы, относящиеся к конъюгированной π -системе, расположены в одной плоскости. В некоторых вариантах осуществления гетероарильные группы в целом содержат 5-10 атомов кольца и 1, 2 или 3 гетероатома (так называемый, “5-10-членный гетероарил”). Гетероарильные группы включают, в частности, но без ограничения: имидазол, триазол, тиофен, фуран, пиррол, бензимидазол, пиразол, пиразин, пиридин, пиримидин и индол.

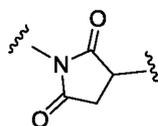
[0074] Термин “гидроксил” относится к радикалу –OH.

[0075] Термин “циано” относится к радикалу –CN.

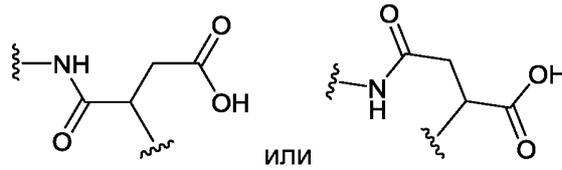
[0076] Термин “карбоксы” относится к радикалу –C(=O)OH.

[0077] Термин “оксо” относится к радикалу =O.

[0078] Термин “сукцинимид”, используемый для описания части конъюгата антители-лекарственное средство (ADC), относится к:



[0079] Термин “гидролизованный сукцинимид”, используемый для описания части конъюгата антители-лекарственное средство (ADC), относится к:



[0080] Для специалистов данной области техники очевидно, что соединения согласно настоящему изобретению, имеющие хиральный центр, могут существовать и быть выделены в оптически активных и рацемических формах.

[0081] В контексте настоящего описания термин “свободное лекарственное средство” относится к биологически активному соединению, которое не имеет ковалентной связи с антителом. Соответственно, свободное лекарственное средство относится к любому неконъюгированному соединению, включая соединение, которое образуется непосредственно после расщепления из ADC. Механизм высвобождения может быть реализован при помощи расщепляемого линкера в конъюгате ADC или при помощи внутриклеточного превращения или метаболизма конъюгата ADC. В некоторых аспектах свободное лекарственное средство содержит присоединенный протон и/или может существовать в виде заряженного фрагмента. Свободное лекарственное средство представляет собой фармакологически активное соединение, способное оказывать требуемый биологический эффект. В некоторых вариантах осуществления фармакологически активное соединение представляет собой только исходное лекарственное средство. В некоторых других вариантах осуществления фармакологически активное соединение представляет собой исходное лекарственное средство, связанное с компонентом или фрагментом конъюгата ADC (например, с компонентом линкера, сукцинимидом, гидролизированным сукцинимидом и/или антителом, не подвергнутому последующему внутриклеточному метаболизму). В некоторых вариантах осуществления свободное лекарственное средство относится, например, к соединению формулы (I) согласно данному описанию, при этом один или более компонентов X^B , Y, W, A и M^1 отсутствуют. В некоторых вариантах осуществления, свободное лекарственное средство относится к соединению формулы (II) согласно данному описанию. В некоторых вариантах осуществления свободное лекарственное средство относится к соединению формулы (II-A) согласно данному описанию. В некоторых вариантах осуществления свободное лекарственное средство относится к соединению формулы (III) согласно данному описанию. В некоторых вариантах осуществления свободное лекарственное средство

относится к соединению формулы (IV) согласно данному описанию. В некоторых вариантах осуществления, свободное лекарственное средство относится к соединению формулы (V) согласно данному описанию.

[0082] В контексте настоящего описания термин “группа лекарственного средства” относится к свободному лекарственному средству, которое конъюгировано с антителом в конъюгате ADC согласно данному описанию.

Соединения конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)

[0083] Некоторые варианты осуществления предлагают конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), содержащий:

антитело,

линкер, согласно данному описанию и

соединение формулы (I) согласно данному описанию,

при этом соединение формулы (I) конъюгировано с линкером, и

при этом каждый линкер конъюгирован с антителом посредством сукцинимиды или гидролизованного сукцинимиды, ковалентно связанного с атомом серы цистеинового остатка.

[0084] Некоторые варианты осуществления предлагают конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), имеющий формулу:



где:

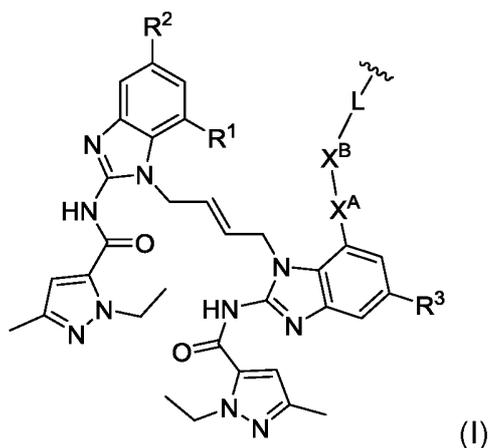
Ab - антитело,

каждый S* - атом серы из цистеинового остатка антитела,

M¹ - сукцинимид или гидролизованный сукцинимид,

нижний индекс p - целое число от 2 до 8, и

каждый (D) - группа лекарственного средства формулы (I):

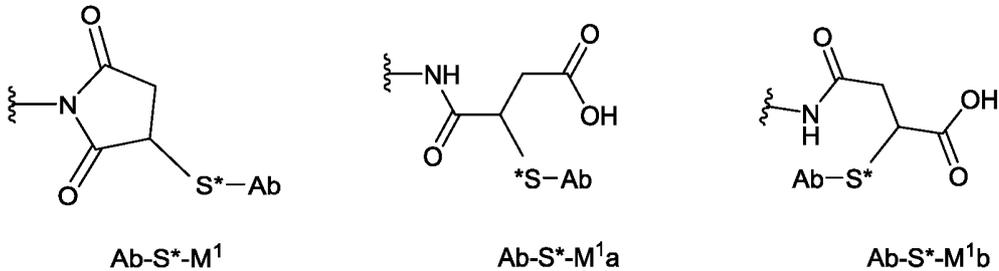


где:

\sim представляет собой ковалентное присоединение L к M¹,
 R¹ - водород, гидроксил, C₁₋₆ алкокси, -(C₁₋₆ алкил), C₁₋₆ алкокси,
 -(CH₂)_n-NR^AR^B или от PEG2 до PEG4,
 каждый R² и R³ независимо представляет собой -CO₂H, -(C=O)_m-NR^CR^D
 или -(CH₂)_q-NR^ER^F,
 каждый R^A, R^B, R^C, R^D, R^E и R^F независимо представляет собой водород
 или C₁₋₃ алкил,
 каждый нижний индекс n независимо представляет собой целое число от
 0 до 6,
 каждый нижний индекс m независимо представляет собой 0 или 1,
 каждый нижний индекс q представляет собой целое число от 0 до 6,
 X^A - -CH₂-, -O-, -S-, -NH- или -H(CH₃)-,
 X^B отсутствует или представляет собой 2-16-членный гетероалкилен,
 каждый X^B, M¹ и L независимо представляет собой необязательно
 замещенную функциональная группа PEG от PEG1 до PEG72, и
 L - необязательный линкер согласно данному описанию. При его наличии
 L соединен ковалентной связью с X^B или X^A, если X^B отсутствует, согласно
 формуле (I). Если L отсутствует, M¹ соединен ковалентной связью с X^B или X^A,
 если X^B отсутствует, согласно формуле (I).

[0085] В некоторых вариантах осуществления M¹ представляет собой сукцинимид. В некоторых вариантах осуществления, M¹ представляет собой гидролизированный сукцинимид. Следует понимать, что гидролизированный сукцинимид

может существовать в двух региоизомерных формах. Эти формы представлены в качестве примера для гидролиза M^1 , связанного с $^*S-Ab$, где структуры, представляющие региоизомеры, которые получены в результате этого гидролиза, имеют формулы M^1a и M^1b , при этом волнистые линии, прилегающие к связям, означают ковалентное присоединение к формуле (I).



[0086] Группы M или M^1 при их наличии могут соединять антитело с группой A , если она присутствует (или с группой W , Y или X^B , если нижний индекс a и/или нижний индекс w и/или нижний индекс y равны 0). Для этого антитело содержит функциональную группу, которая может образовывать связь с функциональной группой M или M^1 . Полезные функциональные группы, которые могут присутствовать в антителе, природным образом или посредством химической манипуляции включают, в частности, но без ограничения: сульфгидрильную ($-SH$), аминную, гидроксильную, карбоксильную и аномерную гидроксильную группу углевода. В одном аспекте функциональные группы антитела представляют собой сульфгидрильную и аминную группу. Сульфгидрильные группы могут быть получены путем восстановления внутримолекулярной дисульфидной связи антитела. В качестве альтернативы сульфгидрильные группы могут быть получены в результате реакции аминогруппы лизинового фрагмента антитела с 2-иминотиолоном (реагентом Трота) или с другим реагентом, образующим сульфгидрил. В некоторых вариантах осуществления M или M^1 образует связь с атомом серы антитела. Атом серы может быть получен из сульфгидрильной группы антитела.

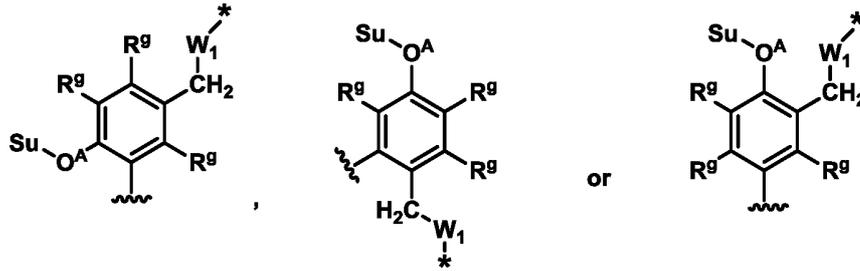
[0087] В некоторых вариантах осуществления L имеет формулу $-(A)_a-(W)_w-(Y)_y-$, где:

A - C_{2-20} алкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{a1} , или 2-40-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1} ,

каждый R^{a1} независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $=O$, $-NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил),

каждый R^{b1} независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $-NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил),

каждый R^{d1} и R^{e1} независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил, W состоит из 1-12 аминокислот или имеет структуру:



где Su - сахарный компонент,

$-O^A$ - гликозидная связь,

каждый R^g независимо представляет собой водород, галоген, $-CN$ или $-NO_2$,

W_1 отсутствует или представляет собой $-O-C(=O)-$,

\sim представляет собой ковалентное присоединение к A или M^1 ,

$*$ представляет собой ковалентное присоединение к Y , X^A или X^B в формуле (I),

Y - саморасщепляющаяся функциональная группа, несаморасщепляющаяся высвобождаемая функциональная группа или нерасщепляемая функциональная группа,

нижний индекс a представляет собой 0 или 1,

нижний индекс u представляет собой 0 или 1, и

нижний индекс w представляет собой 0 или 1.

[0088] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой гидроксил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой C_{1-6} алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метокси-группу. В некоторых

вариантах осуществления R^1 представляет собой $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$ алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метоксиэтил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой функциональную группу PEG от PEG2 до PEG4.

[0089] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой $-(CH_2)_n-NR^A R^B$. В некоторых вариантах осуществления R^A и R^B оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^A и R^B независимо представляют собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^A и R^B представляет собой водород, а другой из R^A и R^B представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления C_{1-3} алкил представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 2. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 3, 4, 5 или 6.

[0090] В некоторых вариантах осуществления каждый R^2 и R^3 независимо представляет собой $-CO_2H$, $-(C=O)_m-NR^C R^D$ или $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, а R^2 и R^3 являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления каждый R^2 и R^3 независимо представляют собой $-CO_2H$, $-(C=O)_m-NR^C R^D$ или $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, а R^2 и R^3 являются различными.

[0091] В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-(C=O)_m-NR^C R^D$. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-(C=O)_m-NR^C R^D$. В некоторых вариантах осуществления R^C и R^D оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый R^C и R^D независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления C_{1-3} алкил представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления один из R^C и R^D представляет собой водород, а другой из R^C и R^D представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс m представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс m представляет собой 1.

[0092] В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-(CH_2)_q-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой

$-(\text{CH}_2)_q-\text{NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$. В некоторых вариантах осуществления R^{E} и R^{F} оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{E} и R^{F} независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления C_{1-3} алкил представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления один из R^{E} и R^{F} представляет собой водород, а другой из R^{E} и R^{F} представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 6. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой 2. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой 3, 4, 5 или 6.

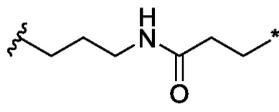
[0093] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$.

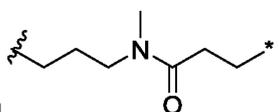
[0094] В некоторых вариантах осуществления X^{A} представляет собой $-\text{CH}_2-$. В некоторых вариантах осуществления X^{A} представляет собой $-\text{O}-$. В некоторых вариантах осуществления X^{A} представляет собой $-\text{S}-$. В некоторых вариантах осуществления X^{A} представляет собой $-\text{NH}-$. В некоторых вариантах осуществления X^{A} представляет собой $-\text{N}(\text{CH}_3)-$.

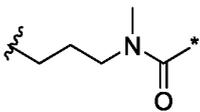
[0095] В некоторых вариантах осуществления X^{B} представляет собой 2-16-членный гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления X^{B} представляет собой 2-12-членный гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления X^{B} представляет собой 2-10-членный гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления X^{B} представляет собой 2-8-членный гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления X^{B} представляет собой 4-8-членный гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления гетероалкилен имеет линейную цепь. В некоторых вариантах осуществления гетероалкилен имеет разветвленную цепь. В некоторых вариантах осуществления гетероалкилен имеет разветвленную цепь и содержит 1-4 метильные группы. В некоторых вариантах осуществления гетероалкилен имеет разветвленную цепь и содержит 1 или 2 метильные группы. В некоторых вариантах осуществления гетероалкилен замещен 1-3 группами фтора. В некоторых вариантах осуществления X^{B} содержит один или два атома азота. В некоторых вариантах осуществления X^{B} содержит одну или две оксо-группы. В

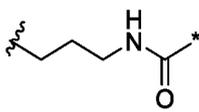
некоторых вариантах осуществления X^B содержит один атом азота и одну оксо-группу. В некоторых вариантах осуществления X^B содержит два атома азота и две оксо-группы. В некоторых вариантах осуществления X^B содержит карбамат.

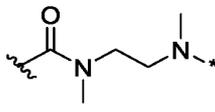
[0096] В некоторых вариантах осуществления ковалентное присоединение Y и X^B содержит амид. В некоторых вариантах осуществления ковалентное присоединение Y и X^B содержит карбамат. В некоторых вариантах осуществления ковалентное присоединение Y и X^B содержит простой эфир.

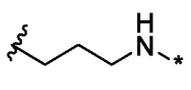
[0097] В некоторых вариантах осуществления X^B представляет собой , при этом  представляет собой ковалентное присоединение к X^A , а * представляет собой ковалентное присоединение к L при его наличии или к M^1 .

В некоторых вариантах осуществления X^B представляет собой , при этом  представляет собой ковалентное присоединение к X^A , а * представляет собой ковалентное присоединение к L при его наличии или к M^1 . В некоторых

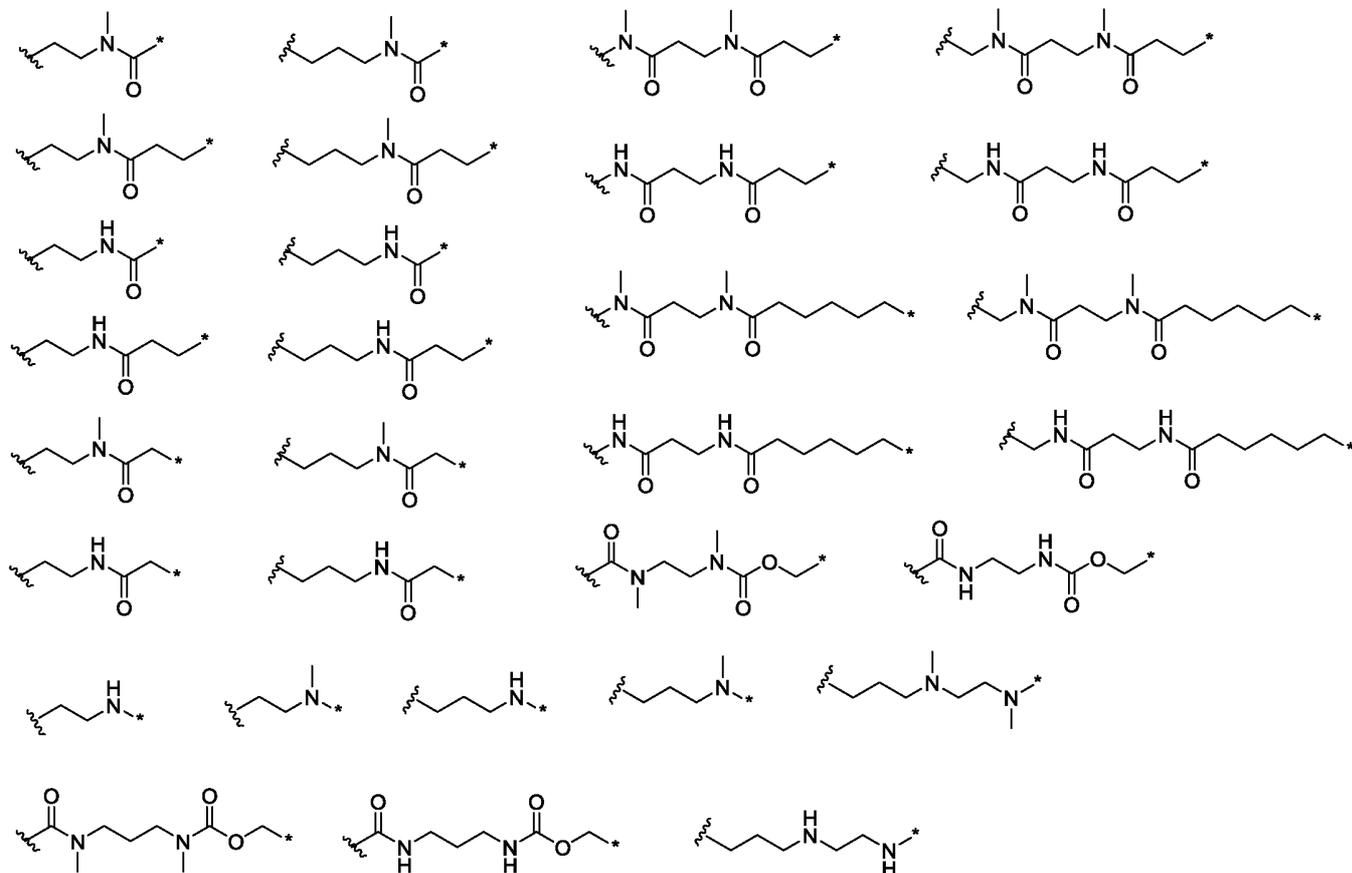
вариантах осуществления X^B представляет собой , при этом  представляет собой ковалентное присоединение к X^A , а * представляет собой ковалентное присоединение к L при его наличии или к M^1 . В некоторых вариантах

осуществления X^B представляет собой , при этом  представляет собой ковалентное присоединение к X^A , а * представляет собой ковалентное присоединение к L при его наличии или к M^1 . В некоторых вариантах осуществления

X^B представляет собой , при этом  представляет собой ковалентное присоединение к X^A , а * представляет собой ковалентное присоединение к L при его наличии или к M^1 . В некоторых вариантах осуществления X^B представляет

собой , при этом  представляет собой ковалентное присоединение к X^A , а * представляет собой ковалентное присоединение к L при его наличии или к M^1 .

[0098] В некоторых вариантах осуществления X^B выбирается из группы, включающей: структуры, представленные ниже, при этом  представляет собой ковалентное присоединение к X^A , а * представляет собой ковалентное присоединение к L при его наличии или к M^1 .

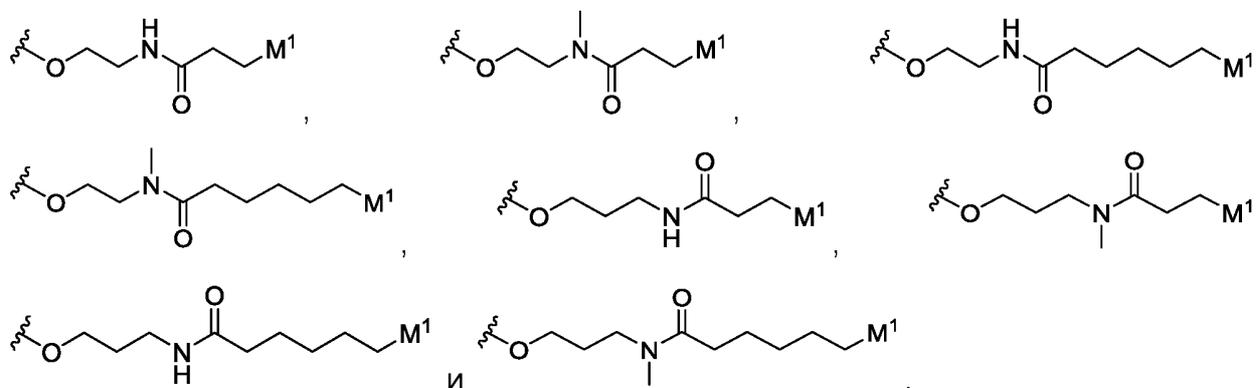


[0099] В некоторых вариантах осуществления один из X^B и L замещены единицей PEG от PEG1 до PEG72 согласно данному описанию. В некоторых вариантах осуществления каждый из X^B и L независимо замещен единицей PEG от PEG2 до PEG72 согласно данному описанию. В некоторых вариантах осуществления каждая функциональная группа PEG от PEG1 до PEG72 может лежать в пределах от PEG8 до PEG12, от PEG12 до PEG24 или от PEG36 до PEG72. В некоторых вариантах осуществления каждая функциональная группа PEG от PEG1 до PEG72 представляет собой функциональную группу PEG от PEG8 до PEG24.

[0100] В некоторых вариантах осуществления X^B и L являются незамещенными.

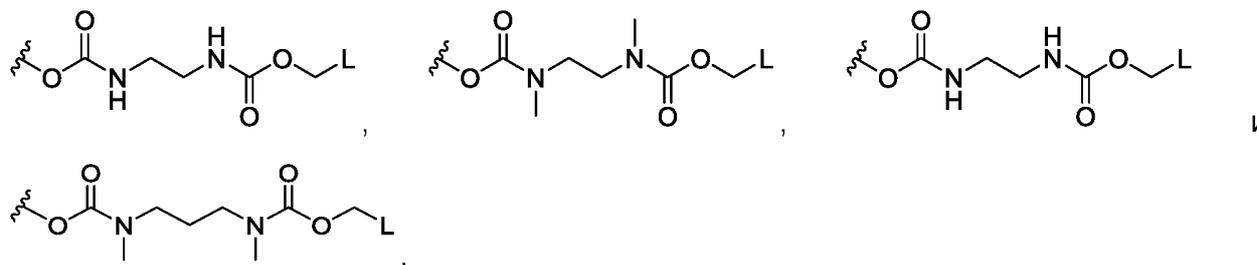
[0101] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метокси-группу, R^2 и R^3 оба представляют собой $-C(=O)NH_2$, а X^A представляет собой $-O-$.

[0102] В некоторых вариантах осуществления L отсутствует, а $X^A-X^B-M^1$ выбирается из группы, включающей:



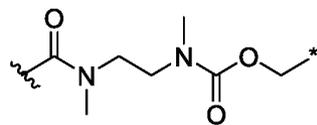
при этом представляет собой ковалентное присоединение к остальной части формулы (I).

[0103] В некоторых вариантах осуществления X^A-X^B-L выбирается из группы, включающей:



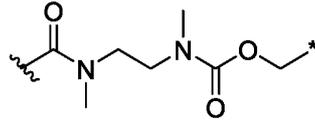
при этом представляет собой ковалентное присоединение к остальной части формулы (I).

[0104] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метокси-группу, а R^2 и R^3 оба представляют собой $-C(=O)NH_2$. В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой $-O-$, а X^B представляет собой

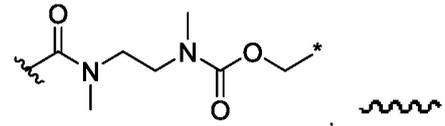


при этом представляет собой ковалентное присоединение к X^A , а * представляет собой ковалентное присоединение к L при его наличии или к M^1 . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой

метокси-группу, R^2 и R^3 оба представляют собой $-C(=O)NH_2$, X^A представляет собой $-$



$O-$, а X^B представляет собой $-$, при этом $-$ представляет собой ковалентное присоединение к X^A , а * представляет собой ковалентное присоединение к L при его наличии или к M^1 . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метокси-группу, R^2 и R^3 оба представляют собой $-C(=O)NH_2$,



X^A представляет собой $-O-$, X^B представляет собой $-$, $-$ представляет собой ковалентное присоединение к X^A , * представляет собой ковалентное присоединение к L, а нижний индекс a и нижний индекс y представляют собой 0.

[0105] В некоторых вариантах осуществления X^B отсутствует.

[0106] В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p представляет собой целое число от 2 до 8, от 2 до 6, от 2 до 4, от 4 до 8 или от 6 до 8. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p представляет собой 2, 4, 6 или 8. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p представляет собой 2. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p представляет собой 4. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p представляет собой 6. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p представляет собой 8.

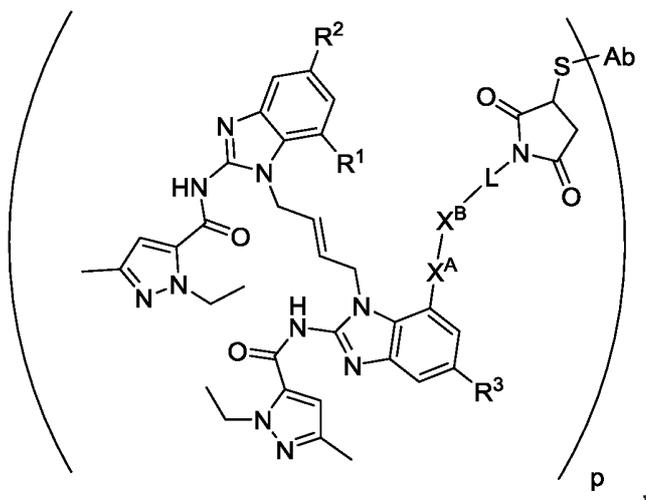
[0107] В некоторых вариантах осуществления X^B отсутствует, а L ковалентно присоединен к X^A . В некоторых вариантах осуществления X^B отсутствует, а Y ковалентно присоединен к X^A . В некоторых вариантах осуществления X^B и Y отсутствуют, а W ковалентно присоединен к X^A . В некоторых вариантах осуществления X^B , Y и W отсутствуют, а A ковалентно присоединен к X^A .

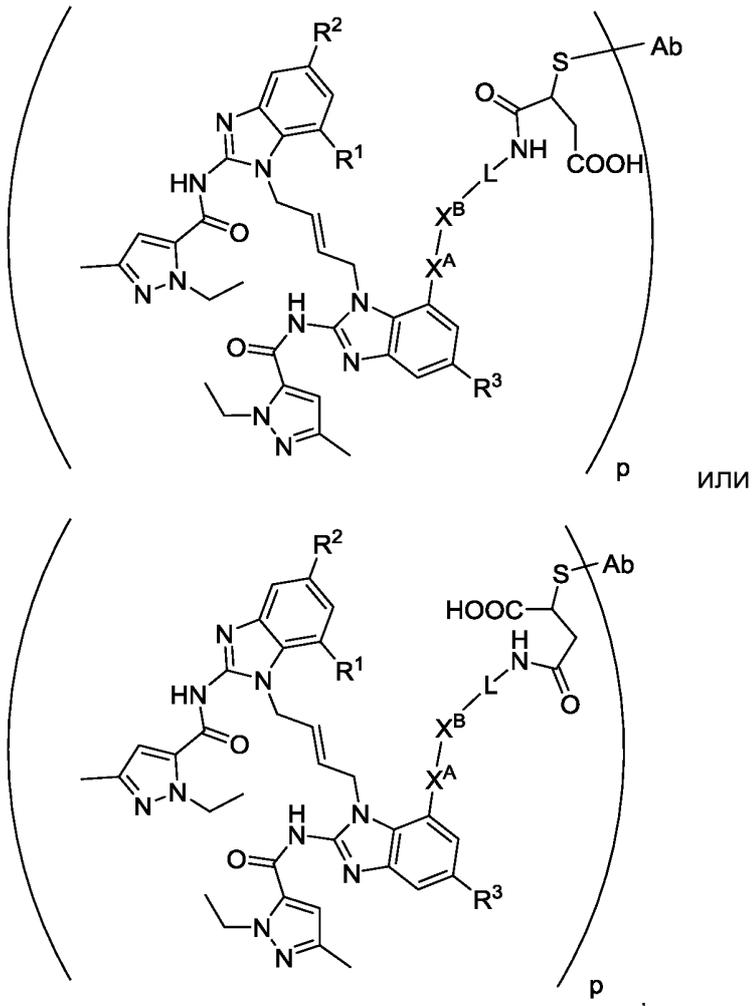
[0108] В некоторых вариантах осуществления X^B представляет собой 2-16-членный гетероалкилен, а L ковалентно присоединен к X^B . В некоторых вариантах осуществления X^B представляет собой 2-16-членный гетероалкилен, а Y ковалентно присоединен к X^B . В некоторых вариантах осуществления X^B представляет собой 2-16-членный гетероалкилен, Y отсутствует, а W ковалентно присоединен к X^B . В некоторых вариантах осуществления X^B представляет собой 2-16-членный гетероалкилен, Y и W отсутствуют, а A ковалентно присоединен к X^B .

[0109] В некоторых вариантах осуществления W_1 представляет собой $-OC(=O)-$, а нижний индекс y представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой $-O-$, а X^B и W_1 отсутствуют. В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой NH или $-O-$, X^B отсутствует, а W_1 представляет собой $-OC(=O)$. В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой $-H(CH_3)-$, X^B отсутствует, а W_1 представляет собой $-OC(=O)$. В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой $-S-$, X^B отсутствует, а W_1 представляет собой $-OC(=O)$. В некоторых вариантах осуществления W_1 представляет собой $-OC(=O)-$, а X^B ковалентно присоединен к W посредством $-O-$ или $-NH-$.

[0110] В некоторых вариантах осуществления A ковалентно присоединен к M^1 . В некоторых вариантах осуществления, если нижний индекс a представляет собой 0, W ковалентно присоединен к M^1 . В некоторых вариантах осуществления, если нижний индекс a представляет собой 0, а нижний индекс w представляет собой 0, Y ковалентно присоединен к M^1 . В некоторых вариантах осуществления, если каждый из нижних индексов a , y и w представляет собой 0, X^B ковалентно присоединен к M^1 .

[0111] В некоторых вариантах осуществления конъюгат ADC имеет формулу:





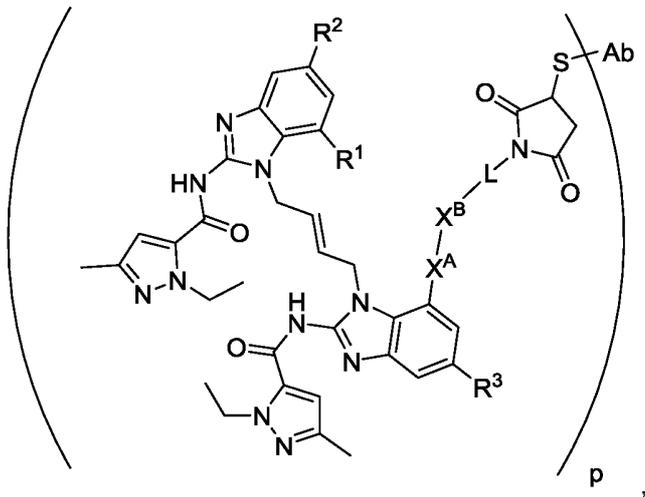
где:

Ab - антитело,

R^1 , R^2 , R^3 , X^A , X^B и L – соответствуют приведенному выше описанию для формулы (I), и

каждый нижний индекс р независимо представляет собой целое число от 2 до 8.

[0112] В некоторых аспектах конъюгат ADC имеет формулу:



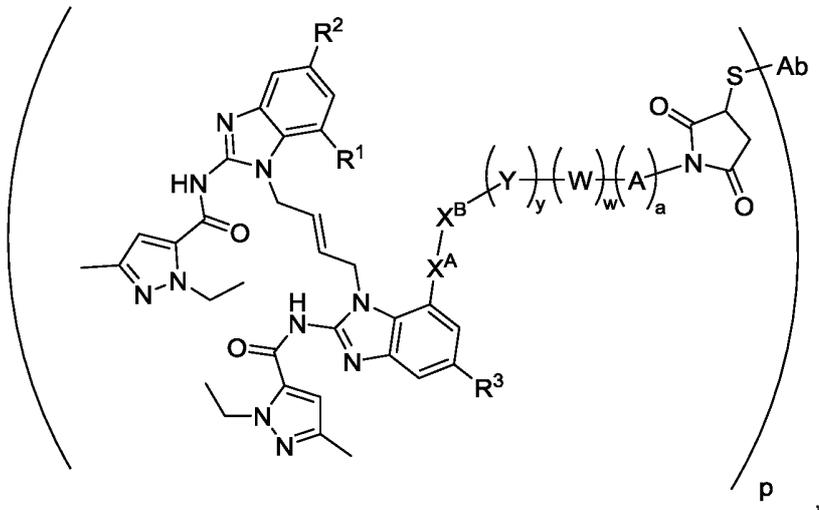
где:

Ab - антитело,

R^1 , R^2 , R^3 , X^A , X^B и L – соответствуют приведенному выше описанию для формулы (I), и

каждый нижний индекс p независимо представляет собой целое число от 2 до 8.

[0113] В некоторых аспектах конъюгат ADC имеет формулу:



где:

Ab - антитело,

R^1 , R^2 , R^3 , X^A , X^B , Y, W и A – соответствуют приведенному выше описанию для формулы (I),

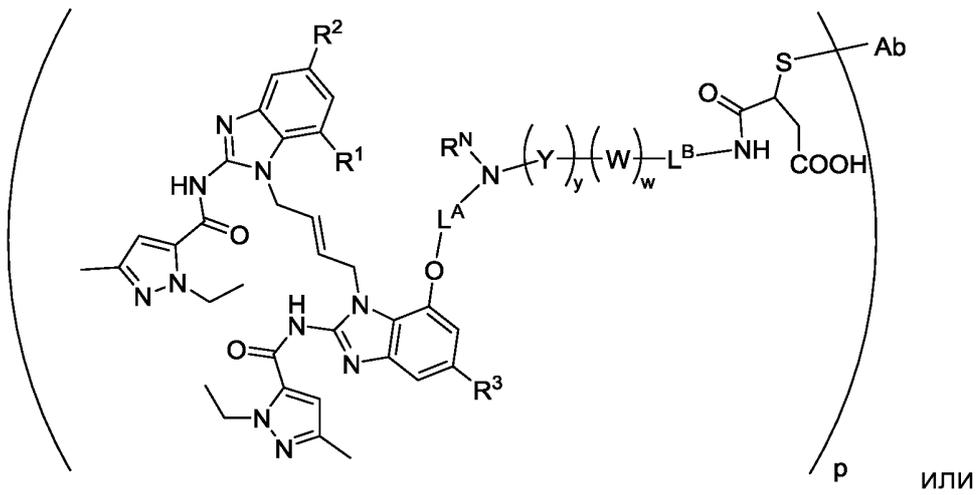
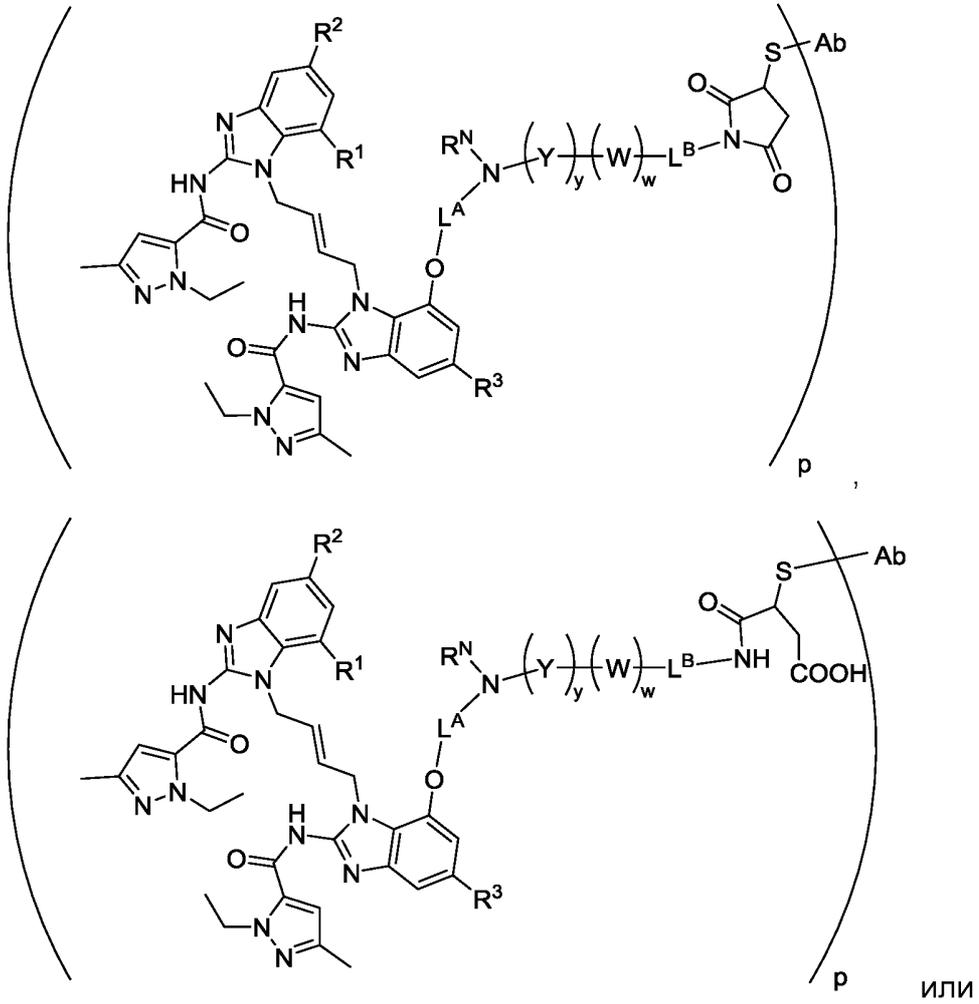
каждый нижний индекс y независимо представляет собой 0 или 1,

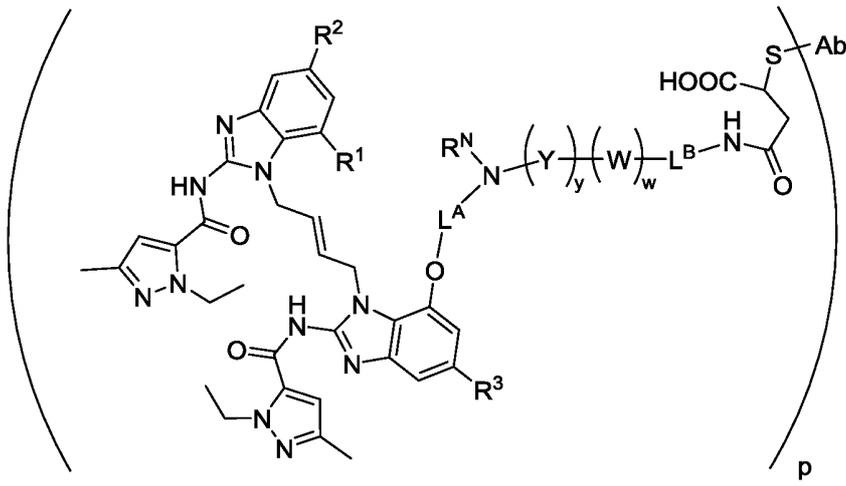
каждый нижний индекс w независимо представляет собой 0 или 1,

каждый нижний индекс a независимо представляет собой 0 или 1, и
каждый нижний индекс p независимо представляет собой целое число от 2 до

8.

[0114] В некоторых вариантах осуществления конъюгат ADC имеет формулу:





где:

Ab - антитело,

R^1 , R^2 , R^3 , L^A , R^N , Y, W и L^B - определены ниже применительно к формуле (II-A),

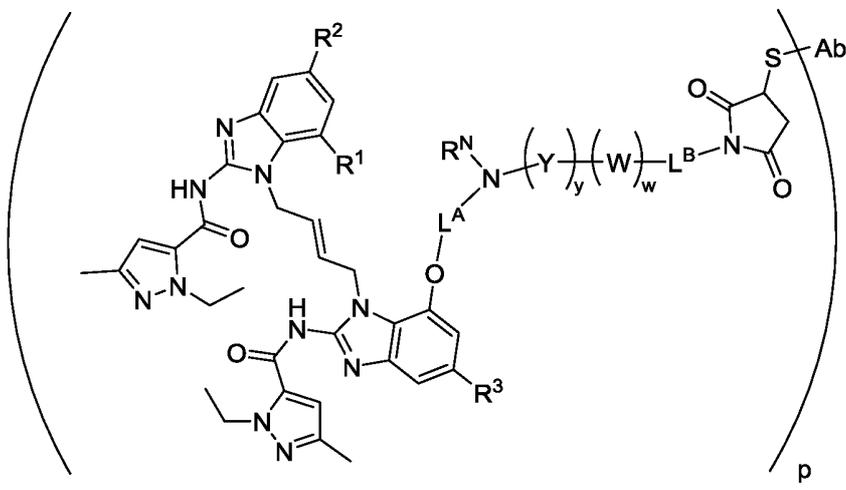
каждый нижний индекс y независимо представляет собой 0 или 1,

каждый нижний индекс w независимо представляет собой 0 или 1, и

каждый нижний индекс p независимо представляет собой целое число от 2 до

8.

[0115] В некоторых аспектах конъюгат ADC имеет формулу:



где:

Ab - антитело,

R^1 , R^2 , R^3 , L^A , R^N , Y, W и L^B - определены ниже применительно к формуле (II-A),

каждый нижний индекс y независимо представляет собой 0 или 1,

каждый нижний индекс w независимо представляет собой 0 или 1, и

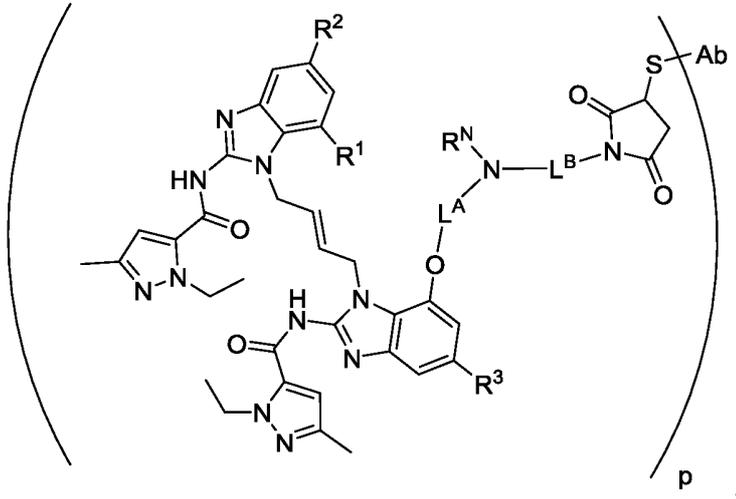
где:

Ab - антитело,

R^1 , R^2 , R^3 , L^A , R^N и L^B - определены ниже применительно к формуле (II-B), а каждый нижний индекс p независимо представляет собой целое число от 2 до

8.

[0117] В некоторых аспектах конъюгат ADC имеет формулу:



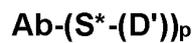
где:

Ab - антитело,

R^1 , R^2 , R^3 , L^A , R^N и L^B - определены ниже применительно к формуле (II-B), а каждый нижний индекс p независимо представляет собой целое число от 2 до

8.

[0118] Некоторые варианты осуществления предлагают конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC) имеющий формулу:



где:

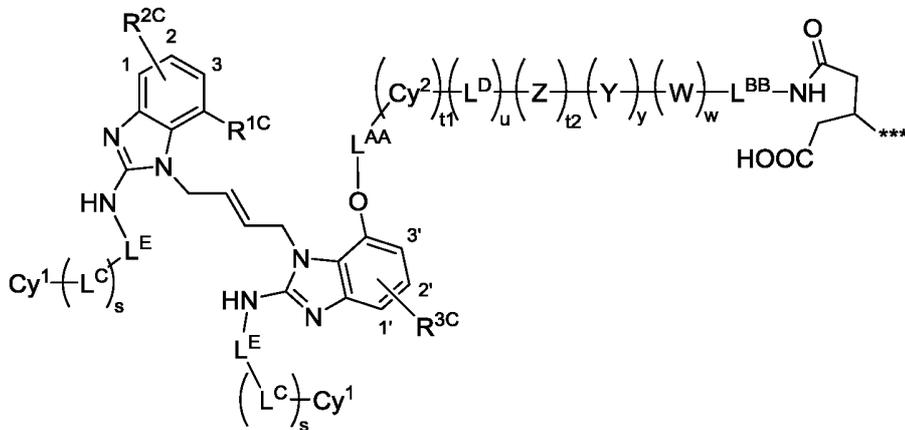
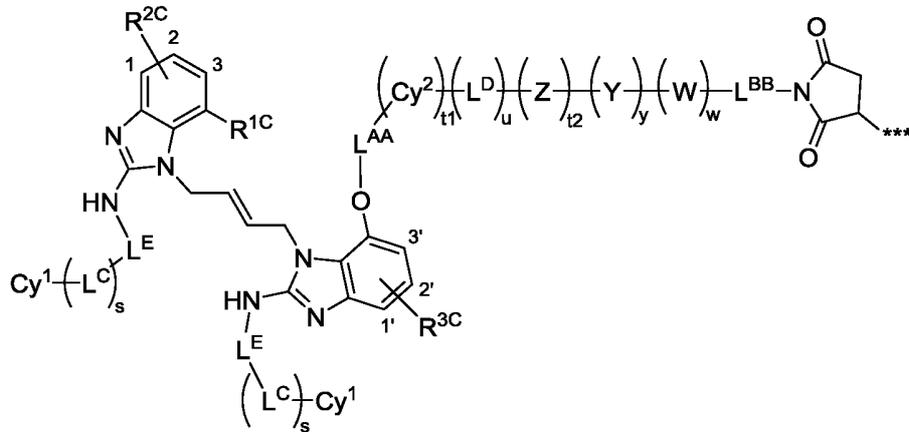
Ab - антитело,

каждый S^* представляет собой атом серы из цистеинового остатка антитела,

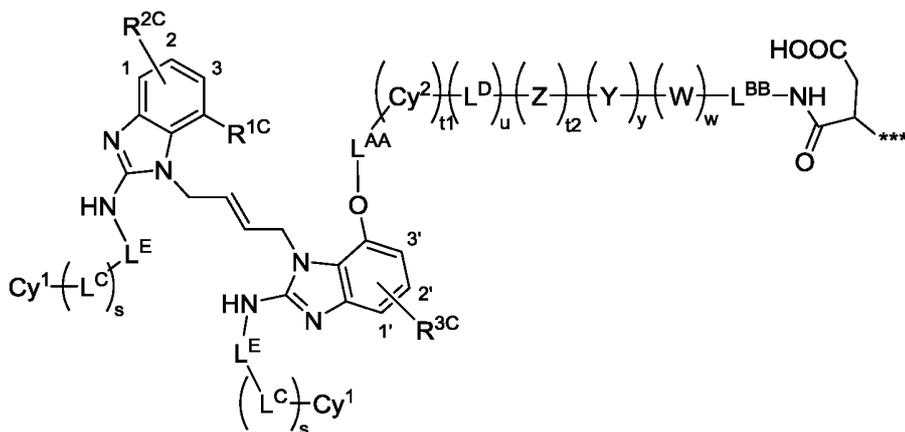
D' – группа лекарственного средства, которая представляет собой радикал соединения формулы (IV), как описано ниже, а

нижний индекс p представляет собой целое число от 2 до 8.

[0119] В некоторых вариантах осуществления радикал соединения формулы (IV) включает радикал в заместителе М в формуле (IV). В некоторых вариантах осуществления группа D' лекарственного средства имеет структуру:

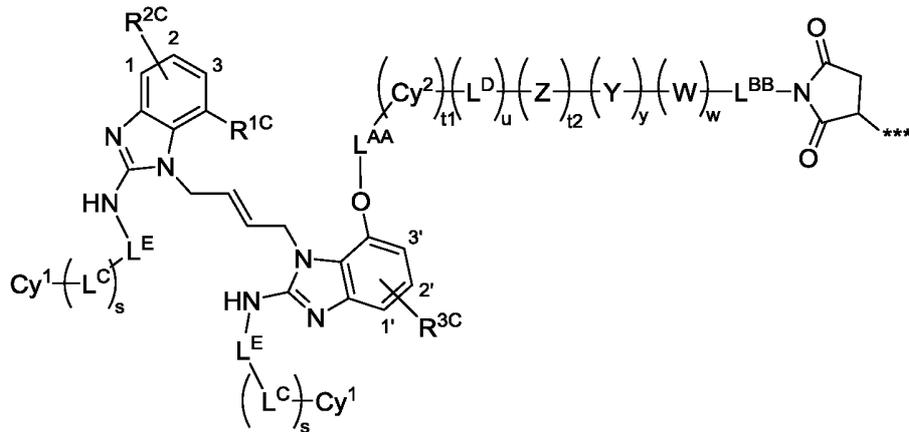


ИЛИ



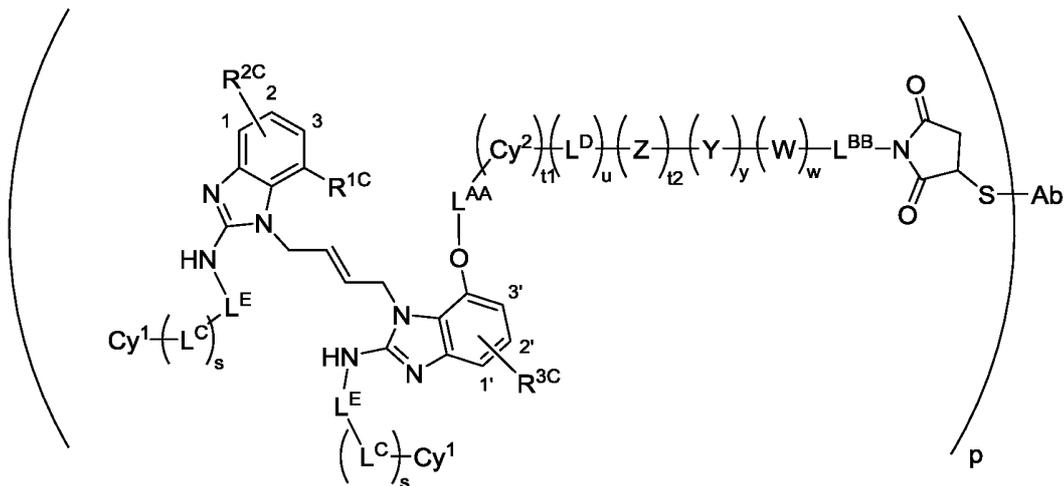
где *** указывает на присоединение к S*, а остальные переменные определены ниже применительно к формуле (IV).

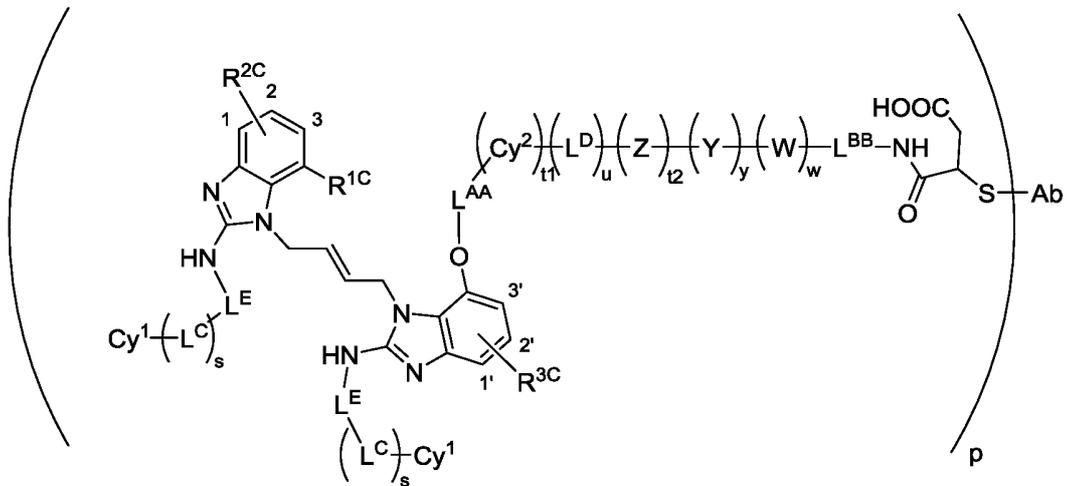
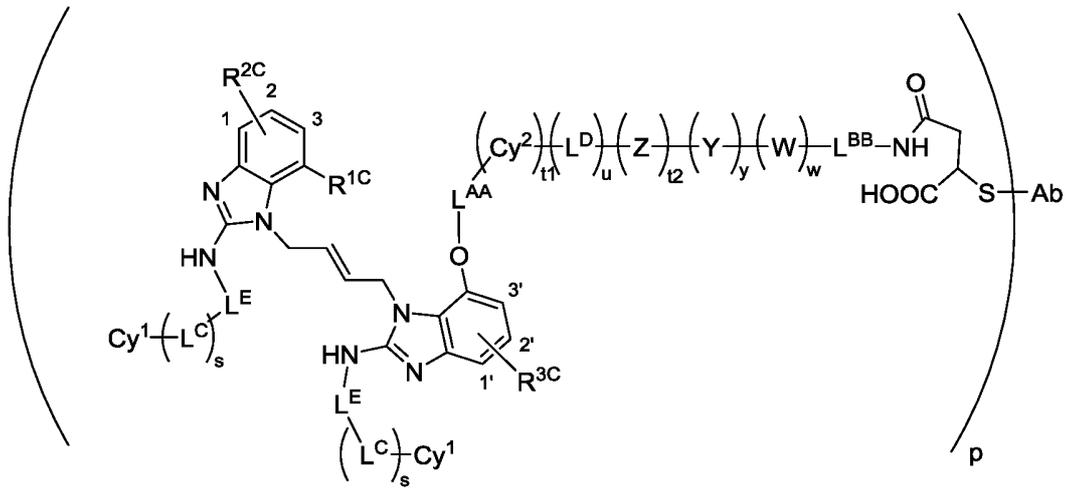
[0120] В некоторых аспектах группа D' лекарственного средства имеет структуру:



где *** указывает на присоединение к S*, а остальные переменные определены ниже применительно к формуле (IV).

[0121] В некоторых вариантах осуществления конъюгат ADC имеет формулу:





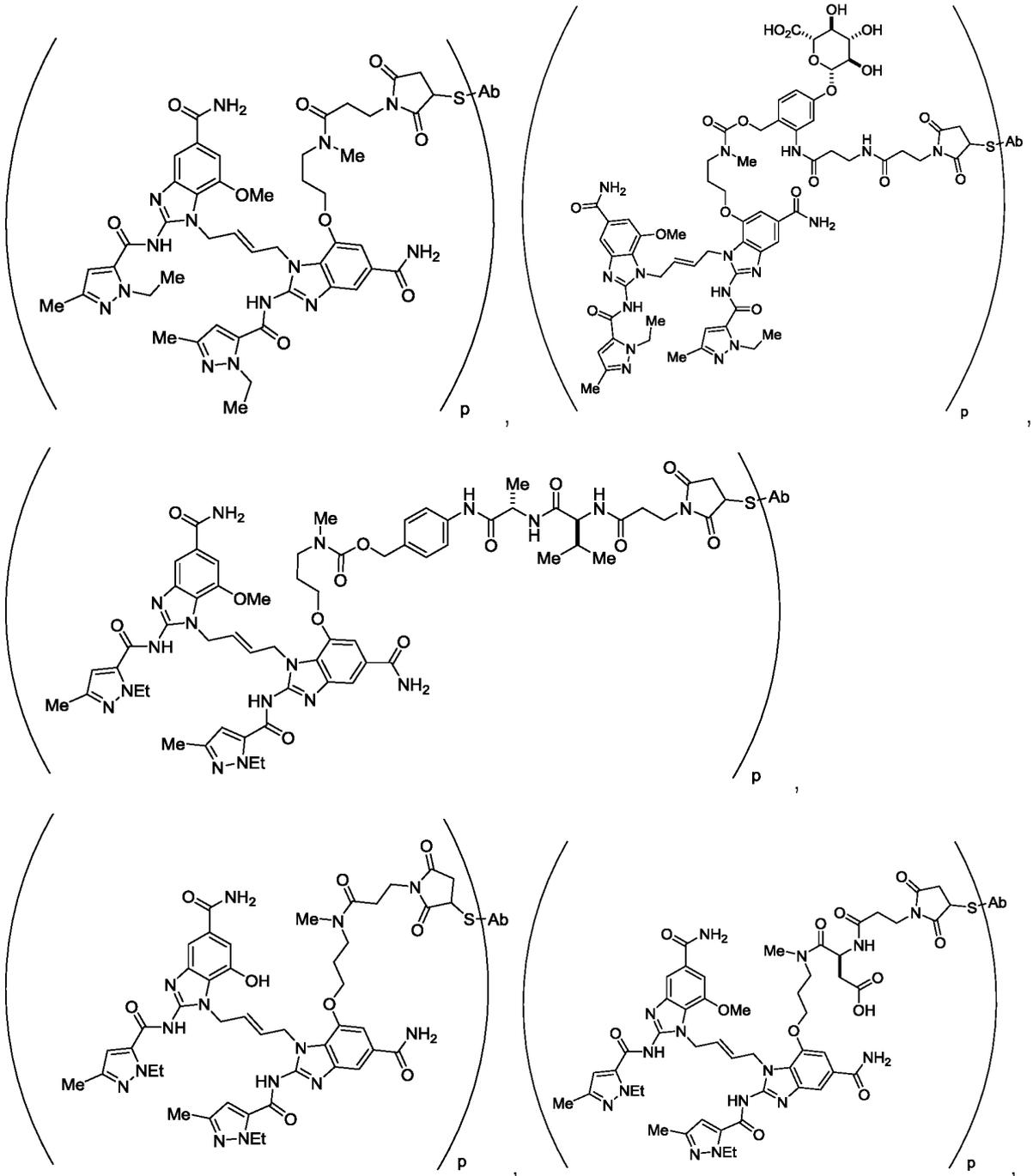
где:

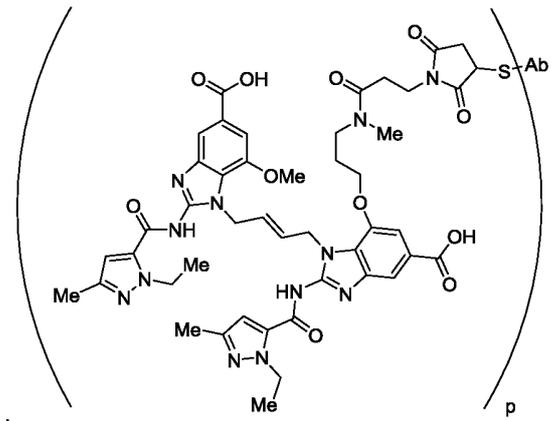
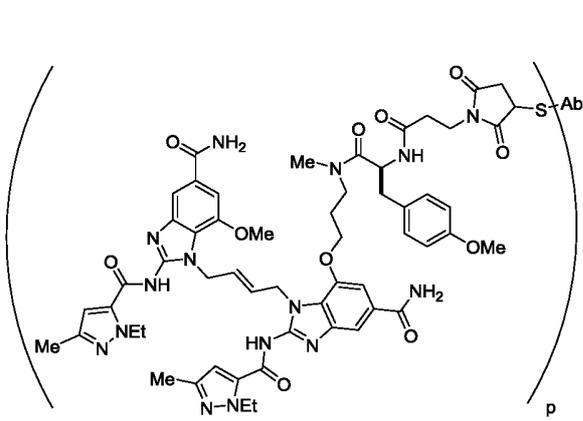
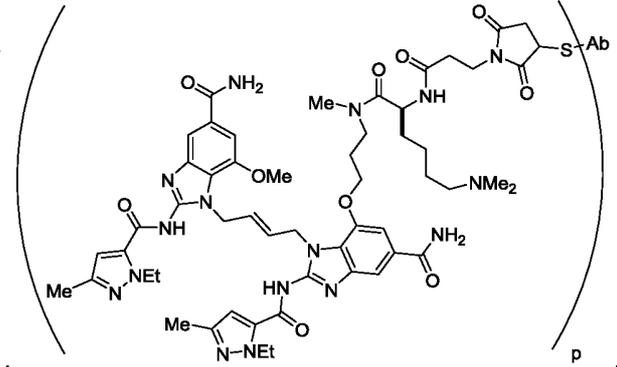
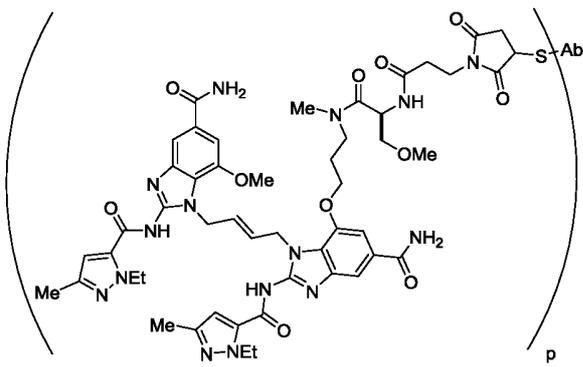
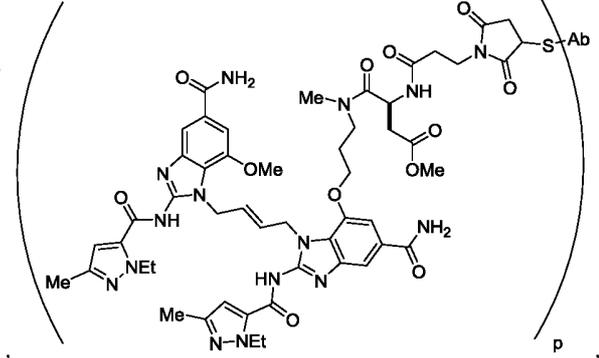
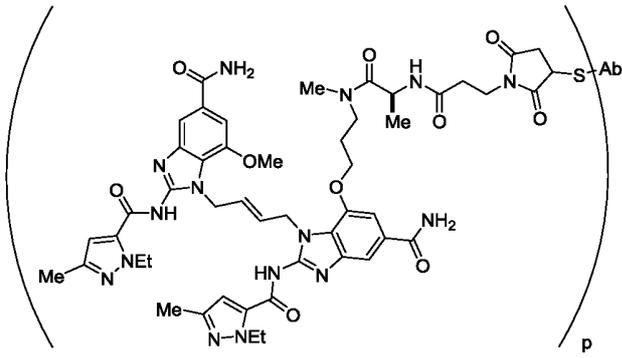
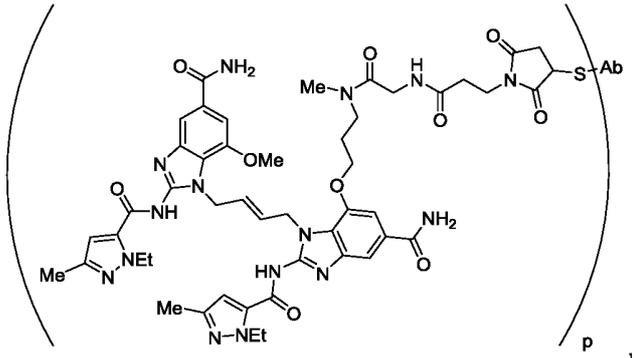
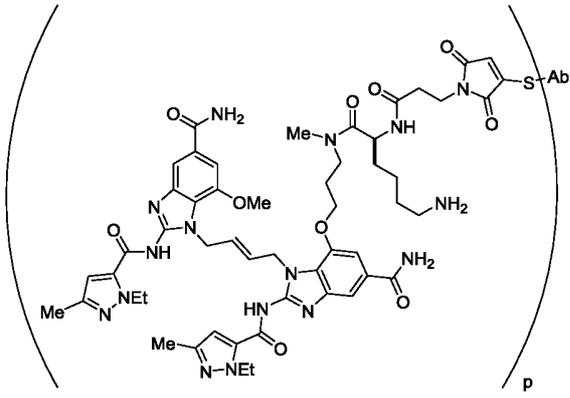
Ab - антитело,

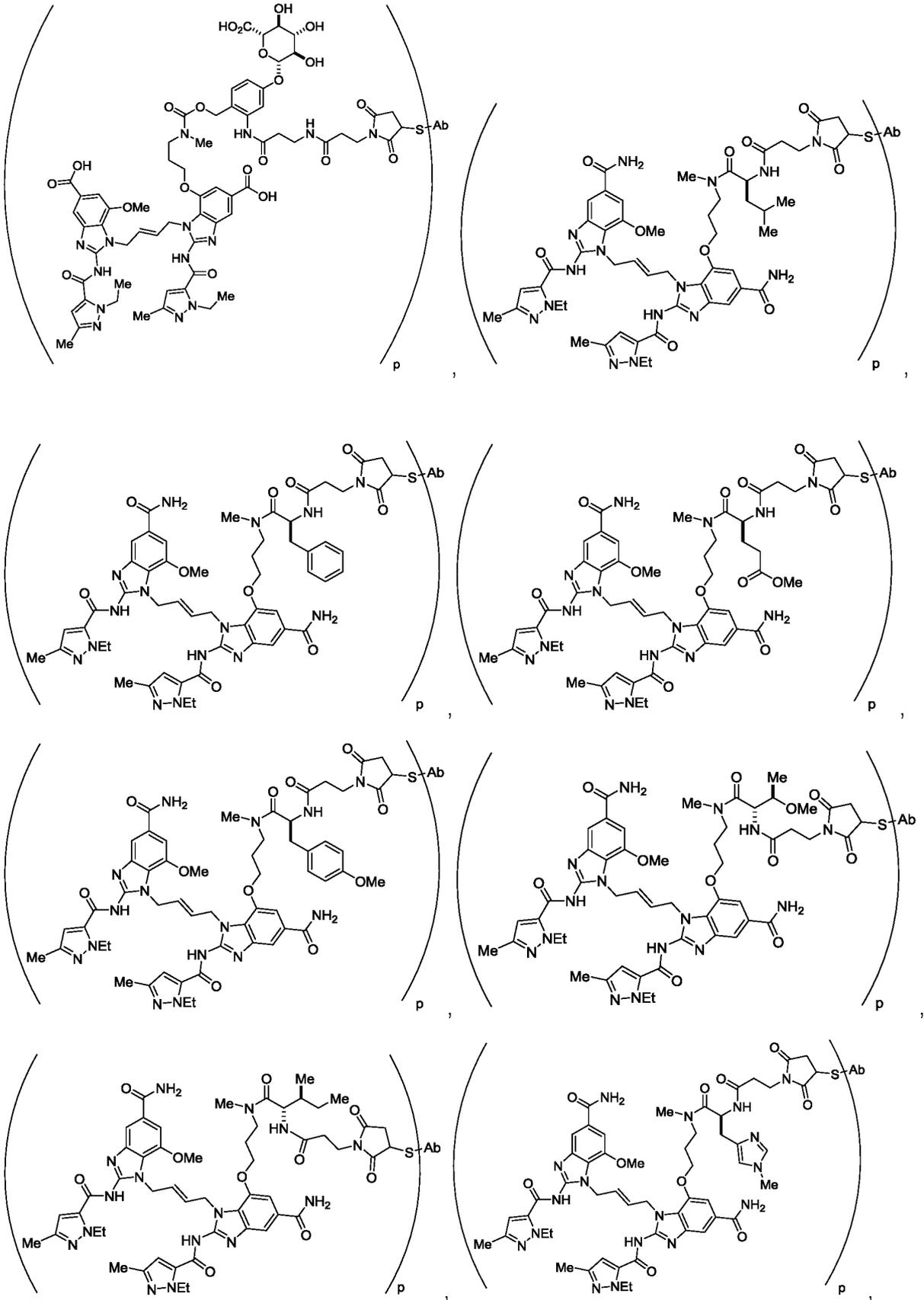
каждый нижний индекс p независимо представляет собой целое число от 2 до 8, а

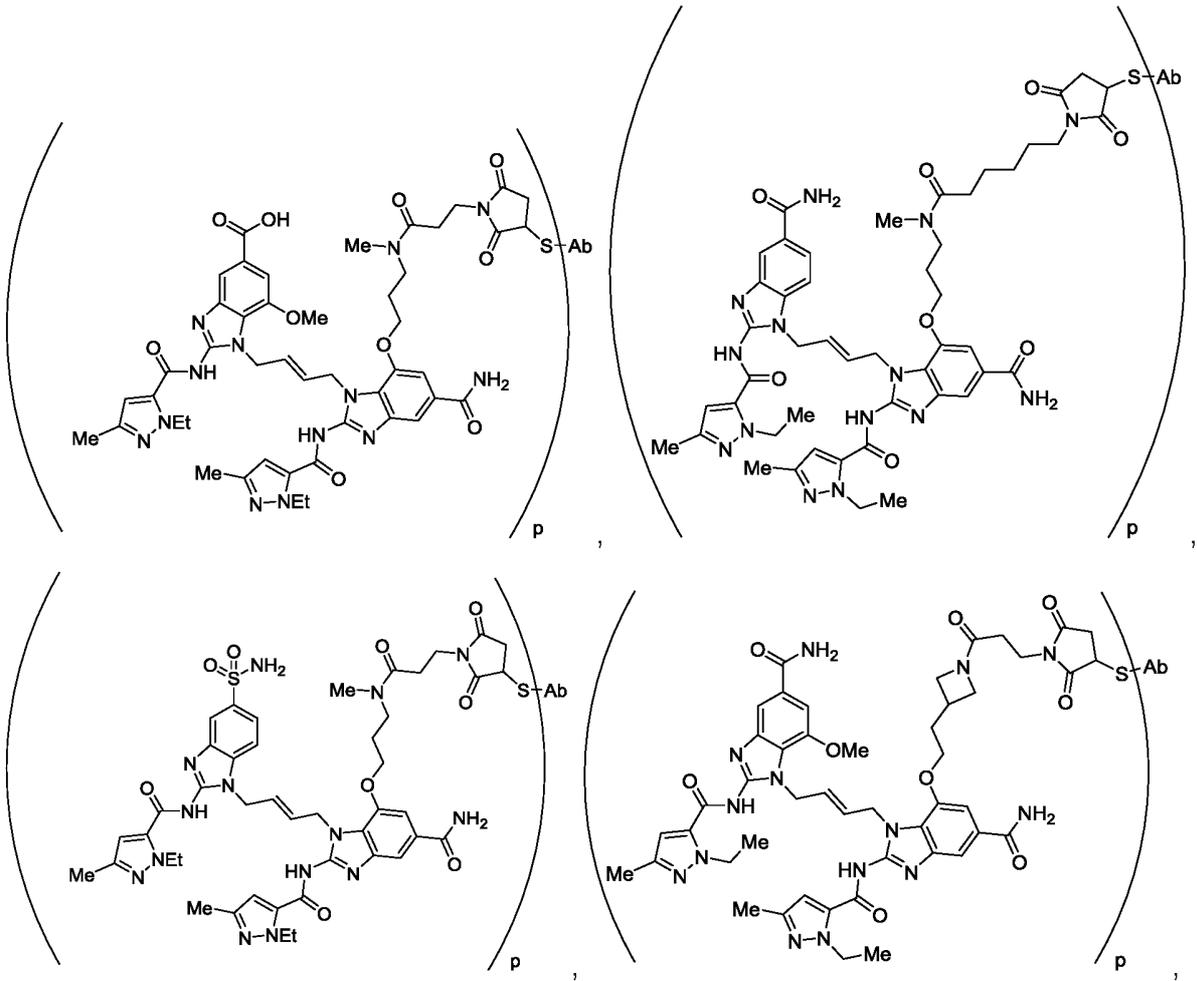
остальные переменные определены ниже применительно к формуле (IV).

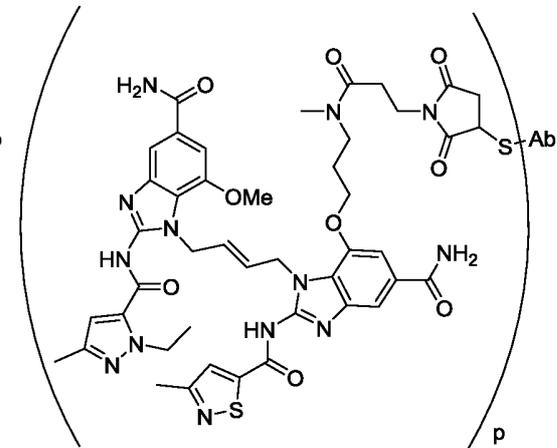
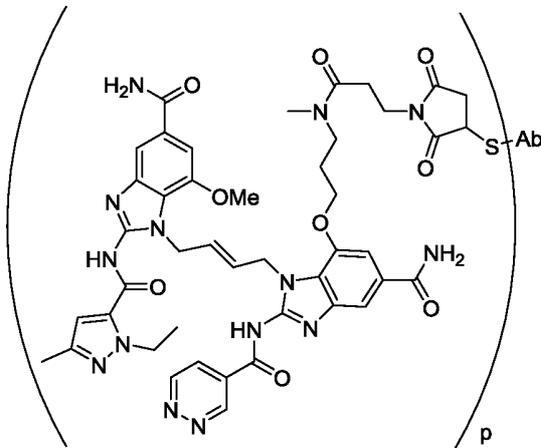
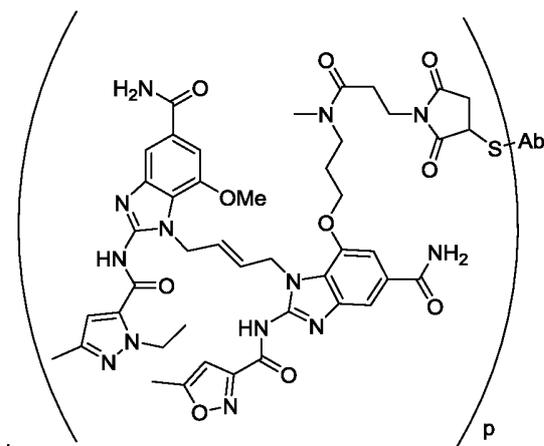
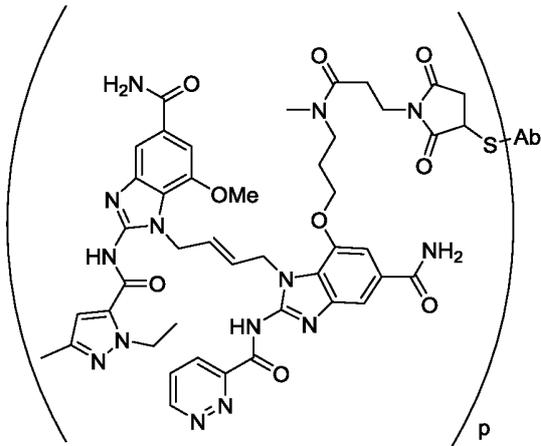
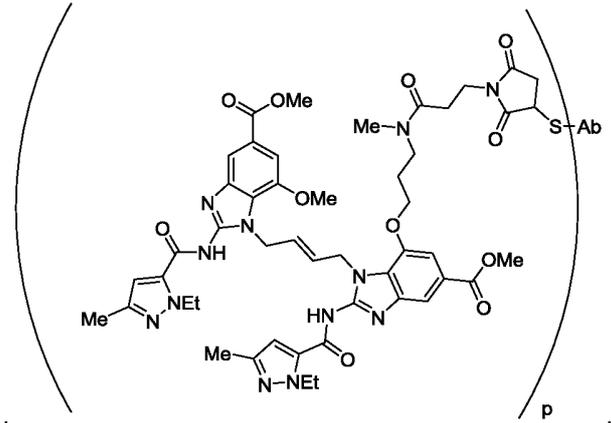
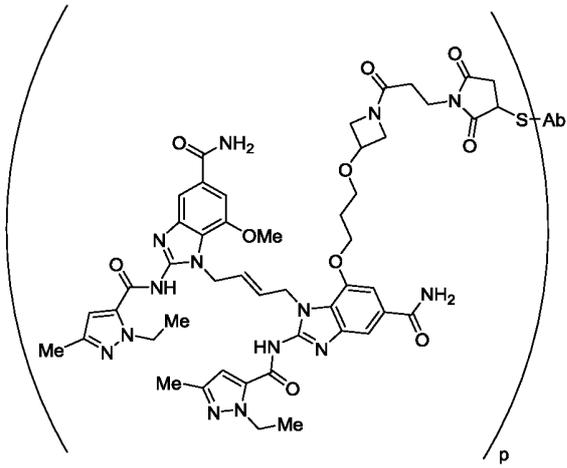
[0122] В некоторых аспектах конъюгат ADC имеет формулу:

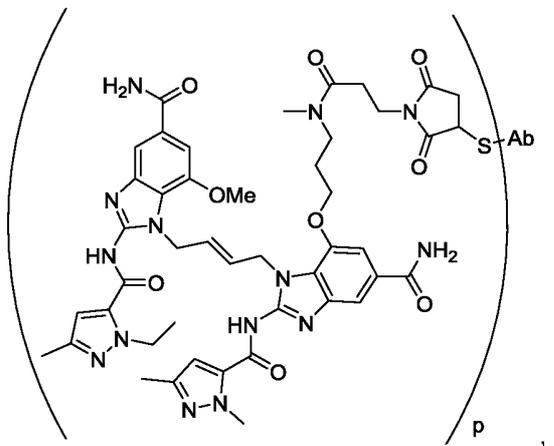
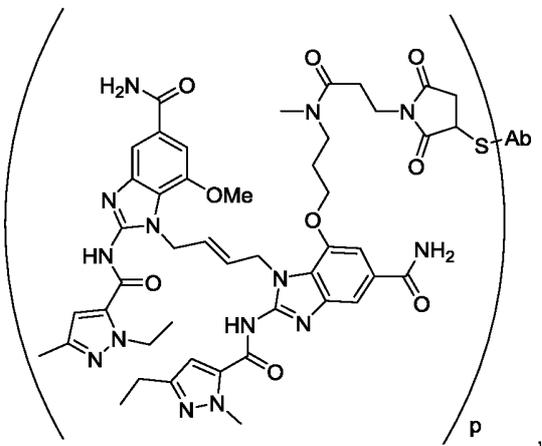
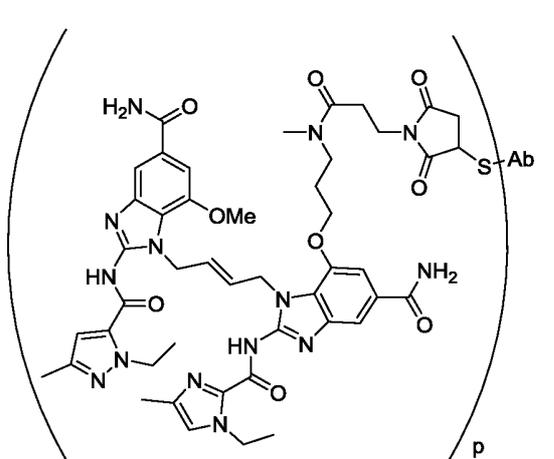
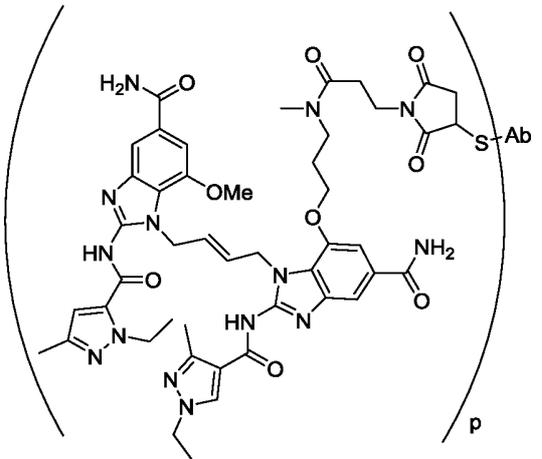
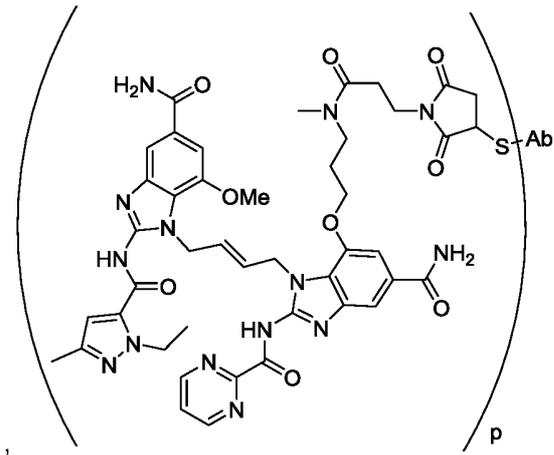
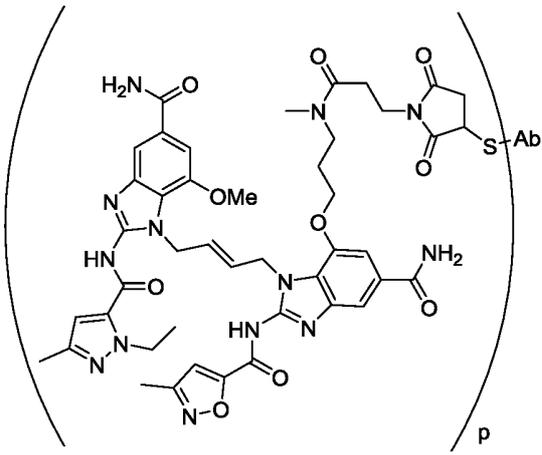


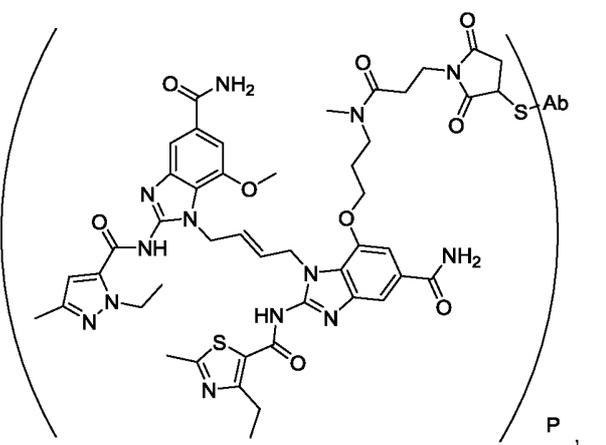
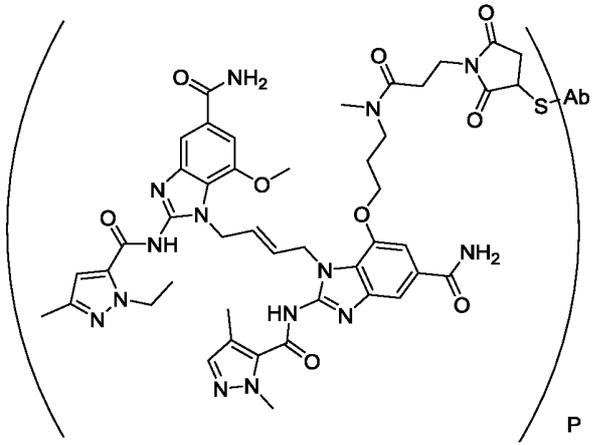
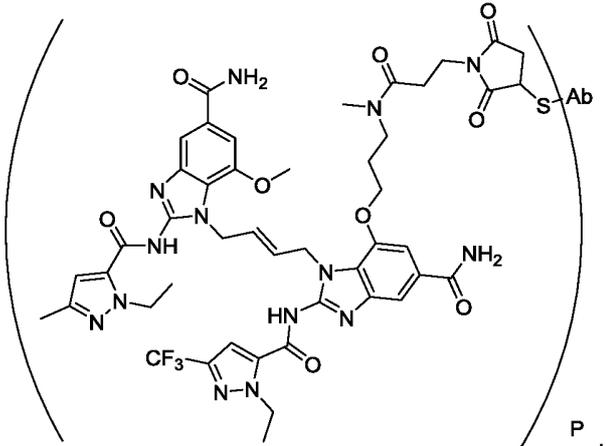
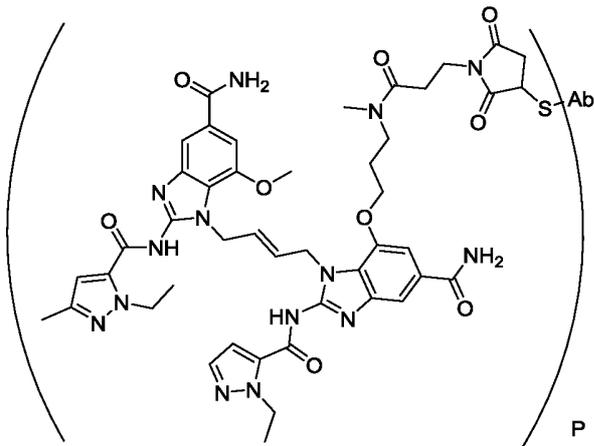
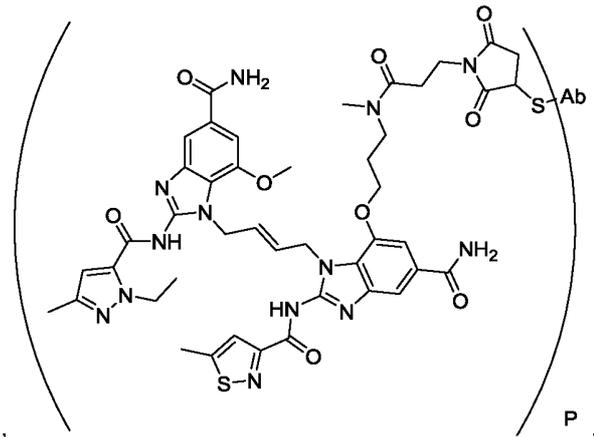
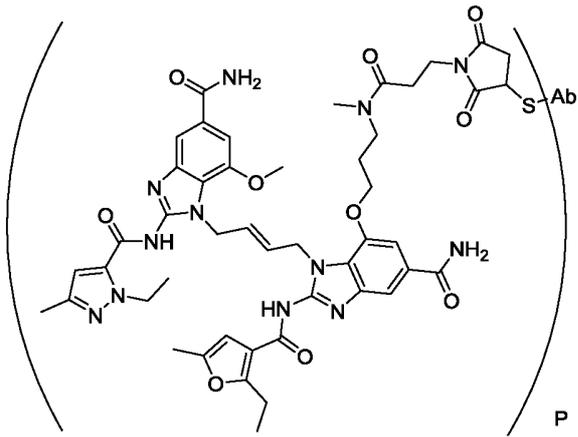


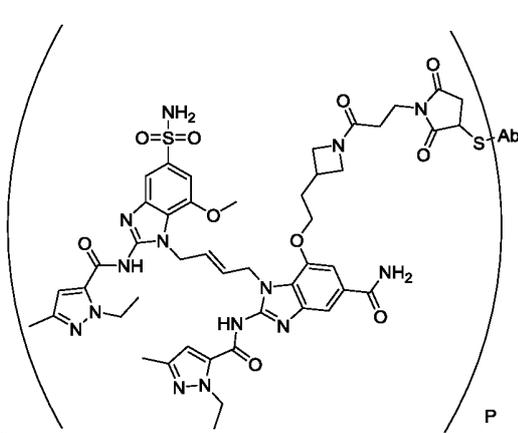
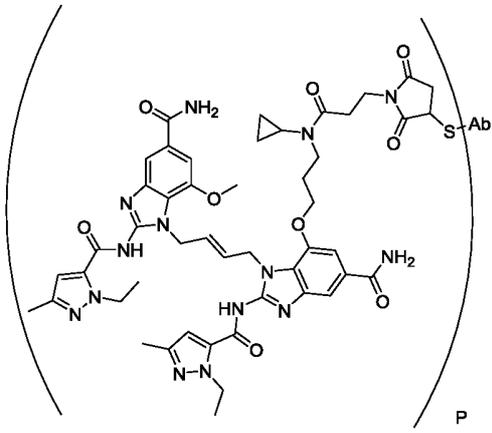
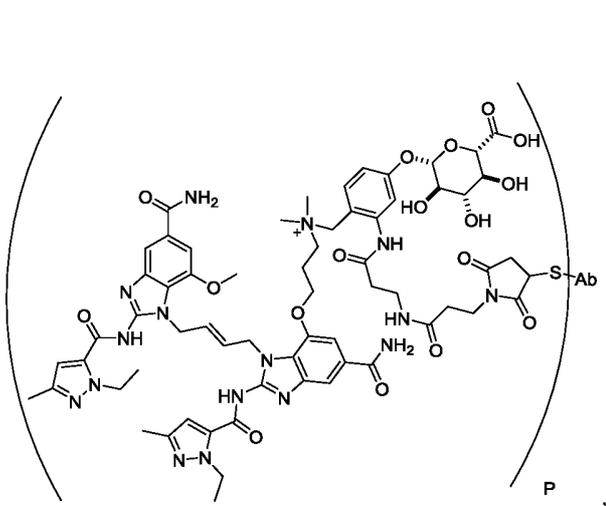
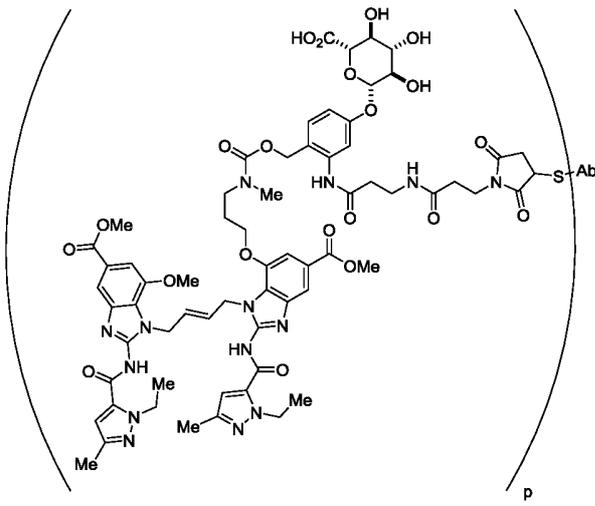
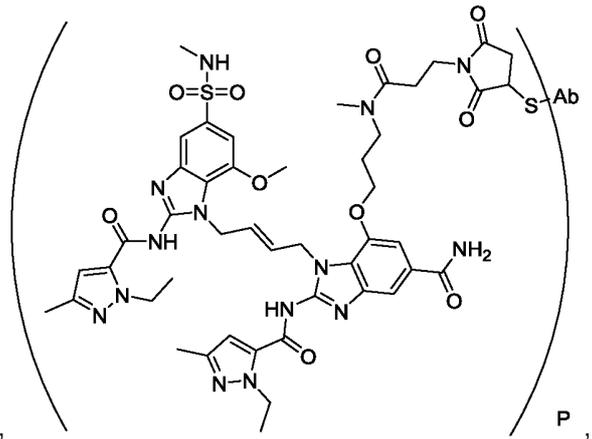
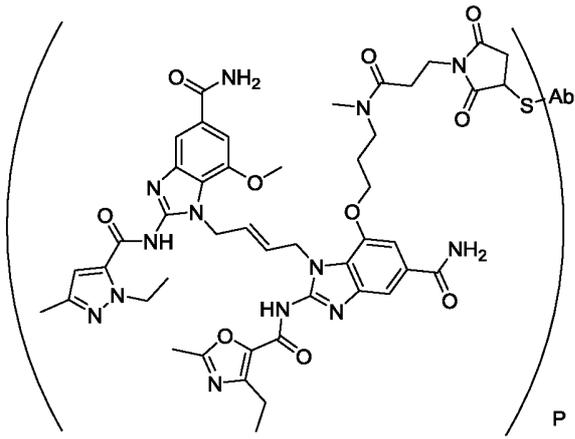


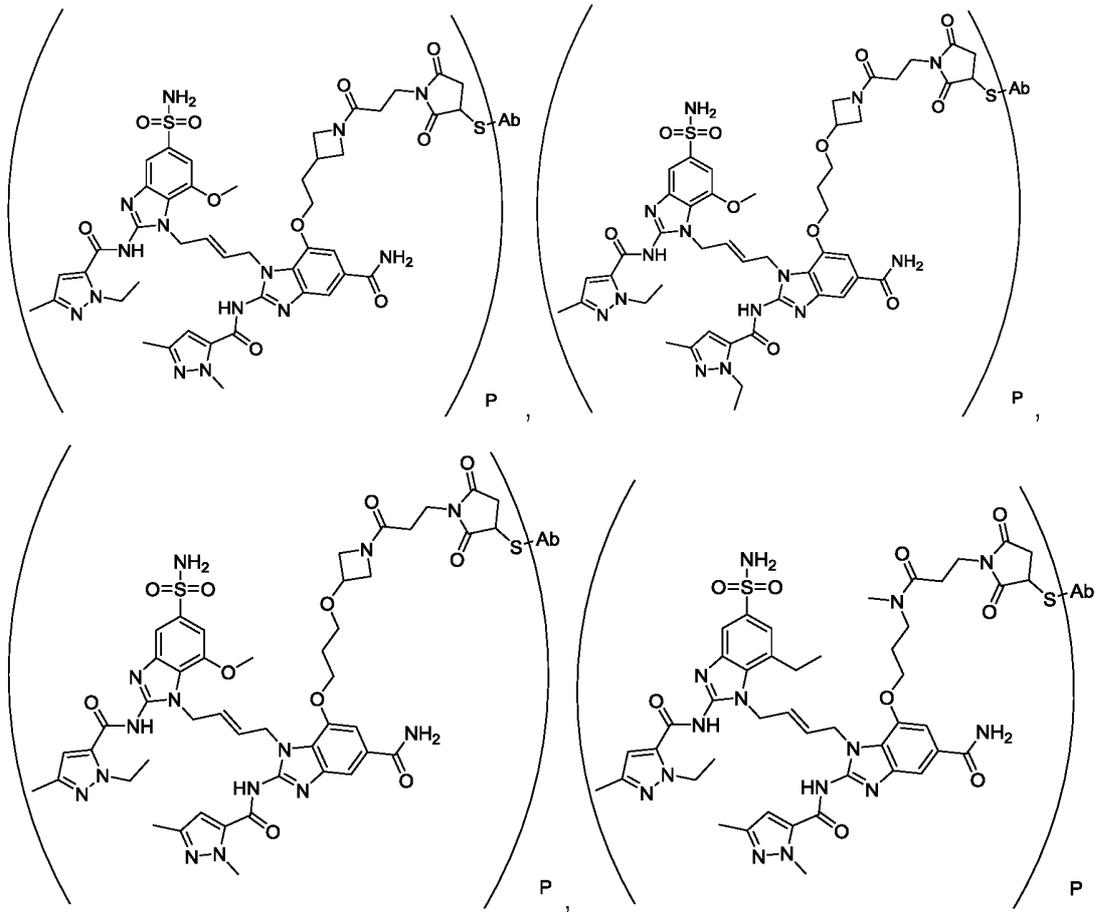












и их фармацевтически приемлемые соли,

где:

Ab - антитело, а

каждый нижний индекс p независимо представляет собой целое число от 2 до 8.

Антитела

[0124] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой поликлональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело является химерным. В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело является полностью человеческим. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент.

[0125] Термин “моноклональное антитело” в контексте настоящего описания относится к антителу, полученному из популяции, по существу, гомогенных антител, *т. е.*, отдельные антитела, образующие популяцию, являются идентичными за исключением возможных естественных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела обладают высокой специфичностью, поскольку направлены против одного антигенного сайта. Определение “моноклональное” указывает на характер антитела как полученного из, по существу, гомогенной популяции антител и не должно толковаться как требование к получению антитела каким-либо конкретным способом.

[0126] Пригодные поликлональные антитела представляют собой гетерогенные популяции молекул антител, полученные из сывороток иммунизированных животных. Пригодные моноклональные антитела представляют собой гомогенные популяции антител к определенной антигенной детерминанте (*например*, к антигену раковой клетки, белку, пептиду, углеводу, химическому веществу, нуклеиновой кислоте или их фрагментам). Моноклональное антитело (mAb) к представляющему интерес антигену может быть получено с использованием любой методики, известной в данной области техники и предусматривающей получение молекул антител при помощи стабильных клеточных линий в культуре.

[0127] Пригодные моноклональные антитела включают, в частности, но без ограничения: моноклональные антитела человека, гуманизированные моноклональные антитела или химерные моноклональные антитела человека и мыши (или других видов). Антитела включают полноразмерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты. Моноклональные антитела человека могут быть получены любой из множества методик, известных в данной области (*например*, Тенг *и др.*, 1983, *Просидингс оф зе Нейчурал Акэдеми оф Сайенсиз оф зе ЮЭсЭй*, 80:7308-7312, Козбор *и др.*, 1983, *Иммунологичи Тудэй* 4:72-79 и Ольссон *и др.*, 1982, *Методс ин Энзимолоджи*. 92:3-16).

[0128] В некоторых вариантах осуществления антитело включает функционально активный фрагмент, производное или аналог антитела, который специфически связывается с клетками-мишенями (*например*, с антигенами раковых клеток) или другие антитела которые связываются с раковыми клетками или с матриксом. В этом контексте “функционально активный” означает, что фрагмент,

производное или аналог способен специфически связываться с клетками-мишенями. Чтобы установить, какие последовательности областей, определяющих комплементарность (CDR), связывают антиген, синтетические пептиды, содержащие соответствующие последовательности CDR, обычно используют в анализах связывания с антигеном при помощи любой методики анализов связывания, известной в данной области техники (например, при помощи системы *Biacore assay*) (См., например, Кэбэт и др., 1991, *Последовательности белков, представляющих иммунологический интерес*, 5 издание, Нейшнл Инститют оф Хелс, Бесесда, Мэриленд, Кэбэт Э и др., 1980, *Зе Джорнел оф Иммунолоджи* 125 (3):961-969).

[0129] Кроме того, пригодными являются рекомбинантные антитела, в частности, химерные и гуманизированные моноклональные антитела, которые содержат, как человеческую, так и нечеловеческую части, и которые обычно получают стандартными способами рекомбинантной ДНК. Химерное антитело представляет собой молекулу, в которой различные части получены от различных видов животных, в частности, такие, которые имеют, например, вариабельный участок, полученный из мышинового моноклонального антитела, и константную область, полученную из человеческого иммуноглобулина. См., например, патент США № 4,816,567 и патент США № 4,816,397, которые в полном объеме включены в настоящее описание в качестве ссылки. Гуманизированные антитела представляют собой молекулы антител из нечеловеческих видов, содержащие одну или более CDR из нечеловеческих видов и каркасную область из молекул человеческого иммуноглобулина. См., например, патент США № 5,585,089, который в полном объеме включен в настоящее описание в качестве ссылки. Такие химерные и гуманизированные моноклональные антитела могут быть получены способами рекомбинантной ДНК, известными в данной области техники, например, при помощи способов, описанных в международной публикации № WO 87/02671, публикации заявки на европейский патент № 0 184 187, публикации заявки на европейский патент № 0 171 496, публикации заявки на европейский патент № 0 173 494, международной публикации № WO 86/01533, патенте США № 4,816,567, публикации заявки на европейский патент № 012 023, в работах Бертер и др., 1988, *Сайенс* 240:1041-1043, Лю и др., 1987, *Просидингс оф зе Нейчурал Академи оф Сайенсиз оф зе ЮЭсЭй*. USA 84:3439-3443, Лю и др., 1987, *Джорнел оф Иммунолоджи* 139:3521-3526, Сан и др., 1987, *Просидингс оф зе Нейчурал Академи оф Сайенсиз оф*

ze ЮЭсЭй 84:214-218, Нишимура и др., 1987, Кэнсер Ресерч 47:999-1005, Вуд и др., 1985, Нейче 314:446-449 и Шоу и др., 1988, Джорнел оф зе Нейшнл Кэнсер Инститъют 80:1553-1559, Моррисон, 1985, Сайенс 229:1202-1207, Ои и др., 1986, БайоТехникс 4:214, в патенте США № 5,225,539, в работах Джонс и др., 1986, Нейче 321: 522-525, Верховян и др., 1988, Сайенс 239:1534 и Бейдлер и др., 1988, Джорнел оф Иммунолоджи 141:4053-4060, все из которых в полном объеме включены в настоящее описание в качестве ссылки.

[0130] В некоторых вариантах осуществления антитело является полностью человеческим антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело получено с использованием трансгенных мышей, которые не способны экспрессировать эндогенные гены тяжелой и легкой цепи иммуноглобулина, но способны экспрессировать гены тяжелой и легкой цепи человека.

[0131] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактное или полностью восстановленное антитело. Термин “полностью восстановленное” относится к антителу, в котором все четыре межцепьевые дисульфидные связи восстановлены, чтобы получить восемь тиоловых групп, которые могут быть присоединены к линкеру (L).

[0132] Присоединение к антителу может быть осуществлено при помощи дисульфидных связей нативных и/или сконструированных цистеиновых остатков или аминокислотного остатка, сконструированного для участия в реакции циклоприсоединения (в частности, в клик-реакции) с соответствующим линкерным промежуточным соединением. См., например, Мерле и др., ПЛОС Уан 2019: 14(1), e0209860. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактное или полностью восстановленное антитело или антитело, несущее сконструированную цистеиновую группу, которая модифицирована функциональной группой, способной участвовать, например, в клик-химических или других реакциях циклоприсоединения для присоединения других компонентов конъюгата ADC согласно данному описанию (например, в реакциях Дильса-Альдера или в других [3+2] или [4+2] циклоприсоединениях).

[0133] Антитела, которые специфически связываются с антигеном раковой клетки, являются доступными для приобретения или производятся любым способом, известным в данной области техники, в частности, способами химического синтеза или

рекомбинантной экспрессии. Нуклеотидные последовательности, кодирующие антитела, которые специфически связываются с антигеном раковой клетки, могут быть получены, *например*, из базы данных GenBank или аналогичной базы данных, из литературных публикаций или путем обычного клонирования и секвенирования.

[0134] В некоторых вариантах осуществления антитело может быть использовано для лечения онкологического заболевания (например, антитело, одобренное Управлением по контролю качества пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) и/или Европейским агентством по надзору в сфере лекарственных средств (EMA)). Антитела, которые специфически связываются с антигеном раковой клетки, являются доступными для приобретения или производятся любым способом, известным в данной области техники, в частности, способами рекомбинантной экспрессии. Нуклеотидные последовательности, кодирующие антитела, которые специфически связываются с антигеном раковой клетки, могут быть получены, *например*, из базы данных GenBank или аналогичной базы данных, из литературных публикаций или путем обычного клонирования и секвенирования.

[0135] В некоторых вариантах осуществления антитело может специфически связываться с рецептором или с рецепторным комплексом, Рецептор или рецепторный комплекс могут содержать член надсемейства генов иммуноглобулина, член надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли, интегрин, цитокиновый рецептор, хемокиновый рецептор, главный белок гистосовместимости, лектин или белок контроля комплемента.

[0136] В некоторых вариантах осуществления антитело может специфически связываться с антигеном раковой клетки. Следует понимать, что компонент антитела в конъюгате ADC представляет собой антитело в форме остатка, таким образом, “Ab” в структурах конъюгатов ADC согласно данному описанию, включает структуру антитела.

[0137] Неограничительные примеры антител, которые могут быть использованы для терапии онкологического заболевания, и антител, которые специфически связываются с антигенами, ассоциированными с опухолью, раскрыты в работе Франке, А. Э., Сиверс, Э. Л. и Шайнберг Д. А., “Лечение острого миелоидного лейкоза, направленное на рецепторы клеточной поверхности: обзор” *Кэнсер Биотерапи энд Радиофармасьютикэлс*, 2000,15, 459-76, Маррей, Дж. Л., “Лечение

солидных опухолей моноклональными антителами: становление” *Семинарс ин Онколоджи* 2000, 27, 64-70, Брейтлинг, Ф. и Дубель, С., *Рекомбинантные антитела*, Джон Уилли энд Санс, Нью-Йорк, 1998, все из которых в полном объеме включены в настоящее описание в качестве ссылки.

[0138] Варианты осуществления антител, которые связываются с одним или более антигенами раковых клеток, и антигены иммунных клеток представлены ниже.

[0139] Неограничительные примеры целевых антигенов и соответствующих антител, пригодных для лечения онкологического заболевания, и антител, которые специфически связываются с антигенами раковых клеток (называемыми также опухолевыми антигенами), включают B7-DC (например, каталожный № PA5-20344), BCMA, B7-H3 (например, энобилитузумаб, омбуртамаб, MGD009, MGC018, DS-7300), B7-H4 (например, каталожный № 14-5949-82), B7-H6 (например, каталожный № 12-6526-42), B7-H7, C5 комплемент (например, BCD-148, CAN106), CA-125, CA9 (например, гирентуксимаб), CCR8 (например, JTX-1811), CLEC12A (например, теподитамаб), CSPG4 (например, патент США № 10,822,427), CCNB1, DDR1, de2-7 EGFR (например, MAb 806), DPEP1, DR4 (например, мапатумумаб), эндосиалин (например, онтуксизумаб), ENPP1, EPCAM (например, адекватумумаб), ERHA2, ERBB2 (например, трастузумаб), ERBB3, ERVMER34_1, FAP (например, кибротузумаб), FasL, FGFR2 (например, апрутумаб), FGFR4 (например, MM-161), FLT3 (например, 4G8SDIEM), FBP, FucGM1 (например, BMS-986012), FZD8, G250, GAGE, GD2 (например, динутуксимаб), gp HMB (например, глембатумаб), GPR87, GUCY2C (например, индусатумаб), HAVCR2, IDO1, ITGB6, ITGB8, L1CAM (например, JCAR023), MRC1 (например, каталог Thermo Fisher №12-2061-82), ML-IAP (например, 88C570, каталог Thermo Fisher №40958), NT5E (например, 7G2, каталог Thermo Fisher №41-0200), OY-TE51, p53, p53 мутант, PAX5, PDPN (например, каталог Thermo Fisher №14-5381-82), VSIR (например, каталог Thermo Fisher №PA5-52493), Dectin2 (например, каталог Thermo Fisher №MA5-16250), PAX3 (например, GT1210, каталог Thermo Fisher №MA5-31583), сиалил-новый антиген Томсена (например, Ивэрон и др. *ПЛОС Уан*, 2018, 13(7): e0201314), PDGFR-B (например, ринукумаб), ADAM12 (например, каталожный № 14139-1-AP), ADAM9 (например, IMG936), AFP (например, каталог Thermo Fisher №PA5-25959), AGR2 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-34517), AKAP-4 (например, каталожный № PA5-52230), андрогенный рецептор (например,

каталог Thermo Fisher №MA5-13426), ALPP (например, каталожный № MA5-15652), CD44 (например, RG7356), AMHR2 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-13902), ANTXR1 (например, каталожный № MA1-91702), ARTN (например, каталог Thermo Fisher №PA5-47063), $\alpha V\beta 6$, CA19-9 (например, AbGn-7, MVT-5873), карциозембриональный антиген (например, арцитумомаб, цергутузумаб, амуналейкин, лабетузумаб), CD115 (например, аксатилимаб, кабирализумаб, эмактузумаб), CD137 (например, ADG106, CТХ-471), CD147 (например, гавилимомаб, метузумаб), CD155 (например, публикация заявки на патент США № 2018/0251548), CD274 (например, адебрилимаб, атезолизумаб, гаривулимаб), CDCP1 (например, RG7287), CDH3 (например, PCA062), CDH6 (например, НКТ288), CEACAM1, CEACAM6, CLDN18.1 (например, золбетуксимаб), CLDN18.2 (например, золбетуксимаб), CLPTM1L, CS-1 (например, тигатузумаб), GD3 (например, митумомаб), HLA-G (например, ТТХ-080), IL1RAP (например, ниданилимаб), LAG-3 (например, энцелимаб), LY6G6D (например, PA5-23303), LYPD1 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-26749), MAD-CT-2, MAGEA3 (например, каталог Thermo Fisher №60054-1-IG), MAGEA4 (например, каталожный № MA5-26117), MAGEC2 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-64010), MLANA (например, каталожный № MA5-15237), MELTF (например, каталог Thermo Fisher №H00004241-M04A), MSLN (например, 5B2, каталожный № MA5-11918), MUC1 (например, MH1 (CT2), каталог Thermo Fisher №MA5-11202), MUC5AC (например, 45M1, каталожный № MA5-12178), MYCN (например, NCM-II 100, каталог Thermo Fisher №MA1-170), NCAM1 (например, каталог Thermo Fisher №MA5-11563), нектин-4 (например, энфортумаб), NY-BR-1 (например, NY-BR-1 № 2, каталожный № MA5-12645), PSMA (например, BAY 2315497), PSA (например, каталог Thermo Fisher №PA1-38514, Дэниэлс-Уэллс и др. *Рак клеток костного мозга*, 2013, 13:195), PSCA (например, AGS-1C4D4), PTK7 (например, кофетуцумаб), PVRIG, Ras мутант (например, Шин и др. *Сайенс Эдвансиз* 2020, 6(3): eaay2174), RET (например, WO2020210551), RGS5 (например, TF-TA503075), RhoC (например, каталог Thermo Fisher PA5-77866), ROR2 (например, BA3021), ROS1 (например, WO2019107671), SART3 (например, TF 18025-1-AP), SLC12A2 (например, каталог Thermo Fisher №13884-1-AP), SLC38A1 (например, каталог Thermo Fisher №12039-1-AP), SLC39A6 (например, ладиратузумаб), SLC44A4 (например, ASG-5ME), SLC7A11 (например, каталог Thermo Fisher №PA1-16893), SLITRK6 (например, сиртатумаб), SSX2

(например, каталог Thermo Fisher №MA5-24971), сурвивин (например, PA1-16836), TACSTD2 (например, PA5-47074), TAG-72 (например, MA1-25956), TIGIT (например, этигилимаб), TM4SF5 (например, 18239-1-AP), TMPRSS11D (например, PA5-30927), TNFRSF12 (например, BAY-356), TRAIL (например, каталожный № 12-9927-42), Trem2 (например, PY314), TRP-2 (например, PA5-52736), uPAR (например, ATN-658), UPK1B (например, каталог Thermo Fisher №PA5-56863), UPK2 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-60318), UPK3B (например, каталог Thermo Fisher №PA5-52696), VEGF (например, GNR-011), VEGFR2 (например, гентуксимаб), CD44 (например, RG7356), WT1 (например, каталог Thermo Fisher №MA5-32215), XAGE1 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-46413), CTLA4 (например, ипилимумаб), белок сперматозоидов 17 (например, BS-5754R), TLR2/4/1 (например, томаралимаб), B7-1 (например, галиксимаб), ANXA1 (например, каталожный № 71-3400), BCR-ABL, CAMPATH-1 (например, алемтузумаб, ALLO-647, ANT1034), CD123 (например, BAY-943, CSL360), CD19 (например, ALLO-501), CD20 (например, дивозилимаб, ибритумомаб), CD30 (например, иратумумаб), CD33 (например, линтузумаб, BI 836858, AMG 673), CD352 (например, SGN-CD352A), CD37 (например, лилотомаб, GEN3009), CD40 (например, дацетузумаб, лукатумумаб), CD45 (например, апамистамаб), CD48 (например, SGN-CD48A), CXCR4 (например, улокуплумаб), ETV6-AML (например, каталожный № PA5-81865), ROR1 (например, цирмтузумаб), CD74 (например, милатузумаб), SIT1 (например, PA5-53825), SLAMF7 (например, элотузумаб), Axl (например, BA3011, тилвестамаб), сиалосвязывающие лектины суперсемейства иммуноглобулинов 1-16 (см., например, Энгейта и др. *Трендс ин Фармакологикал Сайенсиз* 2015, 36(10): 645–660), SIRPa (например, каталожный № 17-1729-42), SIRPg (например, PA5-104381), OX40 (например, ABM193), PROM1 (например, каталожный № 14-1331-82), TMEM132A (например, каталожный № PA5-62524), TMEM40 (например, PA5-60636), PD-1 (например, балстилимаб, будигалимаб, гептанолимаб), ALK (например, DLX521), CCR4 (например, AT008, могамулизумаб-кркс), CD27 (например, варлилумаб), CD278 (например, феладилимаб, вопрателимаб), CD32 (например, mAb 2B6), CD47 (например, летаплимаб, магролимаб) и CD70 (например, кузатузумаб).

[0140] В некоторых вариантах осуществления антитело может специфически связываться с антигеном раковой клетки, ассоциированным с солидной опухолью и/или с гематологической злокачественной опухолью. Неограничительные примеры

целевых антигенов и соответствующих антител, которые специфически связываются с антигенами раковых клеток, ассоциированными с солидной опухолью и/или с целевым антигеном гематологической злокачественной опухоли, включают AxI (например, BA3011, тилвестамаб), B7-H3 (например, энобилитузумаб, омбуртамаб, MGD009, MGC018, DS-7300), B7-H4 (например, каталожный № 14-5949-82), B7-H6 (например, каталожный № 12-6526-42), B7-H7, сиалосвязывающие лектины суперсемейства иммуноглобулинов 1-16 (см., например, Энгеита и др. *Трендс ин Фармаколоджикал Сайенсиз* 2015, 36(10): 645–660), SIRP α (например, каталожный № 17-1729-42), SIRP γ (например, PA5-104381), OX40 (например, ABM193), PROM1 (например, каталожный № 14-1331-82), TMEM132A (например, каталожный № PA5-62524), TMEM40 (например, PA5-60636), PD-1 (например, балстилимаб, будигалимаб, гептанолимаб), ALK (например, DLX521), CCR4 (например, AT008, могамулизумаб-кркс), CD27 (например, варлилумаб), CD278 (например, феладилимаб, вопрателимаб), CD32 (например, mAb 2B6), CD47 (например, летаплимаб, магролимаб) и CD70 (например, кузатузумаб).

[0141] В некоторых вариантах осуществления антитело может специфически связываться с антигеном раковой клетки, ассоциированным с солидной опухолью. Неограничительные примеры целевых антигенов и соответствующих антител, которые специфически связываются с целевыми антигенами, ассоциированными с солидной опухолью, включают PAX3 (например, GT1210, каталог Thermo Fisher №MA5-31583), сиалил-новый антиген Томсена (например, Ивэрон и др. *ПЛОС Уан.* 2018, 13(7): e0201314), PDGFR-B (например, ринукумаб), ADAM12 (например, каталожный № 14139-1-AP), ADAM9 (например, IMG936), AFP (например, каталог Thermo Fisher №PA5-25959), AGR2 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-34517), AKAP-4 (например, каталожный № PA5-52230), андрогенный рецептор (например, каталог Thermo Fisher №MA5-13426), ALPP (например, каталожный № MA5-15652), CD44 (например, RG7356), AMHR2 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-13902), ANTXR1 (например, каталожный № MA1-91702), ARTN (например, каталог Thermo Fisher №PA5-47063), $\alpha V\beta 6$, CA19-9 (например, AbGn-7, MVT-5873), карциозембриональный антиген (например, арцитумомаб, цергутузумаб, амуналейкин, лабетузумаб), CD115 (например, аксатилимаб, кабирализумаб, эмактузумаб), CD137 (например, ADG106, CТХ-471), CD147 (например, гавилимомаб, метузумаб), CD155

(например, публикация заявки на патент США № 2018/0251548), CD274 (например, адебрилимаб, атезолизумаб, гаривулимаб), CDCP1 (например, RG7287), CDH3 (например, PCA062), CDH6 (например, НКТ288), CEACAM1, CEACAM6), CLDN18.1 (например, золбетуксимаб), CLDN18.2 (например, золбетуксимаб), CLPTM1L, CS-1 (например, тигатузумаб), GD3 (например, митумомаб), HLA-G (например, ТТХ-080), IL1RAP (например, ниданилимаб), LAG-3 (например, энцелимаб), LY6G6D (например, PA5-23303), LYPD1 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-26749), MAD-CT-2, MAGEA3 (например, каталог Thermo Fisher №60054-1-IG), MAGEA4 (например, каталожный № MA5-26117), MAGEC2 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-64010), MLANA (например, каталожный № MA5-15237), MELTF (например, каталог Thermo Fisher №H00004241-M04A), MSLN (например, 5B2, каталожный № MA5-11918), MUC1 (например, МН1 (СТ2), каталог Thermo Fisher №MA5-11202), MUC5AC (например, 45M1, каталожный № MA5-12178), MYCN (например, NCM-II 100, каталог Thermo Fisher №MA1-170), NCAM1 (например, каталог Thermo Fisher №MA5-11563), нектин-4 (например, энфортумаб), NY-BR-1 (например, NY-BR-1 № 2, каталожный № MA5-12645), PSMA (например, BAY 2315497), PSA (например, каталог Thermo Fisher №PA1-38514, Дэниэлс-Уэллс и др. *Рак клеток костного мозга*, 2013, 13:195), PSCA (например, AGS-1C4D4), PTK7 (например, кофетуцумаб), PVRIG, Ras мутант (например, Шин и др. *Сайенс Эдвансиз* 2020, 6(3):eaay2174), RET (например, WO2020210551), RGS5 (например, TF-TA503075), RhoC (например, каталог Thermo Fisher PA5-77866), ROR2 (например, BA3021), ROS1 (например, WO2019107671), SART3 (например, TF 18025-1-AP), SLC12A2 (например, каталог Thermo Fisher №13884-1-AP), SLC38A1 (например, каталог Thermo Fisher №12039-1-AP), SLC39A6 (например, ладиратузумаб), SLC44A4 (например, ASG-5ME), SLC7A11 (например, каталог Thermo Fisher №PA1-16893), SLITRK6 (например, сиртатумаб), SSX2 (например, каталог Thermo Fisher №MA5-24971), сурвивин (например, PA1-16836), TACSTD2 (например, PA5-47074), TAG-72 (например, MA1-25956), TIGIT (например, этигилимаб), TM4SF5 (например, 18239-1-AP), TMPRSS11D (например, PA5-30927), TNFRSF12 (например, BAY-356), TRAIL (например, каталожный № 12-9927-42), Trem2 (например, PY314), TRP-2 (например, PA5-52736), uPAR (например, ATN-658), UPK1B (например, каталог Thermo Fisher №PA5-56863), UPK2 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-60318), UPK3B (например, каталог Thermo Fisher №PA5-52696), VEGF

(например, GNR-011), VEGFR2 (например, гентуксимаб), CD44 (например, RG7356), WT1 (например, каталог Thermo Fisher №MA5-32215), XAGE1 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-46413) и CTLA4 (например, ипилимумаб).

[0142] В некоторых вариантах осуществления антитело может специфически связываться с антигеном раковой клетки, ассоциированным с гематологической злокачественной опухолью. Неограничительные примеры целевых антигенов и соответствующих антител, которые специфически связываются с целевыми антигенами гематологических раковых клеток, включают белок сперматозоидов 17 (например, BS-5754R), TLR2/4/1 (например, томаралилаб), B7-1 (например, галиксимаб), ANXA1 (например, каталожный № 71-3400), BCR-ABL, CAMPATH-1 (например, алемтузумаб, ALLO-647, ANT1034), CD123 (например, BAY-943, CSL360), CD19 (например, ALLO-501), CD20 (например, дивозилимаб, ибритумомаб), CD30 (например, иратумумаб), CD33 (например, линтузумаб, BI 836858, AMG 673), CD352 (например, SGN-CD352A), CD37 (например, лилотомаб, GEN3009), CD40 (например, дацетузумаб, лукатумумаб), CD45 (например, апамистамаб), CD48 (например, SGN-CD48A), CXCR4 (например, улокуплумаб), ETV6-AML (например, каталожный № PA5-81865), ROR1 (например, цирмтузумаб), CD74 (например, милатузумаб), SIT1 (например, PA5-53825) и SLAMF7 (например, элотузумаб).

[0143] В некоторых вариантах осуществления может быть использовано антитело, которое специфически связывается с целевым антигеном (например, с антигеном, ассоциированным с заболеванием или нарушением). Антитела, которые специфически связываются с целевым антигеном (например, с антигеном, ассоциированным с заболеванием или нарушением) являются доступными для приобретения или могут быть получены любыми способами, известными в данной области техники, в частности, способами рекомбинантной экспрессии. Нуклеотидные последовательности, кодирующие антитела, которые специфически связываются с целевым антигеном (например, с антигеном, ассоциированным с заболеванием или нарушением), могут быть получены из базы данных GenBank или из аналогичной базы данных, из литературных публикаций или путем обычного клонирования и секвенирования.

[0144] Неограничительные примеры целевых антигенов и соответствующих антител, которые специфически связываются с целевыми антигенами (например, с

антигеном, ассоциированным с заболеванием или нарушением или с антигеном, ассоциированным с иммунной клеткой) включают CD163 (например, TBI 304H), TIGIT (например, этигилимаб), DCSIGN (см., например, международную публикацию № WO2018134389), IFNAR1 (например, фаралимомаб), ASCT2 (например, идактамаб, ULBP1/2/3/4/5/6 (например, PA5-82302), CLDN1 (например, INSERM анти-клаудин-1), CLDN2 (см., например, международную публикацию № WO2018123949), IL-21R (например, PF-05230900), DCIR, DCLK1 (см., например, международную публикацию № WO2018222675), дектин 1 (см., например, патент США № 9,045,542), GITR (например, рагифилимаб), ITGAV (например, абитузумаб), LY9 (например, PA5-95601), MICA (например, 1E2C8, каталожный № 66384-1-IG), MICB (например, каталожный № MA5-29422), NOX1 (например, каталожный № PA5-103220), CD2 (например, BTI-322, сиплизумаб), CD247 (например, AFM15), CD25 (например, базиликсимаб), CD28 (например, REGN5668), CD3 (например, отеликсизумаб, висилизумаб), CD38 (например, фелзартамаб, AMG 424), CD3E (например, форалумаб, теплизумаб), CD5 (например, MAT 304, золимомаб аритокс), ALPPL2 (например, каталожный № PA5-22336), B7-2 (например, каталожный № 12-0862-82), B7-H3 (например, энобилитузумаб, омбуртамаб, MGD009, MGC018, DS-7300), B7-H4 (например, каталожный № 14-5949-82), B7-H6 (например, каталожный № 12-6526-42), B7-H7, BAFF-R (например, каталожный № 14-9117-82), BMPR2, BORIS, CD112 (см., например, публикацию заявки на патент США № 20100008928), CD24 (см., например, патент США № 8,614,301), CD244 (например, R&D AF1039), CD30L (см., например, патент США № 9926373), CD3D, CD3G, CD79A (см., например, международную публикацию № WO 2020252110), CD83 (например, CBT004), CD97, CDH17 (см., например, международную публикацию № WO 2018115231), CLDN16, CLDN19, CYP1B1, DPER3, DPP4, DSG2 (см., например, патент США № 10,836,823), EPH рецепторы, эпидермальный фактор роста, FAS, FGFR1 (например, RG7992), FGFR3 (например, вофатамаб), FN1, FOLR1 (например, фарлетузумаб), FSHR, FZD5, GM2 (например, BIW-8962), GM3 (например, ракотумомаб), GPA33 (например, KRN330), GPC3 (например, кодритузумаб), HAS3, HLA-E, HLA-F, HLA-DR, ICAM1, IFNAR2, IL13Ra2, IL-5R (например, бенрализумаб), KISS1R, LAMP1, LAYN, LCK, легумин, LILRB2, LILRB4, LMP2, MAD-CT-1, MAGEA1 (например, каталожный № MA5-11338), MerTk (например, DS5MMER, каталожный № 12-5751-82), MFSD13A, hTERT, gp100,

Fas-родственный антиген 1, металлопротеаза, Mincle (например, OTI2A8, каталожный № TA505101), NA17, NY-ESO-1 (например, E978m, каталожный № 35-6200), полисиаловую кислоту (см., например, Ватцлавик и др. *Джорнел оф Нейчурал Сайенс* 2015, 1(8):e141), PR1, точки разрыва транслокации саркомы, SLC10A2 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-18990), SLC17A2 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-106752), SLC39A5 (например, каталог Thermo Fisher №MA5-27260), SLC6A15 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-52586), SLC6A6 (например, каталог Thermo Fisher №PA5-53431), SLC7A5 и CALCR (см., например, международную публикацию № WO 2015077826).

[0145] В некоторых вариантах осуществления антитело может специфически связываться с антигеном, ассоциированным с анемией. Неограничительный пример антитела, которое специфически связывается с антигеном, ассоциированным с анемией, включает CD163 (например, TBI 304H).

[0146] В некоторых вариантах осуществления антитело может специфически связываться с антигеном, ассоциированным с вирусной инфекцией. Неограничительные примеры целевых антигенов и соответствующих антител, которые специфически связываются с антигеном, ассоциированным с вирусной инфекцией, включают DCSIGN (см., например, международную публикацию № WO2018134389) IFNAR1 (например, фаралимомаб), ASCT2 (например, идактамаб), ULBP1/2/3/4/5/6 (например, PA5-82302) и CLDN1 (например, INSERM анти-клаудин-1).

[0147] В некоторых вариантах осуществления антитело может специфически связываться с антигеном, ассоциированным с аутоиммунным заболеванием. Неограничительные примеры целевых антигенов и соответствующих антител, которые специфически связываются с антигеном, ассоциированным с аутоиммунным заболеванием, включают CLDN2 (см., например, международную публикацию № WO 2018123949), IL-21R (например, PF-05230900), DCIR, DCLK1 (см., например, WO2018222675), дектин 1 (см., например, патент США № 9,045,542), GITR (например, рагифилимаб), ITGAV (например, абитузумаб), LY9 (например, PA5-95601), MICA (например, 1E2C8, каталожный № 66384-1-IG), MICB (например, каталожный № MA5-29422), NOX1 (например, каталожный № PA5-103220), CD2 (например, BTI-322, сиплизумаб), CD247 (например, AFM15), CD25 (например, базиликсимаб), CD28 (например, REGN5668), CD3 (например, отеликсизумаб, висилизумаб), CD38

(например, фелзартамаб, AMG 424), CD3E (например, форалумаб, теплизумаб) и CD5 (например, МАТ 304, золимомаб аритокс).

[0148] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой нецелевое антитело, например, несвязывающееся или контрольное антитело.

[0149] В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой CD30. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело или антиген-связывающий фрагмент, который связывается с CD30, в частности, описанный в Международной патентной публикации № WO 02/43661. В некоторых вариантах осуществления анти-CD30 антитело представляет собой сAC10, которое описано в Международной патентной публикации № WO 02/43661. сAC10 известно также как брентуксимаб. В некоторых вариантах осуществления анти-CD30 антитело содержит CDRs от сAC10. В некоторых вариантах осуществления CDRs соответствуют нумерации согласно нумерации по Кэботу. В некоторых вариантах осуществления CDRs соответствуют нумерации согласно нумерации по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления CDRs соответствуют нумерации согласно IMGT. В некоторых вариантах осуществления CDRs соответствуют нумерации согласно нумерации AbM. В некоторых вариантах осуществления анти-CD30 антитело содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, включающие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6, соответственно. В некоторых вариантах осуществления анти-CD30 антитело содержит переменный участок тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7, и переменный участок легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления анти-CD30 антитело содержит тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11.

[0150] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению связывается с EphA2. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, включающие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 12, 13, 14, 15, 16 и 17, соответственно. В некоторых вариантах осуществления анти-EphA2 антитело содержит переменный участок тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18, и переменный участок легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19. В некоторых вариантах осуществления анти-EphA2 антитело содержит тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления анти-EphA2 антитело содержит тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23 или SEQ ID NO: 24, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления анти-EphA2 антитело содержит тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 или SEQ ID NO: 27, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой h1C1 или 1C1.

Таблица последовательностей

SEQ ID NO*	Описание	Последовательность
1	cAC10 CDR-H1	DYYIT
2	cAC10 CDR-H2	WIYPGSGNTKYNEKFKG
3	cAC10 CDR-H3	YGNWYWFAY
4	cAC10 CDR-L1	KASQSVDFDGDSYMN
5	cAC10 CDR-L2	AASNLES
6	cAC10 CDR-L3	QQSNEDPWT

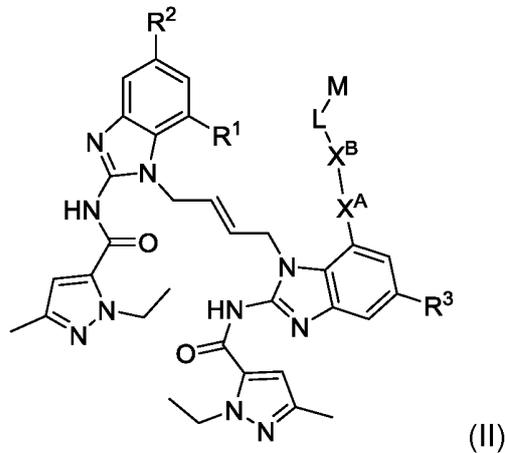
7	cAC10 VH	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVKQKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYN EKFKGKATLTVDTSSSTAFMQLSSLTSEDNAVYFCANYGNYWFAYWGQGTQVTVSA
8	cAC10 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDFDGDSDYMNWYQQKPGQPPKVLIIAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQQSNEDPWTFGGGTKLEIK
9	cAC10 HC	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVKQKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYN EKFKGKATLTVDTSSSTAFMQLSSLTSEDNAVYFCANYGNYWFAYWGQGTQVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
10	cAC10 HC v2	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVKQKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYN EKFKGKATLTVDTSSSTAFMQLSSLTSEDNAVYFCANYGNYWFAYWGQGTQVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPG
11	cAC10 LC	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDFDGDSDYMNWYQQKPGQPPKVLIIAASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQQSNEDPWTFGGGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDHLQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
12	h1C1 CDR-H1	HYMMA
13	h1C1 CDR-H2	RIGPSGGPTHYADSVKG
14	h1C1 CDR-H3	YDSGYDYVAVAGPAEYFQH
15	h1C1 CDR-L1	RASQSISTWLA
16	h1C1 CDR-L2	KASNLHT
17	h1C1 CDR-L3	QQYNSYSRT
18	h1C1 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMMAWVRQAPGKLEWWSRIGPSGGPTH YADSVKGRFTISRDNKNTLIHQMNSLRAEDTAVYYCAGYDSGYDYVAVAGPAEYFQHWG QGTLVTVSS
19	h1C1 VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRF SGSGSGTEFSLTISGLQPDFATYYCQQYNSYSRTFGQGTKEIK
20	h1C1 HC	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMMAWVRQAPGKLEWWSRIGPSGGPTH YADSVKGRFTISRDNKNTLIHQMNSLRAEDTAVYYCAGYDSGYDYVAVAGPAEYFQHWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
21	h1C1 HC v2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMMAWVRQAPGKLEWWSRIGPSGGPTH YADSVKGRFTISRDNKNTLIHQMNSLRAEDTAVYYCAGYDSGYDYVAVAGPAEYFQHWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPG
22	h1C1 LC	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRF SGSGSGTEFSLTISGLQPDFATYYCQQYNSYSRTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDHLQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
23	h1C1 mlgG2a HC	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMMAWVRQAPGKLEWWSRIGPSGGPTH YADSVKGRFTISRDNKNTLIHQMNSLRAEDTAVYYCAGYDSGYDYVAVAGPAEYFQHWG QGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKDYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKEIPEPRGPTIKPCPPCKCPAP NLLGGPSVIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEE

		MTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
24	h1C1 mlgG2a HC v2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMMAWVRQAPGKGLEWWSRIGPSGGPTH YADSVKGRFTISRDNKNTLIЛQMNLSLRAEDTAVYYCAGYDSGYDYVAVAGPAEYFQHWG QGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP NLLGGPSVFIFFPKIKDVLMIISLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEE MTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG
25	h1C1 mlgG2a LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRF SGSGSGTEFSLTISGLQPDFFATYYCQQYNYSRFTFGQGTKVEIKRADAAPTVISFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNFFPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDQSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTTSTPIVKSFNNEC
26	h1C1 LALAPG mlgG2a HC	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMMAWVRQAPGKGLEWWSRIGPSGGPTH YADSVKGRFTISRDNKNTLIЛQMNLSLRAEDTAVYYCAGYDSGYDYVAVAGPAEYFQHWG QGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP NAAGGPSVFIFFPKIKDVLMIISLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEE MTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
27	h1C1 LALAPG mlgG2a HC v2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMMAWVRQAPGKGLEWWSRIGPSGGPTH YADSVKGRFTISRDNKNTLIЛQMNLSLRAEDTAVYYCAGYDSGYDYVAVAGPAEYFQHWG QGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP NAAGGPSVFIFFPKIKDVLMIISLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEE MTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG
28	h1C1 LALAPG mlgG2a LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRF SGSGSGTEFSLTISGLQPDFFATYYCQQYNYSRFTFGQGTKVEIKRADAAPTVISFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNFFPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDQSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTTSTPIVKSFNNEC

*SEQ ID NO – Идентификационный номер последовательности

Соединения формулы (II)

[0151] Некоторые варианты осуществления предлагают соединения формулы (II):



или их фармацевтически приемлемую соль, где:

M - сукцинимид или гидролизованный сукцинимид,

R¹ - водород, гидроксил, C₁₋₆ алкокси, -(C₁₋₆ алкил)C₁₋₆ алкокси, -(CH₂)_n-NR^AR^B или PEG2 - PEG4,

каждый из R² и R³ независимо представляет собой -CO₂H, -(C=O)_m-NR^CR^D или -(CH₂)_q-NR^ER^F,

каждый из R^A, R^B, R^C, R^D, R^E и R^F независимо представляет собой водород или C₁₋₃ алкил,

каждый нижний индекс n независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

каждый нижний индекс m независимо представляет собой 0 или 1,

каждый нижний индекс q независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

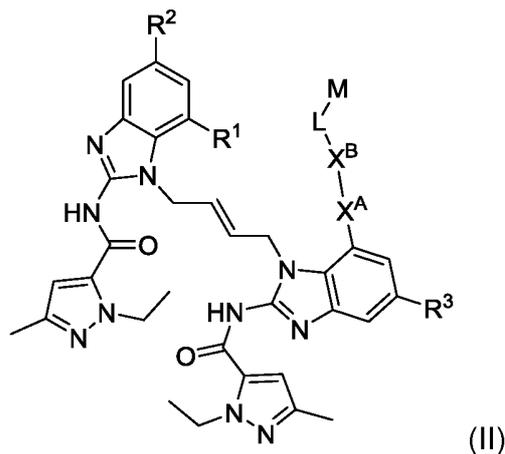
X^A - -CH₂-, -O-, -S-, -NH- или -H(CH₃)-,

X^B отсутствует или представляет собой 2-16-членный гетероалкилен,

каждый из X^B, M и L может быть независимо и необязательно замещен единицей PEG от PEG1 до PEG 72, и

L - необязательный линкер согласно данному описанию.

[0152] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (II) имеет структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

R^1 - водород, гидроксил, C_{1-6} алкокси, $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$ алкокси, $-(CH_2)_n-NR^A R^B$ или PEG2 - PEG4,

каждый из R^2 и R^3 независимо собой $-CO_2H$, $-(C=O)_m-NR^C R^D$ или $-(CH_2)_q-NR^E R^F$,

каждый из R^A , R^B , R^C , R^D , R^E и R^F независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

каждый нижний индекс n независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

каждый нижний индекс m независимо представляет собой 0 или 1,

каждый нижний индекс q независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

X^A представляет собой $-CH_2-$, $-O-$, $-S-$, $-NH-$ или $-H(CH_3)-$,

X^B отсутствует или представляет собой 2-16-членный гетероалкилен,

L - линкер, имеющий формулу $-(A)_a-(W)_w-(Y)_y-$, где:

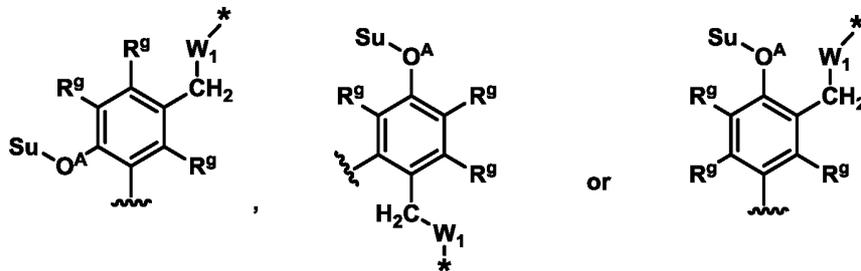
A - C_{2-20} алкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{a1} , или 2-40-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1} ,

каждый R^{a1} независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $=O$, $-NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)(C_{1-6} \text{ алкил})$ и $-C(O)O(C_{1-6} \text{ алкил})$,

каждый R^{b1} независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $-NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)(C_{1-6} \text{ алкил})$ и $-C(O)O(C_{1-6} \text{ алкил})$,

каждый из R^{d1} и R^{e1} независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

W состоит из 1-12 аминокислот или имеет структуру:



где Su - сахарный компонент,

$-O^A$ - гликозидная связь,

каждый R^9 независимо представляет собой водород, галоген, $-CN$ или $-NO_2$,

W_1 отсутствует или представляет собой $-O-C(=O)-$,

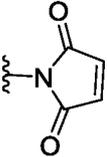
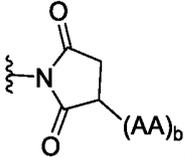
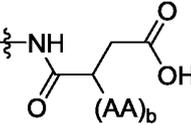
 представляет собой ковалентное присоединение к А или к М, а * представляет собой ковалентное присоединение к Y, X^A или X^B .

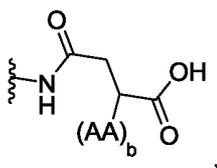
Y - саморасцепляющаяся функциональная группа, несаморасцепляющаяся высвобождаемая функциональная группа или нерасцепляемая функциональная группа,

нижний индекс а представляет собой 0 или 1,

нижний индекс у представляет собой 0 или 1,

нижний индекс w представляет собой 0 или 1,

М представляет собой , ,  или

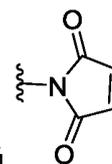


каждый AA представляет собой независимо выбранную аминокислоту, при этом $(AA)_b$ соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома серы,

каждый нижний индекс b независимо представляет собой целое число от 1 до 6, и

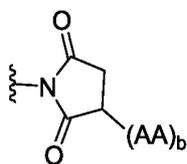
каждый X^B и L независимо и необязательно замещен единицей PEG от PEG2 до PEG 72.

[0153] В контексте настоящего описания А при его наличии ковалентно присоединен к М или к M^1 , а Y при его наличии присоединен к X^B или к X^A (если X^B отсутствует).

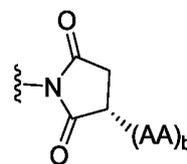


[0154] В некоторых вариантах осуществления М представляет собой

[0155] В некоторых вариантах осуществления М представляет собой

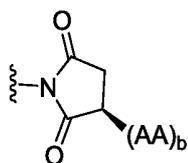


. В некоторых аспектах М представляет собой

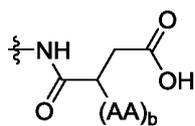


. В некоторых

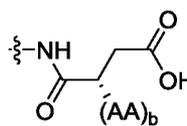
аспектах М представляет собой



[0156] В некоторых вариантах осуществления М представляет собой

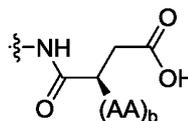


. В некоторых аспектах М представляет собой

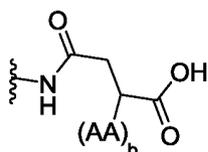


. В некоторых

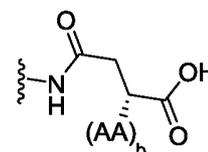
аспектах М представляет собой



[0157] В некоторых вариантах осуществления М представляет собой

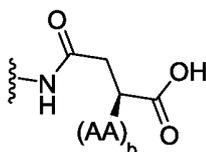


. В некоторых аспектах М представляет собой



. В

некоторых аспектах М представляет собой



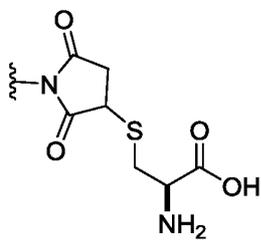
[0158] В некоторых вариантах осуществления каждый АА независимо представляет собой природную аминокислоту, при этом (АА)_б соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома серы. В некоторых вариантах осуществления каждый АА независимо представляет собой

природную аминокислоту, при этом (AA)_b соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома серы цистеинового остатка.

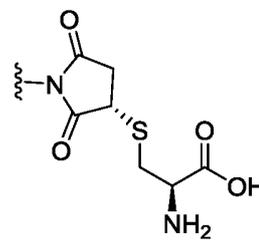
[0159] В некоторых вариантах осуществления каждый AA независимо представляет собой природную аминокислоту, при этом (AA)_b соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома азота. В некоторых вариантах осуществления каждый AA независимо представляет собой природную аминокислоту, при этом (AA)_b соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством ε-атома азота лизинового остатка.

[0160] В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 1, 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 2. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 3. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 3, 4, 5 или 6. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 4. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 5. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 6.

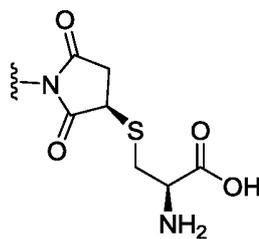
[0161] В некоторых вариантах осуществления M представляет собой



. В некоторых аспектах M представляет собой

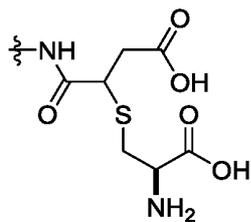


. В

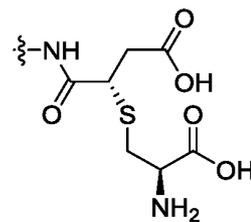


некоторых аспектах M представляет собой

[0162] В некоторых вариантах осуществления М представляет собой

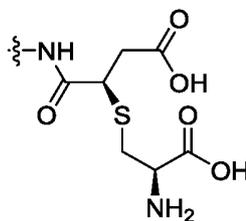


. В некоторых аспектах М представляет собой

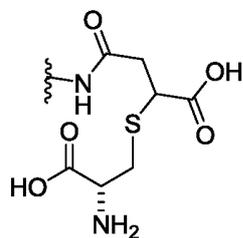


. В

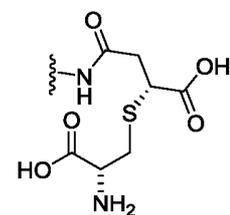
некоторых аспектах М представляет собой



[0163] В некоторых вариантах осуществления М представляет собой

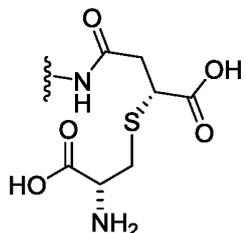


. В некоторых аспектах М представляет собой

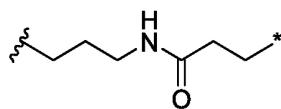


. В

некоторых аспектах М представляет собой

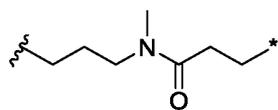


[0164] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метокси-группу, а R^2 и R^3 оба представляют собой $-C(=O)NH_2$. В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой $-O-$, а X^B представляет собой



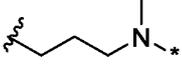
, при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A , а *

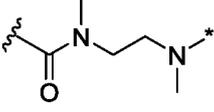
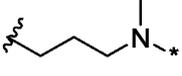
представляет ковалентную связь с L при его наличии или с M. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метокси-группу, R^2 и R^3 оба представляют собой $-C(=O)NH_2$, X^A представляет собой $-O-$, и X^B представляет собой



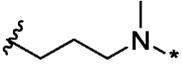
, при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A , а *

представляет собой ковалентную связь с L при его наличии или с M. В некоторых таких вариантах осуществления L отсутствует. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой метокси-группу, R² и R³ оба представляют собой –C(=O)NH₂, X^A

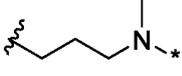
представляет собой –O–, а X^B представляет собой  при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A, * представляет собой ковалентную связь с L, нижний индекс a и нижний индекс y представляют собой 0 (т. е., X^B ковалентно присоединен к W). В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой –O–

, X^B представляет собой  при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A, а * представляет собой ковалентную связь с L. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой метокси-группу, R² и R³ оба представляют собой –C(=O)NH₂, X^A представляет собой –O–, а X^B представляет собой  при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A, * представляет собой ковалентную связь с L, а нижний индекс a и нижний индекс w представляют собой 0.

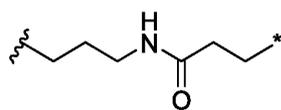
[0165] В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой метокси-группу, R² и R³ оба представляют собой –C(=O)NH₂, X^A представляет собой –

O–, а X^B представляет собой  при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A, * представляет собой ковалентную связь с L, а нижний индекс u и нижний индекс w представляют собой 0.

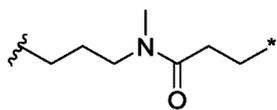
[0166] В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой метокси-группу, R² и R³ оба представляют собой –C(=O)NH₂, X^A представляет собой –

O–, а X^B представляет собой  , при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A, * представляет собой ковалентную связь с L, а нижний индекс u представляет собой 0.

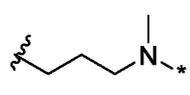
[0167] В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой метокси-группу, а R² и R³ оба представляют собой –C(=O)NH₂. В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой –CH₂–, а X^B представляет собой

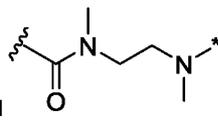


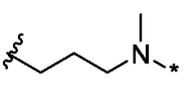
, при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A , а * представляет собой ковалентную связь с L при его наличии или с M. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метокси-группу, R^2 и R^3 оба представляют собой $-C(=O)NH_2$, X^A представляет собой $-CH_2-$, а X^B представляет



собой  , при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A , а * представляет собой ковалентную связь с L при его наличии или с M. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метокси-группу, R^2 и R^3 оба представляют собой $-C(=O)NH_2$, X^A представляет собой $-CH_2-$, а X^B представляет

собой  при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A , * представляет собой ковалентную связь с L, а оба нижних индекса a и y представляют собой 0 (т. е., X^B ковалентно присоединен к W). В некоторых вариантах осуществления

X^A представляет собой $-CH_2-$, а X^B представляет собой  при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A , а * представляет собой ковалентную связь с L. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метокси-группу, R^2 и R^3 оба представляют собой $-C(=O)NH_2$, X^A представляет собой $-$

CH_2- , а X^B представляет собой  , при этом  представляет собой ковалентную связь с X^A , * представляет собой ковалентную связь с L, а оба нижних индекса a и w представляют собой 0 (т. е., X^B ковалентно соединен с Y).

[0168] В некоторых таких вариантах осуществления L представляет собой линкер, имеющий формулу $-(A)_a-(W)_w-(Y)_y-$.

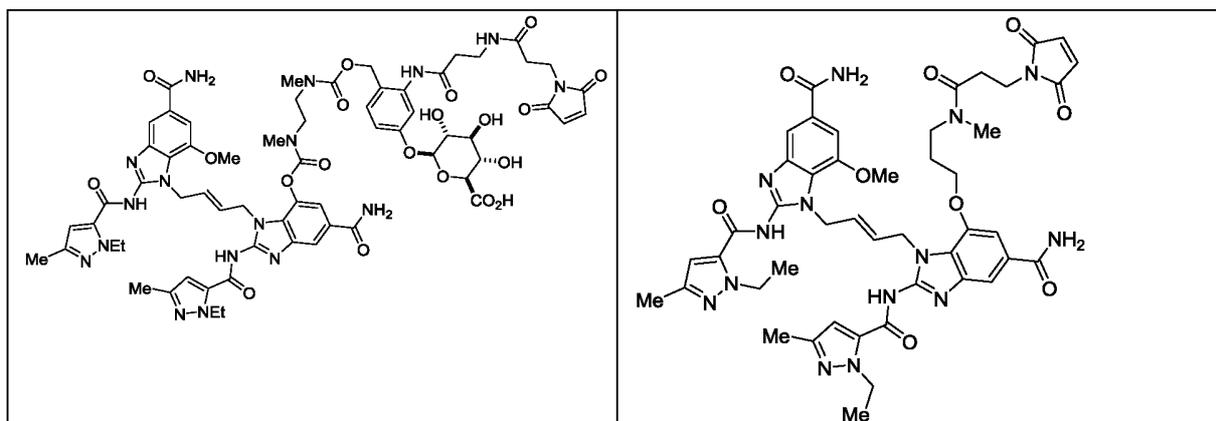
[0169] В некоторых вариантах осуществления: X^B отсутствует, а L ковалентно присоединен к X^A . В некоторых вариантах осуществления: X^B отсутствует, а Y ковалентно присоединен к X^A . В некоторых вариантах осуществления: X^B отсутствует, Y отсутствует, а W ковалентно присоединен к X^A . В некоторых вариантах осуществления: X^B отсутствует, Y отсутствует, W отсутствует, а A ковалентно присоединен к X^A .

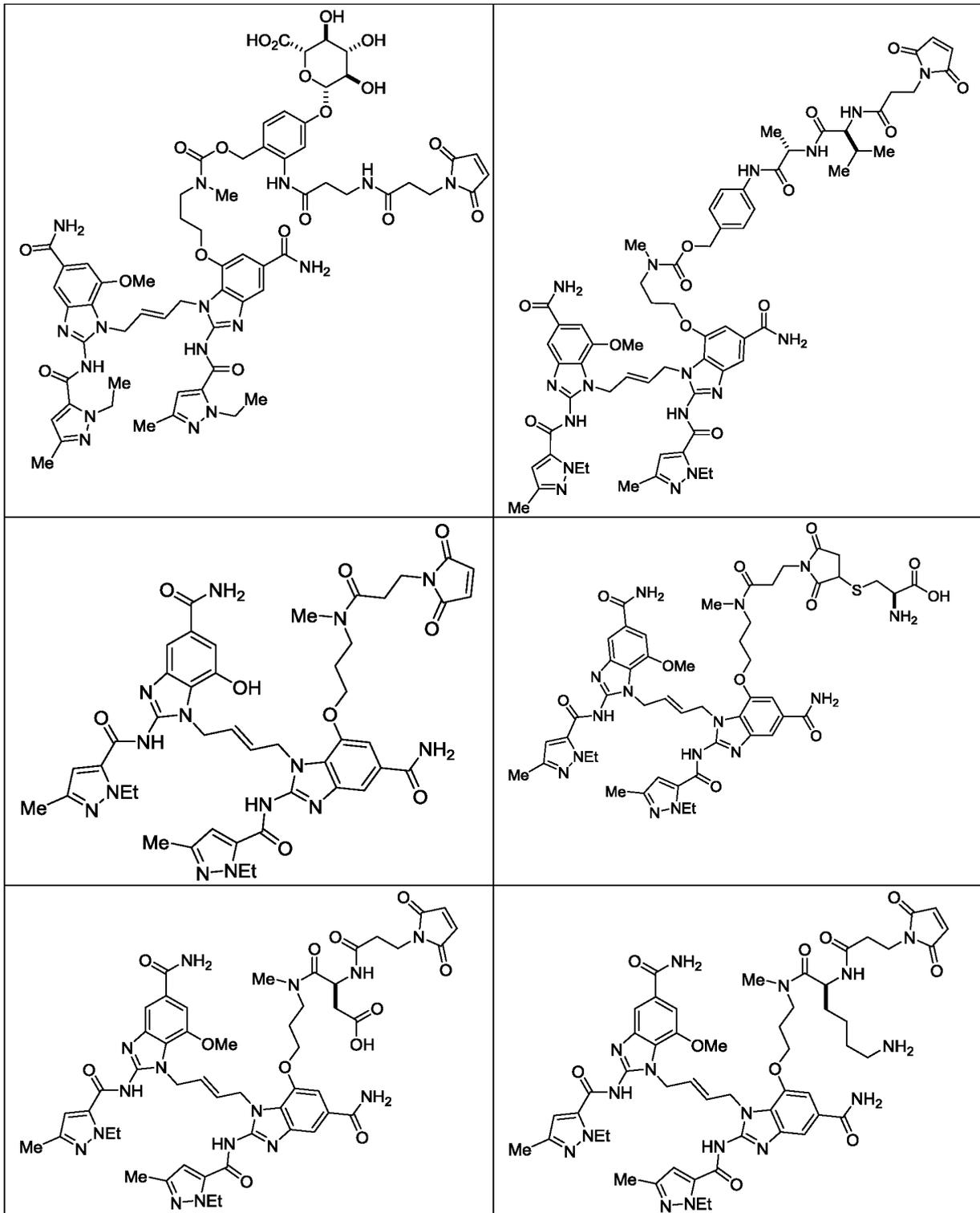
[0170] В некоторых вариантах осуществления: X^B представляет собой 2-16-членный гетероалкилен, а L ковалентно присоединен к X^B . В некоторых вариантах осуществления: X^B представляет собой 2-16-членный гетероалкилен, а Y ковалентно присоединен к X^B . В некоторых вариантах осуществления: X^B представляет собой 2-16-членный гетероалкилен, Y отсутствует, а W ковалентно присоединен к X^B . В некоторых вариантах осуществления: X^B представляет собой 2-16-членный гетероалкилен, Y отсутствует, W отсутствует, а A ковалентно присоединен к X^B .

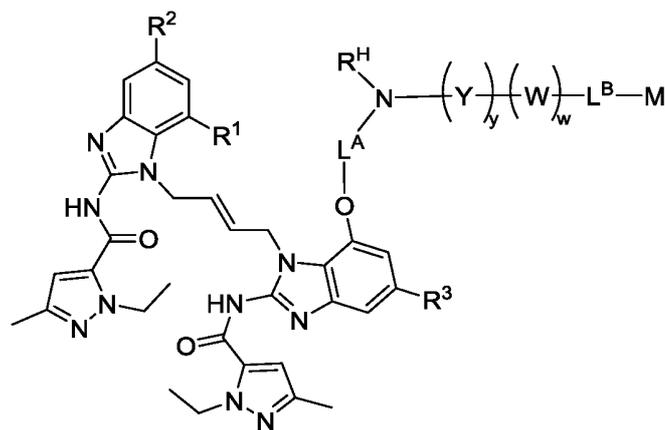
[0171] В некоторых вариантах осуществления W_1 представляет собой -OC(=O)-, а нижний индекс у представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой -O-, а X^B и W отсутствуют. В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой NH или -O-, X^B отсутствует, а W_1 представляет собой -OC(=O). В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой -H(CH₃)-, X^B отсутствует, а W_1 представляет собой -OC(=O). В некоторых вариантах осуществления X^A представляет собой -S-, X^B отсутствует, а W_1 представляет собой -OC(=O). В некоторых вариантах осуществления W_1 представляет собой -OC(=O)-, а X^B ковалентно присоединен к W посредством -O- или -NH-.

[0172] В некоторых вариантах осуществления A ковалентно присоединен к M. В некоторых вариантах осуществления, если нижний индекс a представляет собой 0, а нижний индекс w представляет собой 0, то Y ковалентно присоединен к M. В некоторых вариантах осуществления, если каждый из нижних индексов a, y и w представляет собой 0, то X^B ковалентно присоединен к M.

[0173] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (II) выбрано из группы, включающей:



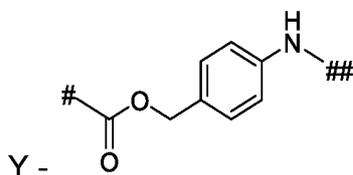




(II-A)

или ее фармацевтически приемлемой соли, где:

L^A - $-(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$ или $-C(O)NR^H(CH_2)_{1-6}-$,
каждый R^H независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,



Y -

- ковалентное присоединение к $-NR^HL^A$,

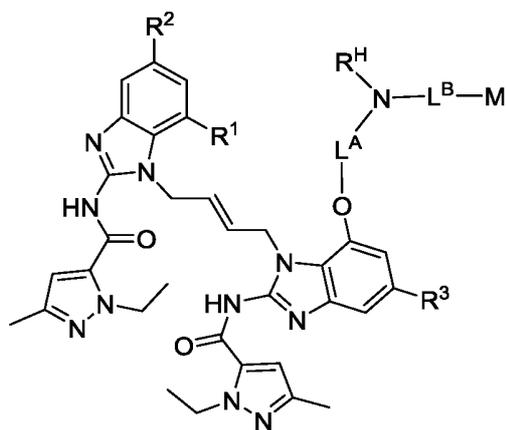
- ковалентное присоединение к W или L^B ,

L^B - $-(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$ или $-[NHC(O)(CH_2)_{1-4}]_{1-3}-$, а

остальные переменные соответствуют приведенному выше описанию

применительно к формуле (II).

[0175] В некоторых вариантах осуществления R^H представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления L^A представляет собой $-(CH_2)_{2-6}-$. В некоторых вариантах осуществления L^A представляет собой $-(CH_2)_3-$. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс y представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс y представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс w представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс w представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс y и нижний индекс w представляют собой 1. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс y и нижний индекс w представляют собой 0. Если нижний индекс y и нижний индекс w представляют собой 0, то соединение формулы (II) имеет структуру формулы (II-B):



(II-B)

или ее фармацевтически приемлемой соли, где:

L^A - $-(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$ или $-C(O)NR^H(CH_2)_{1-6}-$,

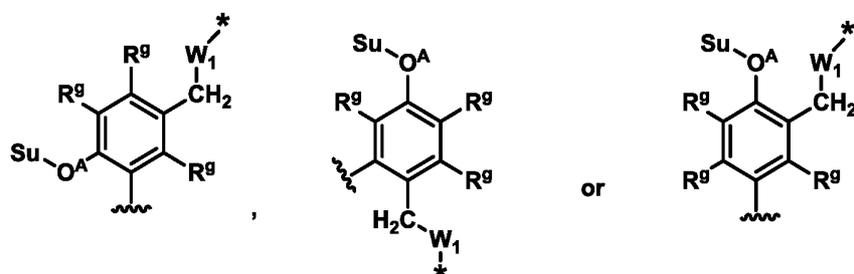
каждый R^H независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

L^B - $-(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$ или $-[NHC(O)(CH_2)_{1-4}]_{1-3}-$, а

остальные переменные соответствуют приведенному выше описанию применительно к формуле (II).

[0176] В некоторых вариантах осуществления W представляет собой цепь, состоящую из 1-6 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой цепь, состоящую из 1-4 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой цепь, состоящую из 1-3 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота в W независимо выбирается из группы, включающей аланин, валин, изолейцин, лейцин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, гистидин, аргинин, глицин, серин, треонин, фенилаланин, *O*-метилсерин, *O*-метиласпарагиновую кислоту, *O*-метилглутаминовую кислоту, *N*-метиллизин, *O*-метилтирозин, *O*-метилгистидин и *O*-метилтреонин.

[0177] В некоторых вариантах осуществления W представляет собой:

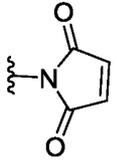


, где:

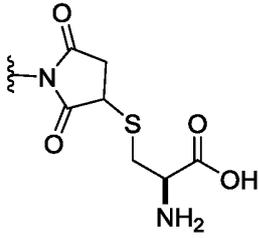
 представляет собой ковалентное присоединение к L^B, а

* представляет собой ковалентное присоединение к Y или NR^H.

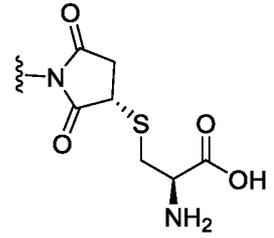
[0178] В некоторых вариантах осуществления L^B представляет собой –C(O)(CH₂)₂–. В некоторых вариантах осуществления L^B представляет собой –[NHC(O)(CH₂)₂]₂–. В некоторых вариантах осуществления M представляет собой



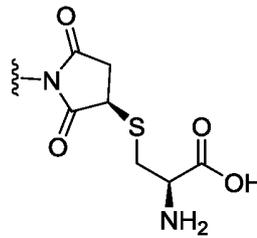
. В некоторых вариантах осуществления M представляет собой



. В некоторых аспектах M представляет собой

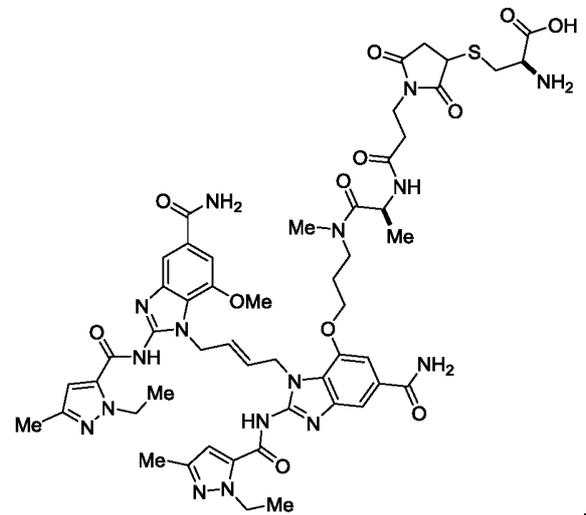
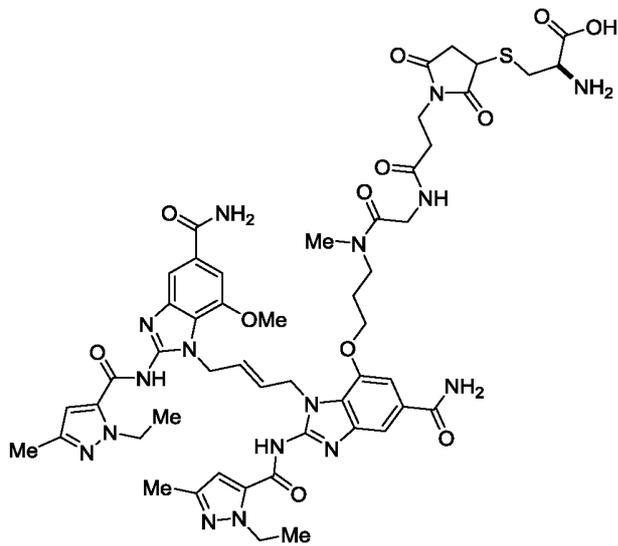
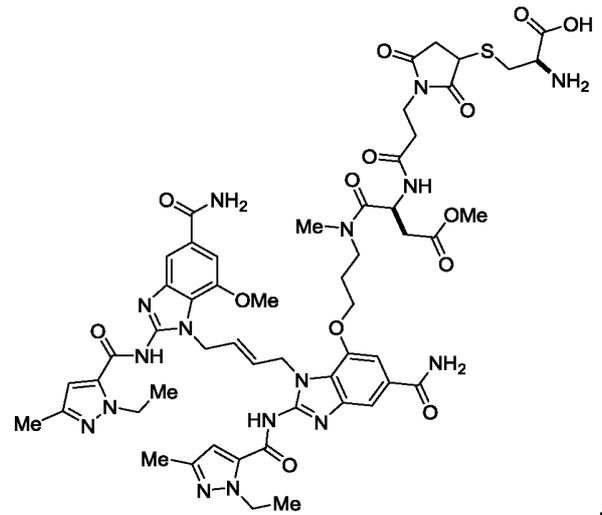
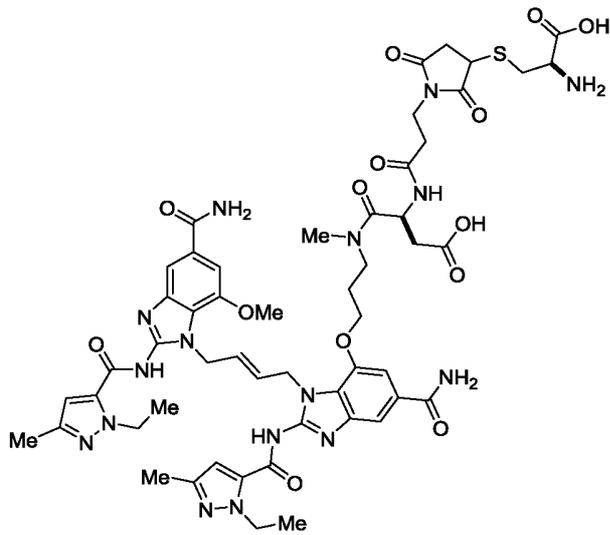
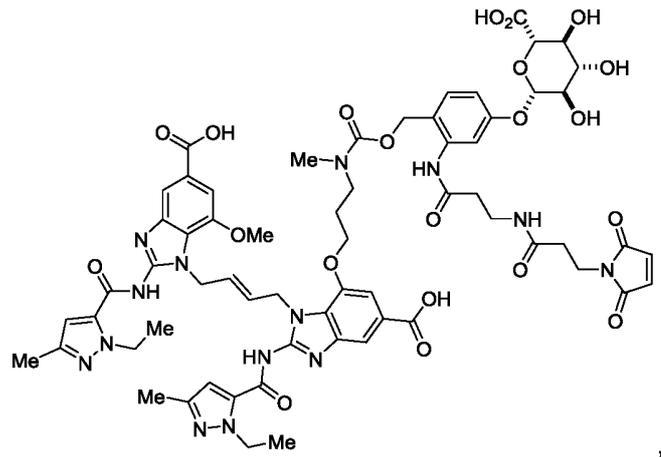
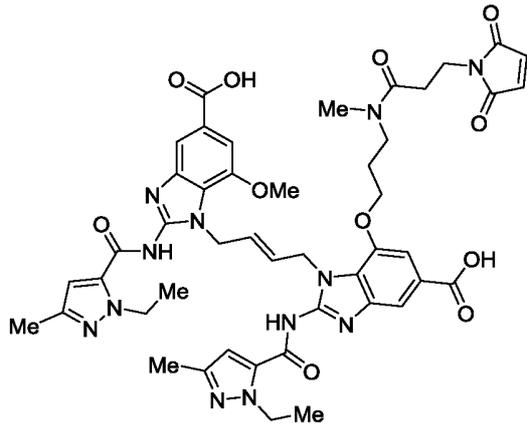


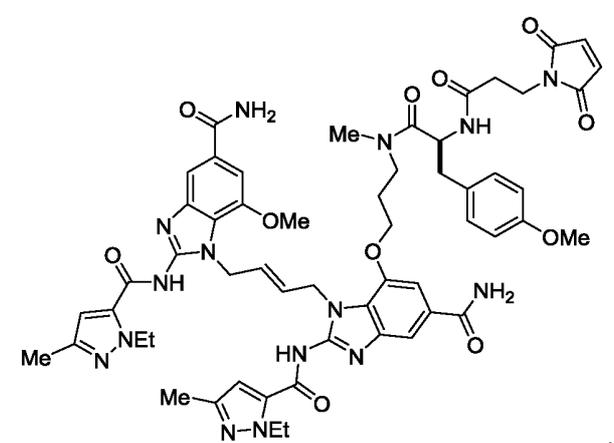
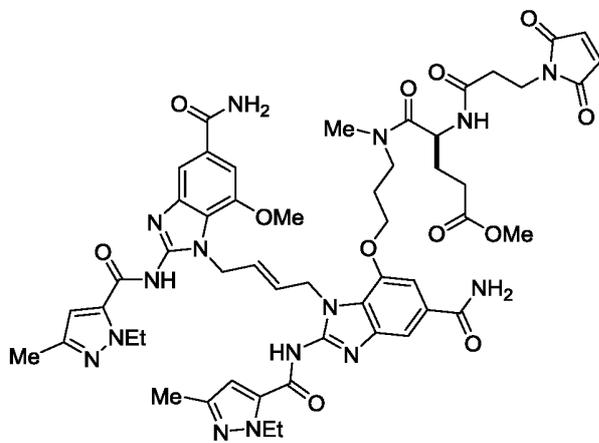
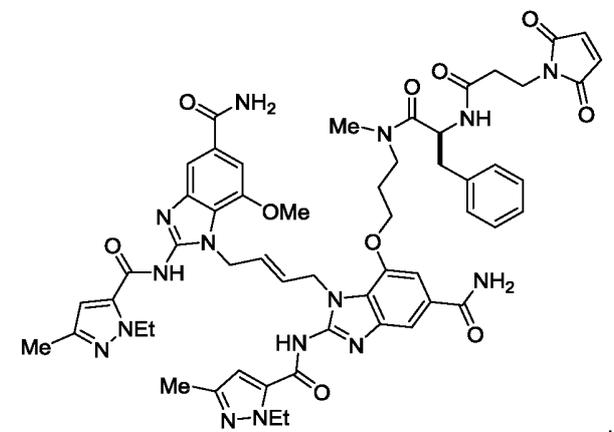
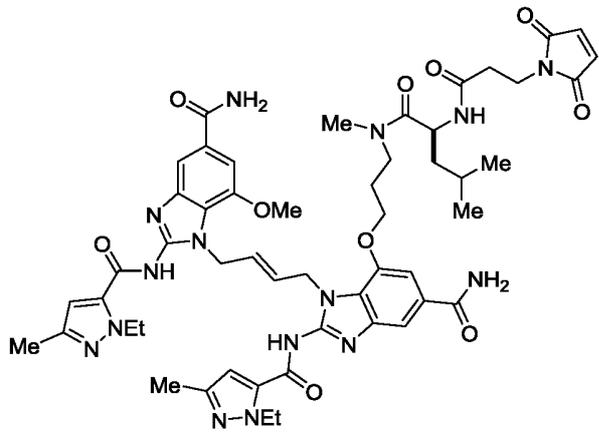
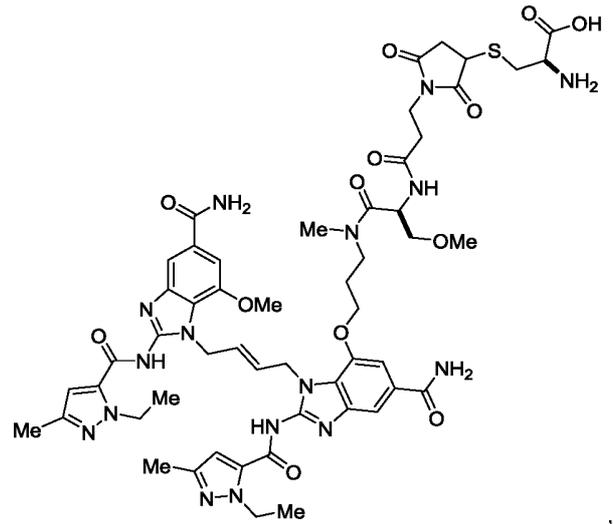
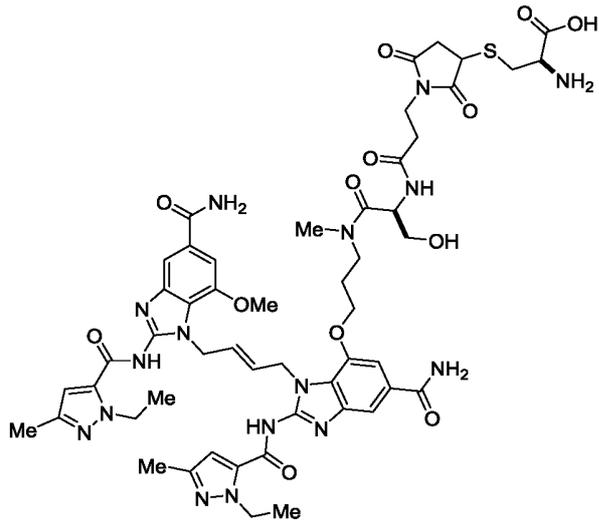
. В

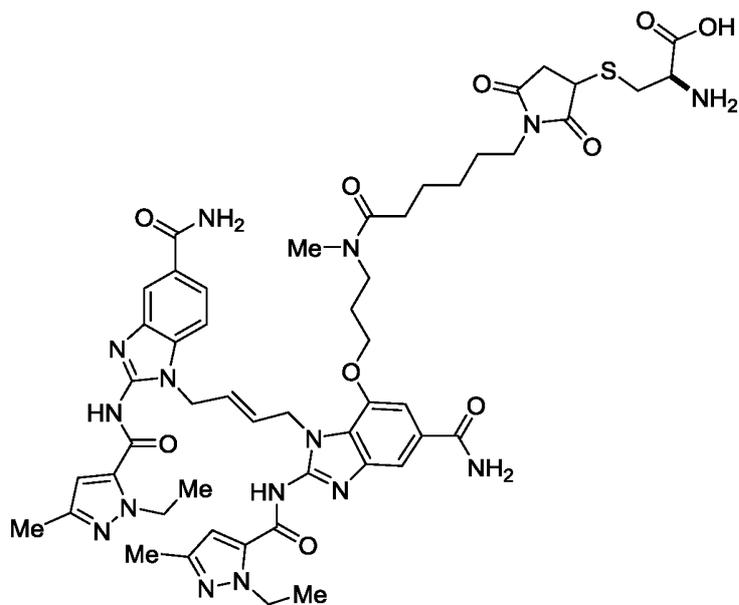


некоторых аспектах M представляет собой

[0179] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (II-A) выбрано из группы, включающей:



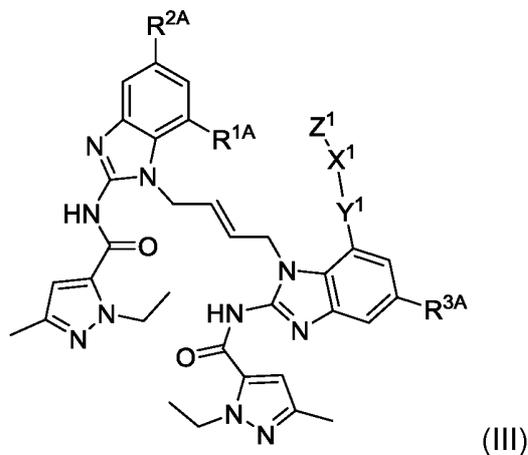




, и их фармацевтически приемлемые соли.

Соединения формулы (III)

[0180] Некоторые варианты осуществления предлагают соединения формулы (III):



или его фармацевтически приемлемую соль, где:

R^{1A} - водород, гидроксил, C_{1-6} алкокси, $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$ алкокси, $-(CH_2)_{nn}-NR^{AA}R^{BB}$,

каждый из R^{2A} и R^{3A} независимо представляет собой $-CO_2H$, $-(C=O)_{mm}-NR^{CC}R^{DD}$ или $-(CH_2)_{qq}-NR^{EE}R^{FF1}$,

каждый нижний индекс pp независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

каждый нижний индекс mm независимо представляет собой 0 или 1,
каждый нижний индекс qq независимо представляет собой целое число
от 0 до 6,

Y^1 - $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{NH}-$ или $-\text{H}(\text{CH}_3)-$,

X^1 - C_2 - C_6 алкилен,

Z^1 - $-\text{NR}^{\text{EE}}\text{R}^{\text{FF}}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{GG}}\text{R}^{\text{HH}}$ или $-\text{CO}_2\text{H}$,

каждый из R^{AA} , R^{BB} , R^{CC} , R^{DD} , $\text{R}^{\text{EE}1}$ и $\text{R}^{\text{FF}1}$ независимо представляет собой
водород или C_{1-3} алкил, и

каждый из R^{EE} , R^{FF} , R^{GG} и R^{HH} независимо представляет собой водород
или C_{1-6} алкил.

[0181] В некоторых вариантах осуществления $\text{R}^{1\text{A}}$ представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления $\text{R}^{1\text{A}}$ представляет собой гидроксил. В некоторых вариантах осуществления $\text{R}^{1\text{A}}$ представляет собой C_{1-6} алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой метокси-группу. В некоторых вариантах осуществления $\text{R}^{1\text{A}}$ представляет собой $-(\text{C}_{1-6} \text{ алкил})\text{C}_{1-6}$ алкокси. В некоторых вариантах осуществления $\text{R}^{1\text{A}}$ представляет собой метоксиэтил.

[0182] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой $-(\text{CH}_2)_{nn}-\text{NR}^{\text{AA}}\text{R}^{\text{BB}}$. В некоторых вариантах осуществления R^{AA} и R^{BB} оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{AA} и R^{BB} независимо представляют собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^{AA} и R^{BB} представляет собой водород, а другой из R^{AA} и R^{BB} представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления C_{1-3} алкил представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс pp представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс pp представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс pp представляет собой 2. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс pp представляет собой 3. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс pp представляет собой 3, 4, 5 или 6. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс pp представляет собой 4. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс pp представляет собой 5. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс pp представляет собой 6.

[0183] В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{2A} и R^{3A} независимо представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{C}=\text{O})_{mm}\text{-NR}^{\text{CC}}\text{R}^{\text{DD}}$ или $-(\text{CH}_2)_{qq}\text{-NR}^{\text{EE}1}\text{R}^{\text{FF}1}$, а R^{2A} и R^{3A} являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{2A} и R^{3A} независимо представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{C}=\text{O})_{mm}\text{-NR}^{\text{CC}}\text{R}^{\text{DD}}$ или $-(\text{CH}_2)_{qq}\text{-NR}^{\text{EE}1}\text{R}^{\text{FF}1}$, а R^{2A} и R^{3A} являются различными.

[0184] В некоторых вариантах осуществления R^{2A} представляет собой $-(\text{C}=\text{O})_{mm}\text{-NR}^{\text{CC}}\text{R}^{\text{DD}}$. В некоторых вариантах осуществления R^{3A} представляет собой $-(\text{C}=\text{O})_{mm}\text{-NR}^{\text{CC}}\text{R}^{\text{DD}}$. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{CC} и R^{DD} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{CC} и R^{DD} независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^{CC} и R^{DD} представляет собой водород, а другой из R^{CC} и R^{DD} представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления C_{1-3} алкил представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс m представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс m представляет собой 1.

[0185] В некоторых вариантах осуществления R^{2A} представляет собой $-(\text{CH}_2)_{qq}\text{-NR}^{\text{EE}1}\text{R}^{\text{FF}1}$. В некоторых вариантах осуществления R^{3A} представляет собой $-(\text{CH}_2)_{qq}\text{-NR}^{\text{EE}1}\text{R}^{\text{FF}1}$. В некоторых вариантах осуществления каждый из $R^{\text{EE}1}$ и $R^{\text{FF}1}$ представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из $R^{\text{EE}1}$ и $R^{\text{FF}1}$ независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из $R^{\text{EE}1}$ и $R^{\text{FF}1}$ представляет собой водород, а другой из $R^{\text{EE}1}$ и $R^{\text{FF}1}$ представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления C_{1-3} алкил представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 6. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс qq представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс qq представляет собой 2. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс qq представляет собой 3, 4, 5 или 6.

[0186] В некоторых вариантах осуществления R^{3A} представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления R^{2A} представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$.

[0187] В некоторых вариантах осуществления Y^1 представляет собой

–CH₂–. В некоторых вариантах осуществления Y¹ представляет собой –O–. В некоторых вариантах осуществления Y¹ представляет собой –S–. В некоторых вариантах осуществления Y¹ представляет собой –NH–. В некоторых вариантах осуществления Y¹ представляет собой –H(CH₃)–.

[0188] В некоторых вариантах осуществления X¹ представляет собой C₂–C₅ алкилен. В некоторых вариантах осуществления X¹ представляет собой C₂–C₄ алкилен. В некоторых вариантах осуществления X¹ представляет собой этилен или н-пропилен. В некоторых вариантах осуществления X¹ представляет собой этилен. В некоторых вариантах осуществления X¹ представляет собой н-пропилен.

[0189] В некоторых вариантах осуществления Z¹ представляет собой –NR^{EE}R^{FF}. В некоторых вариантах осуществления R^{EE} и R^{FF} оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{EE} и R^{FF} независимо представляют собой C₁₋₆ алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^{EE} и R^{FF} представляет собой водород, а другой из R^{EE} и R^{FF} представляет собой C₁₋₆ алкил. В некоторых вариантах осуществления C₁₋₆ алкил представляет собой C₁₋₃ алкил. В некоторых вариантах осуществления C₁₋₃ алкил представляет собой метил.

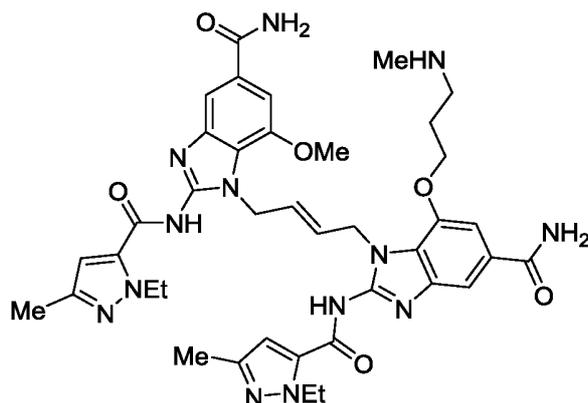
[0190] В некоторых вариантах осуществления Z¹ представляет собой –C(=O)NR^{GG}R^{HH}. В некоторых вариантах осуществления R^{GG} и R^{HH} оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{GG} и R^{HH} независимо представляют собой C₁₋₆ алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^{GG} и R^{HH} представляет собой водород, а другой из R^{GG} и R^{HH} представляет собой C₁₋₆ алкил. В некоторых вариантах осуществления C₁₋₆ алкил представляет собой C₁₋₃ алкил. В некоторых вариантах осуществления C₁₋₃ алкил представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления Z¹ представляет собой –CO₂H. В некоторых вариантах осуществления Z¹ представляет собой –NR^{EE}R^{FF}. В некоторых вариантах осуществления R^{EE} представляет собой водород, а R^{FF} представляет собой метил.

[0191] В некоторых вариантах осуществления R^{1A} представляет собой метокси-группу, а R^{2A} и R^{3A} оба представляют собой –C(=O)NH₂. В некоторых вариантах осуществления Y¹ представляет собой –O–, а X¹ представляет собой C₃ алкилен. В некоторых вариантах осуществления Y¹ представляет собой –O–, а X¹ представляет собой н-пропилен. В некоторых вариантах осуществления Y¹ представляет собой –O–, X¹ представляет собой н-пропилен, а Z¹ представляет собой

–NH₂. В некоторых вариантах осуществления Y¹ представляет собой –O–, X¹ представляет собой н-пропилен, а Z¹ представляет собой –NHCH₃. В некоторых вариантах осуществления Y¹ представляет собой –O–, X¹ представляет собой н-пропилен, а Z¹ представляет собой –H(CH₃)₂.

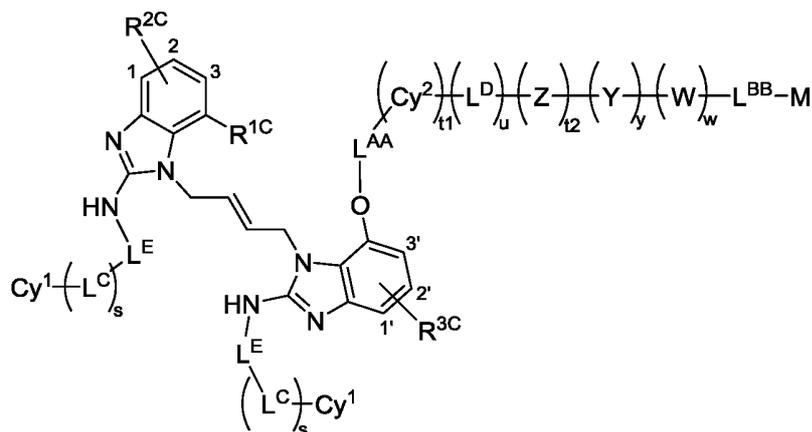
[0192] В некоторых вариантах осуществления R^{1A} представляет собой метокси-группу, R^{2A} и R^{3A} оба представляют собой –C(=O)NH₂, Y¹ представляет собой –O–, X¹ представляет собой н-пропилен, а Z¹ представляет собой –NH₂. В некоторых вариантах осуществления R^{1A} представляет собой метокси-группу, R^{2A} и R^{3A} оба представляют собой –C(=O)NH₂, Y¹ представляет собой –O–, X¹ представляет собой н-пропилен, а Z¹ представляет собой –NHCH₃. В некоторых вариантах осуществления R^{1A} представляет собой метокси-группу, R^{2A} и R^{3A} оба представляют собой –C(=O)NH₂, Y¹ представляет собой –O–, X¹ представляет собой н-пропилен, а Z¹ представляет собой –H(CH₃)₂.

[0193] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (III) представляет собой



Соединения формулы (IV)

[0194] Некоторые варианты осуществления включают соединение формулы (IV):



(IV)

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

R^{1C} - водород, гидроксил, C_{1-6} алкокси, $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$ алкокси, $-(CH_2)_n-NR^A R^B$ или PEG2 до PEG4,

R^{2C} - $-CO_2R^M$, $-(C=O)NR^C R^D$, $-S(O)_2NR^C R^D$, $-S(O)_2R^M$, $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, $-(CH_2)_q-OR^M$, $-O(C=O)-NR^E R^F$ или $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$, при этом R^{2C} присоединен к любой позиции, отмеченной цифрами 1, 2 или 3,

R^{3C} - $-CO_2R^M$, $-(C=O)NR^C R^D$, $-S(O)_2NR^C R^D$, $-S(O)_2R^M$, $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, $-(CH_2)_q-OR^M$, $-O(C=O)-NR^E R^F$ или $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$, при этом R^{3C} присоединен к любой позиции, отмеченной цифрами 1', 2' или 3',

Каждый из R^A , R^B , R^C , R^D , R^E , R^F и R^M независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил,

каждый нижний индекс n независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

каждый нижний индекс q независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

L^E - $-(C=O)-$ или $-S(O)_2-$,

L^C - $-(CR^I R^J)_{1-3}-$

каждый из R^I и R^J независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил, нижний индекс s представляет собой 0 или 1,

каждый Cy^1 независимо представляет собой 4-6-членный гетероцикл, 5-6-членный гетероарил или C_{3-6} циклоалкил, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K ,

каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $=O$, $-NR^{d2}R^{e2}$, $-C(O)NR^{d2}R^{e2}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил),

каждый из R^{d2} и R^{e2} независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

L^{AA} - $-(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)NR^L(CH_2)_{1-6}-$, $-(CH_2)_{1-6}O-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}O-$ или $-C(O)NR^L(CH_2)_{1-6}O-$,

R^L - водород или C_{1-3} алкил,

Sy^2 - C_{3-6} циклоалкил, 4-6-членный гетероцикл, 5-6-членный гетероарил или фенил, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^U ,

каждый R^U независимо выбирается из группы, включающей: $-CO_2R^{j1}$, $-(C=O)NR^{d3}R^{e3}$, $-S(O)_2NR^{d3}R^{e3}$, $-(CH_2)_{q1}-NR^{g1}R^{h1}$, $-(CH_2)_{q1}-OR^{j1}$ и $-(CH_2)_{q1}-(OCH_2CH_2)_{1-8}OH$,

каждый из R^{d3} , R^{e3} , R^{g1} , R^{h1} и R^{j1} независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил,

нижний индекс $q1$ представляет собой целое число от 0 до 6,

нижние индексы $t1$ и $t2$ независимо представляют собой 0 или 1, при этом по меньшей мере один из $t1$ и $t2$ представляет собой 1,

L^D - $-(CH_2)_{1-6}-$,

нижний индекс u представляет собой 0 или 1,

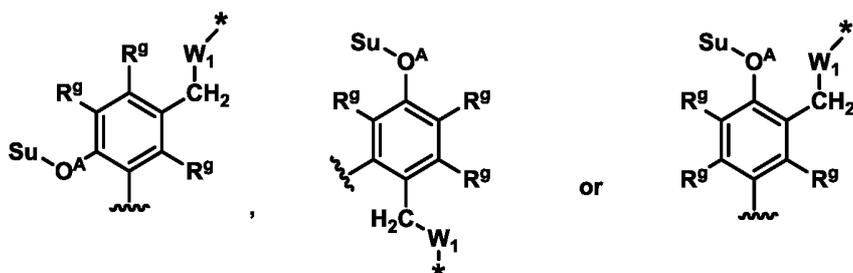
Z - $-H(R^{HH})-$ или $-H^+(C_{1-6}$ алкил) $(R^{HH})-$,

R^{HH} - водород, C_{1-6} алкил, C_{3-6} циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{3-6}$ циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{1-3}$ алкокси, $-(CH_2)_{1-3}$ 4-6-членный гетероцикл или $-(CH_2)_{1-3}$ 5-6-членный гетероарил,

Y - саморасщепляющаяся функциональная группа, несаморасщепляющаяся высвобождаемая функциональная группа или нерасщепляемая функциональная группа,

нижний индекс y представляет собой 0 или 1,

W - цепь, состоящая из 1-12 аминокислот или имеющая структуру:



где Su - сахарный компонент,

$-O^A$ - гликозидная связь,

каждый R^9 независимо представляет собой водород, галоген, $-CN$ или $-NO_2$,

W^1 отсутствует или представляет собой $-O-C(=O)-$,

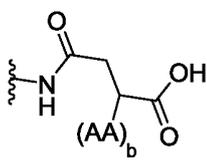
\sim представляет собой ковалентное присоединение к L^{BB} ,

* представляет собой ковалентное присоединение к Y, L^D , NR^{HH} или Su^2 ,

нижний индекс w представляет собой 0 или 1,

L^{BB} - $-(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$ или $-[NHC(O)(CH_2)_{1-4}]_{1-3}-$, и

M представляет собой , или



каждый AA представляет собой независимо выбранную аминокислоту, при этом $(AA)_b$ соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома серы, и

каждый нижний индекс b независимо представляет собой целое число от 1 до 6.

[0195] В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой гидроксил. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой C_{1-6} алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой метокси-группу. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой $-(C_{1-6}$ алкил) C_{1-6}

алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой метоксиэтил. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой функциональную группу PEG от PEG2 до PEG4. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой $-(CH_2)_n-NR^A R^B$.

[0196] В некоторых вариантах осуществления R^A и R^B оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^A и R^B независимо представляют собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^A и R^B представляет собой водород, а другой из R^A и R^B представляет собой C_{1-3} алкил.

[0197] В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 2. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 3, 4, 5 или 6.

[0198] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} и R^{3C} независимо представляют собой $-CO_2H$, $-(C=O)_m-NR^C R^D$ или $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, а R^{2C} и R^{3C} являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления R^{2C} и R^{3C} независимо представляют собой $-CO_2H$, $-(C=O)_m-NR^C R^D$ или $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, а R^{2C} и R^{3C} являются различными. В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-(C=O)_m-NR^C R^D$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-(C=O)_m-NR^C R^D$. В некоторых вариантах осуществления R^C и R^D оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^C и R^D независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^C и R^D представляет собой водород, а другой из R^C и R^D представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс m представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс m представляет собой 1.

[0199] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-(CH_2)_q-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-(CH_2)_q-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления R^E и R^F оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^E и R^F независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^E и R^F представляет собой водород, а другой из R^E и R^F представляет собой C_{1-3} алкил. В

некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 6.

[0200] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-CO_2R^M$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-CO_2R^M$. В некоторых вариантах осуществления R^M представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^M представляет собой C_{1-3} алкил.

[0201] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-(CH_2)_q-OR^M$.

[0202] В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-(CH_2)_q-OR^M$. В некоторых вариантах осуществления R^M представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления q представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления q представляет собой 1.

[0203] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-O(C=O)-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-O(C=O)-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления R^E и R^F оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^E и R^F независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^E и R^F представляет собой водород, а другой из R^E и R^F представляет собой C_{1-3} алкил.

[0204] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления все R^E , R^F и R^M представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^E , R^F и R^M независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^E , R^F и R^M представляет собой C_{1-3} алкил, а остальные из R^E , R^F и R^M представляют собой водород.

[0205] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-S(O)_2NR^C R^D$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-S(O)_2NR^C R^D$. В некоторых вариантах осуществления R^C и R^D оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^C и R^D независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^C и R^D представляет собой водород, а другой из R^C и R^D представляет собой C_{1-3} алкил.

[0206] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-S(O)_2R^M$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-S(O)_2R^M$. В некоторых вариантах осуществления R^M представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^M представляет собой C_{1-3} алкил.

[0207] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} присоединен в позиции 1. В некоторых вариантах осуществления R^{2C} присоединен в позиции 2. В некоторых вариантах осуществления R^{2C} присоединен в позиции 3. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} присоединен в позиции 1'. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} присоединен в позиции 2'. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} присоединен в позиции 3'.

[0208] В некоторых вариантах осуществления L^E представляет собой $-(C=O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^E представляет собой $-S(O)_2-$.

[0209] В некоторых вариантах осуществления каждый из R^I и R^J представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^I и R^J представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^I и R^J представляет собой водород, а другой из R^I и R^J представляет собой C_{1-3} алкил.

[0210] В некоторых вариантах осуществления L^C представляет собой $-(CR^I R^J)-$.

[0211] В некоторых вариантах осуществления s представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления s представляет собой 1.

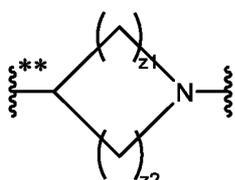
[0212] В некоторых вариантах осуществления каждый Su^1 независимо представляет собой 5-6-членный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления каждый Su^1 представляет собой пиразол, необязательно замещенный одним или более R^K . В некоторых вариантах осуществления каждый Su^1 независимо выбирается из группы, включающей: пиразол, имидазол, фуран, тиофен, тиазол, изотиазол, охазол, изохазол, пиррол, пиридазин, пиридин, пиримидин и пиразин, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K . В некоторых вариантах осуществления каждый Su^1 независимо выбирается из группы, включающей: имидазол, фуран, тиофен, тиазол, изотиазол, охазол, изохазол, пиррол, пиридазин, пиридин, пиримидин и пиразин, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K . В некоторых вариантах осуществления каждый Su^1 независимо представляет собой C_{4-5} циклоалкил, необязательно замещенный одним или более

R^K . В некоторых вариантах осуществления каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-3} алкил, C_{1-3} галоалкил и галоген. В некоторых вариантах осуществления каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: метил, этил, $-CF_3$ и галоген.

[0213] В некоторых вариантах осуществления все Su^1 являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления все Su^1 являются различными.

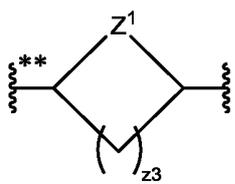
[0214] В некоторых вариантах осуществления L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}-$. В некоторых вариантах осуществления L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-3}-$. В некоторых вариантах осуществления L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}O-$. В некоторых вариантах осуществления L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-3}O-$.

[0215] В некоторых вариантах осуществления Su^2 представляет собой 4-6-членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления Su^2 имеет структуру:



, где каждый из нижних индексов $z1$ и $z2$ независимо представляет собой целое число от 1 до 3, а $**$ указывает присоединение к L^{AA} . В некоторых вариантах осуществления $z1$ и $z2$ представляют собой 1. В некоторых вариантах осуществления $z1$ и $z2$ представляют собой 2. В некоторых вариантах осуществления $z1$ представляет собой 1, а $z2$ представляет собой 2.

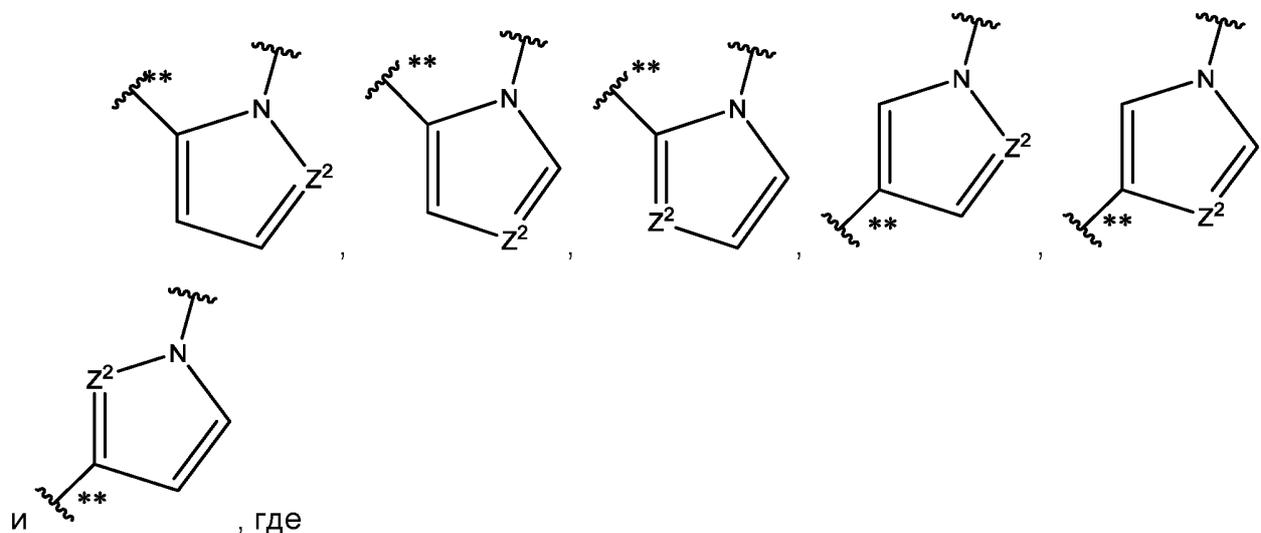
[0216] В некоторых вариантах осуществления Su^2 имеет структуру:



, где Z^1 выбирается из группы, включающей: $-O-$, $-S-$, $-CR^N R^O-$ и $-NR^P-$, R^N , R^O и R^P независимо представляют собой водород или C_{1-6} алкил, нижний индекс $z3$ представляет собой целое число от 1 до 3, а $**$ показывает присоединение к L^{AA} .

[0217] В некоторых вариантах осуществления R^N и R^O представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^P представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^P представляет собой метил.

[0218] В некоторых вариантах осуществления Cu^2 представляет собой 5-6-членный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления Cu^2 выбирается из группы, включающей:



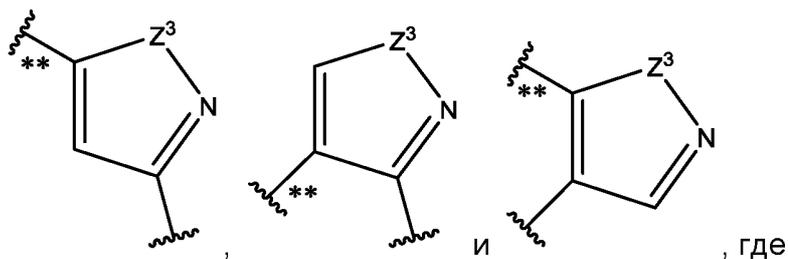
Z^2 - $=CR^N-$ или $=H-$,

R^N - водород или C_{1-6} алкил, а

** показывает присоединение к L^{AA} .

[0219] В некоторых вариантах осуществления Z^2 представляет собой $=CR^N$, а R^N представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления Z^2 представляет собой $=H-$.

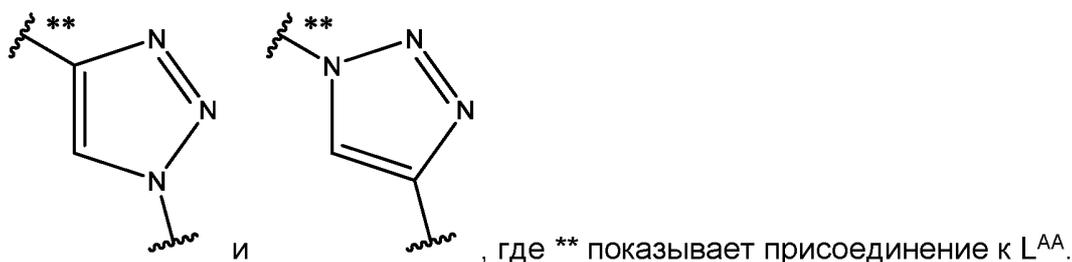
[0220] В некоторых вариантах осуществления Cu^2 выбирается из группы, включающей:



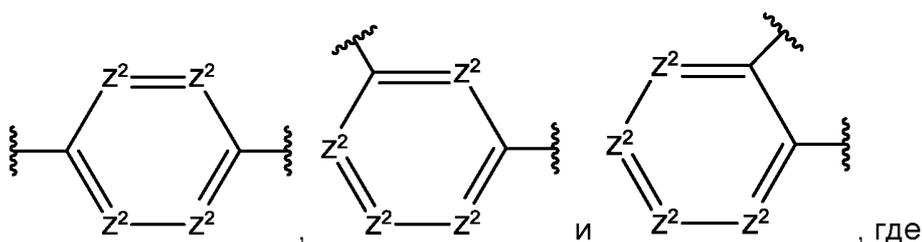
Z^3 представляет собой $-O-$ или $-S-$, а ** показывает присоединение к L^{AA} , L^D , NR^{HH} , Y , W или L^{BB} .

[0221] В некоторых вариантах осуществления ** показывает присоединение к L^{AA} . В некоторых вариантах осуществления ** показывает присоединение к L^D , NR^{HH} , Y , W или L^{BB} .

[0222] В некоторых вариантах осуществления Cu^2 выбирается из группы, включающей:



[0223] В некоторых вариантах осуществления Cu^2 выбирается из группы, включающей:

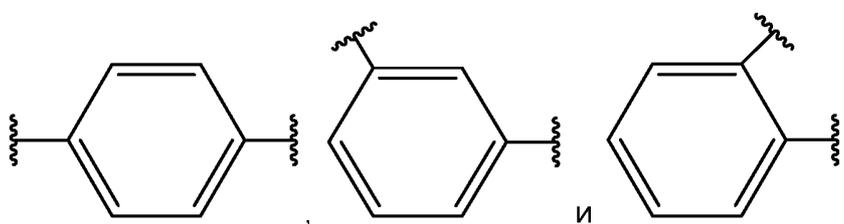


каждый Z^2 независимо представляет собой $=CR^N-$ или $=H-$, а каждый R^N представляет собой водород или C_{1-6} алкил.

[0224] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один Z^2 представляет собой $=H-$. В некоторых вариантах осуществления один Z^2 представляет собой $=H-$, а остальные переменные Z^2 представляют собой $=CR^N-$. В некоторых вариантах осуществления два Z^2 представляют собой $=H-$, а остальные переменные Z^2 представляют собой $=CR^N-$.

[0225] В некоторых вариантах осуществления R^N представляет собой водород.

[0226] В некоторых вариантах осуществления Cu^2 выбирается из группы, включающей:



[0227] В некоторых вариантах осуществления Cy^2 представляет собой циклобутил.

[0228] В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{d3} , R^{e3} , R^{g1} , R^{h1} и R^{i1} независимо представляет собой водород или $-CH_3$.

[0229] В некоторых вариантах осуществления каждый R^U независимо выбирается из $-CO_2H$, $-(C=O)NH_2$, $-S(O)_2NH_2$, $-CH_2NH_2$ и $-CH_2OH$.

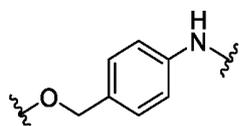
[0230] В некоторых вариантах осуществления $t1$ представляет собой 0, а $t2$ представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления $t1$ представляет собой 1, а $t2$ представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления $t1$ представляет собой 1, а $t2$ представляет собой 1.

[0231] В некоторых вариантах осуществления u представляет собой 1 и L^D представляет собой $-(CH_2)_{1-3}$. В некоторых вариантах осуществления u представляет собой 0.

[0232] В некоторых вариантах осуществления $t2$ представляет собой 1 и R^{HH} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления $t2$ представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления $t2$ представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой C_{3-4} циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления $t2$ представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой $-(CH_2)_{C_{3-4}}$ циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления $t2$ представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой $-(CH_2)_{4-5}$ -членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления $t2$ представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой $-(CH_2)_{5-}$ -членный гетероарил.

[0233] В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-H(R^{HH})-$. В других вариантах осуществления Z представляет собой $-H^+(C_{1-6}$ алкил) $(R^{HH})-$.

[0234] В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой



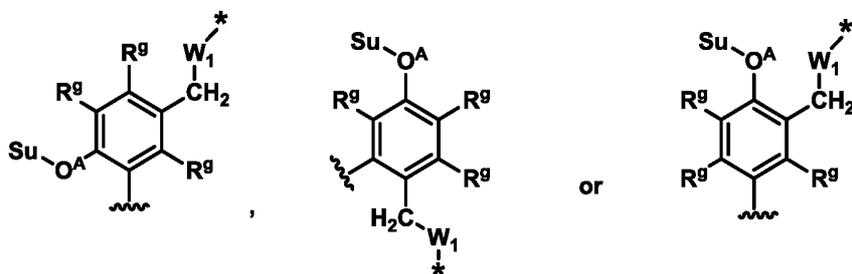
[0235] В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой циклогексанкарбоксылную, ундеcanoильную, капроильную, гексаноильную, бутаноильную или пропионильную группу. В некоторых вариантах осуществления Y

представляет собой функциональную группу PEG от PEG4 до PEG12. В некоторых вариантах осуществления y представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления y представляет собой 1.

[0236] В некоторых вариантах осуществления W представляет собой цепь, состоящую из 1-12 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой цепь, состоящую из 1-6 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой цепь, состоящую из 1-3 аминокислот.

[0237] В некоторых вариантах осуществления W независимо выбирается из группы, включающей: аланин, валин, изолейцин, лейцин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, гистидин, аргинин, глицин, серин, треонин, фенилаланин, *O*-метилсерин, *O*-метиласпарагиновую кислоту, *O*-метилглутаминовую кислоту, *N*-метиллизин, *O*-метилтирозин, *O*-метилгистидин и *O*-метилтреонин. В некоторых вариантах осуществления каждая из аминокислот в W независимо выбирается из группы, включающей: аланин, глицин, лизин, серин, аспарагиновую кислоту, метиловый эфир аспарагиновой кислоты, *N,N*-диметил-лизин, фенилаланин, цитруллин, валин-аланин, валин-цитруллин, фенилаланин-лизин или метиловый эфир гомосерина.

[0238] В некоторых вариантах осуществления W имеет структуру:



[0239] В некоторых вариантах осуществления W^1 представляет собой $-O-C(=O)-$. В некоторых вариантах осуществления один R^9 представляет собой галоген, $-CN$ или $-NO_2$, а остальные переменные R^9 представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый R^9 представляет собой водород.

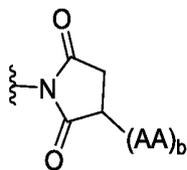
[0240] В некоторых вариантах осуществления w представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления w представляет собой 1.

[0241] В некоторых вариантах осуществления L^{BB} представляет собой $-(CH_2)_{1-3}-$. В некоторых вариантах осуществления L^{BB} представляет собой

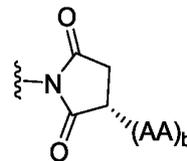
$-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-2}-$.

[0242] В некоторых вариантах осуществления L^{BB} представляет собой $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^{BB} представляет собой $-\text{[NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{]}_{1-2}-$. В некоторых вариантах осуществления L^{BB} представляет собой $-\text{[NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{]}_2-$.

[0243] В некоторых вариантах осуществления M представляет собой

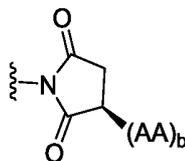


. В некоторых аспектах M представляет собой

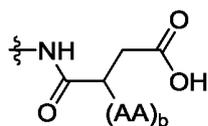


. В некоторых

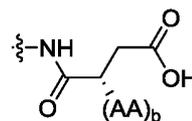
аспектах M представляет собой



[0244] В некоторых вариантах осуществления M представляет собой

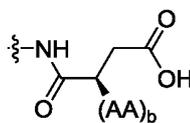


. В некоторых аспектах M представляет собой

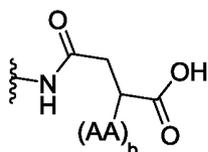


. В

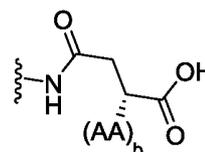
некоторых аспектах M представляет собой



[0245] В некоторых вариантах осуществления M представляет собой

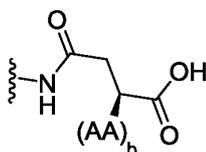


. В некоторых аспектах M представляет собой



. В

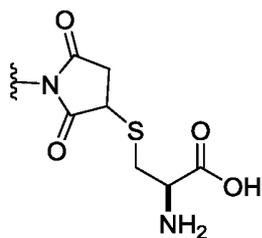
некоторых аспектах M представляет собой



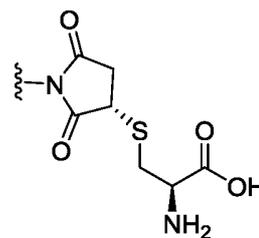
[0246] В некоторых вариантах осуществления каждый AA независимо представляет собой природную аминокислоту, при этом $(AA)_b$ соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома серы. В некоторых вариантах осуществления каждый AA независимо представляет собой

природную аминокислоту, при этом (AA)_b соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома азота. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 2. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b представляет собой 3, 4, 5 или 6.

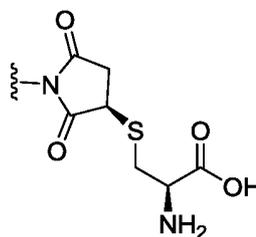
[0247] В некоторых вариантах осуществления M представляет собой



. В некоторых аспектах M представляет собой

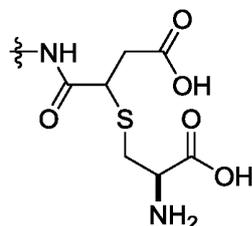


. В

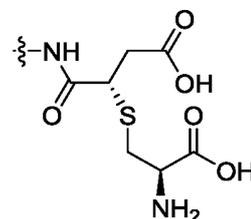


некоторых аспектах M представляет собой

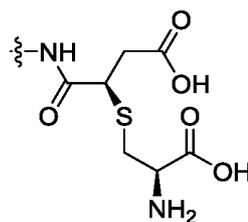
[0248] В некоторых вариантах осуществления M представляет собой



. В некоторых аспектах M представляет собой

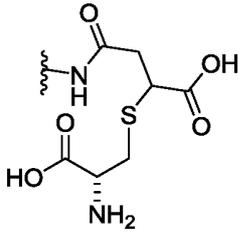


. В

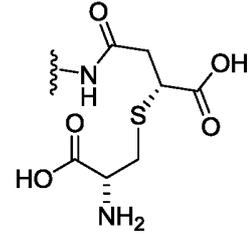


некоторых аспектах M представляет собой

[0249] В некоторых вариантах осуществления М представляет собой

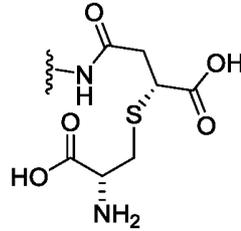


. В некоторых аспектах М представляет собой

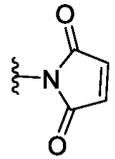


. В

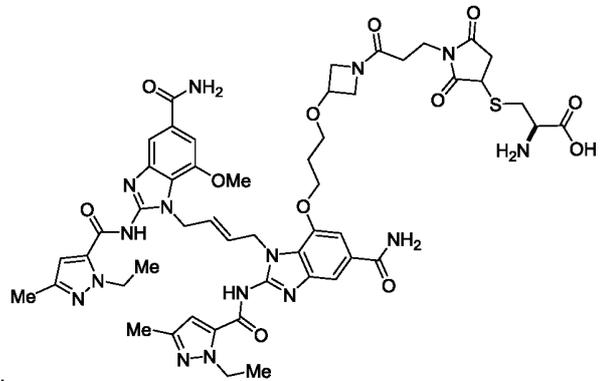
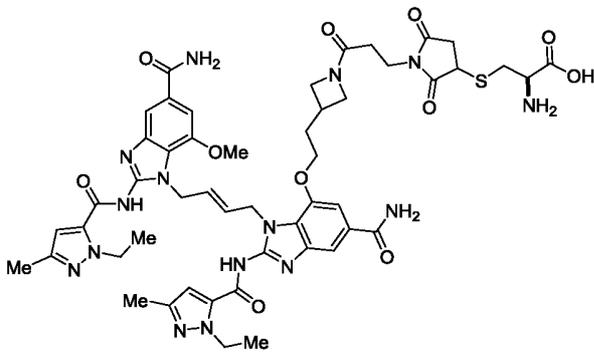
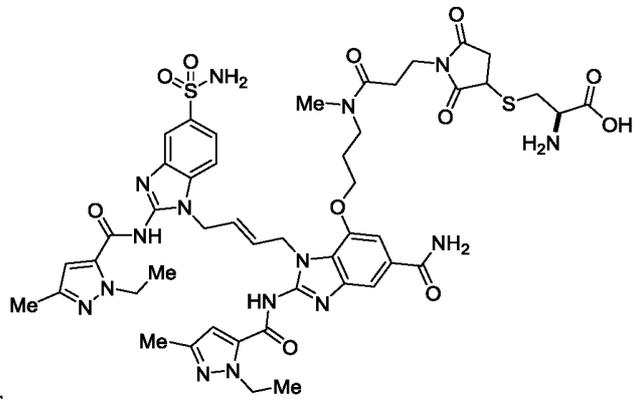
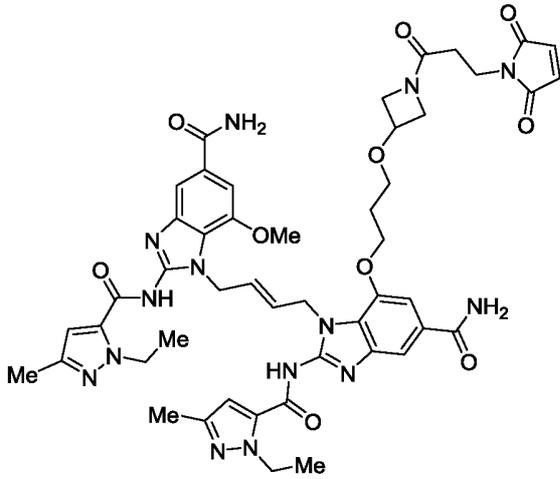
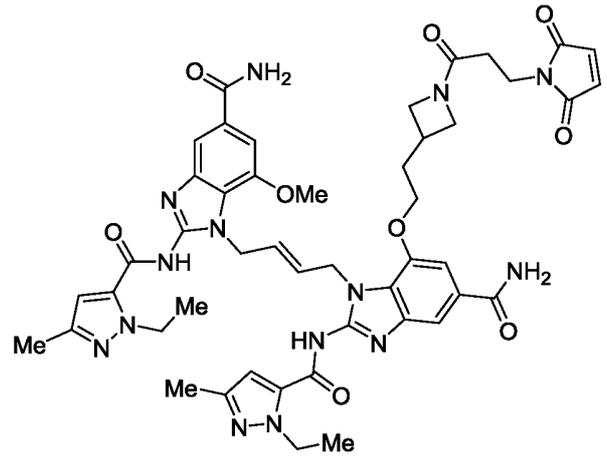
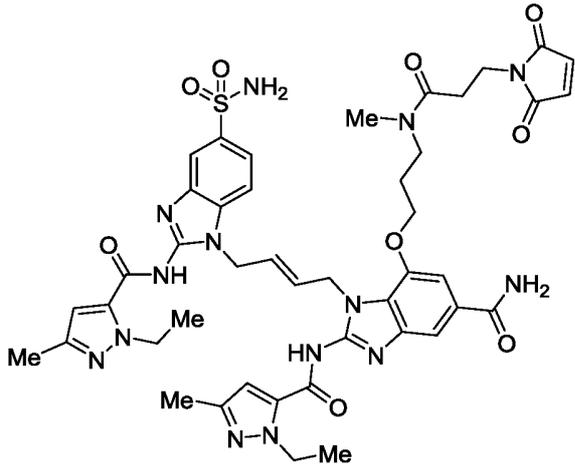
некоторых аспектах М представляет собой

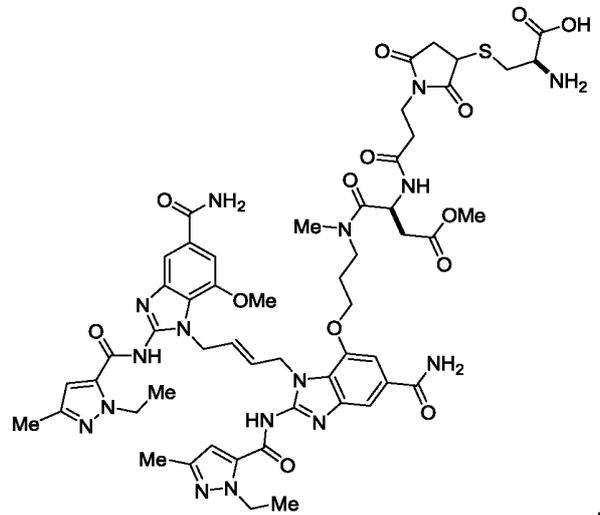
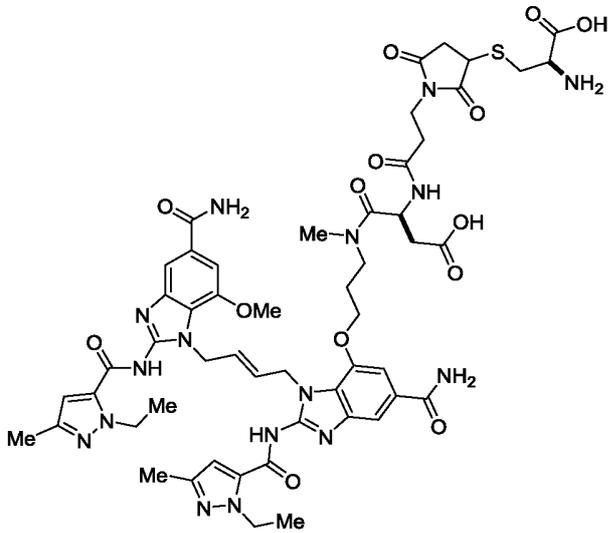
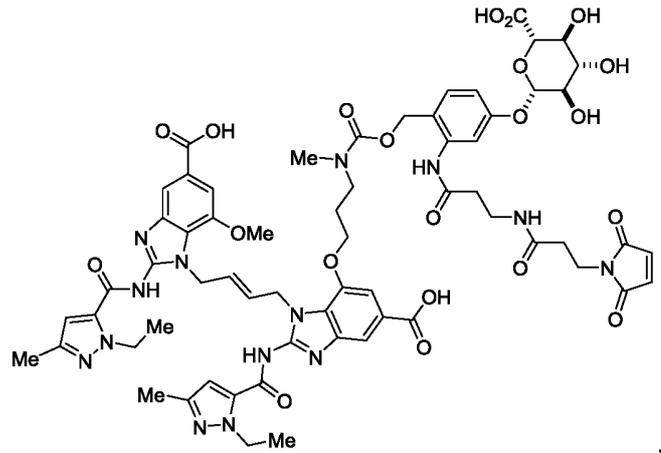
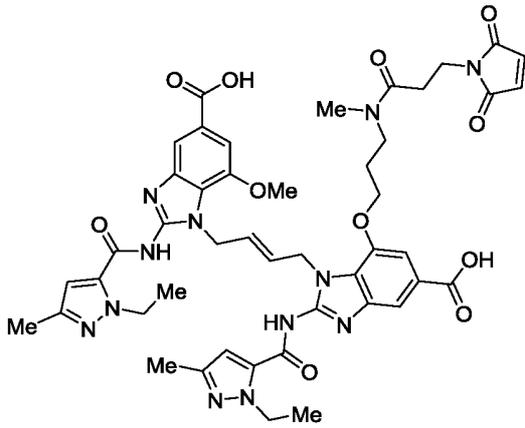
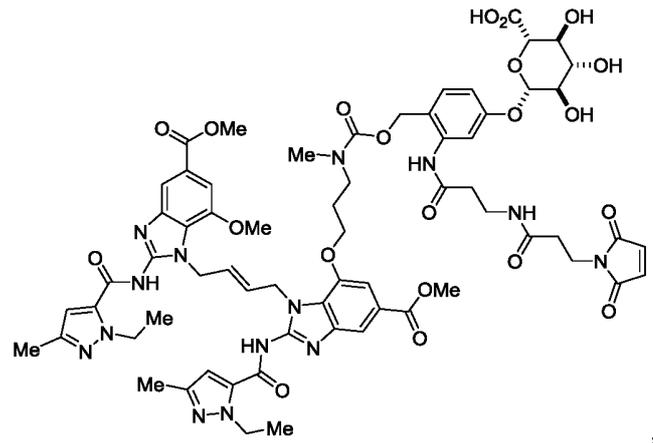
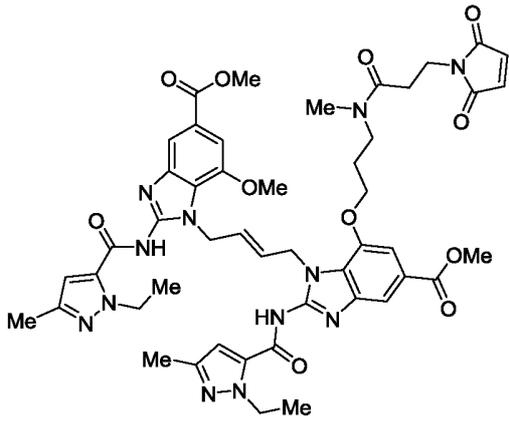


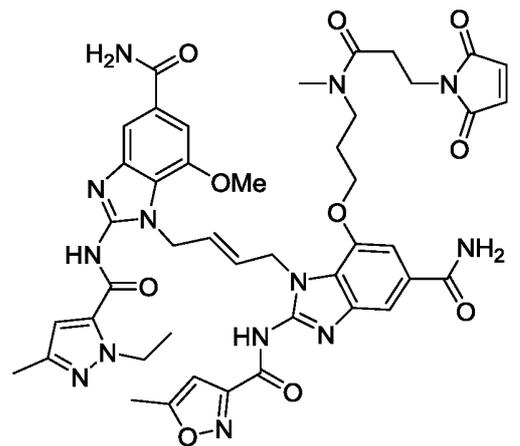
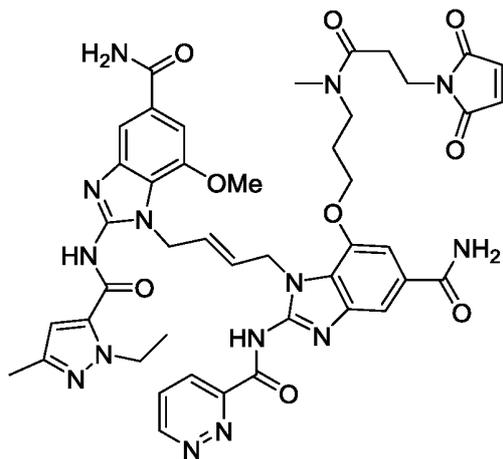
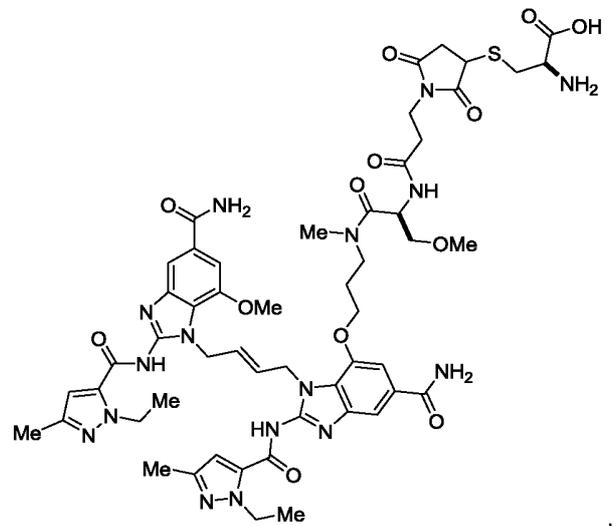
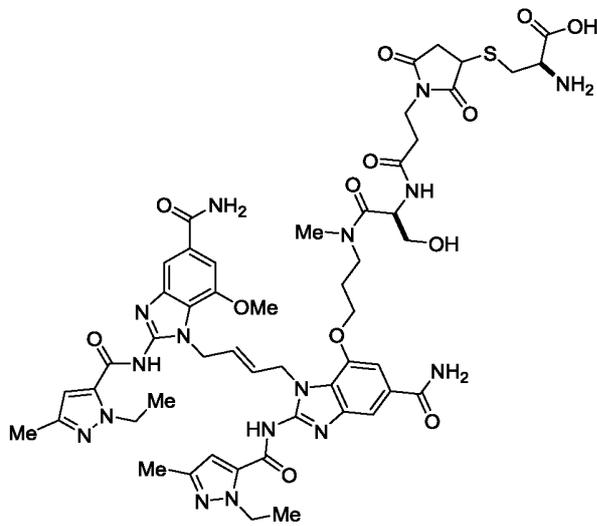
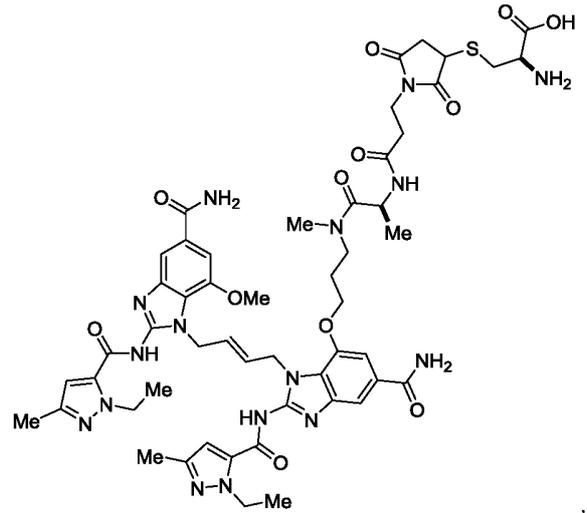
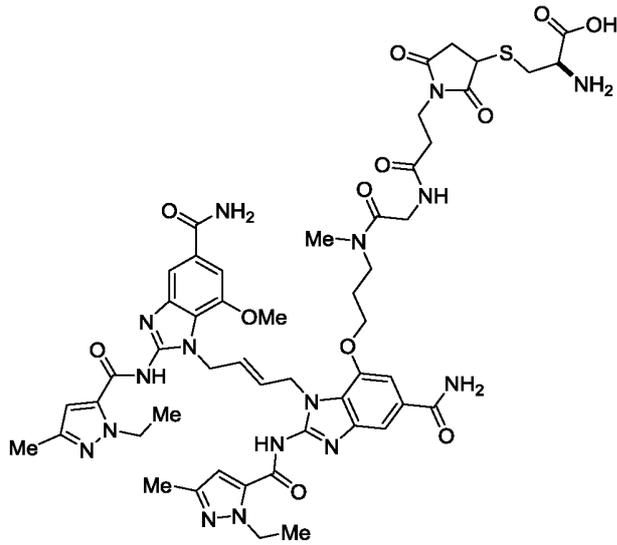
[0250] В некоторых вариантах осуществления М представляет собой

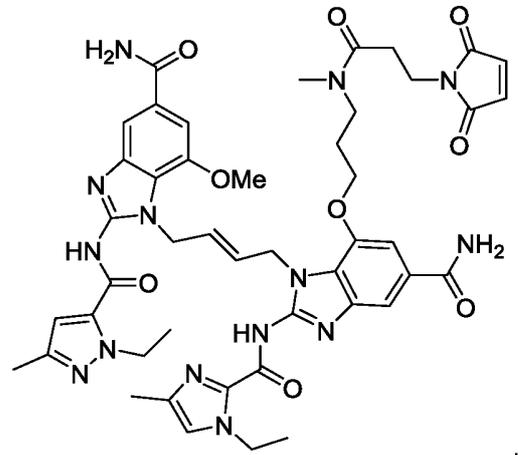
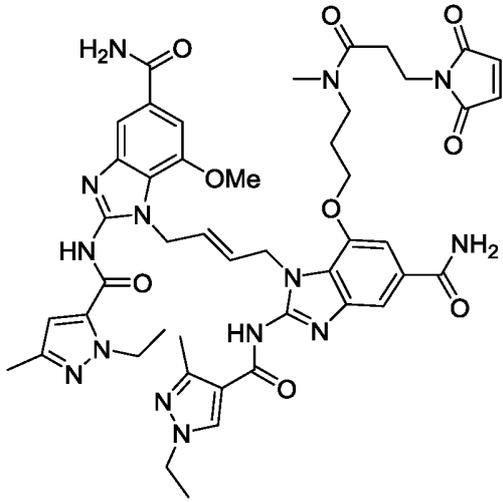
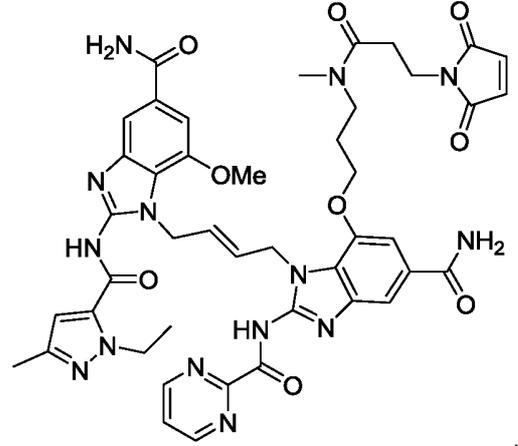
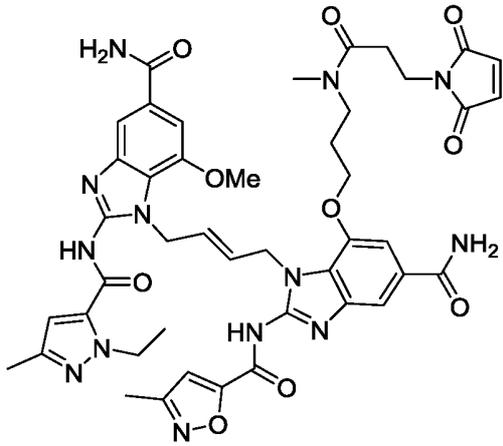
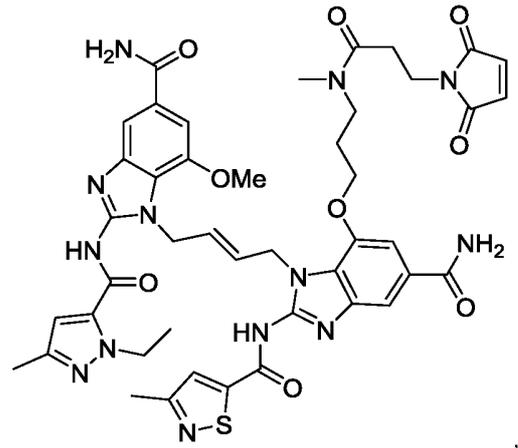
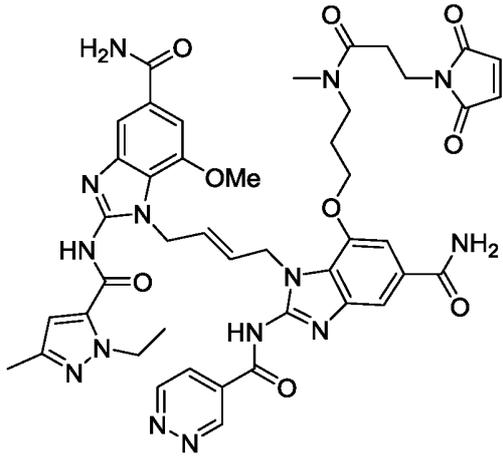


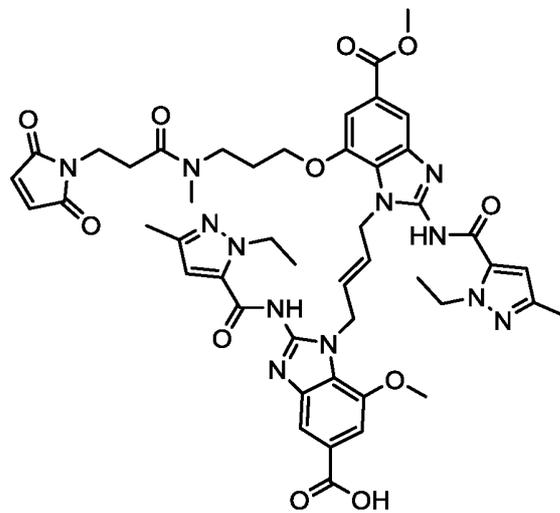
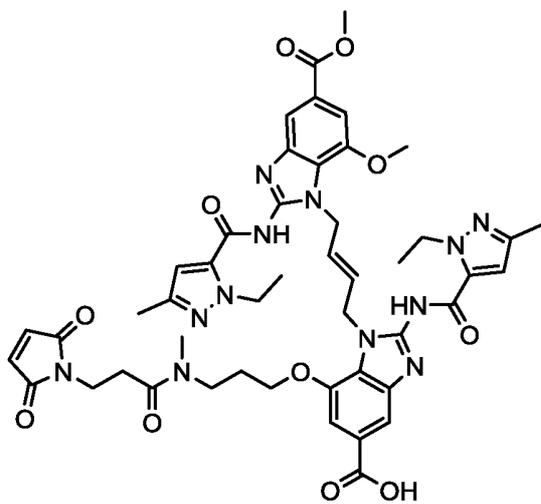
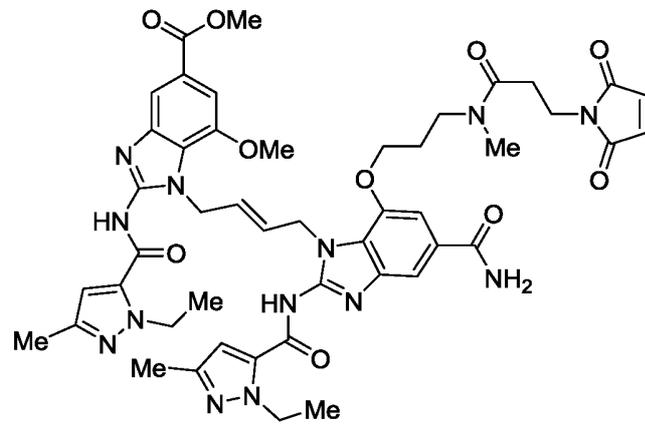
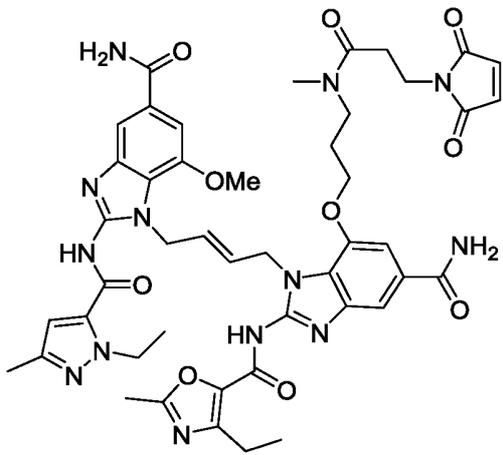
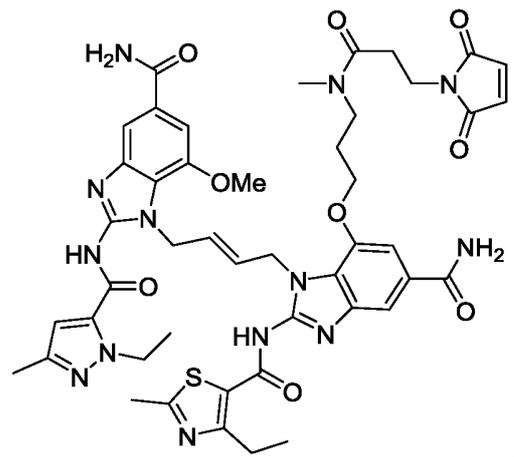
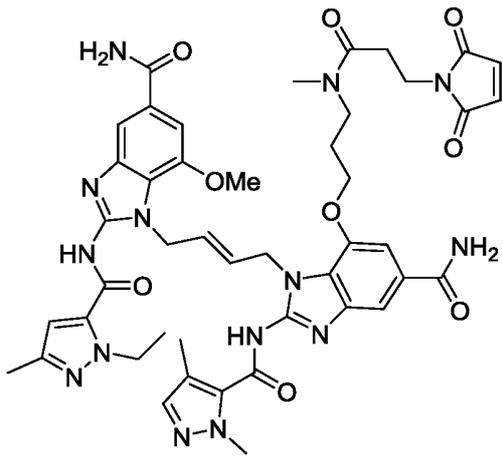
[0251] Некоторые варианты осуществления соединения формулы (IV) содержат соединение, выбранное из группы, включающей:

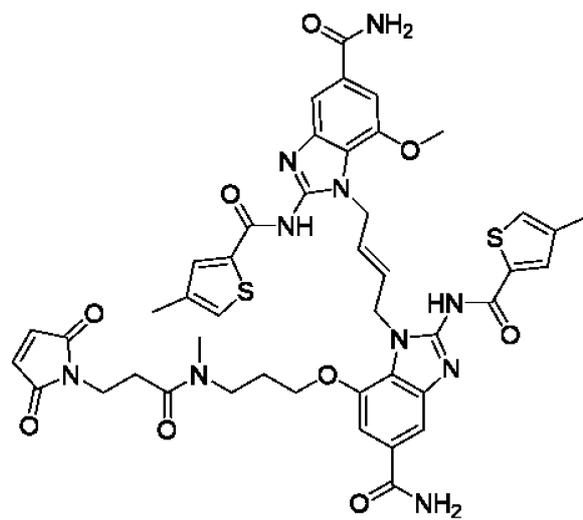
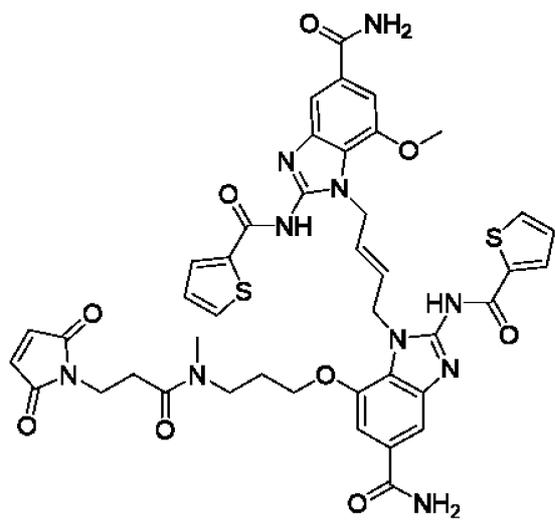
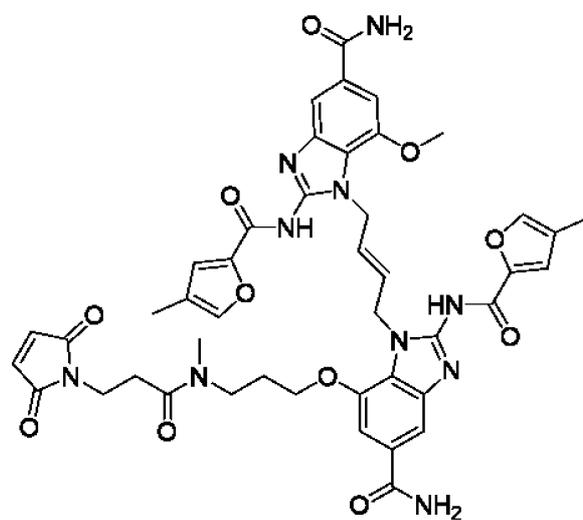
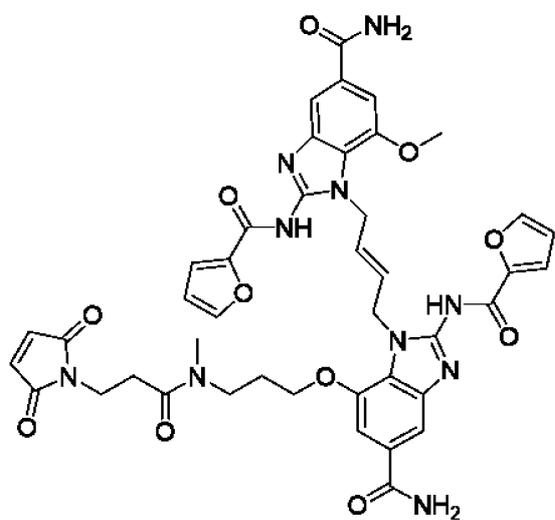
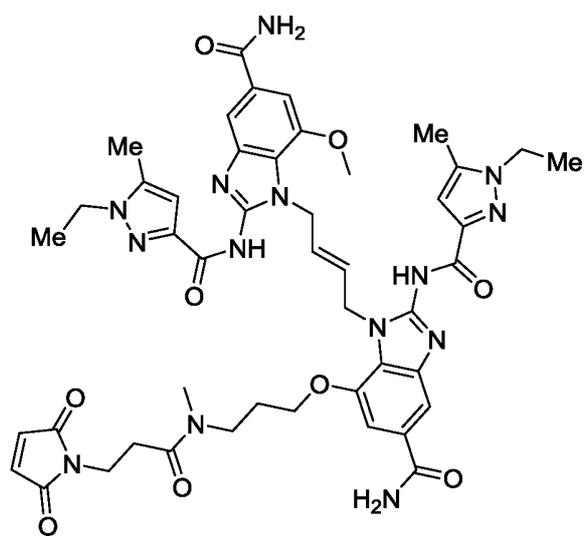
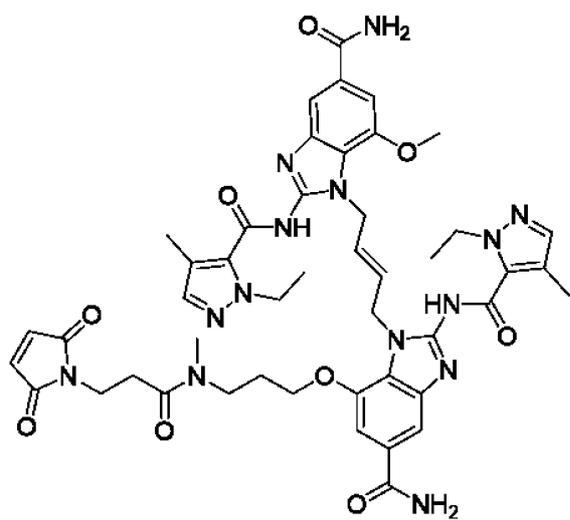


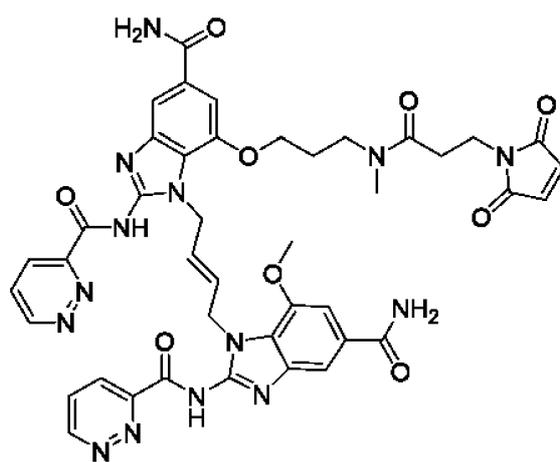
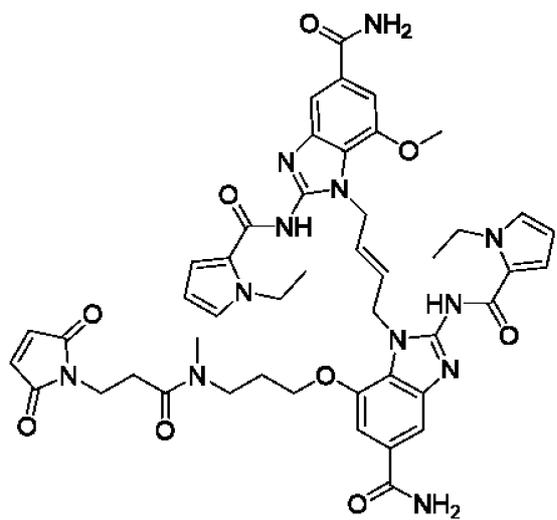
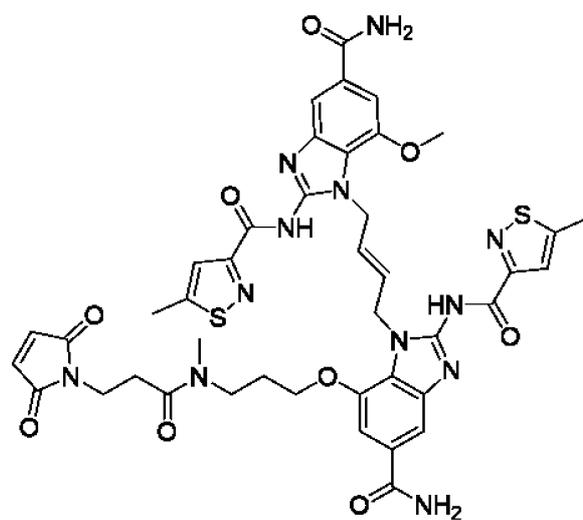
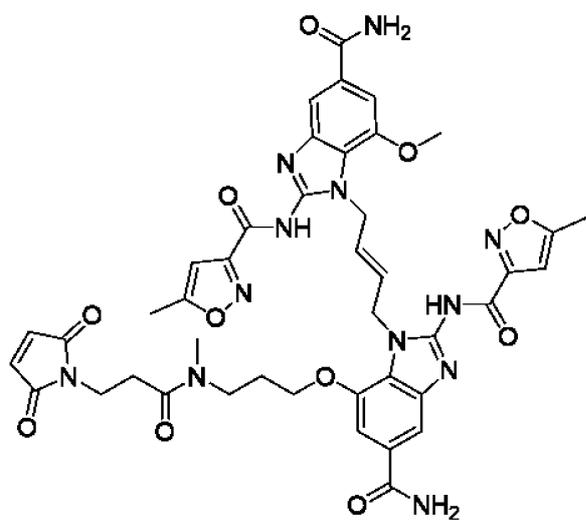
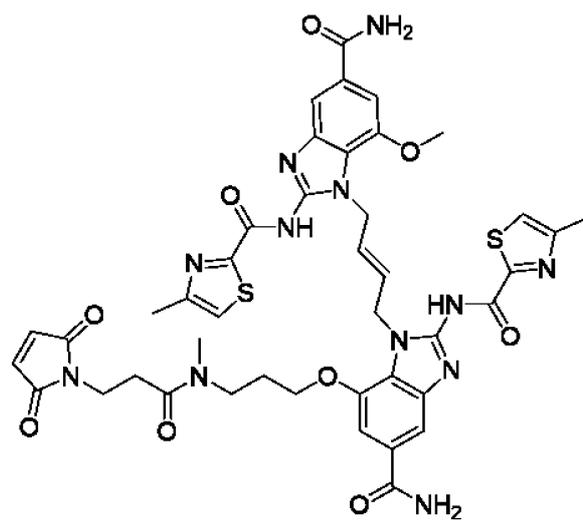
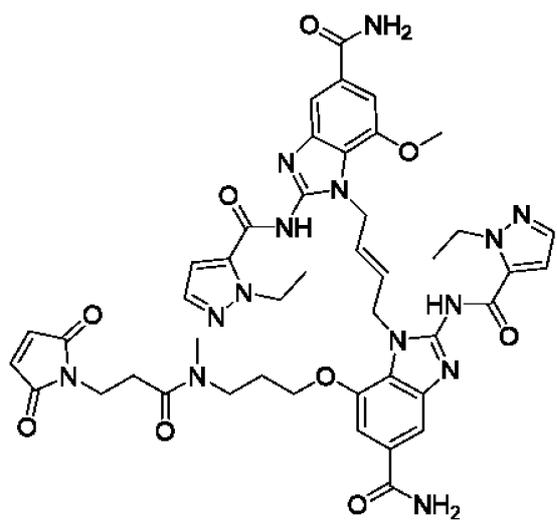


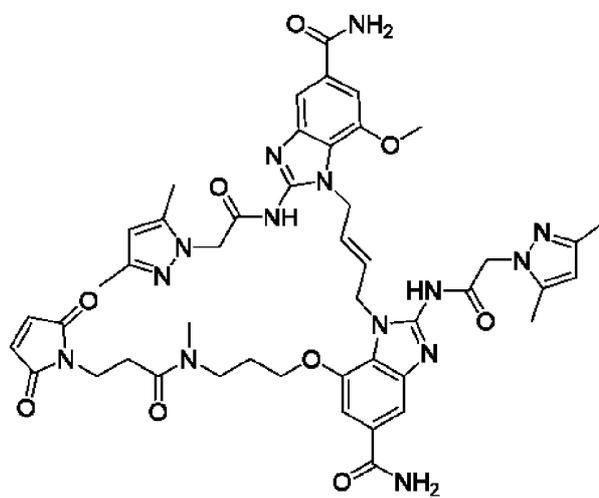
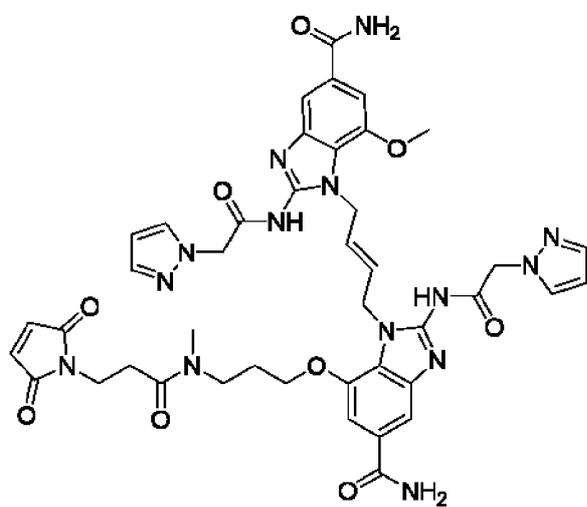
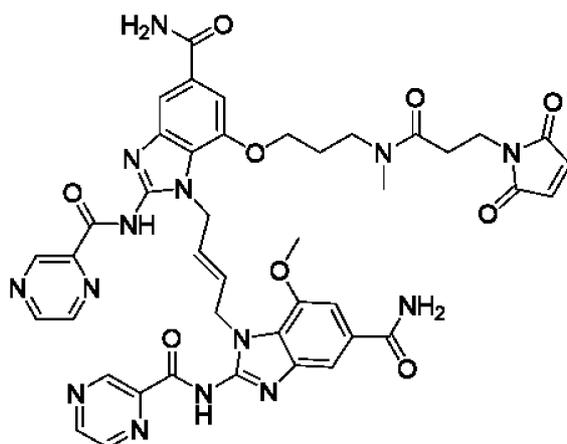
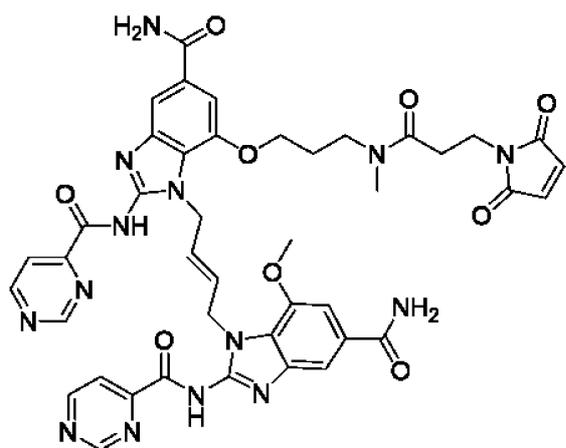
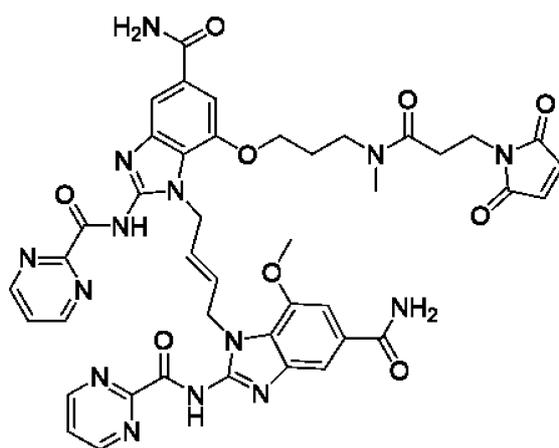
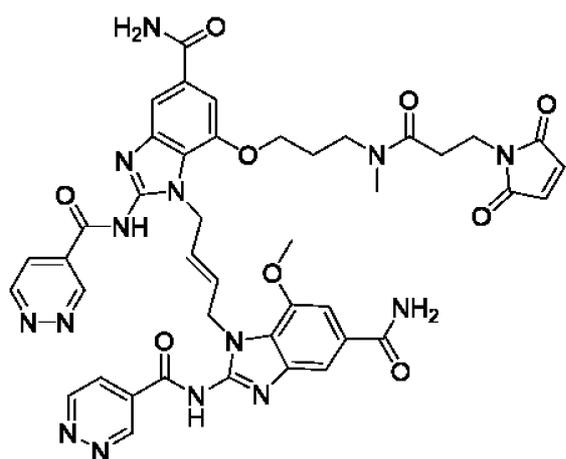


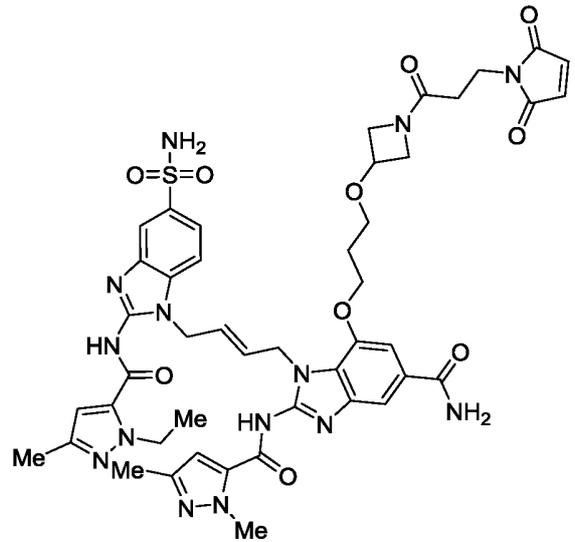
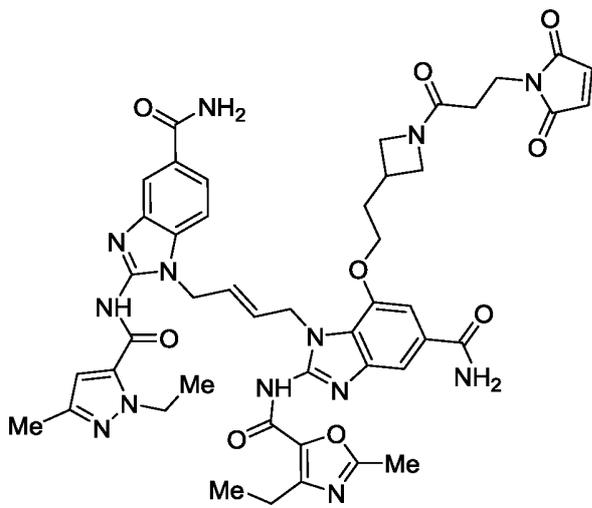
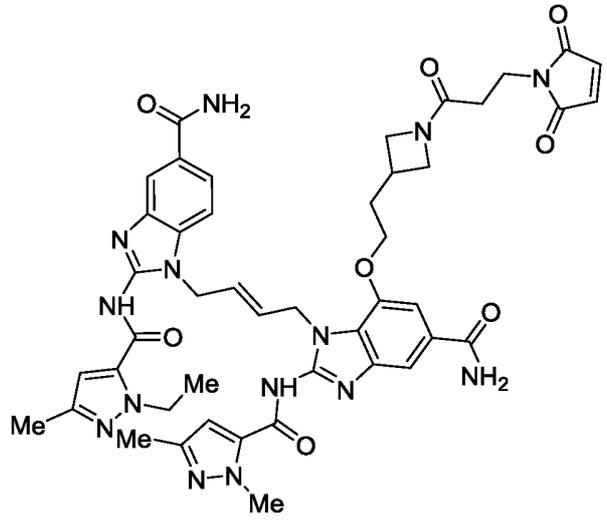
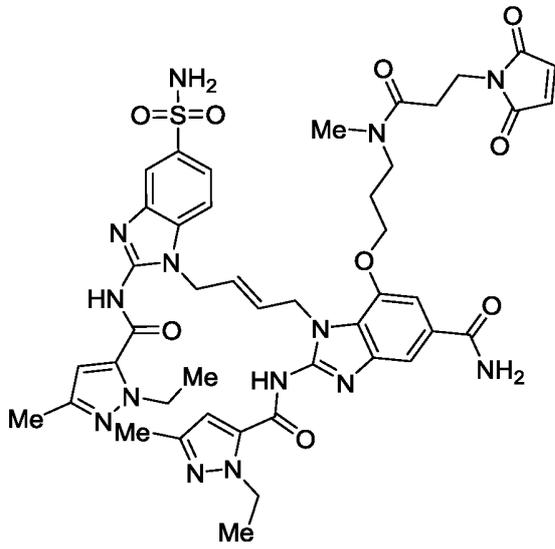
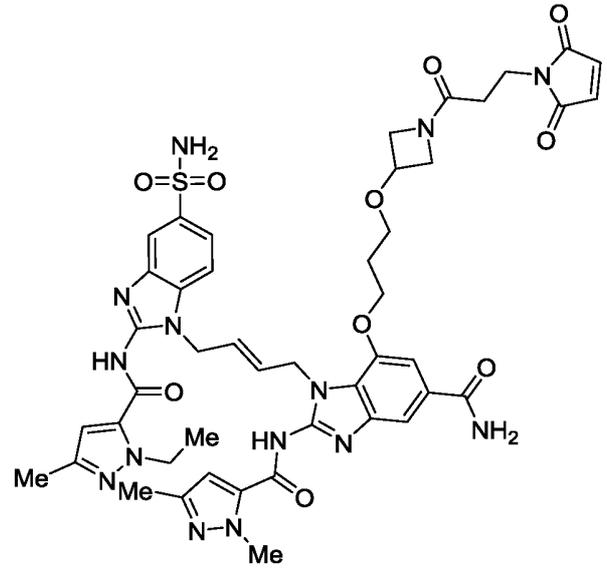
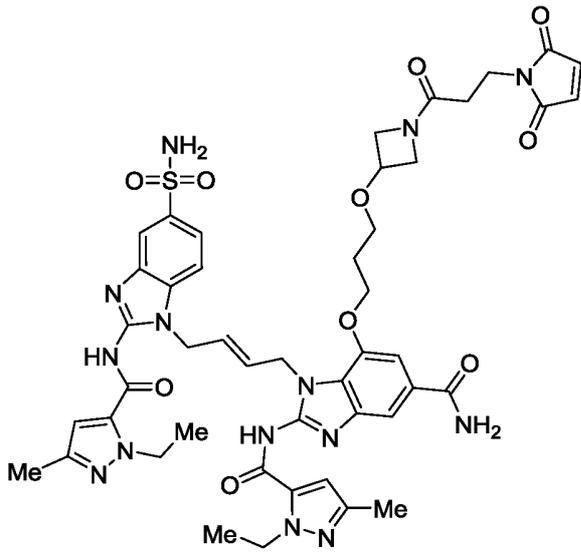


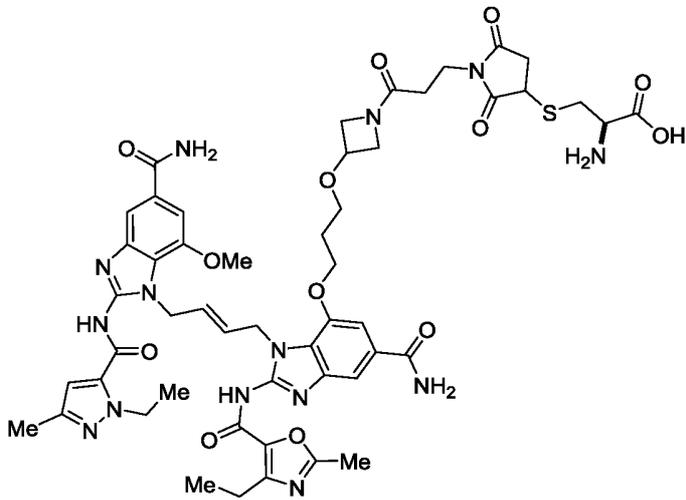
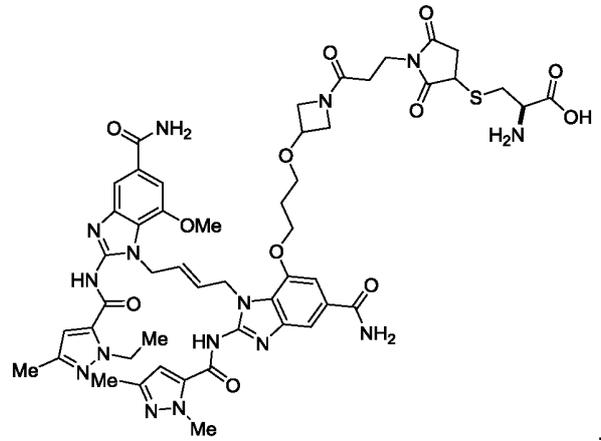
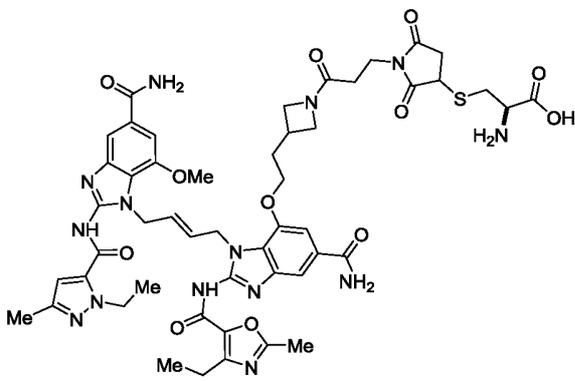
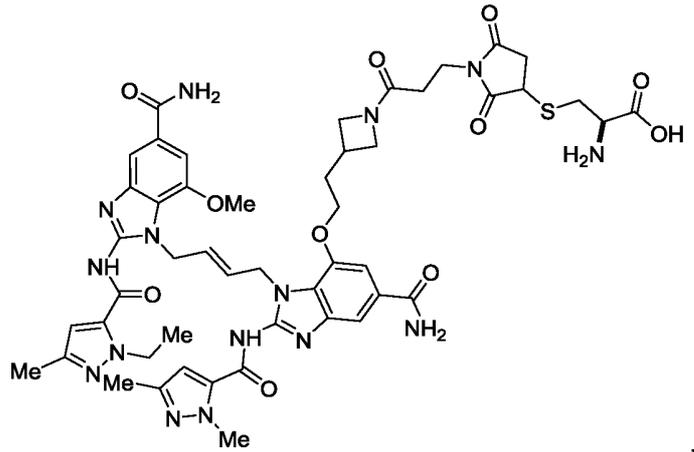
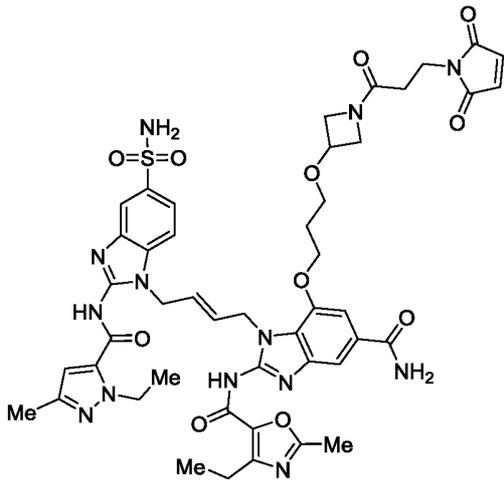








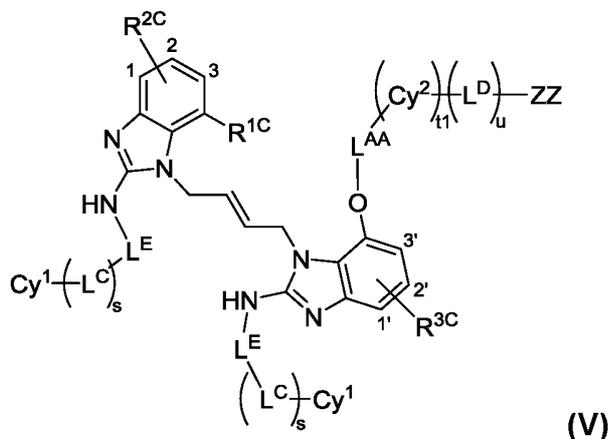




и его фармацевтически приемлемые соли.

Соединения формулы (V)

[0252] Некоторые варианты осуществления включают соединение формулы (V):



или его фармацевтически приемлемую соль, где:

R^{1C} - водород, гидроксил, C_{1-6} алкокси, $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$ алкокси, $-(CH_2)_n-NR^A R^B$ или PEG2 до PEG4,

R^{2C} - $-CO_2R^M$, $-(C=O)NR^C R^D$, $-S(O)_2NR^C R^D$, $-S(O)_2R^M$, $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, $-(CH_2)_q-OR^M$, $-O(C=O)-NR^E R^F$ или $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$, при этом R^{2C} присоединен к любой позиции, отмеченной цифрами 1, 2 или 3,

R^{3C} - $-CO_2R^M$, $-(C=O)NR^C R^D$, $-S(O)_2NR^C R^D$, $-S(O)_2R^M$, $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, $-(CH_2)_q-OR^M$, $-O(C=O)-NR^E R^F$ или $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$, при этом R^{3C} присоединен к любой позиции, отмеченной цифрами 1', 2' или 3',

каждый из R^A , R^B , R^C , R^D , R^E , R^F и R^M независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил,

каждый нижний индекс n независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

каждый нижний индекс q независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

L^E - $-(C=O)-$ или $-S(O)_2-$,

L^C - $-(CR^I R^J)_{1-3}-$

каждый из R^I и R^J независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил, нижний индекс s представляет собой 0 или 1,

каждый Cy^1 независимо представляет собой 4-6-членный гетероцикл, 5-6-членный гетероарил или C_{3-6} циклоалкил, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K ,

каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $=O$, $-NR^{d2}R^{e2}$, $-C(O)NR^{d2}R^{e2}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил),

каждый из R^{d2} и R^{e2} независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)NR^L(CH_2)_{1-6}-$, $-(CH_2)_{1-6}O-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}O-$ или $-C(O)NR^L(CH_2)_{1-6}O-$,

R^L представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

Cy^2 - C_{3-6} циклоалкил, 4-6-членный гетероцикл, 5-6-членный гетероарил или фенил, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^U ,

каждый R^U независимо выбирается из группы, включающей: $-CO_2R^{i1}$, $-(C=O)NR^{d3}R^{e3}$, $-S(O)_2NR^{d3}R^{e3}$, $-(CH_2)_{q1}-NR^{g1}R^{h1}$, $-(CH_2)_{q1}-OR^{i1}$ и $-(CH_2)_{q1}-(OCH_2CH_2)_{1-8}OH$,

каждый из R^{d3} , R^{e3} , R^{g1} , R^{h1} и R^{i1} независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил,

нижний индекс $q1$ представляет собой целое число от 0 до 6,

нижний индекс $t1$ представляет собой 0 или 1,

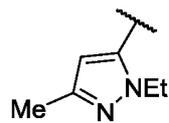
L^D - $-(CH_2)_{1-6}-$,

нижний индекс u представляет собой 0 или 1,

если $t1$ представляет собой 0, ZZ представляет собой $-NR^QR^R$, $-H^+(C_{1-6}$ алкил) R^QR^R , $-C(=O)N^SR^T$, $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил), $-CO_2H$ или аминокислоту, или, если $t1$ представляет собой 1, ZZ представляет собой водород, $-NR^QR^R$, $-H^+(C_{1-6}$ алкил) R^QR^R , $-C(=O)N^SR^T$, $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил), $-CO_2H$ или аминокислоту,

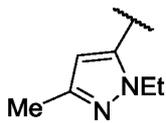
R^Q представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{3-6} циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{3-6}$ циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{1-3}$ алкокси, $-(CH_2)_{1-3}$ 4-6-членный гетероцикл или $-(CH_2)_{1-3}$ 5-6-членный гетероарил, при условии, что,

если t_1 представляет собой 0, а оба Cy^1 представляют собой



, то R^Q представляет собой C_{2-6} алкил, C_{3-6} циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{3-6}$ циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{1-3}$ алкокси, $-(CH_2)_{1-3}$ 4-6-членный гетероцикл или $-(CH_2)_{1-3}$ 5-6-членный гетероарил, и

если t_1 представляет собой 0, и по меньшей мере один Cy^1



представляет собой не Me , то ZZ представляет собой $-NR^Q R^R$, $-H^+(C_{1-6} \text{ алкил})R^Q R^R$ или $-C(=O)N^S R^T$, а R^Q представляет собой C_{1-6} алкил, C_{3-6} циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{3-6}$ циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{1-3}$ алкокси, $-(CH_2)_{1-3}$ 4-6-членный гетероцикл или $-(CH_2)_{1-3}$ 5-6-членный гетероарил, и

каждый из R^R , R^S и R^T независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил.

[0253] В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой гидроксил. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой C_{1-6} алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой метокси-группу. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$ алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой метоксиэтил. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой функциональную группу PEG от PEG2 до PEG4. В некоторых вариантах осуществления R^{1C} представляет собой $-(CH_2)_n-NR^A R^B$. В некоторых вариантах осуществления R^A и R^B оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^A и R^B независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^A и R^B представляет собой водород, а другой из R^A и R^B представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 2. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс n представляет собой 3, 4, 5 или 6.

[0254] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} и R^{3C} представляют собой $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^{\text{C}}\text{R}^{\text{D}}$ или $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$, при этом R^{2C} и R^{3C} являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления R^{2C} и R^{3C} независимо представляют собой $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^{\text{C}}\text{R}^{\text{D}}$ или $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$, при этом R^{2C} и R^{3C} являются различными.

[0255] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^{\text{C}}\text{R}^{\text{D}}$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^{\text{C}}\text{R}^{\text{D}}$. В некоторых вариантах осуществления R^{C} и R^{D} оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{C} и R^{D} независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^{C} и R^{D} представляет собой водород, а другой из R^{C} и R^{D} представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс m представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс m представляет собой 1.

[0256] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$. В некоторых вариантах осуществления R^{E} и R^{F} представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{E} и R^{F} независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^{E} и R^{F} представляет собой водород, а другой из R^{E} и R^{F} представляет собой C_{1-3} алкил.

[0257] В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 6.

[0258] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{M}}$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{M}}$.

[0259] В некоторых вариантах осуществления R^{M} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{M} представляет собой C_{1-3} алкил.

[0260] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-(\text{CH}_2)_q\text{-OR}^{\text{M}}$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-(\text{CH}_2)_q\text{-OR}^{\text{M}}$.

[0261] В некоторых вариантах осуществления R^{M} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс q представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс q представляет собой 1.

[0262] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-O(C=O)-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-O(C=O)-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления R^E и R^F оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^E и R^F независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^E и R^F представляет собой водород, а другой из R^E и R^F представляет собой C_{1-3} алкил.

[0263] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$. В некоторых вариантах осуществления все R^E , R^F и R^M представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^E , R^F и R^M независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^E , R^F и R^M представляет собой C_{1-3} алкил, а остальные R^E , R^F и R^M представляют собой водород.

[0264] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-S(O)_2NR^C R^D$.

[0265] В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-S(O)_2NR^C R^D$. В некоторых вариантах осуществления R^C и R^D оба представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^C и R^D независимо представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^C и R^D представляет собой водород, а другой из R^C и R^D представляет собой C_{1-3} алкил.

[0266] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} представляет собой $-S(O)_2R^M$. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} представляет собой $-S(O)_2R^M$. В некоторых вариантах осуществления R^M представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^M представляет собой C_{1-3} алкил.

[0267] В некоторых вариантах осуществления R^{2C} присоединен в позиции 1. В некоторых вариантах осуществления R^{2C} присоединен в позиции 2. В некоторых вариантах осуществления R^{2C} присоединен в позиции 3. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} присоединен в позиции 1'. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} присоединен в позиции 2'. В некоторых вариантах осуществления R^{3C} присоединен в позиции 3'.

[0268] В некоторых вариантах осуществления L^E представляет собой $-(C=O)-$. В некоторых вариантах осуществления L^E представляет собой $-S(O)_2-$.

[0269] В некоторых вариантах осуществления каждый из R^I и R^J представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^I и R^J представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^I и R^J представляет собой водород, а другой из R^I и R^J представляет собой C_{1-3} алкил.

[0270] В некоторых вариантах осуществления L^C представляет собой $-(CR^I R^J)-$.

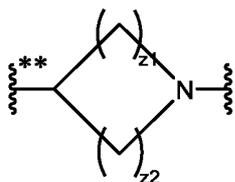
[0271] В некоторых вариантах осуществления нижний индекс s представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс s представляет собой 1.

[0272] В некоторых вариантах осуществления каждый Su^1 независимо представляет собой 5-6-членный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления каждый Su^1 представляет собой пиразол, необязательно замещенный одним или более R^K . В некоторых вариантах осуществления каждый Su^1 независимо выбирается из группы, включающей: пиразол, имидазол, фуран, тиофен, тиазол, изотиазол, охазол, изохазол, пиррол, пиридазин, пиридин, пиримидин и пиразин, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K . В некоторых вариантах осуществления каждый Su^1 независимо выбирается из группы, включающей: имидазол, фуран, тиофен, тиазол, изотиазол, охазол, изохазол, пиррол, пиридазин, пиридин, пиримидин и пиразин, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K . В некоторых вариантах осуществления каждый Su^1 независимо представляет собой C_{4-5} циклоалкил, необязательно замещенный одним или более R^K . В некоторых вариантах осуществления каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей C. В некоторых вариантах осуществления каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: метил, этил, $-CF_3$ и галоген.

[0273] В некоторых вариантах осуществления все Su^1 являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления все Su^1 являются различными.

[0274] В некоторых вариантах осуществления L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}-$. В некоторых вариантах осуществления L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-3}-$. В некоторых вариантах осуществления L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}O-$. В некоторых вариантах осуществления L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-3}O-$.

[0275] В некоторых вариантах осуществления Cy^2 представляет собой 4-6-членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления Cy^2 имеет структуру:

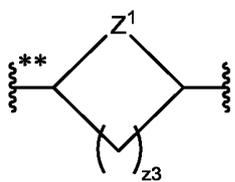


, где каждый из нижних индексов $z1$ и $z2$ независимо представляет собой целое число от 1 до 3, а ** показывает присоединение к L^{AA} .

[0276] В некоторых вариантах осуществления нижний индекс $z1$ и нижний индекс $z2$ представляют собой 1. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс $z1$ и нижний индекс $z2$ представляют собой 2.

[0277] В некоторых вариантах осуществления нижний индекс $z1$ представляет собой 1 и нижний индекс $z2$ представляет собой 2.

[0278] В некоторых вариантах осуществления Cy^2 имеет структуру:

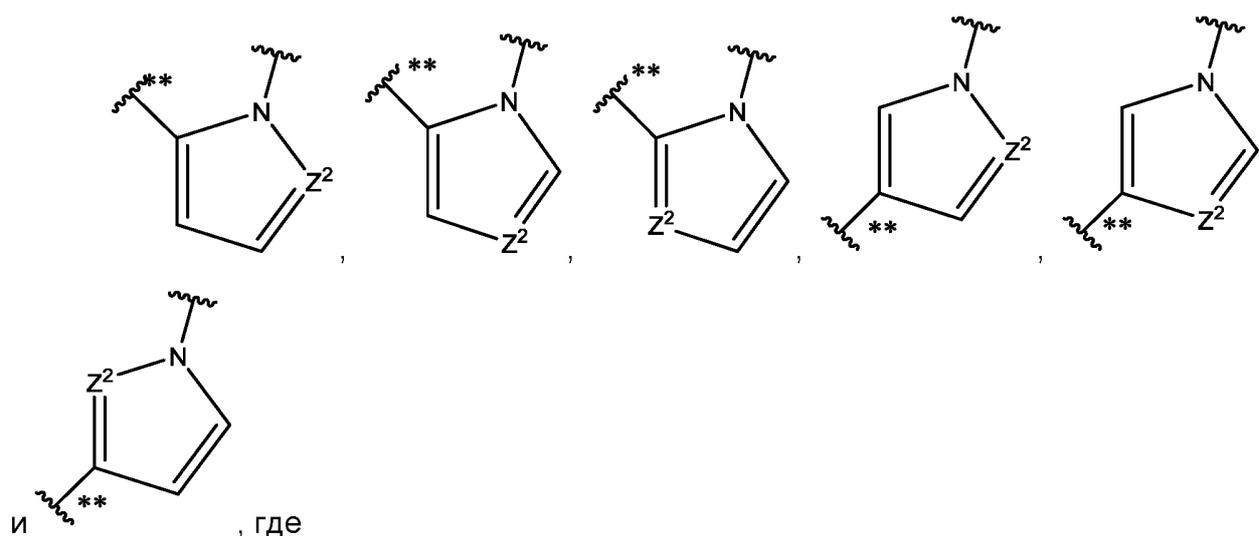


, где Z^1 выбирается из группы, включающей: $-O-$, $-S-$, $-CR^N R^O-$ и $-NR^P-$, R^N , R^O и R^P независимо представляют собой водород или C_{1-6} алкил, нижний индекс $z3$ представляет собой целое число от 1 до 3, а ** показывает присоединение к L^{AA} .

[0279] В некоторых вариантах осуществления R^N и R^O представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^P представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^P представляет собой метил.

[0280] В некоторых вариантах осуществления Cy^2 представляет собой 5-6-членный гетероарил.

[0281] В некоторых вариантах осуществления Cy^2 выбирается из группы, включающей:



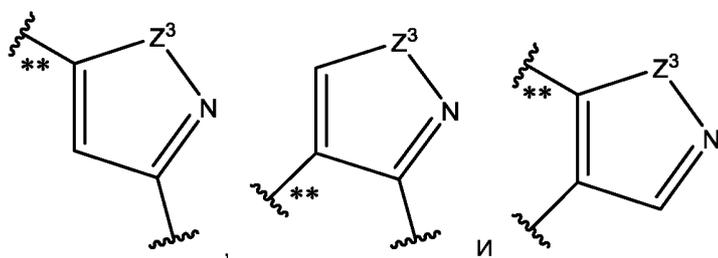
Z^2 - $=CR^N-$ или $=H-$,

R^N - водород или C_{1-6} алкил, а

** показывает присоединение к L^{AA} .

[0282] В некоторых вариантах осуществления Z^2 представляет собой $=CR^N-$ и R^N представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления Z^2 представляет собой $=H-$.

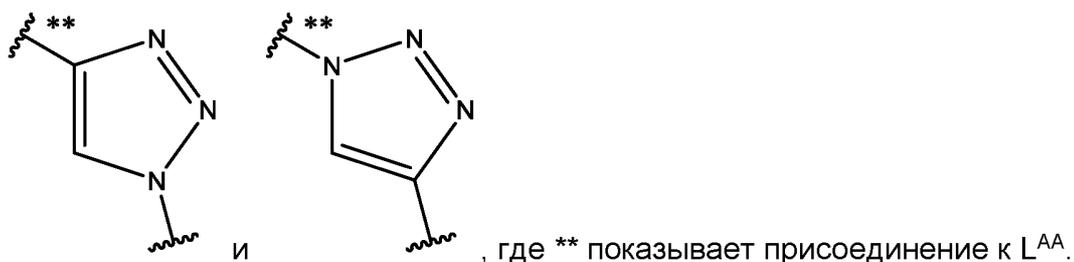
[0283] В некоторых вариантах осуществления Su^2 выбирается из группы, включающей:



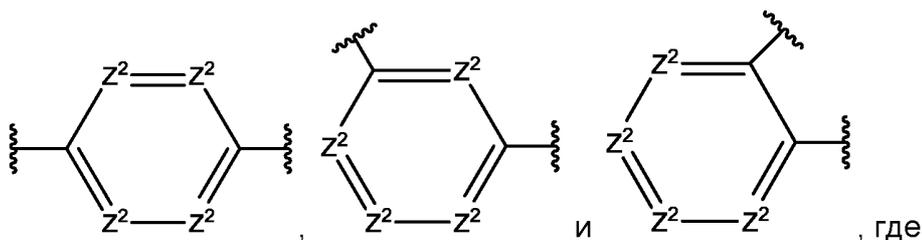
$O-$ или $-S-$, а ** показывает присоединение к L^{AA} , L^D , NR^{HH} , Y , W или L^{BB} .

[0284] В некоторых вариантах осуществления ** показывает присоединение к L^{AA} . В некоторых вариантах осуществления ** показывает присоединение к L^D , NR^{HH} , Y , W или L^{BB} .

[0285] В некоторых вариантах осуществления Su^2 выбирается из группы, включающей:



[0286] В некоторых вариантах осуществления Cu^2 выбирается из группы, включающей:

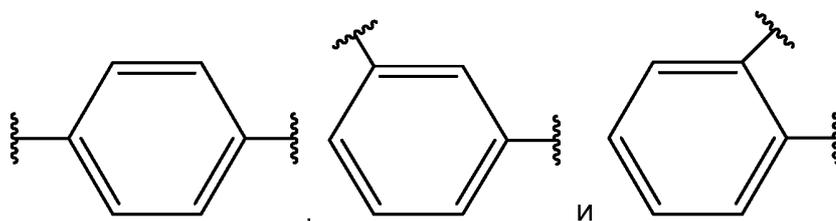


каждый Z^2 независимо представляет собой $=CR^N-$ или $=H-$, а каждый R^N представляет собой водород или C_{1-6} алкил.

[0287] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один Z^2 представляет собой $=H-$. В некоторых вариантах осуществления один Z^2 представляет собой $=H-$, а остальные переменные Z^2 представляют собой $=CR^N-$. В некоторых вариантах осуществления два Z^2 представляют собой $-NR^P-$, а остальные переменные Z^2 представляют собой $=CR^N-$.

[0288] В некоторых вариантах осуществления R^N представляет собой водород.

[0289] В некоторых вариантах осуществления Cu^2 выбирается из группы, включающей:



[0290] В некоторых вариантах осуществления Cu^2 представляет собой циклобутил.

[0291] В некоторых вариантах осуществления R^{d3} , R^{e3} , R^{g1} , R^{h1} и R^{i1} независимо представляют собой водород или $-CH_3$.

[0292] В некоторых вариантах осуществления каждый R^U независимо выбирается из $-CO_2H$, $-(C=O)NH_2$, $-S(O)_2NH_2$, $-CH_2NH_2$ и $-CH_2OH$.

[0293] В некоторых вариантах осуществления $t1$ представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления $t1$ представляет собой 1.

[0294] В некоторых вариантах осуществления u представляет собой 1, а L^D представляет собой $-(CH_2)_{1-3}$. В некоторых вариантах осуществления u представляет собой 0.

[0295] В некоторых вариантах осуществления ZZ представляет собой $-NR^QR^R$. В некоторых вариантах осуществления R^Q представляет собой C_{1-6} алкил, в некоторых вариантах осуществления R^Q представляет собой C_{3-6} циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^Q представляет собой циклопропил. В некоторых вариантах осуществления R^Q представляет собой $-(CH_2)_{1-3}C_{3-6}$ циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^R представляет собой водород.

[0296] В некоторых вариантах осуществления ZZ представляет собой $-H^+(C_{1-6} \text{ алкил})R^QR^R$.

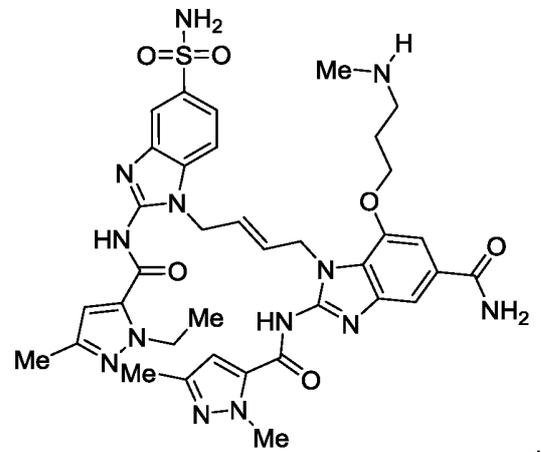
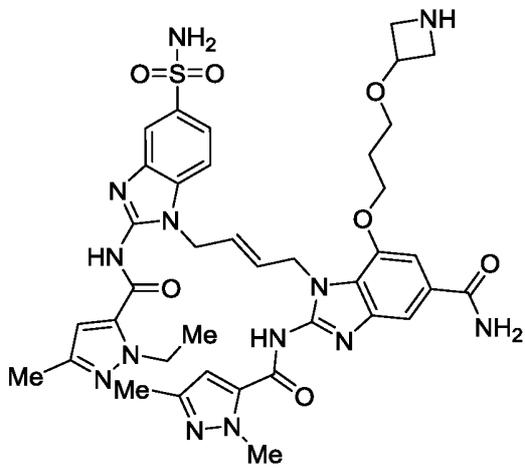
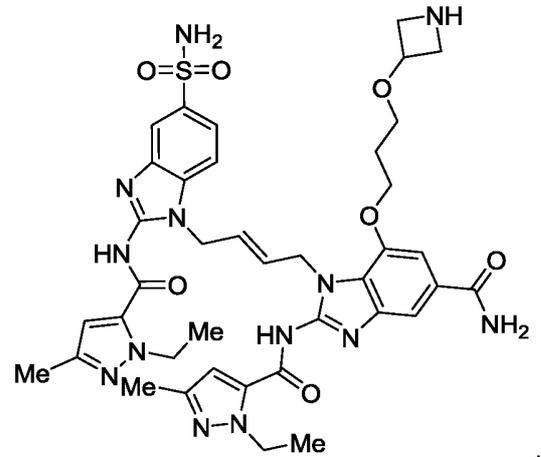
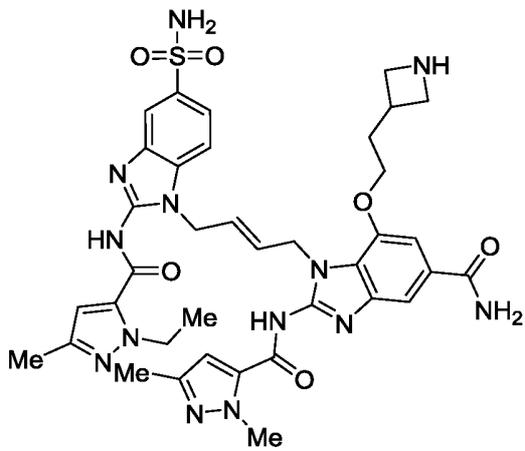
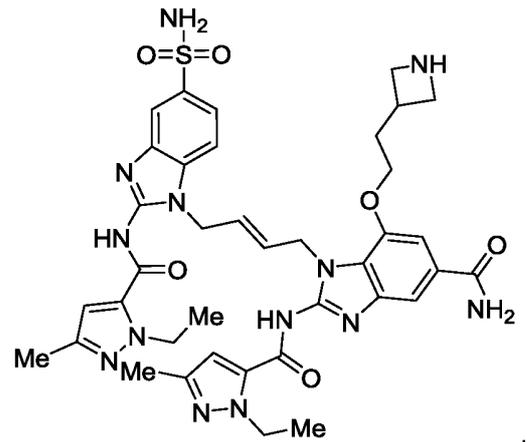
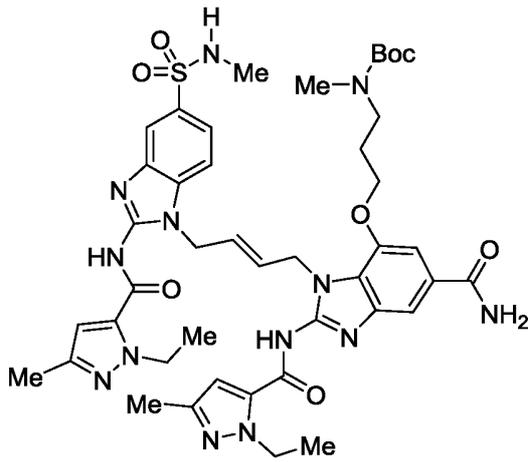
[0297] В некоторых вариантах осуществления ZZ представляет собой $-C(=O)N^SR^T$.

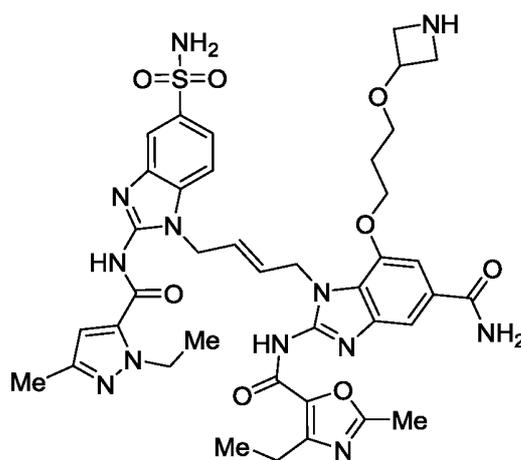
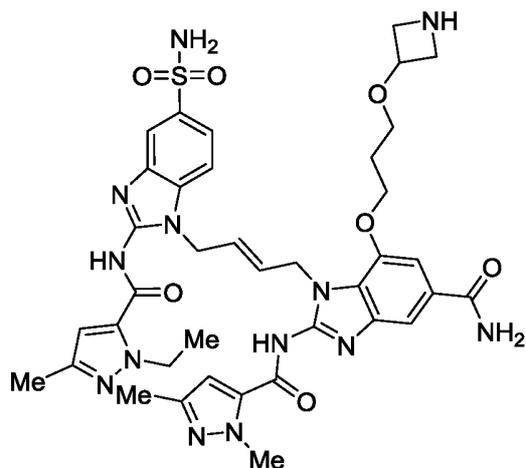
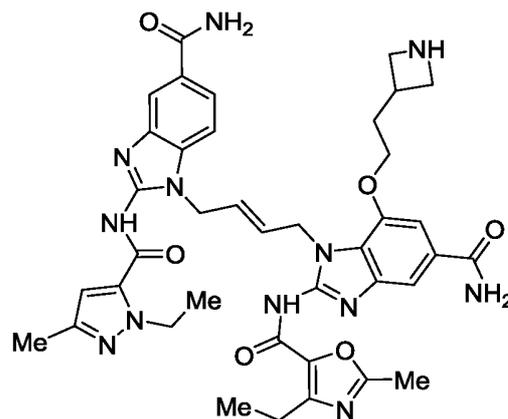
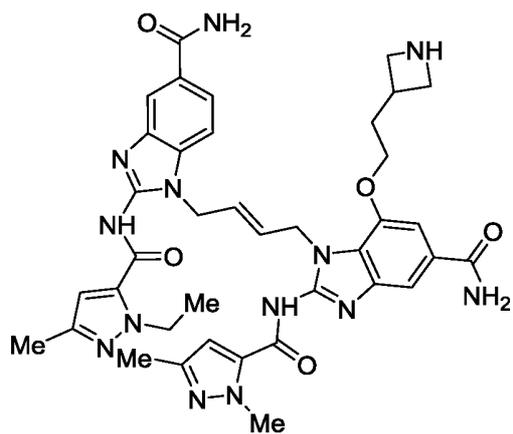
[0298] В некоторых вариантах осуществления ZZ представляет собой $-C(O)O(t\text{-бутил})$.

[0299] В некоторых вариантах осуществления ZZ представляет собой $-CO_2H$.

[0300] В некоторых вариантах осуществления ZZ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей: аланин, валин, изолейцин, лейцин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, гистидин, аргинин, глицин, серин, треонин, фенилаланин, *O*-метилсерин, *O*-метиласпарагиновую кислоту, *O*-метилглутаминовую кислоту, *N*-метиллизин, *O*-метилтирозин, *O*-метилгистидин и *O*-метилтреонин.

[0301] Некоторые варианты осуществления формулы (V) включают соединения, выбранные из группы, включающей:





и IX

фармацевтически приемлемые соли.

Линкеры

[0302] Согласно данному описанию линкеры (L) в соответствии с определением применительно к формуле (I), (II) и (II-A) представляют собой необязательно присутствующие группы, которые соединяют X^A или X^B при его наличии с M или с M^1 . Например, A при его наличии ковалентно соединяется с M или с M^1 , а Y при его наличии соединяется с X^B или с X^A (если X^B отсутствует). В некоторых вариантах осуществления линкер (L) имеет формулу $-(A)_a-(W)_w-(Y)_y$, где:

A - C_{2-20} алкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{a1} , или 2-40-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1} ,

каждый R^{a1} независимо выбирается из группы, включающей:

C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, -OH, =O, $-NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил),

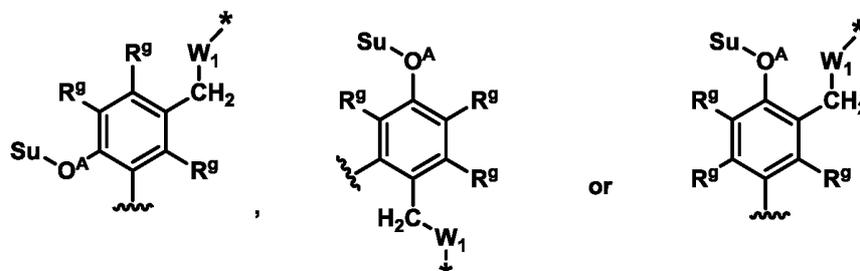
каждый R^{b1} независимо выбирается из группы, включающей:

C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $=O$, $-NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил),

каждый из R^{d1} и R^{e1} независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

а представляет собой 0 или 1,

W состоит из 1-12 аминокислот или имеет структуру:



где Su - сахарный компонент,

$-O^A$ - гликозидная связь,

каждый R^9 независимо представляет собой водород, галоген, $-CN$ или $-NO_2$,

W_1 отсутствует или представляет собой $-O-C(=O)-$,

\sim представляет собой ковалентное присоединение к A при его наличии или к M в соединении формулы (II) и ковалентное присоединение к A, M или M^1 в конъюгатах ADC и соединениях согласно данному описанию,

* представляет собой ковалентное присоединение к Y, X^A или X^B в соединениях формулы (II) и к Y, X^A или X^B в конъюгатах ADC согласно данному описанию,

w представляет собой 0 или 1,

Y представляет собой саморасщепляющуюся функциональную группу, несаморасщепляющуюся высвобождаемую функциональную группу или нерасщепляемую функциональную группу, а

u представляет собой 0 или 1.

[0303] В некоторых вариантах осуществления $-O^A$ представляет собой гликозидную связь. В некоторых вариантах осуществления гликозидная связь обеспечивает сайт расщепления β -глюкуронидазой или β -маннозидазой. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления β -глюкуронидазой расщепляется

лизосомальной β -глюкуронидазой человека. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления β -маннозидазой расщепляется лизосомальной β -маннозидазой человека.

[0304] В некоторых вариантах осуществления a представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления a представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления w представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления w представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления y представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления y представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления $a + y + w = 1$. В некоторых вариантах осуществления $a + y + w = 2$. В некоторых вариантах осуществления $a + y + w = 3$. В некоторых вариантах осуществления $a + y + w = 0$ (т. е., линкер (L) отсутствует).

[0305] В некоторых вариантах осуществления A представляет собой C_{2-20} алкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{a1} . В некоторых вариантах осуществления A представляет собой C_{2-10} алкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{a1} . В некоторых вариантах осуществления A представляет собой C_{4-10} алкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{a1} . В некоторых вариантах осуществления A представляет собой C_{2-20} алкилен, замещенный R^{a1} . В некоторых вариантах осуществления A представляет собой C_{2-10} алкилен, замещенный R^{a1} . В некоторых вариантах осуществления A представляет собой C_{2-10} алкилен, замещенный R^{a1} .

[0306] В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, -OH, =O, $-NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил). В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} представляет собой C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} представляет собой C_{1-6} галоалкил. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} представляет собой C_{1-6} алкокси. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} представляет собой C_{1-6} галоалкокси. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} представляет собой галоген. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} представляет собой -OH. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} представляет собой =O. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} представляет собой $-NR^{d1}R^{e1}$. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} представляет собой $C(O)NR^{d1}R^{e1}$. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1}

представляет собой $-C(O)(C_{1-6} \text{ алкил})$. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{a1} представляет собой

$-C(O)O(C_{1-6} \text{ алкил})$. В некоторых вариантах осуществления один из R^{a1} представляет собой $-NR^{d1}R^{e1}$. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой C_{2-20} алкилен, замещенный 1 или 2 R^{a1} , каждый из которых представляет собой $=O$.

[0307] В некоторых вариантах осуществления R^{d1} и R^{e1} независимо представляют собой водород или C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^{d1} и R^{e1} представляет собой водород, а другой из R^{d1} и R^{e1} представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{d1} и R^{e1} представляют собой водород или C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{d1} и R^{e1} оба представляют собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{d1} и R^{e1} оба представляют собой метил.

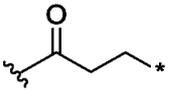
[0308] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой C_{2-20} алкилен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой C_{2-10} алкилен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой C_{2-6} алкилен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой C_{4-10} алкилен.

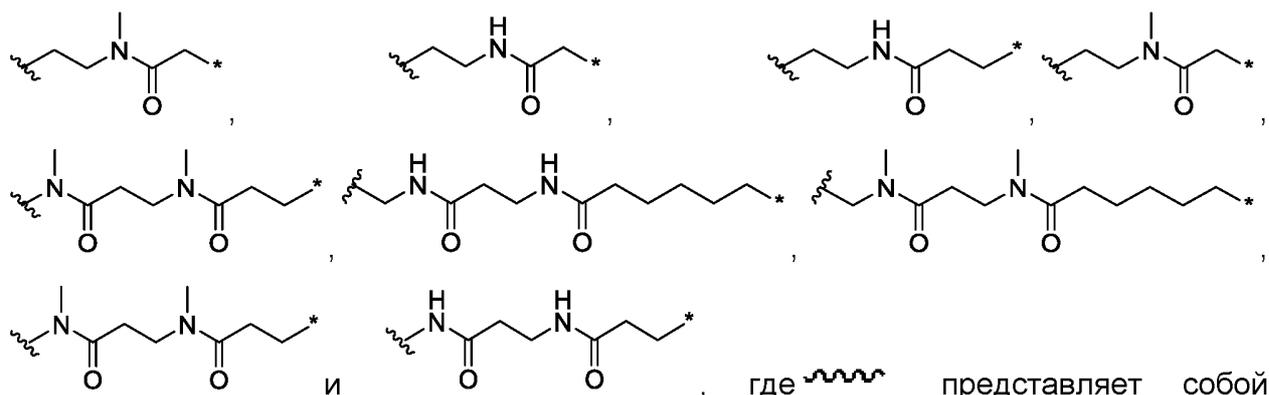
[0309] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 2 - 40-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1} . В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 2 - 20-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1} . В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 2 - 12-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1} . В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 4 - 12-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1} . В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 4 - 8-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1} . В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 2 - 40-членный гетероалкилен, замещенный R^{b1} . В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 2 - 20-членный гетероалкилен, замещенный R^{b1} . В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 2 - 12-членный гетероалкилен, замещенный R^{b1} . В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 4 - 12-членный гетероалкилен, замещенный R^{b1} . В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 4 - 8-членный гетероалкилен, замещенный R^{b1} .

[0310] В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $-NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил). В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} представляет собой C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} представляет собой C_{1-6} галоалкил. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} представляет собой C_{1-6} алкокси. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} представляет собой C_{1-6} галоалкокси. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} представляет собой галоген. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} представляет собой $-OH$. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} представляет собой $-NR^{d1}R^{e1}$. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} представляет собой $C(O)NR^{d1}R^{e1}$. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} представляет собой $-C(O)(C_{1-6}$ алкил). В некоторых вариантах осуществления каждый R^{b1} представляет собой $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил). В некоторых вариантах осуществления один из R^{b1} представляет собой $-NR^{d1}R^{e1}$.

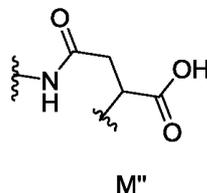
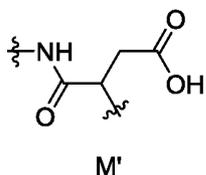
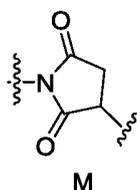
[0311] В некоторых вариантах осуществления R^{d1} и R^{e1} независимо представляют собой водород или C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления один из R^{d1} и R^{e1} представляет собой водород, а другой из R^{d1} и R^{e1} представляет собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{d1} и R^{e1} оба представляют собой водород или C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{d1} и R^{e1} оба представляют собой C_{1-3} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{d1} и R^{e1} оба представляют собой метил.

[0312] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 2 - 40-членный гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 2 - 20-членный гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 2 - 12-членный гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 4 - 12-членный гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 4 - 8-членный гетероалкилен. В некоторых

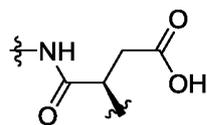
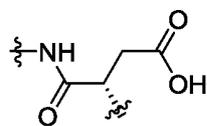
вариантах осуществления А выбирается из группы, включающей: ,

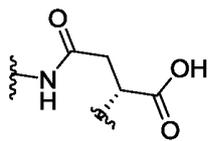


В некоторых вариантах осуществления M представляет собой сукцинимид. В некоторых вариантах осуществления M представляет собой гидролизованный сукцинимид. В некоторых вариантах осуществления M^1 представляет собой сукцинимид. В некоторых вариантах осуществления M^1 представляет собой гидролизованный сукцинимид. Следует понимать, что гидролизованный сукцинимид может существовать в двух региоизомерных формах. Ниже приведены примеры таких форм гидролиза M, при этом структуры, представляющие региоизомеры, полученные в результате этого гидролиза, имеют формулы M' и M'' , а волнистые линии, прилегающие к связям, соответствуют определению для A.

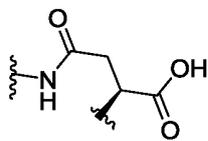


[0313] В некоторых вариантах осуществления M' представляет собой

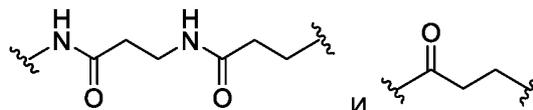




. В некоторых вариантах осуществления M'' представляет собой



[0314] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой функциональную группу PEG4-PEG12. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой функциональную группу PEG4-PEG8. Репрезентативные группы



А включают, в частности, но без ограничения:

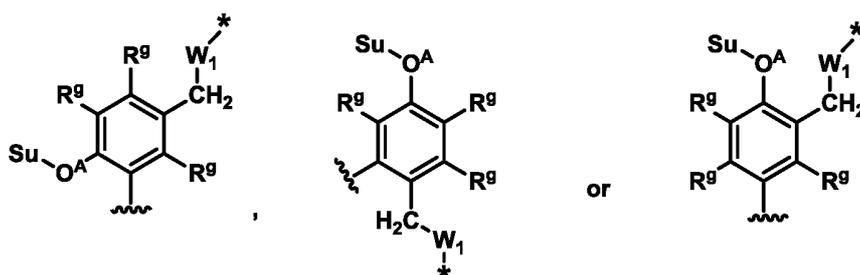
[0315] В некоторых вариантах осуществления w представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления w представляет собой 1.

[0316] В некоторых вариантах осуществления W представляет собой одну аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой одну природную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой пептид, содержащий 2-12 аминокислот, при этом каждая из аминокислот независимо представляет собой природную или неприродную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления природная или неприродная аминокислота представляет собой D- или L-изомер. В некоторых вариантах осуществления каждая из аминокислот независимо представляет собой природную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления каждый W независимо представляет собой альфа, бета или гамма аминокислоту, которая является природной или неприродной. В некоторых вариантах осуществления W содержит природную аминокислоту, связанную с неприродной аминокислотой. В некоторых вариантах осуществления W содержит природную или неприродную аминокислоту, связанную с D-изомером природной или неприродной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой дипептид. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой трипептид. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой тетрапептид. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой пентапептид. В некоторых вариантах осуществления W

представляет собой гексапептид. В некоторых вариантах осуществления W содержит 7, 8, 9, 10, 11 или 12 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления каждая из аминокислот в W независимо выбирается из группы, включающей: валин, аланин, β -аланин, глицин, лизин, лейцин, фенилаланин, пролин, аспарагиновую кислоту, серин, глутаминовую кислоту, метиловый эфир гомосерина, метиловый эфир аспарагиновой кислоты, N,N -диметил лизин, аргинин, валин-аланин, валин-цитруллин, фенилаланин-лизин и цитруллин. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой аспарагиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой лизин. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой аланин. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой метиловый эфир аспарагиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой N,N -диметил лизин. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой метиловый эфир гомосерина. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой серин. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой валин-аланин.

[0317] В некоторых вариантах осуществления w представляет собой 1, W содержит от 1 до 12 аминокислот, а связь между W и X^B или между W и Y ферментно расщепляется опухолеассоциированной протеазой. В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированная протеаза представляет собой катепсин. В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированная протеаза представляет собой катепсин B, C или D.

[0318] В некоторых вариантах осуществления w представляет собой 1, а W имеет структуру:



где Su - сахарный компонент,

$-O^A$ - гликозидная связь,

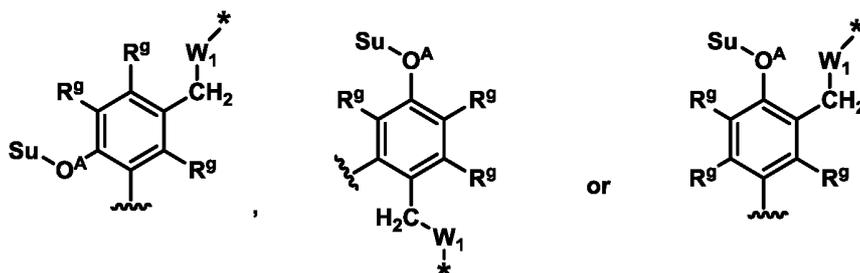
каждый R^9 независимо представляет собой водород, галоген, $-CN$ или $-NO_2$,

W_1 отсутствует или представляет собой $-O-C(=O)-$,

 представляет собой ковалентное присоединение к А или к М в соединениях формулы (II), и

* представляет собой ковалентное присоединение к Y, X^A или X^B в соединениях формулы (II),

[0319] В некоторых вариантах осуществления w представляет собой 1, а W имеет структуру:



где Su - сахарный компонент,

$-O^A-$ - гликозидная связь,

каждый R^9 независимо представляет собой водород, галоген, $-CN$ или $-NO_2$,

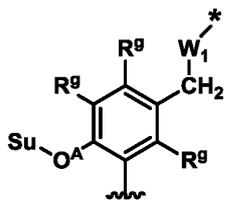
W_1 отсутствует или представляет собой $-O-C(=O)-$,

 представляет собой ковалентное присоединение к А или к М в конъюгатах ADC согласно данному описанию, а

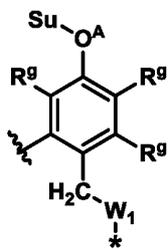
* представляет собой ковалентное присоединение к Y, X^A или X^B в конъюгатах ADC согласно данному описанию,

[0320] В некоторых вариантах осуществления $-O^A-$ представляет собой гликозидную связь. В некоторых вариантах осуществления гликозидная связь обеспечивает сайт расщепления β -глюкуронидазой или β -маннозидазой. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления β -глюкуронидазой расщепляется лизосомальной β -глюкуронидазой человека. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления β -маннозидазой расщепляется лизосомальной β -маннозидазой человека.

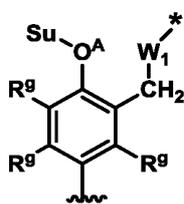
[0321] В некоторых вариантах осуществления W представляет собой



В некоторых вариантах осуществления W представляет собой



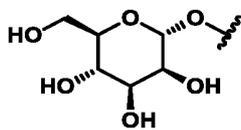
В некоторых вариантах осуществления W представляет собой



[0322] В некоторых вариантах осуществления каждый R^9 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления один R^9 представляет собой водород, а остальные переменные R^9 независимо представляют собой гало, $-CN$ или $-NO_2$. В некоторых вариантах осуществления два R^9 представляют собой водород, а остальные переменные R^9 представляет собой гало, $-CN$ или $-NO_2$.

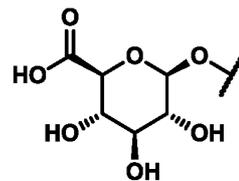
[0323] В некоторых вариантах осуществления один R^9 представляет собой галоген, $-CN$ или $-NO_2$, а другие R^9 представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый R^9 представляет собой водород.

[0324] В некоторых вариантах осуществления O^A-Su имеет нейтральный заряд при физиологическом значении pH. В некоторых вариантах осуществления O^A-Su представляет собой маннозу. В некоторых вариантах осуществления O^A-Su



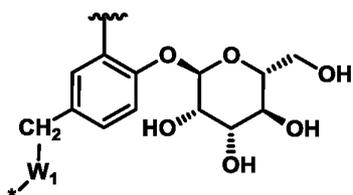
представляет собой . В некоторых вариантах осуществления O^A-Su содержит карбоксилатную функциональную группу. В некоторых вариантах

осуществления O^A -Su представляет собой глюкуроновую кислоту. В некоторых

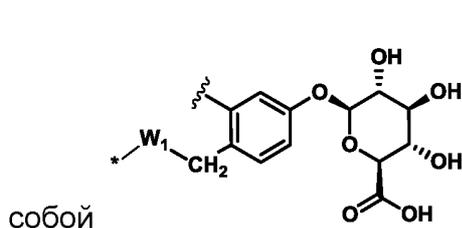


вариантах осуществления O^A -Su представляет собой

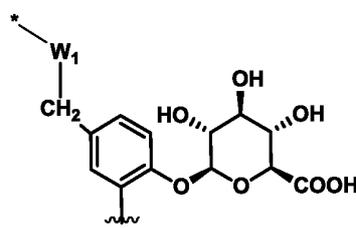
[0325] В некоторых вариантах осуществления W представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления W представляет

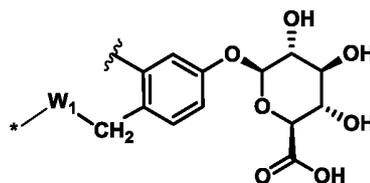


или



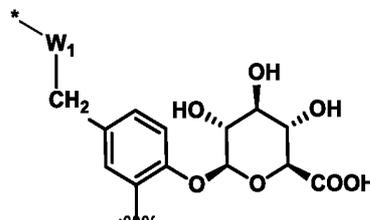
. В некоторых вариантах

осуществления W представляет собой



. В некоторых

вариантах осуществления W представляет собой



[0326] В некоторых вариантах осуществления a представляет собой 0.

[0327] В некоторых вариантах осуществления y представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления y представляет собой 1.

[0328] В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой саморасщепляющуюся функциональную группу, несаморасщепляющуюся высвобождаемую функциональную группу или нерасщепляемую функциональную группу. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой саморасщепляющуюся функциональную группу или несаморасщепляющуюся высвобождаемую функциональную группу. В некоторых вариантах осуществления Y

представляет собой саморасщепляющуюся функциональную группу. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой несаморасщепляющуюся функциональную группу.

[0329] Несаморасщепляющаяся функциональная группа представляет собой такую функциональную группу, которая требует ферментного расщепления, при этом часть группы или вся группа после отщепления от конъюгата ADC остается соединенной с лекарственным средством, образуя, таким образом, свободное лекарственное средство. Примеры несаморасщепляющейся функциональной группы включают, в частности, но без ограничения: -глицин- и -глицин-глицин-. Если конъюгат ADC содержит Y, представляющий собой -глицин- или -глицин-глицин-, и подвергается ферментному расщеплению (например, под действием протеазы, ассоциированной с раковыми клетками, или протеазы, ассоциированной с лимфоцитами), группа лекарственного средства отщепляется от конъюгата ADC, при этом свободное лекарственное средство включает группу глицина или глицин-глицина из Y. В некоторых вариантах осуществления внутри или вблизи клетки-мишени имеет место независимая реакция гидролиза, дополнительно отщепляющая группу глицина или глицин-глицина от свободного лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления ферментное расщепление саморасщепляющейся функциональной группы согласно данному описанию не приводит к последующим этапам гидролиза.

[0330] Саморасщепляющаяся функциональная группа представляет собой бифункциональный химический фрагмент, который способен образовывать ковалентное соединение с двумя химическими группами, расположенными на расстоянии друг от друга, образуя нормально стабильную трехчастную молекулу. Саморасщепляющаяся группа спонтанно отделяется от второй химической группы, если связь с первой химической группой расщепляется. Саморасщепляющаяся функциональная группа включает, например, p-аминобензиловый спирт (PAB), необязательно замещенный одной или более алкильными, алкоксильными, галогенными, циано- или нитро-группами. Другие примеры саморасщепляющихся функциональных групп включают, в частности, но без ограничения: ароматические соединения, которые являются электронно аналогичными группе PAB, в частности, производные 2-аминоимдазол-5-метанола (см., например, Хэй и др., 1999, *Байоргэник энд Медициникл Кемистри Леттерс* 9:2237), орто- или пара-

аминобензилацетали, замещенные и незамещенные амиды 4-аминобутировой кислоты (см., например, Родригес и др., 1995, *Кемистри Байолоджи* 2:223), надлежащим образом замещенные бицикло[2.2.1] и бицикло[2.2.2] кольцевые системы (см., например, Сторм и др., 1972, *Джорнел оф зе Америкэн Кемистри Сосайети* 94:5815), амиды 2-аминофенилпропионовой кислоты (см., например, Эмсберри и др., 1990, *Зе Джорнел оф Оргэник Кемистри* 55:5867), и ряд аминоксодержащих лекарственных средств, которые содержат замещение в α -позиции глицина (см., например, Кингсбери и др., 1984, *Джорнел оф Медициникл Кемистри* 27:1447).

[0331] В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой группу PAB, необязательно замещенную одной или более алкильной, алкоксильной, галогенной, циано- или нитро-группами, пара-аминобензилокси-карбонильную группу (PABC), необязательно замещенную сахарным компонентом, -глицин-, -глицин-глицин- или разветвленную группу бис(гидроксиметил)стирола (BHMS), которая способна инкорпорировать (и высвободить) множество лекарственных средств.

[0332] В некоторых вариантах осуществления $-(A)_a-(W)_w-(Y)_y$ содержит несаморасщепляющийся высвобождаемый линкер, который обеспечивает высвобождение свободного лекарственного средства, как только конъюгат ADC будет поглощен клеткой-мишенью. В некоторых вариантах осуществления $-(A)_a-(W)_w-(Y)_y$ содержит высвобождаемый линкер, который обеспечивает высвобождение свободного лекарственного средства внутри или вблизи целевых клеток. Высвобождаемые линкеры содержат сайт распознавания, в частности, сайт расщепления пептидов, сайт расщепления сахаров или сайт расщепления дисульфидов. В некоторых вариантах осуществления каждый высвобождаемый линкер представляет собой дипептид. В некоторых вариантах осуществления каждый высвобождаемый линкер представляет собой дисульфид. В некоторых вариантах осуществления каждый высвобождаемый линкер представляет собой гидразон. В некоторых вариантах осуществления каждый высвобождаемый линкер независимо представляет собой Val-Cit-, -Phe-Lys- или -Val-Ala-. В некоторых вариантах осуществления каждый высвобождаемый линкер в случае соединения с сукцинимидом или гидролизированным сукцинимидом независимо представляет собой сукцинимидо-капроил (mc), сукцинимидо-капроил-валин-цитруллин (sc-vc),

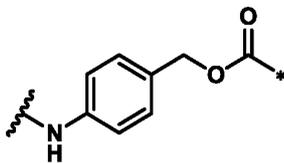
сукцинимидо-капроил-валин-цитруллин-парааминобензилоксикарбонил (sc-vc-PABC) или SDPr-vc (где “S” представляет собой сукцинимидо-группу).

[0333] В некоторых вариантах осуществления $-(A)_a-(W)_w-(Y)_y$ содержит нерасщепляемый линкер. Нерасщепляемые линкеры известны в данной области техники и могут быть адаптированы для применения с конъюгатами ADC, раскрытыми в данном описании, в виде группы “Y”. Нерасщепляемый линкер способен, как правило, стабильно и ковалентно соединять группу лекарственного средства с антителом и, по существу, является резистентным к расщеплению, индуцируемому кислотами, светом, пептидазой или эстеразой, а также к расщеплению дисульфидных связей. Свободное лекарственное средство может быть высвобождено из конъюгатов ADC, содержащих нерасщепляемые линкеры, посредством альтернативного механизма, в частности, разложения протеолитических антител. В некоторых вариантах осуществления группа лекарственного средства может оказывать биологический эффект, будучи частью конъюгата ADC (т. е., оставаясь конъюгированным с антителом посредством линкера).

[0334] Реагенты, которые образуют нерасщепляемые линкер-малеимидные и нерасщепляемые линкер-сукцинимидные соединения известны в данной области техники и могут быть адаптированы для применения согласно настоящему изобретению. Примеры реагентов включают функциональную группу на основе малеимида или галоацетила, в частности, сложный N-гидрокси сукцинимидный эфир 6-малеимидкапроновой кислоты (MCC), N-сукцинимид 4-(малеимидометил)циклогексанкарбоскилат (SMCC), N-сукцинимид-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбокси-(6-амидокапроат) (LC-SMCC), сложный N-сукцинимидный эфир малеимидоундекановой кислоты (KMUA), сложный N-сукцинимидный эфир γ-малеимидомасляной кислоты (GMBS), сложный N-гидроксисукцинимидный эфир с-малеимидокапроновой кислоты (EMCS), сложный m-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимидный эфир (MBS), сложный N-(α-малеимидоацетокси)-сукцинимидный эфир [AMAS], сукцинимид-6-(β-малеимидопропионамидо)гексаноат (SMPH), N-сукцинимид 4-(p-малеимидофенил)-бутират (SMPB), N-(p-малеимидофенил)изоцианат (PMPI), N-сукцинимид-4-(йодоацетил)-аминобензоат (STAB), N-сукцинимид йодоацетат (SIA), N-сукцинимид бромацетат (SBA) и N-сукцинимид 3-(бромацетамидо)пропионат (SBAP).

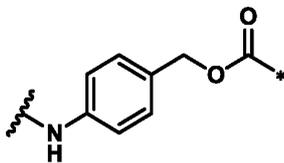
Дополнительные группы “А-М” и “А-М¹” для применения в конъюгатах ADC согласно данному описанию могут быть найдены, например, в патенте США. № 8,142,784, содержание которого в полном объеме включено в настоящее описание в качестве ссылки.

[0335] В некоторых вариантах осуществления у представляет собой 1, а Y



представляет собой , где  представляет собой соединение с W, A или с M в соединениях формулы (II), а * представляет собой соединение с X^A или X^B в соединениях формулы (II).

[0336] В некоторых вариантах осуществления у представляет собой 1, а Y



представляет собой , где  представляет собой соединение с W, A, M или с M¹ в конъюгатах ADC согласно данному описанию, а * представляет собой соединение с X^A или X^B в конъюгатах ADC согласно данному описанию.

[0337] В некоторых вариантах осуществления $-(A)_a-(W)_w-(Y)_y-$ содержит невысвобождаемый линкер, при этом лекарственное средство высвобождается после того, как конъюгат ADC будет поглощен клеткой-мишенью и разложен с высвобождением лекарственного средства.

[0338] В некоторых вариантах осуществления линкер (L) замещен полиэтиленгликолевой функциональной группой, выбранной из группы, включающей: PEG2-PEG20. В некоторых вариантах осуществления L замещен полиэтиленгликолевой функциональной группой, выбранной из группы, включающей: PEG2, PEG4, PEG6, PEG8, PEG10, PEG12, PEG16 и PEG20. В некоторых вариантах осуществления L не замещен полиэтиленгликолевой функциональной группой, выбранной из группы, включающей: PEG2-PEG20.

[0339] Полидисперсные группы PEG, монодисперсные группы PEG и дискретные группы PEG могут быть использованы для получения конъюгатов ADC и их промежуточных соединений. Полидисперсные группы PEG представляют собой гетерогенную смесь размеров и молекулярных масс, в то время как монодисперсные

группы PEG обычно являются очищенными от гетерогенных смесей и, следовательно, образуют цепь одной длины и молекулярной массы. Дискретные группы PEG синтезируются поэтапно, а не при помощи процесса полимеризации. Дискретные группы PEG образуют одну молекулу с определенной и специфической цепью. Количество субъединиц $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ в функциональной группе PEG лежит в пределах, например, от 8 до 24 или от 12 до 24, и обозначается как PEG8-PEG24 и PEG12-PEG24, соответственно.

[0340] Функциональные группы PEG согласно настоящему изобретению, называемые также единицами PEG, содержат одну или множество полиэтиленгликолевых цепей. Полиэтиленгликолевые цепи связаны вместе и имеют, например, линейную, разветвленную или звездообразную конфигурацию. Как правило, по меньшей мере одна из полиэтиленгликолевых цепей функциональной группы PEG дериватизирована на одном конце для ковалентного присоединения к соответствующему сайту компонента конъюгата ADC (например, L). Типичные присоединения к конъюгатам ADC осуществляются посредством безусловно расщепляемых связей или посредством условно расщепляемых связей. Типичные присоединения осуществляются посредством амидной связи, простых эфирных связей, сложных эфирных связей, гидразоновых связей, оксимовых связей, дисульфидных связей, пептидных связей или триазольных связей. В некоторых вариантах осуществления присоединение к ADC формулы (I) осуществляется посредством безусловно расщепляемой связи. В некоторых вариантах осуществления присоединение к конъюгату ADC осуществляется не посредством сложной эфирной связи, гидразоновой связи, оксимовой связи или дисульфидной связи. В некоторых вариантах осуществления присоединение к конъюгату ADC осуществляется не посредством гидразоновой связи.

[0341] Условно расщепляемая связь относится к связи, которая, по существу, не является чувствительной к расщеплению во время циркуляции в плазме, однако, является чувствительной к расщеплению во внутриклеточной или внутриопухоловой среде. Безусловно расщепляемой связью является такая связь, которая, по существу, не чувствительна к расщеплению в любой биологически релевантной среде у субъекта, которому вводится конъюгат ADC. Химический гидролиз гидразона, восстановление дисульфидной связи и ферментное расщепление пептидной связи

или гликозидной связи глюкуранидной единицы, как описано в WO 2007/011968 (которая в полном объеме включена в настоящее описание в качестве ссылки), являются примерами условно расщепляемых связей.

[0342] В некоторых вариантах осуществления функциональная группа PEG непосредственно присоединена к конъюгату ADC (или к его промежуточному соединению) в позиции L. В этих вариантах осуществления другой конец (или концы) функциональной группы PEG является свободным и несвязанным (т. е., не присоединен при помощи ковалентной связи), и в некоторых вариантах осуществления представляет собой метокси-группу, карбоновую кислоту, спирт или другую пригодную функциональную группу. Метокси-группа, карбоновая кислота, спирт или другая пригодная функциональная группа действует как кэп для концевой полиэтиленгликолевой субъединицы функциональной группы PEG. Под выражением “несвязанный” понимается, что функциональная группа PEG не имеет ковалентного соединения в этом несвязанном сайте с лекарственным средством, с антителом или с компонентом, связывающим с лекарственным средством и/или с антителом. Такое расположение может позволять функциональной группе PEG иметь достаточную длину, чтобы обеспечить параллельную ориентацию относительно лекарственного средства в конъюгированной форме, т. е., в виде группы лекарственного средства (D). Для тех вариантов осуществления, в которых функциональная группа PEG содержит более чем одну полиэтиленгликолевую цепь, независимо выбирается несколько полиэтиленгликолевых цепей, которые являются, например, одинаковыми или различными химическими группами (например, полиэтиленгликолевые цепи с различной молекулярной массой или количеством $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ субъединиц). Функциональная группа PEG, содержащая множество полиэтиленгликолевых цепей присоединяется к конъюгату ADC в одном сайте присоединения. Для специалиста в данной области техники очевидно, что функциональная группа PEG кроме повторяющихся полиэтиленгликолевых субъединиц может содержать также материал, не являющийся PEG, (например, для облегчения связывания множества полиэтиленгликолевых цепей друг с другом или для облегчения соединения с ADC). Материал, не являющийся PEG, относится к атомам в функциональной группе PEG, которые не являются частью повторяющихся субъединиц $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения функциональная группа PEG

содержит две мономерные полиэтиленгликолевые цепи, соединенные друг с другом посредством элементов, не являющихся PEG. В других вариантах осуществления настоящего изобретения функциональная группа PEG содержит две линейные полиэтиленгликолевые цепи, присоединенные к центральному ядру, которое, в свою очередь, присоединено к конъюгату ADC (т. е., сама функциональная группа PEG имеет разветвленную цепь).

[0343] Существует ряд способов присоединения PEG, известных специалистам в данной области техники: см., например, Гудсон и др. (1990) *Байо/Технологии* 8:343 (Пегилирование интерлейкина-2 в его сайте гликозирования после сайт-направленного мутагенеза), EP 0 401 384 (Связывание PEG с G-CSF), Малик и др., (1992) *Экспериментал Хематолоджи* 20:1028-1035 (Пегилирование GM-CSF при помощи трезилхлорида), публикация АСТ № WO 90/12874 (Пегилирование эритропоэтина, содержащего рекомбинантно введенный цистеиновый остаток, с использованием цистеинспецифического производного mPEG), патент США №5,757,078 (Пегилирование эритропоэтиновых пептидов), патент США №5,672,662 (Поли(этиленгликоль) и родственные полимеры, монозамещенные пропионовой или бутановой кислотой, и их функциональные производные для биотехнического применения), патент США № 6,077,939 (Пегилирование N-концевого α -углерода пептида), Веронезе и др., (1985) *Эпплайд Байокемистри энд Байотехнологии* 11:141-142 (Пегилирование N-концевого α -углерода пептида PEG-нитрофенилкарбонатом ("PEG-NPC") или PEG-трихлорфенилкарбонатом), и Веронезе (2001) *Байоматериалс* 22:405-417 (Обзор пегилирования пептидов и белков).

[0344] Функциональная группа PEG может быть, например, ковалентно соединена с аминокислотным остатком посредством реактивных групп полиэтиленгликоль-содержащего соединения и аминокислотного остатка. Реактивные группы аминокислотного остатка включают такие группы, которые являются реактивными по отношению к активированной молекуле PEG (например, свободная амино- или карбоксильная группа). При этом, например, N-концевые аминокислотные остатки и лизиновые (K) остатки содержат свободную аминогруппу, а C-концевые аминокислотные остатки содержат свободную карбоксильную группу. Тиольные группы (например, содержащиеся в цистеиновых остатках) также являются пригодными в качестве реактивной группы для обеспечения ковалентного

присоединение к функциональной группе PEG. Кроме того, описаны способы введения активированных групп (например, гидразидных, альдегидных и ароматических аминогрупп) специфически в С-конец полипептида при помощи ферментов. См. Шварц и др. (1990) *Методс ин Энзимолоджи* 184:160, Розе и др.. (1991) *Бойоконджугейт Кемистри* 2:154, и Гэртнер и др.. (1994) *Джорнел оф Байолоджикал Кемистри* 269: 7224.

[0345] В некоторых вариантах осуществления полиэтиленгликоль-содержащее соединение образует ковалентное присоединение к аминогруппе при помощи метоксилированного PEG ("mPEG"), содержащего различные реактивные функциональные группы. Неограничительные примеры таких реактивных функциональных групп включают сукцинимидил сукцинат (SS), сукцинимидил карбонат (SC), mPEG-имидат, пара-нитрофенилкарбонат (NPC), сукцинимидил пропионат (SPA) и цианурхлорид. Неограничительные примеры таких групп mPEG включают mPEG-сукцинимидил сукцинат (mPEG-SS), mPEG₂-сукцинимидил сукцинат (mPEG₂-SS), mPEG-сукцинимидил карбонат (mPEG-SC), mPEG₂-сукцинимидил карбонат (mPEG₂-SC), mPEG-имидат, mPEG-пара-нитрофенилкарбонат (mPEG-NPC), mPEG-имидат, mPEG₂-пара-нитрофенилкарбонат (mPEG₂-NPC), mPEG-сукцинимид пропионат (mPEG-SPA), mPEG₂-сукцинимид пропионат (mPEG₂-SPA), mPEG-N-гидрокси-сукцинимид (mPEG-NHS), mPEG₂-N-гидрокси-сукцинимид (mPEG₂-NHS), mPEG-цианурхлорид, mPEG₂-цианурхлорид, mPEG₂-лизинол-NPC и mPEG₂-Lys-NHS.

[0346] Как правило, по меньшей мере одна из полиэтиленгликолевых цепей, образующих PEG, функционализована для обеспечения ковалентного присоединения к конъюгату ADC. Функционализация полиэтиленгликоль-содержащего соединения, которое представляет собой прекурсор PEG, включает, например, использование аминной, тиоловой, NHS-эфирной, малеинимидной, алкиновой, азидной, карбонильной или другой функциональной группы. В некоторых вариантах осуществления PEG дополнительно содержит материал, не являющийся PEG, (т. е., материал, не состоящий из -CH₂CH₂O-), который обеспечивает связывание с конъюгатом ADC или при конструировании полиэтиленгликоль-содержащего соединения или PEG облегчает соединение двух или более цепей полиэтиленгликоля.

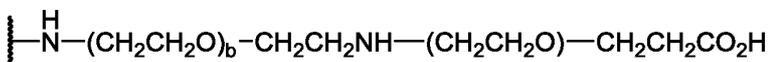
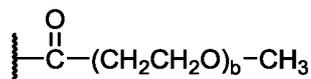
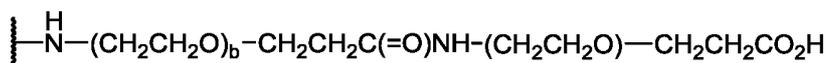
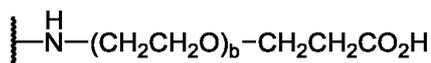
[0347] В некоторых вариантах осуществления присутствие функциональной группы PEG в конъюгате ADC может создавать два потенциальных эффекта, влияющих на фармакокинетику полученного конъюгата ADC. Один эффект заключается в уменьшении клиренса (и, соответственно в увеличении времени воздействия), которое возникает в результате уменьшения неспецифических взаимодействий, вызываемых действующими гидрофобными элементами группы лекарственного средства. Вторым эффектом является уменьшение объема и скорости распределения, которое иногда возникает в результате увеличения молекулярной массы конъюгата ADC. Увеличение количества полиэтиленгликолевых субъединиц повышает гидродинамический радиус конъюгата, что обычно приводит к уменьшению диффузионной способности. В свою очередь, уменьшение диффузионной способности обычно снижает способность ADC проникать в опухоль. См. Шмидт и Виттрап, *Молекуляр Кэнсер Терапьютикс* 2009, 8:2861-2871. Вследствие этих двух конкурирующих фармакокинетических эффектов может оказаться желательным применение функциональной группы PEG, которая является достаточно большой, чтобы уменьшать клиренс конъюгата ADC и, таким образом, увеличивать воздействие на плазму, но не настолько большой, чтобы значительно уменьшать ее диффузионную способность до такой степени, чтобы это препятствовало способности конъюгата ADC достигать намеченной популяции клеток-мишеней. См., в частности, примеры 1, 18 и 21 в публикации US 2016/0310612, которая включена в настоящее описание в качестве ссылки (например, для методики выбора оптимального размера функциональной группы PEG для конкретной группы лекарственного средства, линкера и/или соединения линкера и лекарственного средства).

[0348] В одной группе вариантов осуществления функциональная группа PEG содержит одну или более линейных полиэтиленгликолевых цепей, в каждой из которых имеется по меньшей мере 8 субъединиц, по меньшей мере 9 субъединиц, по меньшей мере 10 субъединиц, по меньшей мере 11 субъединиц, по меньшей мере 12 субъединиц, по меньшей мере 13 субъединиц, по меньшей мере 14 субъединиц, по меньшей мере 15 субъединиц, по меньшей мере 16 субъединиц, по меньшей мере 17 субъединиц, по меньшей мере 18 субъединиц, по меньшей мере 19 субъединиц, по меньшей мере 20 субъединиц, по меньшей мере 21 субъединица, по меньшей мере 22 субъединицы, по меньшей мере 23 субъединицы или по меньшей мере 24

субъединицы. В некоторых вариантах осуществления PEG в общей сложности содержит по меньшей мере 8 субъединиц, по меньшей мере 10 субъединиц или по меньшей мере 12 субъединиц. В некоторых таких вариантах осуществления PEG в общей сложности содержит не более чем примерно 72 субъединицы. В некоторых таких вариантах осуществления PEG содержит в общей сложности не более чем примерно 36 субъединиц. В некоторых вариантах осуществления PEG содержит примерно от 8 до примерно 24 субъединиц (что обозначается как PEG8-PEG24).

[0349] В другой группе вариантов осуществления функциональная группа PEG в общей сложности содержит от 8 до 72, от 8 до 60, от 8 до 48, от 8 до 36 или от 8 до 24 субъединиц, от 9 до 72, 9 до 60, от 9 до 48, от 9 до 36 или от 9 до 24 субъединиц, от 10 до 72, от 10 до 60, от 10 до 48, от 10 до 36 или от 10 до 24 субъединиц, от 11 до 72, от 11 до 60, от 11 до 48, от 11 до 36 или от 11 до 24 субъединиц, от 12 до 72, от 12 до 60, от 12 до 48, от 12 до 36 или от 12 до 24 субъединиц, от 13 до 72, от 13 до 60, от 13 до 48, от 13 до 36 или от 13 до 24 субъединиц, от 14 до 72, от 14 до 60, от 14 до 48, от 14 до 36 или от 14 до 24 субъединиц, от 15 до 72, от 15 до 60, от 15 до 48, от 15 до 36 или от 15 до 24 субъединиц, от 16 до 72, от 16 до 60, от 16 до 48, от 16 до 36 или от 16 до 24 субъединиц, от 17 до 72, от 17 до 60, от 17 до 48, от 17 до 36 или от 17 до 24 субъединиц, от 18 до 72, от 18 до 60, от 18 до 48, от 18 до 36 или от 18 до 24 субъединиц, от 19 до 72, от 19 до 60, от 19 до 48, от 19 до 36 или от 19 до 24 субъединиц, от 20 до 72, от 20 до 60, от 20 до 48, от 20 до 36 или от 20 до 24 субъединиц, от 21 до 72, от 21 до 60, от 21 до 48, от 21 до 36 или от 21 до 24 субъединиц, от 22 до 72, от 22 до 60, от 22 до 48, от 22 до 36 или от 22 до 24 субъединиц, от 23 до 72, от 23 до 60, от 23 до 48, от 23 до 36 или от 23 до 24 субъединиц или от 24 до 72, от 24 до 60, от 24 до 48, от 24 до 36 или 24 субъединицы.

[0350] Иллюстративные линейные группы PEG, которые могут быть использованы в любом из вариантов осуществления настоящего изобретения, представляют собой:



где волнистая линия показывает сайт присоединения к ADC, а каждый нижний индекс b независимо выбирается из группы, включающей от 7 до 72, от 8 до 72, от 10 до 72, от 12 до 72, 6 до 24 или от 8 до 24. В некоторых вариантах осуществления каждый нижний индекс b равен примерно 8, примерно 12 или примерно 24.

[0351] Согласно данному описанию, функциональная группа PEG может быть выбрана таким образом, чтобы она улучшала клиренс полученного конъюгата ADC, но не оказывала значительного влияния на способность конъюгата ADC проникать в опухоль.

[0352] В некоторых вариантах осуществления PEG имеет молекулярную массу примерно от 300 дальтонов до примерно 5 килодальтонов, примерно от 300 дальтонов до примерно 4 килодальтонов, примерно от 300 дальтонов до примерно 3 килодальтонов, примерно от 300 дальтонов до примерно 2 килодальтонов, примерно от 300 дальтонов до примерно 1 килодальтона или любое промежуточное значение. В некоторых вариантах осуществления PEG содержит по меньшей мере 8, 10 или 12 субъединиц. В некоторых вариантах осуществления PEG представляет собой от PEG8 до PEG72, например, PEG8, PEG10, PEG12, PEG16, PEG20, PEG24, PEG28, PEG32, PEG36, PEG48 или PEG72.

[0353] В некоторых вариантах осуществления кроме пегилирования конъюгата ADC нет других субъединиц PEG, присутствующих в конъюгате ADC (т. е., нет субъединиц PEG, присутствующих в виде части каких-либо иных компонентов конъюгатов и линкеров согласно настоящему изобретению, в частности, А и X^B). В некоторых вариантах осуществления кроме PEG имеется не более чем 8, не более чем 7, не более чем 6, не более чем 5, не более чем 4, не более чем 3, не более чем 2 или не более чем 1 других полиэтиленгликолевых (-CH₂CH₂O-) субъединиц, присутствующих в конъюгате ADC или в его промежуточных соединениях (т. е., не

более чем 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 других полиэтиленгликолевых субъединиц в других компонентах конъюгата ADC (или в его промежуточных соединениях) согласно настоящему изобретению).

[0354] Следует понимать, что при указании полиэтиленгликолевых субъединиц функциональной группы PEG и в зависимости от контекста количество субъединиц может представлять собой среднюю величину, например, в случае популяции конъюгатов ADC или их промежуточных соединений и/или при использовании полидисперсных групп PEG.

Способы применения

[0355] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты ADC, раскрытые в данном описании, или их фармацевтически приемлемые соли используются для доставки конъюгированного лекарственного средства в клетку-мишень. Без привязки к теории в некоторых вариантах осуществления конъюгат ADC ассоциируется с антигеном на поверхности клетки-мишени. Затем группа лекарственного средства может высвобождаться, чтобы в виде свободного лекарственного средства индуцировать его биологический эффект (в частности, иммуностимулирующий эффект). Группа лекарственного средства может также оставаться присоединенной к антителу или к части антитела и/или к линкеру и вызывать его биологический эффект.

[0356] Некоторые варианты осуществления предлагают способ лечения онкологического заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества конъюгата ADC согласно данному описанию или его фармацевтически приемлемой соли.

[0357] Некоторые варианты осуществления предлагают способ лечения онкологического заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества композиции, содержащей конъюгат ADC согласно данному описанию или его фармацевтически приемлемую соль.

[0358] Некоторые варианты осуществления предлагают способ индуцирования противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение терапевтически эффективного количества композиции,

содержащей конъюгат ADC согласно данному описанию или его фармацевтически приемлемую соль.

[0359] Некоторые варианты осуществления предлагают способ индуцирования противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества конъюгата ADC согласно данному описанию или его фармацевтически приемлемой соли.

[0360] Некоторые варианты осуществления предлагают способ лечения онкологического заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества конъюгата ADC согласно данному описанию или его фармацевтически приемлемой соли в сочетании с другой противоопухолевой терапией (например, с оперативным вмешательством и лучевой терапией) и/или с противоопухолевым препаратом (например, с иммунотерапевтическим препаратом, в частности, с ниволумабом или пембролизумабом). Конъюгаты ADC согласно данному описанию могут быть введены субъекту до, во время или после применения противоопухолевой терапии и/или введения противоопухолевого препарата. В некоторых вариантах осуществления конъюгат ADC согласно данному описанию может быть введен субъекту после лучевой терапии и/или после оперативного вмешательства.

[0361] Некоторые варианты осуществления предлагают способ задержки или предотвращения приобретенной резистентности к противоопухолевому препарату, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества конъюгата ADC согласно данному описанию или его фармацевтически приемлемой соли в случае опасности развития или при наличии приобретенной резистентности к противоопухолевому препарату. В некоторых вариантах осуществления пациенту вводится доза противоопухолевого препарата (например, по существу, в то же время, когда этому пациенту вводится доза конъюгата ADC согласно данному описанию или его фармацевтически приемлемой соли).

[0362] Некоторые варианты осуществления предлагают способ задержки и/или предотвращения развития ракоустойчивости к противоопухолевому препарату у субъекта, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества конъюгата ADC согласно данному описанию или его фармацевтически

приемлемой соли до, во время или после введения терапевтически эффективного количества противоопухолевого препарата.

[0363] Конъюгаты ADC согласно данному описанию являются пригодными для ингибирования размножения раковой клетки, вызывая апоптоз раковой клетки, для увеличения фагоцитоза раковой клетки и/или для лечения онкологического заболевания у субъекта, нуждающегося в этом,. Конъюгаты ADC могут применяться соответственно, в различных условиях для терапии онкологических заболеваний. Конъюгаты ADC могут быть использованы для доставки лекарственного средства в раковую клетку. Без привязки к теории в некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата ADC связывается или ассоциируется с антигеном, ассоциированным с раковой клеткой. Антиген может быть присоединен к раковой клетке или может представлять собой белок внеклеточного матрикса, ассоциированный с раковой клеткой. Лекарственное средство может быть высвобождено вблизи раковой клетки, тем самым привлекая /активируя иммунные клетки для атаки на раковую клетку. В некоторых вариантах осуществления группа лекарственного средства отщепляется от конъюгата ADC за пределами раковой клетки. В некоторых вариантах осуществления группа лекарственного средства остается присоединенной к антителу, связанному с антигеном.

[0364] В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с раковой клеткой. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с антигеном раковой клетки, который расположен на поверхности раковой клетки. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с антигеном раковой клетки, который представляет собой белок внеклеточного матрикса, ассоциированный с опухолевой клеткой или с раковой клеткой. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата ADC связывается или ассоциируется с опухоль-ассоциированной клеткой или с антигеном опухоль-ассоциированной клетки. В некоторых вариантах осуществления опухоль-ассоциированная клетка представляет собой стромальную клетку в опухоли, например, опухоль-ассоциированный фибропласт (CAF).

[0365] В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата ADC связывается или ассоциируется с иммунной клеткой или с антигеном, ассоциированным с иммунной клеткой. Антиген может быть присоединен к иммунной клетке или может представлять собой белок внеклеточного матрикса,

ассоциированный с иммунной клеткой. Лекарственное средство может быть высвобождено вблизи раковой клетки, тем самым привлекая /активируя иммунные клетки для атаки на раковую клетку. В некоторых вариантах осуществления группа лекарственного средства отщепляется от конъюгата ADC снаружи от иммунной клетки. В некоторых вариантах осуществления группа лекарственного средства остается присоединенной к антителу, соединенному с антигеном. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка представляет собой лимфоцит, антиген-презентирующую клетку, природную киллерную (NK) клетку, нейтрофил, эозинофил, базофил, мастоцит, врожденные лимфоидные клетки или комбинацию любых из указанных клеток. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка выбирается из группы, включающей: В-клетки, плазматические клетки, Т-клетки, природные киллерные Т-клетки (NKT), гамма-дельта-Т-($\gamma\delta$ T)-клетки, моноциты, макрофаги, дендритные клетки, природные киллерные (NK) клетки, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, мастоциты, врожденные лимфоидные клетки и комбинацию любых из указанных клеток.

[0366] Специфичность антитела к конкретной раковой клетке может быть важна для определения таких опухолей или онкологических заболеваний, которые наиболее эффективно поддаются лечению. Так, например, конъюгаты ADC, которые нацелены на антиген раковой клетки, присутствующий на гемопоэтических раковых клетках, в некоторых вариантах осуществления позволяют лечить гемобласты. В некоторых вариантах осуществления ADC нацелены на антиген раковой клетки, присутствующий на аномальных клетках солидных опухолей, для лечения таких солидных опухолей. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты ADC направлены против аномальных клеток гемопоэтических онкологических заболеваний, в частности, лимфом (лимфома Ходжкина и неходжкинские лимфомы) и лейкозов.

[0367] Онкологические заболевания, включая, в частности, но без ограничения, опухоль, метастаз или другое заболевание или нарушение, характеризующееся наличием аномальных клеток, которые имеют тенденцию к неконтролируемому росту, в некоторых вариантах осуществления подвергаются лечению или ингибированию путем введения конъюгата ADC.

[0368] В некоторых вариантах осуществления субъект предварительно подвергается лечению онкологического заболевания. В некоторых вариантах осуществления перед лечением проводится оперативное вмешательство, лучевая терапия, введение одного или более противоопухолевых препаратов или комбинация любых из указанных методов.

[0369] Во всех способах, раскрытых в данном описании, онкологическое заболевание выбирается из группы, включающей такие заболевания, как: аденокарцинома, рак коры надпочечника, нейробластома надпочечника, плоскоклеточный рак ануса, аденокарцинома аппендикса, уротелиальная карцинома мочевого пузыря, аденокарцинома желчного протока, карцинома мочевого пузыря, хордома кости, хронический лимфоцитарный костномозговой лейкоз, острый нелимфоцитарный миелоцитарный костномозговой лейкоз, лимфопролиферативное заболевание костного мозга, множественная миелома костного мозга, саркома кости, астроцитомы головного мозга, глиобластома головного мозга, медуллобластома головного мозга, менингиома головного мозга, олигодендроглиома головного мозга, аденоидно-кистозная карцинома молочной железы, карцинома молочной железы, неинвазивная дуктальная карцинома молочной железы, инвазивная дуктальная карцинома молочной железы, инвазивная лобулярная карцинома молочной железы, метапластическая карцинома молочной железы, нейроэндокринная карцинома шейки матки, плоскоклеточная карцинома шейки матки, аденокарцинома толстой кишки, карциноидная опухоль толстой кишки, аденокарцинома двенадцатиперстной кишки, эндометриоидная опухоль, аденокарцинома пищевода, карцинома пищевода и желудка, внутриглазная меланома, внутриглазная плоскоклеточная карцинома глаза, карцинома слезного протока глаза, серозная карцинома маточной трубы, аденокарцинома желчного пузыря, гломусная опухоль желчного пузыря, аденокарцинома желудочно-пищеводного перехода, аденоидно-кистозная карцинома головы и шеи, карцинома головы и шеи, нейробластома головы и шеи, плоскоклеточный рак головы и шеи, хромофорная карцинома почки, медуллярный рак почки, светлоклеточный рак почки, папиллярный рак почки, саркоматоидный рак почки, уротелиальный рак почки, карцинома почки, лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, холангиокарцинома печени, гепатоцеллюлярная карцинома печени, карцинома печени, аденокарцинома легкого, аденосквамозная карцинома

легкого, атипичный карциноид легкого, карциносаркома легкого, крупноклеточная нейроэндокринная карцинома легкого, внелегочный не-мелкоклеточный рак легкого, саркома легкого, саркоматоидный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточная недифференцированная карцинома легкого, плоскоклеточный рак легкого, плоскоклеточный рак верхних отделов аэродигестивного тракта, карцинома верхних отделов аэродигестивного тракта, лимфома лимфатических узлов, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, фолликулярная лимфома лимфатических узлов, медиастинальная В-клеточная лимфома лимфатических узлов, плазмобластная лимфома лимфатических узлов, аденокарцинома легкого фолликулярная лимфома, лимфома, неходжкинская лимфома, недифференцированная карцинома носоглотки и околоносовых пазух, карцинома яичника, карциносаркома яичника, светлоклеточная карцинома яичника, эпителиальная карцинома яичника, гранулезоклеточная опухоль яичника, серозная карцинома яичника, карцинома поджелудочной железы, аденокарцинома протоков поджелудочной железы, нейроэндокринная карцинома поджелудочной железы, мезотелиома брюшины, серозная карцинома брюшины, хориокарцинома плаценты, мезотелиома плевры, ацинарная аденокарцинома простаты, карцинома простаты аденокарцинома прямой кишки, плоскоклеточный рак прямой кишки, карцинома придатков кожи, базальноклеточный рак кожи, меланома кожи, рак кожи из клеток Меркеля, плоскоклеточный рак кожи, аденокарцинома тонкой кишки, гастроинтестинальные стромальные опухоли тонкой кишки (ГИСО), карцинома толстой кишки, аденокарцинома толстой кишки, ангиосаркома мягких тканей, саркома Юинга мягких тканей, гемангиоэндотелиома мягких тканей, воспалительная миофибробластная опухоль мягких тканей, лейомиосаркома мягких тканей, липосаркома мягких тканей, нейробластома мягких тканей, параганглиома мягких тканей, периваскулярная эпителиоидноклеточная опухоль мягких тканей, саркома мягких тканей, синовиальная саркома мягких тканей, аденокарцинома желудка, аденокарцинома желудка диффузного типа, аденокарцинома желудка кишечного типа, лейомиосаркома желудка, карцинома тимуса, лимфоцитарная тимома, папиллярный рак щитовидной железы, неизвестная первичная аденокарцинома, неизвестная первичная карцинома, неизвестное первичное злокачественное новообразование, лимфоидное новообразование, неизвестная первичная меланома,

неизвестная первичная саркоматоидная карцинома, неизвестная первичная плоскоклеточная карцинома, неизвестная недифференцированная нейроэндокринная карцинома, неизвестная первичная недифференцированная мелкоклеточная карцинома, карциносаркома матки, аденокарцинома эндометрия матки, эндометриоидная эндометриоидная аденокарцинома, папиллярная серозная аденокарцинома эндометрия матки и лейомиосаркома матки.

[0370] В некоторых вариантах осуществления субъекту одновременно вводится один или более дополнительных противоопухолевых препаратов с конъюгатами ADC согласно данному описанию или их фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления субъект одновременно получает лучевую терапию и конъюгаты ADC согласно данному описанию или их фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления субъекту вводится один или более дополнительных противоопухолевых препаратов после введения конъюгатов ADC согласно данному описанию или их фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления субъект получает лучевую терапию после введения конъюгатов ADC согласно данному описанию или их фармацевтически приемлемой соли.

[0371] В некоторых вариантах осуществления субъект прерывал предшествующую терапию, например, вследствие неприемлемых или непереносимых побочных эффектов, при этом предшествующая терапия была слишком токсичной, или при этом у субъекта выработалась резистентность к предшествующей терапии.

[0372] Некоторые варианты осуществления предлагают способ задержки или предотвращения заболевания или нарушения, включающий введение терапевтически эффективного количества конъюгата ADC согласно данному описанию или его фармацевтически приемлемой соли и вакцины против заболевания или нарушения пациенту, подверженному риску развития указанного заболевания или нарушения. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляет собой онкологическое заболевание согласно данному описанию. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляет собой вирусный патоген. В некоторых вариантах осуществления вакцина вводится подкожно. В некоторых вариантах осуществления вакцина вводится внутримышечно. В некоторых вариантах осуществления ADC и вакцина вводятся одним и тем же путем

(например, ADC и вакцина вводятся подкожно). В некоторых вариантах осуществления ADC или его фармацевтически приемлемая соль и вакцина вводятся различными путями. В некоторых вариантах осуществления вакцина и ADC или его фармацевтически приемлемая соль представлены в одном составе. В некоторых вариантах осуществления вакцина и ADC или его фармацевтически приемлемая соль представлены в отдельных составах.

Композиции и способы введения

[0373] Некоторые варианты осуществления предлагают композицию, содержащую распределение конъюгатов ADC согласно данному описанию. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит распределение конъюгатов ADC согласно данному описанию и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления путь введения является парентеральным. Парентеральное введение включает подкожные инъекции, а также способы внутривенной, внутримышечной, внутригрудинной инъекции или инфузии. В некоторых вариантах осуществления композиции вводятся парентерально. В одном из таких вариантов осуществления конъюгаты ADC вводятся внутривенно. Введение обычно осуществляется любым удобным путем, например, при помощи инфузии или болюсной инъекции.

[0374] Композиции конъюгата ADC обычно составляются таким образом, чтобы обеспечить биодоступность конъюгата ADC после введения композиции субъекту. Композиции могут быть представлены в виде одной или более единиц дозирования для инъекций.

[0375] Материалы, применяемые для приготовления композиции, могут быть нетоксичными в используемых количествах. Для специалистов в данной области техники очевидно, что оптимальное дозирование одного или более активных ингредиентов композиции зависит от множества факторов. Релевантные факторы включают, в частности, но без ограничения, вид животного (*например*, человек), конкретную форму соединения, способ введения и используемую композицию.

[0376] В некоторых вариантах осуществления композиция конъюгата ADC представляет собой твердое вещество, например, в виде лиофилизированного порошка, пригодного для растворения в жидкости перед введением. В некоторых

вариантах осуществления композиция конъюгата ADC представляет собой жидкую композицию, в частности, раствор или суспензию. Жидкая композиция или суспензия является пригодной для доставки при помощи инъекции, а лиофилизированный порошок пригоден для восстановления в виде жидкости или суспензии при помощи разбавителя, пригодного для инъекции. Композиция, которая вводится при помощи инъекции, обычно включает одно или более поверхностно-активных веществ, антикоагулянт, смазывающую добавку, диспергирующее средство, суспендирующее средство, буфер, стабилизатор и изотонический агент.

[0377] В некоторых вариантах осуществления жидкие композиции, независимо от того, представляют ли они собой растворы, суспензии или другую подобную форму, также могут включать одно или несколько из следующих веществ: стерильные разбавители, в частности, вода для инъекций, соляной раствор, физиологический раствор, раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, нелетучие масла, в частности, синтетические моно- или диглицериды, которые могут служить растворителем или суспендирующей средой, полиэтиленгликоли, глицерин, циклодекстрин, пропиленгликоль или другие растворители; антибактериальные агенты, в частности, бензиловый спирт или метилпарабен; антиоксиданты, в частности, аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующие агенты, в частности, этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, в частности, аминокислоты, ацетаты, цитраты или фосфаты; детергенты, в частности, неионогенные поверхностно-активные вещества, полиолы; и агенты для регулирования тоничности, в частности, хлорид натрия или декстроза. Парентеральная композиция обычно заключена в ампулу, одноразовый шприц или многодозовый флакон, изготовленный из стекла, пластика или другого материала. В некоторых вариантах осуществления стерильный разбавитель содержит физиологический раствор. В некоторых вариантах осуществления стерильный разбавитель представляет собой физиологический раствор. В некоторых вариантах осуществления композиция согласно настоящему описанию представляет собой жидкую композицию для инъекций, которая является стерильной.

[0378] Количество конъюгата ADC, которое является эффективным для лечения конкретного нарушения или состояния зависит от природы этого нарушения или состояния и обычно определяется стандартными клиническими методами. Кроме

того, иногда используются анализы *in vitro* или *in vivo*, чтобы помочь определить оптимальные диапазоны дозировок. Точная доза, которую следует использовать в композициях, также зависит от пути парентерального введения и серьезности заболевания или нарушения и должна определяться в соответствии с мнением практикующего врача и обстоятельствами состояния каждого субъекта.

[0379] В некоторых вариантах осуществления композиции содержат эффективное количество конъюгата ADC, обеспечивающее получение подходящей дозировки. Как правило, это количество составляет по меньшей мере примерно 0.01% конъюгата ADC от массы композиции.

[0380] В некоторых вариантах осуществления доза композиции конъюгата ADC, вводимая субъекту, составляет примерно от 0.01 мг/кг до примерно 100 мг/кг, примерно от 1 до примерно 100 мг или примерно от 0.1 до примерно 25 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая субъекту, составляет примерно от 0.01 мг/кг до примерно 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая субъекту, составляет примерно от 0.1 мг/кг до примерно 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая субъекту, составляет примерно от 0.1 мг/кг до примерно 20 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет примерно от 0.1 мг/кг до примерно 5 мг/кг или примерно от 0.1 мг/кг до примерно 10 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет примерно 1 мг/кг до примерно 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет примерно 1 мг/кг до примерно 10 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет примерно от 0.1 до примерно 4 мг/кг, примерно от 0.1 до примерно 3.2 мг/кг или примерно от 0.1 до примерно 2.7 мг/кг массы тела субъекта в течение цикла лечения.

[0381] Термин “носитель” относится к разбавителю, адъюванту или эксципиенту, с которым вводится соединение. Такие фармацевтические носители представляют собой жидкости. Вода является примером носителя, если соединения вводятся внутривенно. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также полезны в качестве жидких носителей для растворов для инъекций. Подходящие фармацевтические носители также включают глицерин, пропилен,

гликоль или этанол. Если требуется, в некоторых вариантах осуществления представленные композиции могут также содержать незначительные количества смачивающих или эмульгирующих средств и/или pH-буферных средств.

[0382] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты ADC составляют в соответствии с обычными процедурами в виде композиции, адаптированной для внутривенного введения животным, в частности, человеку. Обычно носители или средства для внутривенного введения представляют собой стерильные изотонические водные буферные растворы. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит местный анестетик, в частности, лигнокаин, для облегчения боли в месте инъекции. В некоторых вариантах осуществления конъюгат ADC и остальная часть состава поставляются либо отдельно, либо смешанными вместе в стандартной лекарственной форме, например, в виде сухого лиофилизированного порошка или безводного концентрата в герметично закрытом контейнере, в частности, в ампуле или в упаковке саше, с указанием количества активно действующего вещества. Если требуется вводить конъюгат ADC путем инфузии, он иногда поставляется в инфузионном флаконе, содержащем воду или соляной раствор, которые являются стерильными и имеют фармацевтическую степень чистоты. Если конъюгаты ADC вводятся путем инъекции, обычно поставляется ампула со стерильной водой для инъекции или солевым раствором для того, чтобы ингредиенты могли быть смешаны перед введением.

[0383] Композиции, в принципе, состоят из стерильными, по существу, изотоническими и в полном соответствии со всеми правилами надлежащей производственной практики, установленными Управлением по надзору за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США.

ПРИМЕРЫ

Общие методы:

[0384] Все доступные для приобретения безводные растворители использовали без дополнительной очистки. Все доступные для приобретения реагенты использовали без дополнительной очистки, если не указано иное. Аналитическую тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на алюминиевых листах или стеклянных пластинах с силикагелем 60 F254 (EMD Chemicals, Гиббстаун,

Нью-Джерси). Колоночную флэш-хроматографию осуществляли с использованием системы флэш-очистки Biotage Isolera One™ 20 или системы флэш-очистки Biotage Selekt™ ((Шарлотт, Северная Каролина). Анализ методом сверхэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (СВЭЖХ-МС) выполняли при помощи одной из четырех систем. Система 1 СВЭЖХ-МС: масс-спектрометр Waters с одиночным квадрупольным детектором, связанный с системой Waters Acquity UPLC, оснащенной обращенно-фазной колонкой Waters Acquity UPLC BEH C18 2.1x50 мм, 1.7 мкм. Система 2 СВЭЖХ-МС: масс-спектрометр Waters Xevo G2 TOF, связанный с системой СВЭЖХ Waters Acquity H-класса, оснащенной обращенно-фазной колонкой C8 Phenomenex Synergi 2.0x150 мм, 4 мкм, 80 Å с матричным фотодиодным детектором Waters 2996. Система 3 СВЭЖХ-МС (C18): жидкостной хроматограф Shimadzu LC-20 AD и MS 2020, связанный с матричным диодным детектором (DAD) и масс-спектрометром с положительной электрораспылительной ионизацией, оснащенный обращенно-фазной колонкой Luna-C18 2.0x30 мм, размер частиц 3 мкм, поддерживаемой при 40°C или обращенно-фазной колонкой Kinetex-C18 2.1x30 мм, 5 мкм, поддерживаемой при 40°C. Система 4 СВЭЖХ-МС (C18): система жидкостной хроматографии Agilent серии 1200, связанная с матричным диодным детектором (DAD) и квадрупольным масс-спектрометром Agilent 6110B с положительной электрораспылительной ионизацией, оснащенная обращенно-фазной колонкой Kinetex-C18 2.1x50 мм, 5 мкм, поддерживаемой при 40°C.

[0385] Соединения элюировали при помощи одного из способов А-Е, согласно данному описанию.

[0386] Способ А – линейный градиент 5-95% ацетонитрила в воде (1 мл/мин) в течение 1.0 мин с последующим изократическим потоком 95% ацетонитрила до 1.80 мин (1.0 мл/мин) и возвращением к уравниванию колонки до 5% ацетонитрила до 2,20 мин (1,2 мл/мин). Вода содержала 0,037% трифторуксусной кислоты (TFA) (об./об.), а ацетонитрил содержал 0,018% TFA (об./об.). В качестве колонки использовали обращенно-фазную колонку Phenomenex Luna C18 2,0x30 мм, 3 мкм.

[0387] Способ В – линейный градиент 5-95% ацетонитрила в воде (1 мл/мин) в течение 1.0 мин с последующим изократическим потоком 95% ацетонитрила 1.80 мин (1.0 мл/мин) и возвращением к уравниванию колонки до 5% ацетонитрила до 2.20 мин (1.2 мл/мин). Вода и ацетонитрил содержали по 0.05% TFA (об./об.). В

качестве колонки использовали обращенно-фазную колонку Phenomenex Kinetex C18 2.1x30 мм, 5 мкм.

[0388] Способ С – изократический поток 5% ацетонитрила в воде в течение 0.4 мин с последующим линейным градиентом 5-95% ацетонитрила в воде до 3.0 мин с последующим изократическим потоком 95% ацетонитрила до 4.0 мин и возвращением к уравниванию колонки до 5% ацетонитрила до 4.5 мин. Скорость потока составляла 1.0 мл/мин, при этом вода и ацетонитрил содержали по 0.05% TFA (об./об.). В качестве колонки использовали обращенно-фазную колонку Phenomenex Kinetex C18 2.1x30 мм, 5 мкм.

[0389] Способ D – линейный градиент 3- 60% ацетонитрила в течение 1.7 мин, затем 60-95% ацетонитрила до 2.0 мин с последующим изократическим потоком 95% ацетонитрила до 2.5 мин с последующим возвращением к уравниванию колонки до 3% ацетонитрила. Скорость потока составляла 0.6 мл/мин, при этом вода и ацетонитрил содержали по 0.1% (об./об.) муравьиной кислоты. В качестве колонки использовали обращенно-фазную колонку Waters Acquity UPLC BEH C18 2.1x50 мм, 1.7 мкм или обращенно-фазную колонку C8 Phenomenex Synergi 2.0x150 мм, 4 мкм.

[0390] Способ E – линейный градиент 3 – 95% ацетонитрила в течение 1.5 мин с последующим изократическим элюированием 95% ацетонитрила до 2.4 мин с последующим возвращением к уравниванию колонки до 3% ацетонитрила. Скорость потока составляла 0.6 мл/мин, при этом вода и ацетонитрил содержали по 0.1% (об./об.) муравьиной кислоты. В качестве колонки использовали обращенно-фазную колонку Waters Acquity UPLC BEH C18 2.1x50 мм, 1.7 мкм или обращенно-фазную колонку C8 Phenomenex Synergi 2.0x150 мм, 4 мкм.

[0391] Если не указано иное, препаративную ВЭЖХ (ПрепВЭЖХ) проводили на одном из двух приборов с использованием процедур, перечисленных в данном описании: (способ F) Shimadzu LC-8а для препаративной ВЭЖХ с колонкой Phenomenex Luna C-18 250x50 мм, 10 мкм с использованием подвижной фазы вода/ацетонитрил с 0.09% (об./об.) TFA при скорости потока 80 мл/мин или автоматизированная система подготовки Teledyne ISCO ACCQPrep HP150, оснащенная одной из трех колонок Phenomenex для препаративной ВЭЖХ: (i) (способ G) 10 x250 мм Synergi C12, 4 мкм, колонка для ЖХ Max-RP 80 Å (ii) (способ H) 21.2 x250 мм Synergi C12, 4 мкм, колонка для ЖХ Phenomenex Max-RP 80 Å или (iii) (способ I)

30x250 мм Synergi C12, 4 мкм, колонка для ЖХ Max-RP 80 Å с использованием подвижных фаз ацетонитрил/вода, содержащих в качестве добавок 0.05% (об./об.) трифторуксусной кислоты или 0.1% (об./об.) муравьиной кислоты.

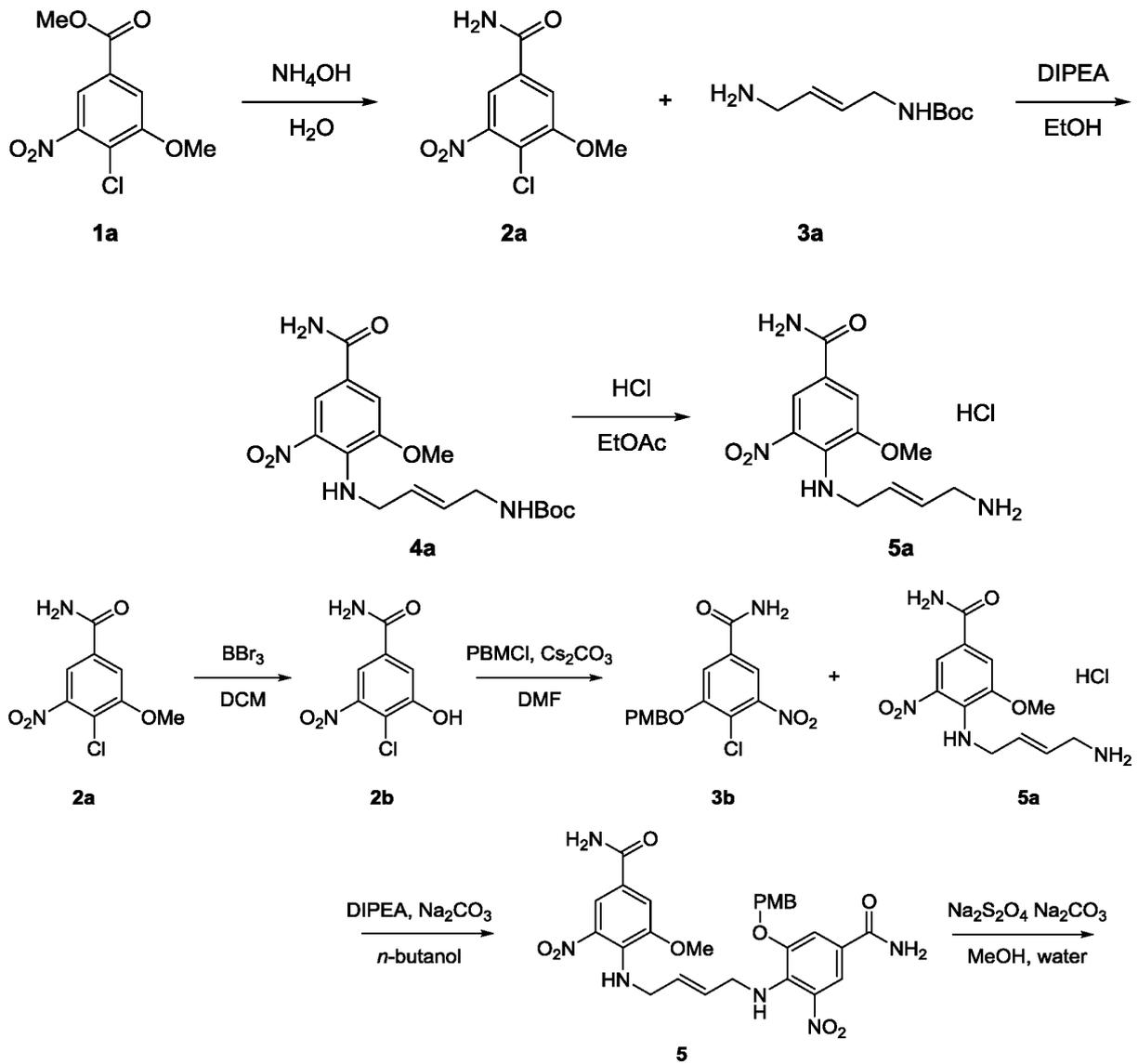
[0392] Спектры ЯМР записывали на одном из трех приборов: Bruker Avance III HD (400 МГц), Varian 400-MR (400 МГц) или Bruker Avance NEO (400 МГц).

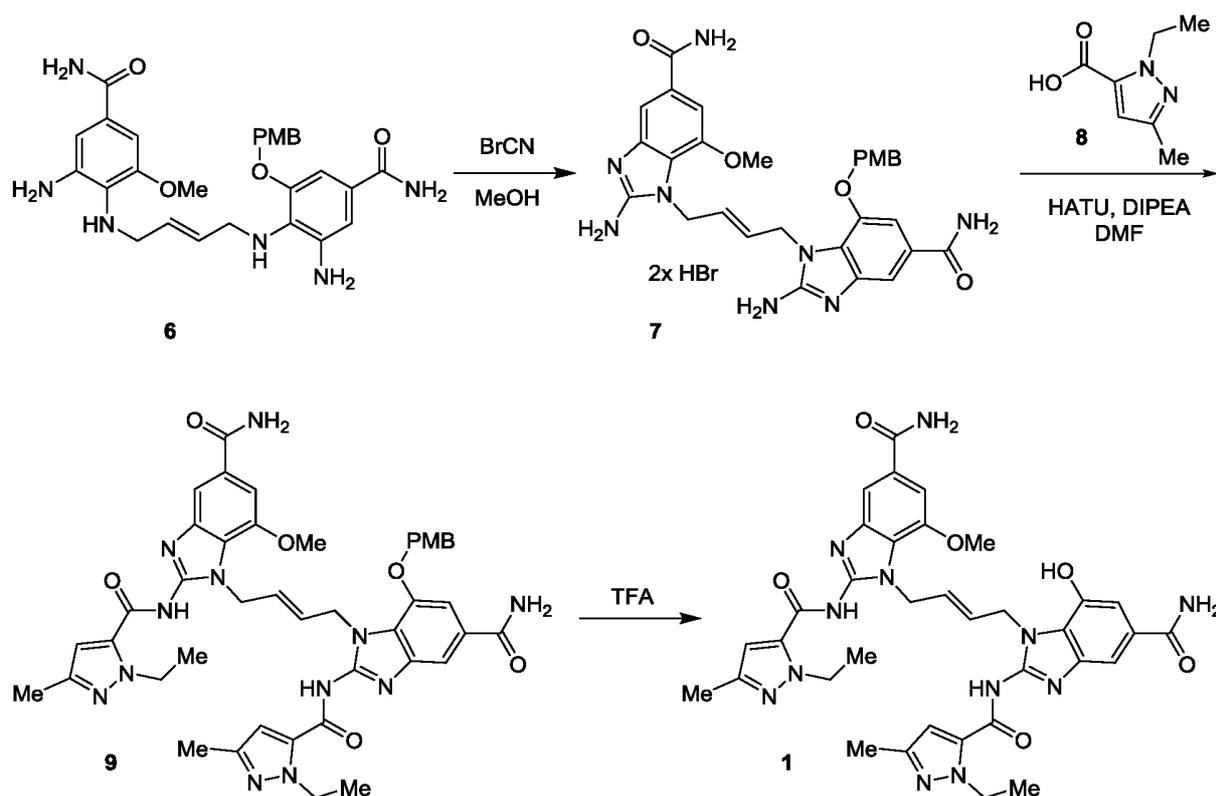
ПРИМЕР 1:

МЕТОДЫ СИНТЕЗА АГОНИСТОВ STING И ЛИНКЕРОВ

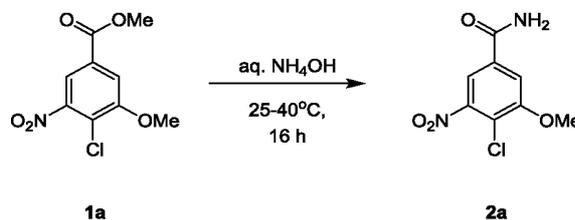
Синтез (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-гидрокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-

пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид
(соединение 1)





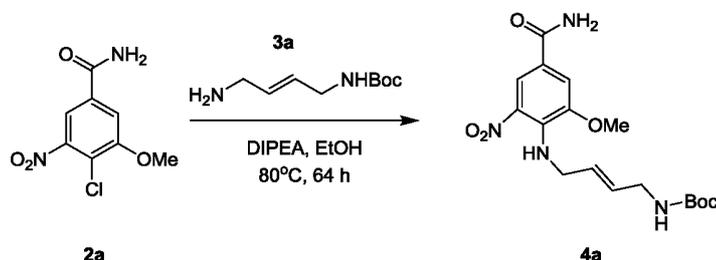
Синтез 4-хлор-3-метокси-5-нитробензамида (соединение **2a**)



[0393] Соединение **1a** (метил 4-хлор-3-метокси-5-нитробензоат, 18 г, 73 ммоль, 1 эквив.) добавили в водный раствор NH_4OH (300 мл, 28% NH_3 в H_2O) при 25°C . Реакционную смесь перемешивали при 40°C 16 ч, в течение указанного времени образовался осадок. Осадок собрали при помощи фильтрации, промыли водой и высушили в вакууме, получив соединение **2a** (13 г, 56 ммоль, выход 77%) в виде твердой фазы желтого цвета. Этот продукт использовали на дальнейших этапах без дополнительной очистки. **СВЭЖХ-МС** (способ А, ESI^+): масса/заряд ($\text{M}+\text{H}^+$) 231.0 (теоретическое), 231.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.93 мин. ^1H

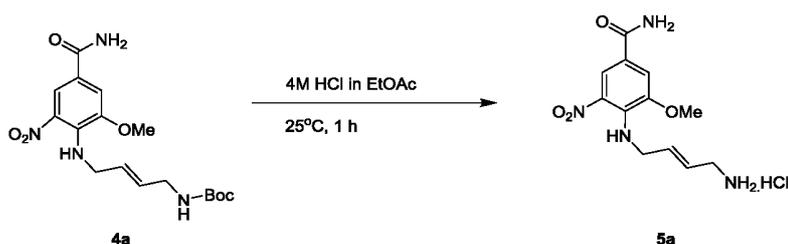
ЯМР (DMSO- d_6 , 400МГц): δ = 8.29 (br s, 1H), 8.05 (d, $J=2.0$ Гц, 1H), 7.88 (d, $J=1.6$ Гц, 1H), 7.79 (br s, 1H), 4.02 (s, 3H).

Синтез трет-бутил (E)-(4-((4-карбамоил-2-метокси-6-нитрофенил)амино)бут-2-ен-1-ил)карбамата (соединение 4a)



[0394] В раствор соединения **2a** (10 г, 43.4 ммоль, 1 эквив.) в этаноле (EtOH, 200 мл) добавили соединение **3a** (трет-бутил (E)-(4-аминобут-2-ен-1-ил)карбамат, 9.69 г, 52.0 ммоль, 1.2 эквив.) и N,N-диизопропилэтиламин (DIPEA, 16.8 г, 130 ммоль, 3 эквив.) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 64 ч, после чего осадок собрали при помощи фильтрации, промыли этанолом и высушили в высоком вакууме, получив соединение **4a** (8 г, 21 ммоль, выход 48%) в виде твердой фазы красного цвета. Этот продукт использовали на дальнейших этапах без дополнительной очистки. **¹H ЯМР** (DMSO- d_6 , 400МГц): δ = 8.18 (s, 1H), 8.01 (br s, 1H), 7.74 (br t, $J=5.6$ Гц, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.31 (br s, 1H), 6.92 (br s, 1H), 5.53 (br s, 2H), 4.08 (br s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.47 (br s, 2H), 1.35 (s, 9H).

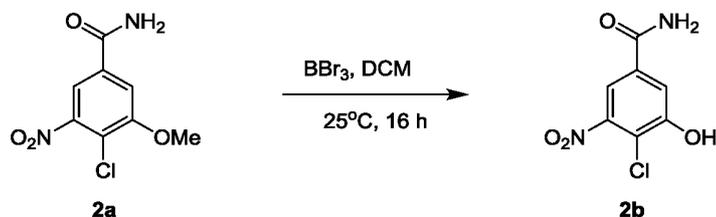
Синтез соединения 5a



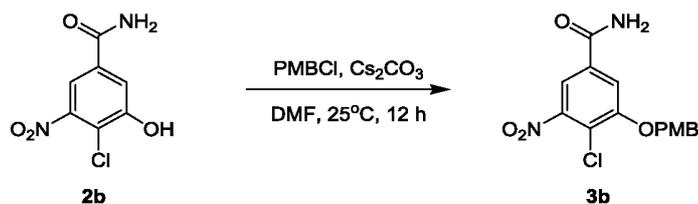
[0395] Соединение **4a** (8 г, 21.0 ммоль, 1 эквив.) добавили в 4М раствор HCl в этилацетате (200 мл, 800 ммоль HCl) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 1 ч. Осадок собрали при помощи фильтрации, промыли EtOAc и высушили в высоком вакууме, получив соединение **5a** в виде соли HCl (7.2 г, количественный выход) в форме твердой фазы красного цвета. Этот продукт

использовали на дальнейших этапах без дополнительной очистки. $^1\text{H ЯМР}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400МГц): δ = 8.21 (d, $J=1.6$ Гц, 1H), 8.02 (br s, 4H), 7.59 (d, $J=2.0$ Гц, 1H), 7.34 (br s, 1H), 5.87 (td, $J=5.6, 15.6$ Гц, 1H), 5.67 - 5.56 (m, 1H), 4.17 (br d, $J=5.6$ Гц, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.39 (br t, $J=5.6$ Гц, 2H).

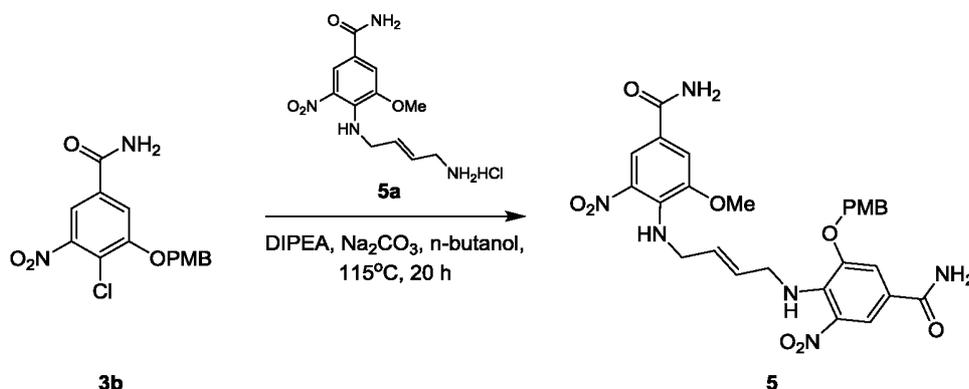
Синтез соединения **2b**



[0396] В раствор соединения **2a** (4-хлор-3-метокси-5-нитробензамид, 16 г, 69.4 ммоль, 1 эквив.) в дихлорметане (DCM, 500 мл) по каплям добавили раствор трибромида бора (BBr_3 , 1 М раствор в DCM, 275 мл, 4 эквив.) при 20°C в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при 20°C в течение 16 ч, после чего анализ методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ЖХ-МС) (способ В) показал, что реакция полностью завершилась. Реакционную смесь перелили в ледяную воду (2 L) и интенсивно перемешивали в течение 20 мин. Полученную суспензию профильтровали, а фильтрат экстрагировали этилацетатом (2 x300 мл), высушили над безводным Na_2SO_4 , профильтровали и сконцентрировали в вакууме, получив неочищенный продукт. Этот неочищенный продукт (9 г) растворили в диметилформамиде (DMF) (30 мл) и очистили обращенно-фазовой флэш-хроматографией на хроматографе Biotage Isolera One (колонка Agela C18 330г (размер частиц 20–35 мкм), используя воду/ацетонитрил с 0,09% концентрацией (об./об.) TFA, элюируемый градиентом 20-40% ацетонитрила в течение 20 минут, а затем 40-45% ацетонитрила через 35 минут, получив соединение **2b** (6 г, 27,7 ммоль, выход 40%) в виде твердой фазы серовато-белого цвета. **ЖХ-МС** (Метод В, ESI+): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 217,0 (теоретическое), 217,2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0,84 мин.

Синтез соединения 3b

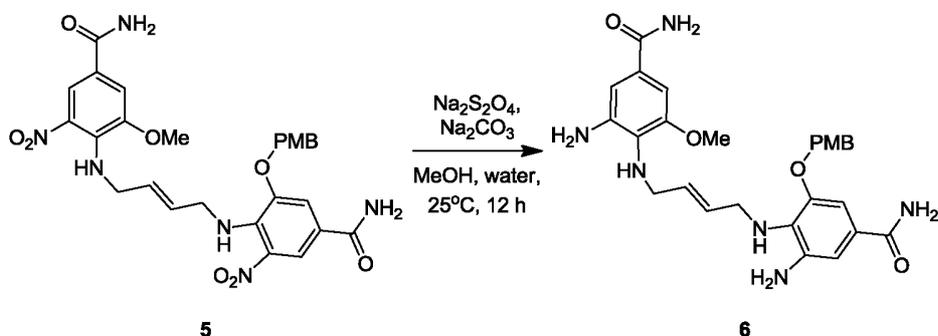
[0397] В раствор соединения **2b** (4.5 г, 20.8 ммоль, 1 эквив.) в диметилформамиде (DMF, 20 мл) добавили 1-(хлорметил)-4-метоксибензол (PMBCl, 3.42 г, 21.8 ммоль, 1.05 эквив.) и карбонат цезия (Cs₂CO₃, 7.45 г, 22.9 ммоль, 1.1 эквив.), реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 12 ч, после чего анализ ЖХ-МС (способ В) показал, что реакция полностью завершилась. Реакционную смесь перелили в ледяную воду, а осадок профильтровали и высушили, получив соединение **3b** (6.4 г, 19.0 ммоль, выход 91%) в виде твердой фазы светло-желтого цвета. Этот продукт использовали на дальнейших этапах без дополнительной очистки. ЖХ-МС (способ В, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺: 337.1 (теоретическое), 337.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.11 мин.

Синтез соединения 5

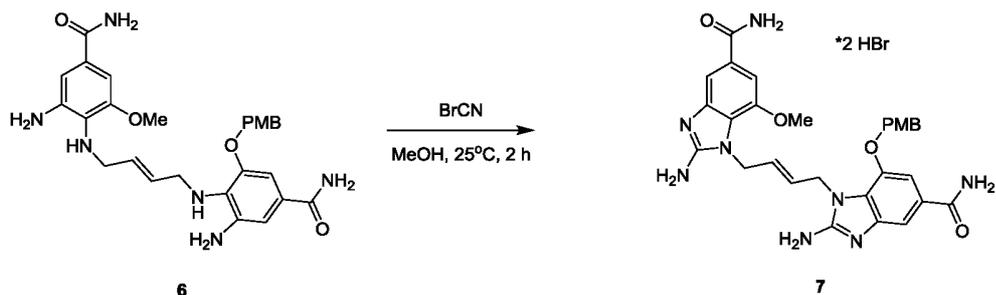
[0398] Раствор **5a** (762 мг, 2.16 ммоль, 1.2 эквив.) в н-бутаноле (10 мл) поместили во флакон и добавили диизопропилэтиламин (DIPEA, 1.11 г, 8.62 ммоль, 4.8 эквив.) и бикарбонат натрия (457 мг, 4.31 ммоль, 2 эквив.). Флакон плотно закрыли и реакционную смесь перемешали при 20°C в течение 10 мин. Затем добавили соединение **3b** (600 мг, 1.78 ммоль, 2.4 эквив.) и реакционную смесь перемешивали при 115°C в течение 20 ч, после чего анализ СВЭЖХ-МС (способ В) показал, что реакция полностью завершилась. Еще четыре флакона приготовили, как описано

выше. По окончании реакции все пять реакционных смесей объединили. Полученную объединенную реакционную смесь охладили до 20°C и разбавили ацетонитрилом (MeCN, 180 мл). Твердофазный материал, содержащийся в реакционной смеси отфильтровали и ополоснули MeCN (80 мл), получив твердую фазу темно-красного цвета. Эту твердую фазу промыли водой и высушили в высоком вакууме, получив соединение **5** (2.7 г, 4.65 ммоль, выход 52%) в виде твердой фазы кирпично-красного цвета. Этот продукт использовали на дальнейших этапах без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ = 8.17 (dd, J=1.9, 7.8 Гц, 2H), 8.08 – 7.96 (m, 2H), 7.77 – 7.63 (m, 3H), 7.51 (d, J=1.8 Гц, 1H), 7.37 (d, J=8.6 Гц, 2H), 7.33 (br s, 2H), 6.92 (d, J=8.6 Гц, 2H), 5.57 – 5.42 (m, 2H), 5.04 (s, 2H), 4.01 (q, J=5.8 Гц, 4H), 3.79 (s, 3H), 3.74 (s, 3H).

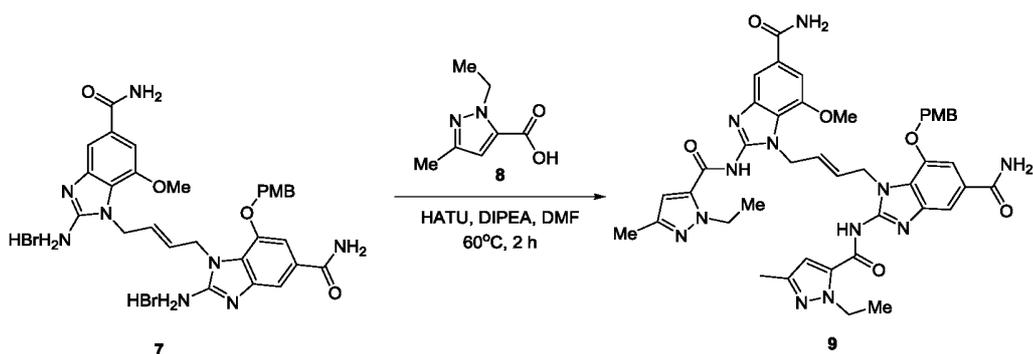
Синтез соединения **6**



[0399] В раствор соединения **5** (2 г, 3.45 ммоль, 1 эквив.) в смеси 1:1 (об./об.) метанола и воды (160 мл) добавили Na₂CO₃ (10.95 г, 103 ммоль, 30 эквив.) и дитионит натрия (Na₂S₂O₄, 8.40 г, 48.2 ммоль, 14 эквив.). Полученную реакционную смесь красного цвета перемешивали при 25°C в течение 12 ч, после чего красная смесь получила бледно-желтую окраску, при этом анализ СВЭЖХ-МС (способ В) показал, что реакция полностью завершилась. Реакционную смесь профильтровали, а фильтрат сконцентрировали и разбавили водой. Смесь экстрагировали при помощи этилацетата (EtOAc), а органический слой сконцентрировали, получив соединение **6** (1.0 г, 1.81 ммоль, выход 52%) в виде твердой фазы серовато-белого цвета. Этот продукт использовали на дальнейших этапах без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆): δ = 7.61 (br s, 2H), 7.37 (d, J=8.6 Гц, 2H), 6.97 (br s, 2H), 6.94 (s, 1H), 6.93 - 6.90 (m, 2H), 6.86 (s, 2H), 6.77 (d, J=1.8 Гц, 1H), 5.71 - 5.53 (m, 2H), 4.98 (s, 2H), 4.65 (br d, J=12.6 Гц, 4H), 3.74 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.49 (br s, 4H).

Синтез соединения 7

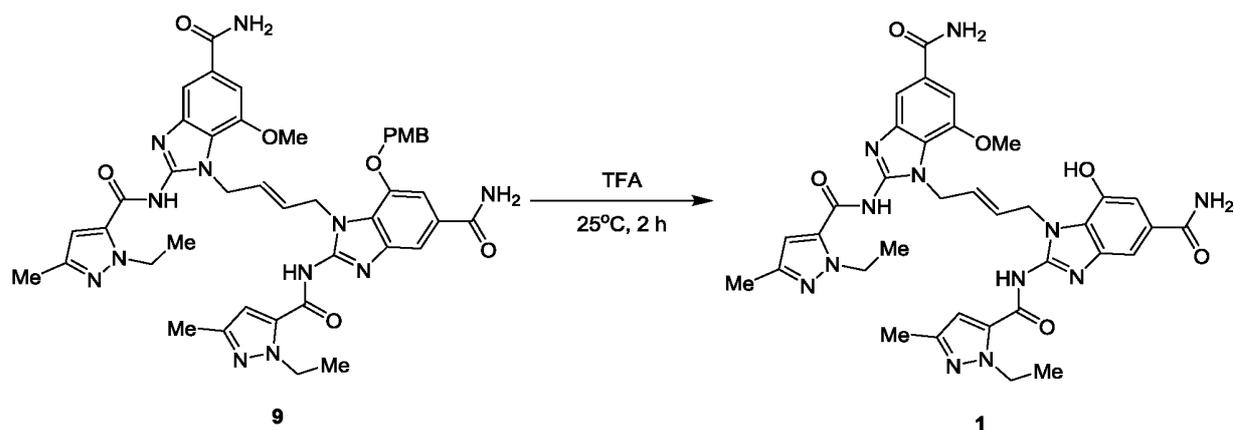
[0400] В раствор соединения **6** (1.4 г, 2.69 ммоль, 1 эквив.) в метаноле (20 мл) добавили цианоген-бромид (BrCN, 1.71 г, 16.1 ммоль, 6 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч, при этом наблюдали выпадение осадка. Анализ ЖХ-МС (способ С) показал, что реакция полностью завершилась. Твердую фазу собрали при помощи фильтрации, промыли этанолом и петролейным эфиром, получив соединение **7** (1.2 г, 1.64 ммоль, выход 61%) в виде твердой фазы светло-желтого цвета. Этот продукт использовали на дальнейших этапах без дополнительной очистки. **ЖХ-МС** (способ С, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ 571.2 (теоретическое), 571 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.634 мин. **¹H ЯМР** (400МГц, DMSO-d₆): δ = 12.94 (br s, 2H), 8.63 (br d, J=12.8 Гц, 4H), 8.08 (br s, 2H), 7.62 – 7.52 (m, 3H), 7.47 (br s, 2H), 7.38 (s, 1H), 7.24 (d, J=8.6 Гц, 2H), 6.84 (d, J=8.6 Гц, 2H), 5.81 – 5.69 (m, 1H), 5.57 (td, J=5.4, 15.5 Гц, 1H), 5.07 (s, 2H), 4.80 (br t, J=6.6 Гц, 4H), 3.74 (s, 3H), 3.69 (s, 3H).

Синтез соединения 9

[0401] В раствор соединения **8** (1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоновая кислота, 331 мг, 2.15 ммоль, 2.1 эквив.) в диметилформамиде (DMF, 3 мл) добавили 1-

[бис(диметиламино)метилден]-1Н-1,2,3-триазоло[4,5-в]пиридиний 3-оксид-гексафторфосфат (НАТУ, 973 мг, 2.56 ммоль, 2.5 эквив.), реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 10 мин. Затем добавили в реакционную смесь раствор DIPEA (596 мг, 4.61 ммоль, 4.5 эквив.) и соединение **7** (750 мг, 1.02 ммоль, 1 эквив.) в DMF (1 мл) и перемешивали при 60°C в течение 2 ч, после чего анализ ЖХ-МС (способ В,) показал, что реакция полностью завершилась. Реакционную смесь перелили в ледяную воду, твердую фазу собрали при помощи фильтрации и высушили, получив неочищенный продукт. Этот неочищенный продукт использовали на следующем этапе без дополнительной очистки. **ЖХ-МС** (способ В, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ 843.4 (теоретическое), 843.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.062 мин.

Синтез соединения **1**

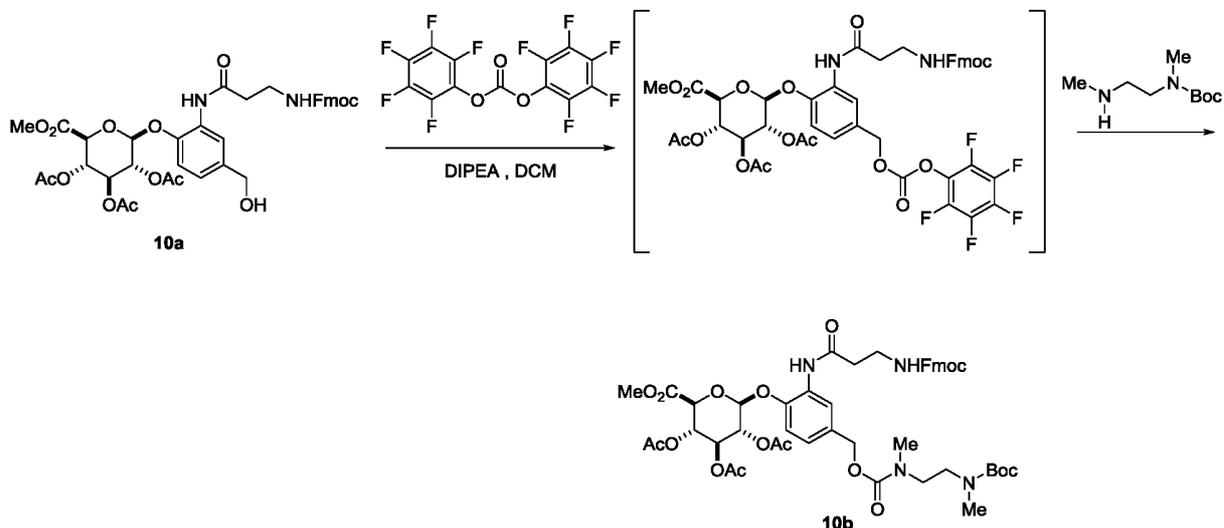


[0402] Соединение **9** (700 мг, 0.83 ммоль) добавили в стеклянный флакон, содержащий трифторуксусную кислоту (TFA, 3 мл), и полученную смесь перемешали при 25°C в течение 2 ч, после чего анализ ЖХ-МС показал, что реакция полностью завершилась. TFA удалили в вакууме, а остаток растворили в диметилсульфоксиде (DMSO) и ацетонитриле и очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ F,), получив соединение **1** (40 мг, 0.055 ммоль, выход с 2 этапов 7%) в виде твердой фазы серовато-белого цвета. **ЖХ-МС** (способ В, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ 723.3 (теоретическое), 723.1 (наблюдаемое), $[M+H]^+$, Время удерживания при ВЭЖХ: 2.04 мин. **¹H ЯМР** (400МГц, DMSO-*d*₆): δ = 13.00 - 12.51 (m, 2H), 10.41 (s, 1H), 7.96 (br s, 1H), 7.81 (br s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.37 - 7.28 (m, 2H), 7.22 (br s, 1H), 7.14 - 7.07 (m,

1H), 6.51 (br d, $J=11.0$ Гц, 2H), 5.97 - 5.75 (m, 2H), 4.91 (br dd, $J=3.5, 16.3$ Гц, 4H), 4.51 (br d, $J=3.3$ Гц, 4H), 3.77 (s, 3H), 2.10 (d, $J=6.0$ Гц, 6H), 1.25 (dt, $J=3.6, 6.9$ Гц, 6H).

Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-(((2-(((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-7-ил)окси)карбонил)(метил)амино)этил)(метил)карбамоил)окси)метил)-3-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты (соединение 11)

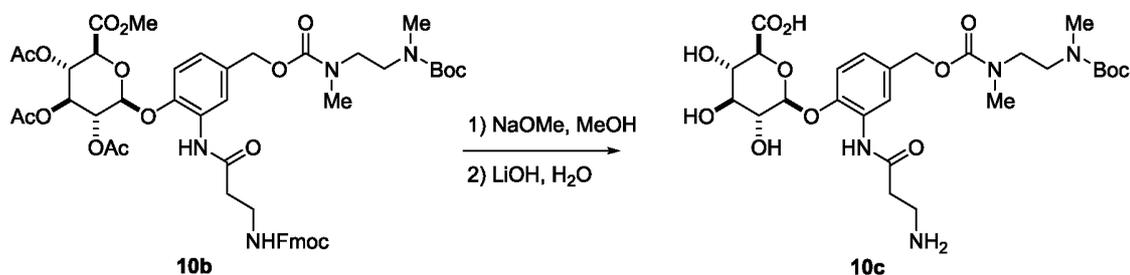
Синтез соединения 10b



[0403] Соединение **10a** получили, как сообщалось ранее (*ЭйСиЭс Мидисэнел Кемистри Леттерс* **2010**, 1, 6, 277–280).

[0404] В высушенный в печи 4 мл стеклянный флакон поместили **10a** (150 мг, 0.20 ммоль, 1 эквив.) и пентафторфенил карбонат (88 мг, 0.22 ммоль, 1.1 эквив.), DMF (1 мл) и DIPEA (0.15 мл, 0.86 ммоль, 4.3 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, после чего наблюдали образование однородного раствора светло-розового цвета. В раствор добавили *трет*-бутил метил(2-(метиламино)этил)карбамат (50 мкл, 0.27 ммоль, 1.3 эквив.), что привело к изменению цвета реакционной смеси на светло-желтый. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Затем реакционную смесь разбавили водой (50 мл), перенесли в делительную воронку и экстрагировали с применением EtOAc (3x50 мл). Органические слои собрали и объединили, промыли 1 М раствором HCl, высушили при помощи MgSO₄, профильтровали и удалили растворитель *в вакууме*. Полученную твердую фазу очистили при помощи колоночной флэш-хроматографии (колонка SiO₂ 25 г, элюировали 0-25% метанола (MeOH) в дихлорметане (DCM)), получив соединение **10b** в виде твердой фазы светло-желтого цвета (70.4 мг, 0.073 ммоль, выход 36%). СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+) масса/заряд [(M-Вос)+2H]⁺: 863.33 (теоретическое), 863.14 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.54 мин.

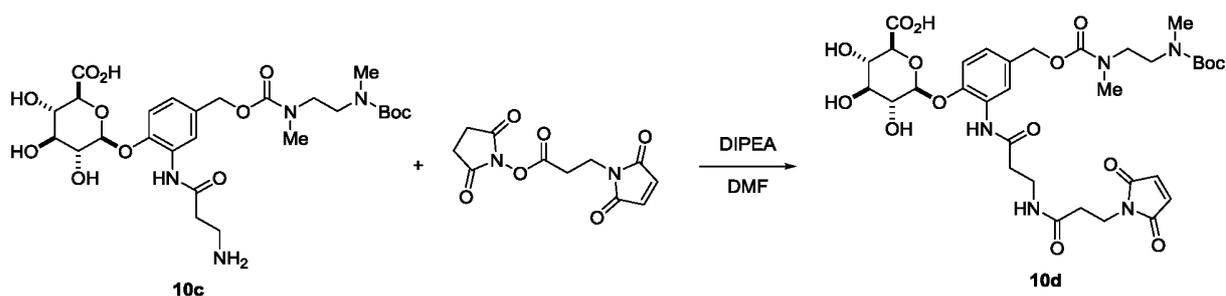
Синтез соединения **10c**



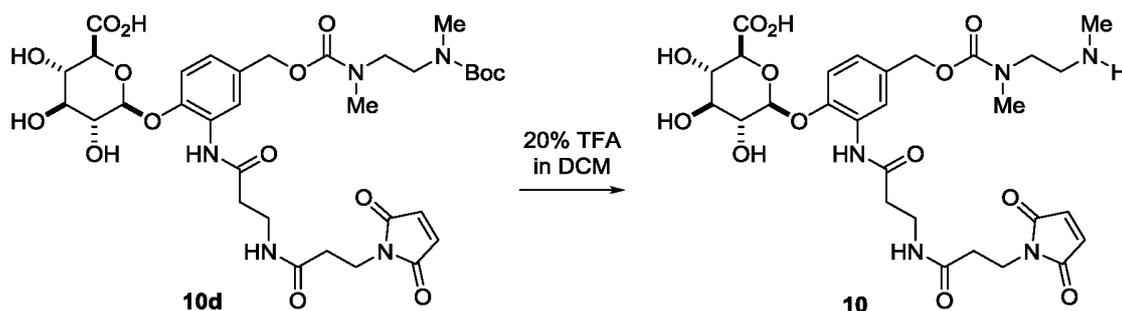
[0405] Соединение **10b** (70.4 мг, 0.073 ммоль, 1 эквив.) в виде раствора в MeOH перенесли в стеклянный флакон объемом 4 мл, высушенный в печи и снабженный магнитной мешалкой. MeOH удалили в вакууме, а флакон заполнили аргоном. Во флакон в атмосфере Ar добавили MeOH (0.5 мл), полученный раствор охладили до 0°C, а затем добавили метоксид натрия (0.5 М раствор в MeOH, 150 мкл, 0.075 ммоль, 1 эквив.). Прохождение реакции контролировали при помощи ЖХ-МС (способ D) и после полного удаления всех трех ацетатных групп добавили гидроксид лития (1 М раствор в воде, 0.225 мл, 0.225 ммоль, 3 эквив.), а затем перемешали

реакционную смесь при комнатной температуре в течение 30 мин. В реакционную смесь добавили DMSO (0.5 мл) и ледяную уксусную кислоту (50 мкл), получив однородный раствор. Неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ Н, 5 – 40% MeCN в воде с 0.05% TFA в качестве добавки подвижной фазы), получив соединение **10c** в виде твердой фазы белого цвета (16.8 мг, 0.028 ммоль, выход 38%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ 601.26 (теоретическое), 601.15 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.09 мин.

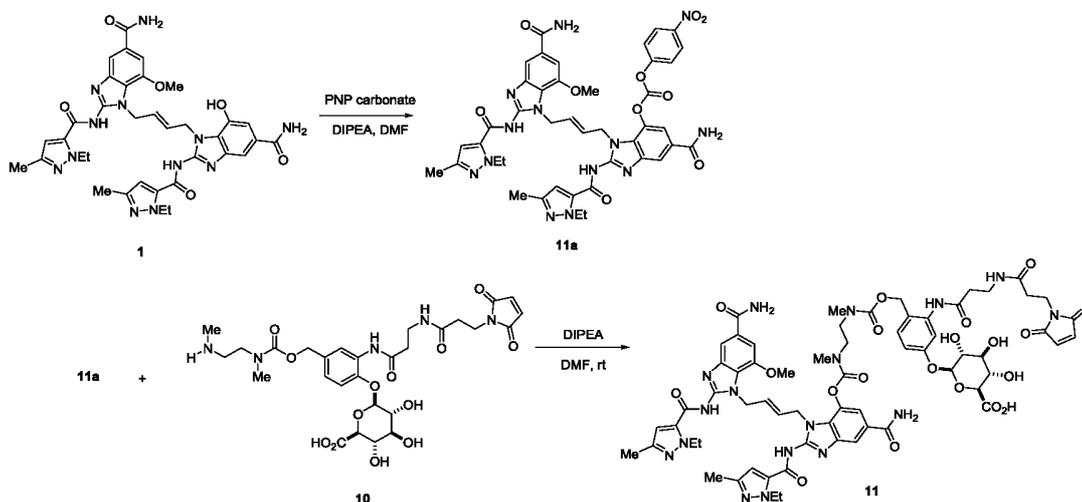
Синтез соединения **10d**



[0406] Соединение **10c** в виде раствора в MeOH (16.8 мг, 0.028 ммоль, 1 эквив.) поместили в стеклянный флакон объемом 4 мл, высушенный в печи и снабженный магнитной мешалкой. MeOH удалили в вакууме, а флакон заполнили аргоном. Во флакон добавили N-гидроксисукцинимидный эфир 3-(малеимида)пропионовой кислоты (MP-OSu, 16 мг, 0.06 ммоль, 2 эквив.) с последующим DMF (0.5 мл) и DIPEA (50 мкл, 0.28 ммоль, 10 эквив.). Через 15 мин добавили DMSO (0.5 мл) и ледяную уксусную кислоту (100 мкл), после чего неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ Н, 10 – 60% MeCN в воде с 0.05% TFA в качестве добавки подвижной фазы), получив соединение **10d** в виде твердой фазы белого цвета (15 мг, 0.020 ммоль, выход 71%). СВЭЖХ-МС (способ А, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺: 752.29 (теоретическое), 752.26 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.27 мин.

Синтез соединения 10

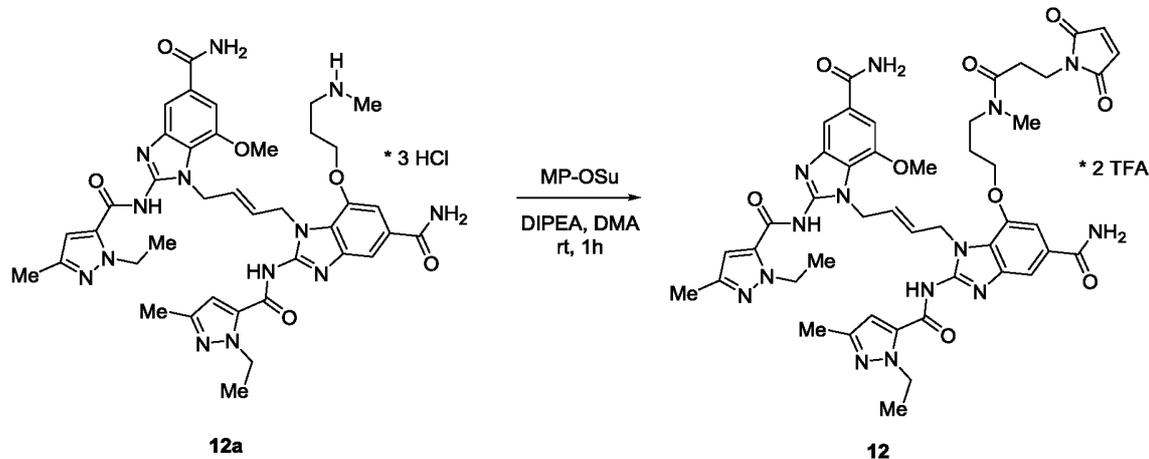
[0407] Соединение **10d** (15 мг, 0.020 ммоль, 1 эквив.) растворили в 20% (об./об.) TFA в DCM (1 мл) и перенесли в стеклянный флакон объемом 4 мл, снабженный магнитной мешалкой. Флакон оставили незакупоренным и ход реакции контролировали при помощи ЖХ-МС. Через 2 ч растворитель удалили в вакууме, получив соединение **10** в виде твердой фазы белого цвета (13 мг, 0.02 ммоль, количественный выход), которое использовали на дальнейших этапах без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺: 652.24 (теоретическое), 652.45 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.69 мин.

Синтез соединения 11

[0408] В стеклянный флакон объемом 4 мл, высушенный в печи, поместили соединение **1** (9.5 мг, 0.010 ммоль, 1 эквив.) и добавили DMF (0.5 мл), *p*-нитрофенил карбоната (9.0 мг, 0.030 ммоль, 3 эквив.) и DIPEA (20 мкл, 0.115 ммоль, 11.5 эквив.).

Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего анализ СВЭЖХ-МС (способ D) подтвердил полное превращение в соединение **11a**. Соединение **10** (20 мг, 0.031 ммоль, 3.1 эквив.) добавили в одну часть реакционной смеси и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавили ледяную уксусную кислоту (20 мкл) и неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ H, 0 – 45% MeCN в воде с 0.05% TFA в качестве добавки подвижной фазы). Фракции, содержащие соединение **11**, объединили и удалили растворитель посредством лиофилизации, получив соединение **11** (6.31 мг, 0.0039 ммоль, выход 39%). Соединение **1** также извлекли (2.81 мг, 0.0030 ммоль, извлечение 30%) в виде рыхлой твердой фазы белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$: 1400.52 (теоретическое), 1400.25 (наблюдаемое) и $[M+2H]^{2+} = 701.43$ (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.28 мин.

Синтез (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-метилпропанамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 12)



[0409] Соединение **12a** получили в соответствии с представленным ранее описанием (WO2017/175147, пример 40, страница 292).

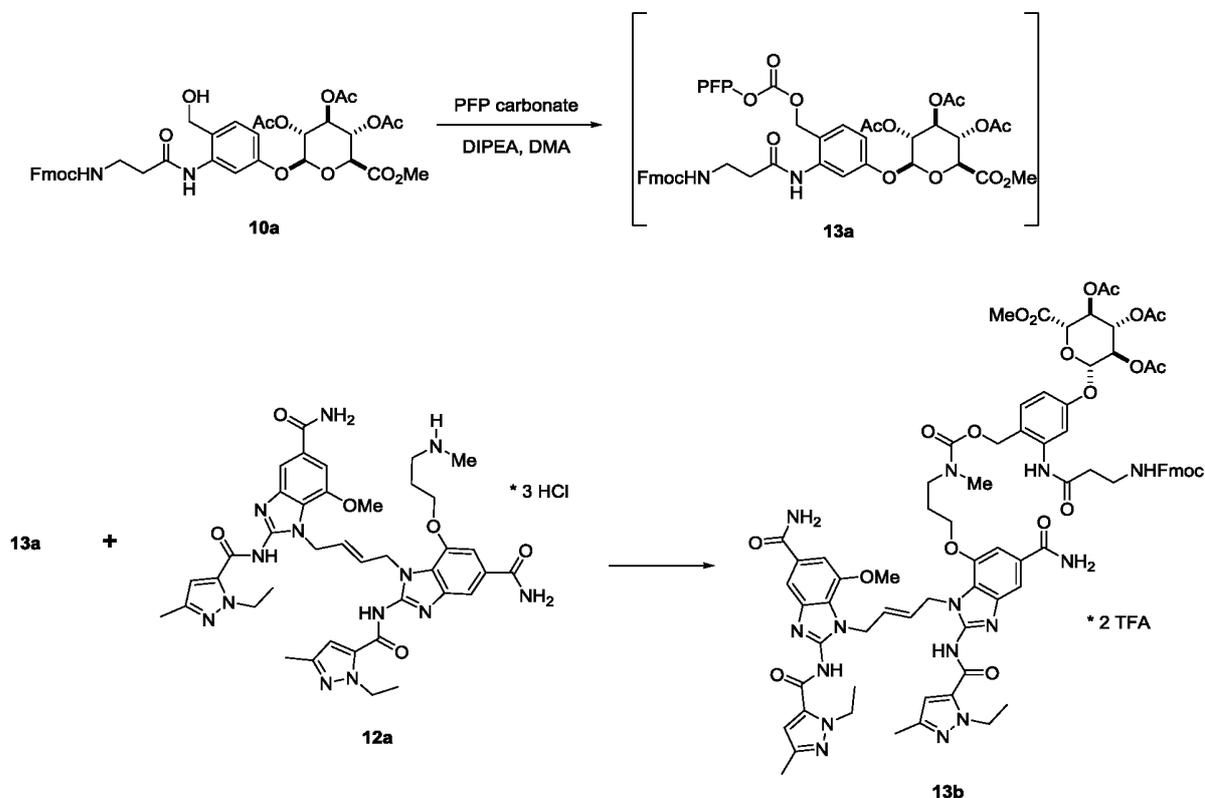
[0410] В раствор соединения **12a** (28.7 мг, 0.032 ммоль, 1.0 эквив.) в N,N-диметилацетамиде (DMA) (635 мкл) добавили MP-OSu (15.9 мг, 0.0596 ммоль, 1.9 эквив.) и DIPEA (35 мкл, 0.199 ммоль, 6.2 эквив.). Реакционную смесь перемешивали

в течение 1 ч при комнатной температуре. По окончании раствор сконцентрировали при пониженном давлении и неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 20-50-95% MeCN в воде с 0.1% муравьиной кислоты в качестве добавки подвижной фазы), получив соединение **12** (выход 46%, 17.8 мг, 0.0152 ммоль). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ 945.40 (теоретическое), 945.72 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.79 мин.

Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-(((3-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-7-ил)окси)пропил)(метил)карбамоил)окси)метил)-3-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)фенокси)-

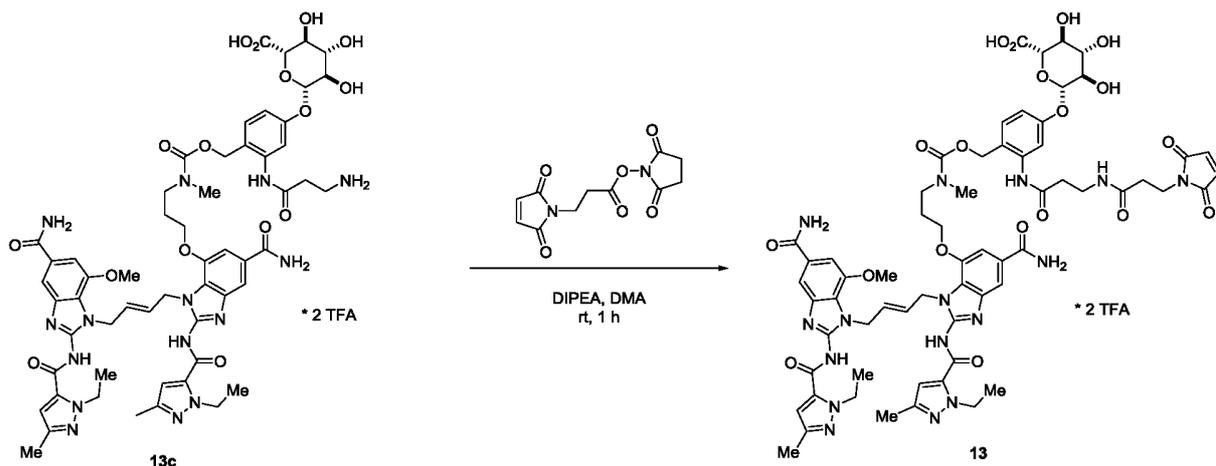
3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты (соединение 13)

Синтез соединений 13a и 13b



[0411] Соединение **10a** (13 мг, 0.017 ммоль) растворили в DMA (87 мкл). К полученному раствору добавили пентафторфенилкарбонат (13.7 мг, 0.035 ммоль) и DIPEA (14 мкл, 0.078 ммоль). Смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. После полного превращения в промежуточное соединение **13a** этот раствор перенесли во второй флакон, содержащий соединение **12a** (10.6 мг, 0.012 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре. Затем смесь разбавили водой и экстрагировали три раза EtOA (20 мл x3). Объединенные органические слои промыли 1 М раствором HCl. Органические слои объединили, высушили при помощи MgSO₄, профильтровали и сконцентрировали в вакууме. Очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ Н, 5-50-95% MeCN в воде с использованием 0.05% TFA в качестве добавки подвижной фазы), получив соединение **13b** в виде трифторацетатной соли (10.0 мг,

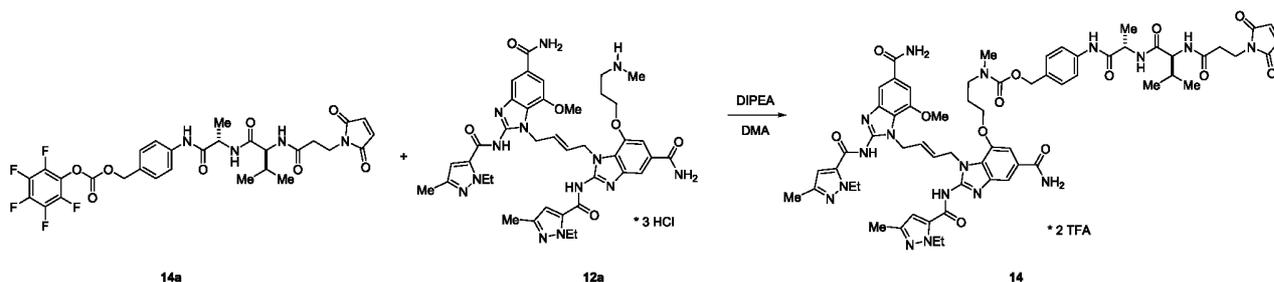
Синтез соединения 13



[0413] Соединение **13c** (4.13 мг, 0.00342 ммоль, 1.0 эквив.) растворили в DMA (68 мкл) в стеклянном флаконе в атмосфере аргона. Затем добавили MP-OSu (1.82 мг, 0.00685 ммоль, 2 эквив.) и DIPEA (3.0 мкл, 0.0171 ммоль, 5 эквив.) и перемешали реакционную смесь в течение 1 ч при комнатной температуре. Добавили ледяную уксусную кислоту (3.0 мкл) и неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 10-60-95% MeCN в воде, используя 0.1% муравьиной кислоты в качестве добавки подвижной фазы), получив соединение **13** в виде трифторацетатной соли (5.43 мг, 0.0034 ммоль, выход 93%). СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1357.52 (теоретическое), 1357.82 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.54 мин.

Синтез 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил (3-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-

**карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-7-ил)окси)пропил)(метил)карбамата
(соединение 14)**

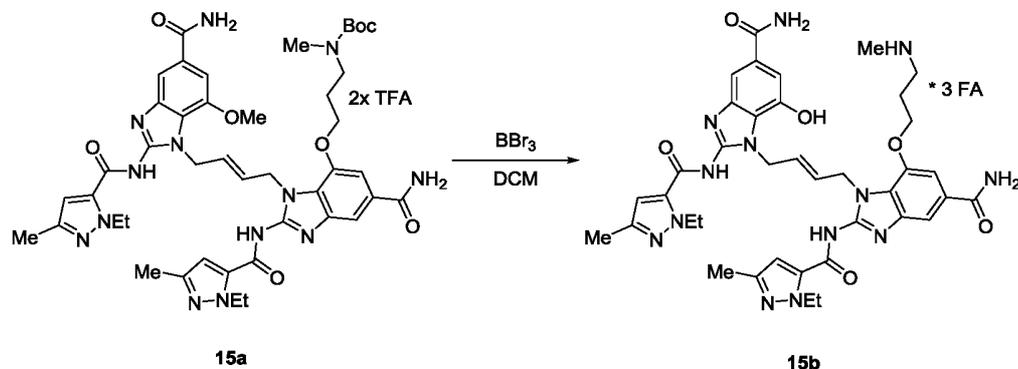


[0414] В сухой стеклянный флакон с соединением **12a** (2.6 мг, 0.0033 ммоль) добавили DMA (66 мкл), а затем - MP-Val-Ala-PAB-Orfp (**14a**, 3.2 мг, 0.049 ммоль, 15 эквив.) и DIPEA (2.8 мкл, 0.016 ммоль, 4.9 эквив.). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре, а затем добавили ледяную уксусную кислоту (2.85 мкл) и неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 30-60-95% MeCN в воде, с 0.1% муравьиной кислоты в качестве добавки подвижной фазы), получив соединение **14** в виде трифторацетатной соли (4.0 мг, 0.0027 ммоль, выход 82%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 1264.56 (теоретическое), 1264.85 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.75 мин.

Синтез (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-гидрокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-метилпропанамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-

1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 15)

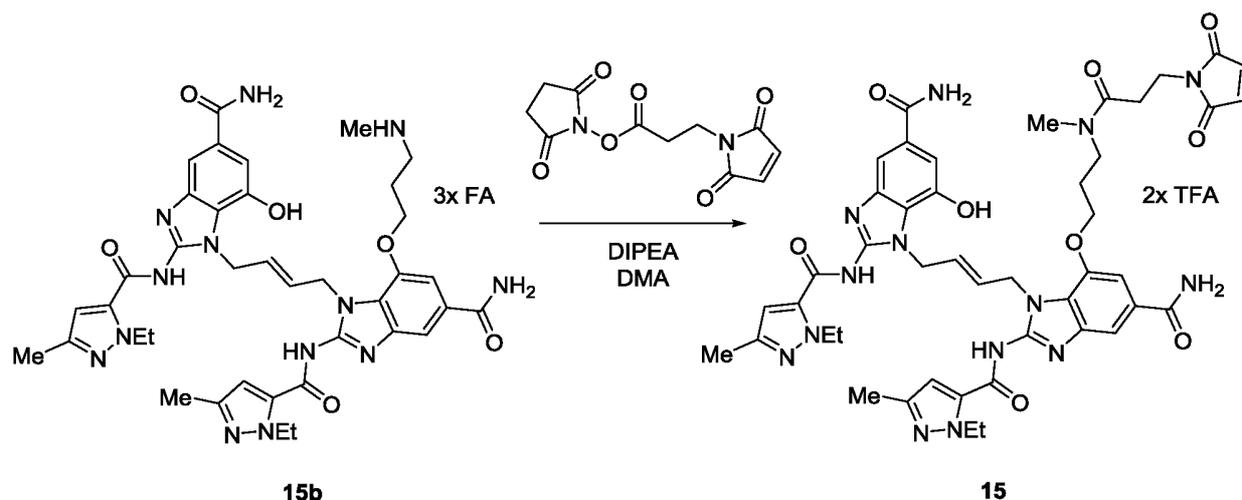
Синтез соединения 15b



[0415] Соединение **15a** получили в соответствии с представленным ранее описанием (WO2017/175147, страница 292)

[0416] В сухой стеклянный флакон, содержащий раствор соединения **15a** (31.4 мг, 0.0280 ммоль) в DCM (280 мкл) по каплям добавили трибромид бора (BBr_3 , 1 М раствор в DCM, 168 мкл, 0.168 ммоль, 6 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 18 ч. Затем охладили реакционную смесь до комнатной температуры и медленно добавили холодную воду (170 мкл). Полученную смесь сконцентрировали в вакууме и очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (20-50-95%, 0.1% муравьиной кислоты в ацетонитриле, способ G). Фракции, содержащие требуемый продукт, объединили и удалили растворитель посредством лиофилизации, получив соединение **15b** в виде формиатной соли (выход 17%, 4.36 мг, 0.0047 ммоль). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 780.36 (теоретическое), 780.38 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.33 мин.

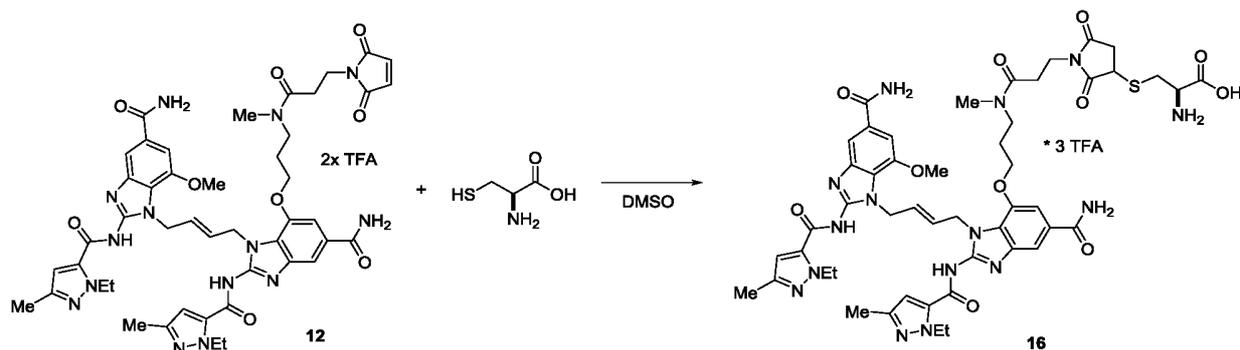
Синтез соединения 15



[0417] В сухой флакон объемом 4 мл, содержащий 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноат (MP-OSu, 1.7 мг, 0.0063 ммоль) добавили соединение **15b** (3.9 мг, 0.0042 ммоль) в виде раствора в DMA (423 мкл). В смесь добавили DIPEA (3.7 мкл, 0.0211 ммоль, 5 эквив.) и реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре, после чего добавили ледяную уксусную кислоту (3.68 мкл) и очистили продукт посредством препаративной ВЭЖХ (10-40-95%, 0.05% TFA в ацетонитриле, способ G). Фракции, содержащие требуемый продукт, объединили и удалили растворители посредством лиофилизации, получив соединение **15** в виде трифторацетатной соли (выход 20%, 1.0 мг, 0.0009 ммоль). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI⁺): масса/заряд [M+H]⁺ = 931.39 (теоретическое), 931.41 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.62 мин.

Синтез S-(1-(3-((3-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[d]имидазол-7-

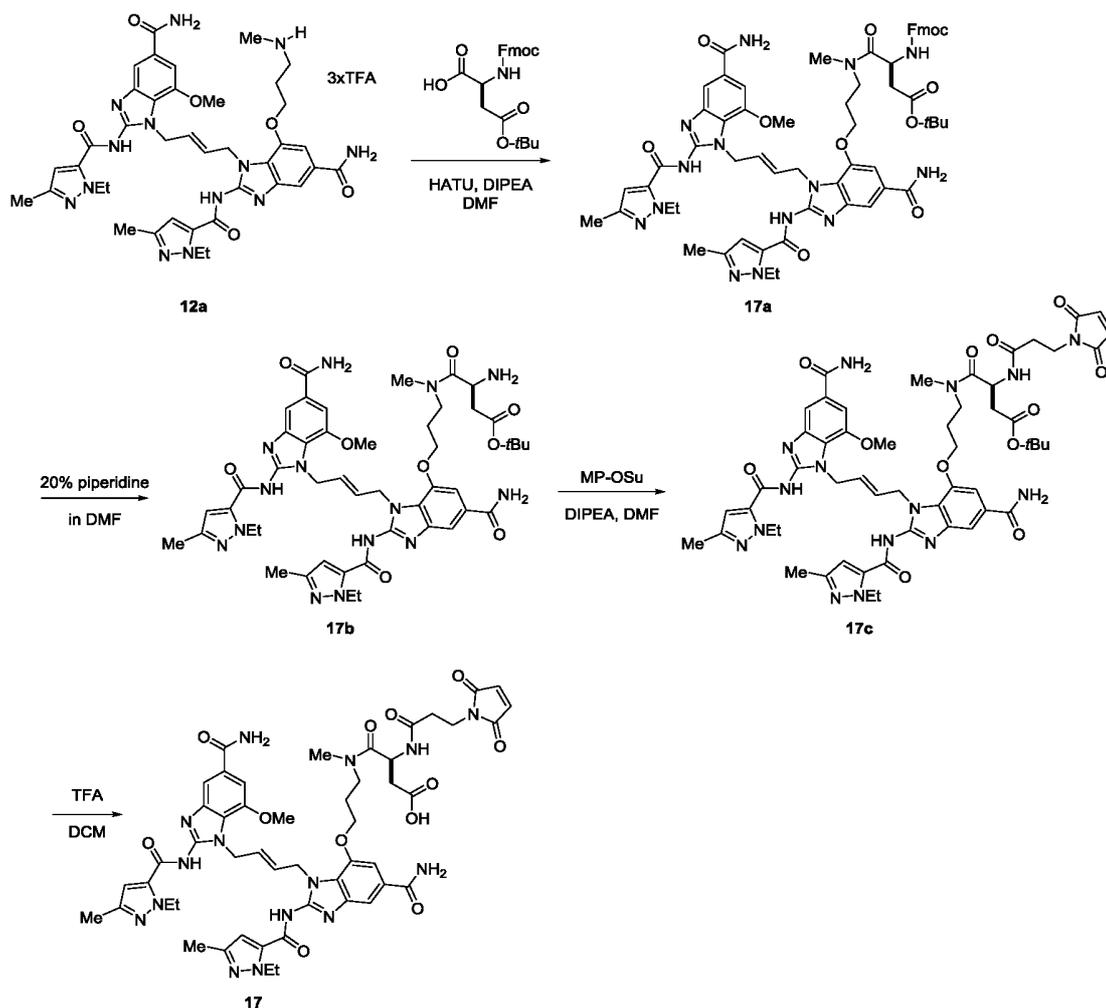
ил)окси)пропил)(метил)амино)-3-оксопропил)-2,5-диоксопирролидин-3-ил)-L-цистеина (соединение 16)



[0418] Соединение **12** (1.5 мг, 0.0015 ммоль, 1 эквив.) растворили в DMSO (50 мкл) и добавили водный раствор L-цистеина (1 М, 2.2 мкл, 0.0022 ммоль, 1.5 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 30 мин, а затем очистили непосредственно при помощи препаративной ВЭЖХ (30-70-95%, 0.05% TFA в ацетонитриле, способ G). Фракции, содержащие требуемый продукт, объединили и заморозили. Растворители удалили посредством лиофилизации, получив соединение **16** в виде трифторацетатной соли (выход 49%, 1.03 мг, 0.0007 ммоль). СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1066.42 (теоретическое), 1066.44 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.65 мин.

Синтез (S,E)-4-((3-((5-карбамоил-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-7-

ил)окси)пропил)(метил)амино)-3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-4-оксобутановой кислоты (соединение 17)



Синтез соединения 17a

[0419] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой и содержащий соединение **12a** (10 мг, 0.011 ммоль, 1.0 эквив.), добавили флуоренилметилхлорформиат (Fmoc)-аспартат 4-трет-бутиловый эфир (9.1 мг, 0.022 ммоль, 2.0 эквив.) и HATU (8.4 мг, 0.022 ммоль, 2.0 эквив.), с последующим добавлением DMF (0.5 мл) и DIPEA (9.6 мкл, 0.055 ммоль, 5.0 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и наблюдали полное превращение в амид. Растворитель удалили в вакууме, а полученное неочищенное масло растворили в DCM и выделили требуемый продукт при помощи флэш-хроматографии (10 г SiO₂, 0 - 40% MeOH в DCM), получив

соединение **17a** (12 мг, 0.0104 ммоль, выход 94%) в виде твердой фазы светло-коричневого цвета. Выделенный материал содержал загрязнения в некотором количестве, однако, был использован на следующих этапах без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1187.54 (теоретическое), 1187.53 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.40 мин.

Синтез соединения 17b

[0420] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили соединение **17a** (12 мг, 0.0104 ммоль, 1.0 эквив.) и 20% раствор пиперидина в DMF (1 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, удалили растворитель *в вакууме* и очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 95% ацетонитрила в воде), получив соединение **17b** (9.3 мг, 0.0096 ммоль, выход 93 %). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 965.47 (теоретическое), 965.48 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.68 мин.

Синтез соединения 17c

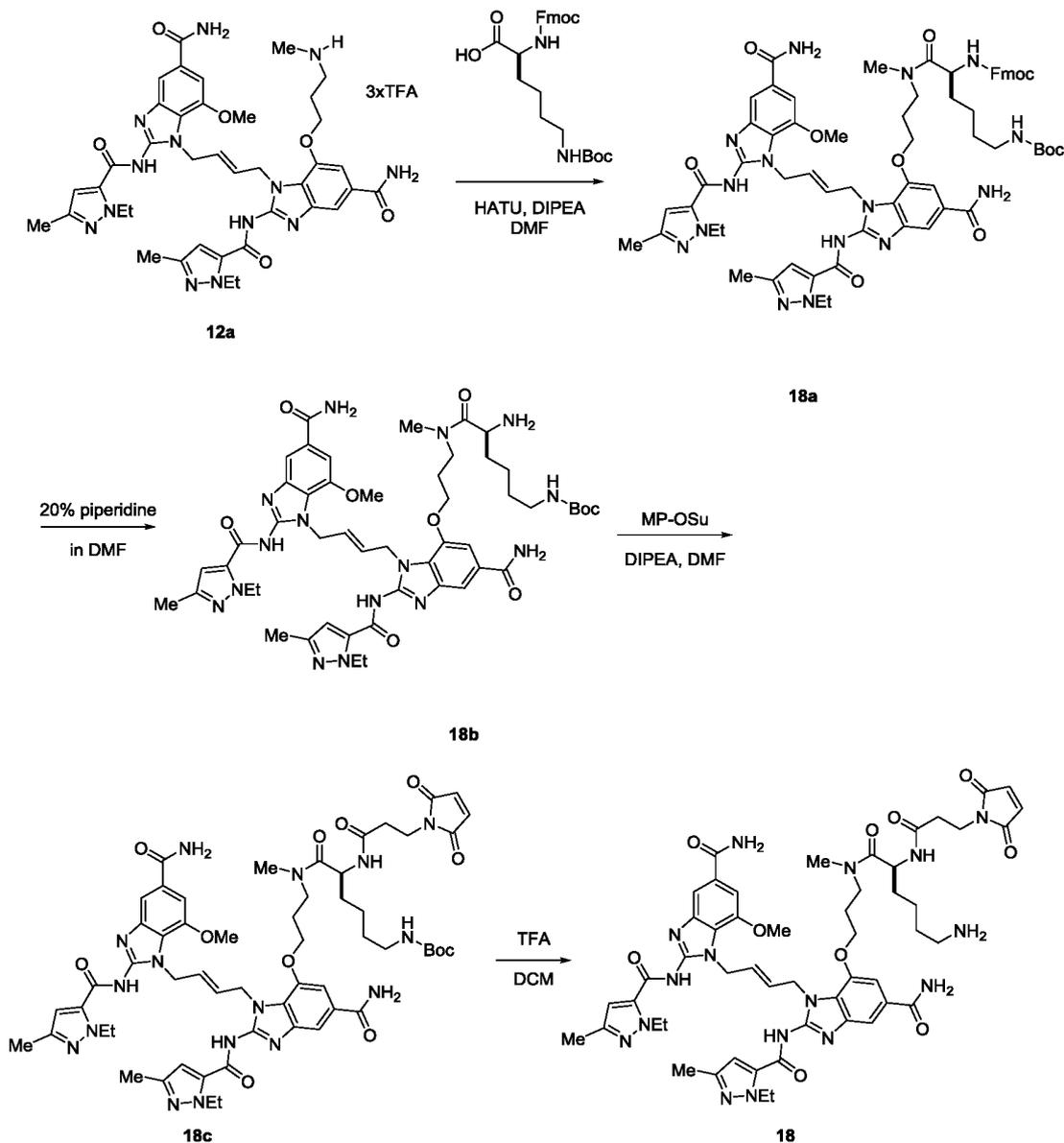
[0421] Приготовили базовый раствор MP-OSu и DIPEA путем растворения 7.7 мг MP-OSu и 10 мкл DIPEA в 1.0 мл DMF. В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили соединение **17b** (9.3 мг, 0.0096 ммоль, 1.0 эквив.) и добавили 0.5 мл базового раствора с содержанием MP-OSu (3.8 мг, 0.014 ммоль, 1.5 эквив.) и DIPEA (0.029 ммоль, 3 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и удалили растворитель *в вакууме*, получив неочищенное соединение **17c**, которое использовали на следующем этапе без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1116.50 (теоретическое), 1116.80 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.51 мин.

Синтез соединения 17

[0422] Во флакон объемом 4 мл поместили соединение **17c** (10.7 мг, 0.0096 ммоль, 1 эквив.), добавили раствор 20% (об./об.) TFA в DCM (1 мл) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 3 ч. Затем растворитель удалили *в вакууме*, а неочищенный продукт растворили в DMSO (0.75 мл) и очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 50% MeCN в воде), получив соединение **17** (5.4 мг, 0.0051 ммоль, выход 53%) в виде твердой фазы белого цвета.

СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+ = 1060.44$ (теоретическое), 1061.12 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.28 мин.

Синтез (S,E)-7-(3-(6-амино-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-N-метилгексапамидо)пропокси)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[d]имидазол-5-карбоксамидо (соединение 18)



Синтез соединения 18a

[0423] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили HATU (7.8 мг, 0.021 ммоль, 2.0 эквив.) и Fmoc-лизин N-ε-Вос (9.6 мг, 0.021 ммоль, 2.0 эквив.), к которым добавили раствор соединения **12a** (9.3 мг, 0.0103 ммоль, 1.0 эквив.) и DIPEA (9 мкл, 0.051 ммоль, 5 эквив.) в DMF (0.5 мл). Флакон закрыли крышкой и загерметизировали парапленкой, а смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Полное превращение наблюдали при помощи СВЭЖХ-МС (способ D). Растворитель удалили *в вакууме*, а продукт очистили посредством флэш-хроматография (10 г SiO₂, 0 – 40% MeOH в DCM), получив соединение **18a** (12 мг, 0.0097 ммоль, выход 95%) в виде твердой фазы желтовато-коричневого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 1244.60 (теоретическое), 1244.61 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.40 мин.

Синтез соединения 18b

[0424] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили соединение **18a** (12 мг, 0.0096 ммоль) и добавили 20% (об./об.) раствор пиперидина в DMF (1 мл) для получения реакции. Реакционную смесь перемешивали до полного превращения, наблюдаемого при помощи СВЭЖХ-МС (способ D), что заняло примерно 1 ч. Растворитель удалили *в вакууме*, а продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 95% MeCN в воде с 0.1% (об./об.) муравьиной кислоты). Растворители ВЭЖХ удалили *в вакууме*, получив соединение **18b** (4.2 мг, 0.0041 ммоль, 36%) в виде твердой фазы серовато-белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 1022.53 (теоретическое), 1022.80 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.30 мин.

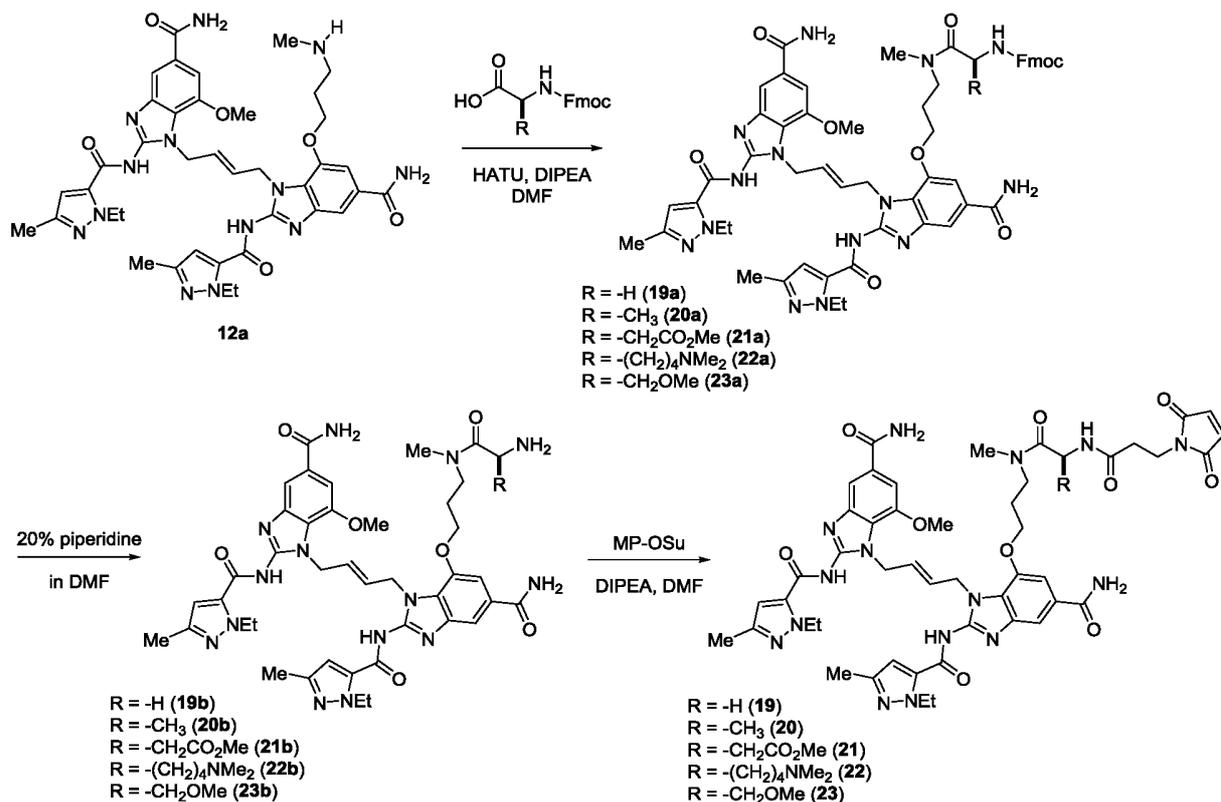
Синтез соединения 18c

[0425] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили соединение **18b** (4.2 мг, 0.0034 ммоль, 1 эквив.) и добавили MP-OSu (1.8 мг, 0.0068 ммоль, 2.0 эквив.), DIPEA (5.9 мкл, 0.034 ммоль, 10 эквив.) и DMF (0.8 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, после чего анализ СВЭЖХ-МС (способ D) показал полное превращение. Растворитель удалили *в вакууме*, получив неочищенный продукт **18c**, который использовали на следующем этапе без очистки. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ =

1173.56 (теоретическое), 1173.94 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.54 мин.

Синтез соединения 18

[0426] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили неочищенное соединение **18с** (0.0034 ммоль,) с предыдущего этапа и добавили 20% (об./об.) раствор TFA в DCM (1 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, а затем очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 – 50% MeCN в воде с 0.1% (об./об.) муравьиной кислоты). Растворители ВЭЖХ удалили в вакууме, получив соединение **18с** (4.2 мг, 0.0035 ммоль, выход 56% с 2 этапов) в виде твердой фазы белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1073.51 (теоретическое), 1073.73 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.15 мин.



Общие способы связывания HATU, снятия защиты Fmoc и связывания MP

[0427] Связывание HATU (способ 1): В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили соединение **12a** (1.0 эквив.), HATU (2.0 эквив.), DIPEA (5 эквив.) и DMF (20 мМ в **12a**) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение ночи. Растворитель удалили *в вакууме*, а продукт очистили посредством хроматографии.

[0428] Снятие защиты Fmoc (способ 2): В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили вышеуказанный связанный продукт HATU и растворили его в 20% (об./об.) растворе пиперидина в DMF (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, удалили растворитель *в вакууме*, а продукт очистили посредством хроматографии.

[0429] Связывание MP (способ 3): В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили продукт предыдущей реакции, к которому добавили MP-OSu (2 эквив.), DIPEA (10 эквив.) и DMF (10 мМ в аминном исходном материале со снятой защитой Fmoc). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, удалили растворитель *в вакууме*, а продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ.

[0430] Соединение **19a** получили в соответствии с общим способом 1 (8.0 мг, 0.0075 моль, выход 85%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1073.47 (теоретическое), 1074.03 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.76 мин.

[0431] Соединение **19b** получили в соответствии с общим способом 2 (6.1 мг, 0.0072 моль, выход 95%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 851.41 (теоретическое), 851.69 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.15 мин.

[0432] Соединение **19** получили в соответствии с общим способом 3 (4.3 мг, 0.0043 моль, выход 60%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1002.43 (теоретическое), 1002.72 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.31 мин.

[0433] Соединение **20a** получили в соответствии с общим способом 1 (8.7 мг, 0.0080 моль, выход 91%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1087.49 (теоретическое), 1087.90 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.75 мин.

[0434] Соединение **20b** получили в соответствии с общим способом 2 (5.6 мг, 0.0065 моль, выход 81%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 865.42 (теоретическое), 865.66 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.12 мин.

[0435] Соединение **20** получили в соответствии с общим способом 3 (3.4 мг, 0.0034 моль, выход 52%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1016.45 (теоретическое), 1017.08 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.33 мин.

[0436] Соединение **21a** получили в соответствии с общим способом 1 (14 мг, 0.0119, ммоль). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1145.50 (теоретическое), 1145.42 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.74 мин.

[0437] Соединение **21b** получили в соответствии с общим способом 2 (7.2 мг, 0.0078 моль, выход с 2 этапов 76%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 923.43 (теоретическое), 923.67 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.13 мин.

[0438] Соединение **21** получили в соответствии с общим способом 3 (1.5 мг, 0.0014 моль, выход 22%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1074.45 (теоретическое), 1074.90 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.36 мин.

[0439] Соединение **22a** получили в соответствии с общим способом 1 (7.6 мг, 0.0065 моль, выход 63%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1172.58 (теоретическое), 1172.59 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.84 мин.

[0440] Соединение **22b** получили в соответствии с общим способом 2 (6.1 мг, 0.0064 ммоль, выход 57%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 950.51 (теоретическое), 950.83 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.99 мин.

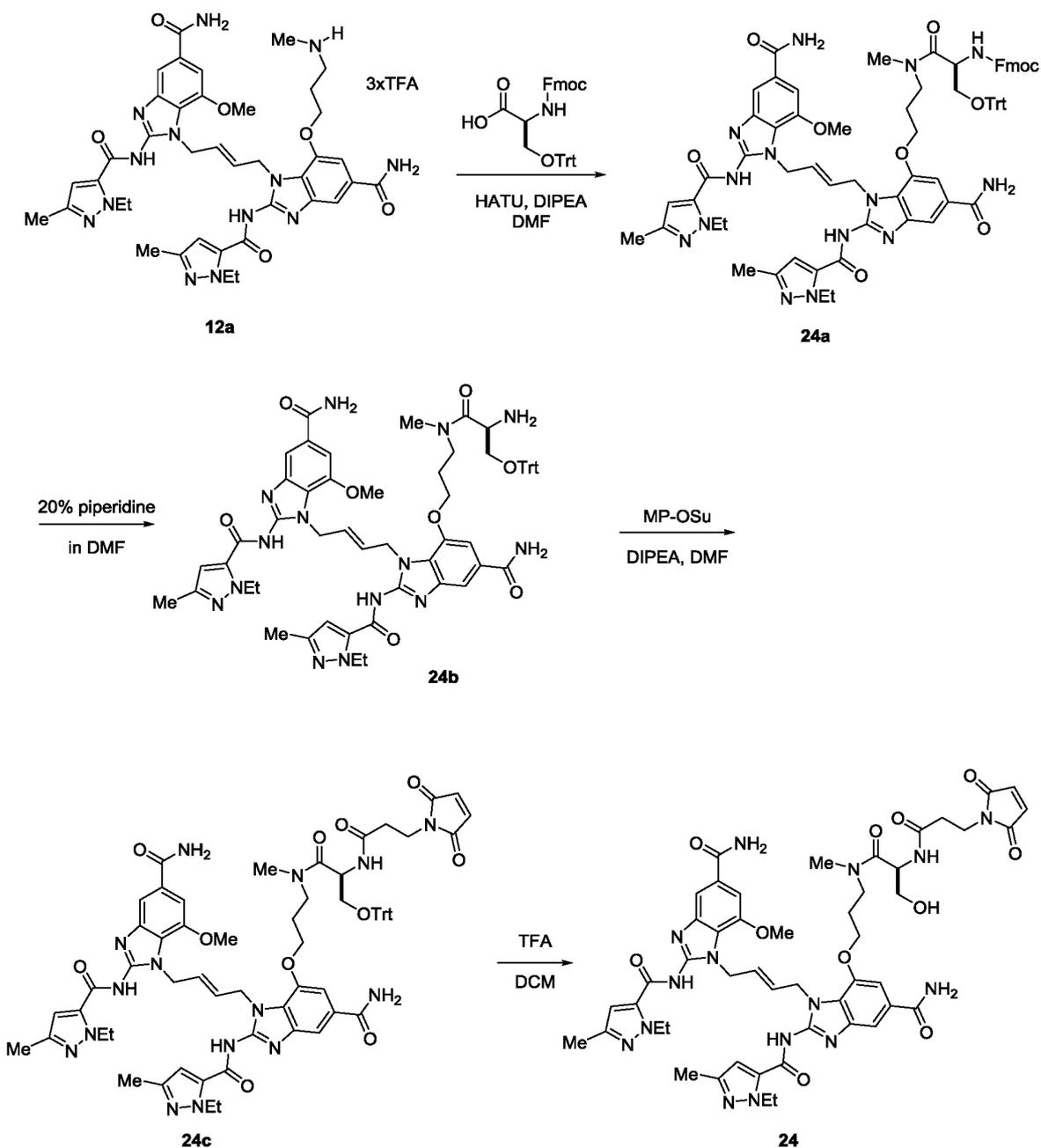
[0441] Соединение **22** получили в соответствии с общим способом 1 (2.6 мг, 0.0023 моль, выход 37%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1101.54 (теоретическое), 1101.96 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.18 мин.

[0442] Соединение **23a** получили в соответствии с общим способом 1 (12 мг, 0.0105 ммоль). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1117.50 (теоретическое), 1117.77 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.75 мин.

[0443] Соединение **23b** получили в соответствии с общим способом 2 (7.2 мг, 0.00804 ммоль, выход с 2 этапов 91%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 895.43 (теоретическое), 895.73 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.12 мин.

[0444] Соединение **23** получили в соответствии с общим способом 3 (8.4 мг, 0.0047, выход 58%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1046.46 (теоретическое), 1047.06 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.36 мин.

Синтез (S,E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-(2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-3-гидрокси-N-метилпропанамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамидо (соединение 24)



Синтез соединения 24a

[0445] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили HATU (6.7 мг, 0.018 ммоль, 2.0 эквив.) и 2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-3-метокси-пропановую кислоту (6.0 мг, 0.018 ммоль, 2.0 эквив.) и добавили во флакон раствор соединения **12a** (8 мг, 0.0088 ммоль, 1.0 эквив.) и DIPEA (8 мкл, 0.044 ммоль, 5 эквив.) в DMF (0.5 мл). Флакон закрыли крышкой и загерметизировали параплёнкой, а реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, после чего при помощи СВЭЖХ-МС (способ D) наблюдали полное превращение. Растворитель удалили в вакууме, а продукт очистили посредством флэш-хроматографии (10g SiO₂, 0 – 40% MeOH в DCM), получив соединение **24a** (15 мг), которое использовали в следующей реакции без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 1345.59 (теоретическое), 1346.12 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.23 мин.

Синтез соединения 24b

[0446] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили соединение **24a** (15 мг, 0.011 ммоль) и добавили к нему 20% (об./об.) раствор пиперидина в DMF (1 мл). Реакционную смесь перемешивали до полного превращения, наблюдаемого при помощи СВЭЖХ-МС (способ D), что заняло примерно 1 ч. Растворитель удалили в вакууме, а неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 95% MeCN в воде с 0.1% (об./об.) раствором муравьиной кислоты), растворители ВЭЖХ удалили в вакууме, получив соединение **24b** (8.4 мг, 0.0075 ммоль, выход с 2 этапов 94%) в виде твердой фазы серовато-белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 1123.53 (теоретическое), 1123.98 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.47 мин.

Синтез соединения 24c

[0447] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили соединение **24b** (8.4 мг, 0.0075 ммоль, 1 эквив.) и добавили MP-OSu (3.0 мг, 0.011 ммоль, 1.5 эквив.), DIPEA (3.9 мкл, 0.022 ммоль, 3 эквив.) и DMF (0.5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, после чего анализ СВЭЖХ-МС (способ D) показал полное превращение. Растворитель удалили в вакууме, а полученный неочищенный продукт использовали на следующем

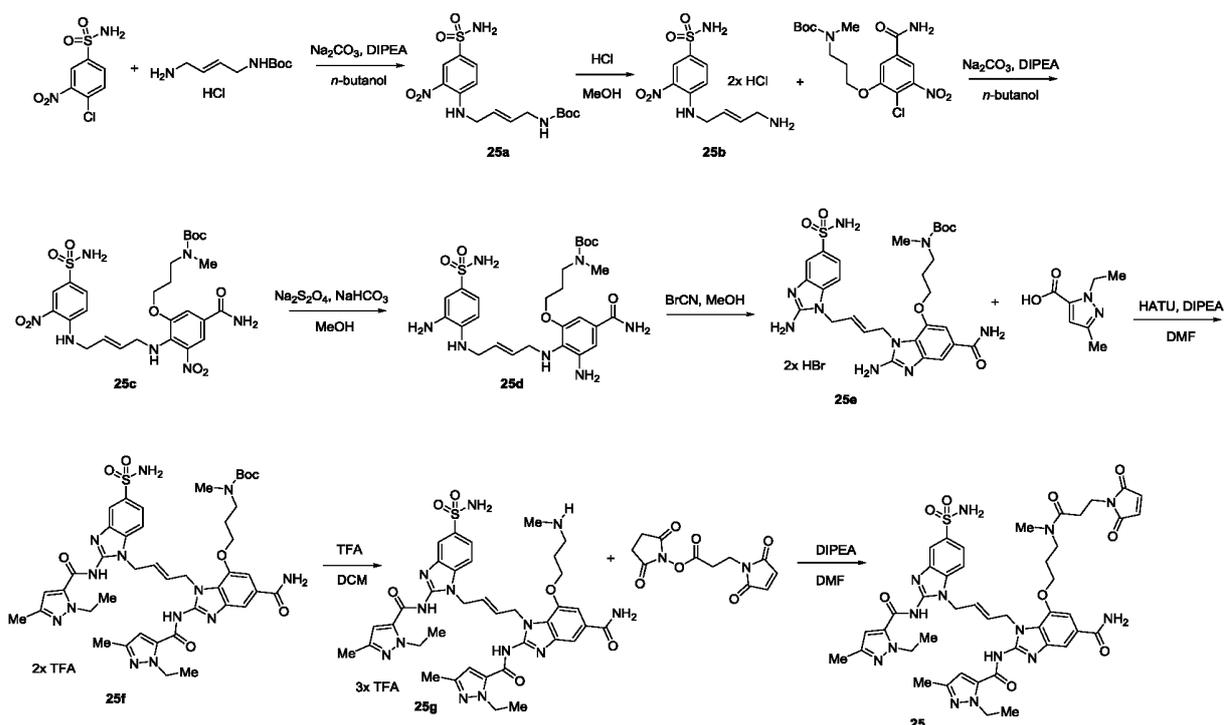
этапе без очистки. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1274.55 (теоретическое), 1275.21 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.89 мин.

Синтез соединения 24

[0448] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл, снабженный мешалкой, поместили неочищенное соединение **24с** (0.0075 ммоль,) и добавили 20% (об./об.) раствор TFA в DCM (1 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 20 мин и удалили растворитель *в вакууме*. Полученный неочищенный продукт растворили в DMSO (0.5 мл), очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 – 50% MeCN в воде с 0.1% (об./об.) раствором муравьиной кислоты) и удалили растворитель *в вакууме*, получив соединение **24** (4.0 мг, 0.0031 ммоль, выход с 2 этапов 42%) в виде твердой фазы белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1032.44 (теоретическое), 1033.09 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.28 мин.

Синтез (E)-7-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-метилпропанамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-

сульфамил-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 25).



Синтез соединения 25а

[0449] В высушенный в микроволновой печи флакон объемом 5 мл с мешалкой поместили 4-хлор-3-нитробензолсульфонамид. (250 мг, 1.06 ммоль, 1 эквив.), трет-бутил N-[(E)-4-аминобут-2-енил]карбамат гидрохлорид (353 мг, 1.6 ммоль, 1.5 эквив.) и карбонат натрия (336 мг, 3.2 ммоль, 3 эквив.). Во флакон добавили 1-бутанол (3 мл), а затем DIPEA (1.1 мл, 6.34 ммоль, 6 эквив.) и дополнительно 1-бутанол, чтобы довести общий объем реакционной смеси до 5 мл. Флакон герметично закрыли и нагревали при 140°C в СВЧ-реакторе в течение 120 мин.

[0450] Неочищенный продукт перелили в солевой раствор (100 мл) и экстрагировали с применением EtOAc (3x200 мл), органические вещества объединили, промыли солевым раствором (2x100 мл), высушили при помощи MgSO₄, профильтровали и удалили растворитель в вакууме, получив масло ярко-красного цвета. Этот материал очистили при помощи флэш-хроматографии (сухая загрузка на целите, 25 г колонка Sfär SiO₂ HC Duo, 0 - 40% MeOH в DCM), получив соединение **25а** (295 мг, 0.763 ммоль, выход 72%) в виде твердой фазы ярко-желтого цвета. СВЭЖХ-

МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H - \text{H}_2\text{O}]^+ = 287.1$ (теоретическое), 287.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.53 мин.

Синтез соединения 25b

[0451] Во флакон объемом 20 мл поместили соединение **25a** (295 мг, 0.763 ммоль, 1 эквив.), которое растворили в метаноле (7.5 мл) и в 4М растворе HCl в 1,4-диоксане (40 эквив., 7.5 мл, 30.0 ммоль). Раствор перемешивали при 40°C в течение 30 мин и удалили растворитель в вакууме, получив соединение **25b** в виде соли $2x\text{HCl}$ (274 мг, 0.764 ммоль, количественный выход), представляющей собой твердую фазу ярко-красного цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+ = 287.1$ (теоретическое), 287.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.52 мин.

Синтез соединения 25c

[0452] В высушенный в микроволновой печи флакон объемом 5 мл с мешалкой поместили соединение **25b** (135 мг, 0.376 ммоль, 1 эквив.), трет-бутил N-[3-(5-карбамоил-2-хлор-3-нитро-фенокси)пропил]карбамат (211 мг, 0.564 ммоль, 1.5 эквив., полученный, как описано ниже) и карбонат натрия (119 мг, 1.13 ммоль, 3 эквив.), а затем добавили *n*-бутанол (3.75 мл) и DIPEA (0.39 мл, 2.25 ммоль, 6 эквив.). Флакон герметично закрыли и нагревали до 140°C в течение 3 ч в СВЧ-реакторе, получив гетерогенную смесь ярко-красного цвета. Этот раствор профильтровали через целит, промыли раствором 1:1 DCM:MeOH (100 мл), удалили растворитель в вакууме, загрузили неочищенный продукт на целит и очистили при помощи флэш-хроматографии (25 г колонка SiO_2 , 0 - 40% MeOH в DCM), получив соединение **25c** (245 мг, 0.384 ммоль) в виде смеси продукта и исходного материала (3:2). Эту смесь использовали на следующем этапе без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+ = 638.2$ (теоретическое), 638.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.75 мин.

Синтез соединения 25d

[0453] Во флакон объемом 20 мл с мешалкой поместили соединение **25c** (245 мг, 0.384 ммоль, 1 эквив.) и добавили бикарбонат натрия (580 мг, 6.90 ммоль, 18 эквив.) и метанол (4 мл). Затем во флакон добавили гидросульфит натрия (1.20 г, 6.90 ммоль, 18 эквив. В 4 мл воды) и нагревали флакон до 50°C в течение 60 мин.

Реакционную смесь охладили до комнатной температуры, профильтровали через целит, промыли MeOH (50 мл) и DCM (50 мл), а затем загрузили неочищенный продукт на целит. Очистили продукт при помощи флэш-хроматографии (25 г колонка Sfär SiO₂ HC Duo, 0 - 40% 10:1 MeOH:NH₄OH в DCM), получив соединение **25d** (89 мг, 0.154 ммоль, выход с 2 этапов 41%) в виде смеси неразделимых вращательных конформеров. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 578.3 (теоретическое), 578.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.98 & 1.18 мин.

Синтез соединения 25e

[0454] Две идентичных реакции провели одновременно. В высушенный в печи флакон объемом 4 мл с мешалкой поместили соединение **25d** (45 мг, 0.156 ммоль, 1 эквив.), растворили в метаноле (1 мл) и добавили цианоген-бромид (200 мкл, 1.20 ммоль, 8 эквив.). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, удалили растворитель в вакууме и объединили две реакции, получив соединение **25e** в виде соли 2xHBr (120 мг, 0.15 ммоль, выход 97%), представляющей собой твердую фазу светло-серого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 628.3 (теоретическое), 628.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.79 мин.

Синтез соединения 25f

[0455] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл с мешалкой поместили соединение **25e** (120 мг, 0.152 ммоль, 1 эквив.), 2-этил-5-метил-пиразол-3-карбоновую кислоту (94 мг, 0.61 ммоль, 4.0 эквив.) и HATU (231 мг, 0.61 ммоль, 4 эквив.). Твердые фазы растворили в DMF (1 мл) и добавили DIPEA (0.22 мл, 1.2 ммоль, 8 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, добавили уксусную кислоту (100 мкл), очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ I, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% TFA) и удалили растворитель в вакууме, получив соединение **25f** (107 мг, 0.12 ммоль, выход 78%) в виде твердой фазы серовато-белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 900.4 (теоретическое), 900.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.69 мин.

Синтез соединения 25g

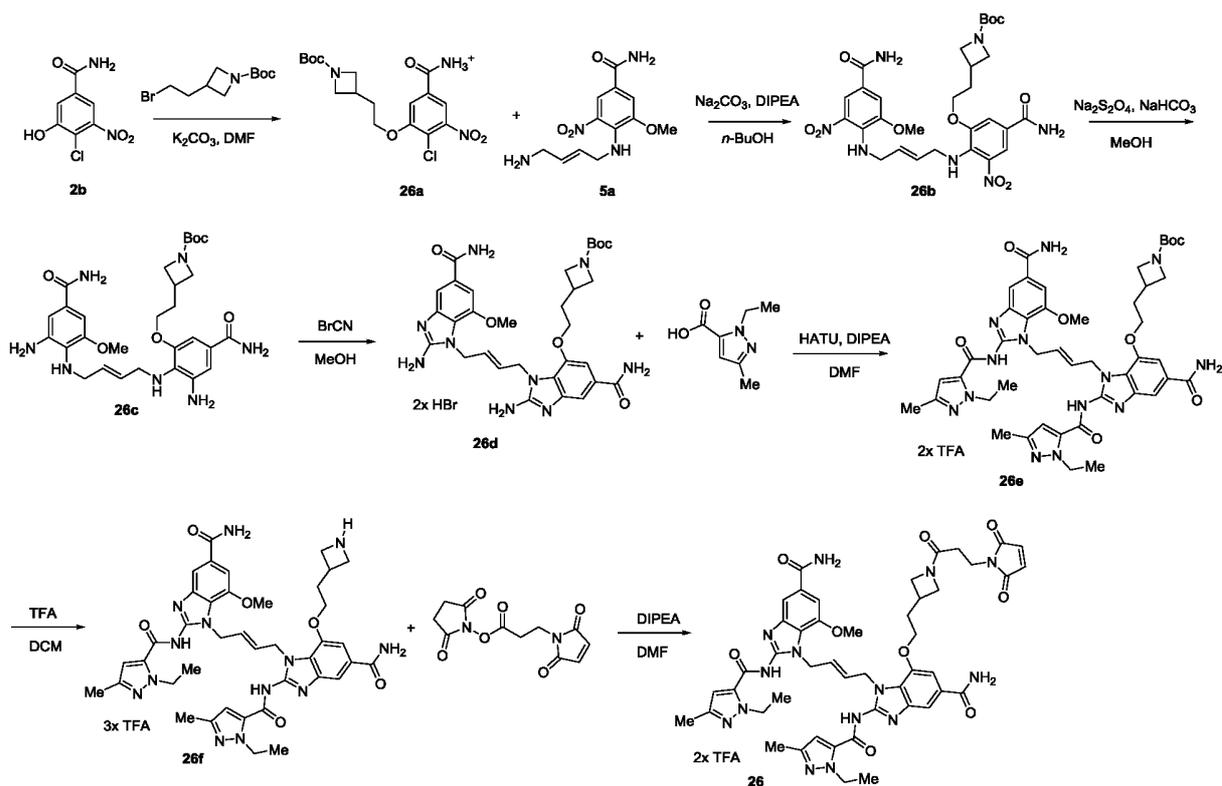
[0456] Соединение **25f** (107 мг, 0.12 ммоль, 1 эквив.) поместили во флакон объемом 20 мл с мешалкой и растворили в 20% TFA в DCM (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин и затем удалили растворитель в вакууме, получив соединение **25g** в виде соли 3xTFA, представляющей собой твердую фазу серовато-белого цвета (70 мг, 0.0615 ммоль, выход 52%). Образец аналитической чистоты получили после очистки при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% TFA). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 800.3 (теоретическое), 800.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.12 мин.

Синтез соединения 25

[0457] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл с мешалкой поместили соединение **25g** (12 мг, 0.011 ммоль, 1 эквив.), которое растворили в DMF (1 мл), а затем добавили в реакционную смесь DIPEA (15 мкл, 0.087 ммоль, 8 эквив.) и MP-OSu (4.3 мг, 0.0163 ммоль, 1.5 эквив.). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, погасили 20% раствором TFA в DCM (100 мкл) и очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% TFA), получив соединение **25** в виде соли 2xTFA (5.7 мг, 0.0048 ммоль, выход 45%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 951.4 (теоретическое), 951.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.18 мин.

Синтез (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пирразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(2-(1-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)азетидин-3-ил)этокси)-2-(1-этил-3-метил-

1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 26).



Синтез соединения 26a

[0458] В высушенный в печи флакон объемом 8 мл с мешалкой поместили соединение **2b** (100 мг, 0.462 ммоль, 1 эквив.) и карбонат калия (191 мг, 1.39 ммоль, 3 эквив.), а затем добавили трет-бутил 3-(2-бромэтил)азетидин-1-карбоксилат (152 мг, 0.577 ммоль, 1.25 эквив.). Исходные материалы растворили в DMF (3 мл), флакон загерметизировали парапленкой и перемешивали при 70°C в течение 24 ч. Неочищенный материал перелили в делительную воронку, содержащую насыщенный хлорид аммония (100 мл) и EtOAc (100 мл каждый), встряхнули, разделили слои и экстрагировали водный слой с применением EtOAc (2x100 мл). Объединенные органические фракции промыли солевым раствором (2x50 мл), высушили при помощи MgSO₄, профильтровали и удалили растворитель в вакууме, получив неочищенный продукт в виде твердой фазы светло-желтого цвета. Неочищенный продукт очистили при помощи флэш-хроматографии (25 г колонка Sfär SiO₂ HC Duo, 0 - 20% MeOH в DCM), получив соединение **26a** в виде твердой фазы

желтого цвета (86 мг, 0.215 ммоль, выход 47 %). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 400.1 (теоретическое), 400.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.79 мин.

Синтез соединения 26b

[0459] Во флакон объемом 2 мл, высушенный в микроволновой печи, поместили соединение **25a** (35 мг, 0.0875 ммоль, 1 эквив.), соединение **5a** (62 мг, 0.175 ммоль, 2 эквив.) и карбонат натрия (28 мг, 0.263 ммоль, 3 эквив.), а затем добавили *n*-бутанол (1 мл) и DIPEA (0.1 мл, 0.5 ммоль, 6 эквив.). Флакон герметично закрыли и нагревали до 140°C в течение 3 ч в СВЧ-реакторе. После этого реакцию смесь профильтровали через целит, промыли раствором 1:1 MeOH:DCM (100 мл), удалили растворитель в вакууме и неочищенный материал загрузили на целит. Продукт очистили при помощи флэш-хроматографии (25 г колонка Sfär SiO₂ HC Duo, 0 - 20% MeOH в DCM), получив соединение **25b** в виде твердой фазы ярко-красного цвета (38 мг, 0.0592 ммоль, выход 68%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 644.3 (теоретическое), 644.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.72 мин.

Синтез соединения 26c

[0460] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл поместили соединение **25b** (38 мг, 0.0592 ммоль, 1 эквив.), которое растворили в метаноле (1 мл) и добавили бикарбонат натрия (90 мг, 1.1 ммоль, 18 эквив.), а затем гидросульфит натрия (186 мг, 1.07 ммоль, 18 эквив.) в виде раствора в воде (1 мл). Реакционную смесь нагревали до 50°C в течение 1 ч, профильтровали через целит и промыли раствором 1:1 DCM:MeOH (50 мл). Неочищенный продукт загрузили на целит и очистили при помощи флэш-хроматографии (колонка 25 г Sfär SiO₂ HC Duo, 0 - 40% 10:1 MeOH:NH₄OH в DCM), получив соединение **25c** (10 мг, 0.017 ммоль, выход 29%) в виде твердой фазы светло-желтого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 584.3 (теоретическое), 584.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.18 мин.

Синтез соединения 26d

[0461] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл с мешалкой поместили соединение **25c** (10 мг, 0.017 ммоль, 10 эквив.), которое растворили в метаноле (0.5 мл) и добавили цианоген-бромид (0.050 мл, 0.150 ммоль, 3M раствор

в DCM, 8.7 эквив.). Реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч и удалили растворитель в вакууме, получив соединение **25d** в виде соли 2xHBr (13 мг, 0.0165 ммоль, выход 95%), которая представляла собой твердую фазу светло-серого цвета, и которую использовали без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 634.3 (теоретическое), 634.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.98 мин.

Синтез соединения 26e

[0462] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл с мешалкой поместили соединение **25d** (13 мг, 0.0165 ммоль, 1 эквив.), HATU (25 мг, 0.066 ммоль, 4 эквив.) и 2-этил-5-метил-пиразол-3-карбоновую кислоту (10 мг, 0.066 ммоль, 4 эквив.), которые растворили в DMF (0.5 мл), а затем добавили DIPEA (0.050 мл, 0.20 ммоль, 17 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Затем погасили реакцию уксусной кислотой (100 мкл) и очистили продукт посредством препаративной ВЭЖХ (способ H, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% TFA), получив соединение **25e** в виде соли 2xTFA (14 мг, 0.016 ммоль, выход 95%), которая представляла собой твердую фазу светло-коричневого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 906.4 (теоретическое), 906.3 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.44 мин.

Синтез соединения 26f

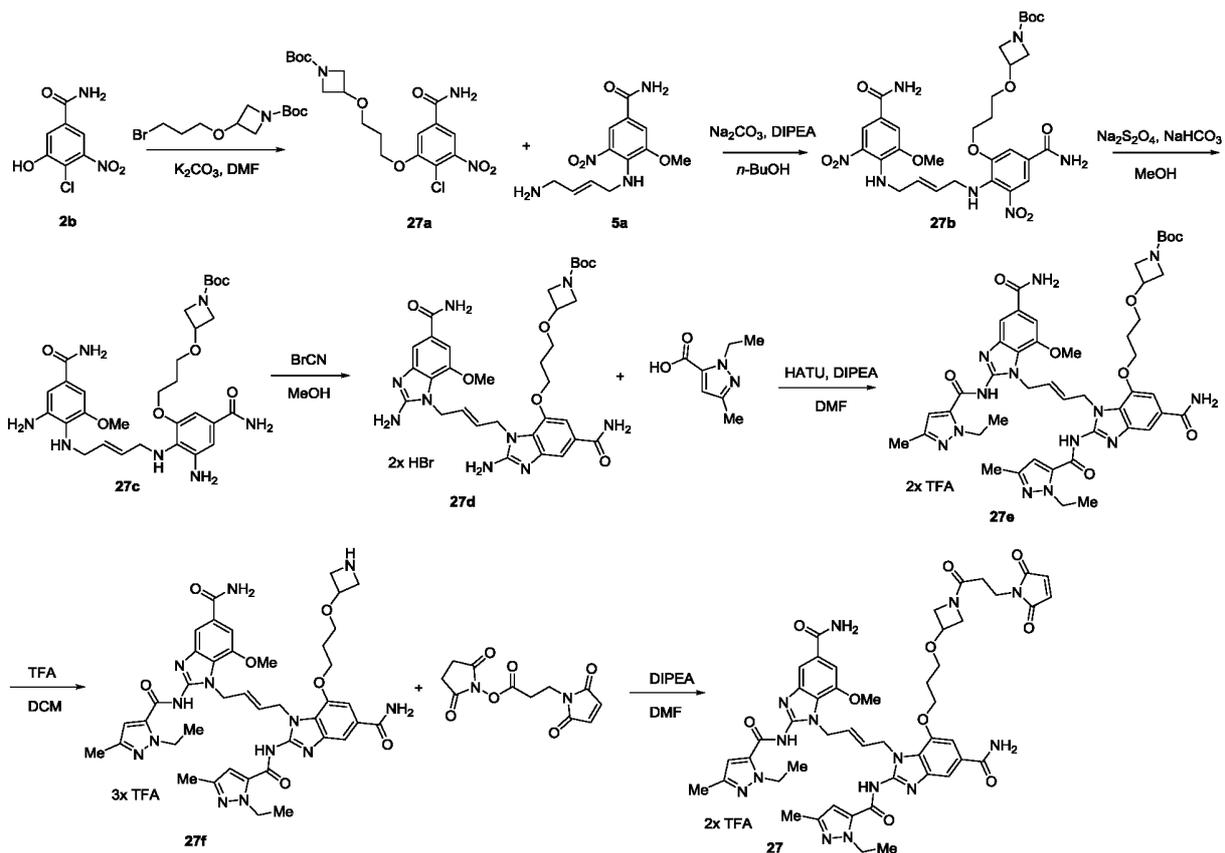
[0463] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл с мешалкой поместили соединение **25e** (14 мг, 0.016 ммоль, 1 эквив.), которое растворили в 20% TFA в DCM (1 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Растворитель удалили в вакууме, получив соединение **25f** в виде соли 3xTFA (15 мг, 0.013 ммоль, выход 82%), представляющей собой твердую фазу белого цвета. Этот продукт использовали без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 806.4 (теоретическое), 806.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.25 мин.

Синтез соединения 26

[0464] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл с мешалкой поместили соединение **25f** (5.7 мг, 0.0050 ммоль, 1 эквив.) в DMSO (0.5 мл) и MP-OSu (2.0 мг,

0.00750 ммоль, 1.5 эквив.), а затем добавили DIPEA (5 мкл, 0.030 ммоль, 6 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакцию погасили добавлением 20% TFA в DCM (100 мкл) и очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% TFA), получив соединение **26** в виде соли 2xTFA (3.8 мг, 0.00321 ммоль, выход 64%), представляющей собой твердую фазу белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+ = 957.4$ (теоретическое), 957.3 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.19 мин.

Синтез (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пирразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-((1-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)азетидин-3-ил)окси)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пирразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамидо (соединение 27).



Синтез соединения 27a

[0465] В высушенный в печи флакон объемом 8 мл с мешалкой поместили соединение **2b** в виде соли TFA (150 мг, 0.454 ммоль, 1 эквив.), трет-бутил 3-(3-бромпропокси)азетидин-1-карбоскилат (133 мг, 0.454 ммоль, 1 эквив.) и карбонат калия (141 мг, 1.02 ммоль, 2.3 эквив.), которые растворили в DMF (4.5 мл) и нагревали до 55°C в течение 24 ч. Реакционную смесь перелили в делительную воронку, содержащую насыщенный NaHCO₃ (100 мл) и EtOAc (100 мл), встряхнули, разделили слои и экстрагировали водный слой с применением EtOAc (3x50 мл). Органические фракции объединили и далее промыли насыщенным NaHCO₃ (3x50 мл) и солевым раствором (2x50 мл). Затем высушили их при помощи MgSO₄, профильтровали и удалили растворитель в вакууме, получив соединение **27a** (194 мг, 0.353 ммоль, выход 78%) в виде твердой фазы светло-желтого цвета в отношении 4:1 исходного материала к продукту и использовали указанную смесь без дополнительной очистки. MS (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 430.1 (теоретическое), 430.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.82 мин.

Синтез соединения 27b

[0466] В высушенный в микроволновой печи флакон объемом 5 мл поместили карбонат натрия (144 мг, 1.36 ммоль, 3.00 эквив.), соединение **5a** в виде соли 2xHCl (240 мг, 0.678 ммоль, 1.50 эквив.) и соединение **27a** (194 мг, 0.452 ммоль, 1 эквив.), а затем добавили 1-бутанол (4 мл) и DIPEA (0.5 мл, 2.7 ммоль, 6 эквив.). Флакон герметично закрыли и нагревали до 140°C в течение 3 ч в СВЧ-реакторе. Реакционную смесь охладили до комнатной температуры и раствор профильтровали через целит, промыли раствором 1:1 MeOH:DCM (100 мл). Неочищенный продукт загрузили на целит и очистили при помощи флэш-хроматографии (25 г колонка Sfär SiO₂ HC Duo, 0 - 20% MeOH в DCM), получив соединение **27b** (95 мг, 0.141 ммоль, выход 31%) в виде твердой фазы ярко-красного цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 674.3 (теоретическое), 674.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.73 мин.

Синтез соединения 27c

[0467] Во флакон объемом 20 мл поместили соединение **27b** (95 мг, 0.141 ммоль, 1 эквив.) и бикарбонат натрия (442 мг, 5.3 ммоль, 37 эквив.) и растворили

исходный материал в метаноле (4 мл). Во флакон добавили гидросульфит натрия (442 мг, 2.54 ммоль, 18 эквив.) в виде раствора в воде (4 мл) и нагревали реакционную смесь на открытом воздухе до 50°C в течение 1 ч. При этом в течение часа раствор изменил цвет с ярко-красного на светло-желтый. Реакционную смесь профильтровали, отфильтрованный осадок промыли раствором 1:1 MeOH:DCM (3x50 мл), удалили растворитель в вакууме, неочищенный продукт повторно растворили в растворе 1:1 MeOH:DCM (100 мл) и профильтровали через целит. Неочищенный продукт загрузили на целит и очистили при помощи флэш-хроматографии (25 г колонка Sfär SiO₂ HC Duo, 0 - 40% 10:1 MeOH:NH₄OH в DCM), получив соединение **27c** (42 мг, 0.0689 ммоль, выход 49%) в виде твердой фазы серовато-белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 614.3 (теоретическое), 614.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.78 мин.

Синтез соединения 27d

[0468] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл поместили соединение **27c** (42 мг, 0.0689 ммоль, 1 эквив.), которое растворили в метаноле (1.3 мл), а затем добавили цианоген-бромид (3M раствор в DCM, 0.14 мл, 0.414 ммоль, 6 эквив.). Содержимое флакона перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч и удалили растворитель в вакууме, получив соединение **27d** в виде соли 2xHBr (57 мг, 0.0694 ммоль, количественный выход), представляющей собой твердую фазу серовато-белого цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 664.3 (теоретическое), 664.7 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.95 мин.

Синтез соединения 27e

[0469] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл с мешалкой поместили соединение **27d** (57 мг, 0.0694 ммоль, 1 эквив.), 2-этил-5-метил-пиразол-3-карбоновую кислоту (43 мг, 0.278 ммоль, 4 эквив.) и HATU (106 мг, 0.278 ммоль, 4 эквив.), которые растворили в DMF (1 мл), а затем добавили DIPEA (0.097 мл, 0.555 ммоль, 8 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч, погасили реакцию 20% раствором TFA в MeCN (200 мкл), очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ I, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% TFA) и удалили растворитель посредством лиофилизации, получив соединение **27e** в виде соли 2xTFA (35 мг, 0.0302 ммоль, выход 43%), представляющей собой твердую фазу

желтовато-коричневого цвета. Приготовили образец аналитической чистоты путем повторной очистки с использованием препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 60% MeCN в воде с 0.05% TFA). MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 936.4 (теоретическое), 936.3 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.37 мин.

Синтез соединения 27f

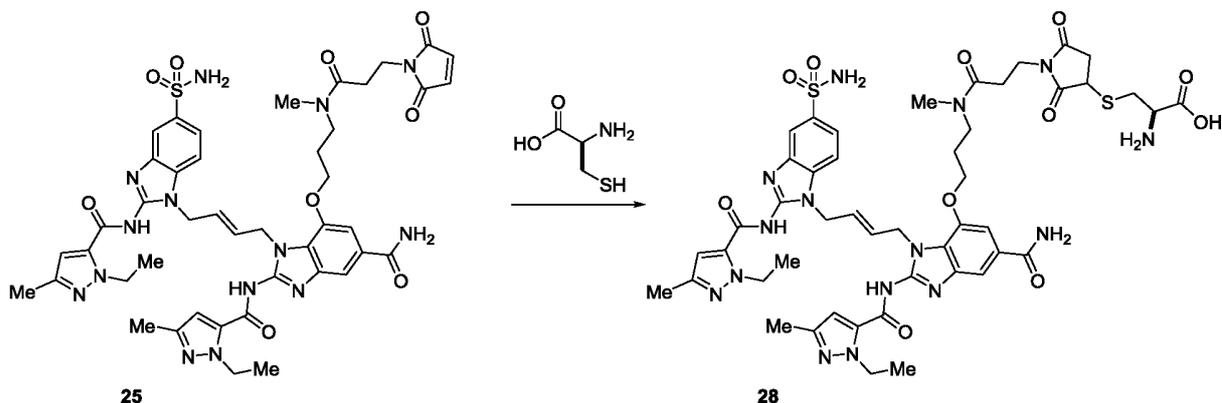
[0470] Во флакон объемом 20 мл поместили соединение **27e** (31 мг, 0.0266 ммоль, 1 эквив.), которое растворили в 20% растворе TFA в DCM (2 мл), и перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Растворитель удалили в вакууме, а неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ H, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% TFA), получив соединение **27f** в виде соли 3xTFA (7.2 мг, 0.0061 ммоль, выход 23%), представляющей собой твердую фазу белого цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 836.4 (теоретическое), 836.3 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.02 мин.

Синтез соединения 27

[0471] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл поместили соединение **27f** (10 мМ в DMSO, 0.50 мл, 0.0050 ммоль, 1 эквив.), а затем добавили MP-OSu (2.0 мг, 0.0075 ммоль, 1.5 эквив.) и DIPEA (20 мкл, 0.12 ммоль, 23 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 90 мин, погасили реакцию 20% раствором TFA в MeCN (100 мкл), а неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% TFA), получив соединение **27** в виде соли 3xTFA (3.6 мг, 0.0029 ммоль, выход 58%), представляющей собой твердую фазу белого цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 987.4 (теоретическое), 987.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.23 мин.

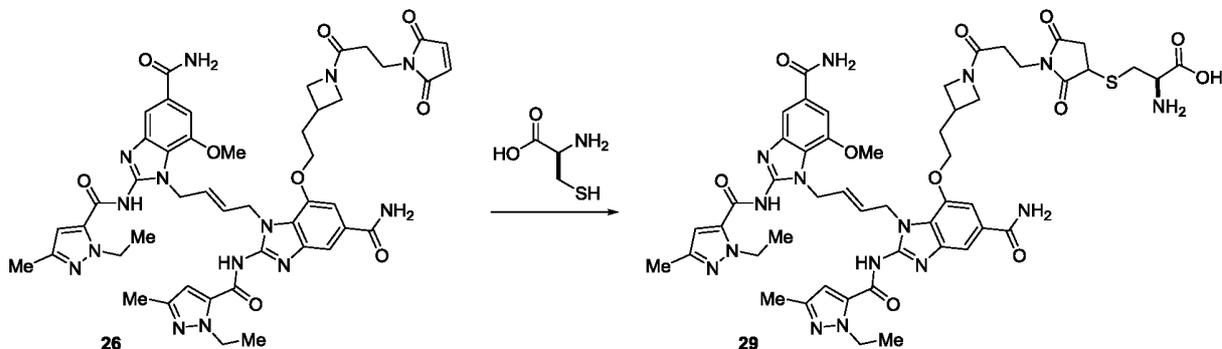
Синтез S-(1-(3-((3-((5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-((E)-4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-сульфамойл-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-7-

ил)окси)пропил)(метил)амино)-3-оксопропил)-2,5-диоксопирролидин-3-ил)-L-цистеина (соединение 28).



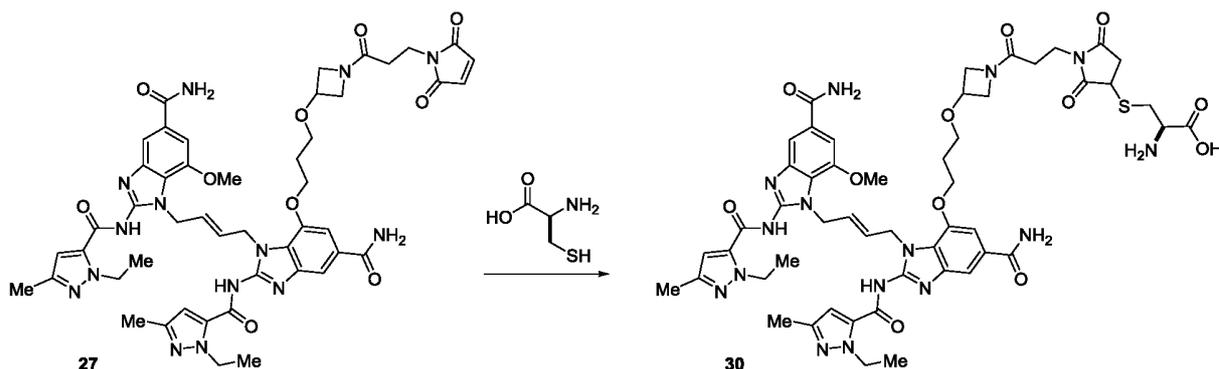
[0472] В пробирку типа Эппендорф объемом 1.7 мл поместили соединение **25** (10 мМ в DMSO, 100 мкл, 0.00100 ммоль, 1 эквив.) и добавили L-цистеин (15 мМ в 4:1 DMSO:вода, 150 мкл, 0.00300 ммоль, 3 эквив.). Реакционную смесь нагревали до 37°C в течение 90 мин, а затем очистили неочищенный продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% TFA), получив соединение **28** в виде соли 2xTFA (1.1 мг, 0.000861 ммоль, выход 86%), представляющей собой твердую фазу белого цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 1072.4 (теоретическое), 1072.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.98 мин.

Синтез S-(1-(3-(3-(2-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-7-ил)окси)этил)азетидин-1-ил)-3-оксопропил)-2,5-диоксопирролидин-3-ил)-L-цистеина (соединение 29).



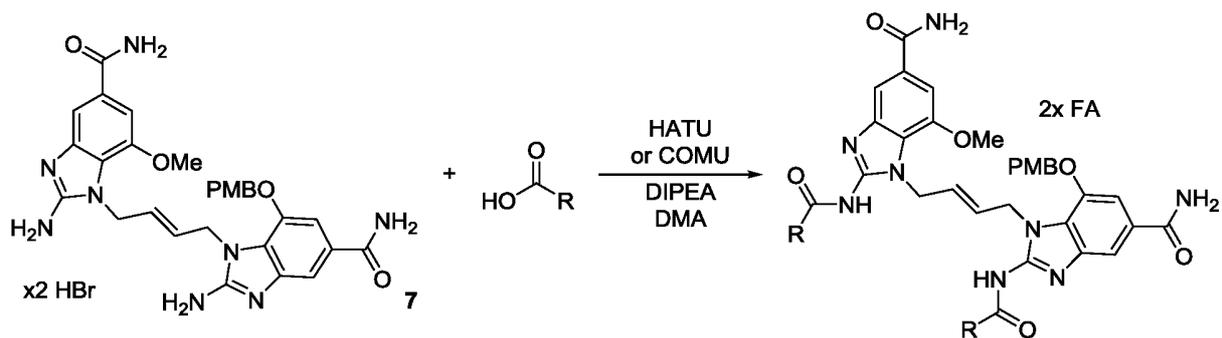
[0473] В пробирку типа Эппендорф объемом 1.7 мл поместили соединение **26** (10 мМ в DMSO, 100 мкл, 0.00100 ммоль, 1 эквив.) и добавили L-цистеин (15 мМ в 4:1 DMSO:вода, 150 мкл, 0.00300 ммоль, 3 эквив.). Реакционную смесь нагревали до 37°C в течение 2 ч, а затем очистили неочищенный продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% TFA), получив соединение **29** в виде соли 2xTFA (0.91 мг, 0.000697 ммоль, выход 70%), представляющей собой твердую фазу белого цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1078.4 (теоретическое), 1078.3 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.03 мин.

S-(1-(3-(3-(3-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-7-ил)окси)пропокси)азетидин-1-ил)-3-оксопропил)-2,5-диоксопирролидин-3-ил)-L-цистеина (соединение 30).



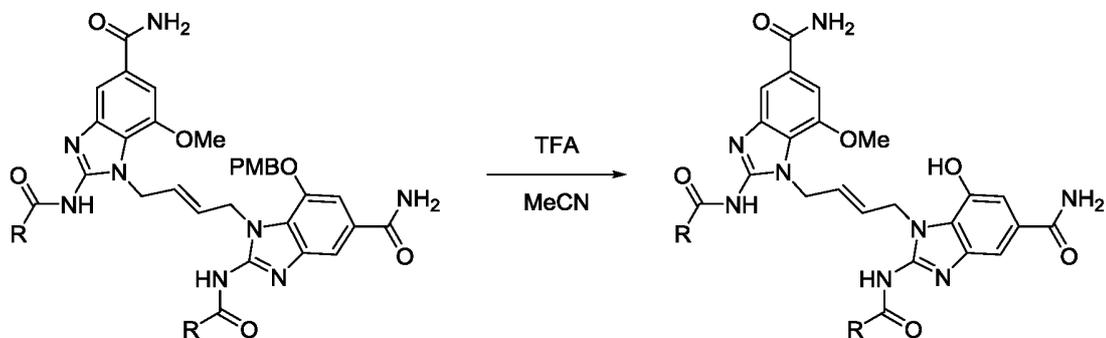
[0474] В пробирку типа Эппендорф объемом 1.7 мл поместили соединение **27** (10 мМ в DMSO, 100 мкл, 0.00100 ммоль, 1 эквив.) и L-цистеин (100 мМ в DMSO, 30 мкл, 0.00300 ммоль, 3 эквив.), а затем инкубировали раствор при 37°C в течение 30 мин. Неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G, 5 - 95% MeCN в воде с 0.05% FA), получив соединение **30** в виде соли 2xTFA (1.2 мг, 0.000913 ммоль, выход 61%), представляющей собой твердую фазу белого цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1108.4 (теоретическое), 1108.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.08 мин.

Синтез библиотеки аналогов амидов. Схема и общие способы. Соединения 31 – 60.



[0475] Связывание HATU (общий способ 4A) В раствор карбоновой кислоты (4 эквив.) в DMA (400 мкл) добавили HATU (6.2 мг, 0.016 ммоль, 4 эквив.) и DIPEA (4.3 мкл, 0.025 ммоль, 6 эквив.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, а затем в смесь добавили соединение **7** (3 мг, 0.0041 ммоль, 1 эквив.) и нагрели до 70°C в течение 18 ч. После этого добавили уксусную кислоту (4.3 мкл) и полученные продукты очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (20-50-95% MeCN в воде с 0.1% FA). Все молекулы были охарактеризованы при помощи ЖХ-МС, способ D с ионизацией ESI+.

[0476] Связывание COMU (общий способ 4B) В раствор карбоновой кислоты (4 эквив.) в DMA (400 мкл) добавили COMU ((1-циано-2-этокси-2-оксоэтилиденаминоокси)диметиламино-морфолино-карбениум гексафторфосфат) (7 мг, 0.016 ммоль, 4 эквив.) и DIPEA (4.3 мкл, 0.025 ммоль, 6 эквив.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, а затем в смесь добавили соединение **7** (3 мг, 0.0041 ммоль, 1 эквив.) и раствор нагрели до 40°C в течение 18 ч. После этого добавили уксусную кислоту (4.3 мкл), а полученные продукты очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (20-50-95% MeCN в воде с 0.1% FA).

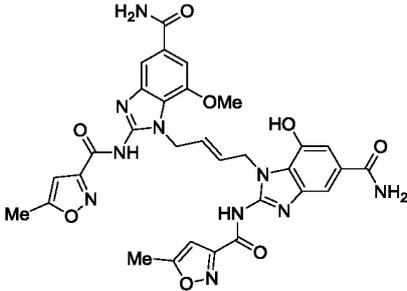
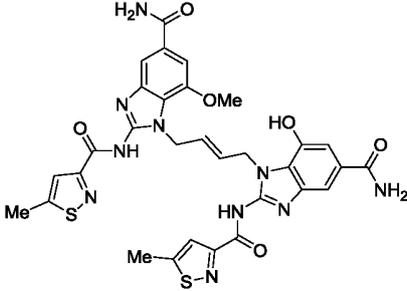
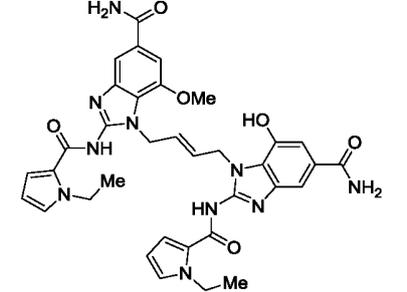
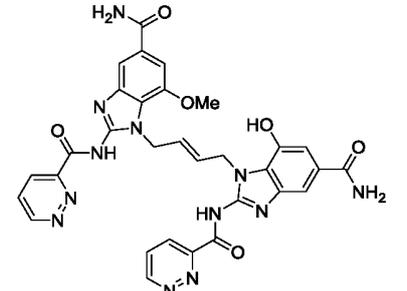
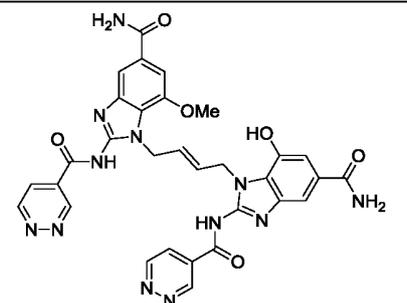


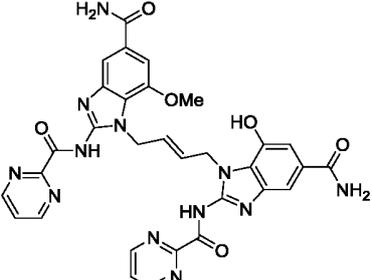
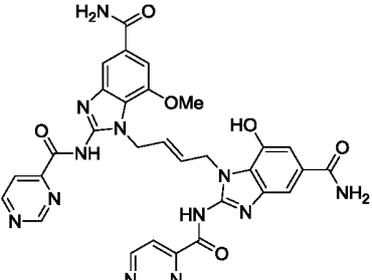
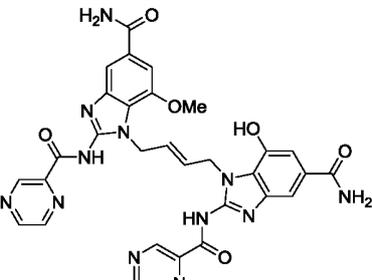
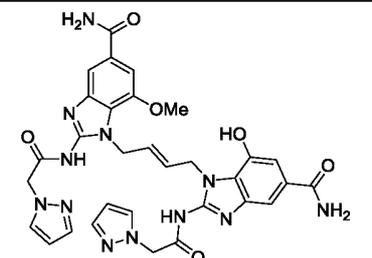
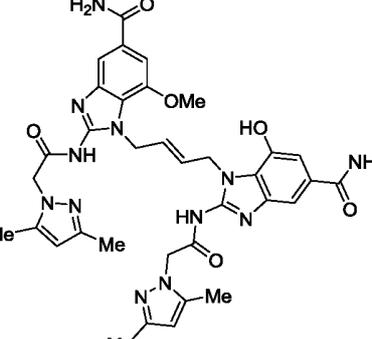
[0477] Снятие защиты РМВ (общий способ 5) Полученный амид с предыдущего этапа растворили в 50% TFA в MeCN (0.01 M) и перемешивали при 30°C в течение 30 мин. После окончания смесь сконцентрировали, а продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (20-50-95% вода/ацетонитрил, 0.1% TFA).

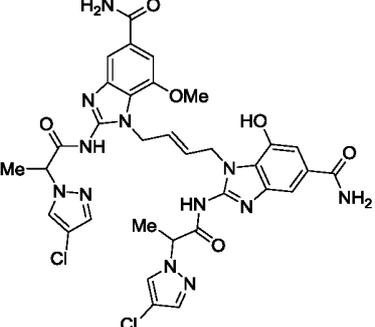
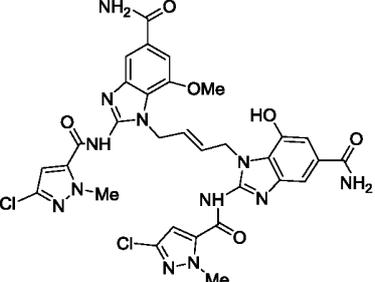
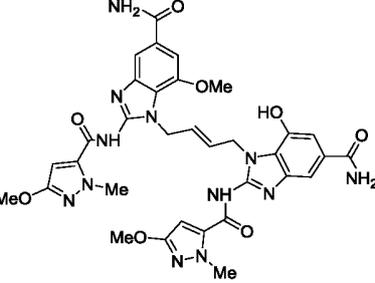
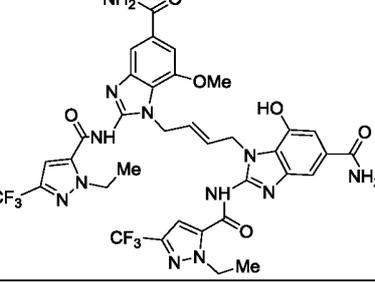
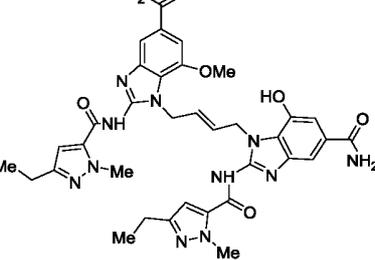
[0478] Ниже представлены примеры соединений, полученных при использовании вышеуказанных общих способов.

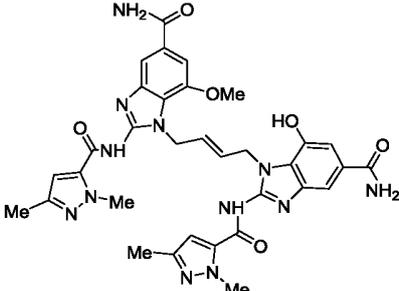
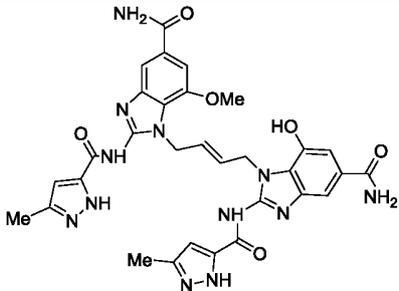
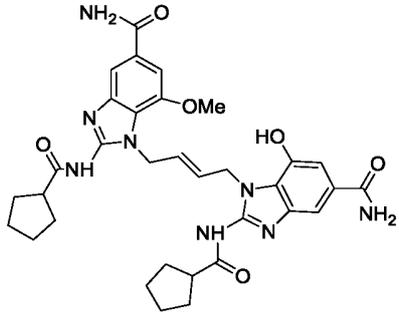
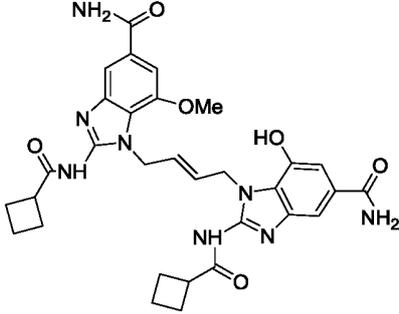
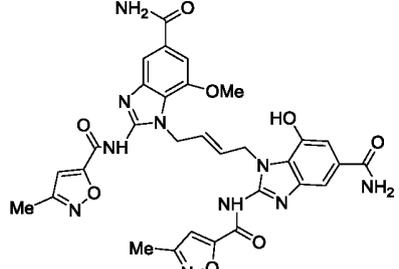
Соединение	Структура	Способ	Выход (с 2 этапов)	Данные ЖХ-МС РМВ	Данные ЖХ-МС фенола
31		HATU - способ 4а	45% 1.74 мг 0.00183 ммоль	Время удерживания: 1.49 Теоретическое: 843.4 Наблюдаемое: 843.5	Время удерживания: 1.25 Теоретическое: 723.3 Наблюдаемое: 723.5
32		HATU - способ 4а	58% 2.25 мг 0.00237 ммоль	Время удерживания: 1.67 Теоретическое: 843.4 Наблюдаемое: 843.5	Время удерживания: 1.42 Теоретическое: 723.3 Наблюдаемое: 723.5
33		HATU - способ 4а	56% 2.00 мг 0.00231 ммоль	Время удерживания: 1.78 Теоретическое: 759.2 Наблюдаемое: 759.4	Время удерживания: 1.60 Теоретическое: 639.2 Наблюдаемое: 639.3

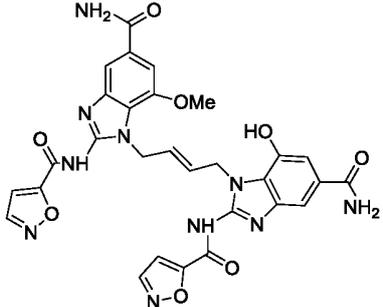
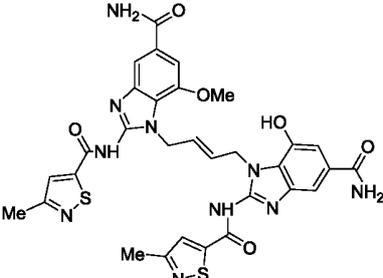
34		HATU - способ 4a	61% 2.24 мг 0.00251 ммоль	Время удерживан ия: 1.92 Теоретиче ское: 787.3 Наблюдае мое: 787.4	Время удерживани я: 1.74 Теоретическ ое: 667.2 Наблюдаем ое: 667.4
35		HATU - способ 4a	59% 2.19 мг 0.00244 ммоль	Время удерживан ия: 2.00 Теоретиче ское: 791.2 Наблюдае мое: 791.3	Время удерживани я: 1.85 Теоретическ ое: 671.1 Наблюдаем ое: 671.3
36		HATU - способ 4a	40% 1.52 мг 0.00164 ммоль	Время удерживан ия: 2.14 Теоретиче ское: 819.2 Наблюдае мое: 819.4	Время удерживани я: 2.01 Теоретическ ое: 699.2 Наблюдаем ое: 699.3
37		COMU – способ 4b	35% 1.32 мг 0.00143 ммоль	Время удерживан ия: 2.02 Теоретиче ское: 815.3 Наблюдае мое: 815.5	Время удерживани я: 1.63 Теоретическ ое: 695.3 Наблюдаем ое: 695.4
38		COMU – способ 4b	39% 1.47 мг 0.00158 ммоль	Время удерживан ия: 2.02 Теоретиче ское: 821.2 Наблюдае мое: 821.4	Время удерживани я: 1.63 Теоретическ ое: 701.2 Наблюдаем ое: 701.3

39		COMU – способ 4b	57% 2.08 мг 0.00232 ммоль	Время удерживания: 1.86 Теоретическое: 789.3 Наблюемое: 789.5	Время удерживания: 1.65 Теоретическое: 669.2 Наблюемое: 669.4
40		COMU – способ 4b	36% 1.37 мг 0.00148 ммоль	Время удерживания: 2.00 Теоретическое: 821.2 Наблюемое: 821.4	Время удерживания: 1.61 Теоретическое: 701.2 Наблюемое: 701.3
41		HATU – способ 4a	66% 2.50 мг 0.00272 ммоль	Время удерживания: 2.24 Теоретическое: 813.3 Наблюемое: 813.5	Время удерживания: 1.84 Теоретическое: 693.3 Наблюемое: 693.5
42		COMU – способ 4b	45% 1.64 мг 0.00184 ммоль	Время удерживания: 1.59 Теоретическое: 783.3 Наблюемое: 783.4	Время удерживания: 1.31 Теоретическое: 663.2 Наблюемое: 663.4
43		COMU – способ 4b	29% 1.07 мг 0.00120 ммоль	Время удерживания: 1.63 Теоретическое: 783.3 Наблюемое: 783.4	Время удерживания: 1.36 Теоретическое: 663.2 Наблюемое: 663.4

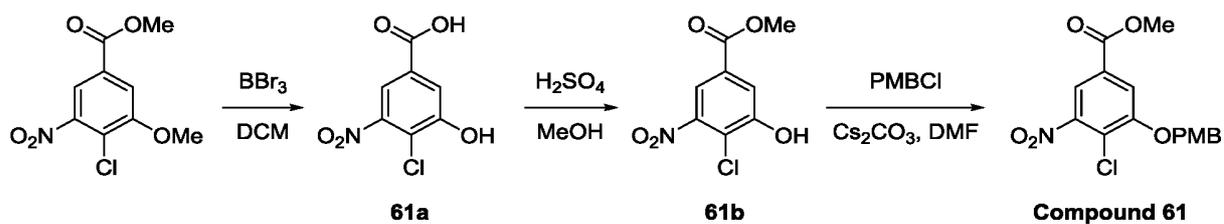
44		COMU – способ 4b	55% 2.00 мг 0.00225 ммоль	Время удерживания: 1.47 Теоретическое: 783.3 Наблюдаемое: 783.4	Время удерживания: 1.19 Теоретическое: 663.2 Наблюдаемое: 663.4
45		COMU – способ 4b	37% 1.36 мг 0.00153 мг	Время удерживания: 1.61 Теоретическое: 783.3 Наблюдаемое: 783.4	Время удерживания: 1.34 Теоретическое: 663.2 Наблюдаемое: 663.4
46		COMU – способ 4b	63% 2.30 мг 0.00258 ммоль	Время удерживания: 1.62 Теоретическое: 783.3 Наблюдаемое: 783.4	Время удерживания: 1.34 Теоретическое: 663.2 Наблюдаемое: 663.4
47		COMU – способ 4b	46% 1.67 мг 0.00187 ммоль	Время удерживания: 1.74 Теоретическое: 787.3 Наблюдаемое: 787.5	Время удерживания: 1.46 Теоретическое: 667.2 Наблюдаемое: 667.4
48		COMU – способ 4b	60% 2.35 мг 0.00247 ммоль	Время удерживания: 1.79 Теоретическое: 843.4 Наблюдаемое: 843.5	Время удерживания: 1.52 Теоретическое: 723.3 Наблюдаемое: 723.5

49		COMU – способ 4b	60% 2.42 мг 0.00244 ммоль	Время удерживания: 2.18 Теоретическое: 883.3 Наблюдаемое: 883.5	Время удерживания: 1.90 Теоретическое: 763.2 Наблюдаемое: 763.4
50		COMU – способ 4b	55% 2.17 мг 0.00225 ммоль	Время удерживания: 2.17 Теоретическое: 855.2 Наблюдаемое: 855.4	Время удерживания: 1.59 Теоретическое: 735.2 Наблюдаемое: 735.3
51		COMU – способ 4b	71% 2.76 мг 0.00289 ммоль	Время удерживания: 1.89 Теоретическое: 847.3 Наблюдаемое: 847.5	Время удерживания: 1.31 Теоретическое: 727.3 Наблюдаемое: 727.6
52		COMU – способ 4b	51% 2.23 мг 0.00211 ммоль	Время удерживания: 2.50 Теоретическое: 951.3 Наблюдаемое: 951.6	Время удерживания: 1.99 Теоретическое: 831.3 Наблюдаемое: 831.6
53		COMU – способ 4b	51% 2.00 мг 0.00210 ммоль	Время удерживания: 2.01 Теоретическое: 843.4 Наблюдаемое: 843.5	Время удерживания: 1.44 Теоретическое: 723.3 Наблюдаемое: 723.6

54		COMU – способ 4b	52% 1.97 мг 0.00214 ммоль	Время удерживания: 1.86 Теоретическое: 815.3 Наблюдаемое: 615.5	Время удерживания: 1.28 Теоретическое: 695.3 Наблюдаемое: 695.5
55		HATU - способ 4a	56% 2.04 мг 0.00228 ммоль	Время удерживания: 1.88 Теоретическое: 1027.4 Наблюдаемое: 1028.0	Время удерживания: 1.35 Теоретическое: 667.2 Наблюдаемое: 667.8
56		COMU – способ 4b	63% 2.24 мг 0.00257 ммоль	Время удерживания: 1.78 Теоретическое: 763.4 Наблюдаемое: 763.5	Время удерживания: 1.11 Теоретическое: 643.3 Наблюдаемое: 643.9
57		HATU - способ 4a	60% 2.08 мг 0.00247 ммоль	Время удерживания: 1.31 Теоретическое: 735.3 Наблюдаемое: 735.7	Время удерживания: 0.99 Теоретическое: 615.3 Наблюдаемое: 615.6
58		HATU - способ 4a	55% 2.02 мг 0.00225 ммоль	Время удерживания: 1.88 Теоретическое: 789.3 Наблюдаемое: 789.4	Время удерживания: 1.60 Теоретическое: 669.2 Наблюдаемое: 669.3

59		НАТУ - способ 4а	56% 2.00 мг 0.00230 ммоль	Время удерживани я: 1.81 Теоретиче ское: 761.2 Наблюдае мое: 761.4	Время удерживани я: 1.56 Теоретическ ое: 641.2 Наблюдаем ое: 641.3
60		НАТУ - способ 4а	48% 1.82 мг 0.00196 ммоль	Время удерживани я: 1.98 Теоретиче ское: 821.2 Наблюдае мое: 821.4	Время удерживани я: 1.68 Теоретическ ое: 701.2 Наблюдаем ое: 701.4

Синтез метил 4-хлор-3-((4-метоксибензил)окси)-5-нитробензоата (соединение 61)



Синтез соединения 61а

[0479] В раствор метил 4-хлор-3-метокси-5-нитробензоата (15 г, 61 ммоль, 1 эквив.) в DC (60 мл) при 0°C в атмосфере азота в течение 20 мин по каплям добавили BBr₃ (1 М раствор в DCM, 153 мл, 153 ммоль, 2.5 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин, а затем выдержали до нагревания до 25°C и перемешивали в течение следующих 12 ч. Затем реакционную смесь охладили до 0°C, погасили метанолом и сконцентрировали в вакууме, получив соединение **61a** (12.3 г, 56.5 ммоль, выход 93%) в виде темно-коричневого масла. ЖХ-МС (способ С, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 218.0 (теоретическое), 217.9 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.21 мин.

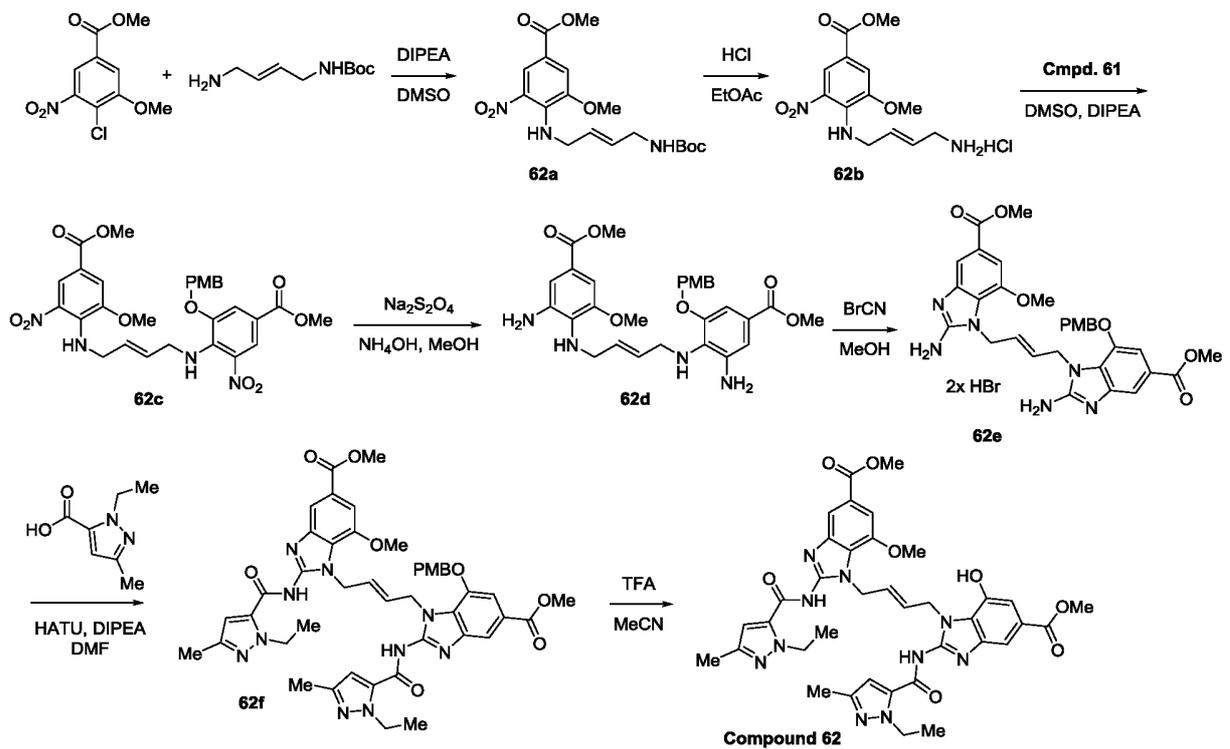
Синтез соединения 61b

[0480] В раствор соединения **61a** (26.6 г, 122 ммоль, 1 эквив.) в метаноле (800 мл) добавили концентрированную H_2SO_4 (600 мг, 6.11 ммоль, 0.05 эквив.) и перемешивали смесь при 60°C в течение 12 ч. Анализ ЖХ-МС (способ С) показал, что реакция полностью завершилась. Смесь охладили до комнатной температуры и сконцентрировали в вакууме. Неочищенный остаток разбавили водой (50 мл) и постепенно добавили насыщенный NaHCO_3 (50 мл), чтобы получить $\text{pH} > 7$. Полученную твердую фазу отобрали при помощи фильтрации, промыли водой (25 мл) и высушили в вакууме, получив соединение **61b** (25 г, выход 88%) в виде твердой фазы коричневого цвета. ЖХ-МС (способ С, ESI+): масса/заряд $[\text{M}+\text{H}]^+ = 232.0$ (теоретическое), 231.9 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.92 мин.

Синтез соединения 61

[0481] В раствор соединения **61b** (18 г, 78 ммоль, 1 эквив.) в DMF (200 мл) добавили Cs_2CO_3 (27.9 г, 86 ммоль, 1.1 эквив.) и 1-(хлорметил)-4-метоксибензол (12.8 г, 82 ммоль, 1.05 эквив.). Смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Анализ ЖХ-МС (способ С) показал, что реакция полностью завершилась. Реакционную смесь перелили в воду, профильтровали и высушили в высоком вакууме, получив соединение **61** (22.3 г, выход 82%) в виде твердой фазы светло-желтого цвета. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta = 8.11$ (d, $J=1.4$ Гц, 1H), 7.97 (d, $J=1.4$ Гц, 1H), 7.43 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 6.99 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 5.33 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.77 (s, 3H).

Синтез метил (E)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-гидрокси-5-(метоксикарбонил)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксилата (соединение 62).



Синтез соединения 62a

[0482] В раствор трет-бутил (E)-(4-аминобут-2-ен-1-ил)карбамата (12.5 г, 67.2 ммоль, 1.1 эквив.) в DMSO (150 мл) добавили метил 4-хлор-3-метокси-5-нитробензоат (15 г, 61.1 ммоль, 1 эквив.) и DIPEA (39.5 г, 305 ммоль, 5 эквив.). Смесь перемешивали при 100°C в течение 12 ч. Затем перелили смесь в воду, экстрагировали с применением EtOAc и сконцентрировали в вакууме, получив соединение **62a** (16.4 г, 41.4 ммоль, выход 68%) в виде твердой фазы темно-красного цвета. ЖХ-МС (способ С, ESI+): масса/заряд $[M-tBu]^+$ = 340.1 (теоретическое), 340.1 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.08 мин.

Синтез соединения 62b

[0483] Соединение **62a** (21 г, 53.1 ммоль, 1 эквив.) добавили в раствор HCl в этилацетате (4M, 350 мл, 1400 ммоль, 26 эквив.) и перемешивали смесь при 25°C в течение 2 ч. Затем смесь сконцентрировали в вакууме и неочищенную твердую фазу промыли EtOAc, получив соединение **62b** в виде соли HCl (14.5 г, 43.7 ммоль, выход 82%), представляющей собой твердую фазу темно-красного цвета. 1H ЯМР (400МГц, DMSO- d_6): δ = 8.19 (d, $J=1.8$ Гц, 1H), 8.12 (br s, 1H), 8.01 (br s, 3H), 7.46 (d, $J=1.6$ Гц, 1H), 5.87 (td, $J=5.8, 15.5$ Гц, 1H), 5.71 - 5.55 (m, 1H), 4.21 (br s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.42 - 3.35 (m, 2H).

Синтез соединения 62c

[0484] В раствор соединения **61** (4.5 г, 12.8 ммоль) в DMSO (70 мл) добавили соединение **62b** (4.67 г, 14.1 ммоль, HCl соль) и DIPEA (8.3 г, 64 ммоль, 5 эквив.), а затем перемешивали реакционную смесь при 80°C в течение 10 ч. Смесь перелили в ледяную воду, экстрагировали с применением EtOAc и сконцентрировали в вакууме. Остаток перекристаллизовали (этилацетат, 20V, орошение), получив соединение **62c** (6.4 г, 10.5 ммоль, выход 82%) в виде твердой фазы темно-красного цвета. MS (способ С, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 611.2 (теоретическое), 611.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.34 мин. 1H ЯМР (400МГц, DMSO- d_6): δ = 8.06 (dd, $J=1.5, 9.5$ Гц, 2H), 7.96 (br d, $J=2.9$ Гц, 2H), 7.44 (s, 1H), 7.36 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 7.30 (s, 1H), 6.94 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 5.53 - 5.29 (m, 2H), 5.00 (s, 2H), 4.03 (br t, $J=5.4$ Гц, 4H), 3.84 (s, 6H), 3.76 (d, $J=3.5$ Гц, 6H).

Синтез соединения 62d

[0485] В раствор соединения **62c** (6.0 г, 9.83 ммоль, 1 эквив.) в MeOH (300 мл) добавили NH₄OH (60 мл, 28% NH₃ в H₂O) и Na₂S₂O₄ (20.5 г, 118 ммоль, 12 эквив.). Смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч, при этом она превратилась из ярко-красной в светло-желтую / почти бесцветную гетерогенную смесь. Полученную смесь профильтровали, сконцентрировали для удаления MeOH, а оставшийся водный раствор экстрагировали EtOAc. Органические фазы объединили, высушили при помощи Na₂SO₄ и сконцентрировали в вакууме, получив соединение **62d** (4.0 г, 7.25 ммоль, выход 74%) в виде твердой фазы серовато-белого цвета. MS (способ B, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 551.25 (теоретическое), 551.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.29 мин.

Синтез соединения 62e

[0486] В раствор соединения **62d** (4.0 г, 7.25 ммоль, 1 эквив.) в MeOH (200 мл) добавили BrCN (4.62 г, 43.6 ммоль, 6 эквив.). Смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч, после чего анализ ЖХ-МС (способ C) показал полное превращение. Реакционную смесь сконцентрировали в вакууме, а неочищенный продукт промыли этанолом и петролейным эфиром, получив соединение **62e** в виде соли 2xHBr (2.6 г, 3.53 ммоль выход 49%), представляющей собой твердую фазу серовато-белого цвета. MS (способ C, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 601.2 (теоретическое), 601.3 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.73 мин. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ = 12.87 (br s, 1H), 8.72 (br d, J=17.0 Гц, 4H), 7.59 (s, 2H), 7.42 (s, 1H), 7.26 - 7.16 (m, 3H), 6.82 (d, J=8.6 Гц, 2H), 5.70 (br d, J=15.7 Гц, 1H), 5.57 - 5.48 (m, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.83 - 4.73 (m, 4H), 3.88 (s, 6H), 3.71 (s, 3H), 3.65 (s, 3H).

Синтез соединения 62f

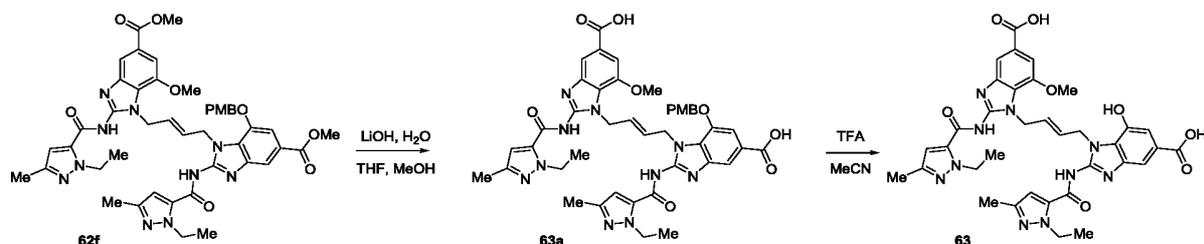
[0487] В раствор 1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоновой кислоты (3.15 г, 20.5 ммоль, 2.6 эквив.) в DMF (30 мл) добавили NATU (8.38 г, 22.0 ммоль, 2.8 эквив.) и перемешивали раствор при 60°C в течение 10 мин. Приготовили второй раствор, содержащий DIPEA (5.09 г, 39 ммоль, 5 эквив.) и соединение **62e** (6.0 г, 7.87 ммоль, 1 эквив. 2xHBr соль) в DMF (30 мл) и добавили в активированную кислоту. После этого реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 ч. Раствор перелили в воду, профильтровали и растерли с ацетонитрилом, получив соединение **62f** (2.54 г, 2.91

ммоль, выход 37%) в виде твердой фазы серовато-белого цвета. MS (способ C, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 873.4 (теоретическое), 873.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 3.44 мин. $^1\text{H ЯМР}$ (400МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 12.88 (br s, 2H), 7.74 (br s, 2H), 7.22 (br s, 1H), 7.16 - 6.97 (m, 3H), 6.66 (br d, $J=7.9$ Гц, 2H), 6.57 - 6.36 (m, 2H), 5.87 - 5.37 (m, 2H), 4.78 (br s, 6H), 4.51 (br dd, $J=7.0, 17.3$ Гц, 4H), 3.85 (s, 6H), 3.59 (s, 3H), 3.52 (br s, 3H), 2.10 (br d, $J=11.1$ Гц, 6H), 1.26 (td, $J=6.8, 18.8$ Гц, 6H).

Синтез соединения 62

[0488] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл с мешалкой поместили соединение **62f** (9 мг, 0.010 ммоль, 1 эквив.), которое растворили в растворе 1:1 MeCN:TFA (1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Растворитель удалили в вакууме, а продукт высушили в высоком вакууме в течение ночи, получив соединение **62** (7.5 мг, 0.0099 ммоль, количественный выход) в виде твердой фазы желтовато-коричневого цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 753.3 (теоретическое), 753.7 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.99 мин.

Синтез (E)-1-(4-(5-карбокси-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-гидрокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоновой кислоты (соединение 63).



Синтез соединения 63a

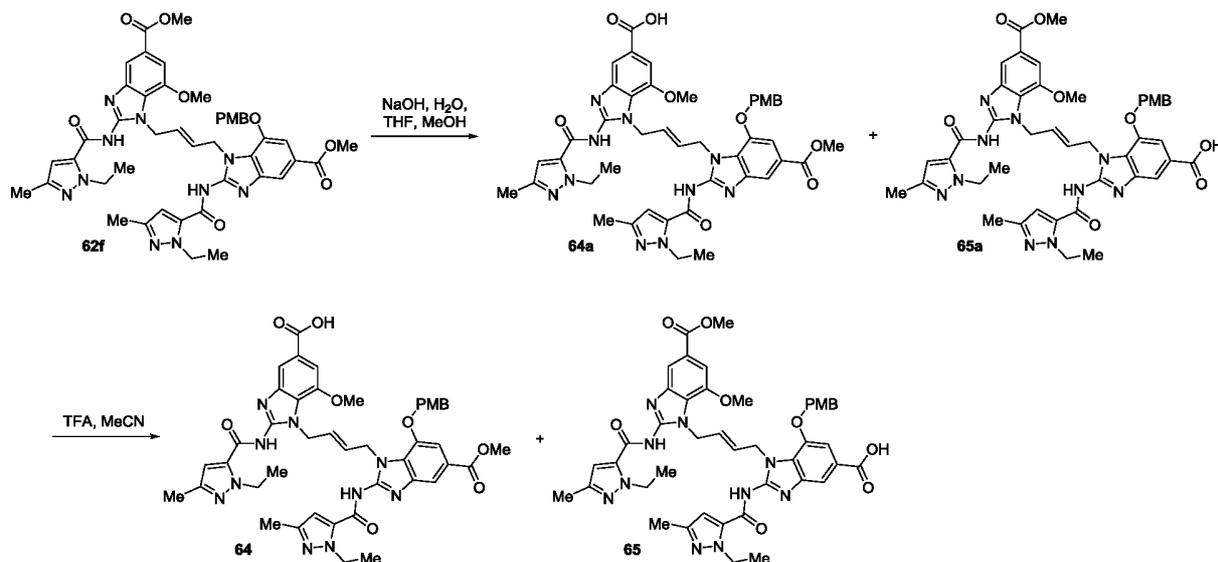
[0489] Соединение **62f** (100 мг, 0.115 ммоль, 1 эквив.) растворили в ацетонитриле (1 мл), добавили 1 M LiOH (1 мл, 1 ммоль, 9 эквив.) и нагревали раствор до 80°C в течение 1 ч. Флакон охладили, удалили растворитель в вакууме и очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ I, 5 – 95% MeCN в воде с 0.1% TFA),

получив соединение **63a** (78 мг, 0.092 ммоль, выход 97%) в виде твердой фазы белого цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 845.3 (теоретическое), 845.8 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.95 мин.

Синтез соединения 63

[0490] Соединение **63** получили, как описано выше (см. “Синтез соединения 62”). MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 725.3 (теоретическое), 725.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.83 мин.

Синтез (E)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-гидрокси-5-(метоксикарбонил)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоновой кислоты (соединение 64) и (E)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-5-(метоксикарбонил)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-гидрокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоновой кислоты (соединение 65).



Синтез соединений 64a и 65a

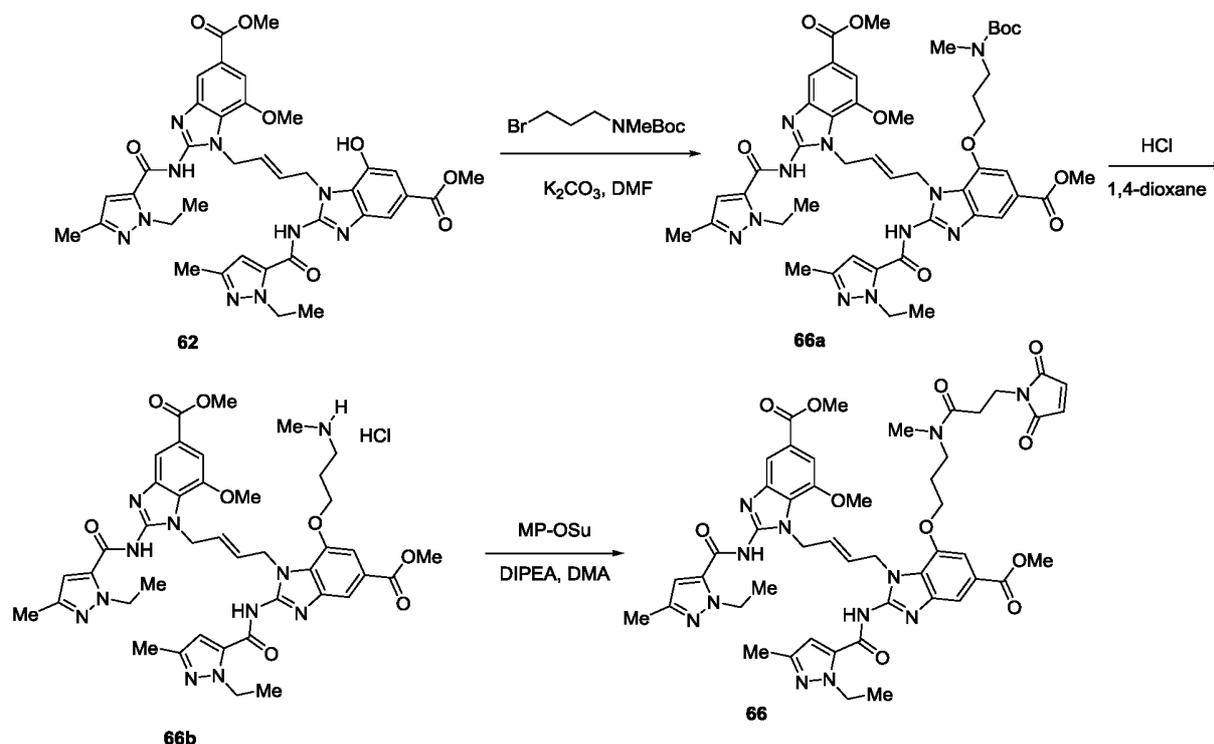
[0491] Получили неразделимую 1:1 смесь соединений **64a** и **65a**, как описано выше (см. “Синтез соединения 65a”), заменив гидроксид натрия на гидроксид лития и погасив реакцию при 50% превращения с последующей очисткой посредством препаративной ВЭЖХ (способ H с 0.1% FA). MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$

= 859.4 (теоретическое), 859.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.46 мин.

Синтез соединений 64 и 65

[0492] Получили неразделимую 1:1 смесь соединений 64а и 65а, как описано выше (см. "Синтез соединения 65а"). MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 739.4 (теоретическое), 739.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.99 и 2.04 мин.

Синтез метил (E)-7-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-метилпропанамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-5-(метоксикарбонил)-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-5-карбоксилата (соединение 66)



Синтез соединения 66а

[0493] Соединение 62 (397 мг, 0.527 ммоль, 1 эквив.), трет-бутил (3-бромпропил)(метил)карбамат (146 мг, 0.580 ммоль, 1.1 эквив.) и карбонат калия (218

мг, 1.58 ммоль, 3 эквив.) растворили в DMF (5.3 мл) во флаконе объемом 20 мл. Реакционную смесь перемешивали при 55°C в течение 18 ч, а затем профильтровали, промыли метанолом и сконцентрировали фильтрат в вакууме. К неочищенной твердой фазе добавили холодную воду и отделили осадок при помощи фильтрации, получив соединение **66a** (232 мг, 0.251 ммоль, выход 48%). MS (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 924.4 (теоретическое), 924.9 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.42 мин.

Синтез соединения 66b

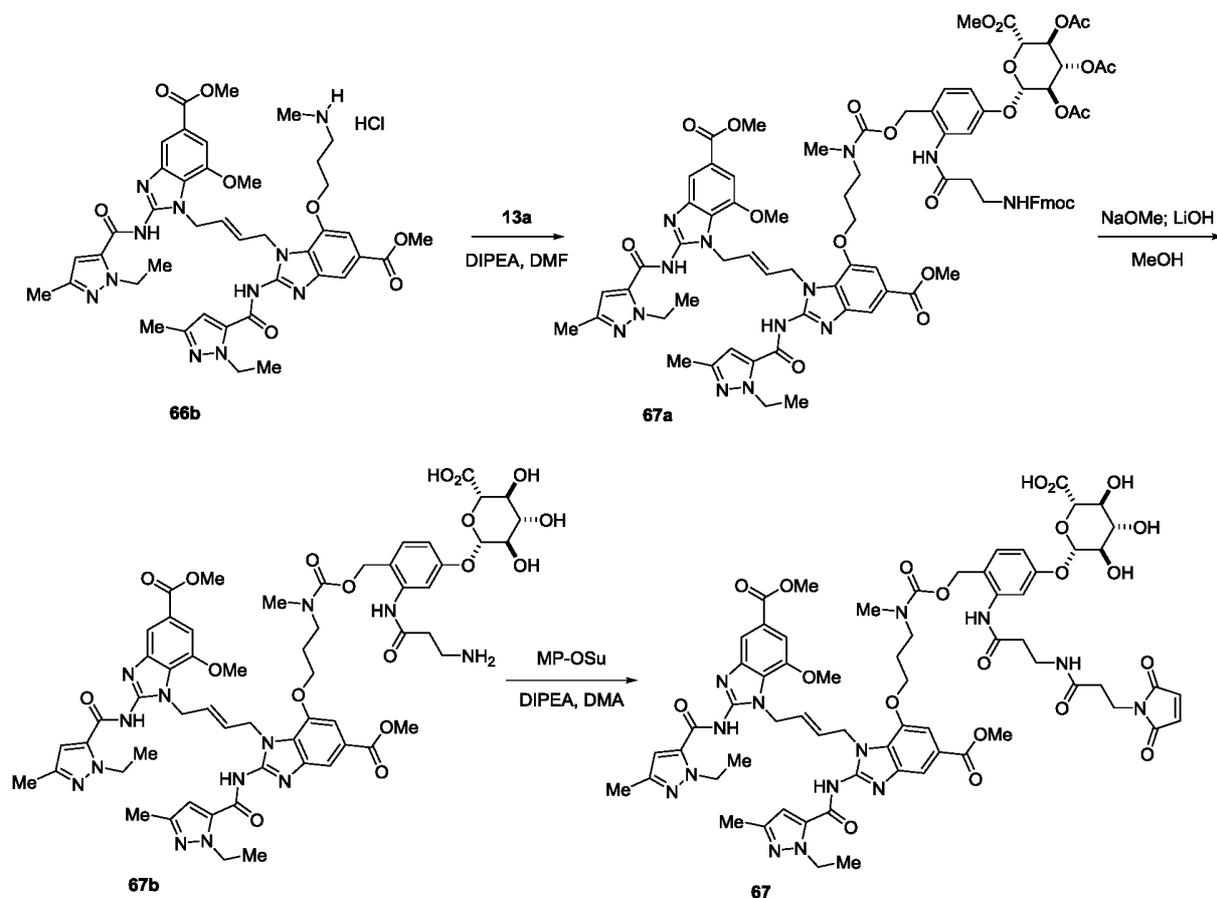
[0494] Соединение **66a** (232 мг, 0.251 ммоль, 1 эквив.) растворили в метаноле (2.5 мл) и добавили 4M раствор HCl в диоксане (0.5 мл, 2.01 ммоль, 8 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 90 мин. Растворитель удалили в вакууме, а неочищенный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ I, с 0.05% TFA), получив соединение **66b** (206 мг, 0.24 ммоль, выход 96%). MS (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 824.4 (теоретическое), 824.9 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.56 мин.

Синтез соединения 66

[0495] Соединение **66b** (25 мг, 0.0291 ммоль, 1 эквив.) и MP-OSu (11.6 мг, 0.0436 ммоль, 1.5 эквив.) растворили в DMA (0.58 мл) и добавили DIPEA (20 мкл, 0.116 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь непосредственно очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ H, с 0.05% TFA), получив соединение **66** в виде твердой фазы белого цвета (10.88 мг, 0.0112 ммоль, выход 38%). MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 975.4 (теоретическое), 975.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.24 мин.

Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(3-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)-4-(((3-((2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-((E)-4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-5-(метоксикарбонил)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-5-(метоксикарбонил)-1H-бензо[д]имидазол-7-

ил)окси)пропил)(метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты (соединение 67)



Синтез соединения 67a

[0496] Соединение **13a** (65 мг, 0.0868 ммоль, 1.4 эквив.) и бис(пентафторфенил) карбонат (120 мг, 0.304 ммоль, 5 эквив.) растворили в DMA (0.43 мл) и добавили DIPEA (70 мкл, 0.404 ммоль, 6.7 эквив.). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин, а затем добавили соединение **66b** (52 мг, 0.0607 ммоль, 1 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Раствор разбавили H₂O и экстрагировали с применением EtOAc (3x). Объединенные органические слои промыли 1 М раствором HCl (3x), высушили при помощи MgSO₄, профильтровали и удалили растворитель в вакууме, получив неочищенную твердую фазу. Этот материал растворили в DMSO и очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ Н, с 0.05% TFA), получив соединение **67a** в виде твердой фазы белого цвета (33.1 мг, 0.0207 ммоль, выход 34%). ЖХ-МС (способ

D, ESI+) масса/заряд $[M+H]^+$ 1598.6 (теоретическое), 1598.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ЖХ-МС 2.65 мин.

MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1598.6 (теоретическое), 1598.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.65 мин.

Синтез соединения 67b

[0497] Соединение **67a** (33.1 мг, 0.0207 ммоль) растворили в сухом метаноле (0.21 мл), охладили в ледяной бане и добавили 0.5 М раствор NaOMe в MeOH (41.5 мкл, 0.0414 ммоль, 2 эквив.). Реакцию контролировали при помощи ЖХ-МС (способ D) и после полного снятия ацетатной защиты добавили 1 М раствор LiOH (62 мкл, 0.0621 ммоль, 3 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, контролируя при помощи ЖХ-МС (способ E). После полного превращения добавили уксусную кислоту (62 мкл), удалили растворитель в вакууме, а неочищенный продукт очистили посредством препаративной ВЭЖХ (способ H, с 0.05% TFA), получив соединение **67b** в виде твердой фазы белого цвета (10.1 мг, 0.0075 ммоль, выход 36%). ЖХ-МС (способ D, ESI+) масса/заряд $[M+H]^+$ 1236.5 (теоретическое), 1236.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ЖХ-МС 2.31 мин.

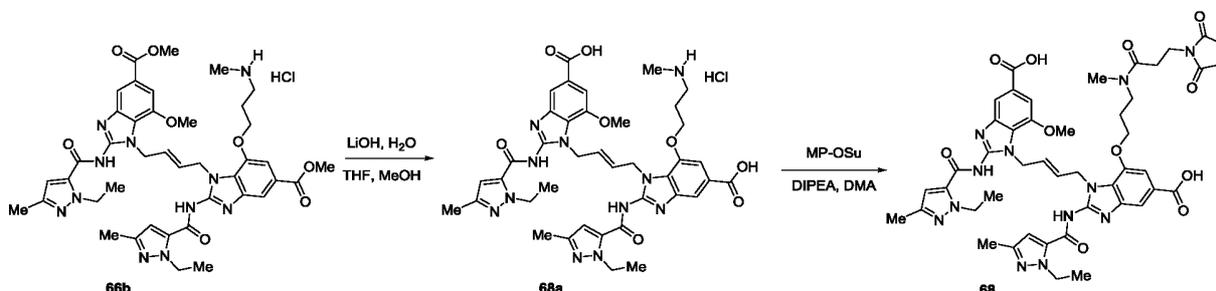
MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1236.5 (теоретическое), 1236.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.31 мин.

Синтез соединения 67

[0498] Соединение **67b** (10.1 мг, 0.0075 ммоль, 1 эквив.) и MP-OSu (3.0 мг, 0.0112 ммоль, 1.5 эквив.) растворили в DMA (150 мкл) и добавили DIPEA (4 мкл, 0.0224 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре, после чего добавили уксусную кислоту (4 мкл) и очистили смесь посредством препаративной ВЭЖХ (способ G, с 0.05% TFA), получив соединение **67** в виде твердой фазы белого цвета (3.3 мг, 0.0024 ммоль, выход 32%). ЖХ-МС (способ E, ESI+) масса/заряд $[M+H]^+$ 1387.5 (теоретическое), 1387.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ЖХ-МС 1.92 мин.

[0499] MS (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1387.5 (теоретическое), 1387.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.92 мин.

Синтез (E)-1-(4-(5-карбокси-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-метилпропанамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоновой кислоты (соединение 68)



Синтез соединения 68a

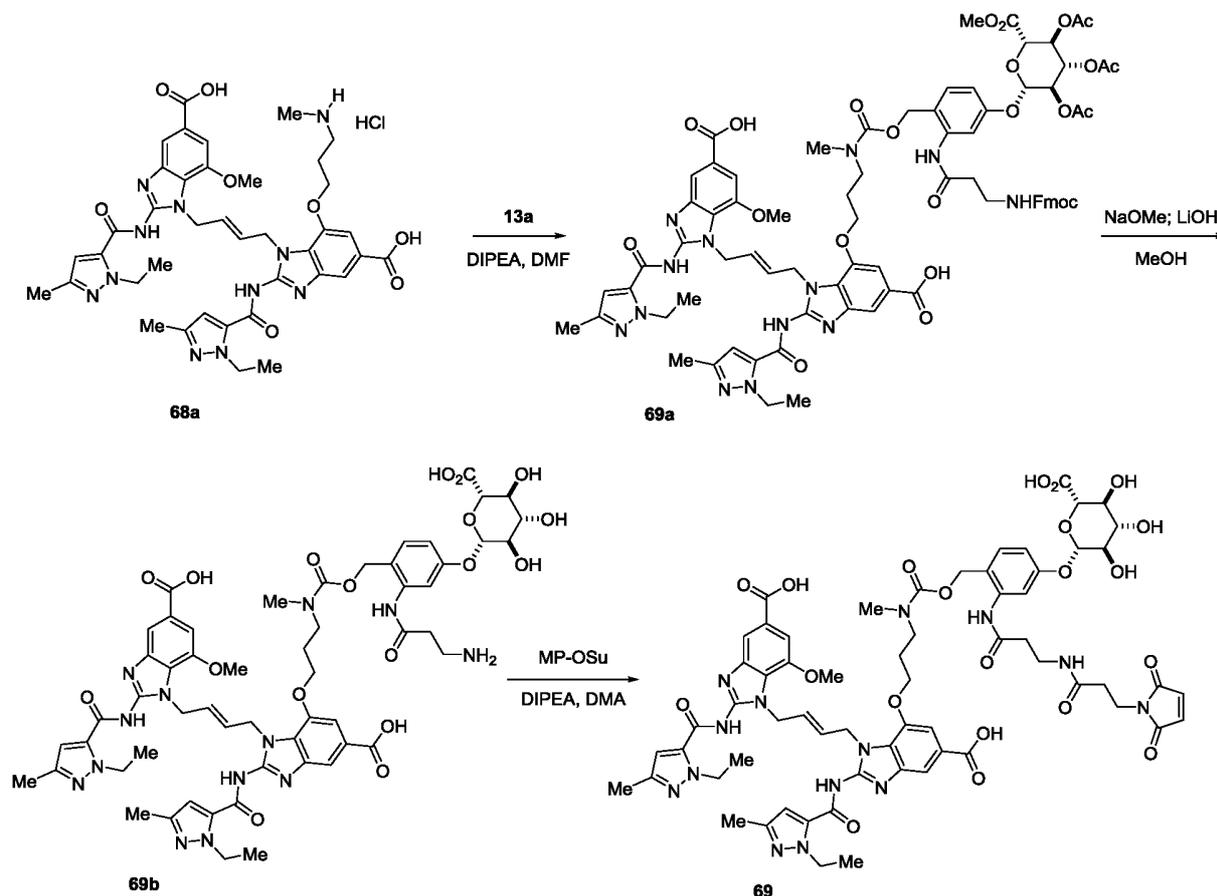
[0500] Соединение **66b** (30 мг, 0.032 ммоль) растворили в метаноле (0.32 мл) и добавили 1 М раствор LiOH (0.256 мл, 0.256 ммоль, 8 эквив.). Смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Затем сконцентрировали смесь в вакууме и очистили посредством препаративной ВЭЖХ (способ Н с 0.05% TFA), получив соединение **68a** в виде твердой фазы белого цвета (17.4 мг, 0.0191 ммоль, выход 60%). MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 796.4 (теоретическое), 796.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.83 мин.

Синтез соединения 68

[0501] Соединение **68a** (16.7 мг, 0.0183 ммоль, 1 эквив.) и MP-OSu (7.3 мг, 0.0275 ммоль, 1.5 эквив.) растворили в DMA (0.37 мл) и добавили DIPEA (10 мкл, 0.0574 ммоль, 2 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, добавили уксусную кислоту (AcOH) (10 мкл), а неочищенный продукт очистили посредством препаративной ВЭЖХ (способ Н с 0.05% TFA), получив соединение **68** в виде твердой фазы белого цвета (7.6 мг, 0.0080 ммоль, выход 44%). MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 974.4 (теоретическое), 974.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.42 мин.

Синтез 1-((E)-4-(5-карбокси-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-(((4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-

карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-2-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)(метил)амино)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоновой кислоты (соединение 69)



Синтез соединения 69a

[0502] Соединение **69a** получили, как описано выше (см. "Синтез соединения 67a"). MS (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1570.6 (теоретическое), 1570.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.95 мин.

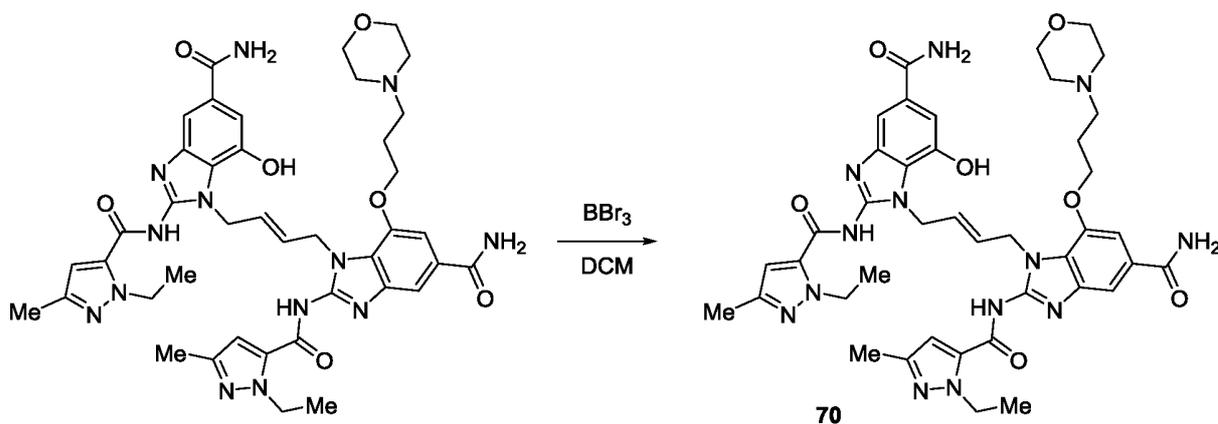
Синтез соединения 69b

[0503] Соединение **69b** получили, как описано выше (см. "Синтез соединения 67b"). MS (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1208.5 (теоретическое), 1208.3 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.48 мин.

Синтез соединения 69

[0504] Соединение **69** получили, как описано выше (см. "Синтез соединения 67"). MS (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1359.5 (теоретическое), 1359.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.68 мин.

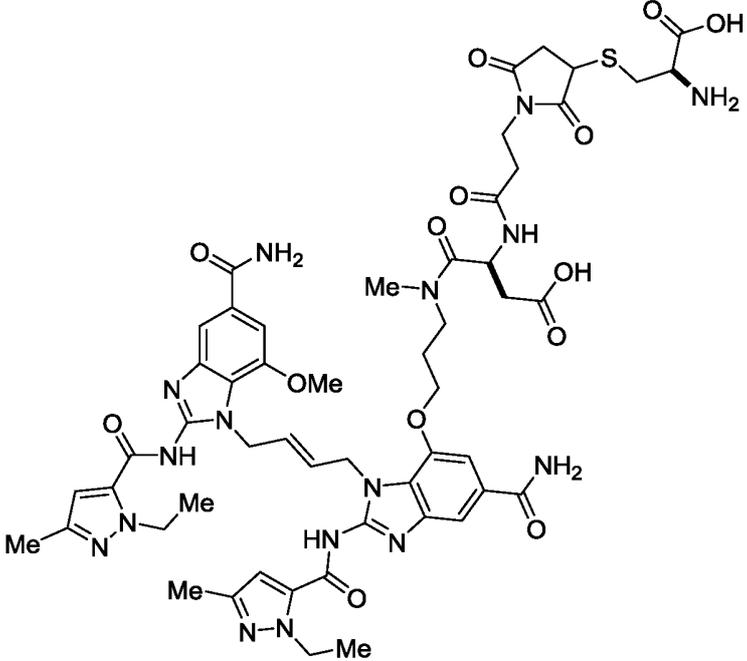
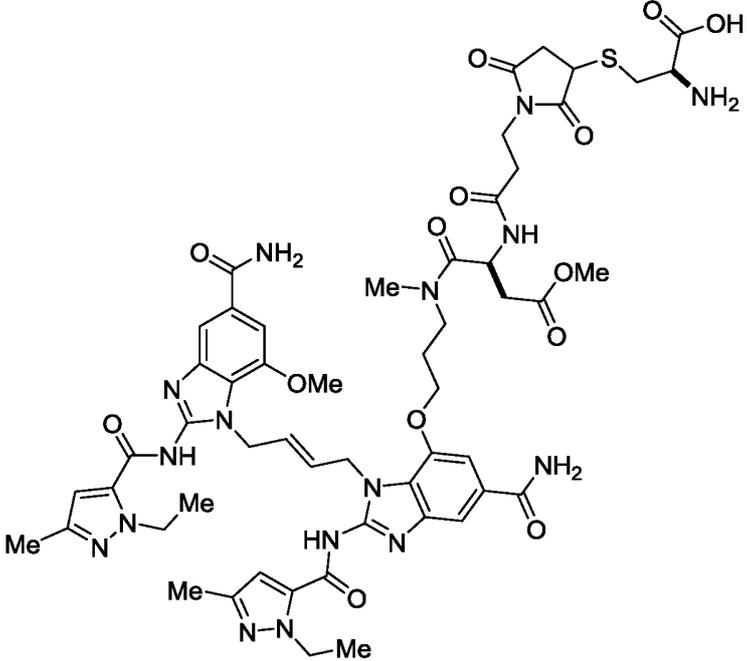
Синтез (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-(3-морфолинопропокси)-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[d]имидазол-5-карбоксамид (соединение 70)

**Синтез 70**

[0505] В раствор соединения **A** (6 мг, 0.00706 ммоль) в сухом DCM (0.10 мл) по каплям добавили BBr_3 (0.04 мл, 1 М раствор в DCM). Образовавшуюся суспензию перемешивали в течение ночи при 30°C в атмосфере аргона. Реакцию контролировали при помощи СВЭЖХ-МС. После окончания добавили холодную воду (0.10 мл) и смесь интенсивно перемешали. Через 30 мин выпарили растворитель и очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G) с применением муравьиной кислоты в качестве добавки. Очищенные фракции собрали, заморозили и лиофилизировали, получив соединение **70** (5.14 мг, 0.00528 ммоль, выход 75%) в виде твердой фазы белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 836.9 (теоретическое), 836.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.34 мин.

[0506] Цистеиновые аддукты соединений **17-24** получили, используя следующий способ.

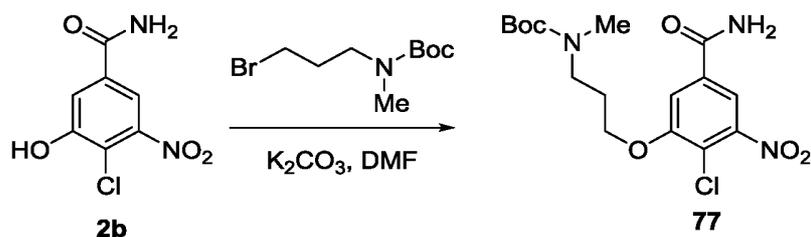
[0507] Общий способ 6. 10 мМ раствор малеинида инкубировали с 1 эквив. L-цистеина (100 мМ в воде) при 37°C в течение 1 ч и использовали продукт без дополнительной очистки.

Соединение	Структура	Данные ЖХ-МС
71		<p>Время удерживания: 1.17 Теоретическое: 1181.5 Наблюдаемое: 1182.1</p>
72		<p>Время удерживания: 1.21 Теоретическое: 1195.5 Наблюдаемое: 1195.7</p>

Соединение	Структура	Данные ЖХ-МС
73		<p>Время удерживания: 1.17 Теоретическое: 1123.5 Наблюдаемое: 1124.0</p>
74		<p>Время удерживания: 1.19 Теоретическое: 1137.5 Наблюдаемое: 1137.9</p>

Соединение	Структура	Данные ЖХ-МС
75		<p>Время удерживания: 1.16 Теоретическое: 1153.5 Наблюдаемое: 1153.8</p>
76		<p>Время удерживания: 1.19 Теоретическое: 1167.5 Наблюдаемое: 1168.0</p>

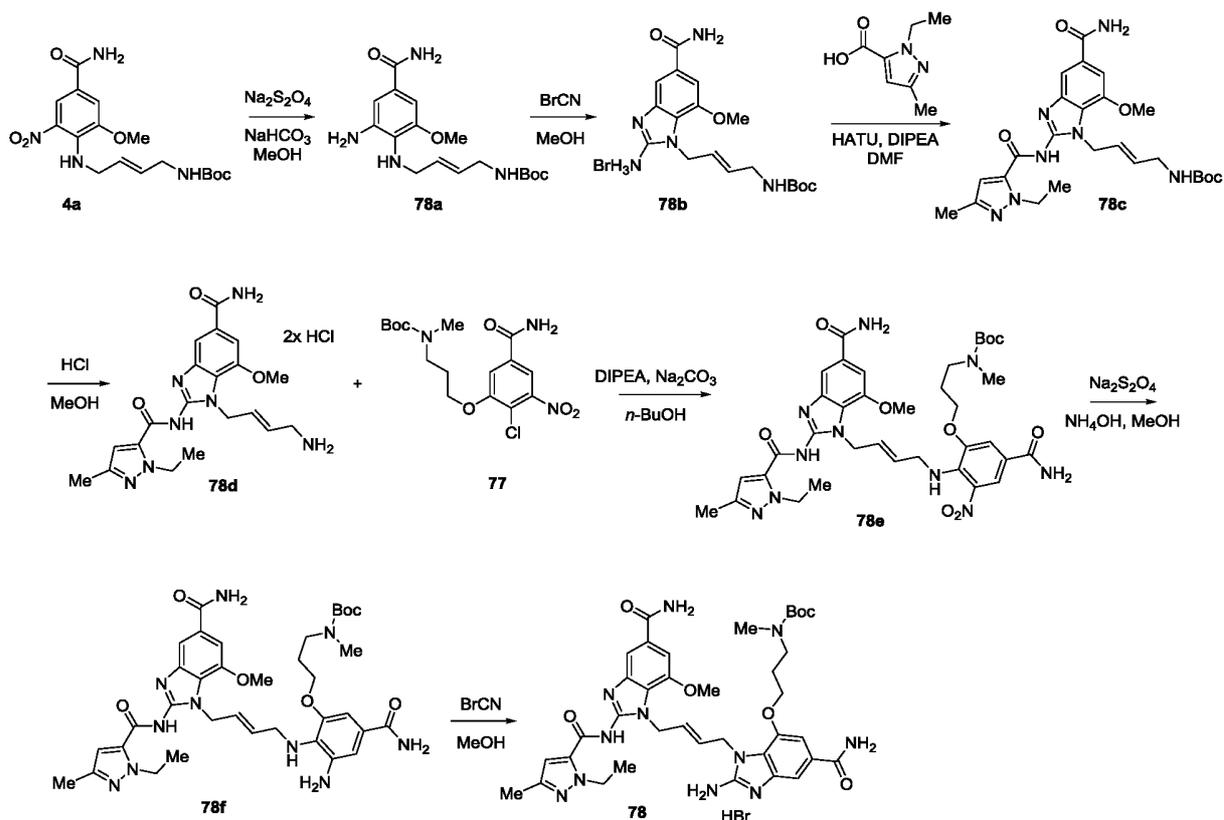
Синтез трет-бутил (3-(5-карбамоил-2-хлор-3-нитрофенокси)пропил)(метил)карбамата (соединение 77)



[0508] В высушенную пламенем круглодонную колбу объемом 100 мл с мешалкой поместили раствор **2b** (1.0 г, 4.62 ммоль, 1 эквив.) в DMF (10 мл), карбонат калия (830 мг, 6.00 ммоль, 1.3 эквив.) и раствор трет-бутил N-(3-бромпропил)-N-метилкарбамата (1.20 эквив., 1.40 г, 5.54 ммоль, 1.20 эквив.) в DMF (5 мл). Дополнительно добавили DMF, чтобы довести общий объем до 45 мл и нагревали реакционную смесь до 70°C в течение 24 ч. Затем реакционную смесь охладили до комнатной температуры, профильтровали через целит и промыли DMF (3x10 мл). Этот раствор перелили в ледяную воду (900 мл), перемешивали в течение 90 мин и неочищенный продукт выделили посредством фильтрации. В заключение фильтрат промыли холодной водой (300 мл) и высушили в вакууме в течение ночи, получив соединение **77** (1.23 г, 3.16 ммоль, выход 68%).

Синтез трет-бутил (E)-3-((2-амино-5-карбамоил-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[d]имидазол-1-

ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-7-ил)окси)пропил)(метил)карбамата (соединение 78)



Синтез соединения 78a

[0509] В круглодонную колбу объемом 500 мл с мешалкой поместили соединение **4a** (3.0 г, 7.9 ммоль, 1 эквив.) и бикарбонат натрия (12.5 г, 148 ммоль, 19 эквив.), затем добавили этанол (105 мл), получив гетерогенный раствор. Этот раствор охладили в ледяной бане и добавили по каплям раствор гидросульфита натрия (25.8 г, 148 ммоль, 19 эквив.) в 105 мл воды с такой скоростью, чтобы поддерживать внутреннюю температуру ниже 10°C. Смесь нагревали на открытом воздухе до 45°C в течение 1 ч и охладили до комнатной температуры. Затем смесь профильтровали через целит, промыли EtOH (100 мл) и удалили растворитель в вакууме. Неочищенный материал повторно растворили в растворе 1:1 DCM:MeOH (200 мл), профильтровали через целит и удалили растворитель в вакууме. Эту процедуру повторили еще раз, а затем неочищенный продукт загрузили на целит и очистили при помощи флэш-хроматографии (50 г колонка Sfär SiO₂ HC Duo, 0 - 40%

10:1 NH₄OH:MeOH в DCM), получив соединение **78a** (1.45 г, 4.13 ммоль, выход 52%). MS (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 351.2 (теоретическое), 351.1 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.53 мин.

Синтез соединения 78b

[0510] В высушенную в печи круглодонную колбу объемом 200 мл поместили соединение **78a** (1.95 г, 5.58 ммоль, 1 эквив.), которое растворили в метаноле (45 мл), и добавили цианоген-бромид (3M раствор в DCM, 5.6 мл, 16.7 ммоль, 3 эквив.), получив однородный раствор желтого цвета. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов и удалили растворитель *в вакууме*, получив соединение **78b** в виде соли HBr (2.48 г, 5.44 ммоль, выход 98%). MS (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 376.2 (теоретическое), 376.1 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.71 мин.

Синтез соединения 78c

[0511] В высушенный пламенем флакон объемом 40 мл с мешалкой поместили соединение **78b** HBr (867 мг, 1.90 ммоль, 1 эквив.), 2-этил-5-метил-пиразол-3-карбоновую кислоту (879 мг, 5.70 ммоль, 3 эквив.) и NATU (2.17 г, 5.70 ммоль, 3 эквив.). Твердые фазы растворили в DMF (15 мл), а затем добавили DIPEA (2.0 мл, 11.4 ммоль, 6 эквив.). Флакон герметично закрыли, а содержимое перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов. Затем перелили раствор в ледяную воду (450 мл) с NH₄OH (28% NH₃ в воде, 10 мл) и оставили осаждаться при 4°C в течение ночи. При помощи фильтрации выделили осадок белого цвета, который высушили в вакууме в течение ночи, получив соединение **78c** (658 мг, 1.29 ммоль, выход 68%). MS (способ D, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 512.3 (теоретическое), 512.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.35 мин.

Синтез соединения 78d

[0512] В высушенный в печи флакон объемом 8 мл с мешалкой поместили соединение **78c** (800 мг, 1.56 ммоль, 3 эквив.), которое перемешивали в 3M растворе HCl в MeOH (5.2 мл, 15.6 ммоль HCl, 10 эквив.) в течение 1 ч. Удалили растворитель *в вакууме*, получив соединение **78d** в виде соли 2xHCl (700 мг, 1.56

ммоль, количественный выход). MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 412.2 (теоретическое), 412.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 0.73 мин.

Синтез соединения 78e

[0513] В высушенный в микроволновой печи флакон объемом 20 мл поместили соединение **78e** (700 мг, 1.56 ммоль, 1 эквив.), соединение **77** (909 мг, 2.34 ммоль, 1.5 эквив.) и карбонат натрия (497 мг, 4.69 ммоль, 3 эквив.). В смесь добавили 1-бутанол (15 мл) и DIPEA (1.6 мл, 9.38 ммоль, 6 эквив.). Флакон герметично закрыли и нагревали в СВЧ-реакторе при 140°C в течение 3 ч, получив гетерогенную смесь ярко-красного цвета. Эту смесь перелили в DCM (100 мл) и профильтровали через целит, а затем промыли DCM (50 мл) и MeOH (50 мл). Неочищенный продукт загрузили на целит и очистили посредством флэш-хроматографии (50 г колонка Sfär SiO₂ HC Duo, 0 - 20% MeOH в DCM), получив соединение **78e** (569 мг, 0.746 ммоль, выход 48%) в виде твердой фазы ярко-красного цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 763.4 (теоретическое), 763.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.17 мин.

Синтез соединения 78f

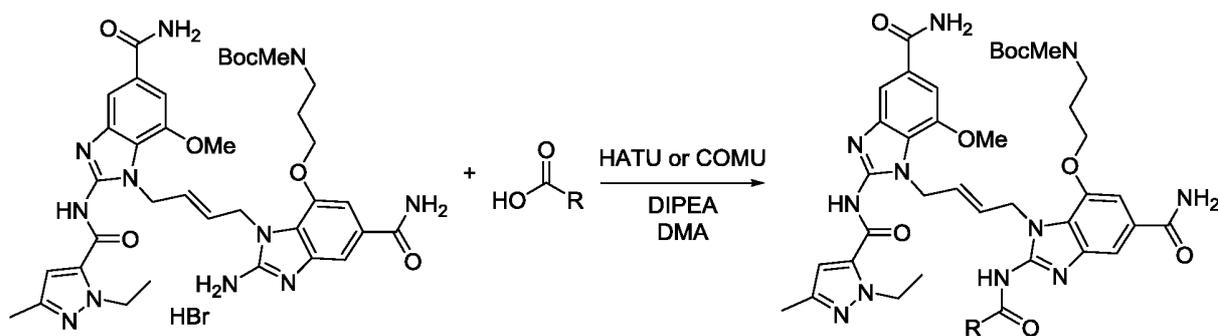
[0514] В смесь соединения **78e** (569 мг, 0.746 ммоль, 1 эквив.) в метаноле (8 мл) и NH₄OH (2.0 мл, 28% NH₃ в воде) добавили раствор гидросульфита натрия (2.34 г, 13.4 ммоль, 18 эквив.) в воде (8 мл). Этот раствор нагревали при 50°C в течение 1 ч. Реакционную смесь перелили в делительную воронку, содержащую воду (250 мл) и EtOAc (250 мл). Смесь встряхнули, разделили слои и далее экстрагировали водный слой с применением EtOAc (3x100 мл). Органические слои объединили, промыли солевым раствором (2x100 мл), высушили при помощи MgSO₄, профильтровали и удалили растворитель *в вакууме*, получив соединение **78f** (400 мг, 0.546 ммоль, выход 73%) в виде твердой фазы желтовато-коричневого цвета. MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 733.4 (теоретическое), 733.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.39 мин.

Синтез соединения 78

[0515] В раствор соединения **78f** (1.00 эквив., 400 мг, 0.546 ммоль) в метаноле (5.5 мл) добавили цианоген-бромид (3M раствор в DCM, 0.55 мл, 1.65

ммоль, 3 эквив.) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 24 ч. Растворитель удалили *в вакууме*, получив соединение **78** в виде соли HBr (456 мг, 0.544 ммоль, количественный выход). MS (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 758.4 (теоретическое), 758.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.19 мин.

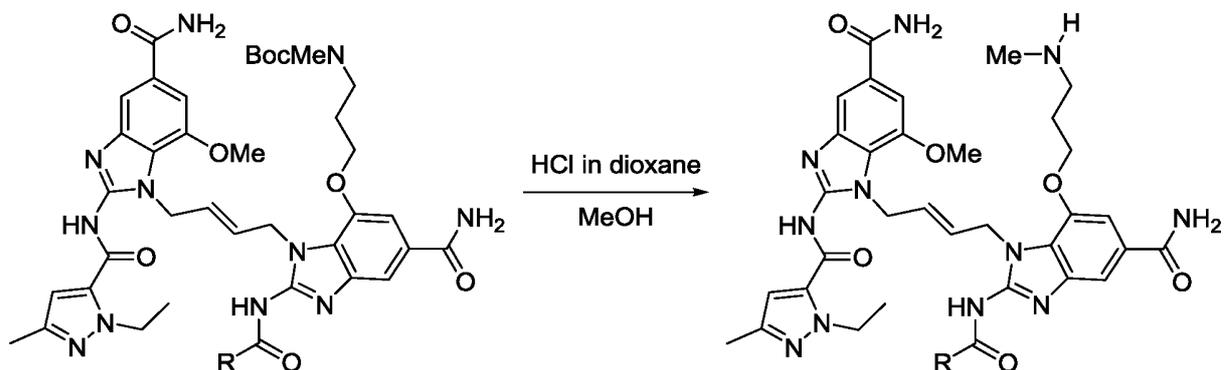
Синтез библиотеки аналогов амидов, группа №2. Схема и общие способы. Соединения 71 – 95.



[0516] Связывание COMU (общий способ 7A): В высушенный в микроволновой печи флакон объемом 2 мл поместили раствор соединения **78** (20 мг, 0.0238 ммоль, 1 эквив.) в DMA (0.50 мл). Добавили соответствующую карбоновую кислоту (2 эквив.), COMU (20.4 мг, 0.0477 ммоль, 2 эквив.) и DIPEA (20.8 мкл, 0.119 ммоль, 5 эквив.). Флакон герметично закрыли и нагрели до 80°C в СВЧ-реакторе в течение 1 ч. Реакцию контролировали посредством СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания добавили уксусную кислоту (20 мкл) и полученный продукт очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ H), используя 0.05% TFA в качестве добавки. Очищенные фракции собрали, заморозили и лиофилизировали, получив продукт в виде твердой фазы белого цвета.

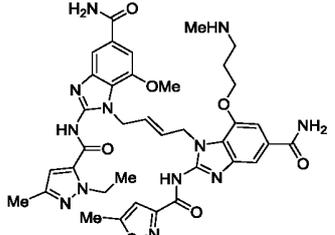
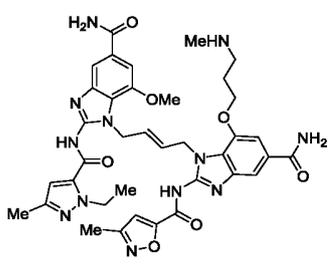
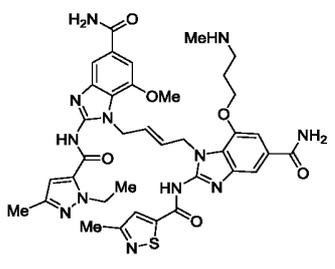
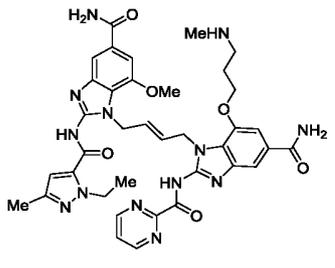
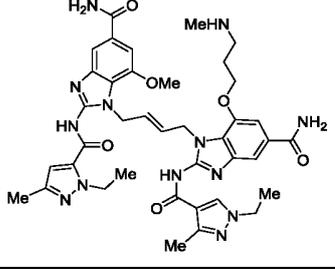
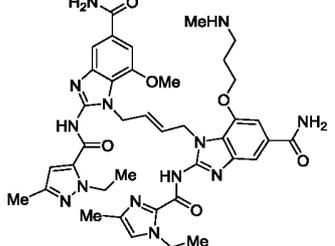
[0517] Связывание HATU (общий способ 7B): В высушенный в микроволновой печи флакон объемом 2 мл поместили раствор соединения **78** (20 мг, 0.0238 ммоль, 1 эквив.) в DMA (0.50 мл). Добавили соответствующую карбоновую кислоту (4 эквив.), HATU (36.3 мг, 0.0954 ммоль, 2 эквив.) и DIPEA (20.8 мкл, 0.119 ммоль, 5 эквив.). Флакон герметично закрыли и нагревали до 80°C в СВЧ-реакторе в течение 1 ч. Реакцию контролировали посредством СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания добавили уксусную кислоту (20 мкл) и очистили полученный продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ H), используя 0.05% TFA в

качестве добавки. Очищенные фракции собрали, заморозили и лиофилизировали, получив продукт в виде твердой фазы белого цвета.

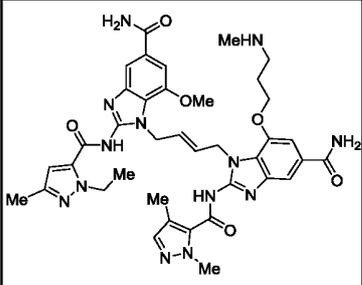
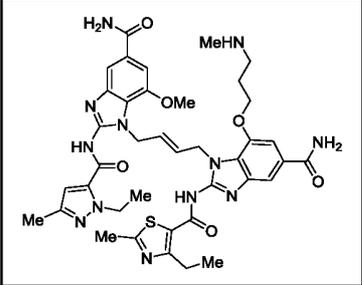
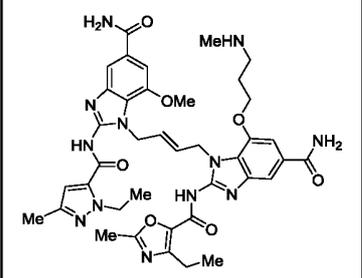


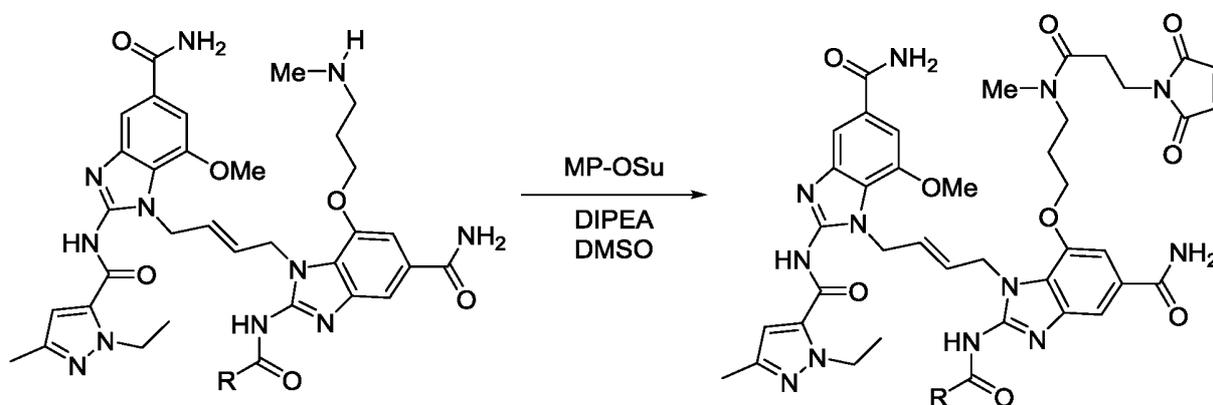
[0518] Снятие защиты Boc (общий способ 8): Продукт, полученный общим способом **7A** или **7B**, растворили в MeOH (0.01 M) и добавили 4M раствор HCl в диоксане (8 эквив.). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакцию контролировали посредством СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания раствор сконцентрировали, повторно растворили в DMSO и очистили посредством препаративной ВЭЖХ (способ G или H), используя TFA в качестве добавки. Очищенные фракции собрали, заморозили и лиофилизировали, получив продукт в виде твердой фазы белого цвета.

Соединение	Структура	Способ	Данные ЖХ-МС с Boc	Данные ЖХ-МС с амином	Выход (с 2 этапов)
79		7A	Время удерживания: 1.57 Теоретическое : 864.4 Наблюдаемое: 864.7	Время удерживания: 1.32 Теоретическое : 764.3 Наблюдаемое: 764.4	17% 4.5 мг 0.00406 ммоль
80		7A	Время удерживания: 2.18 Теоретическое : 864.4 Наблюдаемое: 864.4	Время удерживания: 1.24 Теоретическое : 764.3 Наблюдаемое: 764.4	19% 5.0 мг 0.00455 ммоль

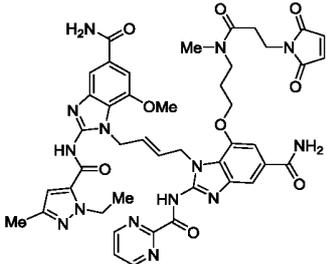
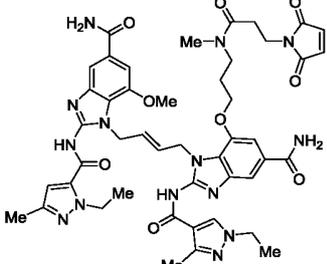
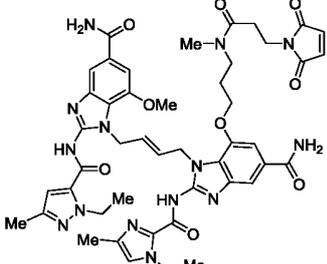
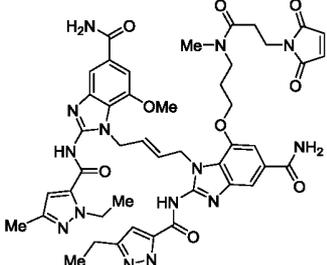
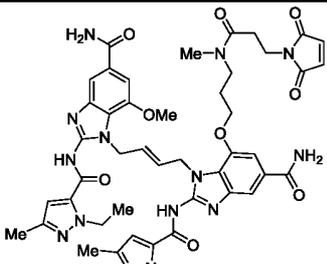
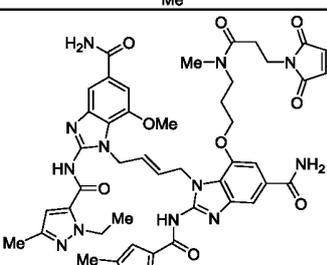
81		7A	Время удерживания: 1.79 Теоретическое : 867.4 Наблюдаемое: 867.7	Время удерживания: 1.55 Теоретическое : 767.3 Наблюдаемое: 767.3	18% 4.8 мг 0.00436 ммоль
82		7A	Время удерживания: 1.83 Теоретическое : 867.4 Наблюдаемое: 967.4	Время удерживания: 1.37 Теоретическое : 767.3 Наблюдаемое: 767.3	9% 2.4 мг 0.00216 ммоль
83		7B	Время удерживания: 1.85 Теоретическое : 883.4 Наблюдаемое: 883.4	Время удерживания: 1.35 Теоретическое : 783.3 Наблюдаемое: 783.3	10% 2.8 мг 0.00247 ммоль
84		7A	Время удерживания: 1.69 Теоретическое : 864.4 Наблюдаемое: 864.4	Время удерживания: 1.18 Теоретическое : 764.3 Наблюдаемое: 764.4	5% 1.2 мг 0.00110 ммоль
85		7B	Время удерживания: 1.75 Теоретическое : 894.4 Наблюдаемое: 894.5	Время удерживания: 1.31 Теоретическое : 794.4 Наблюдаемое: 794.4	3% 0.88 мг 0.00077 ммоль
86		7B	Время удерживания: 1.59 Теоретическое : 894.4 Наблюдаемое: 894.5	Время удерживания: 1.19 Теоретическое : 794.4 Наблюдаемое: 794.4	11% 3.1 мг 0.00270 ммоль

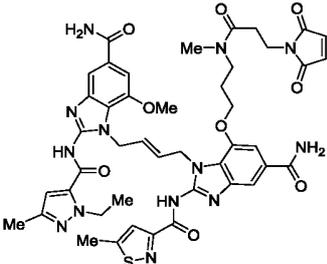
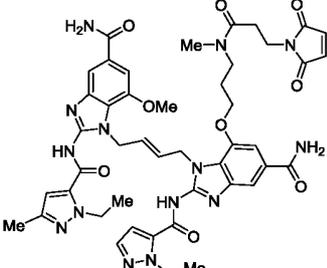
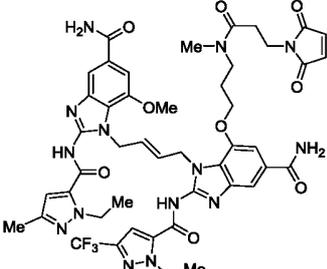
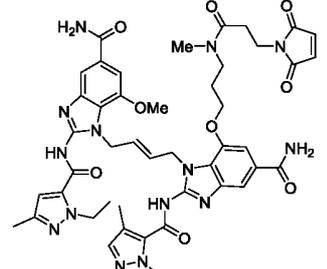
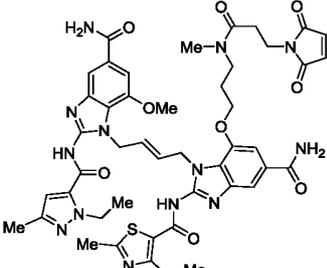
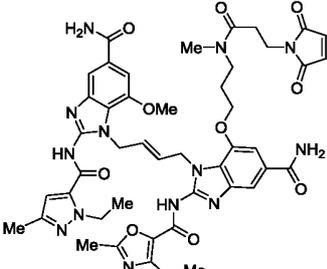
87		7B	Время удерживания: 1.70 Теоретическое : 894.4 Наблюдаемое: 894.5	Время удерживания: 1.38 Теоретическое : 794.4 Наблюдаемое: 794.4	13% 3.5 мг 0.00307 ммоль
88		7B	Время удерживания: 1.63 Теоретическое : 880.4 Наблюдаемое: 880.5	Время удерживания: 1.28 Теоретическое : 780.4 Наблюдаемое: 780.4	16% 4.4 мг 0.00391 ммоль
89		7B	Время удерживания: 1.77 Теоретическое : 894.4 Наблюдаемое: 894.5	Время удерживания: 1.46 Теоретическое : 794.4 Наблюдаемое: 794.4	9% 2.4 мг 0.00211 ммоль
90		7B	Время удерживания: 1.70 Теоретическое : 883.4 Наблюдаемое: 883.4	Время удерживания: 1.30 Теоретическое : 783.3 Наблюдаемое: 783.4	17% 4.7 мг 0.00416 ммоль
91		7B	Время удерживания: 1.65 Теоретическое : 880.4 Наблюдаемое: 880.5	Время удерживания: 1.32 Теоретическое : 780.4 Наблюдаемое: 780.4	6% 1.7 мг 0.00153 ммоль
92		7B	Время удерживания: 1.83 Теоретическое : 948.4 Наблюдаемое: 948.5	Время удерживания: 1.49 Теоретическое : 848.4 Наблюдаемое: 848.4	10% 2.7 мг 0.00229 ммоль

93		7B	Время удерживания: 1.74 Теоретическое : Наблюдаемое: 880.4 / 880.5	Время удерживания: 1.37 Теоретическое : Наблюдаемое: 780.4 / 780.4	22% 5.9 мг 0.00529 ммоль
94		7B	Время удерживания: 1.88 Теоретическое : Наблюдаемое: 911.4 / 911.5	Время удерживания: 1.38 Теоретическое : Наблюдаемое: 811.3 / 811.4	30% 8.1 мг 0.00703 ммоль
95		7B	Время удерживания: 1.86 Теоретическое : Наблюдаемое: 895.4 / 895.5	Время удерживания: 1.41 Теоретическое : Наблюдаемое: 795.4 / 795.4	8% 2.1 мг 0.0018 ммоль

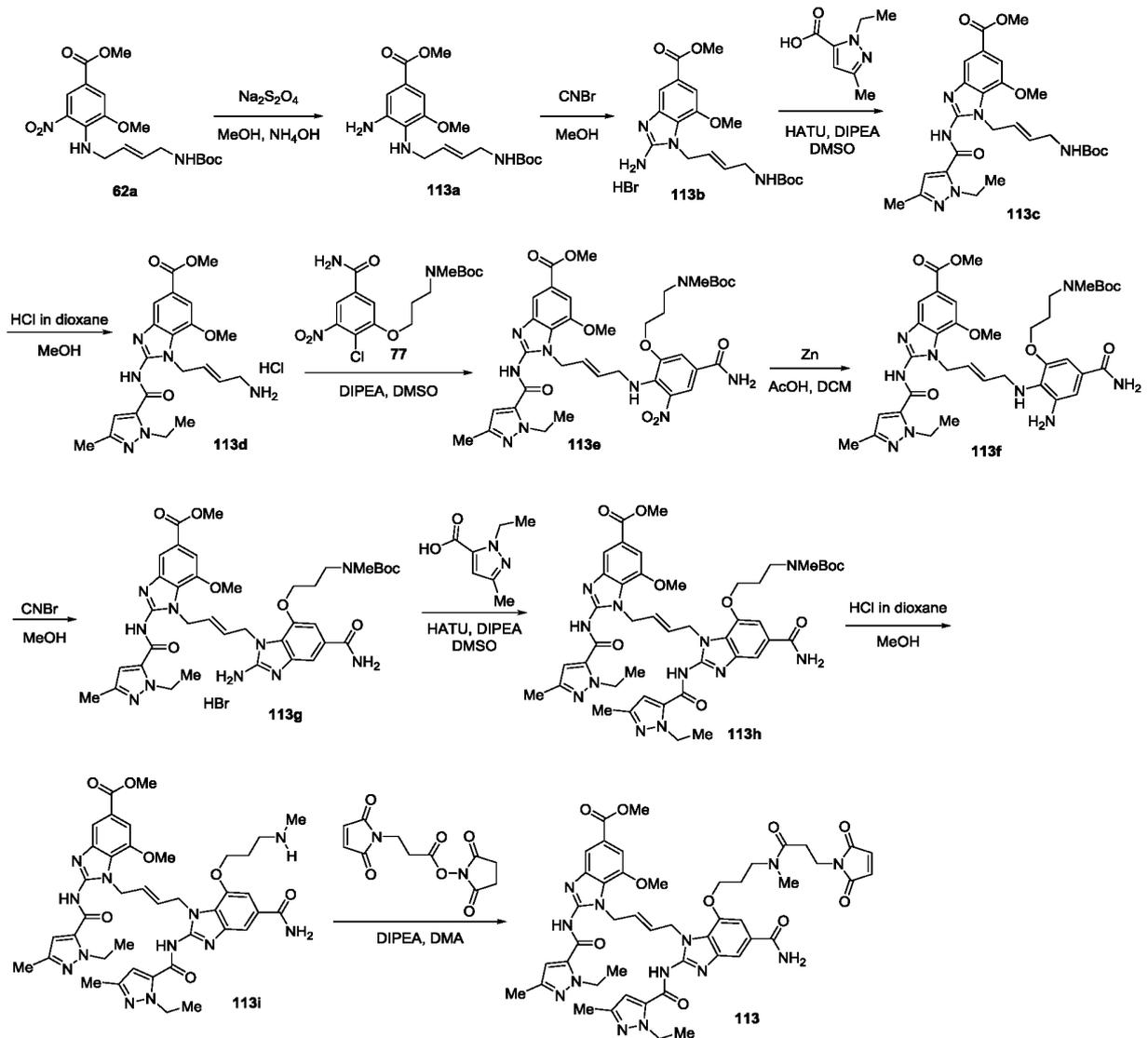


[0519] Связывание малеимидов (общий способ 9): Амин, полученный в результате предыдущей реакции (соединения **79 – 95**), растворили в DMSO (0.01 M), а затем добавили MP-OSu (2 эквив.) и DIPEA (5 эквив.). Смесь перемешивали при 30°C в течение ночи и контролировали реакцию при помощи СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания полученный продукт очистили посредством препаративной ВЭЖХ (способ G), используя 0.05% TFA в качестве добавки.

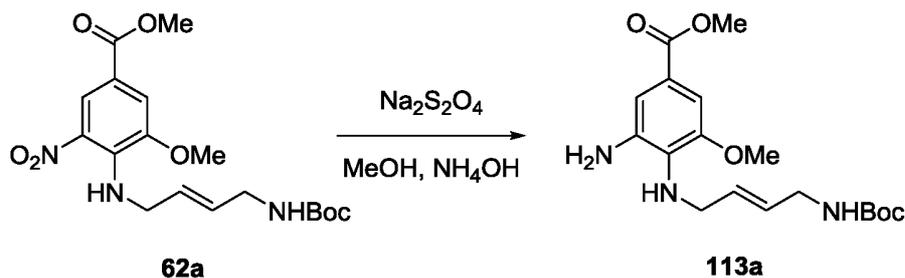
101		Время удерживания: 1.35 Теоретическое: 915.4 Наблюдаемое: 915.4	86% 5.88 мг 0.0051 ммоль
102		Время удерживания: 1.45 Теоретическое: 945.4 Наблюдаемое: 945.4	40% 0.36 мг 0.0003 ммоль
103		Время удерживания: 1.37 Теоретическое: 945.4 Наблюдаемое: 945.4	41% 1.29 мг 0.0011 ммоль
104		Время удерживания: 1.67 Теоретическое: 945.4 Наблюдаемое: 945.5	52% 1.87 мг 0.0016 ммоль
105		Время удерживания: 1.48 Теоретическое: 931.4 Наблюдаемое: 931.4	88% 4.00 мг 0.0035 ммоль
106		Время удерживания: 1.61 Теоретическое: 945.4 Наблюдаемое: 945.4	31% 0.76 мг 0.0006 ммоль

107		Время удерживания: 1.45 Теоретическое: 934.3 Наблюдаемое: 934.4	51% 2.46 мг 0.0021 ммоль
108		Время удерживания: 1.49 Теоретическое: 931.4 Наблюдаемое: 931.4	53% 0.94 мг 0.0008 ммоль
109		Время удерживания: 1.83 Теоретическое: 999.4 Наблюдаемое: 999.4	51% 1.43 мг 0.0012 ммоль
110		Время удерживания: 1.50 Теоретическое: 931.4 Наблюдаемое: 931.4	63% 3.86 мг 0.0033 ммоль
111		Время удерживания: 1.50 Теоретическое: 962.4 Наблюдаемое: 962.4	40% 3.39 мг 0.0028 ммоль
112		Время удерживания: 1.59 Теоретическое: 946.4 Наблюдаемое: 946.4	31% 0.67 мг 0.0006 ммоль

Синтез метил (E)-1-(4-(5-карбамоил-7-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-метилпропанамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[d]имидазол-5-карбоксилата (соединение 113).

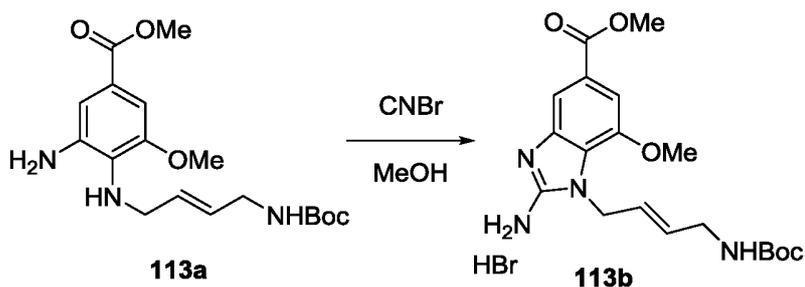


Синтез метил (E)-3-амино-4-((4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бут-2-ен-1-ил)амино)-5-метоксибензоата (соединение 113a)



[0520] Соединение **62a** (500 мг, 1.26 ммоль, 1 эквив.) растворили в MeOH (20 мл) и NH₄OH (6 мл). Медленно добавили Na₂S₂O₄ (1.10 г, 6.32 ммоль, 5 эквив.) в H₂O (5 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакцию контролировали при помощи СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания смесь профильтровали и сконцентрировали. Полученный продукт повторно растворили в EtOAc и промыли H₂O (x3). Органические фазы собрали, высушили при помощи MgSO₄, профильтровали и сконцентрировали, получив соединение **113a** (343 мг, 0.938 ммоль, выход 74%) в виде твердой фазы желтого цвета. Полученный продукт использовали без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 366.2 (теоретическое), 366.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.54 мин.

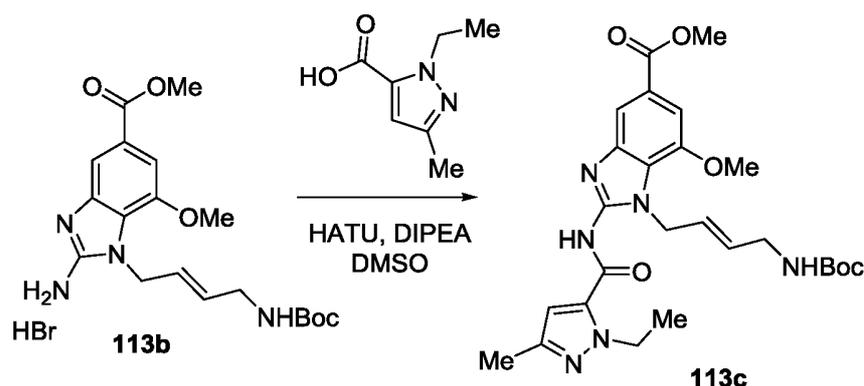
Синтез метил (E)-2-амино-1-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бут-2-ен-1-ил)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоскислата гидробромида (соединение 113b)



[0521] Соединение **113a** (343 мг, 0.938 ммоль, 1 эквив.) растворили в MeOH (9.3 мл), а затем добавили CNBr (3M раствор в MeCN, 0.374 мл, 1.2 эквив.). Реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре и

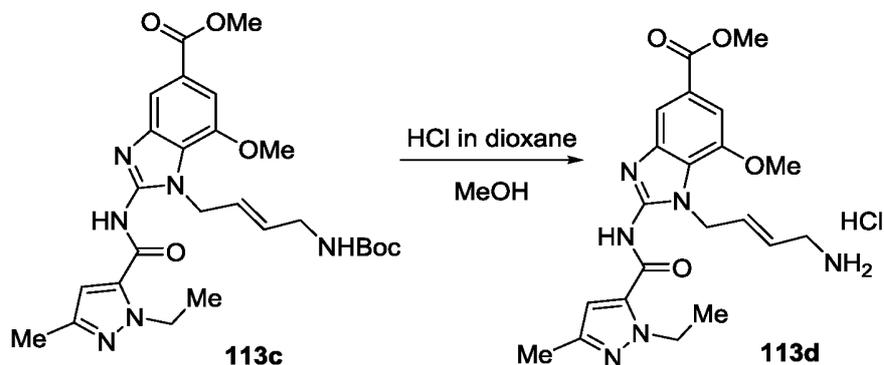
контролировали реакцию при помощи СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания раствора сконцентрировали, получив соединение **113b** (402 мг, 0.853 ммоль, выход 91%), которое использовали без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 391.2 (теоретическое), 391.1 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.51 мин.

Синтез метил (E)-1-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоскилата (соединение 113c)



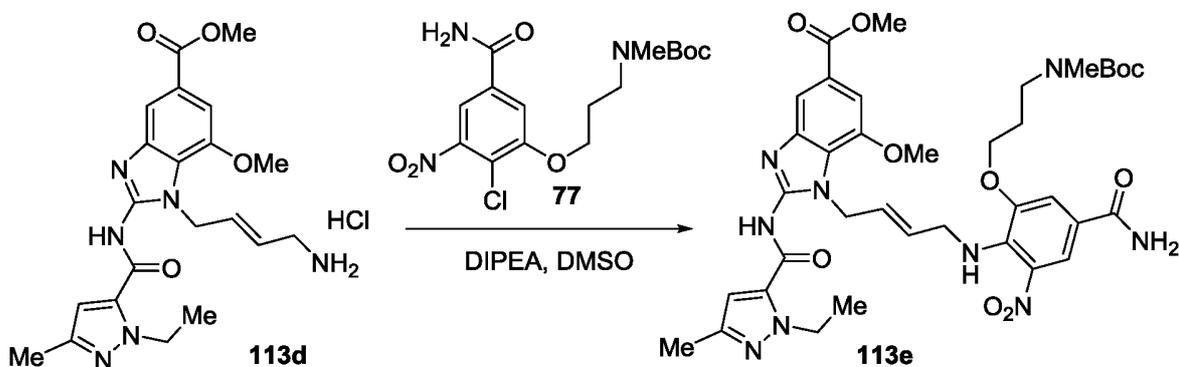
[0522] В высушенном в микроволновой печи флаконе объемом 5 мл растворили в DMA (1.7 мл) соединение **113b** (402 мг, 0.853 ммоль, 1 эквив.), 1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоновую кислоту (394 мг, 2.56 ммоль, 3 эквив.) и HATU (973 мг, 2.56 ммоль, 3 эквив.). Добавили DIPEA (0.74 мл, 4.26 ммоль, 5 эквив.) и нагревали реакционную смесь до 80°C в СВЧ-реакторе в течение 1 ч. Реакцию контролировали посредством СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания реакционную смесь медленно перелили в ледяную воду (300 мл), чтобы осадить соединение **113c** (295 мг, 0.560 ммоль, выход 66%), которое использовали без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 527.3 (теоретическое), 527.1 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.30 мин.

Синтез метил (E)-1-(4-аминобут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоскилата (соединение 113d)



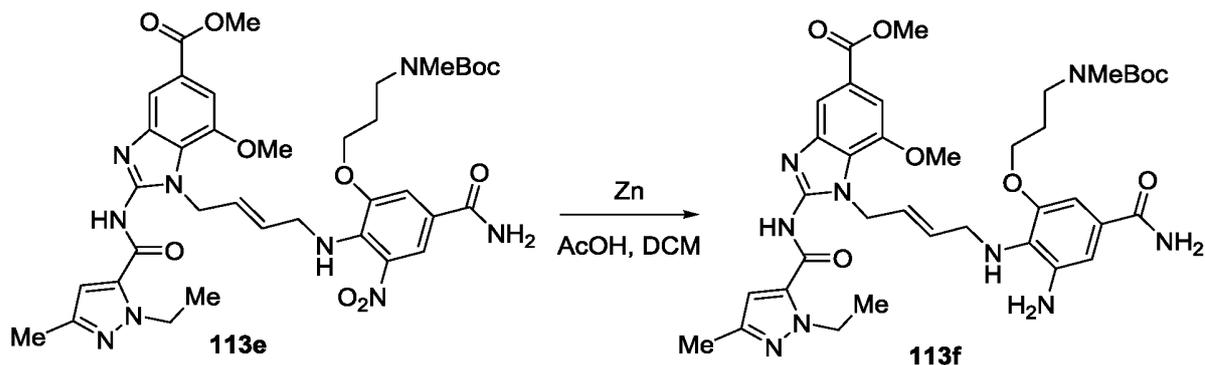
[0523] Соединение **113c** (319 мг, 0.606 ммоль, 1 эквив.) растворили в MeOH (1 мл), а затем добавили раствор HCl в диоксане (4M, 1.2 мл, 4.85 ммоль, 8 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. и контролировали реакцию при помощи СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания раствор сконцентрировали, а соединение **113d** (280 мг, 0.605 ммоль, количественный выход) использовали без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 427.2 (теоретическое), 427.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.54 мин.

Синтез метил (E)-1-(4-((2-(3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)пропокси)-4-карбамоил-6-нитрофенил)амино)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоскилата (соединение 113e)



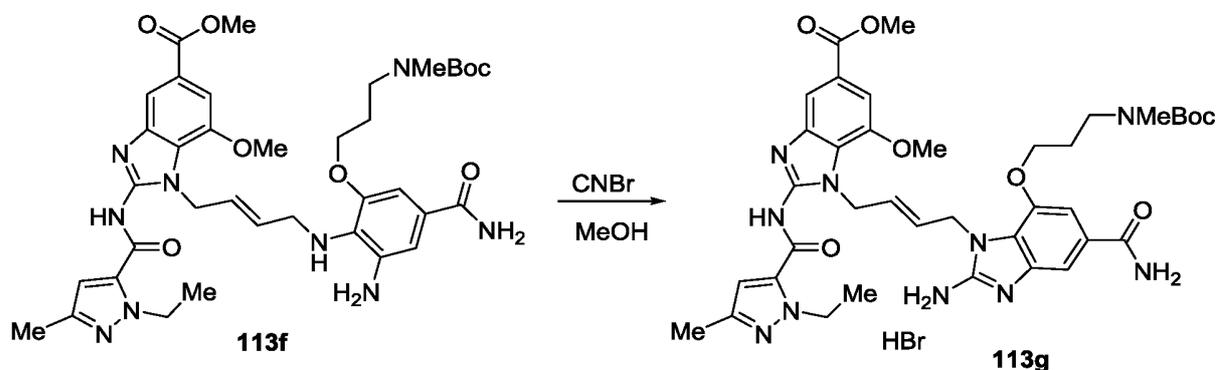
Соединение **113d** (280 мг, 0.605 ммоль, 1 эквив.) и соединение **77** (305 мг, 0.787 ммоль, 1.3 эквив.) растворили в DMSO (3.0 мл), а затем добавили DIPEA (0.316 мл, 1.82 ммоль, 3 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 18 ч и контролировали реакцию посредством СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания добавили AcOH (0.30 мл) и очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ I), используя 0.05% TFA в качестве добавки. Очищенные фракции собрали, заморозили и лиофилизировали, получив соединение **113e** (58.6 мг, 0.0753 ммоль, выход 12%) в виде твердой фазы оранжевого цвета. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 778.3 (теоретическое), 778.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.88 мин.

Синтез метил (E)-1-(4-((2-амино-6-(3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)пропокси)-4-карбамоилфенил)амино)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[d]имидазол-5-карбоскилата (соединение 113f)



[0524] Соединение **113e** (58.6 мг, 0.0753 ммоль, 1 эквив.) растворили в смеси 1:1 AcOH/DCM (0.75 мл) и охладили до 0°C. Добавили Zn (49.2 мг, 0.753 ммоль, 10 эквив.) и инкубировали смесь до нагревания до комнатной температуры при перемешивании в течение 30 мин. Реакцию контролировали посредством СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания раствор сконцентрировали и повторно растворили в DCM для очистки при помощи флэш-хроматографии (25 г колонка SiO₂, 0 – 40% MeOH:NH₄OH (10:1) в DCM), получив соединение **113f** (28.3 мг, 0.378 ммоль, выход 50%). СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 748.4 (теоретическое), 748.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.84 мин.

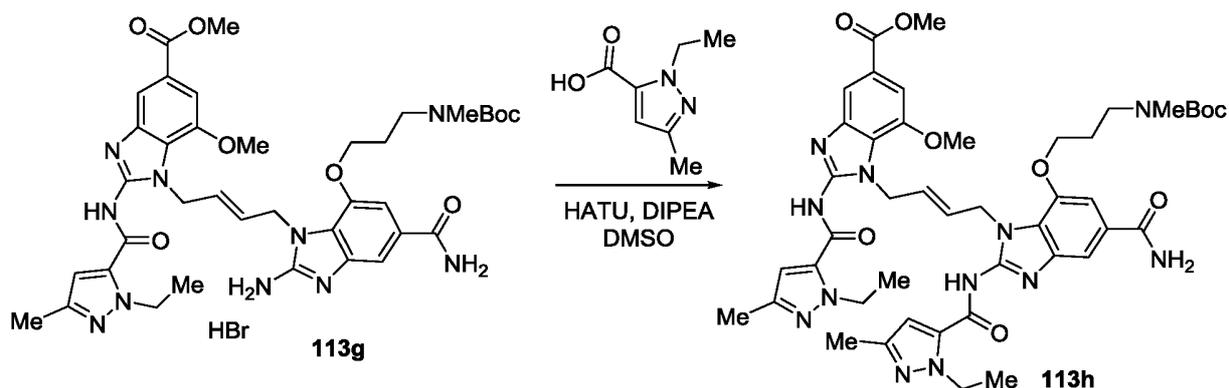
Синтез метил (E)-1-(4-(2-амино-7-(3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)пропокси)-5-карбамоил-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоскилата (соединение 113g)



[0525] Соединение **113f** (28.3 мг, 0.378 ммоль, 1 эквив.) растворили в MeOH (0.38 мл), а затем добавили CNBr (3M раствор в MeCN, 15 мкл, 0.0454 ммоль, 1.2 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч и контролировали реакцию посредством СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания раствор сконцентрировали, получив продукт **113g** (30.7 мг, 0.360 ммоль, количественный выход), который использовали без дополнительной очистки. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 773.4 (теоретическое), 773.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.53 мин.

Синтез метил (E)-1-(4-(7-(3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)пропокси)-5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-

этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоскилата (соединение 113h)

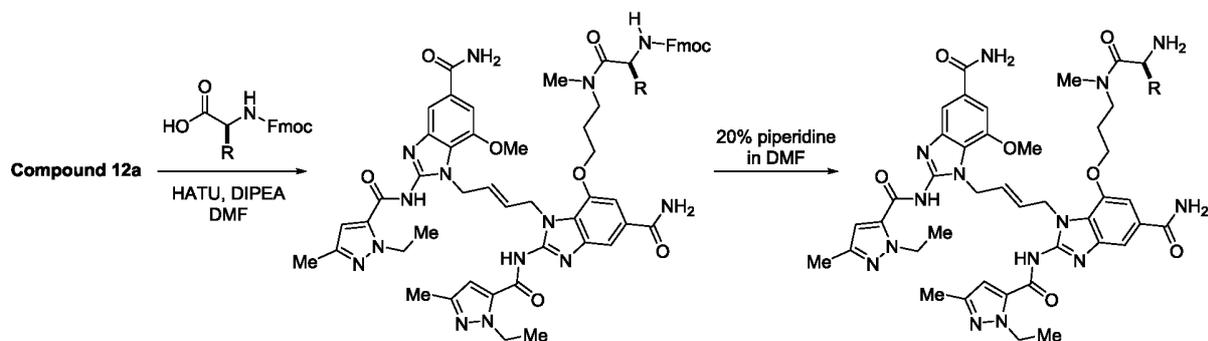


[0526] В высушенном в микроволновой печи флаконе объемом 2 мл растворили в DMA (0.50 мл) соединение **113g** (30.7 мг, 0.0360 ммоль, 1 эквив.), 1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоновую кислоту (22.1 мг, 0.144 ммоль, 4 эквив.) и HATU (54.6 мг, 0.144 ммоль, 4 эквив.). Добавили DIPEA (0.025 мл, 0.144 ммоль, 4 эквив.) и нагревали реакционную смесь в СВЧ-реакторе при 80°C в течение 1 ч. Реакцию контролировали посредством СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ H), используя 0.05% TFA в качестве добавки. Очищенные фракции собрали, заморозили и лиофилизировали, получив соединение **113h** (6.52 мг, 0.0064 ммоль, выход 18%) в виде твердой фазы белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 909.4 (теоретическое), 909.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.90 мин.

Синтез метил (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-(3-(метиламино)пропокси)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-

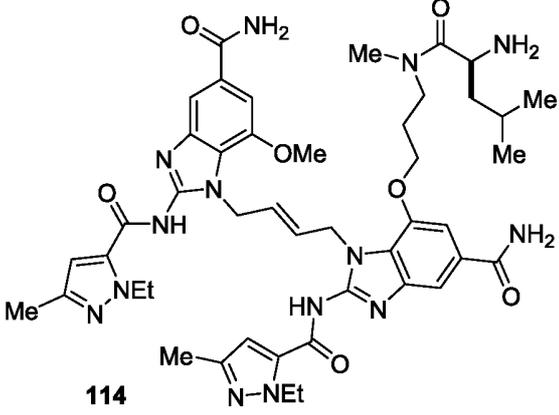
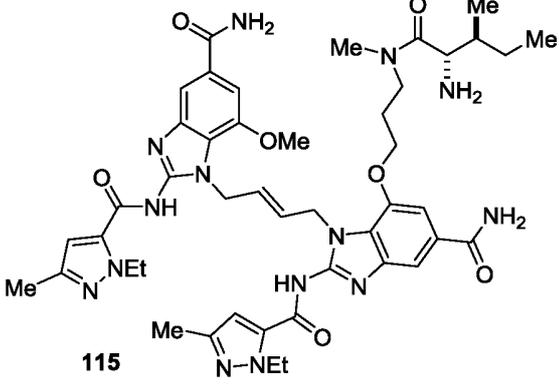
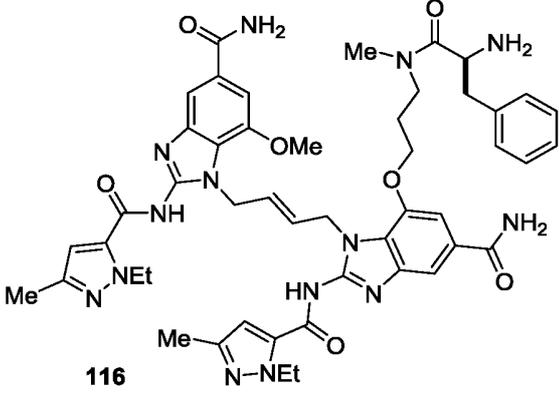
добавки. Очищенные фракции собрали, заморозили и лиофилизировали, получив соединение **113** (4.43 мг, 0.0041 ммоль, выход 48%) в виде твердой фазы белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 960.4 (теоретическое), 960.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.79 мин.

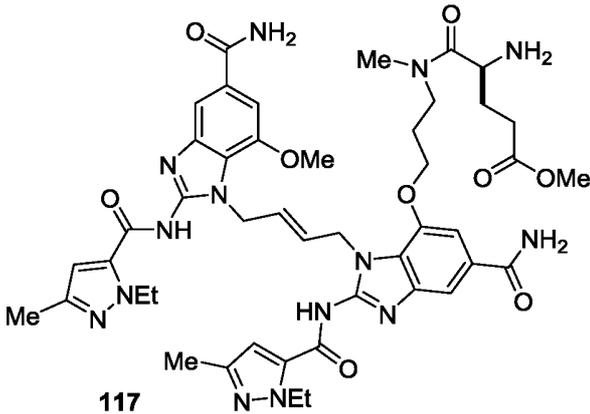
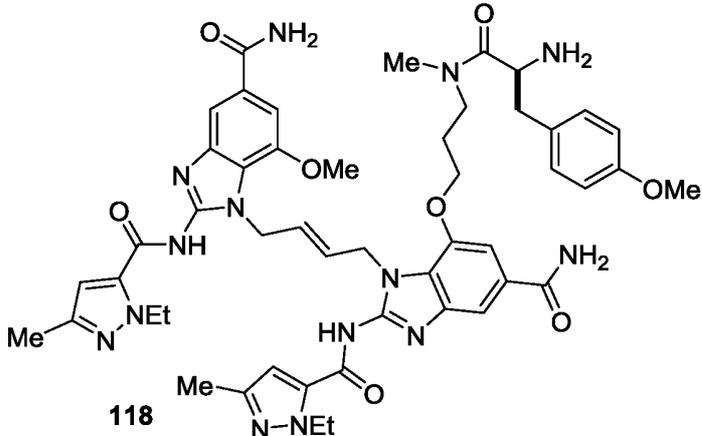
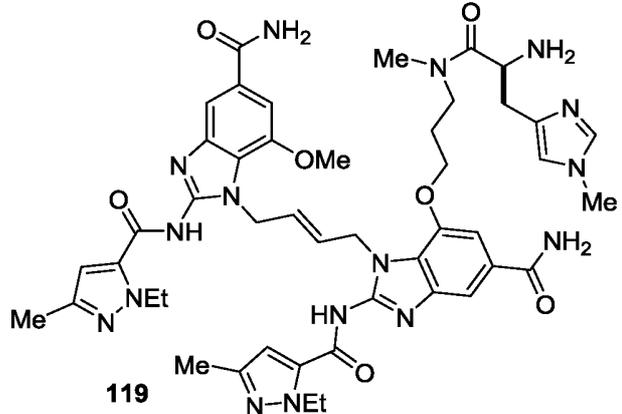
Синтез библиотеки линкеров (соединения 114 – 124).

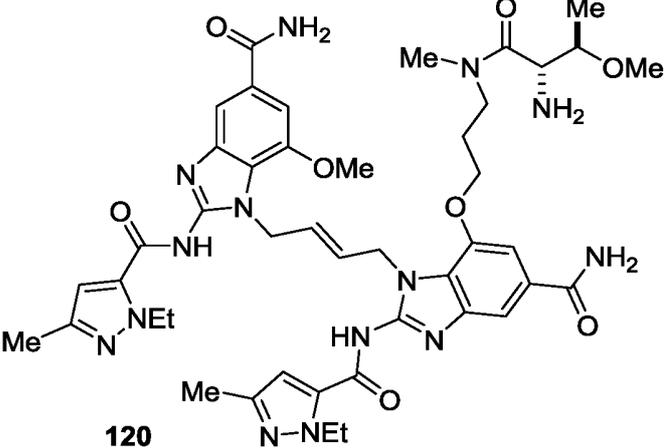


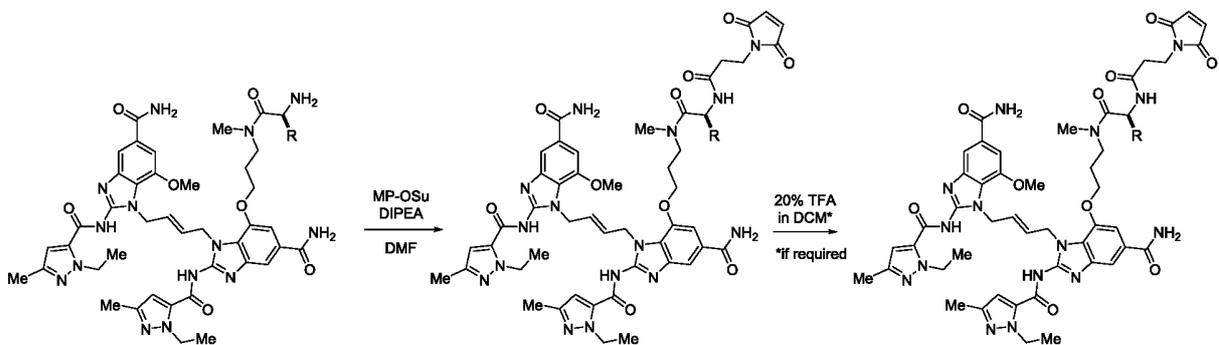
[0529] Связывание амидов (общий способ 10): Приготовили смесь соединения **12a** (1 эквив.), HATU (2 эквив.), DIPEA (5 эквив.) и соответствующей L-аминокислоты (2 эквив.) в DMF (0.02M раствор в соединении **12a**) и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Удалили растворитель в вакууме и полученный продукт использовали на следующем этапе без дополнительной очистки.

[0530] Снятие защиты Fmoc (общий способ 11): Полученный Fmoc-защищенный амин растворили в 20% пиперидина в DMF (1 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Растворитель удалили в вакууме и очистили продукт посредством препаративной ВЭЖХ (способ H, 5 - 95% в MeCN в H₂O в 0.05% TFA).

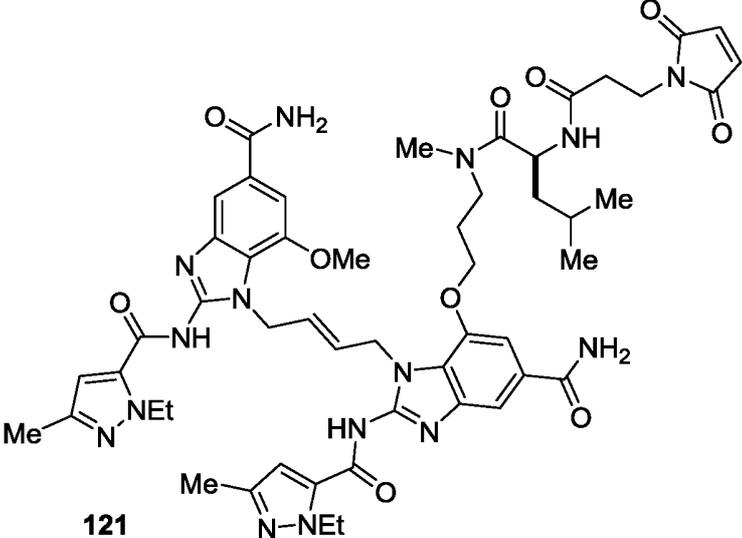
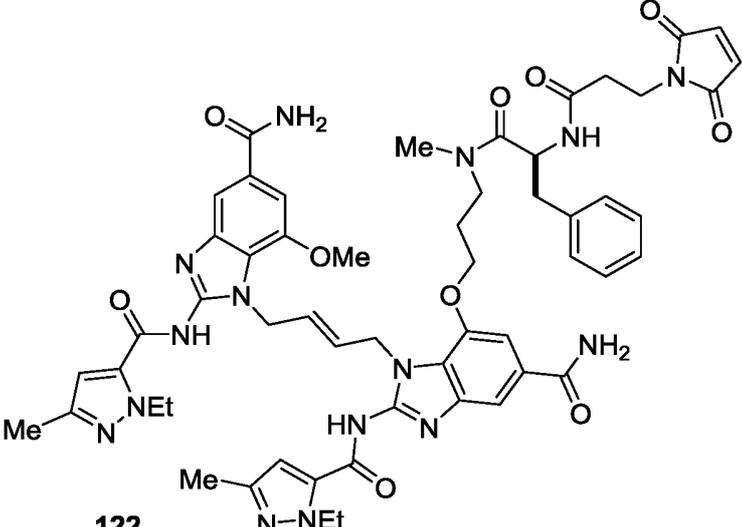
Соединение	СВЭЖХ-МС [M+H] ⁺	Выход
 <p>114</p>	<p>Время удерживания: 1.83 мин Теоретическое: 907.5 Наблюдаемое: 907.5</p>	<p>18.6 мг (58%)</p>
 <p>115</p>	<p>Время удерживания: 1.77 Теоретическое: 907.5 Наблюдаемое: 907.5</p>	<p>24.9 мг (78%)</p>
 <p>116</p>	<p>Время удерживания: 1.76 Теоретическое: 941.5 Наблюдаемое: 941.5</p>	<p>13.5 мг (28%)</p>

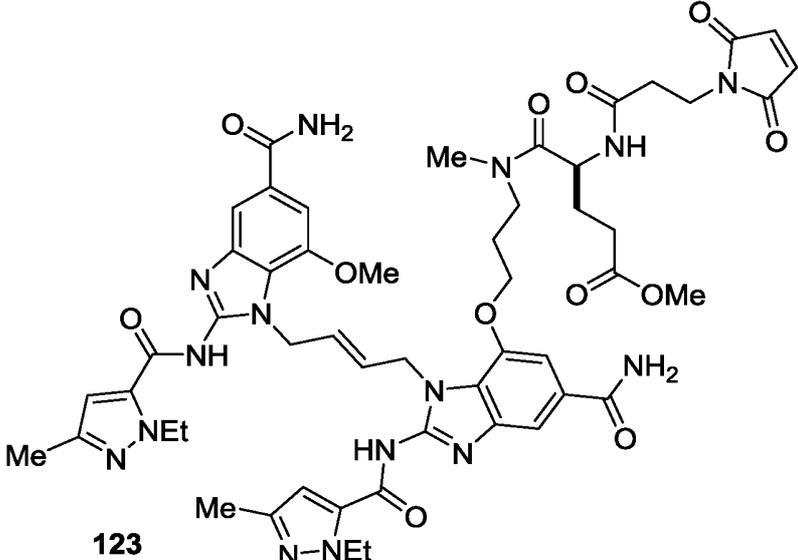
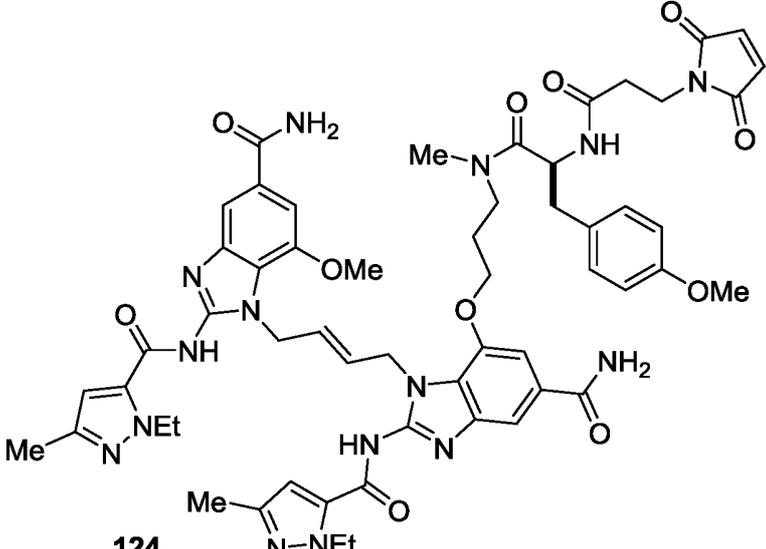
Соединение	СВЭЖХ-МС [M+H] ⁺	Выход
 <p>117</p>	<p>Время удерживания: 2.05 Теоретическое: 937.4 Наблюдаемое: 937.5</p>	<p>9.8 мг (35%)</p>
 <p>118</p>	<p>Время удерживания: 1.93 Теоретическое: 971.5 Наблюдаемое: 971.5</p>	<p>18.6 мг (64%)</p>
 <p>119</p>	<p>Время удерживания: 1.93 Теоретическое: 945.5 Наблюдаемое: 945.5</p>	<p>19.4 (64%)</p>

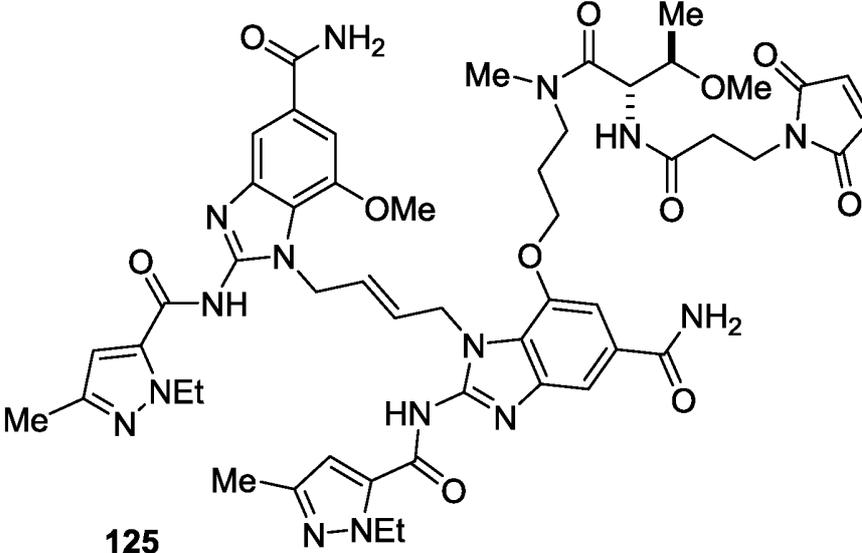
Соединение	СВЭЖХ-МС [M+H] ⁺	Выход
 <p>120</p>	Время удерживания: 2.05 Теоретическое: 909.4 Наблюдаемое: 909.5	24.5 мг (76.4%)



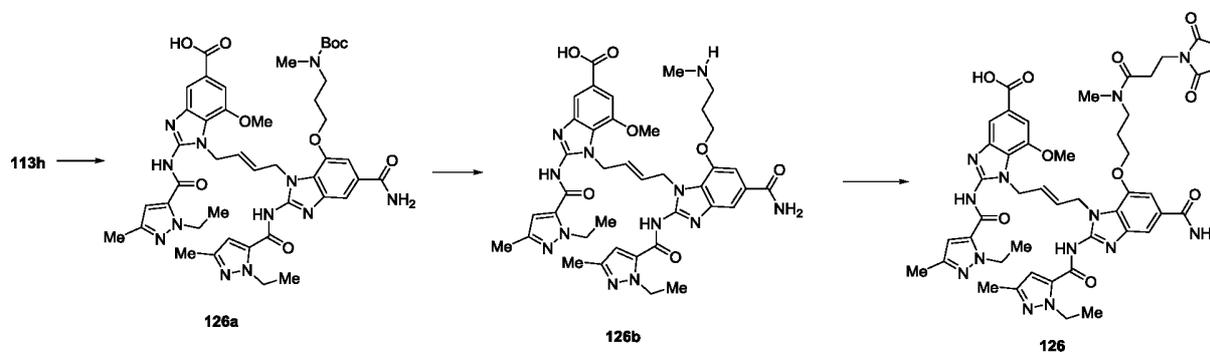
[0531] Синтез малеинимидных линкеров лекарственных средств (соединения **121** – **125**) проводили согласно **общему способу 9**.

Соединение	СВЭЖХ-МС [M+H] ⁺	Выход
 <p>121</p>	<p>Время удерживания: 2.16 Теоретическое : 1058.5 Наблюдаемое: 1058.5</p>	<p>1.5 мг (42%)</p>
 <p>122</p>	<p>Время удерживания: 2.00 Теоретическое : 1092.5 Наблюдаемое: 1092.5</p>	<p>0.5 мг (21%)</p>

Соединение	СВЭЖХ-МС [M+H] ⁺	Выход
 <p>123</p>	<p>Время удерживания: 2.21 Теоретическое : 1088.5 Наблюдаемое: 1088.5</p>	<p>1.1 мг (32%)</p>
 <p>124</p>	<p>Время удерживания: 1.81 Теоретическое : 1122.5 Наблюдаемое: 1122.6</p>	<p>1.1 мг (32%)</p>

Соединение	СВЭЖХ-МС [M+H] ⁺	Выход
 <p style="text-align: center;">125</p>	<p style="text-align: center;">Время удерживания: 1.79 Теоретическое : 1060.5 Наблюдаемое: 1060.5</p>	<p style="text-align: center;">0.3 мг (8.6%)</p>

(E)-1-(4-(5-карбамоил-7-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-метилпропанамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоновая кислота (соединение 126)



Синтез соединения 126а

[0532] Соединение **113h** (25.44 мг, 0.0249 ммоль, 1 эквив.) растворили в MeOH (166 мкл). Добавили водный раствор 1 M LiOH (200 мкл, 8 эквив.) и реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. После окончания раствор сконцентрировали при пониженном давлении и очистили при помощи препаративной

ВЭЖХ (способ H) используя 0.05% TFA в качестве добавки. Очищенные фракции собрали, заморозили и лиофилизировали, получив соединение **126a** (7.1 мг, 0.0071 ммоль, выход 28%) в виде твердой фазы белого цвета. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 895.4 (теоретическое), 895.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.97 мин.

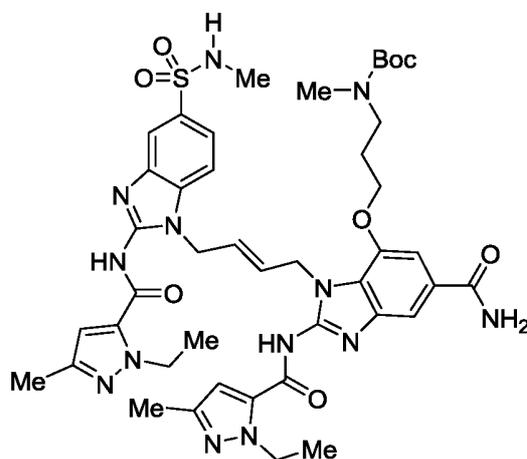
Синтез соединения 126b

[0533] Соединение **126b** получили таким же способом, как соединение **113i**. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 795.4 (теоретическое), 795.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.40 мин.

Синтез соединения 126

[0534] Соединение **126** получили таким же способом, как соединение **113**. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 946.4 (теоретическое), 946.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.68 мин.

Синтез трет-бутил (E)-(3-((5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-(N-метилсульфамойл)-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-7-ил)окси)пропил)(метил)карбамата (соединение 127)

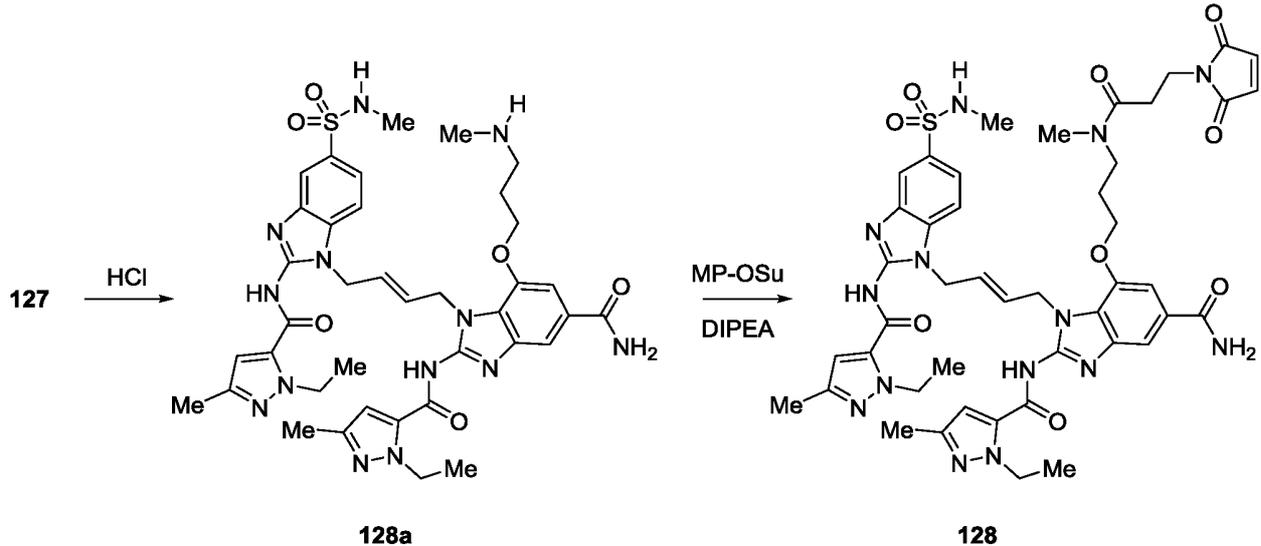


127

[0535] Соединение **127** получили таким же способом, как соединение **25f**, заменив 4-хлор-N-метил-3-нитробензолсульфонамид на 4-хлор-3-

нитробензолсульфонамид. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 914.4 (теоретическое), 914.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.80 мин.

Синтез (E)-7-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-метилпропанамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-(N-метилсульфамойл)-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-5-карбоксамид (соединение 128)



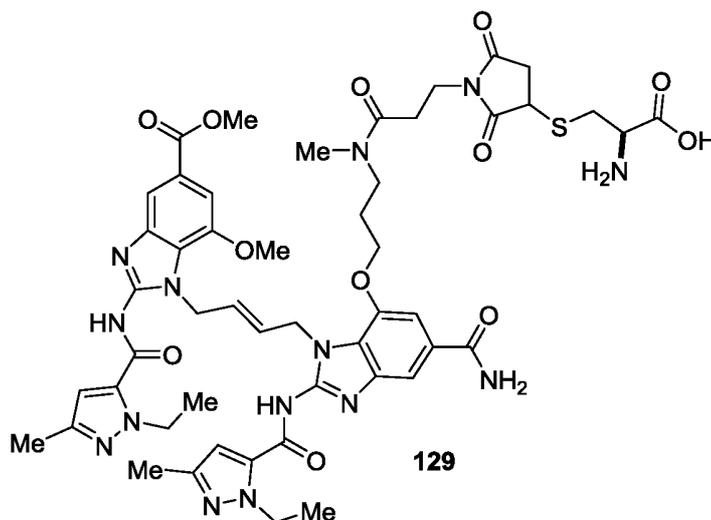
Синтез соединения 128a

[0536] Соединение **128a** получили таким же способом, как соединение **66b**. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 814.4 (теоретическое), 814.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.53 мин.

Синтез соединения 128

[0537] Соединение **128** получили таким же способом, как соединение **12**. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 965.4 (теоретическое), 965.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.60 мин.

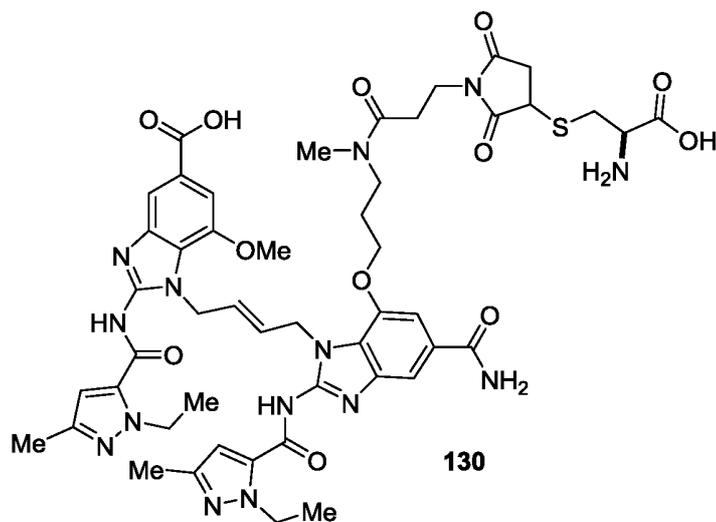
Синтез S-(1-(3-((3-((5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-((E)-4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-5-(метоксикарбонил)-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-7-ил)окси)пропил)(метил)амино)-3-оксопропил)-2,5-диоксопирролидин-3-ил)-L-цистеина (соединение 129)



[0538] Соединение **129** получили в соответствии с общим способом 6. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1081.4 (теоретическое), 1081.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.88 мин.

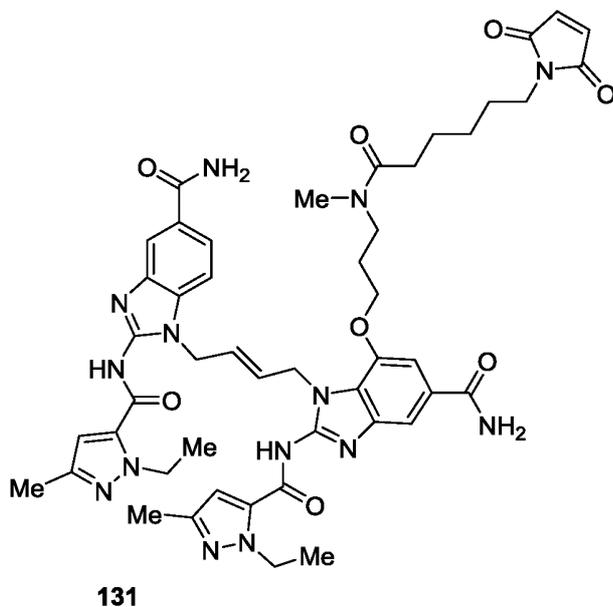
Синтез 1-((E)-4-(7-(3-(3-(3-(((R)-2-амино-2-карбоксиэтил)тио)-2,5-диоксопирролидин-1-ил)-N-метилпропанамидо)пропокси)-5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-

ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоновой кислоты (соединение 130)



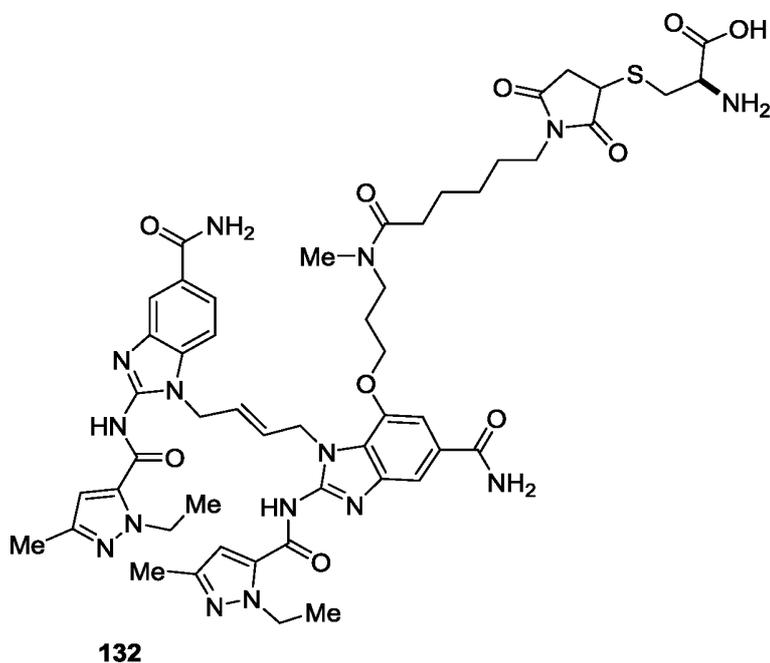
[0539] Соединение **130** получили в соответствии с общим способом 6. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1067.4 (теоретическое), 1067.6 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.49 мин.

Синтез (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-(6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-метилгексаамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамидо (соединение 131)



[0540] Соединение **131** получили таким же способом, как соединение **12**, заменив 2,5-диоксопирролидин-1-ил 6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)гексаноат на 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропаноат. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 987.5 (теоретическое), 987.7 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.85 мин.

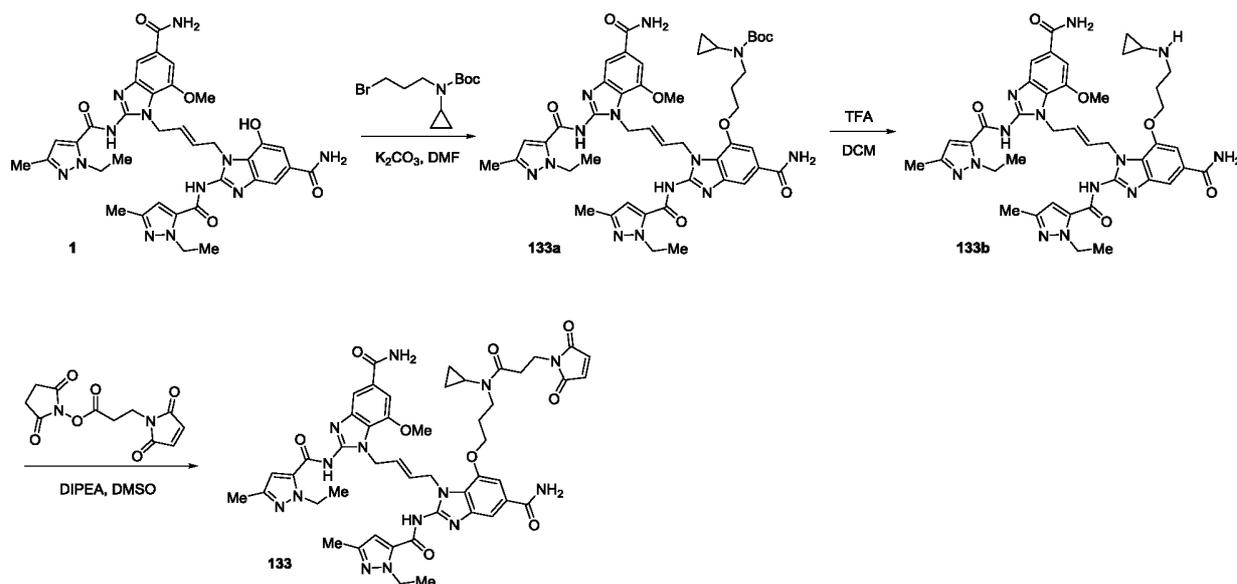
Синтез S-(1-(6-((3-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1Н-пиразол-5-карбоксамидо)-1Н-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1Н-пиразол-5-карбоксамидо)-1Н-бензо[д]имидазол-7-ил)окси)пропил)(метил)амино)-6-оксогексил)-2,5-диоксопирролидин-3-ил)-L-цистеина (соединение 132)



[0541] Соединение **132** получили в соответствии с общим способом 6. СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1108.5 (теоретическое), 1108.7 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.42 мин.

Синтез (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1Н-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1Н-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-(N-циклопропил-3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропокси)-2-(1-этил-3-

метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид
(соединение 133)



Синтез соединения 133a

[0542] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл поместили соединение **1** (10 мг, 0.0105 ммоль, 1 эквив.), карбонат калия (7.3 мг, 0.0526 ммоль, 5 эквив.) и трет-бутил N-(3-бромпропил)-N-циклопропил-карбамат (0.49 мл раствора 9 мг/мл в DMF, 0.0158 ммоль, 1.50 эквив.) и растворили исходные материалы в DMF (0.50 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 55°C и очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ В), после чего ее заморозили и лиофилизировали, получив соединение **133a** (8.8 мг, 0.0077 ммоль, выход 73%). СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 920.45 (теоретическое), 920.64 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.32 мин.

Синтез соединения 133b

[0543] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл поместили соединение **133a** (8.8 мг, 0.0077 ммоль) и 20% раствор TFA в DCM (100 мкл). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре и очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ В), после чего ее заморозили и лиофилизировали, получив соединение **133b** (5.0 мг, 0.0043 ммоль, выход 56%). СВЭЖХ-МС (способ D,

ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 820.40 (теоретическое), 820.49 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.29 мин.

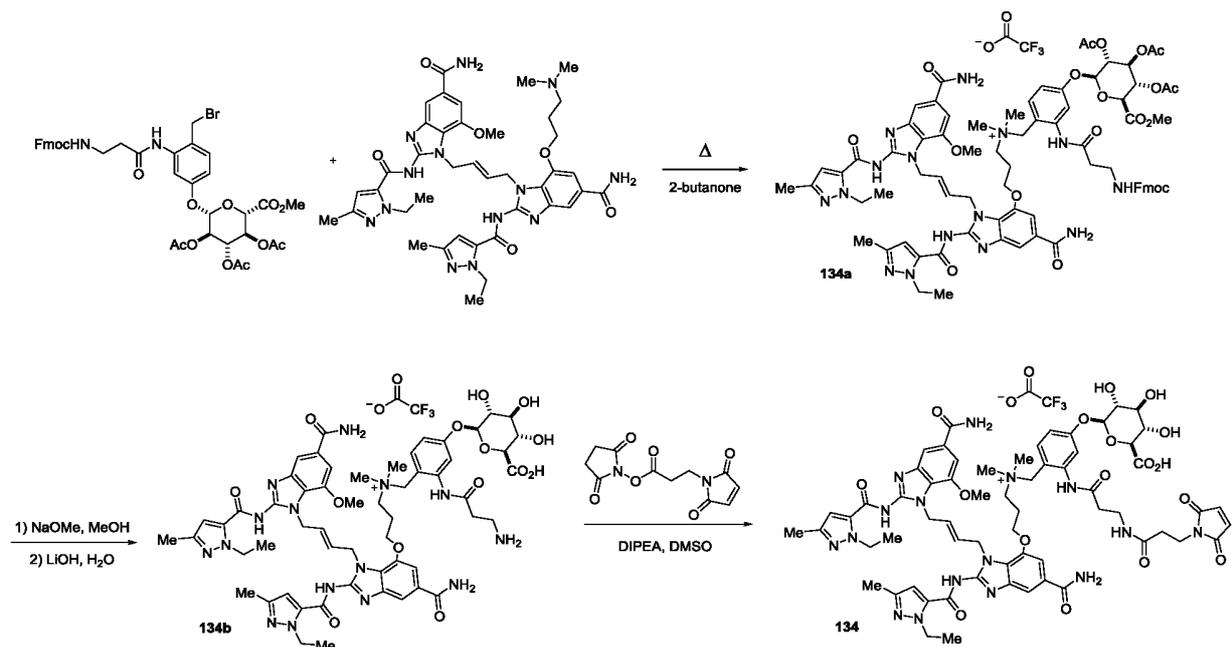
Синтез соединения 133

[0544] В высушенный в печи флакон объемом 8 мл поместили соединение **133b** (3.3 мг, 0.0085 ммоль, 1 эквив.), которое растворили в DMSO (1 мл) и растворе 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноата в DMSO (10мМ в DMSO, 0.43 мл, 0.0043 ммоль, 1.5 эквив.) и DIPEA (1.5 мкл, 0.00851 ммоль, 3 эквив.). Реакционную смесь нагревали до 30°C в течение ночи, погасили уксусной кислотой и очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ В), после чего заморозили и лиофилизировали, получив соединение **133** (1.9 мг, 0.00158 ммоль, выход 56%).

[0545] СВЭЖХ-МС (способ D, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 971.43 (теоретическое), 971.48 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.99 мин.

Синтез 3-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-7-ил)окси)-N-(4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокси тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-2-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-

ил)пропанамидо)пропанамидо)бензил)-N,N-диметилпропан-1-аминий 2,2,2-трифторацетата (соединение 134a)



Синтез соединения 134a

[0546] В высушенный в печи флакон объемом 8 мл поместили (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-(диметиламино)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (20 мг, 0.0248 ммоль, 1 эквив., полученный, как описано ранее в WO2017/175147, пример 39, страница 291) и (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(3-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(бромметил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетат (60.3 мг, 0.0743 ммоль, 3 эквив., полученный, как описано ранее в *Молекуляр Кэнсер Терапьютикс* **2016** 15(5), 938-945), подвергнутый азеотропной перегонке с безводным ацетонитрилом. Во флакон добавили 2-бутанон (2.5 мл) и нагревали раствор до 100°C в течение ночи. Продукт непосредственно очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ В), заморозили и лиофилизировали, получив соединение **134a** (11.3 мг, 0.0070 ммоль, выход 28%). СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1538.64 (теоретическое), 1538.83 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 2.55 мин

Синтез соединения 134b

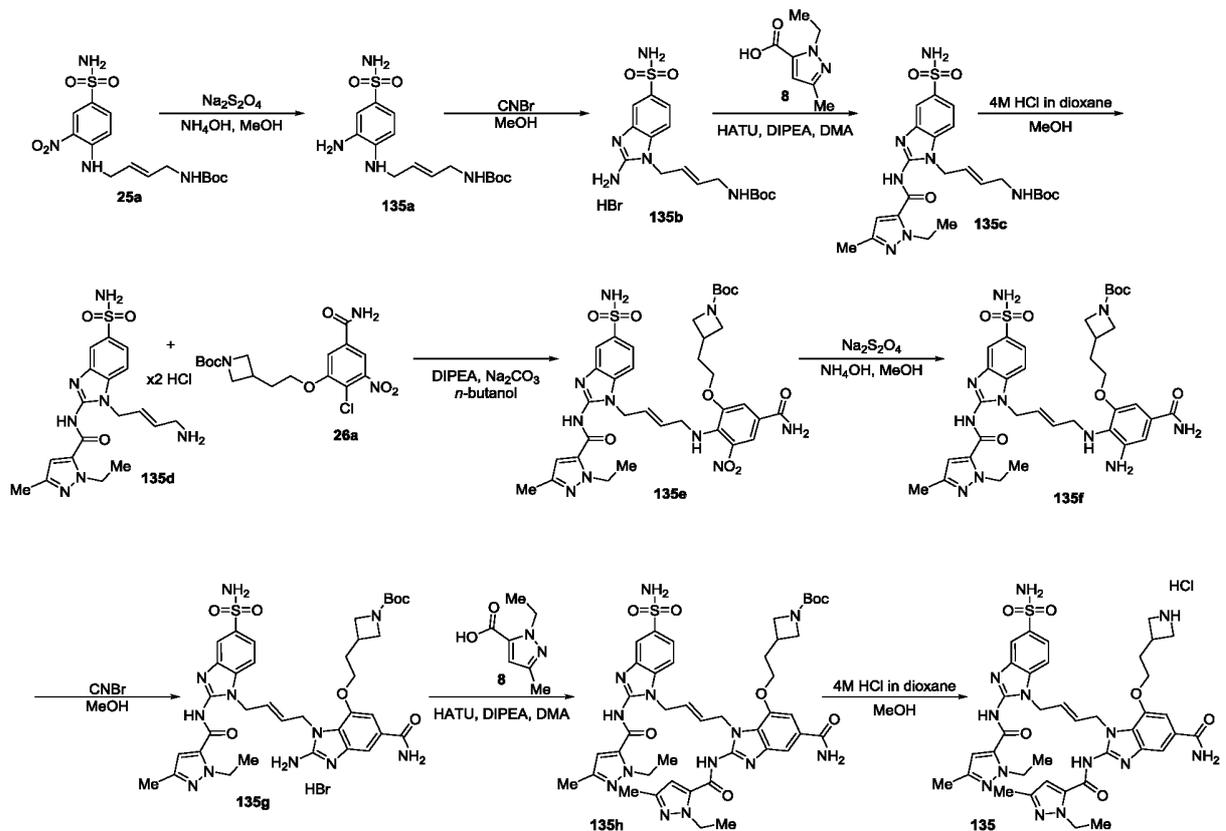
[0547] В высушенный в печи флакон объемом 4 мл поместили соединение **134a** (4.5 мг, 0.0094 ммоль, 1 эквив.) и растворили в безводном MeOH (0.5 мл). Флакон охладили в ацетонитриле / бане с сухим льдом при -40°C и добавили 0.5 М раствор NaOMe (19 мкл, 0.0094 ммоль, 1 эквив.). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, а затем нагрели до комнатной температуры и добавили LiOH (1 М раствор в H_2O , 31 мкл, 0.031 ммоль, 3 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, а затем непосредственно очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ В), после чего заморозили и лиофилизировали, получив соединение **134b** (5.8 мг, 0.0049 ммоль, выход 48%). СВЭЖХ-МС (способ Е, ESI+): масса/заряд $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 1176.52 (теоретическое), 1176.76 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.29 мин

Синтез соединения 134

[0548] Соединение **134b** (5.8 мг, 0.0038 ммоль, 1 эквив.) поместили в высушенный в печи флакон объемом 4 мл и растворили в DMSO (1 мл), а затем добавили MP-OSu (10 mM в DMSO, 0.57 мл, 0.0057 ммоль, 1.5 эквив.) и DIPEA (2 мкл, 0.0115 ммоль, 3 эквив.). Раствор перемешивали в течение 30 мин, погасили уксусной кислотой и очистили при помощи препаративной ВЭЖХ (способ В), а затем заморозили и лиофилизировали, получив соединение **134** (3.6 мг, 0.0023 ммоль, выход 61%). СВЭЖХ-МС (способ Е, ESI+): масса/заряд $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 1327.55 (теоретическое), 1327.77 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.38 мин.

Синтез (E)-7-(2-(азетидин-3-ил)этокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-

сульфамил-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 135)



Синтез соединения 135a***

[0549] В раствор соединения **25a** (1.61 г, 4.18 ммоль, 1 эквив.) в MeOH (63 мл) и водного NH_4OH (21 мл) добавили водный $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (1 М, 21 мл, 21 ммоль, 5 эквив.). Смесь перемешивали в течение 1 ч при 30°C и контролировали реакцию при помощи СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания раствор профильтровали через целит и промыли с MeOH . Фильтрат сконцентрировали и очистили продукт при помощи флэш-хроматографии (сухая загрузка на целите, колонка Sfär SiO_2 HC Duo, 10:1 $\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ градиент в DCM), получив соединение **135a** (774 мг, 2.17 ммоль, выход 52%). ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[\text{M}+\text{H}]^+ = 357.2$ (теоретическое), 357.3 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.44 мин.

Синтез соединения 135b

[0550] В раствор соединения **135a** (774 мг, 2.17 ммоль, 1 эквив.) в MeOH (4 мл) добавили цианоген-бромид в MeCN (3 M, 1.5 мл, 4.35 ммоль, 2 эквив.). Раствор перемешивали в течение 18 ч при 30°C и контролировали реакцию посредством СВЭЖХ-МС (способ E, ESI+). После окончания растворитель удалили в вакууме, получив соединение **135b** (1.0 г, 2.25 ммоль, количественный выход). ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 382.2 (теоретическое), 382.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.12 мин.

Синтез соединения 135c

[0551] Во флакон, высушенный в микроволной печи, поместили раствор соединения **135b** (1.0 г, 2.25 ммоль, 1 эквив.) в DMA (11 мл), а затем добавили соединение **8** (1.0 г, 6.74 ммоль, 3 эквив.), HATU (2.6 г, 6.74 ммоль, 3 эквив.) и DIPEA (1.2 мл, 6.74 ммоль, 3 эквив.). Эту смесь нагревали до 80°C в течение 1 ч в СВЧ-реакторе. После окончания выделили соединение **135c** (1.0 г, 1.93 ммоль, выход 86%) путем осаждения холодной водой. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 518.2 (теоретическое), 518.3 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.60 мин.

Синтез соединения 135d

[0552] В раствор соединения **135c** (1.0 г, 1.93 ммоль, 1 эквив.) в MeOH (3.3 мл) добавили HCl в диоксане (4M, 5.3 мл, 21 ммоль, 8 эквив.). Смесь перемешивали в течение 1 ч при 30°C. После окончания растворитель удалили в вакууме, а соединение **135d** (1.2 г, 2.65 ммоль, количественный выход) использовали без дополнительной очистки. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 418.2 (теоретическое), 418.2 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.09 мин.

Синтез соединения 135e

[0553] Соединения **135d** (200 мг, 0.408 ммоль, 1 эквив.) и **26a** (245 мг, 0.612 ммоль, 1.5 эквив.) растворили в н-бутаноле (2.0 мл) в высушенном в микроволновой печи флаконе объемом 5 мл, а затем добавили Na₂CO₃ (130 мг, 1.22 ммоль, 3 эквив.) и DIPEA (0.36 мл, 2.04 ммоль, 5 эквив.). Реакционную смесь нагревали в СВЧ-реакторе при 140°C в течение 3 ч. Полученный продукт профильтровали и промыли MeOH и DCM. Фильтрат сконцентрировали и очистили посредством флэш-хроматографии

(сухая загрузка на целите, колонка Sfär SiO₂ HC Duo, градиент 10:1 MeOH:NH₄OH в DCM), получив соединение **135e** (51 мг, 0.0651 ммоль, выход 16%). ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 781.3 (теоретическое), 781.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.72 мин.

Синтез соединения 135f

[0554] Соединение **135f** (30 мг, 0.0402 ммоль, выход 62%) получили таким же способом, как соединение **135a**, используя соединение **135e** (51 мг, 0.0651 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 751.3 (теоретическое), 751.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.46 мин.

Синтез соединения 135g

[0555] Соединение **135g** (34 мг, 0.0394 ммоль, количественный выход) получили таким же способом, как соединение **135b**, используя соединение **135f** (30 мг, 0.0402 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 776.3 (теоретическое), 776.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.54 мин.

Синтез соединения 135h

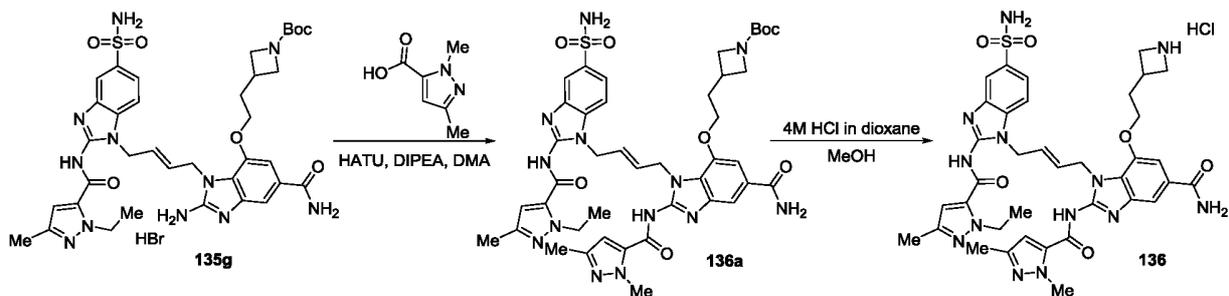
[0556] Соединение **135h** получили таким же способом, как соединение **135c**, используя соединение **135g** (17 мг, 0.0197 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. После окончания очистили продукт при помощи препаративной ВЭЖХ (способ H). Очищенные фракции собрали, заморозили и лиофилизировали, получив соединение **135h** (2.34 мг, 0.0021 ммоль, выход 10%) в виде порошка белого цвета. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 912.4 (теоретическое), 912.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.65 мин.

Синтез соединения 135

[0557] Соединение **135h** (2.34 мг, 0.0021 ммоль, 1 эквив.) растворили в MeOH (0.21 мл) и добавили HCl в диоксане (4M, 4.1 мкл, 0.0164 ммоль, 8 эквив.). Раствор нагревали до 40°C в течение 1 ч. Затем удалили растворитель в вакууме, а соединение **135** (1.86 мг, 0.0020 ммоль, количественный выход) использовали без дополнительной

очистки. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 812.3 (теоретическое), 812.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.26 мин.

Синтез (E)-7-(2-(азетидин-3-ил)этокси)-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-сульфамойл-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 136)



Синтез соединения 136a

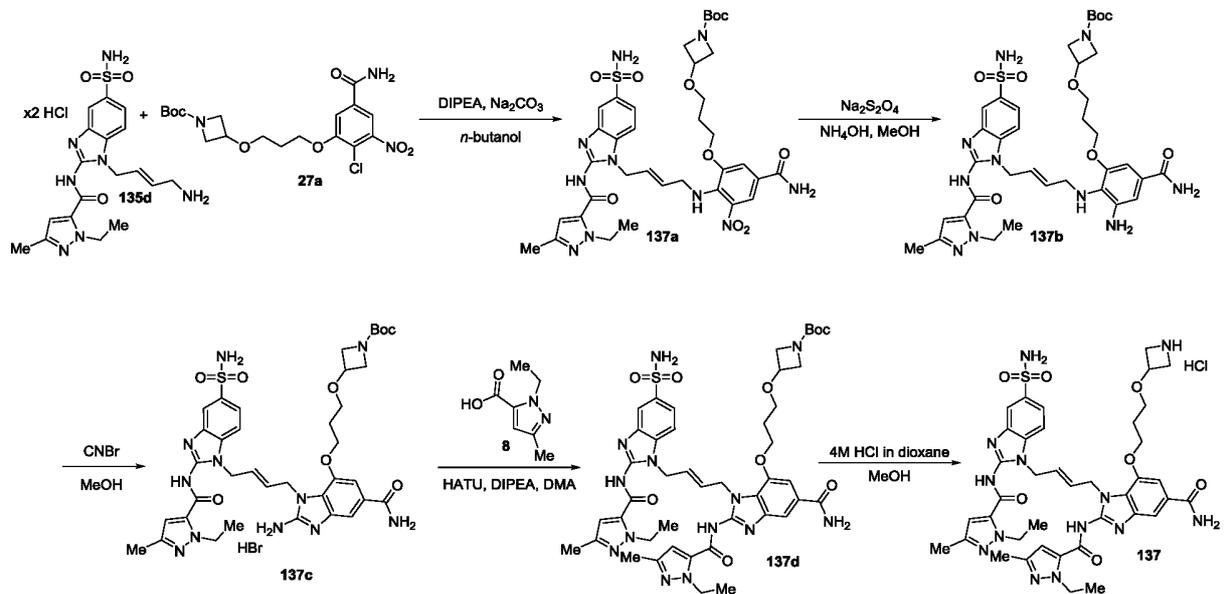
[0558] Соединение **136a** (3.15 мг, 0.0028 ммоль, выход 14%) получили таким же способом, как соединение **135h**, используя соединение **135g** (17 мг, 0.0197 ммоль, 1 эквив.) и 1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоновую кислоту в качестве исходных материалов. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 898.4 (теоретическое), 898.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.62 мин.

Синтез соединения 136

[0559] Соединение **136** (2.09 мг, 0.0023 ммоль, выход 82%) получили таким же способом, как соединение **135**, используя соединение **136a** (3.15 мг, 0.0028 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 798.3 (теоретическое), 798.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.24 мин.

Синтез (E)-7-(3-(азетидин-3-илокси)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-

сульфамил-1*H*-бензо[*d*]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1*H*-бензо[*d*]имидазол-5-карбоксамид (соединение 137)



Синтез соединения 137а

[0560] Соединение **137а** (72 мг, 0.0893 ммоль, выход 22%) получили таким же способом, как соединение **135е**, используя соединения **135d** (200 мг, 0.408 ммоль, 1 эквив.) и **27а** (263 мг, 0.612 ммоль, 1.5 эквив.) в качестве исходных материалов. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 811.3 (теоретическое), 811.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.72 мин.

Синтез соединения 137b

[0561] Соединение **137b** (30 мг, 0.0386 ммоль, выход 43%) получили таким же способом, как соединение **135а**, используя соединение **137а** (72 мг, 0.0893 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 781.3 (теоретическое), 781.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.46 мин.

Синтез соединения 137с

[0562] Соединение **137с** (34 мг, 0.0387 ммоль, количественный выход) получили таким же способом, как соединение **135b**, используя соединение **137b** (30 мг, 0.03896 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+):

масса/заряд $[M+H]^+$ = 806.3 (теоретическое), 806.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.53 мин.

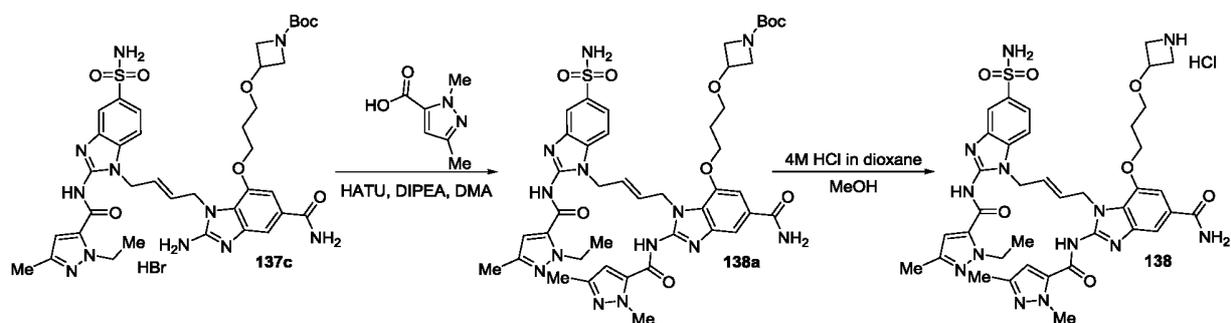
Синтез соединения 137d

[0563] Соединение **137d** (4.21 мг, 0.0036 ммоль, выход 19%) получили таким же способом, как соединение **135h**, используя соединение **137c** (17 мг, 0.0194 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 942.4 (теоретическое), 942.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.65 мин.

Синтез соединения 137

[0564] Соединение **137** (3.35 мг, 0.0035 ммоль, количественный выход), получили таким же способом, как соединение **135**, используя соединение **137d** (4.21 мг, 0.0036 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 842.3 (теоретическое), 842.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.29 мин.

Синтез (E)-7-(3-(азетидин-3-илокси)пропокси)-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-сульфамойл-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-5-карбоксамид (соединение 138)



Синтез соединения 138a

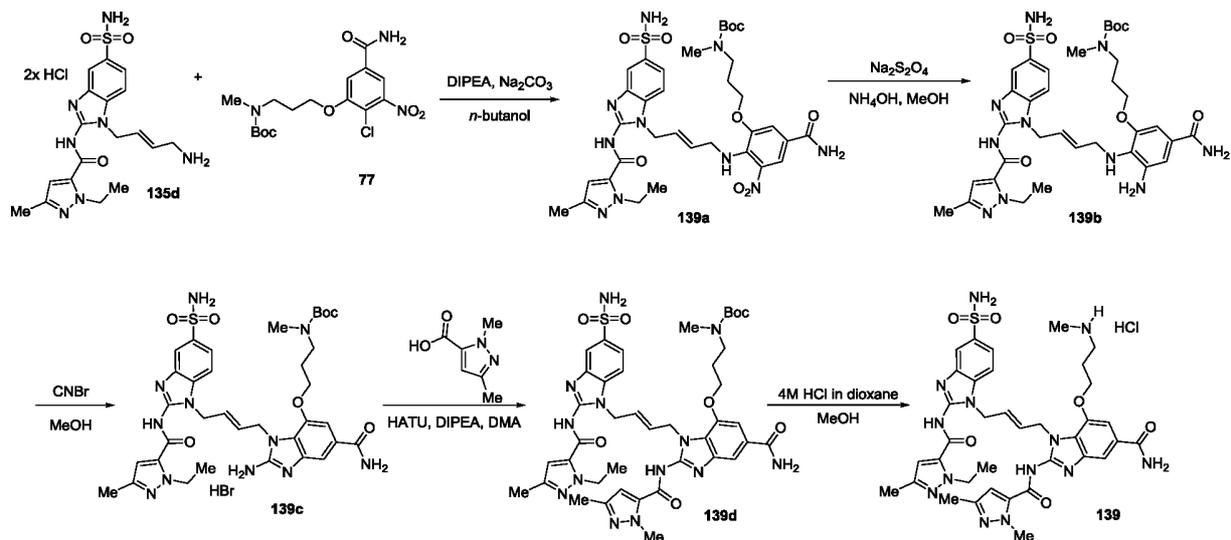
[0565] Соединение **138a** (3.00 мг, 0.0026 ммоль, выход 13%) получили таким же способом, как соединение **135h**, используя соединение **137c** (17 мг, 0.0197 ммоль, 1 эквив.) и 1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоновую кислоту в качестве исходных

материалов. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+ = 928.4$ (теоретическое), 928.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.62 мин.

Синтез соединения 138

[0566] Соединение **138** (2.35 мг, 0.0025 ммоль, количественный выход), получили таким же способом, как соединение **135**, используя соединение **138a** (3.00 мг, 0.0026 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+ = 828.3$ (теоретическое), 828.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.26 мин.

Синтез (E)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-сульфамойл-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-(метиламино)пропокси)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 139)



Синтез соединения 139a

[0567] Соединение **139a** (125 мг, 0.162 ммоль, выход 29%) получили таким же способом, как соединение **135e**, используя соединения **135d** (250 мг, 0.551 ммоль, 1 эквив.) и **77** (320 мг, 0.826 ммоль, 1.5 эквив.) в качестве исходных материалов. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+ = 769.3$ (теоретическое), 769.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.67 мин.

Синтез соединения 139b

[0568] Соединение **139b** (51 мг, 0.0686 ммоль, выход 42%) получили таким же способом, как соединение **135a**, используя соединение **139a** (125 мг, 0.162 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 739.3 (теоретическое), 739.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.45 мин.

Синтез соединения 139c

[0569] Соединение **139c** (57 мг, 0.0670 ммоль, количественный выход) получили таким же способом, как соединение **135b**, используя соединение **139b** (51 мг, 0.0686 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 764.3 (теоретическое), 764.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.31 мин.

Синтез соединения 139d

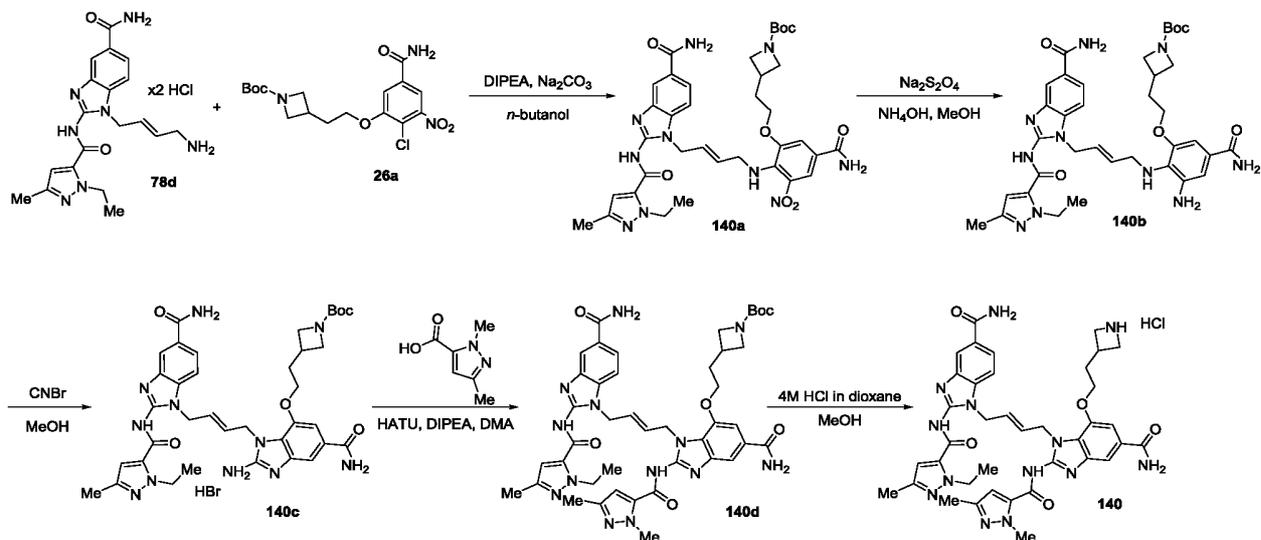
[0570] Соединение **139d** (34 мг, 0.0303 ммоль, выход 45%) получили таким же способом, как соединение **135h**, используя соединение **139c** (57 мг, 0.0670 ммоль, 1 эквив.) и 1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоновую кислоту в качестве исходных материалов. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 886.4 (теоретическое), 886.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.61 мин.

Синтез соединения 139

[0571] Соединение **139** (27 мг, 0.0291, количественный выход) получили таким же способом, как соединение **135**, используя соединение **139d** (34 мг, 0.0303 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 786.3 (теоретическое), 786.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.23 мин.

Синтез (E)-7-(2-(азетидин-3-ил)этокси)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-

ил)-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 140)



Синтез соединения 140a

[0572] Соединение **140a** (380 мг, 0.490 ммоль, выход 78%) получили таким же способом, как соединение **135e**, используя соединения **26a** (250 мг, 0.625 ммоль, 1 эквив.) и **78d** (420 мг, 0.938 ммоль, 1.5 эквив.) в качестве исходных материалов. Продукт осадили в холодную вода и использовали без дополнительной очистки. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 775.3 (теоретическое), 775.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.66 мин.

Синтез соединения 140b

[0573] Соединение **140b** (193 мг, 0.260 ммоль, выход 53%) получили таким же способом, как соединение **135a**, используя соединение **140a** (380 мг, 0.490 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 745.4 (теоретическое), 745.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.44 мин.

Синтез соединения 140c

[0574] Соединение **140c** (212 мг, 0.249 ммоль, количественный выход) получили таким же способом, как соединение **135b**, используя соединение **140b** (193 мг, 0.260 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+):

масса/заряд $[M+H]^+$ = 770.4 (теоретическое), 770.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.60 мин.

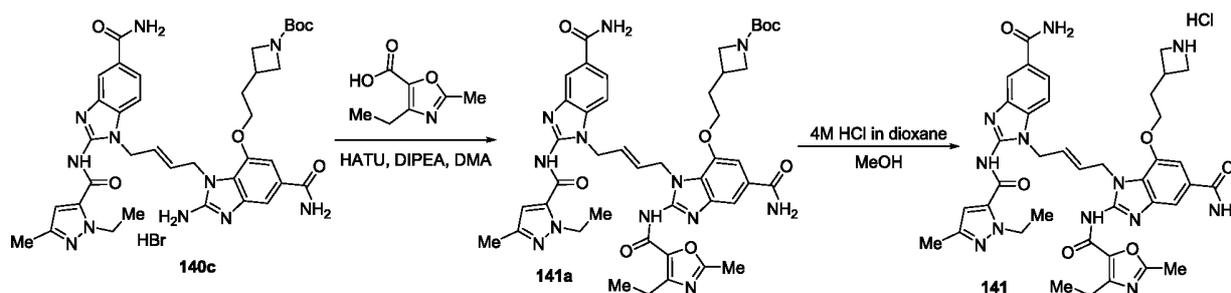
Синтез соединения 140d

[0575] Соединение **140d** (38 мг, 0.0339 ммоль, выход 27%) получили таким же способом, как соединение **135h**, используя соединение **140c** (106 мг, 0.124 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 892.4 (теоретическое), 892.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.59 мин.

Синтез соединения 140

[0576] Соединение **140** (30 мг, 0.0334 ммоль, количественный выход) получили таким же способом, как соединение **135**, используя соединение **140d** (38 мг, 0.0339 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 792.4 (теоретическое), 792.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.28 мин.

Синтез (E)-N-(7-(2-(азетидин-3-ил)этокси)-5-карбамоил-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-2-ил)-4-этил-2-метилоксазол-5-карбоксамид (соединение 141)



Синтез соединения 141a

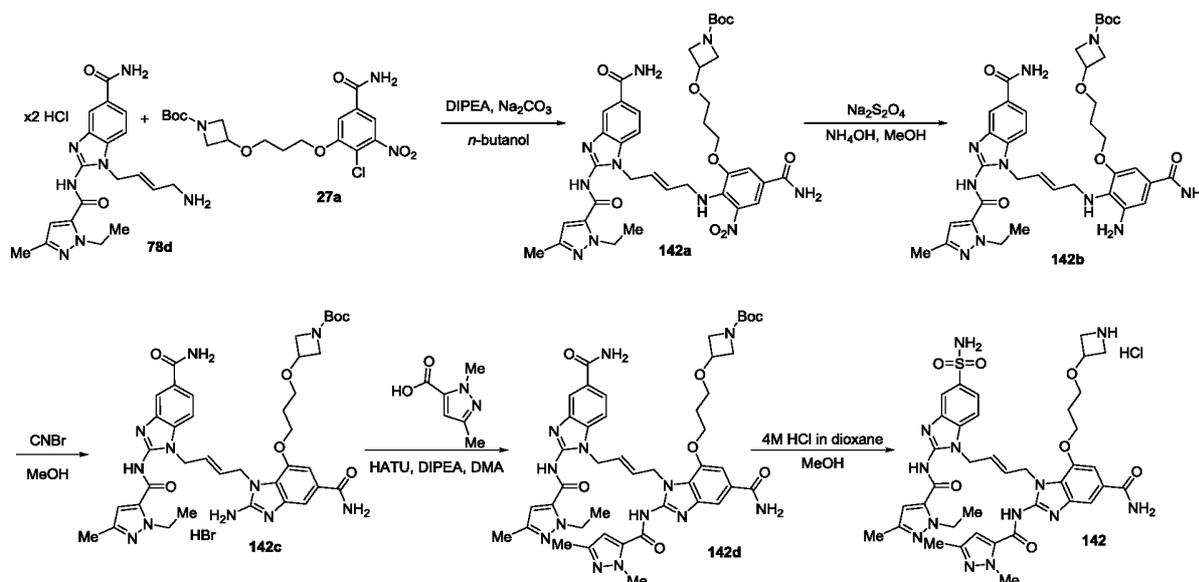
[0577] Соединение **141a** (27 мг, 0.0237 ммоль, выход 19%) получили таким же способом, как соединение **135h**, используя соединение **140c** (106 мг, 0.124 ммоль, 1 эквив.) и 4-этил-2-метил-оксазол-5-карбоновую кислоту в качестве исходных

материалов. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 907.4 (теоретическое), 907.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.57 мин.

Синтез соединения 141

[0578] Соединение **141** (21 мг, 0.0230 ммоль, количественный выход), получили таким же способом, как соединение **135**, используя соединение **141a** (27 мг, 0.0237 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 807.4 (теоретическое), 807.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.26 мин.

Синтез (E)-7-(3-(азетидин-3-илокси)пропокси)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамида (соединение 142)



Синтез соединения 142a

[0579] Соединение **142a** получили таким же способом, как соединение **135e**, используя соединения **27a** (250 мг, 0.582 ммоль, 1 эквив.) и **78d** (391 мг, 0.872 ммоль, 1.5 эквив.) в качестве исходных материалов. Продукт осадил холодной водой и использовали без дополнительной очистки. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 805.4 (теоретическое), 805.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.66 мин.

Синтез соединения 142b

[0580] Соединение **142b** (193 мг, 0.250 ммоль, выход 37% с 2 этапов) получили таким же способом, как соединение **135a**, используя соединение **142a** (548 мг, 0.681 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 775.4 (теоретическое), 775.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.50 мин.

Синтез соединения 142c

[0581] Соединение **142c** (164 мг, 0.186 ммоль, выход 75%) получили таким же способом, как соединение **135b**, используя соединение **142b** (193 мг, 0.260 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 800.4 (теоретическое), 800.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.33 мин.

Синтез соединения 142d

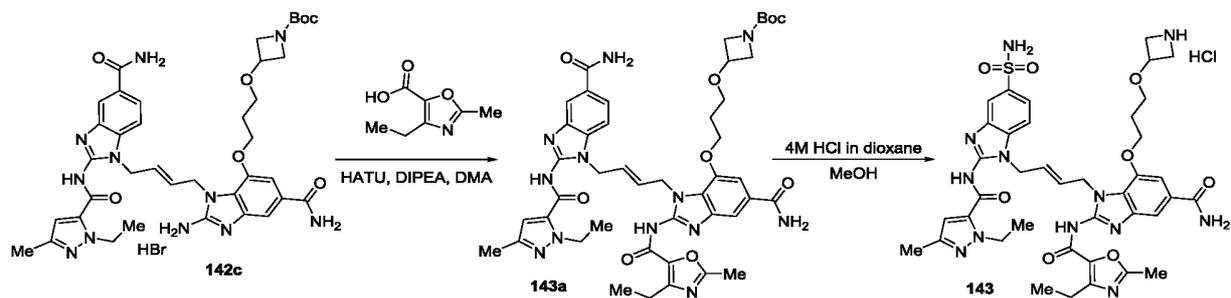
[0582] Соединение **142d** (40 мг, 0.0345 ммоль, выход 37%) получили таким же способом, как соединение **135h**, используя соединение **142c** (48 мг, 0.373 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 922.4 (теоретическое), 922.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.58 мин.

Синтез соединения 142

[0583] Соединение **142** (32 мг, 0.0323 ммоль, количественный выход) получили таким же способом, как соединение **135**, используя соединение **142d** (40 мг, 0.0345 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 822.4 (теоретическое), 822.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.29 мин.

Синтез (E)-N-(7-(3-(азетидин-3-илокси)пропокси)-5-карбамоил-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-

бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-2-ил)-4-этил-2-метилоксазол-5-карбоксамида (соединение 143)



Синтез соединения 143а

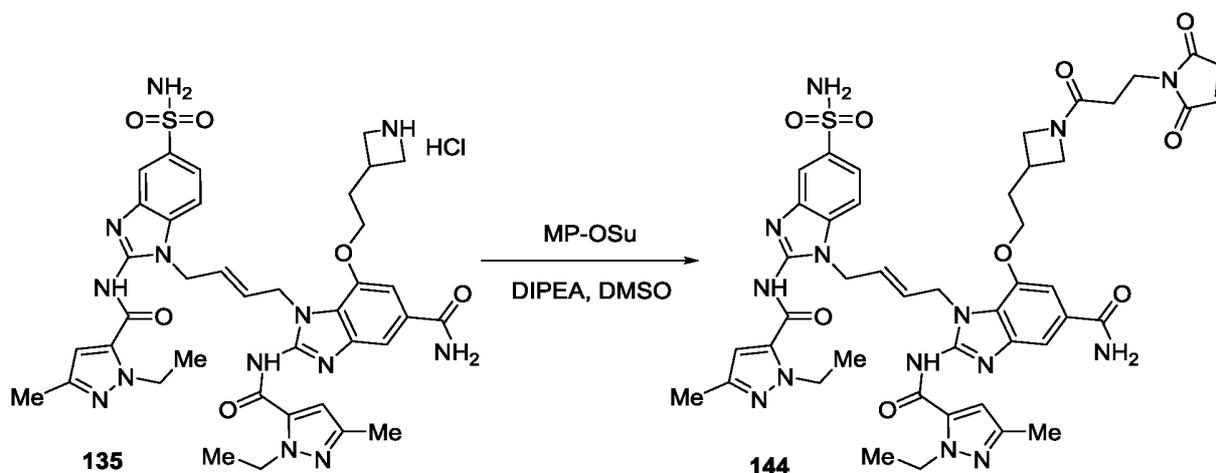
[0584] Соединение **143а** (31 мг, 0.0263 ммоль, выход 28%) получили таким же способом, как соединение **135h**, используя соединения **142c** (82 мг, 0.0931 ммоль, 1 эквив.) и 4-этил-2-метил-оксазол-5-карбоновую кислоту в качестве исходных материалов. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 937.4 (теоретическое), 937.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.56 мин.

Синтез соединения 143

[0585] Соединение **143** (25 мг, 0.0261 ммоль, количественный выход), получили таким же способом, как соединение **135**, используя соединение **141а** (31 мг, 0.0263 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 837.4 (теоретическое), 837.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.29 мин.

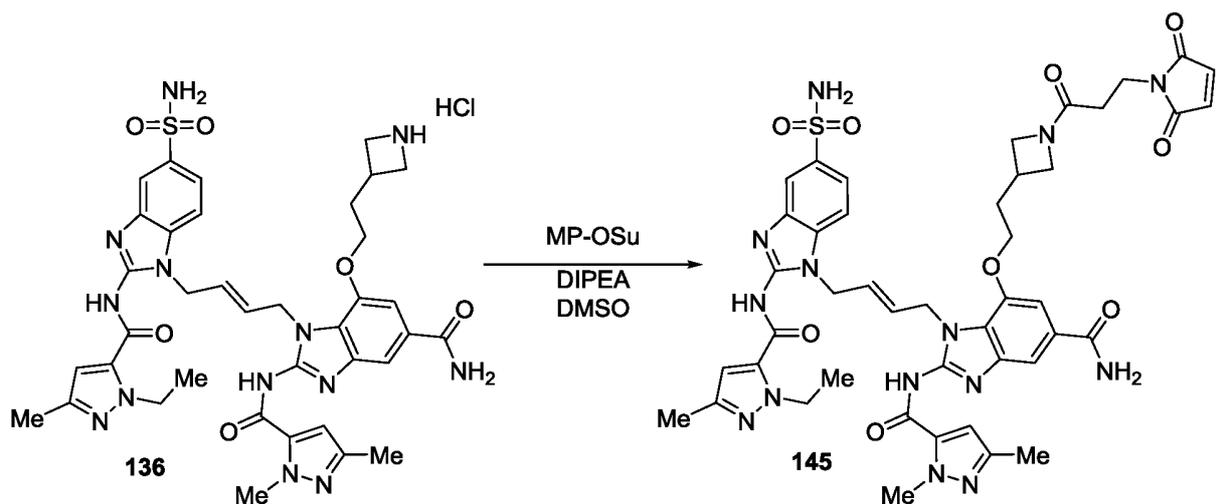
Синтез (E)-7-(2-(1-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)азетидин-3-ил)этокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-

сульфамоил-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 144)



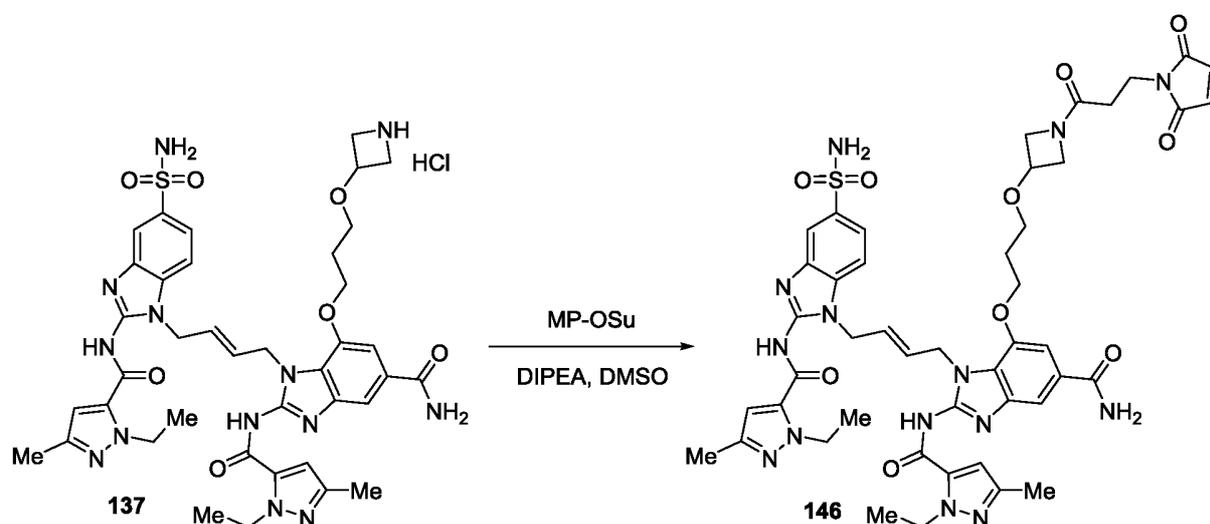
[0586] Соль x2 TFA соединения **144** (0.59 мг, 0.0005 ммоль, выход 24%) получили в соответствии с общим способом 9, используя соединение **135** (1.86 мг, 0.0020 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 963.4 (теоретическое), 963.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.44 мин.

Синтез (E)-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-(2-(1-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)азетидин-3-ил)этоксипропаноил)азетидин-3-ил)этоксипропаноил)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-сульфамоил-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 145)



[0587] Соль x2 TFA соединения **145** (0.31 мг, 0.0003 ммоль, выход 12%) получили в соответствии с общим способом 9, используя соединение **136** (2.09 мг, 0.0023 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 949.3 (теоретическое), 949.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.40 мин.

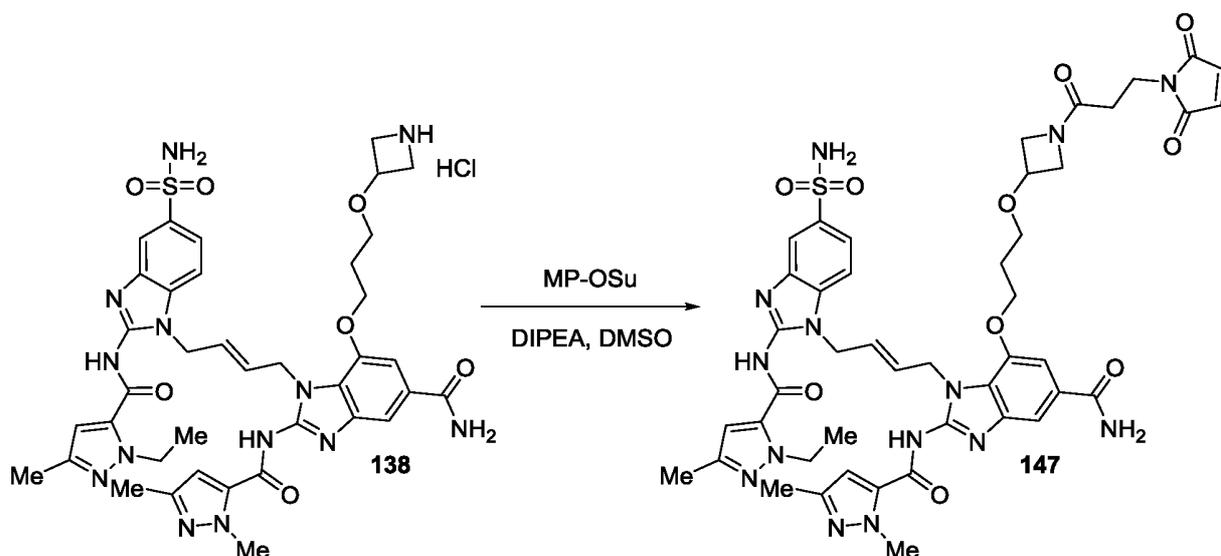
Синтез (E)-7-(3-((1-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)азетидин-3-ил)окси)пропокси)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-сульфамойл-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 146)



[0588] Соль x2 TFA соединения **146** (0.92 мг, 0.0008 ммоль, выход 21%) получили в соответствии с общим способом 9, используя соединение **137** (3.35 мг, 0.0035 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 993.4 (теоретическое), 993.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.43 мин.

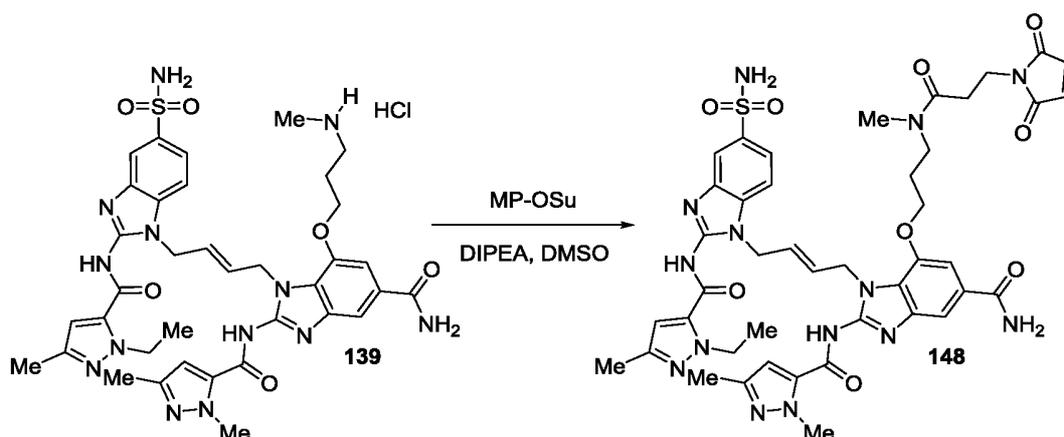
Синтез (E)-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-(3-((1-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)азетидин-3-ил)окси)пропокси)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-сульфамойл-1H-

бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 147)



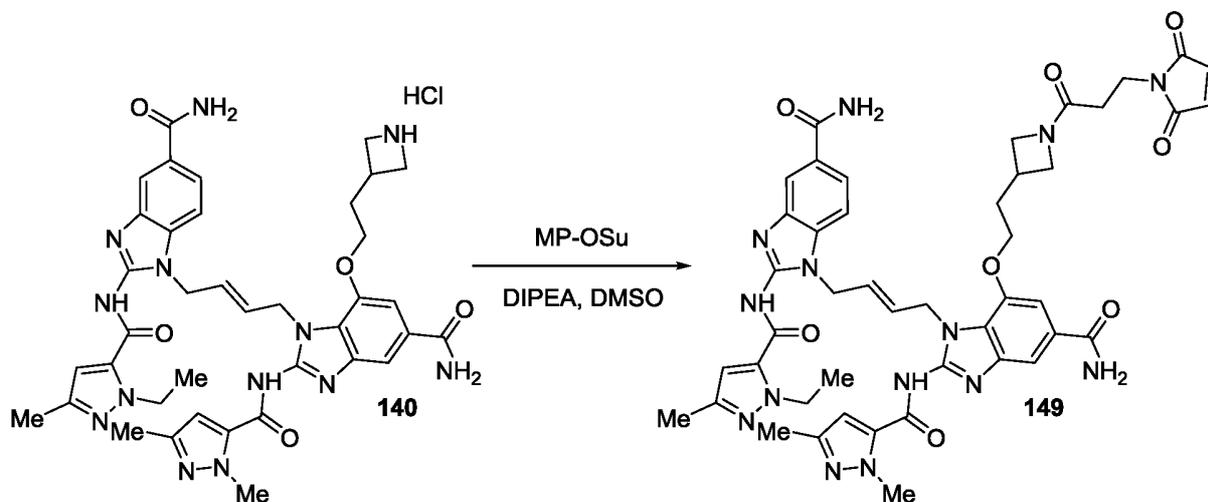
[0589] Соль x2 TFA соединения **147** (0.36 мг, 0.0003 ммоль, выход 12%) получили в соответствии с общим способом 9, используя соединение **136** (2.83 мг, 0.0024 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 979.4 (теоретическое), 979.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.41 мин.

Синтез (E)-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-метилпропанамидо)пропокси)-1-(4-(2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-5-сульфамойл-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 148)



[0590] Соль x2 TFA соединения **148** (15 мг, 0.0129 ммоль, выход 44%) получили в соответствии с общим способом 9, используя соединение **139** в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 937.3 (теоретическое), 937.4 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.42 мин.

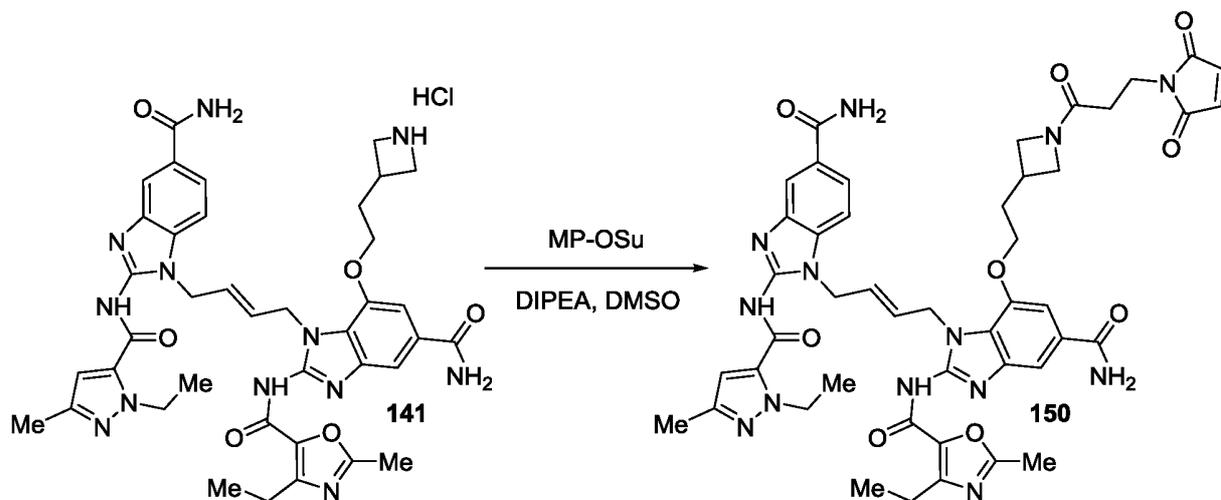
Синтез (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-(2-(1-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)азетидин-3-ил)этоксид)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 149)



[0591] Соль x2 TFA соединения **149** (16 мг, 0.0136 ммоль, выход 41%) получили в соответствии с общим способом 9, используя соединение **140** (30 мг, 0.0334 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 943.4 (теоретическое), 943.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.41 мин.

Синтез (E)-N-(5-карбамоил-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(2-(1-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)азетидин-3-ил)этоксид)-1H-

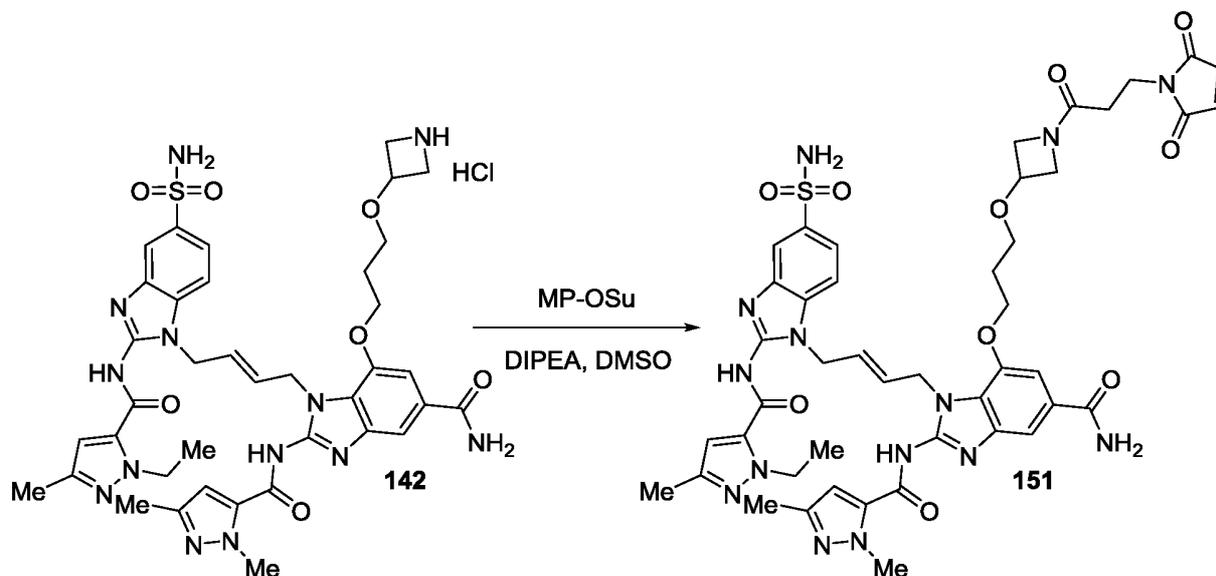
бензо[д]имидазол-2-ил)-4-этил-2-метилоксазол-5-карбоксиамида (соединение 150)



[0592] Соль x2 TFA соединения **150** (15 мг, 0.0123 ммоль, выход 53%) получили в соответствии с общим способом 9, используя соединение **141** (21 мг, 0.0230 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 943.4 (теоретическое), 943.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.41 мин.

Синтез (E)-1-(4-(5-карбамоил-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксиамидо)-7-(3-((1-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)азетидин-3-ил)окси)пропокси)-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1-этил-3-

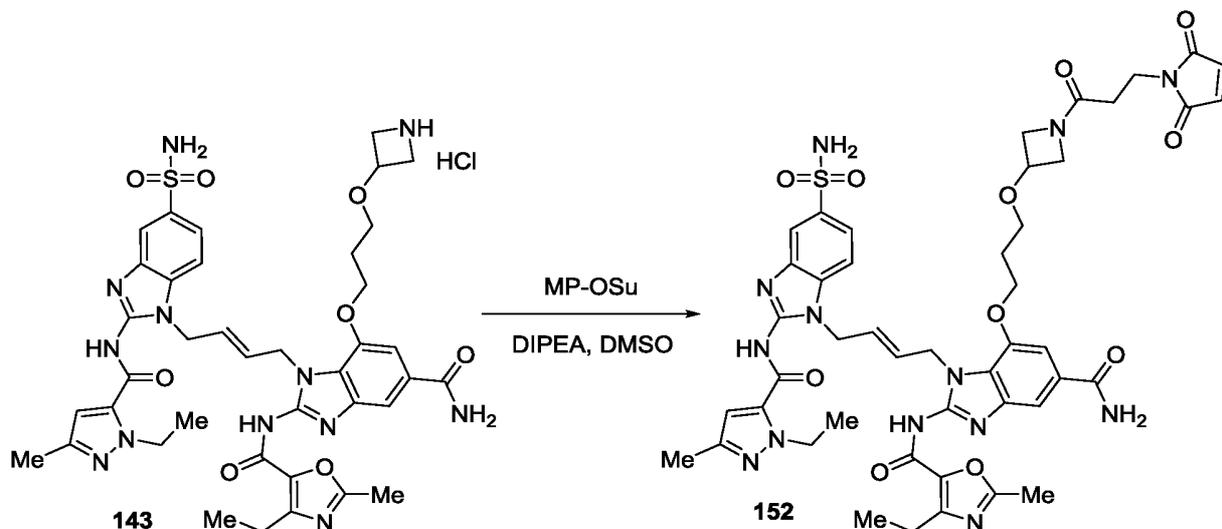
метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-5-карбоксамид (соединение 151)



[0593] Соль x2 TFA соединения **151** (22 мг, 0.0182 ммоль, выход 56%) получили в соответствии с общим способом 9, используя соединение **142** (30 мг, 0.0323 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 973.4 (теоретическое), 973.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.42 мин.

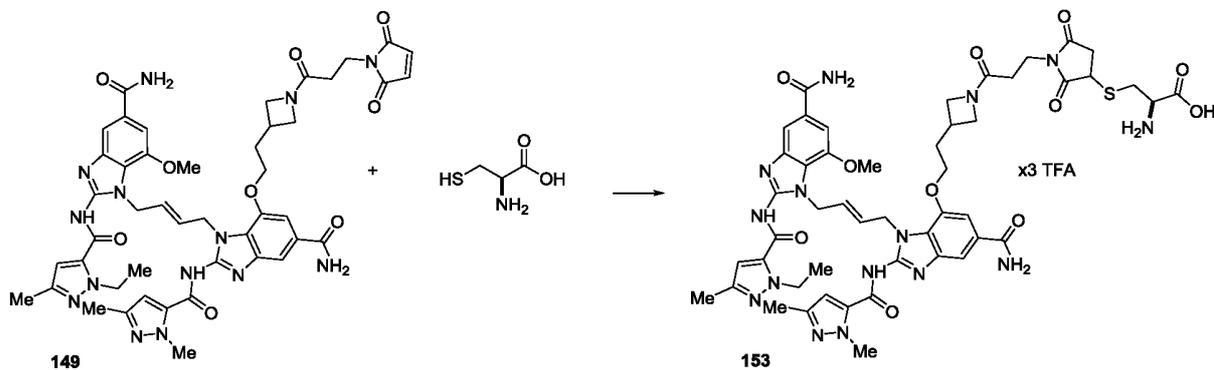
Синтез (E)-N-(5-карбамоил-1-(4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-7-(3-((1-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)азетидин-3-

ил)окси)прокси)-1H-бензо[д]имидазол-2-ил)-4-этил-2-метилоксазол-5-карбоксамида (соединение 152)



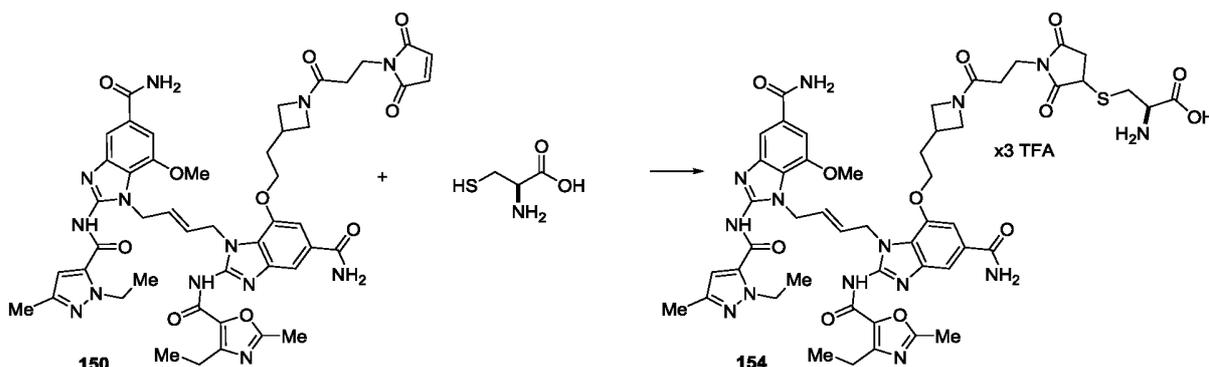
[0594] Соль x2 TFA соединения **152** (20 мг, 0.0168 ммоль, выход 43%) получили в соответствии с общим способом 9, используя соединение **143** (37 мг, 0.0388 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 988.4 (теоретическое), 988.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.40 мин.

Синтез S-(1-(3-(3-(2-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-7-ил)окси)этил)азетидин-1-ил)-3-оксипропил)-2,5-диоксопирролидин-3-ил)-L-цистеина (соединение 153)



[0595] В раствор соединения **149** (10 мМ в DMSO, 0.42 мл, 0.0042 ммоль, 1 эквив.) добавили L-цистеин (0.1 М H₂O, 63 мкл, 0.063 ммоль, 1.5 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 1 ч и контролировали реакцию при помощи СВЭЖХ-МС. После окончания реакцию смесь очистили непосредственно при помощи препаративной ВЭЖХ (способ G). Очищенные фракции собрали, заморозили и лиофилизировали, получив соединение **153** (2.17 мг, 0.0015 ммоль, выход 36%). ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 1079.4 (теоретическое), 1079.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.28 мин.

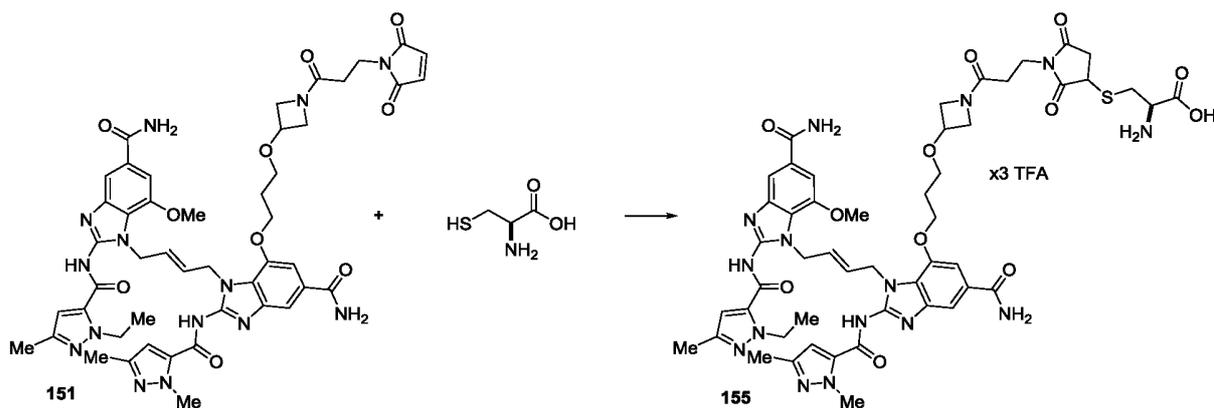
Синтез S-(1-(3-(3-(2-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(4-этил-2-метилоксазол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[d]имидазол-7-ил)окси)этил)азетидин-1-ил)-3-оксопропил)-2,5-диоксопирролидин-3-ил)-L-цистеина (соединение 154)



[0596] Соединение **150** (2.35 мг, 0.0017 ммоль, выход) получили таким же способом, как соединение **153**, используя соединение **145** (10 мМ в DMSO, 0.43 мл, 0.0043 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд [M+H]⁺ = 1064.4 (теоретическое), 1064.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.29 мин.

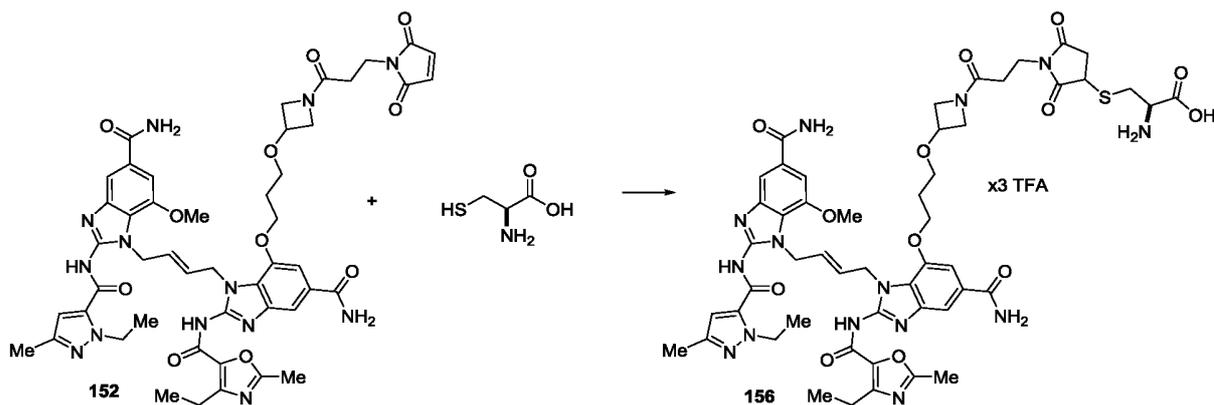
Синтез S-(1-(3-(3-(3-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[d]имидазол-7-

ил)окси)пропокси)азетидин-1-ил)-3-оксопропил)-2,5-диоксопирролидин-3-ил)-L-цистеина (соединение 155)



[0597] Соединение **155** (2.34 мг, 0.0016 ммоль, выход 39%) получили таким же способом, как соединение **153**, используя соединение **151** (10 мМ в DMSO, 0.41 мл, 0.0041 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+): масса/заряд $[M+H]^+$ = 1109.4 (теоретическое), 1109.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.30 мин.

Синтез S-(1-(3-(3-(3-((5-карбамоил-1-((E)-4-(5-карбамоил-2-(1-этил-3-метил-1H-пирозол-5-карбоксамидо)-7-метокси-1H-бензо[д]имидазол-1-ил)бут-2-ен-1-ил)-2-(4-этил-2-метилоксазол-5-карбоксамидо)-1H-бензо[д]имидазол-7-ил)окси)пропокси)азетидин-1-ил)-3-оксопропил)-2,5-диоксопирролидин-3-ил)-L-цистеина (соединение 156)



[0598] Соединение **156** (2.31 мг, 0.0016 ммоль, выход 39%) получили таким же способом, как соединение **153**, используя соединение **152** (10 мМ в DMSO, 0.42 мл, 0.0042 ммоль, 1 эквив.) в качестве исходного материала. ЖХ-МС (способ E, ESI+):

масса/заряд $[M+H]^+$ =1094.4 (теоретическое), 1094.5 (наблюдаемое). Время удерживания при ВЭЖХ: 1.32 мин.

Общие способы получения конъюгатов ADC:

[0599] Конъюгаты ADC получили, как было описано ранее (*Mesodc и н Энзимолоджи 2012*, 502, 123-138). Вкратце, DAR (соотношение лекарственного средства и антитела) 4 конъюгата получили путем частичного восстановления межцепочечных дисульфидных связей антител, используя субстехиометрическое количество трис(2-карбоксиэтил)фосфина (TCEP). TCEP добавляли в количестве примерно 2.2 молярных эквивалента относительно антитела (TCEP:антитело) в предварительно нагретый (37°C) базовый раствор антитела в фосфатно-солевом буфере (PBS, Gibco, PN 10010023) и 1 М EDTA. Реакционную смесь восстановления выдерживали при 37°C в течение примерно 60 мин. Конъюгацию частично восстановленного антитела с малеинимидным линкером лекарственного средства осуществляли путем добавления 6 молярных эквивалентов линкера лекарственного средства в виде базового раствора DMSO. Дополнительное количество DMSO добавляли по мере необходимости, чтобы обеспечить конечную концентрацию 10% (об./об.) DMSO для поддержания наличия линкера лекарственного средства в растворе во время реакции конъюгации. Реакцию конъюгации проводили в течение 30 мин при комнатной температуре или до тех пор, пока все имеющиеся цистеиновые тиолы антитела не были алкилированы линкером лекарственного средства согласно обращенно-фазовой ВЭЖХ (способ G). Удаление избыточного линкера лекарственного средства осуществляли путем выдержки реакционной смеси со 100% молярным избытком смолы QuadraSil® MP (Millipore Sigma, PN 679526) в течение 30 мин при комнатной температуре. Замену буфера на буфер для приготовления состава (PBS, Gibco, PN 10010023) производили путем гель-фильтрационной хроматографии, используя предварительно упакованную колонку PD-10 (GE Life Sciences, PN 17043501) согласно инструкциям изготовителя. Дополнительное удаление остаточного линкера лекарственного средства осуществляли путем многократной диафильтрации (5-10 раз) реакционной смеси, содержащей конъюгаты ADC в буфере для приготовления состава с использованием центробежного фильтра с отсечкой

молекулярной массы 30 килодальтонов (Millipore Sigma, PN Z717185) до тех пор, пока не прекращалось обнаружение оставшегося свободного линкера лекарственного средства согласно анализу ВЭЖХ (способ К).

Общие методики характеристики конъюгатов ADC:

[0600] Конъюгаты ADC характеризовали, используя следующие способы:

[0601] Способ I: эксклюзионную хроматографию (SEC) проводили с использованием системы Waters ACQUITY UPLC и колонки Acquity UPLC Protein BEH SEC (200 Å, 1,7 мкм, 4,6x150 мм, номер по каталогу: 186005225). В качестве подвижной фазы использовался 7,5% изопропанол в 92,5% водном растворе (25 мМ фосфат натрия, 350 мМ NaCl, pH 6,8), об./об. Элюирование проводили изократически со скоростью потока 0,4 мл/мин при температуре окружающей среды.

[0602] Способ J: обращенно-фазовую хроматографию (ОФ-ВЭЖХ) проводили при помощи системы ВЭЖХ Waters 2695 и колонки Agilent PLRP-S (1000 Å, 8 мкм, 50x2,1 мм, артикул: PL1912-1802). Перед анализом конъюгаты ADC обрабатывали 10 мМ дитиотреитолом (DTT) для восстановления дисульфидных связей. Элюирование образца осуществляли с использованием подвижной фазы А (0,05% (об./об.) TFA в воде) и подвижной фазы В (0,01% (об./об.) TFA в MeCN) с градиентом 25-44% В в течение 12,5 минут при 80°C. Отношение лекарственного средства к антителу (DAR) рассчитывали на основе интегрированной площади пика, измеренной при УФ 280 нм.

Расчеты молярных отношений

[0603] Среднюю загрузку лекарственного средства относительно легкой цепи (MR_{DLC}) антитела или тяжелой цепи (MR_{DHC}) антитела рассчитывали с использованием приведенных ниже уравнений:

$$MR_{DLC} = \frac{\sum (LC\%area_n \times MR_n)}{100}$$

где MR_{DLC} = среднее отношение лекарственного средства к легкой цепи

$LC\%area_n$ = % площади легкой цепи n -го загруженного вида

% площадей основан только на пиках легких цепей

MR_n = отношение лекарственного средства к антителу n -го загруженного вида

и

$$MR_{DHC} = \frac{\sum (HC\%area_n \times MR_n)}{100}$$

где MR_{DHC} = среднее отношение лекарственного средства к тяжелой цепи

$HC\%area_n$ = % площади тяжелой цепи n -го загруженного вида

% площадей основан только на пиках тяжелых цепей

MR_n = отношение лекарственного средства к антителу n -го загруженного вида

[0604] Среднюю загрузку лекарственного средства относительно антитела (MR_D) рассчитывали с использованием приведенного ниже уравнения:

$$MR_D = 2 \times (MR_{DLC} + MR_{DHC})$$

где MR_D = среднее отношение лекарственного средства к антителу

MR_{DLC} = среднее отношение лекарственного средства к легкой цепи

MR_{DHC} = среднее отношение лекарственного средства к тяжелой цепи

[0605] Способ К: содержание остаточного неконъюгированного соединения лекарственного средства с линкером измеряли при помощи системы Waters ACQUITY UPLC с использованием колонки ACQUITY UPLC BEH C18 (130 Å, 1,7 мкм, 2,1 мм X 50 мм, номер по каталогу: 186002350). Образцы конъюгатов ADC обрабатывали двукратным объемом ледяного MeOH, чтобы обеспечить осаждение и осаждали центрифугированием. Супернатант, содержащий остатки неконъюгированного лекарственного средства с линкером, вводили в систему. Элюирование образца осуществляли с использованием подвижной фазы А (0,05% (об./об.) TFA в воде) и подвижной фазы В (0,01% TFA (об./об.) в MeCN) с градиентом 1–95% В в течение 2 минут при 50°C. °С. Анализ осуществляли при 215 нм, а количественное определение остаточного соединения лекарственного средства с линкером проводили с использованием внешнего стандарта соответствующего линкера.

ПРИМЕР 2:
**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ *IN VITRO* АГОНИСТОВ STING
И СООТВЕТСТВУЮЩИХ КОНЪЮГАТОВ ADC**

Экспериментальные методики биологических анализов in vitro

Анализ клеточного репортера THP1-Dual™

[0606] Эффективность соединений и конъюгатов ADC оценивали при помощи клеток THP1-Dual™ (номер по каталогу InvivoGen: thpd-nfis [также называемых дуальными репортерными клетками THP1]), которые содержат репортер люциферазы IRF-Luc². Клетки культивировали в среде RPMI-1640 (Gibco) с 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сывороткой, Pen-Strep (100 ед/мл-100 мкг/мл, Gibco), N-2-гидроксиэтилпиперазин-N-2-этансульфоновой кислотой (HEPES) (10 мМ, Gibco), пируватом натрия (1 мМ, Gibco), минимальной поддерживающей средой (MEM) заменимых аминокислот (1x, Gibco), GlutaMAX(1x, Gibco) и бета-меркаптоэтанолом (55 мкМ, Gibco). Клетки высевали в 96-луночный планшет из прозрачного полистирола с плоским дном, обработанный тканевой культурой (Corning Costar #3596), ~ по 100 000 клеток на лунку в 200 мкл с указанной концентрацией соединения или конъюгата ADC. Супернатант собирали через 24 часа (в случае соединений) или через 48 часов (в случае конъюгатов ADC) после посева для репортерного анализа или в соответствии с приведенными указаниями. Для измерения репортерного сигнала Luc² 10 мкл супернатанта объединяли с 40 мкл реактива QUANTI-Luc™ для люминесцентного анализа (номер по каталогу Invivogen: Rep-qlc1) в 96-луночном прозрачном плоскодонном черном планшете из полистирола, обработанном тканевой культурой (Corning Costar, № 3603) и считывали показание на планшетном ридере Perkin Elmer Envision.

Анализ макрофагов, полученных из костного мозга

[0607] Эффективность соединений, представленных в данном описании, оценивали, используя макрофаги костного мозга мышей дикого типа (C57BL/6J, Лаборатория Джексона №000664) или мышей с дефицитом STING (C57BL/6J-*Sting*^{1^g/J}, Лаборатория Джексона №017537). Вкратце, клетки костного мозга мышей культивировали в течение 7-10 дней в среде RPMI-1640 (Gibco) с 10%

инактивированной нагреванием фетальной бычьей сывороткой, Pen-Strep (100 ед/мл-100 мкг/мл, Gibco), HEPES (10мМ, Gibco)), пируватом натрия (1 мМ, Gibco), GlutaMAX(1x, Gibco), бета-меркаптоэтанолом (55 мкМ, Gibco) и 20-40 нг/мл мышинового макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF) (Peprotech, №315-02). Клетки высевали в 96-луночный планшет из прозрачного полистирола с плоским дном, обработанный тканевой культурой (Corning Costar №3596), ~ по 100,000 клеток на лунку в 200 мкл с указанной концентрацией соединения. Супернатант собирали через 24 ч и измеряли содержание цитокинов при помощи набора Milliplex MAP с магнитным микроносителем для анализа мышинных цитокинов/хемокинов (заказной набор MСYТОМАG-70к из 11 плексов: MCP1, MIP1 α , MIP1 β , TNF α , IFN γ , IL-10, IL-12p70, IL-1 β , IL-6, IP10, RANTES) и анализировали с использованием инструментальной системы Luminex™ MAGPIX™.

Анализ байстендерной активности

[0608] Байстендерную активность конъюгатов ADC оценивали, используя раковые клетки почки и клетки THP1-Dual™ (InvivoGen), которые содержат репортер лициферазы IRF-Lucia. Клетки культивировали в среде RPMI-1640 (Gibco) с 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сывороткой, Pen-Strep (100 ед/мл-100мкг/мл, Gibco), HEPES (10мМ, Gibco), пируватом натрия (1мМ, Gibco), MEM заменимых аминокислот (1x, Gibco), GlutaMAX(1x, Gibco), и бета-меркаптоэтанолом (55мкМ, Gibco). Раковые клетки почки высевали в 96-луночный планшет из прозрачного полистирола с плоским дном, обработанный тканевой культурой (Corning Costar №3596), в количестве 50,000 клеток на лунку в 100 мкл. На следующий день после начала высевания в каждую лунку добавили по 50,000 клеток THP1-Dual™ с указанной концентрацией конъюгата ADC с общим объемом 200 мкл. Супернатант собрали через 48 ч после добавления клеток THP1-Dual™. Для измерения репортерного сигнала Lucia 10 мкл супернатанта объединили с 40 мкл реактива QUANTI-Luc™ для люминесцентного анализа (номер по каталогу Invivogen: rep-qlc1) в 96-луночном прозрачном плоскодонном черном планшете из полистирола, обработанном тканевой культурой (Corning Costar, № 3603), и считывали показание на планшетном ридере Perkin Elmer Envision. В некоторых экспериментах вместо раковых клеток почки высевали, как указано выше, клетки НЕК 293Т, сконструированные для

экспрессии мышиноного белка, обычно экспрессируемого иммунными клетками (целевой антиген С— антиген иммунных клеток).

Прямой анализ цитотоксичности раковых клеток

[0609] Раковые клетки подсчитывали и помещали в лунки объемом 40 мкл, заполненные питательной средой, в 384-луночных планшетах с белыми стенками, обработанные тканевой культурой (Corning). Планшеты с клетками инкубировали при 37°C и с 5% CO₂ в течение ночи, чтобы обеспечить равновесие клеток. Исходные растворы, содержащие конъюгаты ADC или свободные лекарственные средства, серийно разводили в RPMI-1640 + 20% фетальной бычьей сыворотки (FBS). Затем в каждый клеточный планшет добавляли по 10 мкл каждой концентрации в двукратной повторности. Далее клетки инкубировали при 37°C и с 5% CO₂ в течение 96 часов, после чего планшеты с клетками вынимали из инкубатора и охлаждали до комнатной температуры в течение 30 минут перед проведением анализа. Реактив CellTiter-Glo® для люминесцентного анализа (Promega Corporation, Мэдисон, Висконсин) приготовили в соответствии с протоколом Promega. 10 мкл реактива CellTiter-Glo® добавляли в аналитические планшеты при помощи жидкостного манипулятора Formulatrix Tempest (Formulatrix), а затем защищали планшеты от света в течение 30 мин при комнатной температуре. Люминесценцию образцов измеряли при помощи многорежимного планшет-ридера EnVision (Perkin Elmer, Уолтем, Массачусетс). Необработанные данные анализировали при помощи программы Graphpad Prism (Сан-Диего, Калифорния), используя нелинейную 4-параметрическую модель аппроксимации кривой [$Y = \text{Низ} + (\text{Верх} - \text{Низ}) / (1 + 10^{((\text{LogEC50} - X) * \text{Склон}))})$]. Результаты представлены в виде значений X₅₀, которые определены как концентрация конъюгата ADC или свободного лекарственного средства, которая требуется для уменьшения жизнеспособности клеток до 50%.

Анализ лимфомных клеток SU-DHL-1

[0610] Эффективность конъюгатов ADC оценивали при помощи лимфомных клеток SU-DHL-1. Клетки культивировали в среде RPMI-1640 (Gibco) с 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сывороткой, Pen-Strep (100 ед/мл-100мкг/мл, Gibco), HEPES (10мМ, Gibco)), пируватом натрия (1мМ, Gibco), MEM

заменяемых аминокислот (1x, Gibco), GlutaMAX(1x, Gibco) и бета-меркаптоэтанолом (55мкМ, Gibco). Клетки высевали в 96-луночный планшет из прозрачного полистирола с плоским дном, обработанный тканевой культурой (Corning Costar №3596), ~ по100,000 клеток на лунку в 200 мкл с указанной концентрацией конъюгата ADC. Через 48 ч собирали 50 мкл супернатанта и определяли продуцирование цитокинов при помощи панели с магнитным микроносителем MILLIPLEXMAP для определения цитокинов/хемокинов человека (заказной набор НЦИТОМАГ-60К из 8 плексов: IL-6, IL-8, MCP1, TNF α , GRO, IP-10, MIP1 α и MIP1 β). Жизнеспособность клеток оценивали путем добавления 100 мкл реактива CellTiter-Glo® для люминесцентного анализа (PromegCorporation, Мэдисон, Висконсин) к 150 мкл клеток, оставшимся в планшете и переноса смеси в 96-луночный планшет с черными стенками (Corning Costar №3603). Планшеты защищали от света в течение 30 мин при комнатной температуре и измеряли люминесценцию образцов при помощи многорежимного планшет-ридера EnVision Multimode (Perkin Elmer, Уолтем, Массачусетс).

Результаты биологических анализов *in vitro*

[0611] Соединения-агонисты STING оценивали по их способности активировать репортерные клетки THP1-Dual™, линию моноцитарных лейкоцитов человека, в которой передачу сигнала интерферона типа I (IRF) можно контролировать посредством секретируемого репортерного белка люциферазы (Lucia). Клетки THP1-Dual™ обрабатывали с увеличением концентраций агонистов в течение 24 часов, затем собирали супернатанты и производили количественное определение репортерного сигнала Lucia с использованием реактива QUANTI-Luc™ для люминесцентного анализа. Соединение **A** и соединение **1** были значительно более эффективными, чем динатрий (2',3')-Rp,Rpc-diAMPS (соединение **B**) и активировали репортер Lucia со значениями EC50 3 и 5 нМ, соответственно. Соединение **12a** было менее эффективным, чем соединение **1** и соединение **A** (Фиг. 1, значение EC50 - 21 нМ). Оба соединения **1** и **12a** индуцировали продуцирование цитокина, когда использовались для стимуляции макрофагов, полученных из костного мозга мышей дикого типа (WT), но не STING-дефицитных мышей, что указывает на STING-зависимую активность этих соединений (Фиг. 2).

[0612] Соединения-агонисты STING конъюгировали, как с целевыми, так и с несвязывающими антителами, и полученные конъюгаты ADC оценивали по их способности активировать репортерные клетки THP1-Dual™. Соединение **1** конъюгировали с использованием расщепляемого линкера (**11**) на основе глюкуронида. Соединение **12a** конъюгировали с использованием нерасщепляемого линкера, расщепляемого линкера на основе пептида и расщепляемого линкера на основе глюкуронида (соединения **12**, **14** и **13**, соответственно). Клетки THP1-Dual™ обрабатывали с увеличением концентраций конъюгатов ADC с несвязывающим или целевым mAb, конъюгированным с соединением в течение 48 ч, затем собирали супернатанты и производили количественное определение репортерного сигнала Luc² с использованием реактива QUANTI-Luc™ для люминесцентного анализа. Хотя соединение **12a** было менее эффективным, чем соединение **1** в виде свободного лекарственного средства (рис. 1), соединение **12a** было более эффективным при конъюгировании с целевым mAb посредством расщепляемого глюкуронидного линкера (**13**), чем аналогичный конъюгат соединения **1** (**11**). Кроме того, соединение **12a** было более эффективным при конъюгировании с целевым mAb посредством нерасщепляемого линкера (**12**), чем в случае расщепляемого линкера **13** или **14** (Фиг. 3). Это показывает, что конъюгация малых молекул агониста STING с антителом может повышать их эффективность.

[0613] Соединение **12** и цистеиновый аддукт (соединение **16**), который высвобождается при расщеплении конъюгата MAb в эндолизосоме, оценивали по их способности активировать репортерные клетки THP1-Dual™. Клетки THP1-Dual™ обрабатывали с увеличением концентраций соединений в течение 24 ч, затем собирали супернатанты и производили количественное определение репортерного сигнала Luc² с использованием реактива QUANTI-Luc™ для люминесцентного анализа. Как соединение **12**, так и соединение **16**, были активными со значениями EC₅₀ (37 нМ и 34 нМ, соответственно), аналогичными исходному свободному лекарственному средству **12a** (21 нМ, Фиг. 4 и Фиг. 1).

[0614] Соединение **15b** также оценили, как в качестве свободного лекарственного средства, так и конъюгированным с целевым антителом при помощи нерасщепляемого линкера (**15**). Клетки THP1-Dual™ обрабатывали с увеличением концентраций свободного лекарственного средства или конъюгатов ADC с

несвязывающим или целевым mAb, конъюгированным с соединением, в течение 48 ч, затем собирали супернатанты и производили количественное определение репортерного сигнала Lucia с использованием реактива QUANTI-Luc™ для люминесцентного анализа. Соединение **15b** было более эффективным, чем соединение **12a**, в то время как эффективность конъюгата ADC **15** была аналогичной эффективности конъюгата ADC **12** в случае связанного с ним целевого mAb (**Фиг. 5**).

[0615] Соединение **12a** конъюгировали с целевым и несвязывающим антителами, используя ряд нерасщепляемых линкеров (**12, 17, 19-24**), а полученные конъюгаты ADC оценивали по их способности активировать репортерные клетки THP1-Dual™. Все конъюгаты с целевым mAb были активными и имели значения EC50 ~ от 1.7 до 7.3 нг/мл (**Таблица 1**). Авторы оценили также способность прямого уничтожения этими линкерами раковых клеток при конъюгации с целевыми mAb, связывающими опухолевый антиген А или антиген В (CD30). Все конъюгаты были активными в субпопуляции линий раковых клеток (независимо от экспрессии целевого антигена), что указывает на независимое от мишени уничтожение некоторых раковых клеток, при этом соединения **1, 12a** и **16** также демонстрировали прямую цитотоксичную активность в отношении субпопуляции линий раковых клеток (**Таблица 2**, конъюгаты целевого mAb содержат mAb, нацеленное на опухолевый антиген А, конъюгированный с различными линкерными соединениями лекарственного средства, конъюгаты целевого mAb В содержат mAb сAC10, нацеленное на протеин CD30, конъюгированный с различными линкерами лекарственного средства).

Таблица 1: Активность целевых ADC-агонистов STING
в репортерных клетках THP1-Dual™

Соединение	EC ₅₀ (нг/мл)**
12	4.2
17	2.2
19	7.3
20	1.7
21	4.2
22	4.7
23	2.4
24	2.1

25	307
26	14.4
27	10.4
66	>10,000
67	>10,000
68	>10,000
69	>10,000
96	>10,000
97	*
98	>10,000
99	*
100	*
101	>10,000
102	>10,000
103	>10,000
104	>10,000
105	52.5
106	>10,000
107	>10,000
108	63.5
109	>10,000
110	>10,000
111	13.2
112	2
121	3.0
122	5.6
123	1.6
124	9.1
125	1.4
126	>10,000
128	>10,000
131	3.6
133	12.2
134	10.3
144	>10,000
145	>10,000
146	>10,000
147	>10,000
148	>10,000
149	>10,000
150	7.9
151	>10,000
152	6.5

*Конъюгаты ADC с агрегированием >10% не оценивались

**Для некоторых соединений значения EC50 представляют собой среднюю величину из множества экспериментов

Таблица 2: Данные о прямой цитотоксичности различных конъюгатов ADC и соединениях по отношению к линиям раковых клеток человека

Target A expression	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Target B expression	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	ADC X50 (ng/mL)											
	786-O	A2058	BxPC3	DEL	DELBVR	Karpas299	L540cy	Ls174T	MDAMB231	MOLM-13	SU-DHL-4	
Targeted mAb A 12 (8 load)	>1K	>1K	>1K	0.01	0.04	1	1	>1K	>1K	1	>1K	
Targeted mAb A 12 (4 load)	>1K	>1K	>1K	0.012	0.03	3	2	>1K	>1K	12	>1K	
Targeted mAb B 12 (8 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.004	1	1	>1K	>1K	2	>1K	
Targeted mAb B 12 (4 load)	>1K	>1K	>1K	0.01	0.1	2	1	>1K	>1K	7	>1K	
Targeted mAb A 17 (8 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.004	1	1	>1K	>1K	2	>1K	
Targeted mAb A 17 (4 load)	>1K	>1K	>1K	0.1	0.03	5	2	>1K	>1K	26	>1K	
Targeted mAb B 17 (8 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	<0.004	1	0.2	>1K	>1K	2	>1K	
Targeted mAb B 17 (4 load)	>1K	>1K	>1K	0.004	0.01	1	1	>1K	>1K	25	>1K	
Targeted mAb A 21 (8 load)	>1K	>1K	>1K	0.01	0.03	4	1	>1K	>1K	2	>1K	
Targeted mAb A 21 (4 load)	>1K	>1K	>1K	0.1	0.2	7	2	>1K	>1K	20	>1K	
Targeted mAb B 21 (8 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.01	1	0.4	>1K	>1K	2	>1K	
Targeted mAb A 22 (6 load)	>1K	>1K	>1K	0.02	0.1	2	1	>1K	>1K	2	>1K	
Targeted mAb A 22 (2 load)	>1K	>1K	>1K	0.03	0.2	29	4	>1K	>1K	29	>1K	
Targeted mAb B 22 (6 load)	>1K	>1K	>1K	0.01	0.1	1	1	>1K	>1K	3	>1K	
Targeted mAb A 19 (8 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.02	1	1	>1K	>1K	1	>1K	
Targeted mAb A 19 (4 load)	>1K	>1K	>1K	0.01	0.1	3	5	>1K	>1K	13	>1K	
Targeted mAb B 19 (8 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.01	0.3	0.3	>1K	>1K	0.4	>1K	
Targeted mAb B 19 (4 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.02	0.5	1	>1K	>1K	1	>1K	
Targeted mAb A 20 (8 load)	>1K	>1K	>1K	0.01	0.02	0.2	0.3	>1K	>1K	1	>1K	
Targeted mAb A 20 (4 load)	>1K	>1K	>1K	0.01	0.02	1	1	>1K	>1K	10	>1K	
Targeted mAb B 20 (8 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	<0.004	0.1	0.1	>1K	>1K	0.2	>1K	
Targeted mAb B 20 (4 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.02	0.1	0.5	>1K	>1K	1	>1K	
Targeted mAb A 24 (8 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.01	0.3	1	>1K	>1K	1	>1K	
Targeted mAb A 24 (4 load)	>1K	>1K	>1K	0.01	0.01	1	4	>1K	>1K	11	>1K	
Targeted mAb B 24 (8 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.01	0.03	0.5	>1K	>1K	1	>1K	
Targeted mAb B 24 (4 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.01	0.2	2	>1K	>1K	4	>1K	
Targeted mAb A 23 (8 load)	>1K	>1K	>1K	0.01	0.03	1	1	>1K	>1K	1	>1K	
Targeted mAb A 23 (4 load)	>1K	>1K	>1K	0.02	0.05	4	5	>1K	>1K	8	>1K	
Targeted mAb B 23 (8 load)	>1K	>1K	>1K	<0.004	0.01	0.1	0.2	>1K	>1K	0.3	>1K	
Targeted mAb B 23 (4 load)	>1K	>1K	>1K	0.002	0.02	0.3	0.3	>1K	>1K	2	>1K	
	Compound X50 (nM)											
Compound 1	>1K	>1K	>1K	2	16	>1K	31	>1K	>1K	42	>1K	
Compound 12a	>1K	>1K	>1K	3	111	>1K	83	>1K	>1K	87	>1K	
Compound 16	>1K	>1K	>1K	4	7	>1K	29	>1K	>1K	27	>1K	

Target A expression – целевая экспрессия соединения А

Targeted mAb A12 (8 load) – целевое mAb A12 (8 загрузок)

Compound – соединение

[0616] Множество дополнительных соединений синтезировали и оценили по их способности активировать репортерные клетки THP1-Dual™. Несколько соединений были активными и имели значения EC₅₀ от 1.3 нМ (соединение **27e**) до 6337 нМ (соединение **126a**, **Таблица 3**). Соединения с минимальной активностью до 10 мкМ указаны в **Таблице 3** как имеющие значение EC₅₀ >10,000 нМ. Несколько соединений были конъюгированы с целевыми (**Таблица 1**) и несвязывающими антителами (не показаны) посредством расщепляемых или нерасщепляемых линкеров лекарственных средств, при этом полученные конъюгаты ADC оценивали по их способности активировать репортерные клетки THP1-Dual™. Конъюгаты **25-27, 105, 108, 111-112** и **121-125** с линкерами лекарственных средств были активными и имели значения EC₅₀ от 1.4 до 307 нг/мл (**Таблица 1**). Все остальные конъюгаты, протестированные в этом анализе, включая конъюгаты с линкерами лекарственных средств, полученными из активных малых молекул, не были активными до концентрации 10 мкг/мл (**Таблица 3, Таблица 1**), что показывает проблематичность разработки активных конъюгатов ADC, таргетированных на сигнальный путь STING.

Таблица 3: Активность малых молекул агонистов STING
в репортерных клетках THP1-Dual™

Соединение	EC ₅₀ (нМ)**	Соединение	EC ₅₀ (нМ)**	Соединение	EC ₅₀ (нМ)**
A	3	49	>10,000	93	>10,000
1	5	50	>10,000	94	132.8
12	37	51	>10,000	95	12.9
12a	21	52	>10,000	114	9.4
15b	5.8	53	>10,000	115	17.4
16	52 / 34	54	>10,000	116	11.6
17	66.28	55	>10,000	117	14.6
19	190.2	56	>10,000	118	23.6
20	53.91	57	>10,000	119	49.9

21	2632	58	>10,000	120	5.2
23	62.55	59	>10,000	126a	6337
24	83.29	60	>10,000	126b	>10,000
25f	12	62	>10,000	127	301
25g	1576	63	2508	128a	>10,000
26e	5	64/65	388.3	129	836
26f	69	66b	1159	130	2260
27e	1.3	68a	2238	132	37.4
27f	38	70	1.6	135	2011
28	954	71	70.11	136	>5,000
29	52	72	275.3	137	1685
30	87	73	216.25	138	>5,000
31	175.6	74	35.98	139	>4,000
32	44.5	75	57.73	140	1793
33	>10,000	76	58.8	141	159
		79	>10,000	142	1123
35	>10,000	80	>10,000	143	155
37	>10,000	81	>10,000	154	>10,000
38	>10,000	82	>10,000	155	94
39	>10,000	83	>10,000	156	1561
40	>10,000	84	>10,000	157	51
41	>10,000	85	>10,000		
42	>10,000	86	2465		
43	>10,000	87	>10,000		
44	>10,000	88	394		
45	>10,000	89	1324		
46	>10,000	90	>10,000		
47	>10,000	91	350		
48	>10,000	92	1190		

** Для некоторых соединений значения EC50 представляют собой среднюю величину из множества экспериментов

[0617] Соединение **1** конъюгировали с несвязывающим антителом, а также с моноклональными антителами, нацеленными на антиген C и PD-L1, с использованием расщепляемого линкера **11** и полученные ADC оценивали по их способности индуцировать продуцирование цитокинов и прямую цитотоксичность относительно клеток SU-DHL-1.. Конъюгаты, нацеленные на антиген C и PD-L1, но

не на несвязывающий конъюгат, индуцировали устойчивую продукцию цитокина MIP-1 α и приводили к гибели клеток SU-DHL-1 (Фиг. 6А и Фиг. 6В).

[0618] Способность конъюгатов активировать двойные репортерные иммунные клетки ТНР1 оценивали по байстендерной активности. Конъюгаты, которые содержали антитело, нацеленное на антиген С с каркасом LALAPG hIgG1 Fc и конъюгированное с соединением **12**, **13** и **14**, демонстрировали некоторый байстендерный эффект, если двойные клетки ТНР1 были культивированы совместно с клетками НЕК 293Т, сконструированными для экспрессии антигена С (Фиг. 7). Конъюгаты, которые содержали антитело h1C1, нацеленное на EphA2 с каркасом mIgG2a дикого типа или LALAPG Fc (см., например, работы Шлотхауэр и др., Белковая инженерия, дизайн и отбор, 2016, 29(10):457-466 и Хэзаре и др., Джорнел оф Виролоджи, 2001, 75(24):12161-12168, каждая из которых в полном объеме включена в качестве ссылки в данное описание), конъюгированное с соединением **12**, также демонстрировали байстендерный эффект, если двойные клетки ТНР1 культивировали совместно с мышинными раковыми клетками почки. Заметно увеличенную байстендерную активность наблюдали с конъюгатами, которые имели интактный каркас дикого типа Fc (Фиг. 8).

ПРИМЕР 3

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУННОГО ОТВЕТА *IN VIVO*, ИНДУЦИРОВАННОГО КОНЪЮГАТАМИ ADC-АГОНИСТАМИ STING

Экспериментальные методики для исследований *in vivo*

Анализ высвобождения цитокинов *in vivo*

[0619] Содержание цитокинов в мышинной плазме, собранной через 3, 6, 24 или 48 часов после обработки соединениями или конъюгатами ADC, измеряли с использованием набора для анализа мышинных цитокинов/хемокинов Milliplex MAP (заказной набор из 11 плексов MСУТОМАG-70k: MCP1, MIP1 α , MIP1 β , TNF α , IFN γ , IL-10, IL-12p70, IL-6, IL-1 β , IP10, RANTES) и анализировали с использованием инструментальной системы Luminex™ MAGPIX™. Значения, выходящие за

пределы диапазона стандартной кривой ($< 3,2$ или $> 10\ 000$ пг/мл), исключались из расчета средних значений.

Исследования противоопухолевой активности in vivo

Раковые клетки почки

[0620] Раковые клетки почки (Американская коллекция типовых культур, ATCC) культивировали в среде RPMI-1640 (ATCC) с 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сывороткой, Pen-Strep (100 ед/мл - 100 мкг/мл), MEM заменимых аминокислот (1x), пируватом натрия (1 мМ) и L-глутамином (2 мМ). Раковые клетки почки имплантировали ($2 \cdot 10^6$ клеток в 200 мкл 25% матригеля) подкожно самкам мышей линии Balb/c. В некоторых экспериментах раковые клетки почки были сконструированы для экспрессии указанного целевого антигена мыши или человека.

[0621] Когда объем опухоли достигал $100\ \text{мм}^3$, мышам вводили соединения или конъюгаты ADC в виде внутрибрюшинной или внутривенной инъекции с указанным режимом дозирования, при этом объем опухоли контролировали два раза в неделю. Соединения были приготовлены в 40% PEG400 в солевом растворе.

Раковые клетки CT26

[0622] Раковые клетки CT26 (ATCC) культивировали в среде RPMI 1640, модифицированной 1 мМ пирувата натрия, 10 мМ HEPES, 2.8 мл 45% глюкозы (1.25 г) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки и 1% Pen/Strep/глутамин. Раковые клетки CT26 имплантировали ($0.5 \cdot 10^6$ клеток в 200 мкл бессывороточной среды RPMI 1640) подкожно мышам линии Balb/c.

Раковые клетки MC38

[0623] Раковые клетки MC38 (Kerafast) культивировали в минимальной эссенциальной среде Игла, модифицированной по способу Дульбекко (DMEM) с 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сывороткой, Pen-Strep (100 ед/мл-100мкг/мл), MEM заменимых аминокислот (1x), пируватом натрия (1мМ) и L-

глутамином (2 мМ). Раковые клетки MC38 имплантировали ($1 \cdot 10^6$ клеток в 100 мкл 25% матригеля) подкожно мышам линии C57BL/6.

[0624] В некоторых экспериментах опухоленесущим мышам с полной регрессией опухоли после лечения конъюгатом ADC повторно вводили опухолевые клетки MC38. Раковые клетки MC38 имплантировали ($1 \cdot 10^6$ клеток в 100 мкл 25% матригеля) подкожно в противоположный бок мышам линии C57BL/6..

Раковые клетки 4T1

[0625] Раковые клетки 4T1 (ATCC) культивировали в среде RPMI с 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сывороткой и имплантировали ($0.02 \cdot 10^6$ клеток в 200 мкл чистой среды RPMI) подкожно мышам линии Balb/c.

Результаты исследований in vivo

Раковые клетки почки

[0626] Изогенную систему использовали для оценки способности конъюгатов ADC-агонистов STING индуцировать иммунные ответы *in vivo* и стимулировать противоопухолевый иммунный ответ. Система рака почки представляет собой подкожную модель аденокарциномы почки мыши. Самкам мышей линии Balb/c имплантировали $2 \cdot 10^6$ клеток рака почки подкожно в бок в день 0. Когда средний размер опухоли достиг 100 мм^3 (измеренный по формуле: объем (мм^3) = $0,5 \cdot \text{длина} \cdot \text{ширина}^2$, где длина — больший размер), мыши были рандомно разделены на группы лечения по ≥ 5 мышей на группу. Затем животным вводили внутривенно (конъюгаты ADC или соединения) или внутривенно (соединения) в соответствии с указанным курсом лечения каждые 7 дней в сумме 3 доз (или, как указано). Длину и ширину опухоли, а также вес животных измеряли на протяжении всего исследования, а объем опухоли рассчитывали по приведенной выше формуле. За животными наблюдали до тех пор, пока объем опухоли не достигал $\sim 1000 \text{ мм}^3$, после чего животных усыпляли.

[0627] Противоопухолевую активность соединения **1** оценивали в сравнении с расщепляемым линкером **11**, конъюгированным с несвязывающим или нацеленным на EphA2 моноклональным антителом (каркас LALAPG mIgG2a; (см.,

например, работы Шлотхауэр и др., Белковая инженерия, дизайн и отбор, 2016, 29(10):457-466 и Хэзаре и др., Джорнел оф Виролоджи, 2001, 75(24):12161-12168, каждая из которых в полном объеме включена в качестве ссылки в данное описание), при этом следует отметить, что все конъюгаты моноклонального антитела, нацеленного на EphA2, раскрытые в данном описании, содержали моноклональное антитело h1C1 mIgG2a, конъюгированное с различными линкерными соединениями лекарственного средства. Если животным вводили соединение **1** или несвязывающий конъюгат **11** моноклонального антитела, то наблюдали некоторую задержку роста опухоли, однако, такая задержка роста опухоли значительно увеличивалась в случае конъюгата **11** моноклонального антитела, нацеленного на EphA2 **11**, особенно, если доза превышала 12 мг/кг (**Фиг. 9А**), что ясно демонстрирует противоопухолевую эффективность доставки агонистов STING при помощи целевого конъюгата ADC.

[0628] В следующем исследовании оценивали *in vivo* противоопухолевую активность нерасщепляемого линкерного соединения **12**, конъюгированного с несвязывающим или нацеленным на EphA2 моноклональным антителом (mIgG2a, каркас LALAPG). Конъюгат **12** моноклонального антитела, нацеленного на EphA2, проявлял высокую противоопухолевую активность и неожиданно оказался более активным, чем конъюгат ADC **11**, содержащий то же самое моноклональное антитело, нацеленное на EphA2 (**Фиг. 10А**). В следующем исследовании оценивали *in vivo* противоопухолевую активность нерасщепляемого линкера **15**, конъюгированного с несвязывающим или нацеленным на EphA2 моноклональным антителом (mIgG2a, каркас дикого типа). Конъюгаты **15** моноклонального антитела, нацеленного на EphA2, проявляли высокую противоопухолевую активность аналогично соответствующему конъюгату ADC **12** (**Фиг. 11А**). В этом исследовании оценили также активность конъюгата **12**, конъюгированного с антителом mIgG2a, нацеленным на EphA2, с каркасами дикого типа и LALAPG, при этом оба конъюгата имели аналогичную активность. Это явилось неожиданным, поскольку байстендерный анализ *in vitro* показывает, что интактный каркас Fc дикого типа значительно повышает байстендерную активацию иммунных клеток по сравнению с каркасом Fc LALAPG (**Фиг. 8**).

[0629] Соединение **1** и все конъюгаты антител **11** и **12** на основе LALAPG mIgG2a имели хорошую переносимость – средняя потеря веса составляла <~5% после 1-й и 2-й дозы лечения. Соединение А-агонист STING переносилось хуже: у мышей наблюдалась потеря веса в среднем на 6,2% после второй дозы (**Фиг. 9В, 10В и 11В**). Кроме того, конъюгаты **12** и **15** моноклонального антитела, нацеленного на EphA2, с mIgG2a и каркасом дикого типа при уровне дозы 3 мг/кг показывали меньшую переносимость, чем конъюгат **12** с каркасом LALAPG – у мышей, которым вводили таргетные конъюгаты ADC с каркасом дикого типа, наблюдалась потеря веса ~8% (**Фиг. 11В**).

[0630] В следующем исследовании оценивали *in vivo* противоопухолевую активность нерасщепляемого линкерного соединения **12**, конъюгированного с моноклональным антителом (mIgG2a, каркас LALAPG), нацеленным на EphA2, а также неконъюгированного соединения **12a**. Конъюгаты **12** моноклонального антитела, нацеленного на EphA2, проявляли высокую противоопухолевую активность при дозах 1 мг/кг и 3 мг/кг, в то время как соединение **12a** имело ограниченную противоопухолевую эффективность (**Фиг. 12**). В целом это позволяет предположить, что соединения-агонисты STING (например, соединения **1** и **12a**), которые являются неактивными *in vivo* на моделях опухолей, могут быть преобразованы в активные терапевтические средства путем конъюгации с антителом (например, таргетные конъюгаты mAb **11** и **12**).

[0631] Системное продуцирование цитокинов в ответ на свободные лекарственные средства и конъюгаты измеряли как показатель системной активности. Соединение **1** и все конъюгаты антител **11**, **12** и **15** вызывали очень малое продуцирование воспалительных цитокинов (IL-6 и TNF). С другой стороны, соединение **A** и соединение **12a** вызывали высокое продуцирование IL-6 и TNF (**таблица 4, таблица 5 и таблица 6**). Более того, конъюгаты **11** и **12**, нацеленные на EphA2, с каркасом Fc дикого типа в большей степени индуцировали системную экспрессию MIP1 α , MIP1 β и MCP-1, чем конъюгат **12** с каркасом Fc LALAPG. Это указывает на то, что в модели рака почки со специфическими антителами, нацеленными на EphA2, как показано на **Фиг. 10-12**, при дозе 3 мг/кг 3 цикла по 7 дней каркас Fc LALAPG может снижать целевую токсичность (системные

цитокины/потеря веса), не оказывая влияния на противоопухолевую эффективность. Это также указывает на то, что конъюгация соединения-агониста STING (например, соединения **12a** по сравнению с таргетным конъюгатом mAb **12**) может повышать, как эффективность, так и безопасность (снижать продуцирование системных цитокинов).

Таблица 4: Выработка цитокинов в периферической крови (в плазме) у мышей с опухолью почки при лечении различными конъюгатами ADC, содержащими несвязывающее или нацеленное на EphA2 моноклональное антитело mIgG2a с каркасом LALAPG, конъюгированное с соединением **11** или **12**, или с соединением **1** или с соединением **A**

	Time (h)	control	3mg/kg non-binding mAb 11	3mg/kg non-binding mAb 12	3mg/kg targeted mAb 11	3mg/kg targeted mAb 12	control	2.4mg/kg non-binding mAb 11	2.4mg/g targeted mAb 11	12mg/kg targeted mAb 11	1.48mg/kg Compound 1	1.86mg/kg Compound A
IFN γ	3	<3.2	1.1	0.4	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	0.3
	6	<3.2	15.6	7.1	8.5	22.6	<3.2	<3.2	1.3	4.3	0.2	71.8
	24	<3.2	<3.2	1.4	<3.2	3.0	<3.2	<3.2	<3.2	0.9	<3.2	<3.2
IL1 β	3	3.2	5.3	4.3	4.3	5.3	0.4	0.3	0.5	0.3	0.7	1.5
	6	3.2	4.3	4.3	5.3	6.4	0.3	1.7	0.3	1.8	1.5	0.6
	24	3.2	4.3	4.8	4.3	5.8	0.3	0.3	0.3	0.3	0.8	0.3
IL-6	3	9.2	120.1	23.8	150.5	109.5	154.7	14.3	5.5	37.7	95.7	3553.0
	6	26.9	472.1	176.6	305.6	404.4	0.7	162.2	81.9	303.4	6.8	731.9
	24	33.2	12.0	58.6	28.0	75.3	7.7	19.6	4.8	27.0	13.5	16.4
IL-10	3	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	1.5	48.8	0.5
	6	<3.2	3.9	4.3	4.8	6.4	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	0.8	<3.2
	24	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	0.8	34.6	<3.2
IL12p70	3	<3.2	5.9	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	17.6	174.5	0.2
	6	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	3.1	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	0.2
	24	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	<3.2	23.4	140.0	<3.2
IP10	3	235.3	973.2	402.4	1069.7	1094.1	59.8	176.7	80.5	295.4	702.8	4785.0
	6	179.7	2976.0	2783.5	2963.1	3037.2	37.0	3977.4	4205.6	7374.2	3391.5	4976.1
	24	192.3	1129.0	2329.0	1019.3	2564.0	71.5	559.7	358.1	1524.0	551.1	889.6
MCP-1	3	50.2	138.6	97.6	152.5	166.5	67.8	21.6	10.0	65.2	167.8	14494.4
	6	35.8	1168.1	615.0	1727.0	7542.0	19.7	3822.7	1811.8	10211.9	795.6	10776.8
	24	50.2	157.0	2374.8	284.9	7777.1	26.9	238.0	161.9	1486.0	332.6	539.5
MIP1 α	3	<3.2	26.1	<3.2	26.1	<3.2	24.1	3.0	13.9	10.0	55.6	1300.3
	6	<3.2	36.4	44.5	38.4	67.1	10.0	49.1	24.0	108.5	38.9	208.8
	24	<3.2	<3.2	62.9	62.9	36.4	33.9	10.0	49.4	29.9	69.9	41.7
MIP1 β	3	<3.2	78.2	40.4	66.6	53.3	6.4	11.3	6.4	45.4	362.3	6365.1
	6	<3.2	736.5	697.0	657.3	1267.3	<3.2	469.0	197.9	1170.5	168.7	2153.8
	24	<3.2	61.8	439.4	35.9	705.5	<3.2	35.6	26.4	270.7	70.7	35.5
RANTES	3	4.4	6.4	1.3	7.8	5.3	2.9	2.2	1.7	3.4	10.6	91.6
	6	<3.2	14.9	3.4	13.2	34.1	2.7	19.9	11.9	57.3	18.4	736.9
	24	4.3	25.5	186.5	22.3	239.1	3.5	18.2	11.9	90.6	15.6	113.2
TNF α	3	<3.2	3.2	<3.2	<3.2	<3.2	1.6	1.4	1.3	2.5	3.6	57.0
	6	<3.2	12.9	7.2	10.2	4.6	0.8	3.8	2.1	6.2	1.9	17.3
	24	<3.2	<3.2	3.2	<3.2	8.2	1.3	1.4	1.3	3.1	2.0	1.3

Time (h) = Время (ч)

mg/kg non-binding mAb = мг/кг, несвязывающее моноклональное антитело

Control = контрольная группа

mg/kg targeted mAb = мг/кг, таргетное моноклональное антитело

Compound = соединение

Таблица 5: Выработка цитокина в периферической крови (в плазме) у мышей с модифицированной опухолью почки при лечении различными конъюгатами ADC, содержащими несвязывающее или нацеленное на EphA2-моноклональное антитело mIgG2a с каркасом дикого типа (WT) или с каркасом LALAPG, конъюгированное с соединениями **12** или **15**

	Time (h)	control	3mg/kg non-targeted mAb 12 (LALAPG)	3mg/kg non-targeted mAb 12 (WT)	3mg/kg targeted mAb 12 (LALAPG)	3mg/kg targeted mAb 12 (WT)	3mg/kg non-targeted mAb 15 (WT)	3mg/kg targeted mAb 15 (WT)
IFNγ	3	1.1	1.2	2.2	0.7	1.2	1.3	1.8
	6	0.8	8.9	5.2	12.1	19.3	8.5	17.5
	24	1.3	7.1	6.1	18.8	27.0	6.6	21.1
	48	2.0	1.5	2.0	2.1	2.0	1.8	2.0
IL1β	3	8.8	12.7	26.0	19.8	7.8	15.9	30.3
	6	8.8	35.5	14.7	< 3.2	27.0	27.3	19.0
	24	10.7	12.2	22.7	4.9	10.7	10.8	7.8
	48	< 3.2	4.9	22.7	7.8	2.1	13.7	10.7
IL-6	3	5.1	12.7	12.6	71.6	61.6	12.0	105.8
	6	5.5	55.3	47.3	327.4	279.5	82.4	475.4
	24	3.5	33.4	25.2	61.1	80.8	41.3	63.0
	48	2.3	5.0	5.8	29.9	15.6	11.5	17.9
IL-10	3	2.6	4.0	4.4	4.1	2.2	5.9	5.1
	6	2.5	8.2	4.8	5.2	9.6	8.4	6.3
	24	1.6	3.2	2.7	4.9	5.5	4.9	7.3
	48	0.6	0.6	2.7	1.7	1.0	2.6	2.1
IL12p70	3	12.1	5.0	31.9	26.6	< 3.2	23.3	12.5
	6	0.9	48.9	13.7	< 3.2	23.5	29.0	10.3
	24	0.9	10.5	7.1	4.0	0.9	10.5	4.0
	48	< 3.2	0.9	20.1	< 3.2	0.9	7.1	0.9
IP10	3	99.4	134.0	104.9	335.5	371.9	185.4	637.3
	6	71.0	2469.9	2651.6	2757.9	3219.0	2885.3	3422.1
	24	86.3	1798.9	1652.7	2219.9	2004.1	2616.0	2324.1
	48	127.6	738.5	822.9	824.4	819.2	1052.2	935.8
MCP-1	3	63.2	120.4	165.9	135.5	96.9	142.7	276.1
	6	72.1	1368.6	1195.0	915.2	4492.9	1764.0	6594.8
	24	57.0	2083.8	1878.0	6406.5	8018.1	9546.4	15026.1
	48	42.1	285.6	599.9	794.1	934.2	1629.3	2234.6

MIP1α	3	137.3	142.9	205.0	166.4	101.3	187.3	163.7
	6	101.3	178.8	130.0	61.4	284.3	133.8	271.9
	24	133.8	120.7	153.3	101.3	227.0	193.7	205.2
	48	< 3.2	101.3	140.2	101.3	101.3	140.2	166.4
MIP1β	3	< 3.2	< 3.2	78.1	< 3.2	349.4	49.8	942.0
	6	< 3.2	578.4	850.5	735.3	2898.1	677.8	4342.5
	24	< 3.2	425.4	456.2	661.8	1493.2	1561.0	1387.7
	48	< 3.2	178.9	227.9	221.2	309.4	567.1	378.3
RANTES	3	5.6	8.0	11.0	9.1	6.7	10.1	11.0
	6	6.6	24.5	18.9	14.4	168.0	37.5	206.6
	24	5.6	77.1	52.5	338.9	174.8	335.7	772.2
	48	6.6	21.3	43.9	69.6	59.2	140.4	190.4
TNFα	3	4.6	6.2	6.8	7.7	4.3	11.0	9.8
	6	2.7	15.0	5.8	3.5	16.5	9.9	22.9
	24	5.4	7.7	7.7	6.6	8.8	13.3	11.0
	48	1.9	5.4	6.5	5.4	5.4	6.6	7.6

Time (h) = Время (ч)

control = контрольная группа

3mg/kg non-targeted mAb A12 (LALAPG) = 3 мг/кг нетаргетное моноклональное антитело 12 с каркасом LALAPG

3mg/kg non-targeted mAb A12 (WT) = 3 мг/кг нетаргетное моноклональное антитело 12 с каркасом дикого типа

3mg/kg targeted mAb A12 (LALAPG) = 3 мг/кг таргетное моноклональное антитело 12 с каркасом LALAPG

3mg/kg targeted mAb A12 (WT) = 3 мг/кг таргетное моноклональное антитело 12 с каркасом дикого типа

3mg/kg non-targeted mAb A15 (WT) = 3 мг/кг нетаргетное моноклональное антитело 15 с каркасом дикого типа

3mg/kg targeted mAb A15 (WT) = 3 мг/кг таргетное моноклональное антитело 15 с каркасом дикого типа

Таблица 6: Выработка цитокина в периферической крови (плазме) у мышей с опухолью почки при лечении конъюгатами ADC, содержащими моноклональное антитело mIgG2a с каркасом LALAPG, нацеленное на EphA2 и конъюгированное с соединением **12** или с соединением **12a**.

	Dose #	Time (h)	Untreated	Vehicle	0.2mg/kg Compound 12a	0.6mg/kg Compound 12a	1.8mg/kg Compound 12a	0.3mg/kg targeted mAb 12 (LALAPG)	1.0mg/kg targeted mAb 12 (LALAPG)	3.0mg/kg targeted mAb 12 (LALAPG)
IFNg	1	3	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2
	1	6	< 3.2	< 3.2	4.6	18.3	36.4	< 3.2	< 3.2	9.4
	1	24	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	5.8	5.3
	1	48	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2
IL-1b	2	6	< 3.2	< 3.2	16.5	41.5	80.4	0.0	1.7	20.1
	1	3	0.7	0.7	0.7	0.7	7.5	3.2	0.7	0.7
	1	6	0.7	< 3.2	0.7	5.7	0.7	3.2	11.0	5.7
	1	24	7.0	3.2	3.2	1.6	3.2	2.4	0.7	3.2
IL-6	1	48	3.2	5.7	0.7	5.7	3.2	3.2	3.2	5.8
	2	6	< 3.2	< 3.2	2.7	5.8	4.6	2.7	2.7	< 3.2
	1	3	3.3	16.6	780.0	1899.7	4314.6	5.8	13.9	17.8
	1	6	0.4	4.9	266.1	424.0	543.0	25.0	28.3	152.1
IL-10	1	24	2.8	1.5	4.1	6.1	6.8	8.6	22.5	74.1
	1	48	0.9	0.9	5.6	1.8	1.5	1.9	1.8	26.3
	2	6	2.2	5.1	410.9	516.9	1681.6	13.6	53.2	130.1
	1	3	< 3.2	< 3.2	15.6	30.4	27.3	< 3.2	< 3.2	< 3.2
IL12p70	1	6	< 3.2	< 3.2	< 3.2	3.8	9.9	< 3.2	< 3.2	3.8
	1	24	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	3.8
	1	48	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2
	2	6	< 3.2	< 3.2	1.2	< 3.2	7.7	< 3.2	1.2	< 3.2
IP10	1	3	< 3.2	9.4	< 3.2	< 3.2	3.1	< 3.2	< 3.2	9.4
	1	6	< 3.2	< 3.2	< 3.2	3.1	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2
	1	24	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	3.1
	1	48	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2
IP10	2	6	< 3.2	< 3.2	< 3.2	28.4	28.4	< 3.2	< 3.2	12.1
	1	3	88.9	124.3	1989.6	4826.2	8222.7	122.1	200.3	278.0
	1	6	95.4	116.3	8985.4	8828.3	7589.2	4294.0	5279.6	6945.6
	1	24	102.2	78.1	257.9	381.8	595.6	1123.5	1703.4	4251.8
IP10	1	48	80.8	85.1	172.8	218.4	223.5	317.8	566.2	1631.2
	2	6	139.5	191.4	> 10000	3996.6	4151.5	1451.7	2590.8	2963.6

MCP-1	1	3	17.3	65.0	333.3	1547.8	5805.3	21.8	48.1	50.2
	1	6	11.9	62.8	7790.8	12898.6	13861.5	518.9	311.8	1080.9
	1	24	24.4	2.0	53.0	141.5	143.9	283.5	694.9	5104.5
	1	48	29.3	19.4	56.8	40.0	2.0	118.0	108.0	530.5
	2	6	51.7	87.7	5244.6	9761.2	17185.9	175.5	338.2	592.4
MIP1a	1	3	< 3.2	< 3.2	10.3	251.5	1052.6	< 3.2	< 3.2	10.3
	1	6	< 3.2	10.3	101.9	137.2	172.2	10.3	10.3	100.5
	1	24	10.3	< 3.2	< 3.2	< 3.2	10.3	< 3.2	< 3.2	92.5
	1	48	< 3.2	< 3.2	10.3	10.3	< 3.2	10.3	< 3.2	< 3.2
	2	6	32.6	32.6	104.9	115.5	209.9	52.2	32.6	99.2
MIP1b	1	3	< 3.2	< 3.2	727.2	2471.0	7438.6	< 3.2	< 3.2	< 3.2
	1	6	< 3.2	< 3.2	670.7	1050.0	1162.7	155.7	256.7	695.2
	1	24	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	497.5
	1	48	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	< 3.2	157.8
	2	6	< 3.2	< 3.2	718.6	837.6	1407.7	< 3.2	216.1	449.7
RANTES	1	3	< 3.2	< 3.2	< 3.2	20.1	51.2	< 3.2	5.0	< 3.2
	1	6	20.3	< 3.2	130.3	255.0	526.2	14.7	17.1	23.2
	1	24	< 3.2	< 3.2	3.2	46.2	48.8	11.3	34.5	131.7
	1	48	9.2	< 3.2	< 3.2	5.0	< 3.2	7.9	17.1	79.4
	2	6	8.2	2.9	133.8	621.6	892.1	12.5	15.6	45.8
TNFa	1	3	< 3.2	4.3	9.1	21.0	46.4	3.2	3.2	4.5
	1	6	< 3.2	3.2	8.1	15.6	21.2	3.2	10.6	7.3
	1	24	7.3	3.2	3.2	5.2	3.2	5.2	5.9	15.2
	1	48	< 3.2	5.4	4.3	< 3.2	3.2	5.2	7.3	8.9
	2	6	< 3.2	< 3.2	10.0	16.7	46.4	3.2	3.2	3.2

Dose # = № дозы Time (h) = время (ч) Untreated = Без лечения Vehicle = Несущая среда

0.2 mg/kg Compound 12a = 0.2 мг/кг соединение 12a

0.6 mg/kg Compound 12a = 0.6 мг/кг соединение 12a

1.8 mg/kg Compound 12a = 1.8 мг/кг соединение 12a

0.3mg/kg targeted mAb A12 (LALAPG) = 0.3 мг/кг таргетное моноклональное антитело 12 с каркасом LALAPG

1.0mg/kg targeted mAb A12 (LALAPG) = 1.0 мг/кг таргетное моноклональное антитело 12 с каркасом LALAPG

3.0mg/kg targeted mAb A12 (LALAPG) = 3.0 мг/кг таргетное моноклональное антитело 12 с каркасом LALAPG

[0632] Противоопухолевую активность расщепляемого линкера **11**, конъюгированного с несвязывающим mAb, mAb, нацеленным на PD-L1 (нацеленным на опухоль и/или иммунные клетки) или с mAb, нацеленным на антиген С (нацеленным на иммунные клетки), также оценивали у мышей с опухолью почки. Все конъюгаты демонстрировали задержку роста опухоли по сравнению с опухолями, не подвергавшимися лечению. Конъюгат **11** моноклонального антитела, нацеленный на PD-L1, демонстрировал повышенную противоопухолевую активность по сравнению с неконъюгированным моноклональным антителом, нацеленным на PD-L1. Это показывает противоопухолевую эффективность доставки агонистов STING при помощи конъюгата ADC, нацеленного на антигены С и PD-L1 (**Фиг. 13**). Кроме того, оценивали противоопухолевую активность нерасщепляемого линкера **12**, конъюгированного с моноклональным антителом, нацеленным на PD-L1, у мышей с опухолью почки. Эти конъюгаты обеспечивали уменьшение объема опухоли, однако, имели меньшую переносимость, чем конъюгаты **11** моноклонального антитела, нацеленные на PD-L1/PD-L1.

Раковые клетки CT26

[0633] Противоопухолевую активность соединения **1** по сравнению с расщепляемым линкером **11**, конъюгированным с несвязывающим mAb, mAb, нацеленным на антиген С, mAb, нацеленным на PD-L1, или mAb, нацеленным на EphA2, оценивали в клетках CT26 опухоленесущих мышей. Когда животные получали лечение соединением **1** или неконъюгированным mAb, нацеленным на PD-L1, наблюдали минимальную задержку роста опухоли. Умеренную задержку роста опухоли наблюдали при лечении конъюгатом несвязывающего mAb с соединением **11**. В отличие от этого значительную задержку роста опухоли наблюдали после лечения всеми тремя целевыми конъюгатами mAb с соединением **11**. Это демонстрирует противоопухолевую эффективность доставки агонистов STING при помощи конъюгатов ADC, нацеленных на различные антигены, включая конъюгат, нацеленный на иммунные клетки (антиген С), иммунный и/или нацеленный на опухоль (PD-L1) конъюгат и конъюгат, нацеленный

на опухоль (EphA2) (**Фиг. 14**). Результаты продуцирования цитокинов в плазме периферической крови представлены в Таблице 7.

Раковые клетки MC38

[0634] Противоопухолевую активность расщепляемого линкера **12**, конъюгированного с несвязывающим mAb или с mAb, нацеленным на EphA2, с каркасом LALAPG mIgG2a Fc, оценивали на мышах дикого типа (WT) с опухолевыми клетками MC38 или на мышах с дефицитом STING (*Tmem173^{gt}*). Животные, которым вводили 3 еженедельных дозы по 1 мг/кг несвязывающих конъюгатов **12** или по 0.1 мг/кг таргетных конъюгатов **12**, демонстрировали умеренную и минимальную задержку роста опухоли, соответственно, в группе дикого типа, но не в группе STING-дефицитных опухоленесущих мышей. Животные, которым вводили 3 еженедельных дозы по 1 мг/кг таргетных конъюгатов **12**, демонстрировали высокую задержку роста опухоли в группе дикого типа, но не в группе STING-дефицитных опухоленесущих мышей. Это показывает, что у мышей с опухолями MC38 для обеспечения противоопухолевой активности необходима передача сигналов STING в нераковых клетках в микросреде опухоли (**Фиг. 15A** и **15C**).

[0635] Животные, которым вводили однократную дозу 1 мг/кг конъюгатов **12**, нацеленных на EphA2, также демонстрировали значительную задержку роста опухоли в группе опухоленесущих мышей дикого типа. Это показывает, что однократная доза конъюгатов **12**, нацеленных на EphA2, является достаточной, чтобы вызвать полную регрессию опухоли (**Фиг. 15A**).

[0636] Мышам, у которых наблюдалась полная регрессия опухоли в ответ на однократную дозу или 3 еженедельных дозы конъюгата ADC, повторно ввели раковые клетки MC38 в противоположный бок и наблюдали за ростом опухоли. Все мыши с такими повторно введенными клетками – но не все не подвергавшиеся лечению мыши, зараженные раковыми клетками MC38, – были защищены от повторного заражения. Это позволяет предположить, что таргетные конъюгаты **12** вызывают иммунную память (**Фиг. 15D**).

Раковые клетки 4T1

[0637] Противоопухолевую активность расщепляемого линкера **12**, конъюгированного с несвязывающим или с нацеленным на EphA2 моноклональным

антителом с каркасом LALAPG mIgG2a Fc, оценивали на мышах, зараженных раковыми клетками 4T1. Все конъюгаты соединения **12** вызывали значительную задержку роста опухоли при испытанных дозах, при этом конъюгат таргетного моноклонального антитела с соединением **12** демонстрировал увеличенную задержку роста опухоли по сравнению с несвязывающим конъюгатом при минимальной наблюдаемой потере массы (**Фиг. 16В**). Это показывает, что конъюгаты моноклонального антитела, нацеленного на EphA2, с соединением **12** являются активными во множестве опухолевых моделей (**Фиг. 12-16**).

Исследование переносимости крысами

[0638] Доклинический профиль безопасности соединения **12**, конъюгированного с несвязывающими антителами с каркасом Fc WT, с несвязывающими антителами с нулевым каркасом Fc, с целевыми антителами с Fc-остовом WT и с таргетными антителами с нулевым каркасом Fc оценивали в неклинических токсикологических исследованиях, не соответствующих требованиям надлежащей лабораторной практики (GLP), на крысах. Все конъюгаты с линкером лекарственного средства соединения **12** (как несвязывающие, так и таргетные, WT и нулевой каркас F) показывали переносимость крысами в дозах, превышающих минимально эффективную дозу в моделях опухолей на мышах.

ПРИМЕР 4

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VIVO*

Способы

[0639] Фармакокинетические профили анализировали после введения двух еженедельных доз по 1 мг/кг конъюгата ADC, содержащего [дегликозилированное] несвязывающее mAb, конъюгированное с соединением **12**, самцам мышей линии C57BL/6. Плазму собирали и анализировали на содержание общих антител (gTAб) с помощью иммуноанализа. Концентрации TAб в плазме K₂EDTA мышей определяли с помощью платформы Gyros для проточного иммуноанализа. Образцы и стандарты разводили в буфере для анализа и инкубировали с раствором, содержащим биотинилированное мышинное антитело

против легкой цепи каппа человека и флуоресцентный фрагмент козьего антитела против человеческого IgG Fcγ F(ab')₂ в формате сэндвича. Полученные иммунокомплексы связывали с покрытыми стрептавидином шариками в колонке для аффинной хроматографии с записью на компакт-диск (CD). Данные с компакт-диска считывали при помощи лазера, который возбуждал реактив для флуоресцентного обнаружения, генерируя сигнал, прямо пропорциональный концентрации тестируемого образца в образце плазмы самцов мышей линии C57BL/6. Некомпаративный анализ применяли для объединенных данных о концентрации в плазме животных (разреженная выборка) с использованием программного обеспечения Phoenix WinNonlin 8.2 (Certara, США). Значения концентрации ниже предела количественного определения (BLQ) при анализе считали нулевыми. Использовали номинальные дозы и время отбора проб.

Результаты

[0640] Фармакокинетические профили анализировали после введения самцам мышей линии C57BL/6 двух еженедельных доз по 1 мг/кг конъюгата ADC, содержащего [дегликозилированное] несвязывающее mAb, конъюгированное с соединением **12**. Максимальная наблюдаемая концентрация (C_{max}) после введения первой и второй доз составляла 40500 и 52400 нг/мл, соответственно. Площадь под кривой “концентрация-время” за период от 0 до 7 дней (AUC_{0-7d}) составляла 85600 д*нг/мл. Это говорит о том, что общее воздействие антител на несвязывающий конъюгат соединения **12** было выше, чем воздействие низкомолекулярных агонистов STING, описанных в публикациях (**Фиг. 17**) (См., например, Раманджулу и др., 2018, Нейча 564, 439-443).

[0641] Содержание каждой из ссылок, цитируемых в настоящем описании, включено в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

[0642] В данном описании раскрыт ряд вариантов осуществления настоящего изобретения. Однако при этом следует понимать, что различные модификации могут быть внесены без отклонения от сущности и объема настоящего изобретения. Соответственно, другие варианты осуществления находятся в пределах объема следующей формулы изобретения.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> СИДЖЕН ИНК.

<120> ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ КОНЪЮГАТЫ АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО

<130> SGENE.008WO

<150> US 63/292,779

<151> 2021-12-21

<150> US 63/138,360

<151> 2021-01-15

<160> 28

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> сАС10 CDR-H1

<400> 1

Asp Tyr Tyr Ile Thr

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> сАС10 CDR-H2

<400> 2

Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> сAC10 CDR-H3

<400> 3

Tyr Gly Asn Tyr Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 4
<211> 15
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> сAC10 CDR-L1

<400> 4

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn
1 5 10 15

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> сAC10 CDR-L2

<400> 5

Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> сAC10 CDR-L3

<400> 6

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Trp Thr
1 5

<210> 7
<211> 117

<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> cAC10 VH

<400> 7

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Thr Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Asn Tyr Gly Asn Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 8
<211> 111
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> cAC10 VL

<400> 8

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp
 20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

Lys Val Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 9
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> сAC10 HC

<400> 9

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

Tyr Ile Thr Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe
 65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Asn Tyr Gly Asn Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 10

<211> 446

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> cAC10 HC v2

<400> 10

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Thr Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Asn Tyr Gly Asn Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 11
<211> 218

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> cAC10 LC

<400> 11

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Val Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> h1C1 CDR-H1

<400> 12

His Tyr Met Met Ala
1 5

<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> h1C1 CDR-H2

<400> 13

Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 14
<211> 19
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> h1C1 CDR-H3

<400> 14

Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala Glu Tyr
1 5 10 15

<223> h1C1 VH

<400> 18

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Met Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala
100 105 110

Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> h1C1 VL

<400> 19

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 20

<211> 458

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> h1C1 HC

<400> 20

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Met Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala
100 105 110

Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
130 135 140

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
275 280 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
355 360 365

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 21
<211> 457
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> h1C1 HC v2

<400> 21

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Met Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Gly Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala
 100 105 110

Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 130 135 140

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 195 200 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 210 215 220

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 260 265 270

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 275 280 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 290 295 300

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 340 345 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 355 360 365

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 450 455

<210> 22
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> h1C1 LC

<400> 22

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 23
<211> 458
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> h1C1 mIgG2a HC

<400> 23

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Met Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala
100 105 110

Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly
 130 135 140

Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 180 185 190

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile
 195 200 205

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 210 215 220

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
 225 230 235 240

Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 245 250 255

Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys
 260 265 270

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
 275 280 285

Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
 290 295 300

Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
 305 310 315 320

His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn
 325 330 335

Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly
 340 345 350

Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu
 355 360 365

Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met
 370 375 380

Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu
 385 390 395 400

Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe
 405 410 415

Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
 420 425 430

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
 435 440 445

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 450 455

<210> 24
 <211> 457
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> h1C1 mIgG2a HC v2

<400> 24

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
 20 25 30

Met Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Gly Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala
 100 105 110

Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly
 130 135 140

Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 180 185 190

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile
 195 200 205

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 210 215 220

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
 225 230 235 240

Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 245 250 255

Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys
 260 265 270

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
275 280 285

Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
290 295 300

Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn
325 330 335

Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly
340 345 350

Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu
355 360 365

Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met
370 375 380

Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe
405 410 415

Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
420 425 430

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
435 440 445

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
450 455

<210> 25

<211> 214

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> h1C1 mIgG2a LC

<400> 25

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 26
<211> 458
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> h1C1 mIgG2a LALAPG HC

<400> 26

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Met Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala
100 105 110

Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly
130 135 140

Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 180 185 190

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile
 195 200 205

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 210 215 220

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
 225 230 235 240

Pro Ala Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 245 250 255

Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys
 260 265 270

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
 275 280 285

Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
 290 295 300

Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
 305 310 315 320

His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn
 325 330 335

Lys Asp Leu Gly Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly
 340 345 350

Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu
 355 360 365

Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met
370 375 380

Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe
405 410 415

Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
420 425 430

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
435 440 445

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
450 455

<210> 27
<211> 457
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> h1C1 mIgG2a LALAPG HC v2

<400> 27

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Met Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Gly Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala
 100 105 110

Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly
 130 135 140

Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 180 185 190

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile
 195 200 205

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 210 215 220

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
 225 230 235 240

Pro Ala Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 245 250 255

Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys
 260 265 270

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
 275 280 285

Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
290 295 300

Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn
325 330 335

Lys Asp Leu Gly Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly
340 345 350

Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu
355 360 365

Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met
370 375 380

Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe
405 410 415

Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
420 425 430

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
435 440 445

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
450 455

<210> 28
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> h1C1 mIgG2a LALAPG LC

<400> 28

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
 100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
 115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
 130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
 145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
 165 170 175

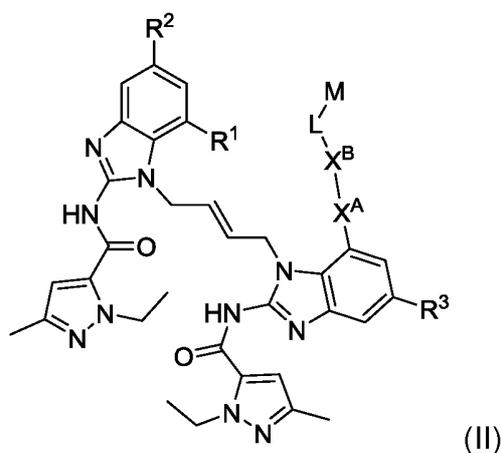
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
 180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 210

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (II):



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

R^1 - водород, гидроксил, C_{1-6} алкокси, $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$ алкокси, $-(CH_2)_n-NR^A R^B$ или PEG2-PEG4,

каждый R^2 и R^3 независимо представляет собой $-CO_2H$, $-(C=O)_m-NR^C R^D$ или $-(CH_2)_q-NR^E R^F$,

каждый R^A , R^B , R^C , R^D , R^E и R^F независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

каждый нижний индекс n независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

каждый нижний индекс m независимо представляет собой 0 или 1,

каждый нижний индекс q независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

X^A представляет собой $-CH_2-$, $-O-$, $-S-$, $-NH-$ или $-N(CH_3)-$,

X^B отсутствует или представляет собой 2-16-членный гетероалкилен,

L - линкер, имеющий формулу $-(A)_a-(W)_w-(Y)_y-$, где:

нижний индекс a представляет собой 0 или 1,

нижний индекс y представляет собой 0 или 1,

нижний индекс w представляет собой 0 или 1,

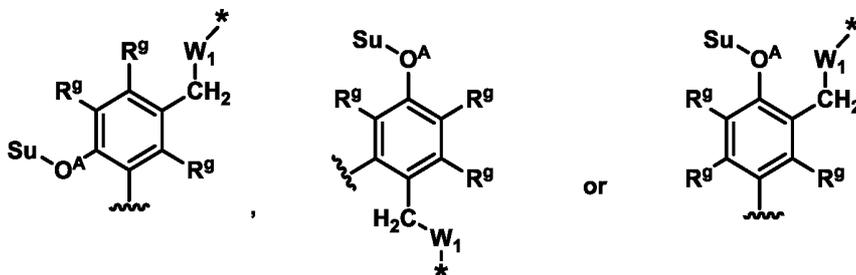
A представляет собой C₂₋₂₀ алкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{a1} или 2-40-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1},

каждый R^{a1} независимо выбирается из группы, включающей: C₁₋₆ алкил, C₁₋₆ галоалкил, C₁₋₆ алкокси, C₁₋₆ галоалкокси, галоген, -OH, =O, -NR^{d1}R^{e1}, -C(O)NR^{d1}R^{e1}, -C(O)(C₁₋₆ алкил) и -C(O)O(C₁₋₆ алкил),

каждый R^{b1} независимо выбирается из группы, включающей: C₁₋₆ алкил, C₁₋₆ галоалкил, C₁₋₆ алкокси, C₁₋₆ галоалкокси, галоген, -OH, -NR^{d1}R^{e1}, -C(O)NR^{d1}R^{e1}, -C(O)(C₁₋₆ алкил) и -C(O)O(C₁₋₆ алкил),

каждый R^{d1} и R^{e1} независимо представляет собой водород или C₁₋₃ алкил,

W содержит 1-12 аминокислот или имеет структуру:



где Su - сахарный компонент,

-O^A- - гликозидная связь,

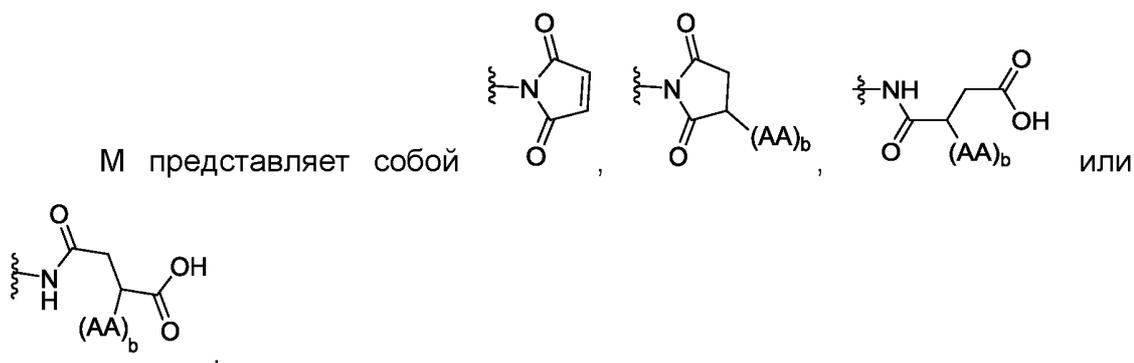
каждый R⁹ независимо представляет собой водород, галоген, -CN или -NO₂,

W¹ отсутствует или представляет собой -O-C(=O)-,

~~~~~ представляет собой ковалентное присоединение к A или к M,

\* представляет собой ковалентное присоединение к Y, X<sup>A</sup> или X<sup>B</sup>, а

Y - саморасщепляющаяся функциональная группа, несаморасщепляющаяся высвобождаемая функциональная группа или нерасщепляемая функциональная группа,



каждый AA представляет собой независимо выбранную аминокислоту, при этом  $(AA)_b$  соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома серы,

каждый нижний индекс  $b$  независимо представляет собой целое число от 1 до 6, и

каждый  $X^B$  и L независимо представляет собой необязательно замещенную функциональную группу PEG от PEG1 до EG 72.

2. Соединение по п. 1, в котором  $R^1$  представляет собой водород.
3. Соединение по п. 1, в котором  $R^1$  представляет собой гидроксил.
4. Соединение по п. 1, в котором  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$  алкоксигруппу.
5. Соединение по п. 1 или п. 4, в котором  $R^1$  представляет собой метокси-группу.
6. Соединение по п. 1, в котором  $R^1$  представляет собой  $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$  алкокси.
7. Соединение по п. 1 или п. 6, в котором  $R^1$  представляет собой метоксиэтил.
8. Соединение по п. 1, в котором  $R^1$  представляет собой функциональную группу PEG от PEG2 до PEG4.
9. Соединение по п. 1, в котором  $R^1$  представляет собой  $-(CH_2)_n-NR^A R^B$ .
10. Соединение по п. 1 или п. 9, в котором  $R^A$  и  $R^B$  оба представляют собой водород.
11. Соединение по п. 1 или п. 9, в котором  $R^A$  и  $R^B$  независимо представляют собой  $C_{1-3}$  алкил.

12. Соединение по п. 1 или п. 9, в котором один из  $R^A$  и  $R^B$  представляет собой водород, а другой из  $R^A$  и  $R^B$  представляет собой  $C_{1-3}$  алкил.
13. Соединение по одному из п. п. 1 или 9-12, в котором каждый нижний индекс  $n$  представляет собой 0.
14. Соединение по одному из п. п. 1 или 9-12, в котором каждый нижний индекс  $n$  представляет собой 1.
15. Соединение по одному из п. п. 1 или 9-12, в котором каждый нижний индекс  $n$  представляет собой 2.
16. Соединение по одному из п. п. 1 или 9-12, в котором каждый нижний индекс  $n$  представляет собой 3, 4, 5 или 6.
17. Соединение по одному из п. п. 1-16, в котором  $R^2$  и  $R^3$  независимо представляют собой  $-CO_2H$ ,  $-(C=O)_m-NR^C R^D$  или  $-(CH_2)_q-NR^E R^F$ , а  $R^2$  и  $R^3$  являются одинаковыми.
18. Соединение по одному из п. п. 1-16, в котором  $R^2$  и  $R^3$  независимо представляют собой  $-CO_2H$ ,  $-(C=O)_m-NR^C R^D$  или  $-(CH_2)_q-NR^E R^F$ , а  $R^2$  и  $R^3$  являются различными.
19. Соединение по одному из п. п. 1-18, в котором  $R^2$  представляет собой  $-(C=O)_m-NR^C R^D$ .
20. Соединение по одному из п. п. 1-18, в котором  $R^3$  представляет собой  $-(C=O)_m-NR^C R^D$ .
21. Соединение по одному из п. п. 1-20, в котором  $R^C$  и  $R^D$  оба представляют собой водород.
22. Соединение по одному из п. п. 1-20, в котором каждый  $R^C$  и  $R^D$  независимо представляет собой  $C_{1-3}$  алкил.
23. Соединение по одному из п. п. 1-20, в котором один из  $R^C$  и  $R^D$  представляет собой водород, а другой из  $R^C$  и  $R^D$  представляет собой  $C_{1-3}$  алкил.
24. Соединение по одному из п. п. 1-20, в котором каждый нижний индекс  $m$  представляет собой 0.
25. Соединение по одному из п. п. 1-20, в котором каждый нижний индекс  $m$  представляет собой 1.

26. Соединение по одному из п. п. 1-18, в котором  $R^2$  представляет собой  $-(CH_2)_q-NR^E R^F$ .
27. Соединение по одному из п. п. 1-18, в котором  $R^3$  представляет собой  $-(CH_2)_q-NR^E R^F$ .
28. Соединение по одному из п. п. 1-18, 26 или 27, в котором  $R^E$  и  $R^F$  оба представляют собой водород.
29. Соединение по одному из п. п. 1-18, 26 или 27, в котором каждый  $R^E$  и  $R^F$  независимо представляет собой  $C_{1-3}$  алкил.
30. Соединение по одному из п. п. 1-18, 26 или 27, в котором один из  $R^E$  и  $R^F$  представляет собой водород, а другой из  $R^E$  и  $R^F$  представляет собой  $C_{1-3}$  алкил.
31. Соединение по одному из п. п. 1-18, 26 или 27, в котором каждый нижний индекс  $q$  представляет собой 0.
32. Соединение по одному из п. п. 1-18, 26 или 27, в котором каждый нижний индекс  $q$  представляет собой целое число от 1 до 6.
33. Соединение по одному из п. п. 1-18, в котором  $R^3$  представляет собой  $-CO_2H$ .
34. Соединение по одному из п. п. 1-18, в котором  $R^2$  представляет собой  $-CO_2H$ .
35. Соединение по одному из п. п. 1-34, в котором  $X^A$  представляет собой  $-CH_2-$ .
36. Соединение по одному из п. п. 1-34, в котором  $X^A$  представляет собой  $-O-$ .
37. Соединение по одному из п. п. 1-34, в котором  $X^A$  представляет собой  $-S-$ .
38. Соединение по одному из п. п. 1-34, в котором  $X^A$  представляет собой  $-NH-$ .
39. Соединение по одному из п. п. 1-38, в котором  $X^B$  представляет собой 2-16-членный гетероалкилен.
40. Соединение по одному из п. п. 1-39, в котором  $X^B$  представляет собой 2-12-членный гетероалкилен.

41. Соединение по одному из п. п. 1-40, в котором  $X^B$  представляет собой 2-8-членный гетероалкилен.

42. Соединение по одному из п. п. 39-41, в котором гетероалкилен имеет разветвленную цепь, содержащую 1-4 метильные группы.

43. Соединение по одному из п. п. 39-42, в котором гетероалкилен имеет разветвленную цепь, содержащую 1 или 2 метильные группы.

44. Соединение по одному из п. п. 39-43, в котором гетероалкилен замещен 1-3 фторгруппами.

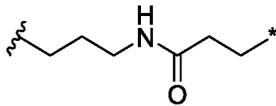
45. Соединение по одному из п. п. 1-44, в котором  $X^B$  содержит один или два атома азота.

46. Соединение по одному из п. п. 1-45, в котором  $X^B$  содержит одну или две оксо-группы.

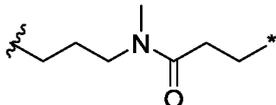
47. Соединение по одному из п. п. 1-46, в котором  $X^B$  содержит один атом азота и одну оксо-группу.

48. Соединение по одному из п. п. 1-47, в котором  $X^B$  содержит два атома азота и одну оксо-группу.

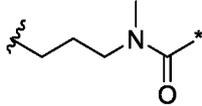
49. Соединение по одному из п. п. 1-41 или 45-47, в котором  $X^B$

представляет собой , где  представляет собой ковалентное присоединение к  $X^A$ , а \* представляет собой ковалентное присоединение к L или к M.

50. Соединение по одному из п. п. 1-41 или 45-47, в котором  $X^B$

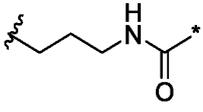
представляет собой , где  представляет собой ковалентное присоединение к  $X^A$ , а \* представляет собой ковалентное присоединение к L или к M.

51. Соединение по одному из п. п. 1-41 или 45-47, в котором  $X^B$

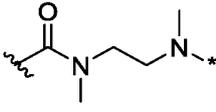
представляет собой , где  представляет собой ковалентное

присоединение к  $X^A$ , а \* представляет собой ковалентное присоединение к L или к M.

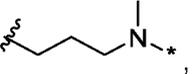
52. Соединение по одному из п. п. 1-41 или 45-47, в котором  $X^B$

представляет собой , где  представляет собой ковалентное присоединение к  $X^A$ , а \* представляет собой ковалентное присоединение к L или к M.

53. Соединение по одному из п. п. 1-43 или п. 48, в котором  $X^B$

представляет собой , где  представляет собой ковалентное присоединение к  $X^A$ , а \* представляет собой ковалентное присоединение к L.

54. Соединение по одному из п. п. 1-43 или п. 45, в котором  $X^B$

представляет собой , где  представляет собой ковалентное присоединение к  $X^A$ , а \* представляет собой ковалентное присоединение к L.

55. Соединение по одному из п. п. 1-38, в котором  $X^B$  отсутствует.

56. Соединение по одному из п. п. 1-55, в котором нижний индекс a представляет собой 1.

57. Соединение по одному из п. п. 1-56, в котором нижний индекс y представляет собой 1.

58. Соединение по одному из п. п. 1-57, в котором нижний индекс w представляет собой 1.

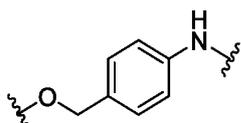
59. Соединение по одному из п. п. 1-55, в котором сумма нижнего индекса a, нижнего индекса y и нижнего индекса w равна 1.

60. Соединение по одному из п. п. 1-55, в котором сумма нижнего индекса a, нижнего индекса y и нижнего индекса w равна 2.

61. Соединение по одному из п. п. 1-58, в котором сумма нижнего индекса a, нижнего индекса y и нижнего индекса w равна 3.

62. Соединение по одному из п. п. 1-61, в котором Y представляет собой саморасщепляющуюся функциональную группу.

63. Соединение по одному из п. п. 1-61, в котором Y представляет собой



64. Соединение по одному из п. п. 1-54 или 56-61, в котором Y представляет собой нерасщепляемую функциональную группу, и а представляет собой O.

65. Соединение по одному из п. п. 1-54, 56-61 или п. 64, в котором Y представляет собой циклогексанкарбокซิลовую, ундеcanoиловую, капроиловую, гексаноиловую, бутаноиловую или пропиониловую группу. \*\*\*\*

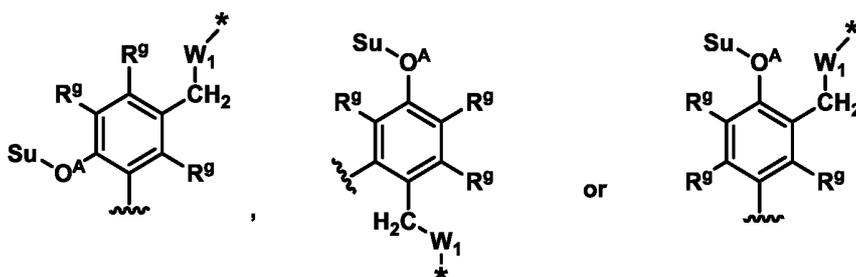
66. Соединение по одному из п. п. 1-54, 56-61 или п. 64, в котором Y представляет собой функциональную группу PEG от PEG4 до PEG12.

67. Соединение по одному из п. п. 1-66, в котором W содержит 1-12 аминокислот.

68. Соединение по одному из п. п. 1-67, в котором W содержит 1-6 аминокислот.

69. Соединение по одному из п. п. 1-68, в котором каждая из аминокислот в W независимо выбирается из группы, включающей: аланин, глицин, лизин, серин, аспарагиновую кислоту, метиловый эфир аспарагиновой кислоты, N,N-диметил-лизин, фенилаланин, цитруллин, валин-аланин, валин-цитруллин, фенилаланин-лизин или метиловый эфир гомосерина.

70. Соединение по одному из п. п. 1-66, в котором W имеет структуру:



где Su - сахарный компонент,  
-O<sup>A</sup>- - гликозидная связь,

каждый  $R^9$  независимо представляет собой водород, галоген,  $-CN$  или  $-NO_2$ ,

$W^1$  отсутствует или представляет собой  $-O-C(=O)-$ ,

 представляет собой ковалентное присоединение к А или к М,

и

\* представляет собой ковалентное присоединение к Y,  $X^A$  или  $X^B$ .

71. Соединение по одному из п. п. 1-66 или п. 70, в котором  $W^1$  представляет собой  $-O-C(=O)-$ .

72. Соединение по одному из п. п. 1-66 или 70-71, в котором один  $R^9$  представляет собой галоген,  $-CN$  или  $-NO_2$ , а остальные переменные  $R^9$  представляют собой водород.

73. Соединение по одному из п. п. 1-66 или 70-71, в котором каждый  $R^9$  представляет собой водород.

74. Соединение по одному из п. п. 1-73, в котором А представляет собой  $C_{2-20}$  алкилен, необязательно замещенный 1-3  $R^{a1}$ .

75. Соединение по одному из п. п. 1-74, в котором А представляет собой  $C_{4-10}$  алкилен, необязательно замещенный 1-3  $R^{a1}$ .

76. Соединение по одному из п. п. 1-75, в котором А представляет собой  $C_{2-20}$  алкилен, замещенный  $R^{a1}$ .

77. Соединение по одному из п. п. 1-76, в котором А представляет собой  $C_{4-10}$  алкилен, замещенный  $R^{a1}$ .

78. Соединение по одному из п. п. 1-75, в котором А представляет собой  $C_{2-20}$  алкилен.

79. Соединение по одному из п. п. 1-75, в котором А представляет собой  $C_{4-10}$  алкилен.

80. Соединение по одному из п. п. 1-73, в котором А представляет собой 2-40-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3  $R^{b1}$ .

81. Соединение по одному из п. п. 1-72, в котором А представляет собой 4-12-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3  $R^{b1}$ .

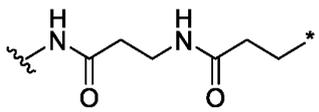
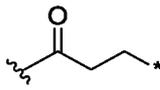
82. Соединение по одному из п. п. 1-73 или п. 80, в котором А представляет собой 2-40-членный гетероалкилен, необязательно замещенный одним  $R^{b1}$ .

83. Соединение по одному из п. п. 1-73 или п. 80, в котором А представляет собой 4-12-членный гетероалкилен, необязательно замещенный одним R<sup>b1</sup>.

84. Соединение по одному из п. п. 1-73 или п. 80, в котором А представляет собой 2-40-членный гетероалкилен.

85. Соединение по одному из п. п. 1-73 или п. 80, в котором А представляет собой 4-12-членный гетероалкилен.

86. Соединение по одному из п. п. 1-73 или 84-85, в котором А

представляет собой  или , при этом  представляет собой ковалентное присоединение к W, а \* представляет собой ковалентную связь с M.

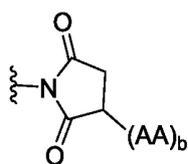
87. Соединение по одному из п. п. 1-54 или 61-73, в котором нижний индекс а представляет собой 0.

88. Соединение по одному из п. п. 1-54 или 67-79, в котором нижний индекс у представляет собой 0.

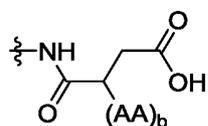
89. Соединение по одному из п. п. 1-54, 58-66 или 79-80, в котором нижний индекс w представляет собой 0.

90. Соединение по одному из п. п. 1-54, в котором сумма нижнего индекса а, нижнего индекса у и нижнего индекса w равна 0.

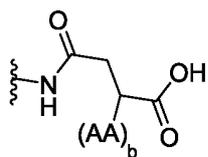
91. Соединение по одному из п. п. 1-90, в котором М представляет собой



92. Соединение по одному из п. п. 1-90, в котором М представляет собой



93. Соединение по одному из п. п. 1-90, в котором М представляет собой



94. Соединение по одному из п. п. 1-93, в котором каждый AA независимо представляет собой природную аминокислоту, при этом  $(AA)_b$  соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома серы.

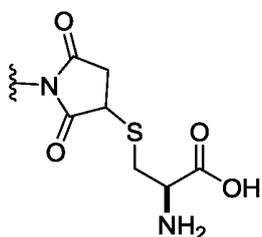
95. Соединение по одному из п. п. 1-93, в котором каждый AA независимо представляет собой природную аминокислоту, при этом  $(AA)_b$  соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома азота.

96. Соединение по одному из п. п. 1-95, в котором каждый нижний индекс  $b$  представляет собой 1.

97. Соединение по одному из п. п. 1-95, в котором каждый нижний индекс  $b$  представляет собой 2.

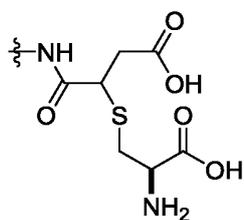
98. Соединение по одному из п. п. 1-95, в котором каждый нижний индекс  $b$  представляет собой 3, 4, 5 или 6.

99. Соединение по одному из п. п. 1-91, п. 94 или п. 96, в котором М



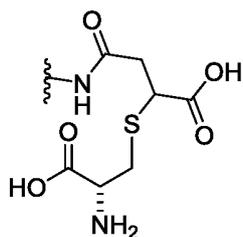
представляет собой

100. Соединение по одному из п. п. 1-90, п. 92 или п. 96, в котором М



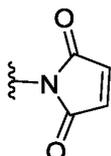
представляет собой

101. Соединение по одному из п. п. 1-90, п. 93 или п. 96, в котором М



представляет собой

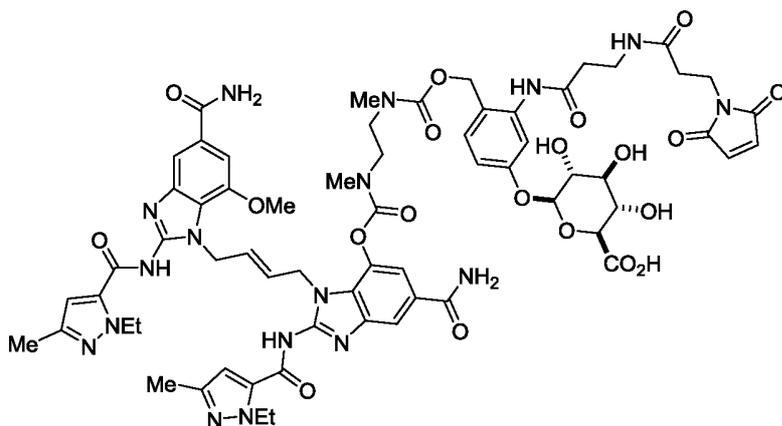
102. Соединение по одному из п. п. 1-90, в котором М представляет собой

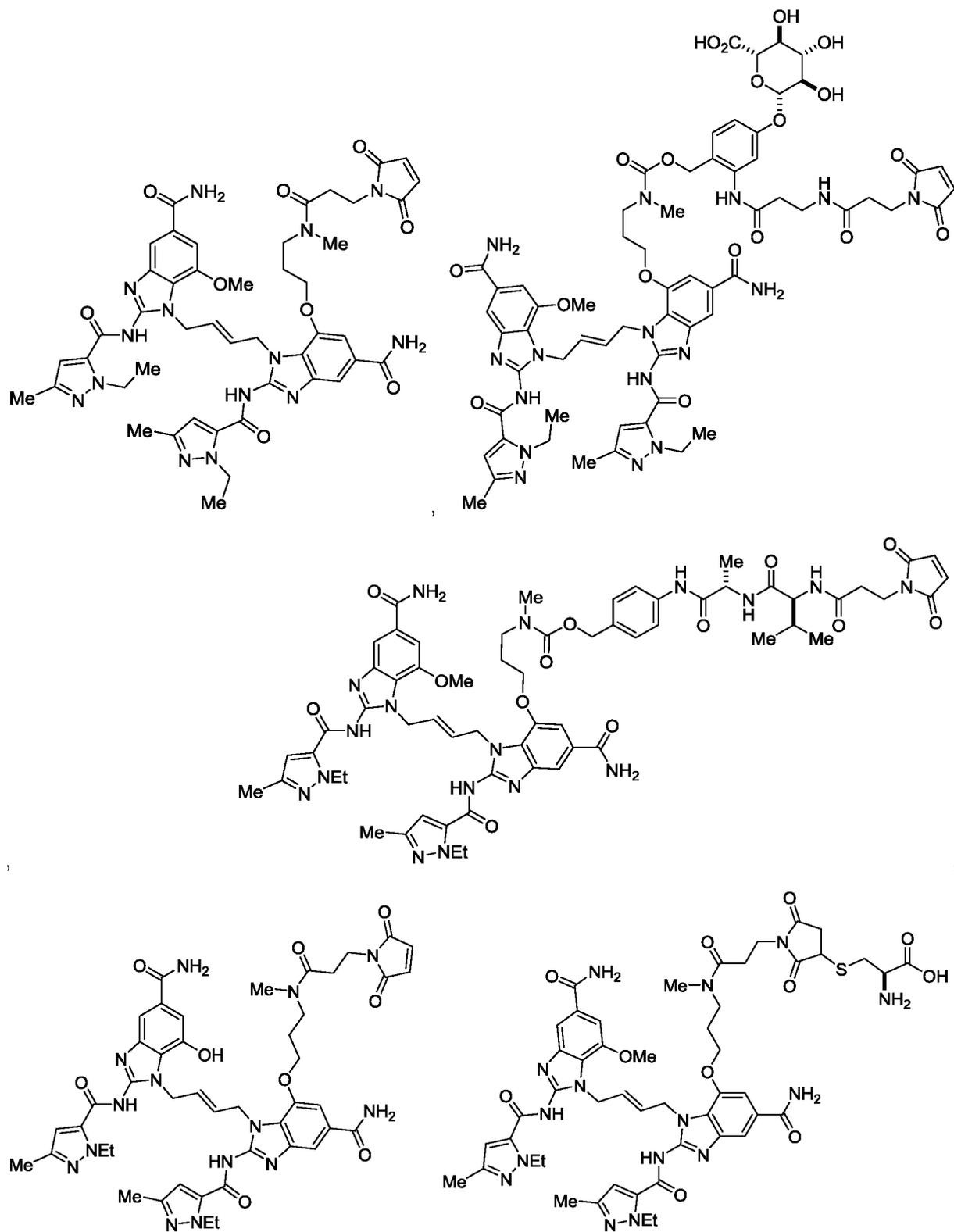


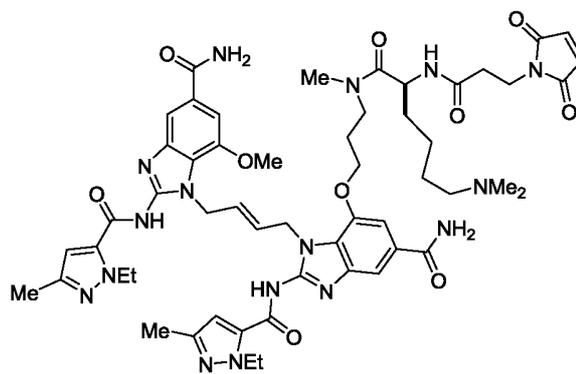
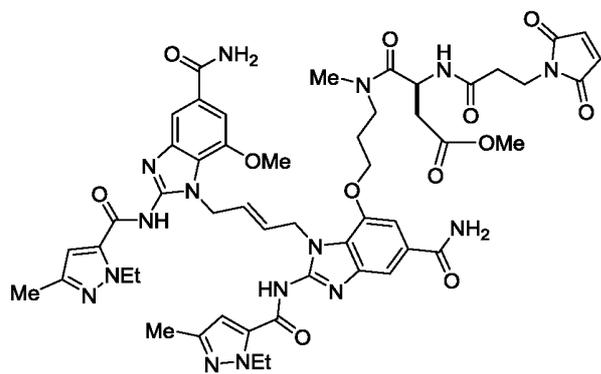
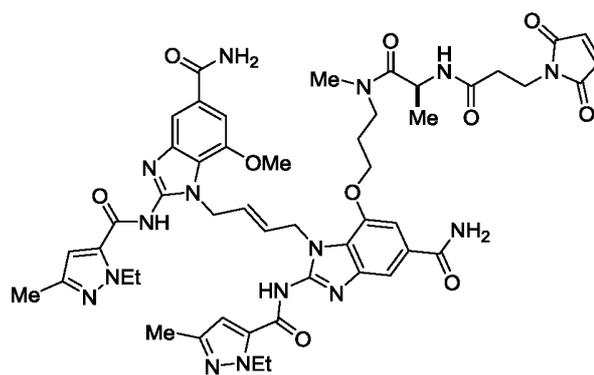
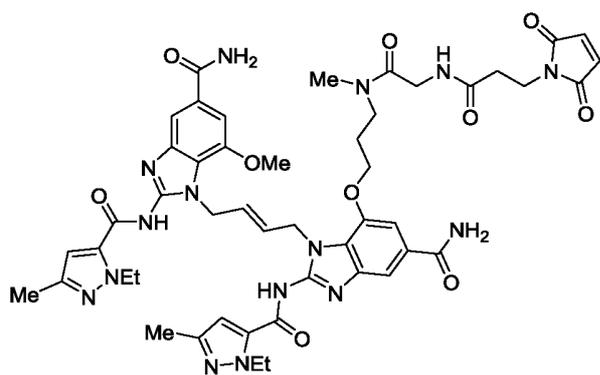
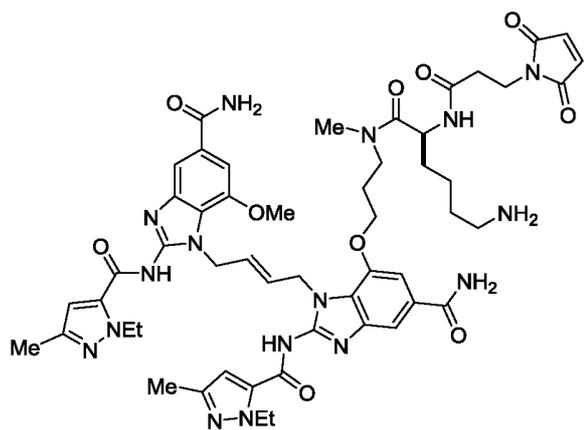
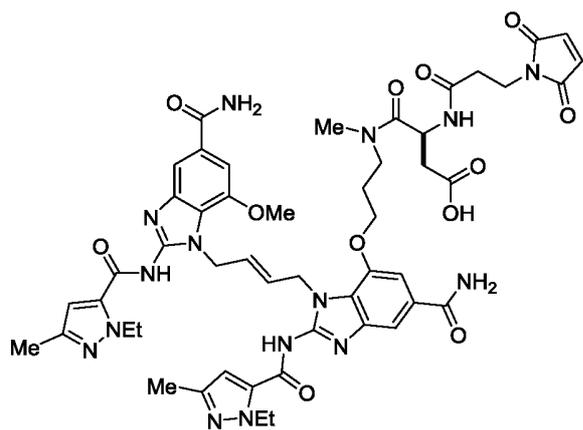
103. Соединение по одному из п. п. 1-102, в котором один из X<sup>B</sup> и L замещен единицей PEG, независимо выбранной из группы, включающей от PEG1 до PEG 72.

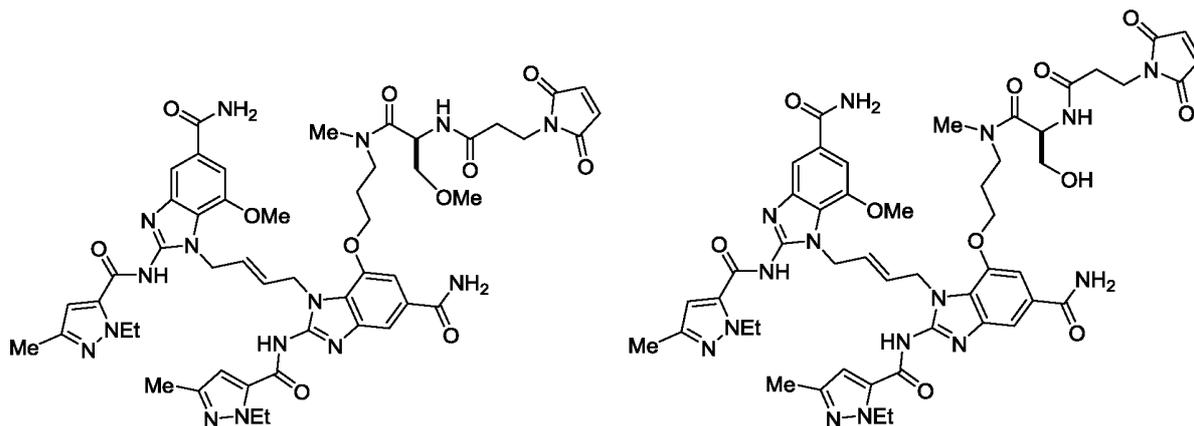
104. Соединение по одному из п. п. 1-102, в котором X<sup>B</sup> и L являются незамещенными.

105. Соединение по п. 1, выбранное из группы, включающей:



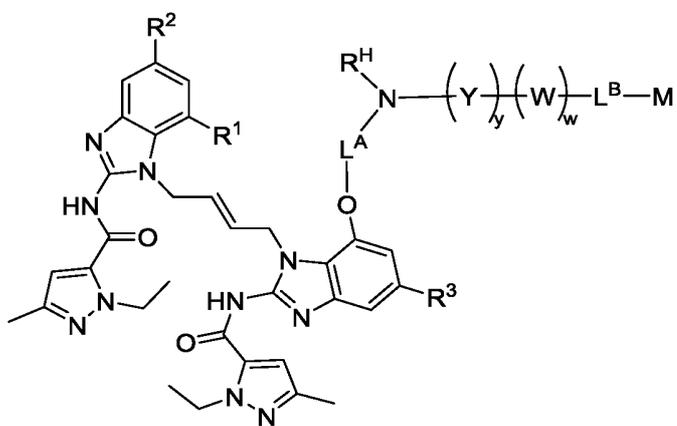






и его фармацевтически приемлемые соли.

106. Соединение по п. 1, имеющее структуру формулы (II-A):



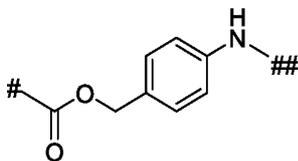
(II-A)

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

$L^A$  представляет собой  $-(CH_2)_{1-6}-$ ,  $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$  или  $-C(O)NR^H(CH_2)_{1-6}-$ ,

6—,

каждый  $R^H$  независимо представляет собой водород или  $C_{1-3}$  алкил,



$Y$  представляет собой

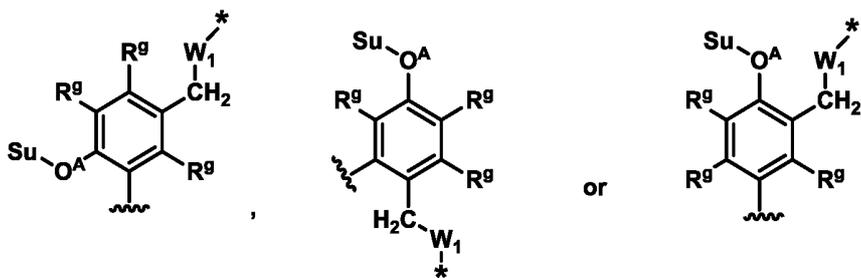
$\#$  представляет собой ковалентное присоединение к  $-NR^HL^A$ ,

$\#\#$  представляет собой ковалентное присоединение к  $W$  или  $L^B$ , и

$L^B$  представляет собой  $-(CH_2)_{1-6}-$ ,  $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$  или



107. Соединение по п. 106, в котором  $R^H$  представляет собой метил.
108. Соединение по п. 106 или п. 107, в котором  $L^A$  представляет собой  $-(\text{CH}_2)_{2-6}-$ .
109. Соединение по п. 106 или п. 107, в котором  $L^A$  представляет собой  $-(\text{CH}_2)_3-$ .
110. Соединение по одному из п. п. 106-109, в котором  $u$  представляет собой 0.
111. Соединение по одному из п. п. 106-109, в котором  $u$  представляет собой 1.
112. Соединение по одному из п. п. 106-111, в котором  $W$  представляет собой цепь, состоящую из 1-3 аминокислот.
113. Соединение по п. 112, в котором каждая из аминокислот цепи  $W$  независимо выбирается из группы, включающей: аланин, валин, изолейцин, лейцин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, гистидин, аргинин, глицин, серин, треонин, фенилаланин, *O*-метилсерин, *O*-метиласпарагиновую кислоту, *O*-метилглутаминовую кислоту, *N*-метиллизин, *O*-метилтирозин, *O*-метилгистидин и *O*-метилтреонин.
114. Соединение по одному из п. п. 106-111, в котором  $W$  представляет собой:



, где:

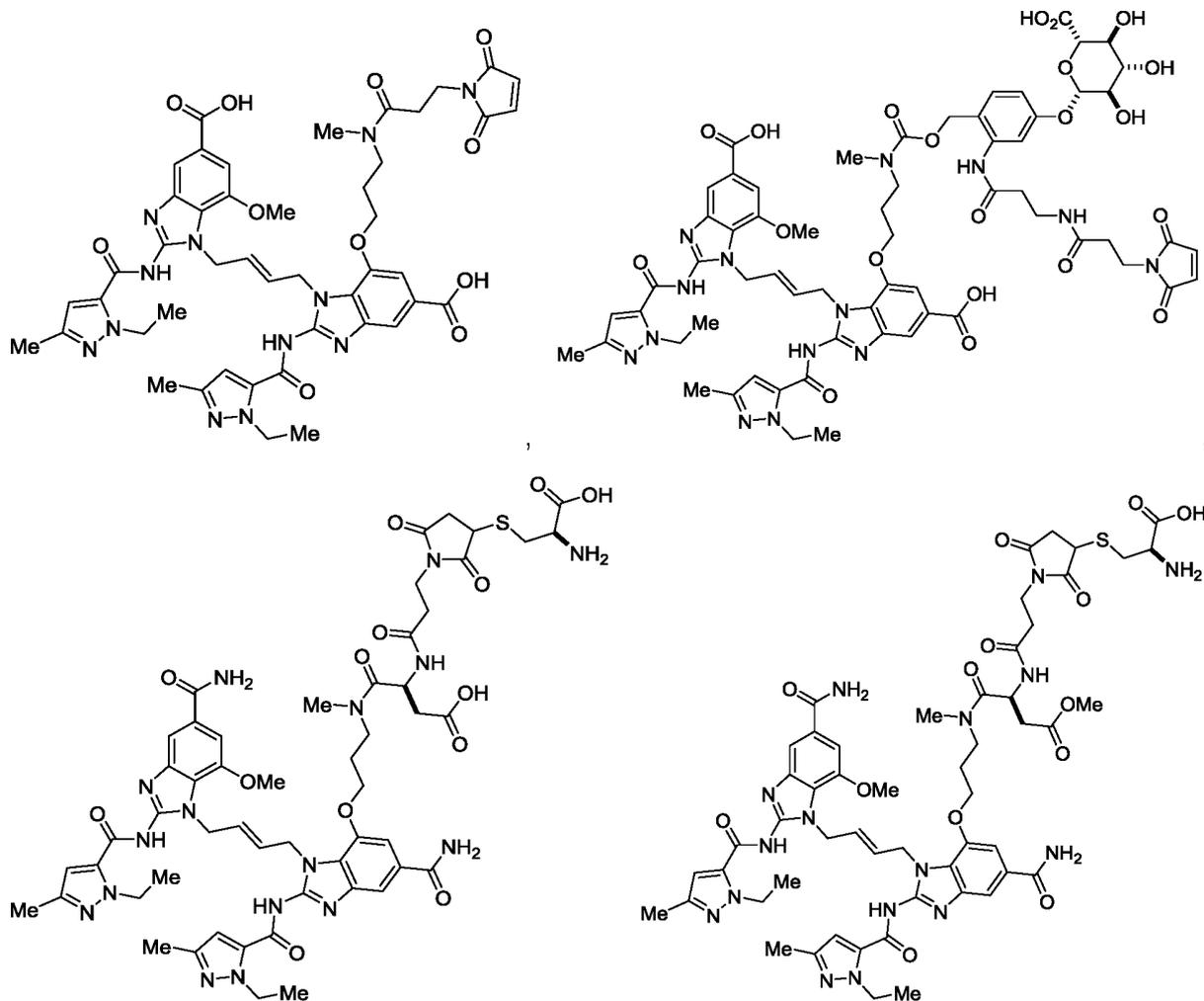
 представляет собой ковалентное присоединение к  $L^B$ , и

\* представляет собой ковалентное присоединение к  $Y$  или  $\text{NR}^H$ .

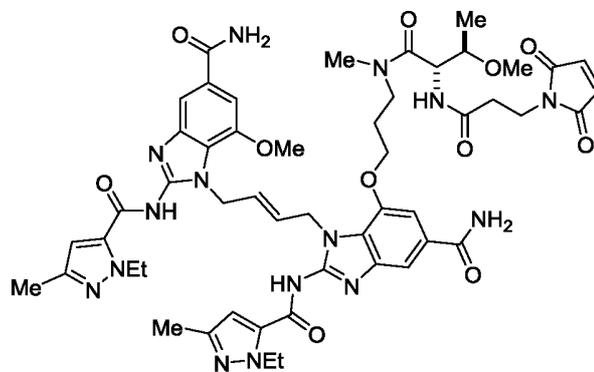
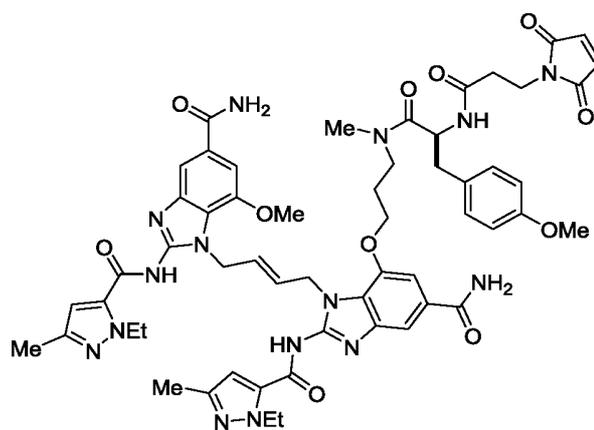
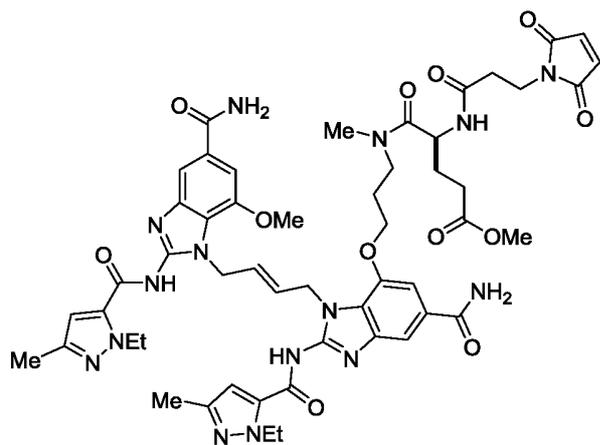
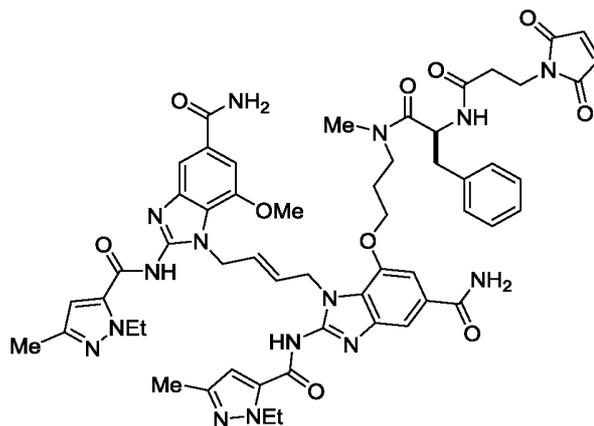
115. Соединение по одному из п. п. 106-114, в котором  $L^B$  представляет собой  $-\text{C(O)}(\text{CH}_2)_2-$ .

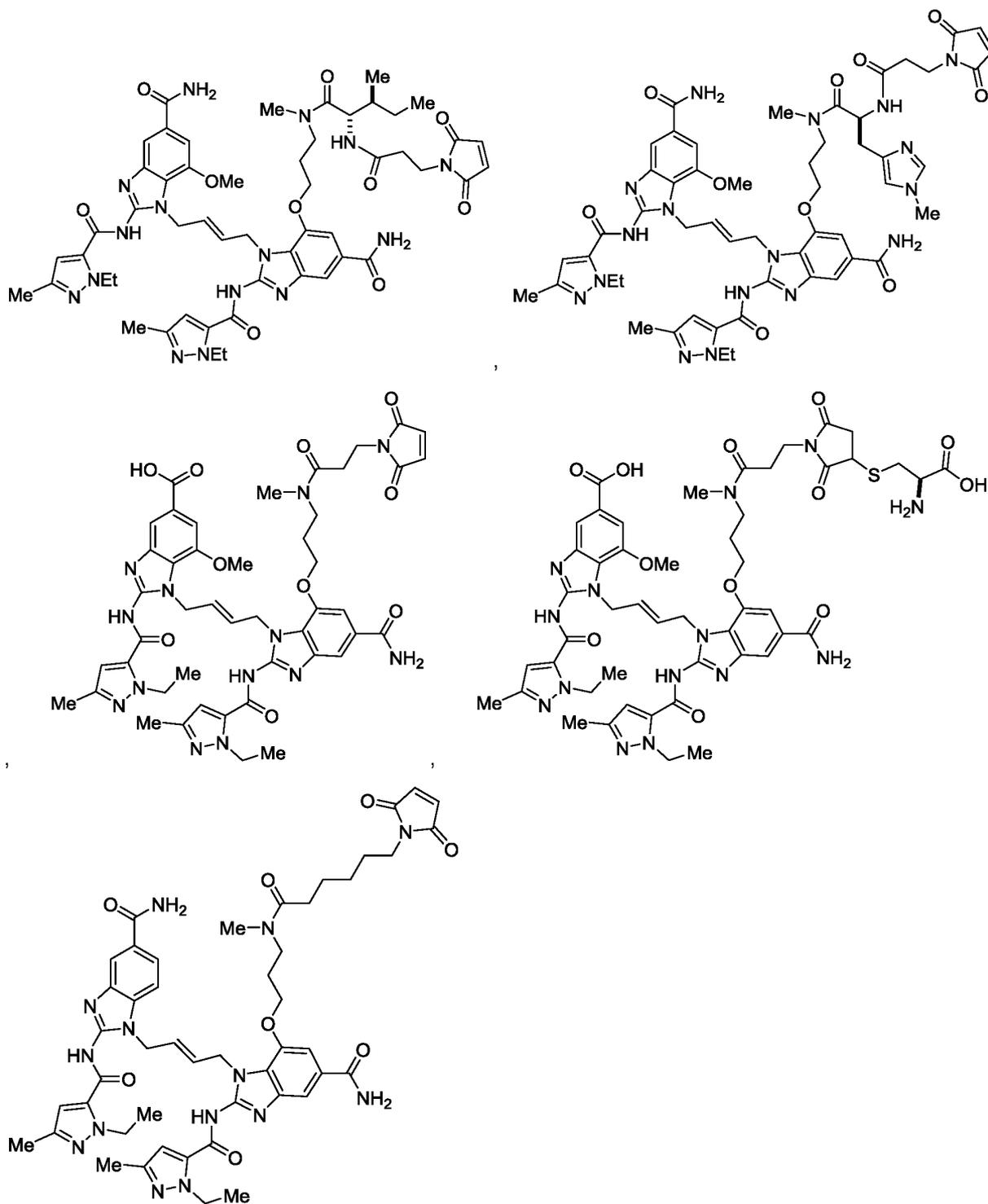
116. Соединение по одному из п. п. 106-114, в котором L<sup>B</sup> представляет собой  $-\text{[NHC(O)(CH}_2\text{)}_2\text{]}_2-$ .

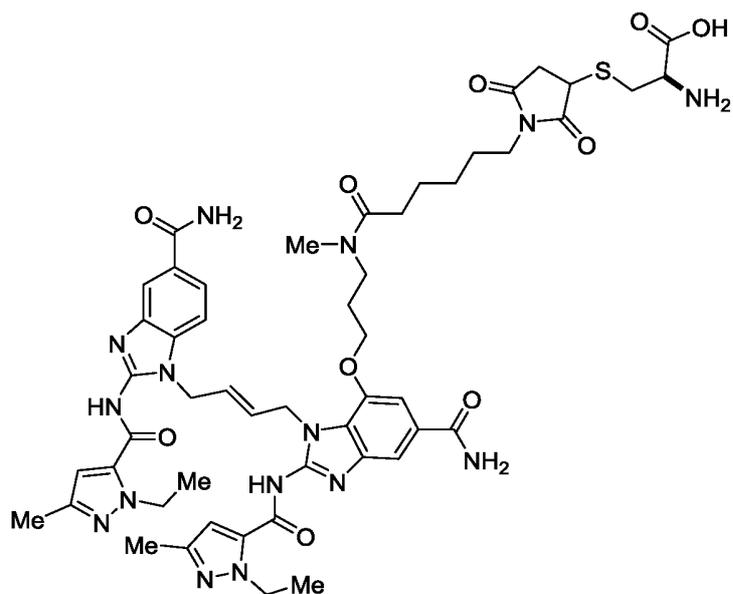
117. Соединение по п. 106, выбранное из группы, включающей:











и их фармацевтически

приемлемые соли.

118. Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), имеющий формулу:



где:

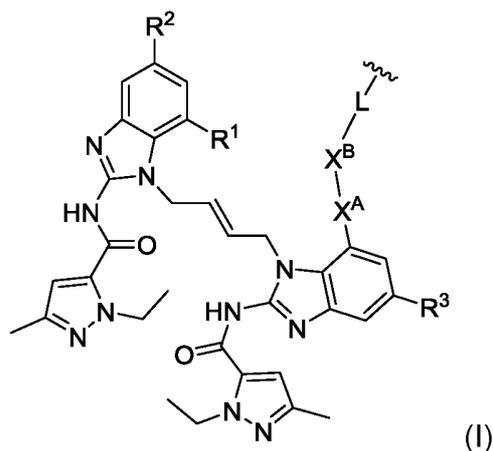
Ab - антитело,

каждый  $\text{S}^*$  представляет собой атом серы из цистеинового остатка антитела,

$\text{M}^1$  - сукцинимид или гидролизованный сукцинимид,

нижний индекс  $p$  представляет собой целое число от 2 до 8, а

каждый (D) представляет собой группу лекарственного средства формулы (I):



где:

~~~~~ представляет собой ковалентное присоединение L к M<sup>1</sup>,

R¹ представляет собой водород, гидроксил, C₁₋₆ алкокси, -(C₁₋₆ алкил)C₁₋₆ алкокси, -(CH₂)_n-NR^AR^B или PEG2-PEG4,

R² и R³ независимо представляют собой -CO₂H, -(C=O)_m-NR^CR^D или -(CH₂)_q-NR^ER^F,

каждый R^A, R^B, R^C, R^D, R^E и R^F независимо представляет собой водород или C₁₋₃ алкил,

каждый нижний индекс n независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

каждый нижний индекс m независимо представляет собой 0 или 1,

каждый нижний индекс q представляет собой целое число от 0 до 6,

X^A представляет собой -CH₂-, -O-, -S-, -NH- или -N(CH₃)-,

X^B отсутствует или представляет собой 2-16-членный гетероалкилен,

L имеет формулу -(A)_a-(W)_w-(Y)_y-, где:

нижний индекс a представляет собой 0 или 1,

нижний индекс y представляет собой 0 или 1,

нижний индекс w представляет собой 0 или 1,

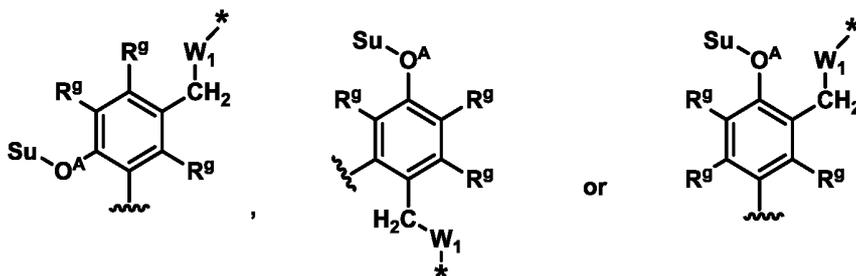
A представляет собой C₂₋₂₀ алкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{a1}, или 2-40-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1},

каждый R^{a1} независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $=O$, $-NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил),

каждый R^{b1} независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $-NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)NR^{d1}R^{e1}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил),

каждый R^{d1} и R^{e1} независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

W содержит 1-12 аминокислот или имеет структуру:



где Su - сахарный компонент,

$-O^A$ - гликозидная связь,

каждый R^g независимо представляет собой водород, галоген, $-CN$ или $-NO_2$,

W^1 отсутствует или представляет собой $-O-C(=O)-$,

~~~~~ представляет собой ковалентное присоединение к A или к  $M^1$ ,

\* представляет собой ковалентное присоединение к Y,  $X^B$  или  $X^A$ ,

Y - саморасщепляющаяся функциональная группа, несаморасщепляющаяся высвобождаемая функциональная группа или нерасщепляемая функциональная группа, и

каждый  $X^B$  и L независимо представляет собой необязательно замещенную функциональную группу PEG от PEG1 до PEG 72.

119. ADC по п. 118, в котором  $R^1$  представляет собой водород.

120. ADC по п. 118, в котором  $R^1$  представляет собой гидроксил.

121. ADC по п. 118, в котором  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$  алкокси.

122. ADC по п. 118 или 121, в котором  $R^1$  представляет собой метокси-группу.
123. ADC по п. 118, в котором  $R^1$  представляет собой  $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$  алкокси.
124. ADC по п. 118 или 123, в котором  $R^1$  представляет собой метоксиэтил.
125. ADC по п. 118, в котором  $R^1$  представляет собой функциональную группу PEG от PEG2 до PEG4.
126. ADC по п. 118, в котором  $R^1$  представляет собой  $-(CH_2)_n-NR^A R^B$ .
127. ADC по п. 118 или п. 126, в котором  $R^A$  и  $R^B$  оба представляют собой водород.
128. ADC по п. 118 или п. 126, в котором  $R^A$  и  $R^B$  независимо представляют собой  $C_{1-3}$  алкил.
129. ADC по п. 118 или п. 126, в котором один из  $R^A$  и  $R^B$  представляет собой водород, а другой из  $R^A$  и  $R^B$  представляет собой  $C_{1-3}$  алкил.
130. ADC по одному из п. п. 118 или 126-129, в котором каждый нижний индекс  $n$  представляет собой 0.
131. ADC по одному из п. п. 118 или 126-129, в котором каждый нижний индекс  $n$  представляет собой 1.
132. ADC по одному из п. п. 118 или 126-129, в котором каждый нижний индекс  $n$  представляет собой 2.
133. ADC по одному из п. п. 118 или 126-129, в котором каждый нижний индекс  $n$  представляет собой 3, 4, 5 или 6.
134. ADC по одному из п. п. 118-133, в котором  $R^2$  и  $R^3$  независимо представляют собой  $-CO_2H$  или  $-(C=O)_m-NR^C R^D$  или  $-(CH_2)_q-NR^E R^F$ , а  $R^2$  и  $R^3$  являются одинаковыми.
135. ADC по одному из п. п. 118-133, в котором  $R^2$  и  $R^3$  независимо представляют собой  $-CO_2H$  или  $-(C=O)_m-NR^C R^D$  или  $-(CH_2)_q-NR^E R^F$ , а  $R^2$  и  $R^3$  являются различными.
136. ADC по одному из п. п. 118-135, в котором  $R^2$  представляет собой  $-(C=O)_m-NR^C R^D$ .

137. ADC по одному из п. п. 118-135, в котором  $R^3$  представляет собой –  $(C=O)_m-NR^C R^D$ .

138. ADC по одному из п. п. 118-137, в котором  $R^C$  и  $R^D$  оба представляют собой водород.

139. ADC по одному из п. п. 118-137, в котором каждый  $R^C$  и  $R^D$  каждый представляет собой  $C_{1-3}$  алкил.

140. ADC по одному из п. п. 118-137, в котором один из  $R^C$  и  $R^D$  представляет собой водород, а другой из  $R^C$  и  $R^D$  представляет собой  $C_{1-3}$  алкил.

141. ADC по одному из п. п. 118-140, в котором каждый нижний индекс  $m$  представляет собой 0.

142. ADC по одному из п. п. 118-140, в котором каждый нижний индекс  $m$  представляет собой 1.

143. ADC по одному из п. п. 118-135, в котором  $R^2$  представляет собой –  $(CH_2)_q-NR^E R^F$ .

144. ADC по одному из п. п. 118-135, в котором  $R^3$  представляет собой –  $(CH_2)_q-NR^E R^F$ .

145. ADC по одному из п. п. 118-135, 143 или 144, в котором  $R^E$  и  $R^F$  оба представляют собой водород.

146. ADC по одному из п. п. 118-135, 143 или 144, в котором каждый  $R^E$  и  $R^F$  независимо представляет собой  $C_{1-3}$  алкил.

147. ADC по одному из п. п. 118-135, 143 или 144, в котором один из  $R^E$  и  $R^F$  представляет собой водород, а другой из  $R^E$  и  $R^F$  представляет собой  $C_{1-3}$  алкил.

148. ADC по одному из п. п. 118-135, 143 или 144, в котором каждый нижний индекс  $q$  представляет собой 0.

149. ADC по одному из п. п. 118-135, 143 или 144, в котором каждый нижний индекс  $q$  представляет собой целое число от 1 до 6.

150. ADC по одному из п. п. 118-135, в котором  $R^3$  представляет собой –  $CO_2H$ .

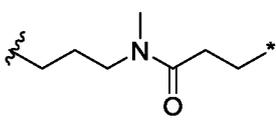
151. ADC по одному из п. п. 118-135, в котором  $R^2$  представляет собой –  $CO_2H$ .

152. ADC по одному из п. п. 118-151, в котором  $X^A$  представляет собой  $-\text{CH}_2-$ .
153. ADC по одному из п. п. 118-151, в котором  $X^A$  представляет собой  $-\text{O}-$ .
154. ADC по одному из п. п. 118-151, в котором  $X^A$  представляет собой  $-\text{S}-$ .
155. ADC по одному из п. п. 118-151, в котором  $X^A$  представляет собой  $-\text{NH}-$ .
156. ADC по одному из п. п. 118-155, в котором  $X^B$  представляет собой 2-16-членный гетероалкилен.
157. ADC по одному из п. п. 118-155, в котором  $X^B$  представляет собой 2-12-членный гетероалкилен.
158. ADC по одному из п. п. 118-157, в котором  $X^B$  представляет собой 2-8-членный гетероалкилен.
159. ADC по одному из п. п. 118-158, в котором гетероалкилен имеет разветвленную цепь, содержащую 1-4 метильные группы.
160. ADC по одному из п. п. 118-159, в котором гетероалкилен имеет разветвленную цепь, содержащую 1 или 2 метильные группы.
161. ADC по одному из п. п. 118-160, в котором гетероалкилен замещен 1-3 фторгруппами.
162. ADC по одному из п. п. 118-161, в котором  $X^B$  содержит один или два атома азота.
163. ADC по одному из п. п. 118-162, в котором  $X^B$  содержит одну или две оксо-группы.
164. ADC по одному из п. п. 118-163, в котором  $X^B$  содержит один атом азота и одну оксо-группу.
165. ADC по одному из п. п. 118-163, в котором  $X^B$  содержит два атома азота и одну оксо-группу.
166. ADC по одному из п. п. 118-158 или 162-164, в котором  $X^B$  представляет

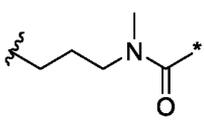


присоединение к  $X^A$ , а \* представляет собой ковалентное присоединение к L или к  $M^1$ .

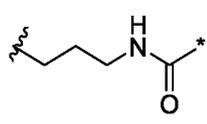
167. ADC по одному из п. п. 118-158 или 162-164, в котором  $X^B$  представляет

собой , где  - ковалентное присоединение к  $X^A$ , а \* - ковалентное присоединение к L или к  $M^1$ .

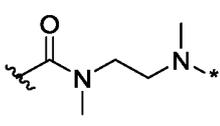
168. ADC по одному из п. п. 118-158 или 162-163, в котором  $X^B$  представляет

собой , где  - ковалентное присоединение к  $X^A$ , а \* - ковалентное присоединение к L или к  $M^1$ .

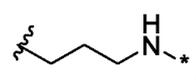
169. ADC по одному из п. п. 118-158 или 162-164, в котором  $X^B$  представляет

собой , где  - ковалентное присоединение к  $X^A$ , а \* - ковалентное присоединение к L или к  $M^1$ .

170. ADC по одному из п. п. 118-158 или 162-165, в котором  $X^B$  представляет

собой , где  - ковалентное присоединение к  $X^A$ , а \* - ковалентное присоединение к L.

171. ADC по одному из п. п. 118-158 или 162-165, в котором  $X^B$  представляет

собой , где  - ковалентное присоединение к  $X^A$ , а \* - ковалентное присоединение к L.

172. ADC по одному из п. п. 118-158, в котором  $X^B$  отсутствует.

173. ADC по одному из п. п. 118-171, в котором нижний индекс a представляет собой 1.

174. ADC по одному из п. п. 118-171 или п. 173, в котором нижний индекс u представляет собой 1.

175. ADC по одному из п. п. 118-173, в котором нижний индекс w представляет собой 1.

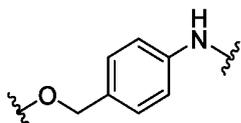
176. ADC по одному из п. п. 118-171, в котором сумма нижнего индекса а, нижнего индекса у и нижнего индекса w равна 1.

177. ADC по одному из п. п. 118-171, в котором сумма нижнего индекса а, нижнего индекса у и нижнего индекса w равна 2.

178. ADC по одному из п. п. 118-171, в котором сумма нижнего индекса а, нижнего индекса у и нижнего индекса w равна 3.

179. ADC по одному из п. п. 118-178, в котором Y представляет собой саморасщепляющуюся функциональную группу.

180. ADC по одному из п. п. 118-178, в котором Y представляет собой



181. ADC по одному из п. п. 118-172, в котором Y представляет собой нерасщепляемую функциональную группу, и а представляет собой 0.

182. ADC по одному из п. п. 118-178 или 181, в котором Y представляет собой MCC или SMCC.

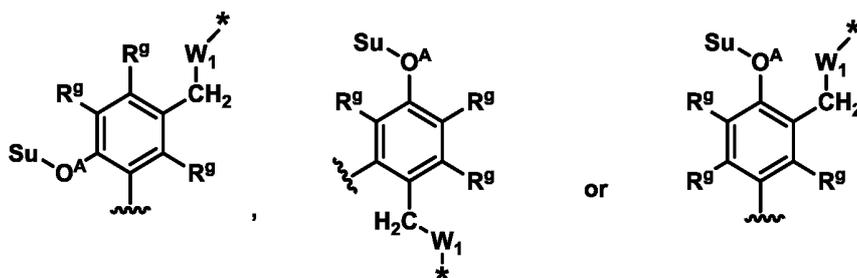
183. ADC по одному из п. п. 118-178 или 181, в котором Y представляет собой функциональную группу PEG от PEG4 до PEG12.

184. ADC по одному из п. п. 118-183, в котором W содержит 1-12 аминокислот.

185. ADC по одному из п. п. 118-184, в котором W содержит 1-6 аминокислот.

186. ADC по одному из п. п. 118-185, в котором каждая из аминокислот в W выбирается из группы, включающей: аланин, глицин, лизин, серин, аспарагиновую кислоту, метиловый эфир аспарагиновой кислоты, N,N-диметил-лизин, фенилаланин, цитруллин, валин-аланин, валин-цитруллин, фенилаланин-лизин или метиловый эфир гомосерина.

187. ADC по одному из п. п. 118-183, в котором W имеет структуру:



где Su - сахарный компонент,

$-O^A$  - гликозидная связь,

каждый  $R^9$  независимо представляет собой водород, галоген,  $-CN$  или  $-NO_2$ ,

$W^1$  отсутствует или представляет собой  $-O-C(=O)-$ ,

~~~~~ представляет собой ковалентное присоединение к A или к  $M^1$ ,

и

* представляет собой ковалентное присоединение к Y, X^B или X^A .

188. ADC по одному из п. п. 118-187, в котором W^1 представляет собой $-O-C(=O)-$.

189. ADC по одному из п. п. 118-187, в котором W^1 отсутствует.

190. ADC по одному из п. п. 118-188, в котором один R^9 представляет собой галоген, $-CN$ или $-NO_2$, а остальные переменные R^9 представляют собой водород.

191. ADC по одному из п. п. 118-188, в котором каждый R^9 представляет собой водород.

192. ADC по одному из п. п. 118-191, в котором A представляет собой C_{2-20} алкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{a1} .

193. ADC по одному из п. п. 118-192, в котором A представляет собой C_{4-10} алкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{a1} .

194. ADC по одному из п. п. 118-191, в котором A представляет собой C_{2-20} алкилен, замещенный R^{a1} .

195. ADC по одному из п. п. 118-192, в котором A представляет собой C_{4-10} алкилен, замещенный R^{a1} .

196. ADC по одному из п. п. 118-191, в котором A представляет собой C_{2-20} алкилен.

197. ADC по одному из п. п. 118-192, в котором А представляет собой C_{4-10} алкилен.

198. ADC по одному из п. п. 118-191, в котором А представляет собой 2-40-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1} .

199. ADC по одному из п. п. 118-191, в котором А представляет собой 4-12-членный гетероалкилен, необязательно замещенный 1-3 R^{b1} .

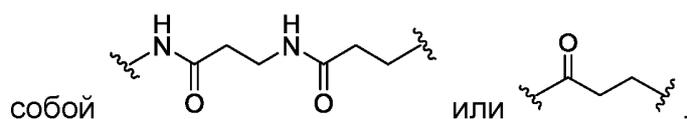
200. ADC по одному из п. п. 118-191 или п. 199, в котором А представляет собой 2-40-членный гетероалкилен, необязательно замещенный одним R^{b1} .

201. ADC по одному из п. п. 118-191 или п. 199, в котором А представляет собой 4-12-членный гетероалкилен, необязательно замещенный одним R^{b1} .

202. ADC по одному из п. п. 118-191 или п. 199, в котором А представляет собой 2-40-членный гетероалкилен.

203. ADC по одному из п. п. 118-191 или п. 199, в котором А представляет собой 4-12-членный гетероалкилен.

204. ADC по одному из п. п. 118-191 или 202-203, в котором А представляет



205. ADC по одному из п. п. 118-145, в котором нижний индекс а представляет собой 0.

206. ADC по одному из п. п. 118-145, в котором в нижний индекс у представляет собой 0.

207. ADC по одному из п. п. 118-145, в котором нижний индекс w представляет собой 0.

208. ADC по одному из п. п. 118-145 или 205-207, в котором сумма нижнего индекса а, нижнего индекса у и нижнего индекса w равна 0.

209. ADC по одному из п. п. 118-208, в котором линкер представляет собой расщепляемый линкер.

210. ADC по одному из п. п. 118-209, в котором линкер расщепляется одним или более из следующих веществ: катепсин В, С или D, β -глюкуронидаза и β -маннозидаза.

211. ADC по п. п. 118-208, в котором линкер представляет собой нерасщепляемый линкер.

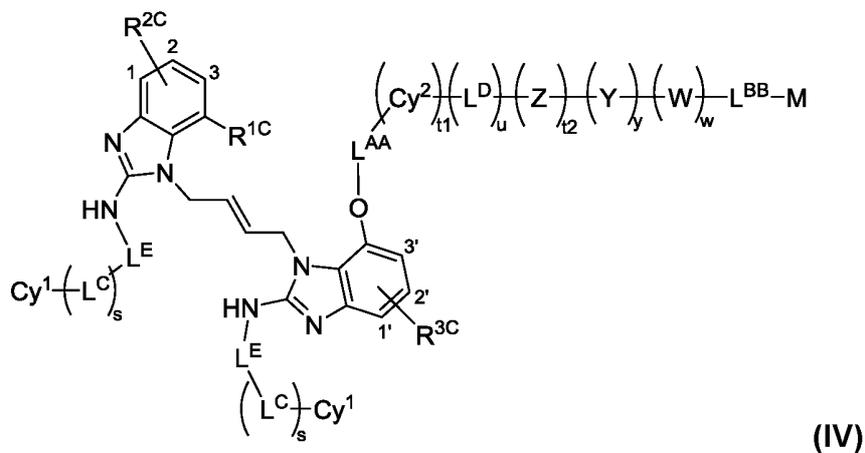
212. ADC по одному из п. п. 118-211, в котором антитело представляет собой гуманизованное антитело.

213. ADC по одному из п. п. 118-212, в котором антитело представляет собой моноклональное антитело.

214. ADC по одному из п. п. 118-187, в котором антитело фукозилировано.

215. ADC по одному из п. п. 118-187, в котором антитело афукозилировано.

216. Соединение, имеющее структуру формулы (IV):



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

R^{1C} представляет собой водород, гидроксил, C_{1-6} алкокси, $-(C_{1-6}$ алкил) C_{1-6} алкокси, $-(CH_2)_n-NR^A R^B$ или PEG2-PEG4,

R^{2C} представляет собой $-CO_2R^M$, $-(C=O)NR^C R^D$, $-S(O)_2NR^C R^D$, $-S(O)_2R^M$, $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, $-(CH_2)_q-OR^M$, $-O(C=O)-NR^E R^F$ или $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$, где R^{2C} присоединен к любой позиции, отмеченной цифрами 1, 2 или 3,

R^{3C} представляет собой $-CO_2R^M$, $-(C=O)NR^C R^D$, $-S(O)_2NR^C R^D$, $-S(O)_2R^M$, $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, $-(CH_2)_q-OR^M$, $-O(C=O)-NR^E R^F$ или $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$, где R^{3C} присоединен к любой позиции, отмеченной цифрами 1', 2' или 3',

каждый R^A , R^B , R^C , R^D , R^E , R^F и R^M независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил,

каждый нижний индекс n независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

каждый нижний индекс q независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

L^E представляет собой $-(C=O)-$ или $-S(O)_2-$,

L^C представляет собой $-(CR^I R^J)_{1-3}-$

каждый R^I и R^J независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

нижний индекс s представляет собой 0 или 1,

каждый Sy^1 независимо представляет собой 4-6-членный гетероцикл, 5-6-членный гетероарил или C_{3-6} циклоалкил, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K ,

каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $=O$, $-NR^{d2}R^{e2}$, $-C(O)NR^{d2}R^{e2}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил),

каждый R^{d2} и R^{e2} независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)NR^L(CH_2)_{1-6}-$, $-(CH_2)_{1-6}O-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}O-$ или $-C(O)NR^L(CH_2)_{1-6}O-$,

R^L представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

Sy^2 представляет собой C_{3-6} циклоалкил, 4-6-членный гетероцикл, 5-6-членный гетероарил или фенил, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^U ,

каждый R^U независимо выбирается из группы, включающей: $-CO_2R^{i1}$, $-(C=O)NR^{d3}R^{e3}$, $-S(O)_2NR^{d3}R^{e3}$, $-(CH_2)_{q1}-NR^{g1}R^{h1}$, $-(CH_2)_{q1}-OR^{i1}$ и $-(CH_2)_{q1}-(OCH_2CH_2)_{1-8}OH$,

каждый R^{d3} , R^{e3} , R^{g1} , R^{h1} и R^{i1} независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил,

нижний индекс $q1$ представляет собой целое число от 0 до 6,

нижние индексы $t1$ и $t2$ независимо представляет собой 0 или 1, при этом по меньшей мере один из $t1$ и $t2$ представляет собой 1,

L^D представляет собой $-(CH_2)_{1-6}-$,

нижний индекс и представляет собой 0 или 1,

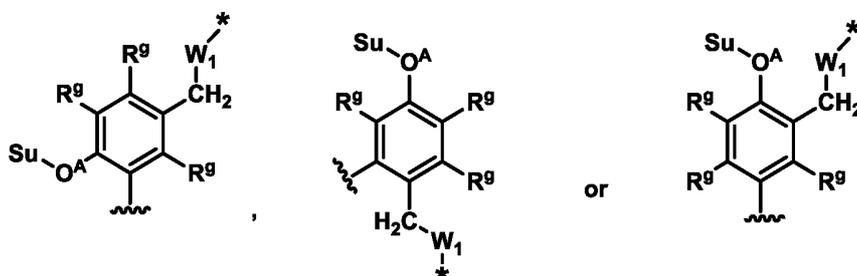
Z представляет собой $-H(R^{HH})-$ или $-H^+(C_{1-6} \text{ алкил})(R^{HH})-$,

R^{HH} представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{3-6} циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{3-6}$ циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{1-3}$ алкокси, $-(CH_2)_{1-3}$ 4-6-членный гетероцикл или $-(CH_2)_{1-3}$ 5-6-членный гетероарил,

Y представляет собой саморасщепляющуюся функциональную группу, несаморасщепляющуюся высвобождаемую функциональную группу или нерасщепляемую функциональную группу,

нижний индекс y представляет собой 0 или 1,

W представляет собой цепь из 1-12 аминокислот или имеет структуру:



где Su - сахарный компонент,

$-O^A-$ - гликозидная связь,

каждый R^9 независимо представляет собой водород, галоген, $-CN$ или $-NO_2$,

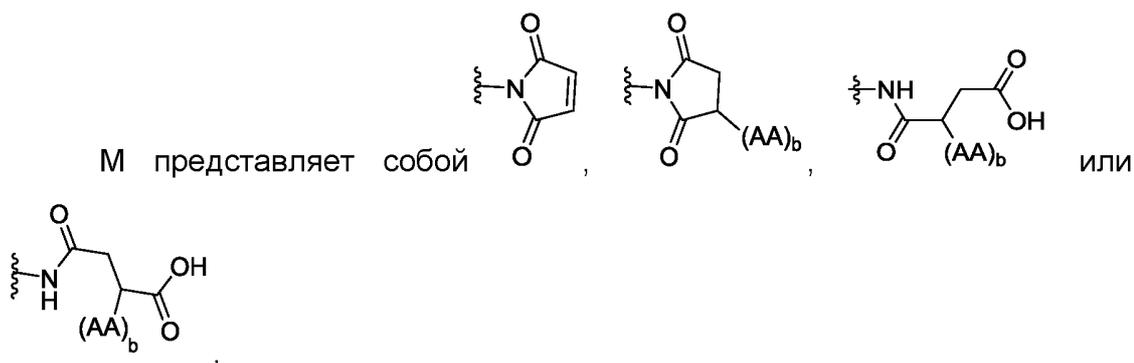
W^1 отсутствует или представляет собой $-O-C(=O)-$,

\sim представляет собой ковалентное присоединение к L^{BB} ,

$*$ представляет собой ковалентное присоединение к Y , L^D , NR^{HH} или Su^2 ,

нижний индекс w представляет собой 0 или 1,

L^{BB} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$ или $-[NHC(O)(CH_2)_{1-4}]_{1-3}-$ и



каждый AA представляет собой независимо выбранную аминокислоту, при этом $(AA)_b$ соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома серы, и

каждый нижний индекс b независимо представляет собой целое число от 1 до 6.

217. Соединение по п. 216, в котором R^{1C} представляет собой водород.
218. Соединение по п. 216, в котором R^{1C} представляет собой гидроксил.
219. Соединение по п. 216, в котором R^{1C} представляет собой C_{1-6} алкокси.
220. Соединение по п. 216, в котором R^{1C} представляет собой метокси-группу.
221. Соединение по п. 216, в котором R^{1C} представляет собой $-(C_{1-6}$ алкил) C_{1-6} алкокси.
222. Соединение по п. 216, в котором R^{1C} представляет собой метоксиэтил.
223. Соединение по п. 216, в котором R^{1C} представляет собой функциональную группу PEG от PEG2 до PEG4.
224. Соединение по п. 216, в котором R^{1C} представляет собой $-(CH_2)_n-NR^A R^B$.
225. Соединение по одному из п. п. 216-224, в котором R^A и R^B оба представляют собой водород.
226. Соединение по одному из п. п. 216-224, в котором R^A и R^B независимо представляет собой C_{1-3} алкил.
227. Соединение по одному из п. п. 216-224, в котором один из R^A и R^B представляет собой водород, а другой из R^A и R^B представляет собой C_{1-3} алкил.

228. Соединение по одному из п. п. 216-227, в котором каждый нижний индекс n представляет собой 0.

229. Соединение по одному из п. п. 216-227, в котором каждый нижний индекс n представляет собой 1.

230. Соединение по одному из п. п. 216-227, в котором каждый нижний индекс n представляет собой 2.

231. Соединение по одному из п. п. 216-227, в котором каждый нижний индекс n представляет собой 3, 4, 5 или 6.

232. Соединение по одному из п. п. 216-231, в котором R^{2C} и R^{3C} независимо представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^C\text{R}^D$ или $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^E\text{R}^F$, а R^{2C} и R^{3C} являются одинаковыми.

233. Соединение по одному из п. п. 216-231, в котором R^{2C} и R^{3C} независимо представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^C\text{R}^D$ или $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^E\text{R}^F$, а R^{2C} и R^{3C} являются различными.

234. Соединение по одному из п. п. 216-231, в котором R^{2C} представляет собой $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^C\text{R}^D$.

235. Соединение по одному из п. п. 216-231, в котором R^{3C} представляет собой $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^C\text{R}^D$.

236. Соединение по одному из п. п. 216-235, в котором R^C и R^D оба представляют собой водород.

237. Соединение по одному из п. п. 216-235, в котором каждый R^C и R^D независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

238. Соединение по одному из п. п. 216-235, в котором один из R^C и R^D представляет собой водород, а другой из R^C и R^D представляет собой C_{1-3} алкил.

239. Соединение по одному из п. п. 216-238, в котором каждый нижний индекс m представляет собой 0.

240. Соединение по одному из п. п. 216-238, в котором каждый нижний индекс m представляет собой 1.

241. Соединение по одному из п. п. 216-240, в котором R^{2C} представляет собой $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^E\text{R}^F$.

242. Соединение по одному из п. п. 216-241, в котором R^{3C} представляет собой $-(CH_2)_q-NR^E R^F$.

243. Соединение по одному из п. п. 216-242, в котором R^E и R^F оба представляют собой водород.

244. Соединение по одному из п. п. 216-242, в котором каждый R^E и R^F независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

245. Соединение по одному из п. п. 216-242, в котором один из R^E и R^F представляет собой водород, а другой из R^E и R^F представляет собой C_{1-3} алкил.

246. Соединение по одному из п. п. 216-245, в котором каждый нижний индекс q представляет собой 0.

247. Соединение по одному из п. п. 216-245, в котором каждый нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 6.

248. Соединение по одному из п. п. 216-247, в котором R^{2C} представляет собой $-CO_2R^M$.

249. Соединение по одному из п. п. 216-248, в котором R^{3C} представляет собой $-CO_2R^M$.

250. Соединение по п. 248 или п. 249, в котором R^M представляет собой водород.

251. Соединение по п. 248 или п. 249, в котором R^M представляет собой C_{1-3} алкил.

252. Соединение по одному из п. п. 216-247, в котором R^{2C} представляет собой $-(CH_2)_q-OR^M$.

253. Соединение по одному из п. п. 216-247 и п. 252, в котором R^{3C} представляет собой $-(CH_2)_q-OR^M$.

254. Соединение по п. 252 или п. 253, в котором R^M представляет собой водород.

255. Соединение по одному из п. п. 252-254, в котором q представляет собой 0.

256. Соединение по одному из п. п. 252-254, в котором q представляет собой 1.

257. Соединение по одному из п. п. 216-247, в котором R^{2C} представляет собой $-O(C=O)-NR^E R^F$.

258. Соединение по одному из п. п. 216-247 и п. 257, в котором R^{3C} представляет собой $-O(C=O)-NR^E R^F$.

259. Соединение по одному из п. п. 216-258, в котором R^E и R^F оба представляют собой водород.

260. Соединение по одному из п. п. 216-258, в котором каждый R^E и R^F независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

261. Соединение по одному из п. п. 216-258, в котором один из R^E и R^F представляет собой водород, а другой из R^E и R^F представляет собой C_{1-3} алкил.

262. Соединение по одному из п. п. 216-247, в котором R^{2C} представляет собой $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$.

263. Соединение по одному из п. п. 216-247 и п. 262, в котором R^{3C} представляет собой $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$.

264. Соединение по п. 262 или п. 263, в котором все R^E , R^F и R^M представляют собой водород.

265. Соединение по п. 262 или п. 263, в котором каждый R^E , R^F и R^M независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

266. Соединение по п. 262 или п. 263, в котором один из R^E , R^F и R^M представляет собой C_{1-3} алкил и остальные из R^E , R^F и R^M представляют собой водород.

267. Соединение по одному из п. п. 216-247, в котором R^{2C} представляет собой $-S(O)_2NR^C R^D$.

268. Соединение по одному из п. п. 216-247 и п. 267, в котором R^{3C} представляет собой $-S(O)_2NR^C R^D$.

269. Соединение по п. 267 или п. 268, в котором R^C и R^D оба представляют собой водород.

270. Соединение по п. 267 или п. 268, в котором каждый R^C и R^D независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

271. Соединение по п. 267 или п. 268, в котором один из R^C и R^D представляет собой водород, а другой из R^C и R^D представляет собой C_{1-3} алкил.

272. Соединение по одному из п. п. 216-247, в котором R^{2C} представляет собой $-S(O)_2R^M$.

273. Соединение по одному из п. п. 216-247 и п. 272, в котором R^{3C} представляет собой $-S(O)_2R^M$.

274. Соединение по п. 272 или п. 273, в котором R^M представляет собой водород.

275. Соединение по п. 272 или п. 273, в котором R^M представляет собой C_{1-3} алкил.

276. Соединение по одному из п. п. 216-275, в котором R^{2C} присоединен в позиции 1.

277. Соединение по одному из п. п. 216-275, в котором R^{2C} присоединен в позиции 2.

278. Соединение по одному из п. п. 216-275, в котором R^{2C} присоединен в позиции 3.

279. Соединение по одному из п. п. 216-275, в котором R^{3C} присоединен в позиции 1'.

280. Соединение по одному из п. п. 216-275, в котором R^{3C} присоединен в позиции 2'.

281. Соединение по одному из п. п. 216-275, в котором R^{3C} присоединен в позиции 3'.

282. Соединение по одному из п. п. 216-281, в котором L^E представляет собой $-(C=O)-$.

283. Соединение по одному из п. п. 216-281, в котором L^E представляет собой $-S(O)_2-$.

284. Соединение по одному из п. п. 216-283, в котором каждый R^I и R^J представляет собой водород.

285. Соединение по одному из п. п. 216-283, в котором каждый R^I и R^J представляет собой C_{1-3} алкил.

286. Соединение по одному из п. п. 216-283, в котором один из R^I и R^J представляет собой водород, а другой из R^I и R^J представляет собой C_{1-3} алкил.

287. Соединение по одному из п. п. 216-286, в котором L^C представляет собой $-(CR^I R^J)-$.

288. Соединение по одному из п. п. 216-287, в котором s представляет собой 0.

289. Соединение по одному из п. п. 216-287, в котором s представляет собой 1.

290. Соединение по одному из п. п. 216-289, в котором каждый Su^1 независимо представляет собой 5-6-членный гетероарил.

291. Соединение по одному из п. п. 216-289, в котором каждый Su^1 представляет собой пиразол, необязательно замещенный одним или более R^K .

292. Соединение по одному из п. п. 216-289, в котором каждый Su^1 независимо выбирается из группы, включающей: пиразол, имидазол, фуран, тиофен, тиазол, изотиазол, оксазол, изоксазол, пиррол, пиридазин, пиридин, пиримидин и пиазин, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K .

293. Соединение по одному из п. п. 216-289, в котором каждый Su^1 независимо выбирается из группы, включающей: имидазол, фуран, тиофен, тиазол, изотиазол, оксазол, изоксазол, пиррол, пиридазин, пиридин, пиримидин и пиазин, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K .

294. Соединение по одному из п. п. 216-289, в котором каждый Su^1 независимо представляет собой C_{4-5} циклоалкил, необязательно замещенный одним или более R^K .

295. Соединение по одному из п. п. 216-294, в котором каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-3} алкил, C_{1-3} галоалкил и галоген.

296. Соединение по п. 295, в котором каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: метил, этил, $-CF_3$ и галоген.

297. Соединение по одному из п. п. 216-296, в котором все Su^1 являются одинаковыми.

298. Соединение по одному из п. п. 216-296, в котором все Su^1 являются различными.

299. Соединение по одному из п. п. 216-298, в котором L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}-$.

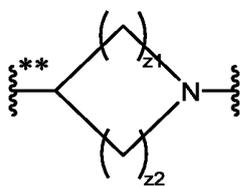
300. Соединение по одному из п. п. 216-298, в котором L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-3}-$.

301. Соединение по одному из п. п. 216-298, в котором L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}O-$.

302. Соединение по одному из п. п. 216-298, в котором L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-3}O-$.

303. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Su^2 представляет собой 4-6-членный гетероцикл.

304. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Su^2 имеет структуру:



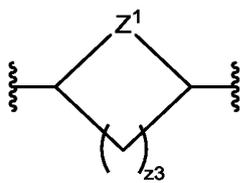
, где каждый из нижних индексов $z1$ и $z2$ независимо представляет собой целое число от 1 до 3, а $**$ показывает присоединение к L^{AA} .

305. Соединение по п. 304, в котором $z1$ и $z2$ представляют собой 1.

306. Соединение по п. 304, в котором $z1$ и $z2$ представляют собой 2.

307. Соединение по п. 304, в котором $z1$ представляет собой 1, а $z2$ представляет собой 2.

308. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Su^2 имеет структуру:



, где Z^1 выбирается из группы, включающей: $-O-$, $-S-$, $-CR^N R^O-$ и $-NR^P-$, R^N , R^O и R^P независимо представляют собой водород или C_{1-6} алкил, нижний индекс $z3$ представляет собой целое число от 1 до 3, а $**$ показывает присоединение к L^{AA} .

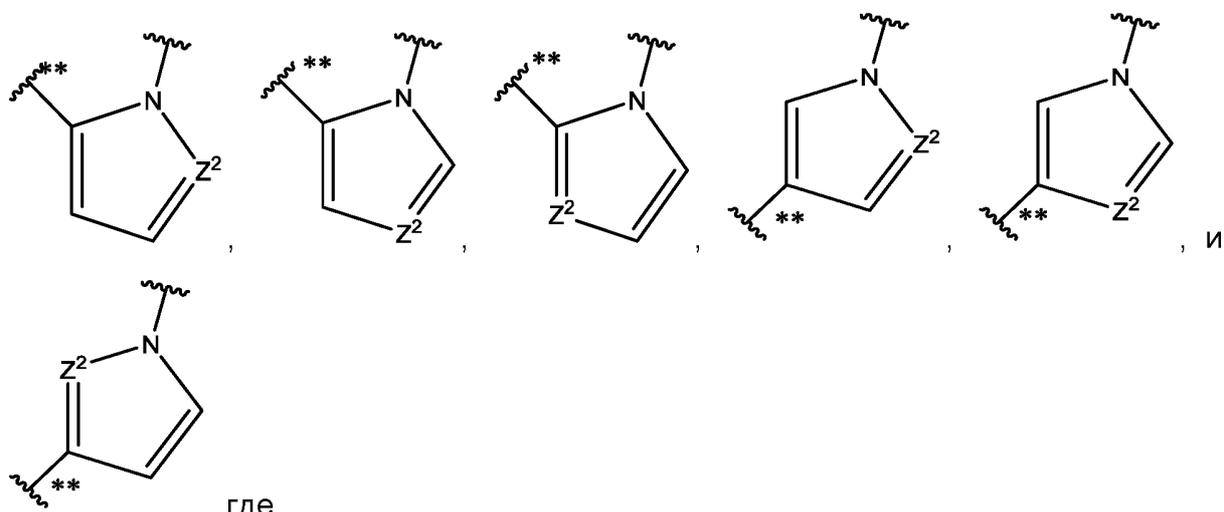
309. Соединение по п. 308, в котором R^N и R^O представляют собой водород.

310. Соединение по п. 308, в котором R^P представляет собой водород.

311. Соединение по п. 308, в котором R^P представляет собой метил.

312. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Cu^2 представляет собой 5-6-членный гетероарил.

313. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Cu^2 выбирается из группы, включающей:



Z^2 представляет собой $=CR^N-$ или $=H-$,

R^N представляет собой водород или C_{1-6} алкил, а

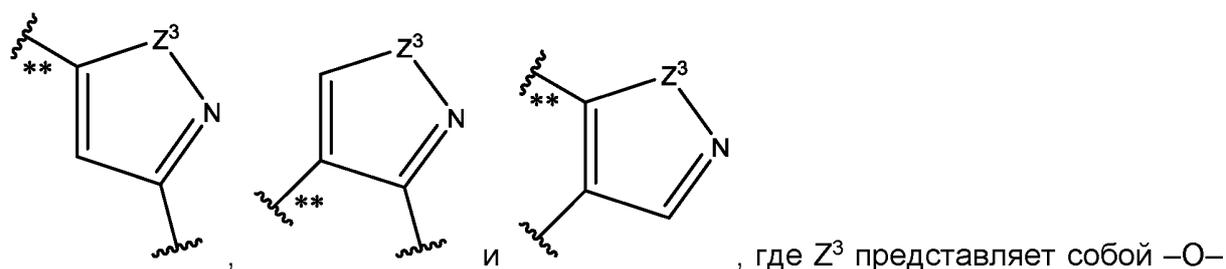
** показывает присоединение к L^{AA} .

314. Соединение по п. 313, в котором Z^2 представляет собой $=CR^N-$.

315. Соединение по п. 314, в котором R^N представляет собой водород.

316. Соединение по п. 313, в котором Z^2 представляет собой $=H-$.

317. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Cu^2 выбирается из группы, включающей:

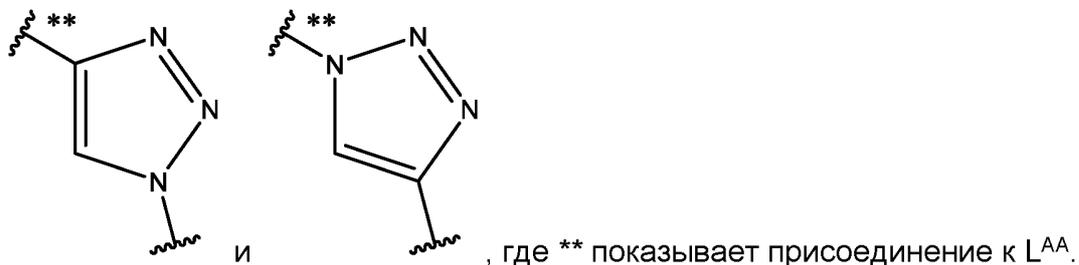


или $-S-$, а ** показывает присоединение к L^{AA} , L^D , NR^{HH} , Y , W или L^{BB} .

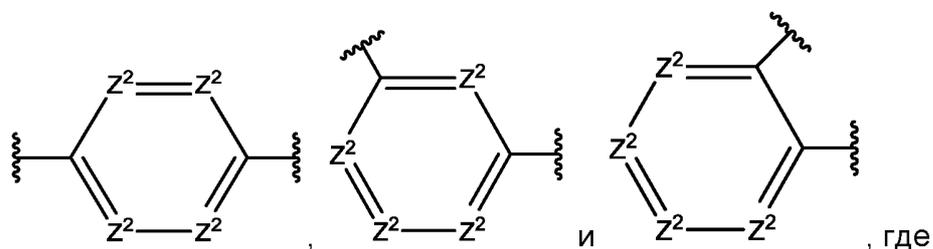
318. Соединение по п. 317, в котором ** показывает присоединение к L^{AA} .

319. Соединение по п. 317, в котором ** показывает присоединение к L^D , NR^{HH} , Y , W или L^{BB} .

320. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Su^2 выбирается из группы, включающей:



321. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Su^2 выбирается из группы, включающей:



каждый Z^2 независимо представляет собой $=CR^N$ или $=H-$, и каждый R^N представляет собой водород или C_{1-6} алкил.

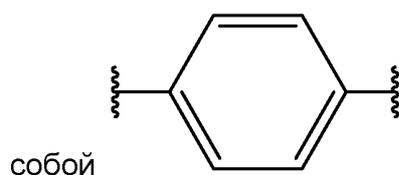
322. Соединение по п. 321, в котором по меньшей мере один Z^2 представляет собой $=H-$.

323. Соединение по п. 321, в котором один Z^2 представляет собой $=H-$, а остальные переменные Z^2 представляют собой $=CR^N$.

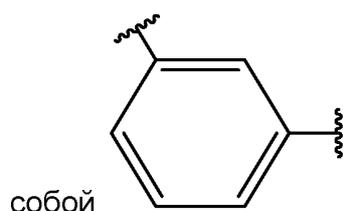
324. Соединение по п. 321, в котором два Z^2 представляют собой $=H-$, а остальные переменные Z^2 представляют собой $=CR^N$.

325. Соединение по одному из п. п. 321, 323 и 324, в котором R^N представляет собой водород.

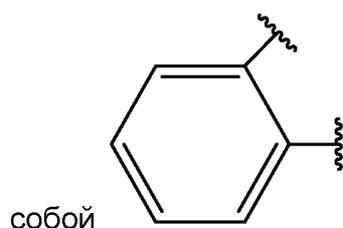
326. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Su^2 представляет



327. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Su^2 представляет



328. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Su^2 представляет



329. Соединение по одному из п. п. 216-302, в котором Su^2 представляет собой циклобутил.

330. Соединение по одному из п. п. 216-329, в котором каждый R^{d3} , R^{e3} , R^{g1} , R^{h1} и R^{j1} независимо представляет собой водород или $-CH_3$.

331. Соединение по одному из п. п. 216-330, в котором каждый R^U независимо выбирается из $-CO_2H$, $-(C=O)NH_2$, $-S(O)_2NH_2$, $-CH_2NH_2$ и $-CH_2OH$.

332. Соединение по одному из п. п. 216-331, в котором t_1 представляет собой 0, а t_2 представляет собой 1.

333. Соединение по одному из п. п. 216-331, в котором t_1 представляет собой 1, а t_2 представляет собой 0.

334. Соединение по одному из п. п. 216-331, в котором t_1 представляет собой 1, а t_2 представляет собой 1.

335. Соединение по одному из п. п. 216-334, в котором u представляет собой 1, а L^D представляет собой $-(CH_2)_{1-3}-$.

336. Соединение по одному из п. п. 216-334, в котором u представляет собой 0.

337. Соединение по одному из п. п. 216-331, в котором t_2 представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой водород.

338. Соединение по одному из п. п. 216-331, в котором t_2 представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой C_{1-3} алкил.

339. Соединение по одному из п. п. 216-331, в котором t_2 представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой C_{3-4} циклоалкил.

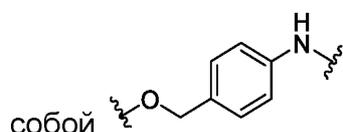
340. Соединение по одному из п. п. 216-331, в котором t_2 представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой $-(CH_2)_{3-4}$ циклоалкил.

341. Соединение по одному из п. п. 216-331, в котором t_2 представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой $-(CH_2)$ 4-5-членный гетероцикл.

342. Соединение по одному из п. п. 216-331, в котором t_2 представляет собой 1, а R^{HH} представляет собой $-(CH_2)$ 5-членный гетероарил.

343. Соединение по одному из п. п. 216-331 и 333-342, в котором Z представляет собой $-N(R^{HH})-$.

344. Соединение по одному из п. п. 216-343, в котором Y представляет



345. Соединение по одному из п. п. 216-343, в котором Y представляет собой циклогексанкарбоксылную, ундеcanoильную, капроильную, гексаноильную, бутаноильную или пропионильную группу.

346. Соединение по одному из п. п. 216-343, в котором Y представляет собой функциональную группу PEG от PEG4 до PEG12.

347. Соединение по одному из п. п. 216-343, в котором y представляет собой 0.

348. Соединение по одному из п. п. 216-346, в котором y представляет собой 1.

349. Соединение по одному из п. п. 216-348, в котором W представляет собой цепь из 1-12 аминокислот.

350. Соединение по одному из п. п. 216-348, в котором W представляет собой цепь из 1-6 аминокислот.

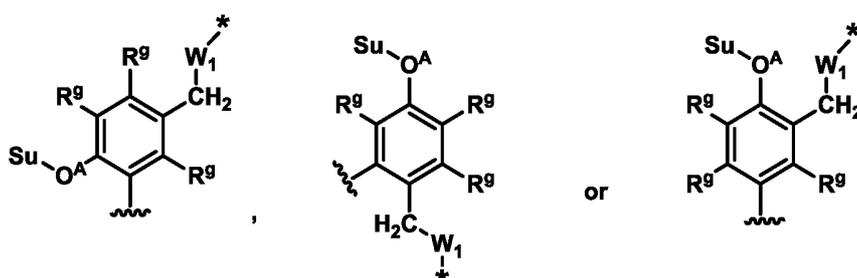
351. Соединение по одному из п. п. 216-348, в котором W представляет собой цепь из 1-3 аминокислот.

352. Соединение по п. 216-351, в котором каждая из аминокислот цепи W независимо выбирается из группы, включающей: аланин, валин, изолейцин,

лейцин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, гистидин, аргинин, глицин, серин, треонин, фенилаланин, О-метилсерин, О-метиласпарагиновую кислоту, О-метилглутаминовую кислоту, N-метиллизин, О-метилтирозин, О-метилгистидин и О-метилтреонин.

353. Соединение по одному из п. п. 216-351, в котором каждая из аминокислот в W независимо выбирается из группы, включающей: аланин, глицин, лизин, серин, аспарагиновую кислоту, метиловый эфир аспарагиновой кислоты, N,N-диметил-лизин, фенилаланин, цитруллин, валин-аланин, валин-цитруллин, фенилаланин-лизин или метиловый эфир гомосерина.

354. Соединение по одному из п. п. 216-348, в котором W имеет структуру:



355. Соединение по п. 354, в котором W^1 представляет собой $-O-C(=O)-$.

356. Соединение по п. 354 или п. 355, в котором один R^G представляет собой галоген, $-CN$ или $-NO_2$, а остальные переменные R^G представляют собой водород.

357. Соединение по п. 354 или п. 355, в котором каждый R^G представляет собой водород.

358. Соединение по одному из п. п. 216-348, в котором w представляет собой 0.

359. Соединение по одному из п. п. 216-348, в котором w представляет собой 1.

360. Соединение по одному из п. п. 216-359, в котором L^{BB} представляет собой $-(CH_2)_{1-3}-$.

361. Соединение по одному из п. п. 216-359, в котором L^{BB} представляет собой $-C(O)(CH_2)_{1-2}-$.

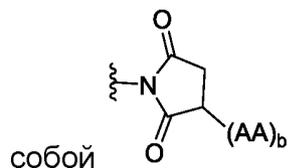
362. Соединение по п. 361, в котором L^{BB} представляет собой

–C(O)(CH₂)₂–.

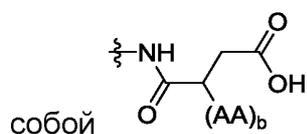
363. Соединение по одному из п. п. 216-359, в котором L^{BB} представляет собой –[NHC(O)(CH₂)₂]₁₋₂–.

364. Соединение по п. 363, в котором L^{BB} представляет собой –[NHC(O)(CH₂)₂]₂–.

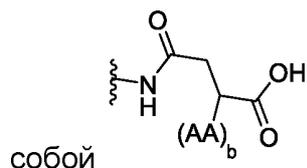
365. Соединение по одному из п. п. 216-364, в котором M представляет



366. Соединение по одному из п. п. 216-364, в котором M представляет



367. Соединение по одному из п. п. 216-364, в котором M представляет



368. Соединение по одному из п. п. 216-367, в котором каждый AA независимо представляет собой природную аминокислоту, при этом (AA)_b соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома серы.

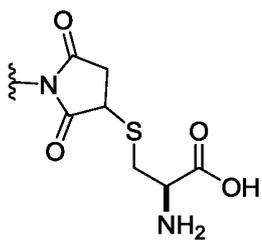
369. Соединение по одному из п. п. 216-367, в котором каждый AA независимо представляет собой природную аминокислоту, при этом (AA)_b соединен с сукцинимидом или гидролизованным сукцинимидом посредством атома азота.

370. Соединение по одному из п. п. 216-369, в котором каждый нижний индекс b представляет собой 1.

371. Соединение по одному из п. п. 216-369, в котором каждый нижний индекс b представляет собой 2.

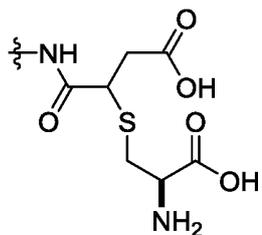
372. Соединение по одному из п. п. 216-369, в котором каждый нижний индекс b представляет собой 3, 4, 5 или 6.

373. Соединение по одному из п. п. 216-365, в котором М представляет



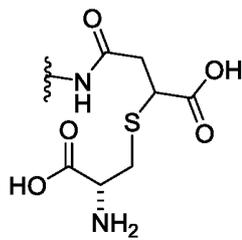
собой

374. Соединение по одному из п. п. 216-364, в котором М представляет



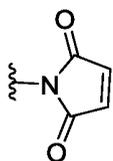
собой

375. Соединение по одному из п. п. 216-364, в котором М представляет



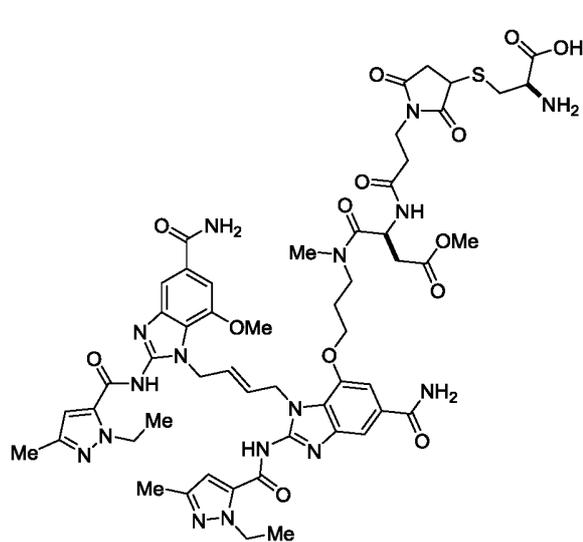
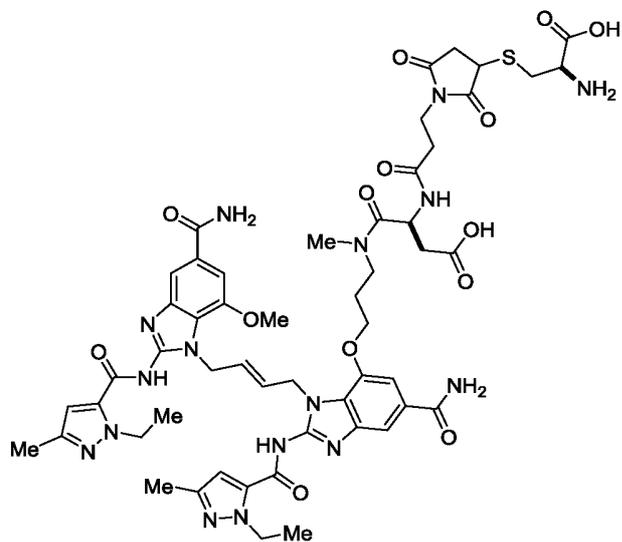
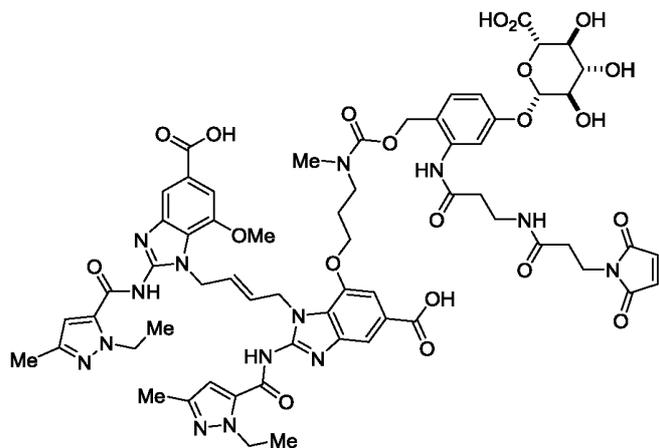
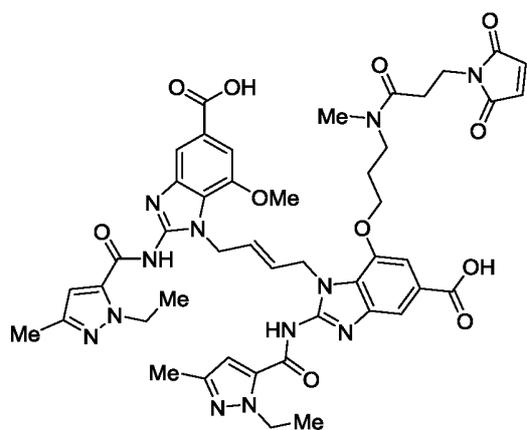
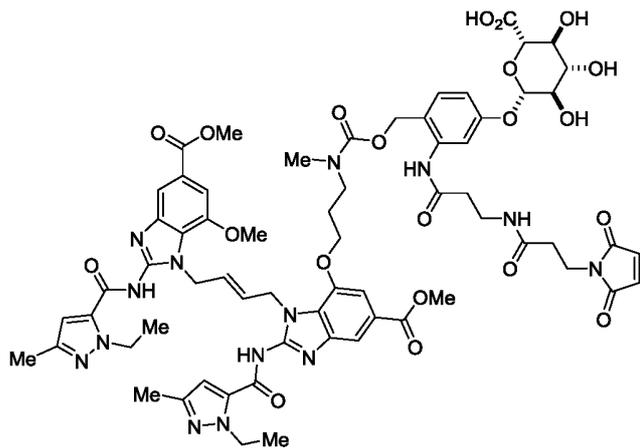
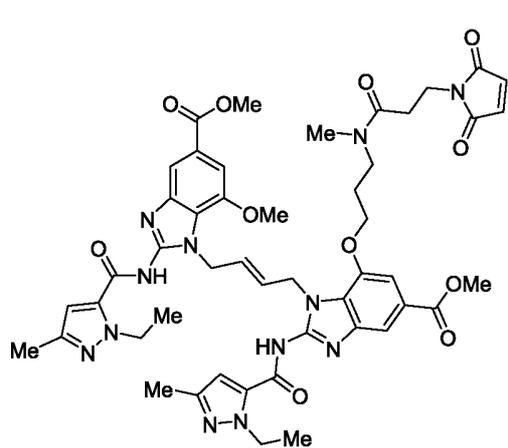
собой

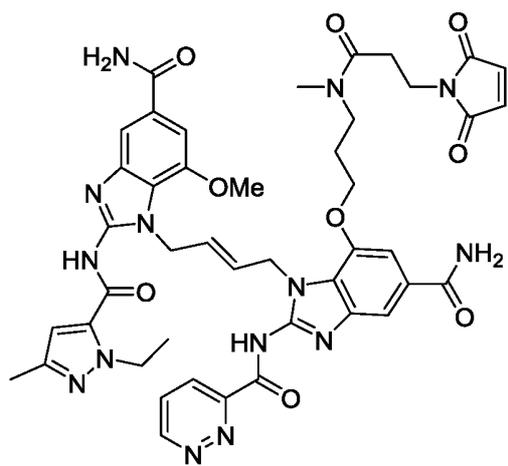
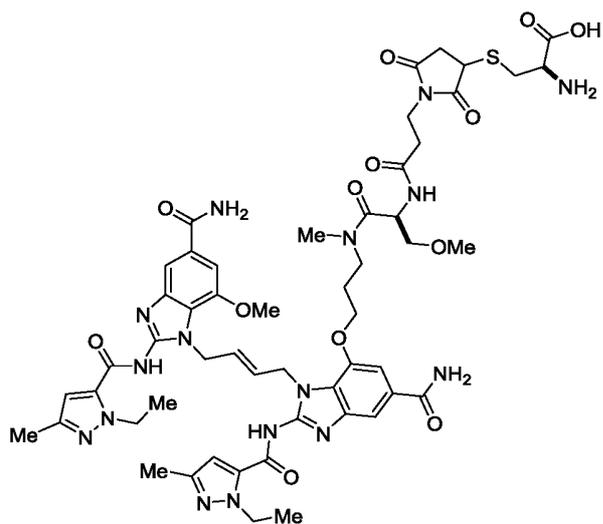
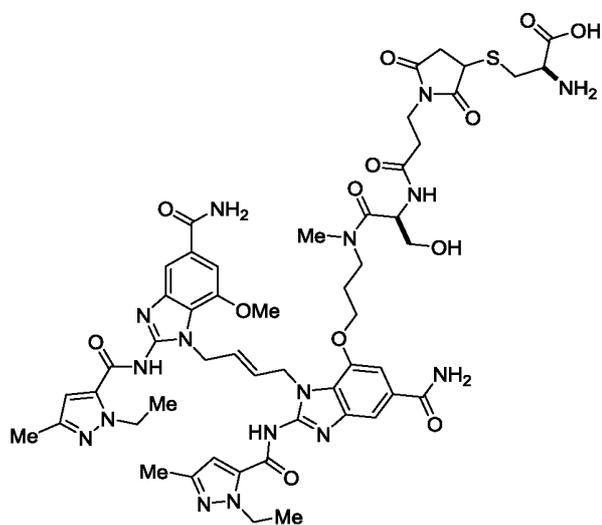
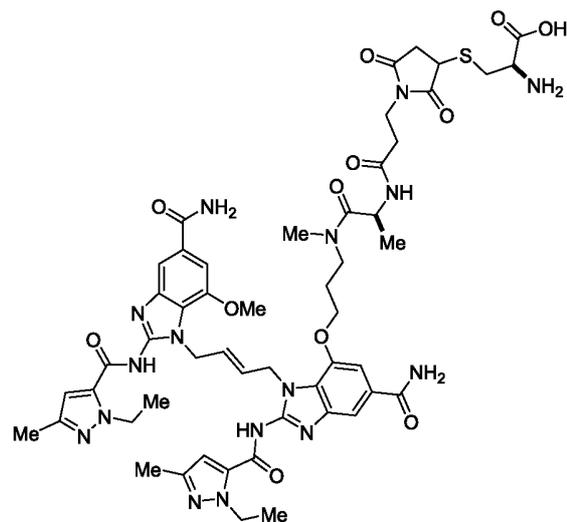
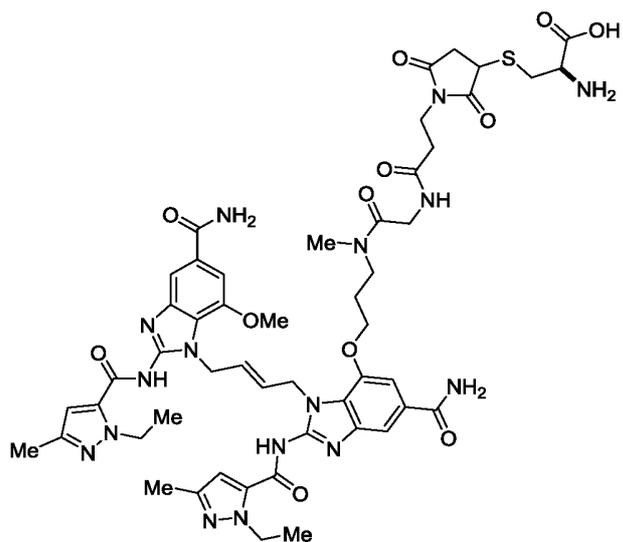
376. Соединение по одному из п. п. 216-364, в котором М представляет

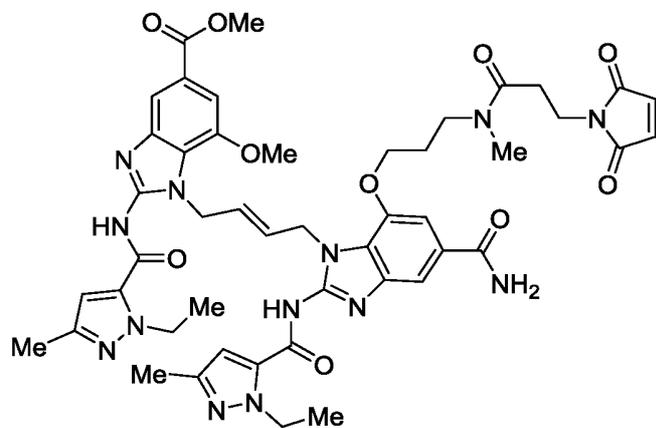
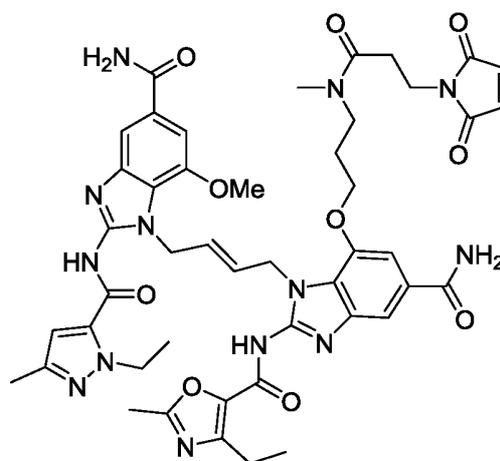
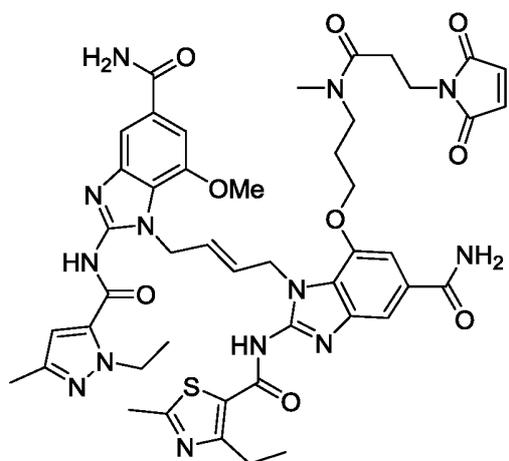
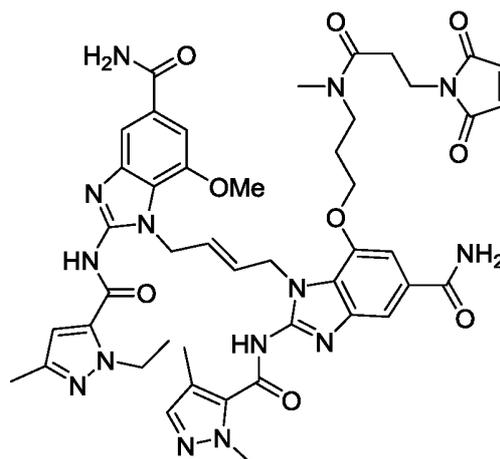
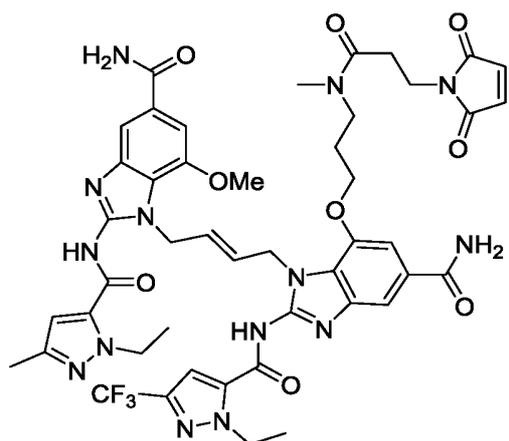


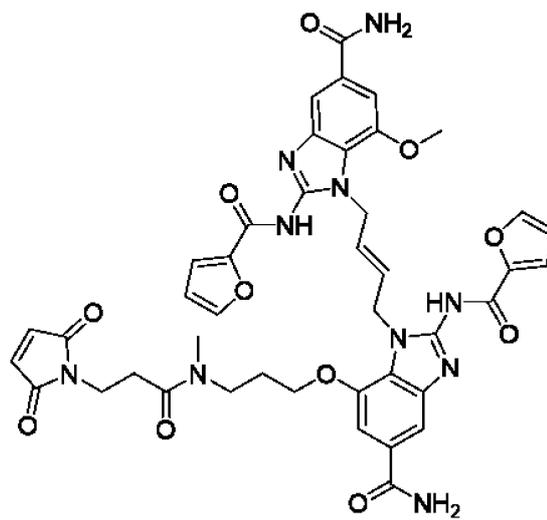
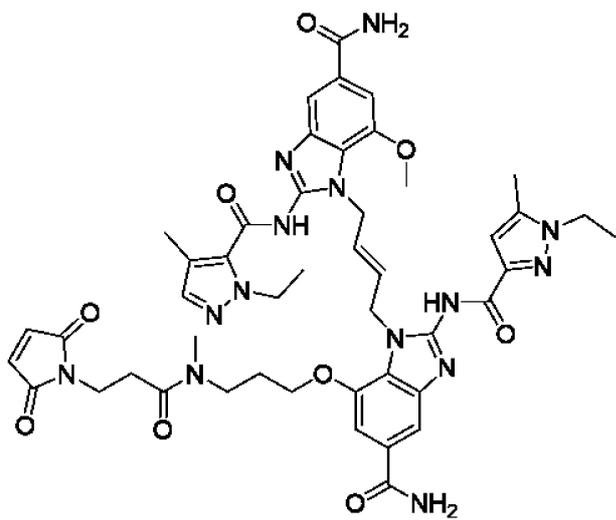
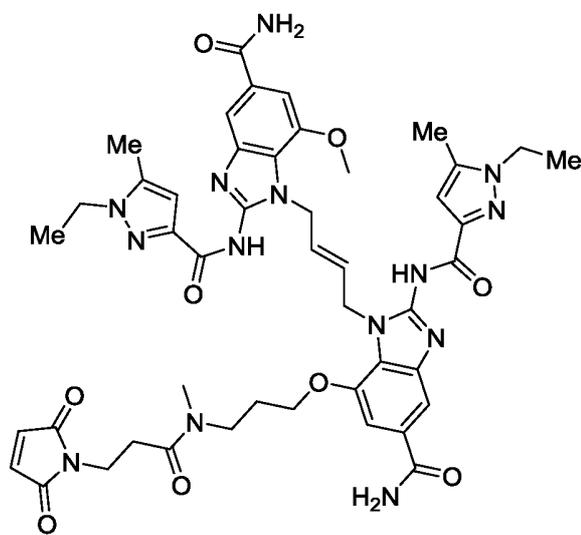
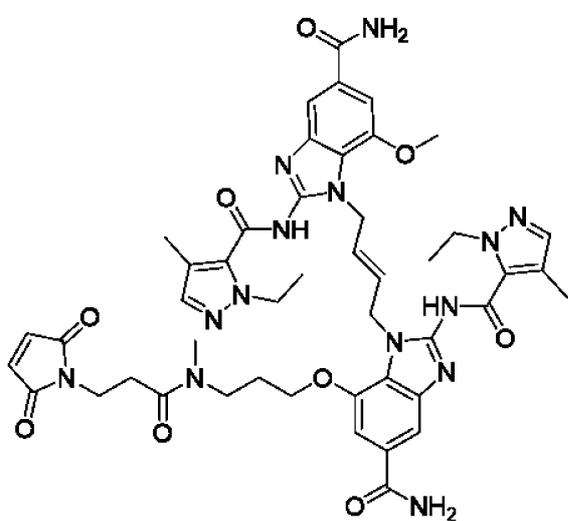
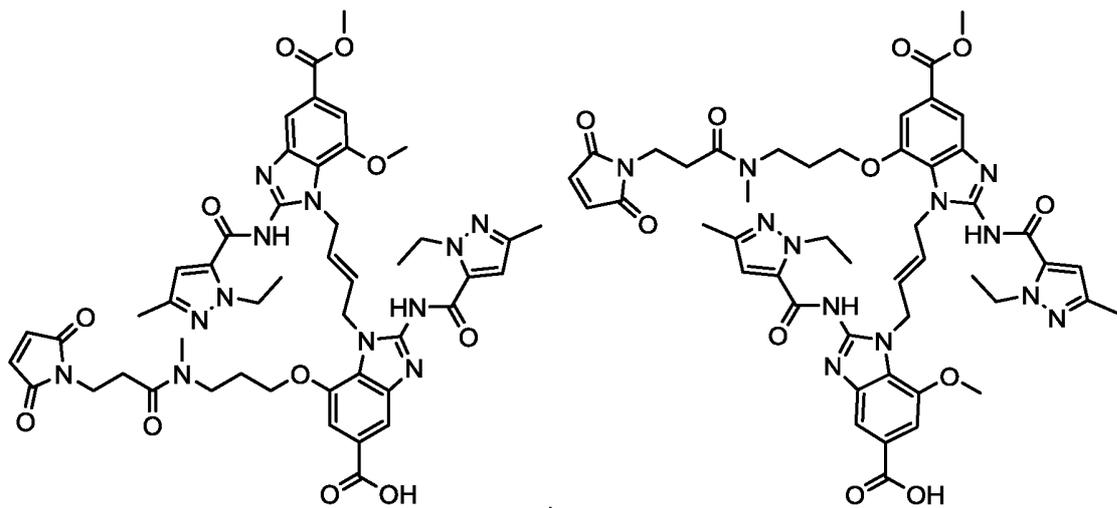
собой

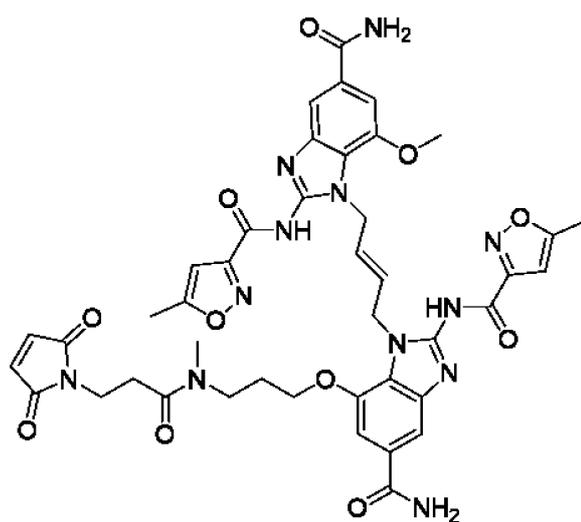
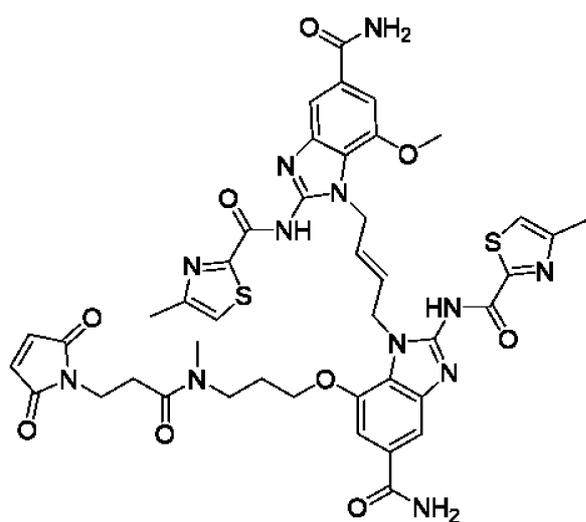
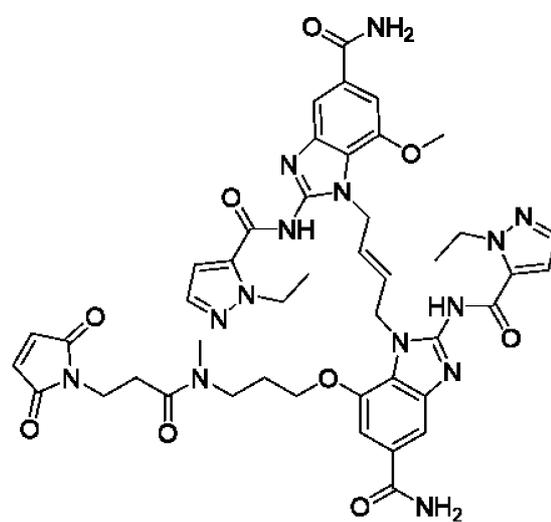
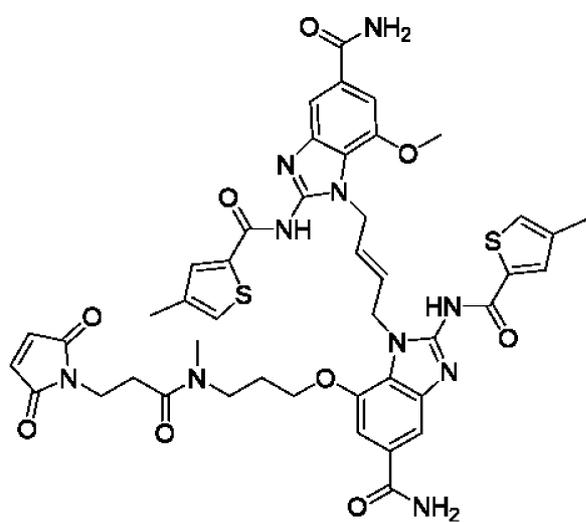
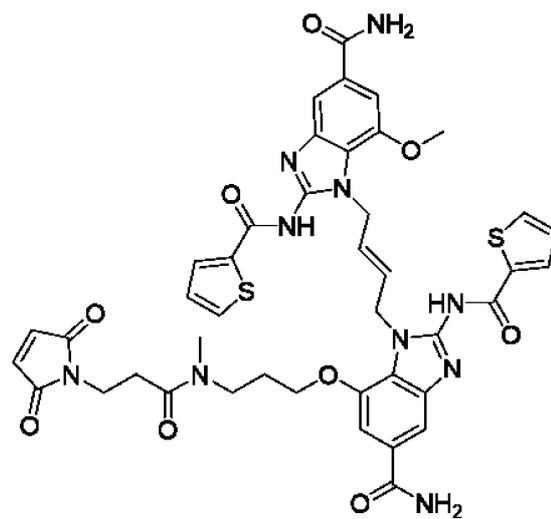
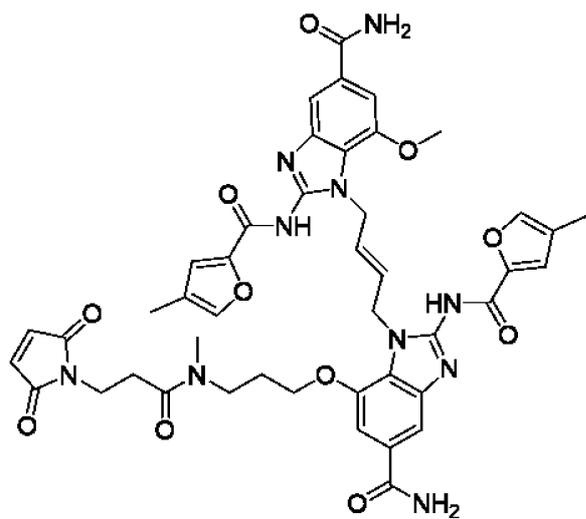
377. Соединение по п. 216, выбранное из группы, включающей:

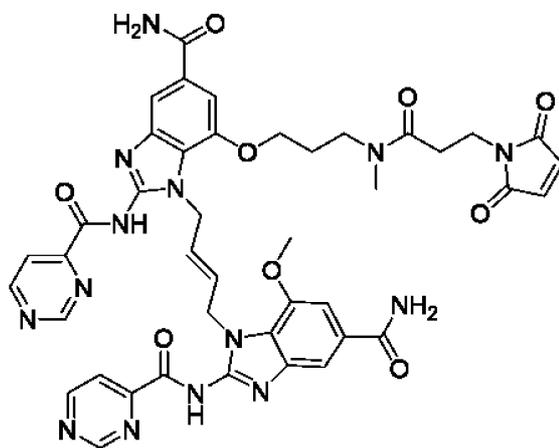
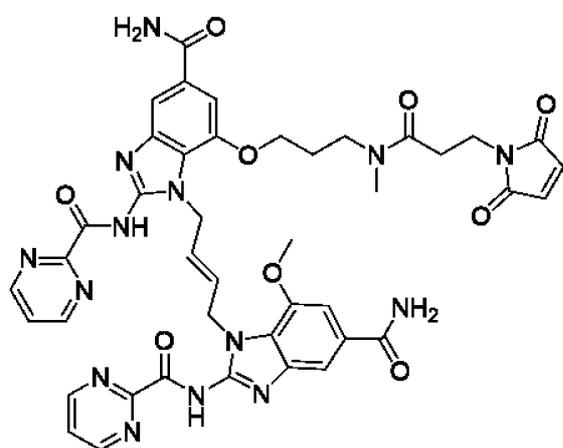
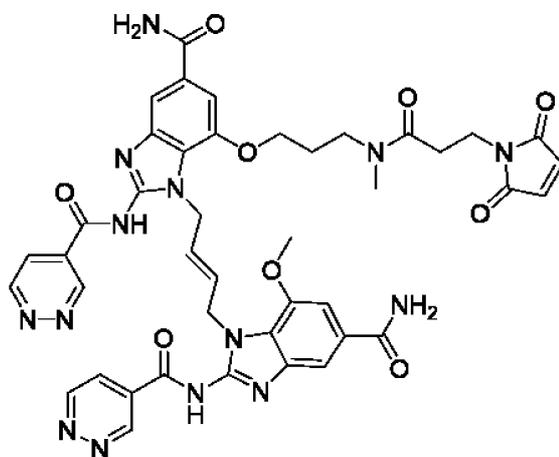
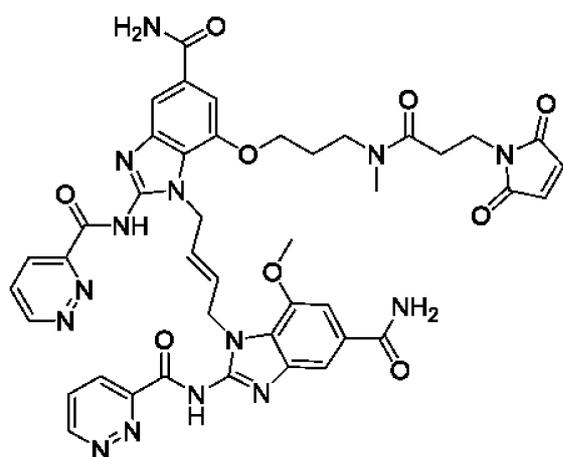
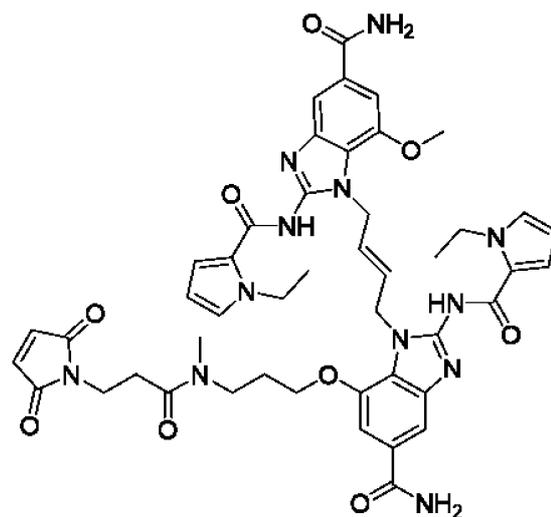
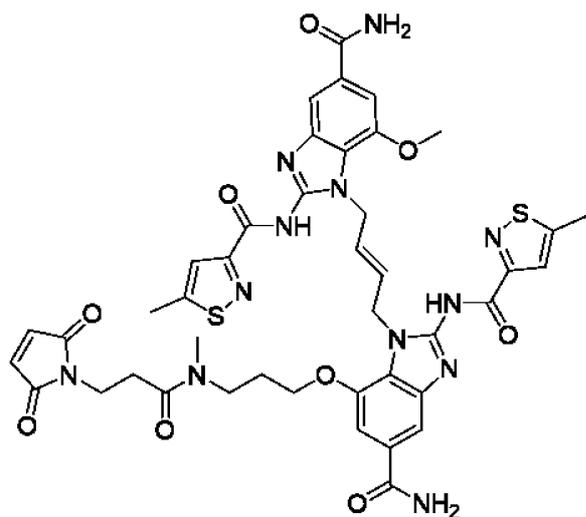


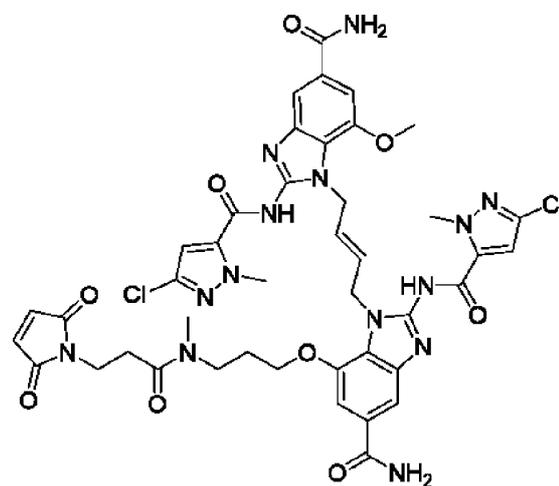
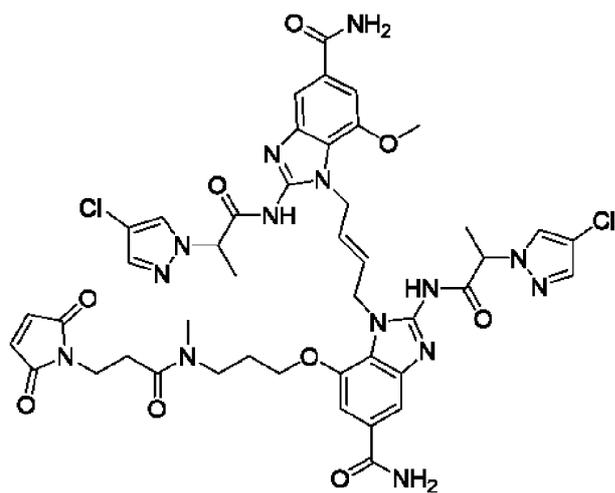
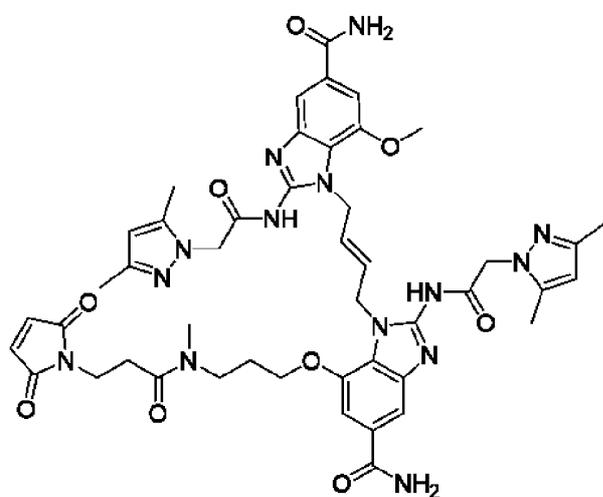
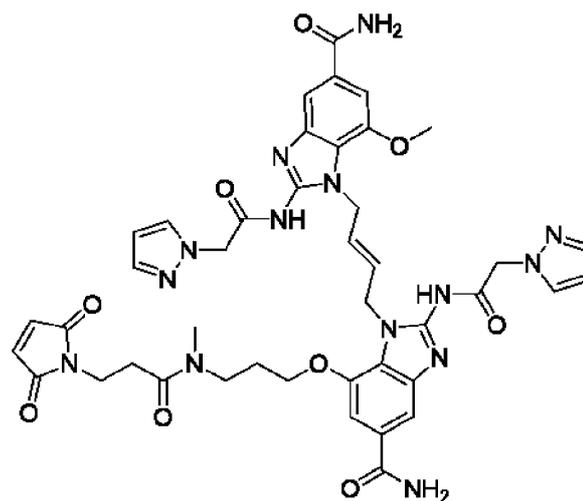
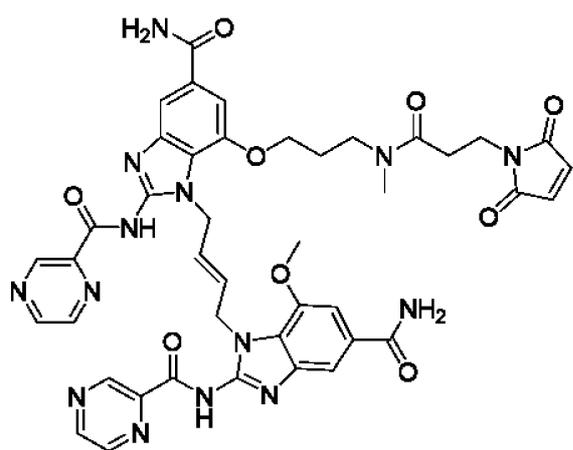


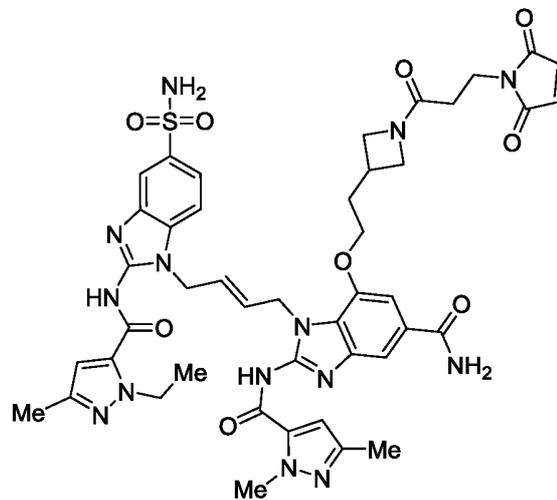
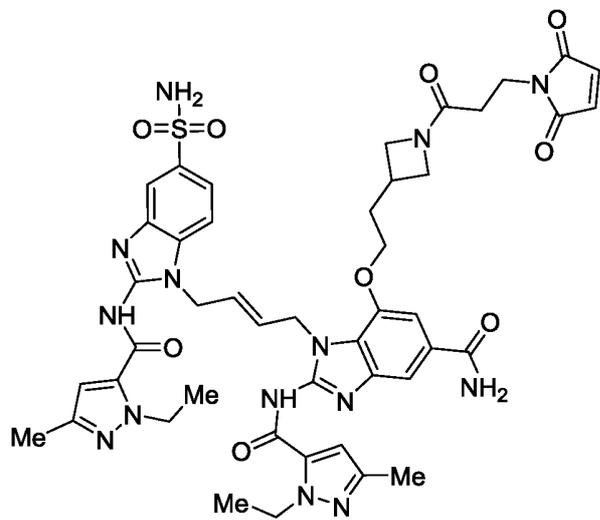
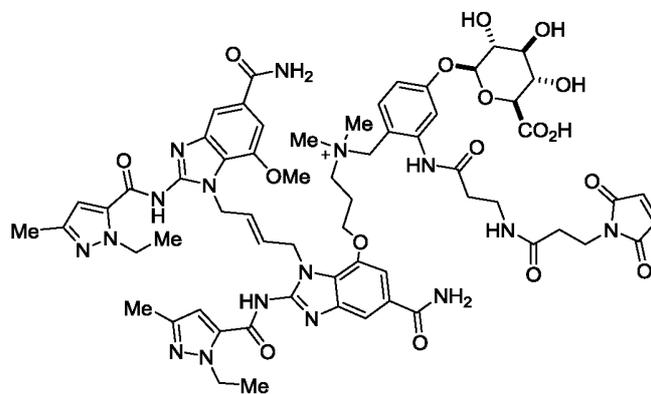
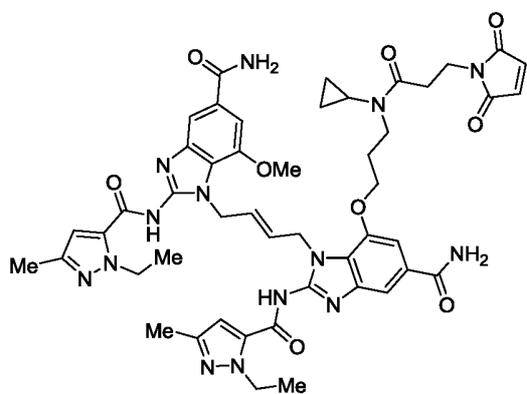
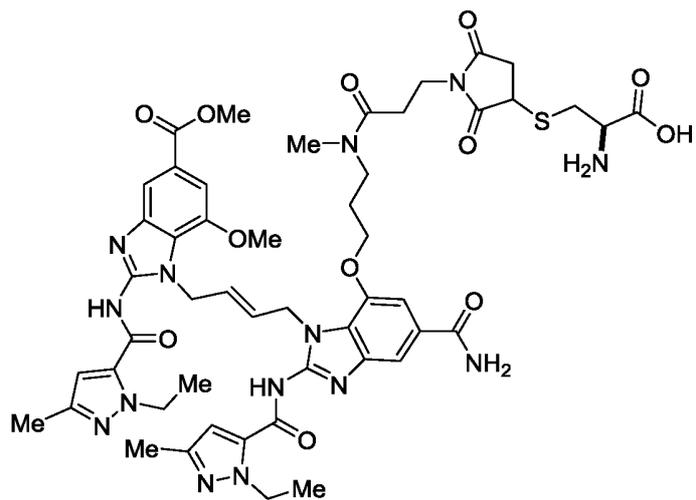


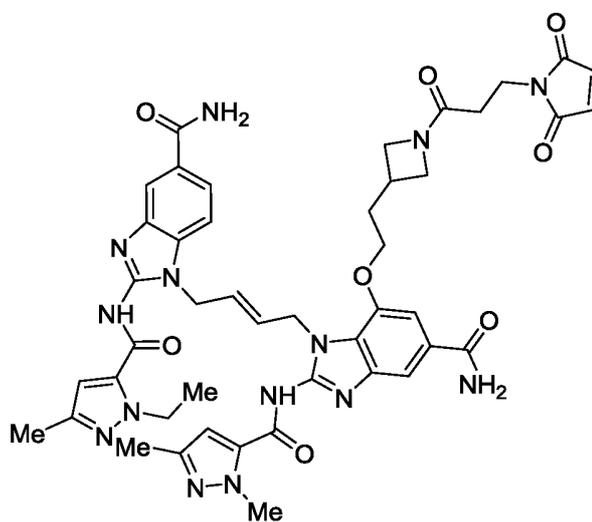
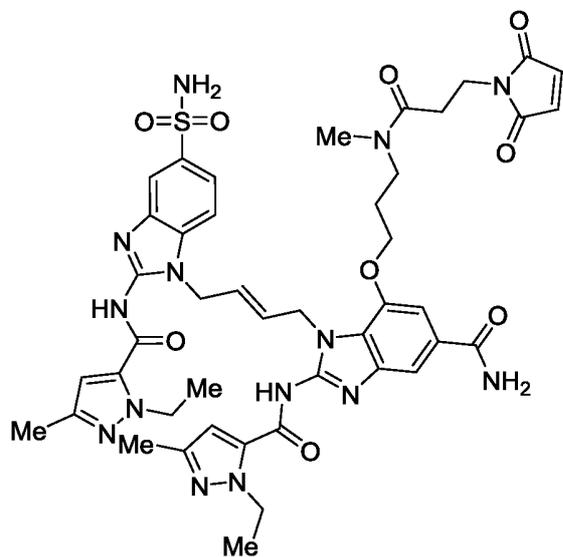
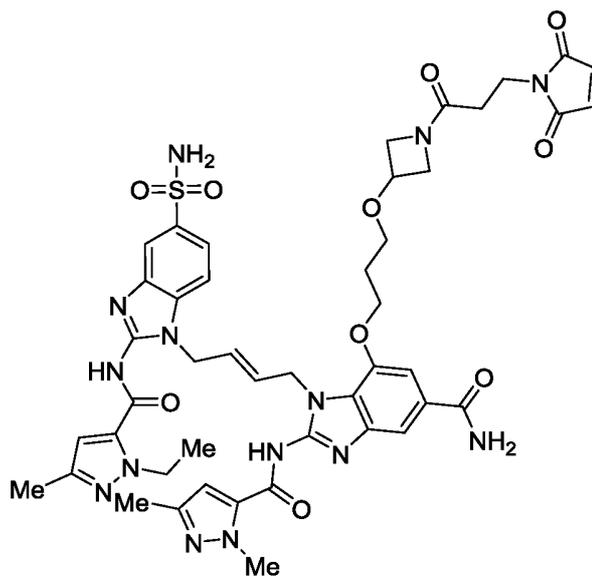
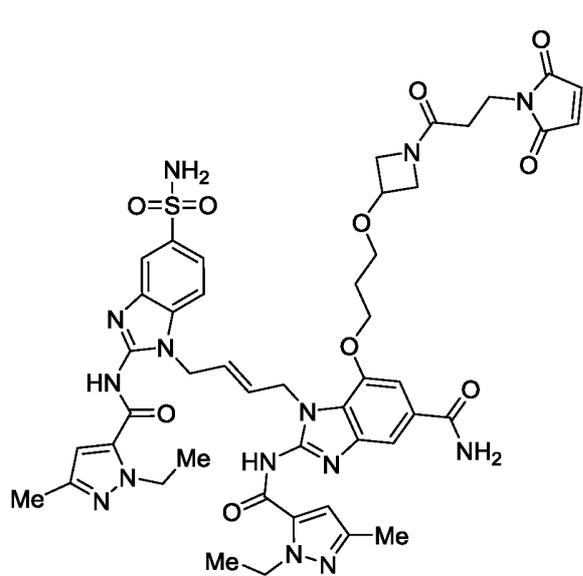


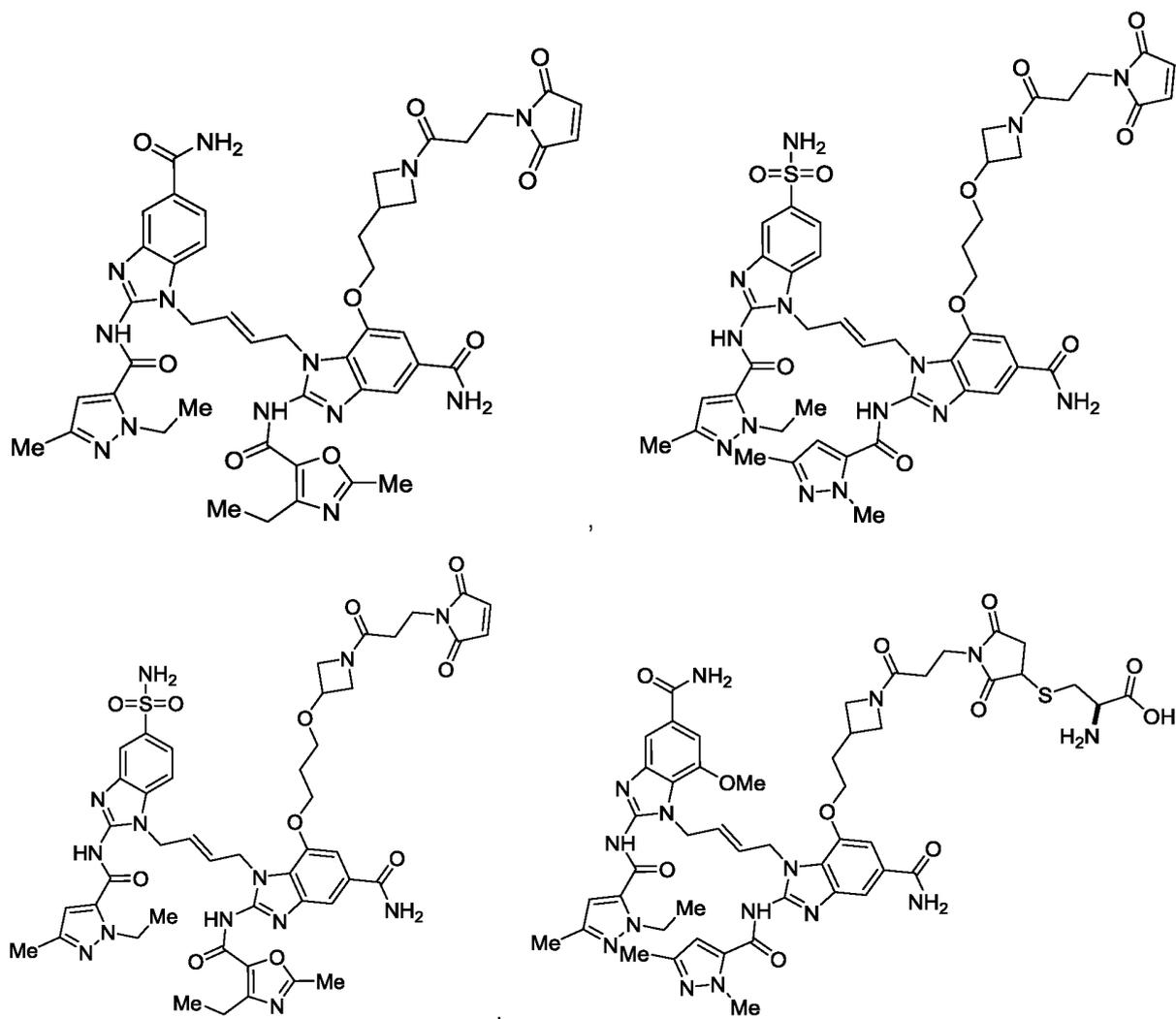


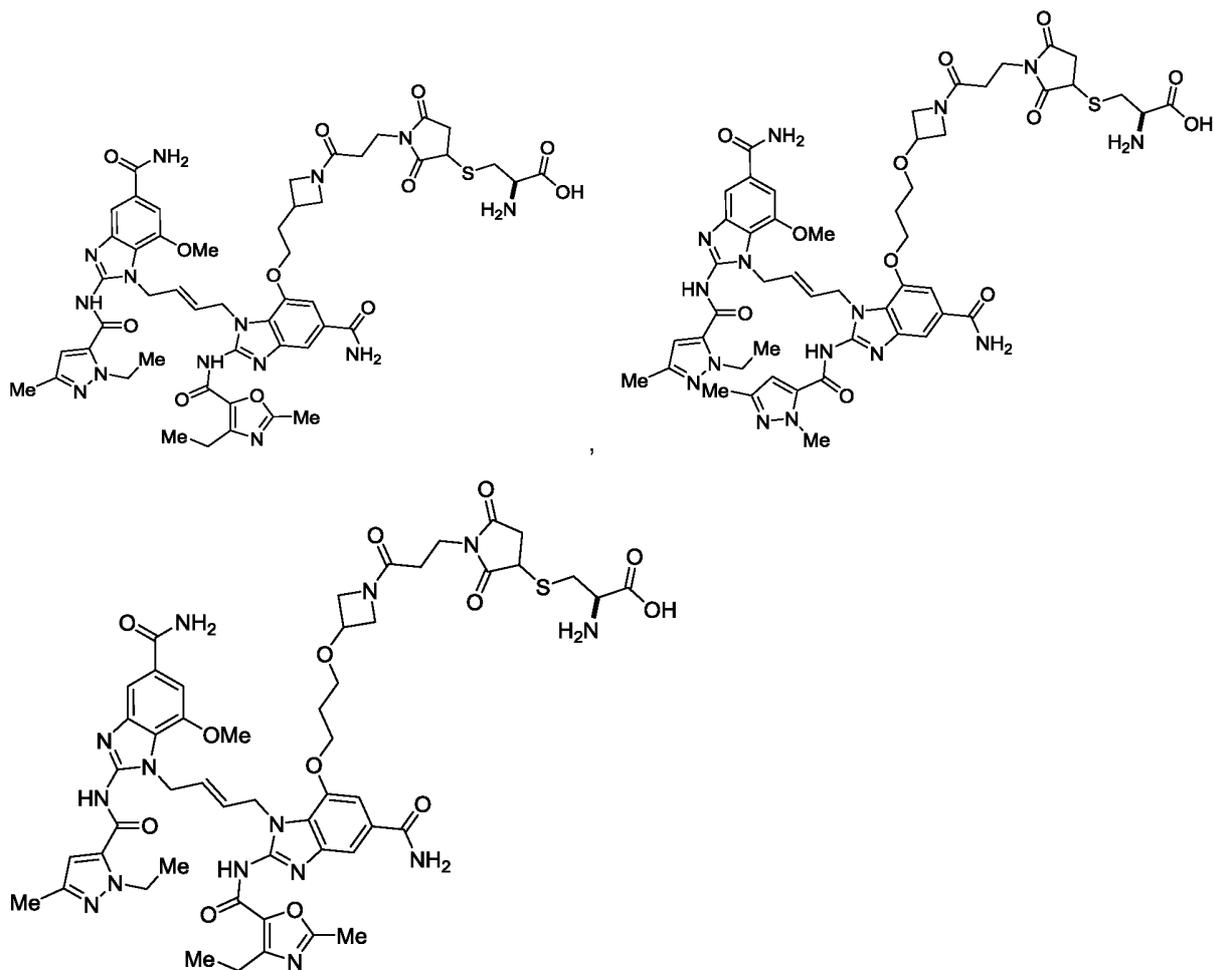






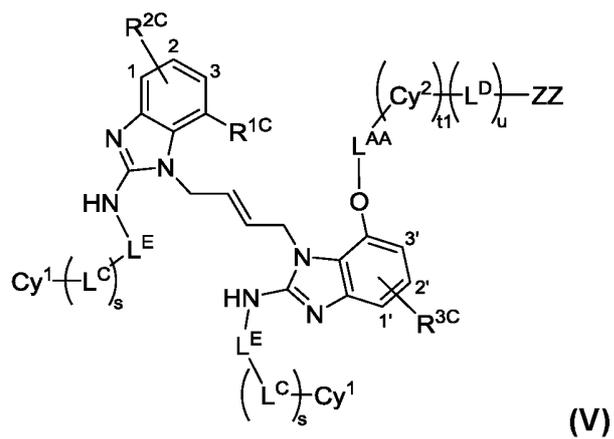






и их фармацевтически приемлемые соли.

378. Соединение, имеющее структуру формулы (V):



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

R^{1C} представляет собой водород, гидроксил, C_{1-6} алкокси, $-(C_{1-6}$ алкил) C_{1-6} алкокси, $-(CH_2)_n-NR^A R^B$ или PEG2-PEG4,

R^{2C} представляет собой $-CO_2R^M$, $-(C=O)NR^C R^D$, $-S(O)_2NR^C R^D$, $-S(O)_2R^M$, $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, $-(CH_2)_q-OR^M$, $-O(C=O)-NR^E R^F$ или $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$, при этом R^{2C} присоединен к любой позиции, отмеченной цифрами 1, 2 или 3,

R^{3C} представляет собой $-CO_2R^M$, $-(C=O)NR^C R^D$, $-S(O)_2NR^C R^D$, $-S(O)_2R^M$, $-(CH_2)_q-NR^E R^F$, $-(CH_2)_q-OR^M$, $-O(C=O)-NR^E R^F$ или $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$, при этом R^{3C} присоединен к любой позиции, отмеченной цифрами 1', 2' или 3',

каждый R^A , R^B , R^C , R^D , R^E , R^F и R^M независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил,

каждый нижний индекс n независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

каждый нижний индекс q независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

L^E представляет собой $-(C=O)-$ или $-S(O)_2-$,

L^C представляет собой $-(CR^I R^J)_{1-3}-$

каждый R^I и R^J независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

нижний индекс s представляет собой 0 или 1,

каждый Su^1 независимо представляет собой 4-6-членный гетероцикл, 5-6-членный гетероарил или C_{3-6} циклоалкил, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K ,

каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-6} алкил, C_{1-6} галоалкил, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} галоалкокси, галоген, $-OH$, $=O$, $-NR^{d2}R^{e2}$, $-C(O)NR^{d2}R^{e2}$, $-C(O)(C_{1-6}$ алкил) и $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил),

каждый R^{d2} и R^{e2} независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)NR^L(CH_2)_{1-6}-$, $-(CH_2)_{1-6}O-$, $-C(O)(CH_2)_{1-6}O-$ или $-C(O)NR^L(CH_2)_{1-6}O-$,

R^L представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

Sy^2 представляет собой C_{3-6} циклоалкил, 4-6-членный гетероцикл, 5-6-членный гетероарил или фенил, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^U ,

каждый R^U независимо выбирается из группы, включающей: $-CO_2R^{i1}$, $-(C=O)NR^{d3}R^{e3}$, $-S(O)_2NR^{d3}R^{e3}$, $-(CH_2)_{q1}-NR^{g1}R^{h1}$, $-(CH_2)_{q1}-OR^{i1}$ и $-(CH_2)_{q1}-(OCH_2CH_2)_{1-8}OH$,

каждый R^{d3} , R^{e3} , R^{g1} , R^{h1} и R^{i1} независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил,

нижний индекс $q1$ представляет собой целое число от 0 до 6,

нижний индекс $t1$ представляет собой 0 или 1,

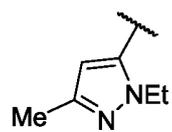
L^D представляет собой $-(CH_2)_{1-6}-$,

нижний индекс u представляет собой 0 или 1,

если $t1$ представляет собой 0, то ZZ представляет собой $-NR^QR^R$, $-H^+(C_{1-6}$ алкил) R^QR^R , $-C(=O)N^SR^T$, $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил), $-CO_2H$ или аминокислоту, или, если $t1$ представляет собой 1, то ZZ представляет собой водород, $-NR^QR^R$, $-H^+(C_{1-6}$ алкил) R^QR^R , $-C(=O)N^SR^T$, $-C(O)O(C_{1-6}$ алкил), $-CO_2H$ или аминокислоту,

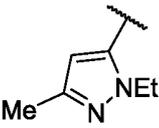
R^Q представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{3-6} циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{3-6}$ циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{1-3}$ алкокси, $-(CH_2)_{1-3}$ 4-6-членный гетероцикл или $-(CH_2)_{1-3}$ 5-6-членный гетероарил, при условии, что,

если $t1$ представляет собой 0 и оба Sy^1 представляют собой



, то R^Q представляет собой C_{2-6} алкил, C_{3-6} циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{3-6}$ циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{1-3}$ алкокси, $-(CH_2)_{1-3}$ 4-6-членный гетероцикл или $-(CH_2)_{1-3}$ 5-6-членный гетероарил, и,

если t_1 представляет собой 0 и по меньшей мере один C_{u^1}

представляет собой не , то ZZ представляет собой $-NR^Q R^R$, $-H^+(C_{1-6} \text{ алкил})R^Q R^R$ или $-C(=O)N^S R^T$, а R^Q представляет собой C_{1-6} алкил, C_{3-6} циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{3-6}$ циклоалкил, $-(CH_2)_{1-3}C_{1-3}$ алкокси, $-(CH_2)_{1-3}$ 4-6-членный гетероцикл или $-(CH_2)_{1-3}$ 5-6-членный гетероарил, и каждый R^R , R^S и R^T независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил.

379. Соединение по п. 378, в котором R^{1C} представляет собой водород.

380. Соединение по п. 378, в котором R^{1C} представляет собой гидроксил.

381. Соединение по п. 378, в котором R^{1C} представляет собой C_{1-6} алкокси.

382. Соединение по п. 378, в котором R^{1C} представляет собой метокси-группу.

383. Соединение по п. 378, в котором R^{1C} представляет собой $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$ алкокси.

384. Соединение по п. 378, в котором R^{1C} представляет собой метоксиэтил.

385. Соединение по п. 378, в котором R^{1C} представляет собой функциональную группу PEG от PEG 2 до PEG4.

386. Соединение по п. 378, в котором R^{1C} представляет собой $-(CH_2)_n-NR^A R^B$.

387. Соединение по одному из п. п. 378-386, в котором R^A и R^B оба представляют собой водород.

388. Соединение по одному из п. п. 378-386, в котором R^A и R^B независимо представляют собой C_{1-3} алкил.

389. Соединение по одному из п. п. 378-386, в котором один из R^A и R^B представляет собой водород, а другой из R^A и R^B представляет собой C_{1-3} алкил.

390. Соединение по одному из п. п. 378-389, в котором каждый нижний индекс n представляет собой 0.

391. Соединение по одному из п. п. 378-389, в котором каждый нижний индекс n представляет собой 1.

392. Соединение по одному из п. п. 378-389, в котором каждый нижний индекс n представляет собой 2.

393. Соединение по одному из п. п. 378-389, в котором каждый нижний индекс n представляет собой 3, 4, 5 или 6.

394. Соединение по одному из п. п. 378-393, в котором R^{2C} и R^{3C} независимо представляют собой $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^{\text{C}}\text{R}^{\text{D}}$ или $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$, при этом R^{2C} и R^{3C} являются одинаковыми.

395. Соединение по одному из п. п. 378-393, в котором R^{2C} и R^{3C} независимо представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^{\text{C}}\text{R}^{\text{D}}$ или $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$, при этом R^{2C} и R^{3C} являются различными.

396. Соединение по одному из п. п. 378-393, в котором R^{2C} представляет собой $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^{\text{C}}\text{R}^{\text{D}}$.

397. Соединение по одному из п. п. 378-396, в котором R^{3C} представляет собой $-(\text{C}=\text{O})_m\text{-NR}^{\text{C}}\text{R}^{\text{D}}$.

398. Соединение по одному из п. п. 378-397, в котором R^{C} и R^{D} оба представляют собой водород.

399. Соединение по одному из п. п. 378-397, в котором каждый R^{C} и R^{D} независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

400. Соединение по одному из п. п. 378-397, в котором один из R^{C} и R^{D} представляет собой водород, а другой из R^{C} и R^{D} представляет собой C_{1-3} алкил.

401. Соединение по п. 396 или п. 397, в котором каждый нижний индекс m представляет собой 0.

402. Соединение по п. 396 или п. 397, в котором каждый нижний индекс m представляет собой 1.

403. Соединение по одному из п. п. 378-393, в котором R^{2C} представляет собой $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$.

404. Соединение по одному из п. п. 378-393 и п. 403, в котором R^{3C} представляет собой $-(\text{CH}_2)_q\text{-NR}^{\text{E}}\text{R}^{\text{F}}$.

405. Соединение по одному из п. п. 378-404, в котором R^{E} и R^{F} оба представляют собой водород.

406. Соединение по одному из п. п. 378-404, в котором каждый R^E и R^F независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

407. Соединение по одному из п. п. 378-404, в котором один из R^E и R^F представляет собой водород, а другой из R^E и R^F представляет собой C_{1-3} алкил.

408. Соединение по одному из п. п. 378-407, в котором каждый нижний индекс q представляет собой 0.

409. Соединение по одному из п. п. 378-407, в котором каждый нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 6.

410. Соединение по одному из п. п. 378-393, в котором R^{2C} представляет собой $-CO_2R^M$.

411. Соединение по одному из п. п. 378-393 и п. 410, в котором R^{3C} представляет собой $-CO_2R^M$.

412. Соединение по п. 410 или п. 411, в котором R^M представляет собой водород.

413. Соединение по п. 410 или п. 411, в котором R^M представляет собой C_{1-3} алкил.

414. Соединение по одному из п. п. 378-393, в котором R^{2C} представляет собой $-(CH_2)_q-OR^M$.

415. Соединение по одному из п. п. 378-393 и п. 414, в котором R^{3C} представляет собой $-(CH_2)_q-OR^M$.

416. Соединение по п. 414 или п. 415, в котором R^M представляет собой водород.

417. Соединение по одному из п. п. 414-415, в котором q представляет собой 0.

418. Соединение по одному из п. п. 414-415, в котором q представляет собой 1.

419. Соединение по одному из п. п. 378-393, в котором R^{2C} представляет собой $-O(C=O)-NR^E R^F$.

420. Соединение по одному из п. п. 378-393 и п. 419, в котором R^{3C} представляет собой $-O(C=O)-NR^E R^F$.

421. Соединение по п. 419 или п. 420, в котором R^E и R^F оба представляют собой водород.

422. Соединение по п. 419 или п. 420, в котором каждый R^E и R^F независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

423. Соединение по п. 419 или п. 420, в котором один из R^E и R^F представляет собой водород, а другой из R^E и R^F представляет собой C_{1-3} алкил.

424. Соединение по одному из п. п. 378-393, в котором R^{2C} представляет собой $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$.

425. Соединение по одному из п. п. 378-393 и п. 424, в котором R^{3C} представляет собой $-NR^M(C=O)-NR^E R^F$.

426. Соединение по п. 424 или п. 425, в котором все R^E , R^F и R^M представляют собой водород.

427. Соединение по п. 424 или п. 425, в котором каждый R^E , R^F и R^M независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

428. Соединение по п. 424 или п. 425, в котором один из R^E , R^F и R^M представляет собой C_{1-3} алкил, а остальные R^E , R^F и R^M представляют собой водород.

429. Соединение по одному из п. п. 378-393, в котором R^{2C} представляет собой $-S(O)_2NR^C R^D$.

430. Соединение по одному из п. п. 378-393 и п. 429, в котором R^{3C} представляет собой $-S(O)_2NR^C R^D$.

431. Соединение по п. 429 или п. 430, в котором R^C и R^D оба представляют собой водород.

432. Соединение по п. 429 или п. 430, в котором каждый R^C и R^D независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

433. Соединение по п. 429 или п. 430, в котором один из R^C и R^D представляет собой водород, а другой из R^C и R^D представляет собой C_{1-3} алкил.

434. Соединение по одному из п. п. 378-393, в котором R^{2C} представляет собой $-S(O)_2R^M$.

435. Соединение по одному из п. п. 378-393 и п. 434, в котором R^{3C} представляет собой $-S(O)_2R^M$.

436. Соединение по п. 434 или п. 435, в котором R^M представляет собой водород.
437. Соединение по п. 434 или п. 435, в котором R^M представляет собой C_{1-3} алкил.
438. Соединение по одному из п. п. 378-437, в котором R^{2C} присоединен в позиции 1.
439. Соединение по одному из п. п. 378-437, в котором R^{2C} присоединен в позиции 2.
440. Соединение по одному из п. п. 378-437, в котором R^{2C} присоединен в позиции 3.
441. Соединение по одному из п. п. 378-437, в котором R^{3C} присоединен в позиции 1'.
442. Соединение по одному из п. п. 378-437, в котором R^{3C} присоединен в позиции 2'.
443. Соединение по одному из п. п. 378-437, в котором R^{3C} присоединен в позиции 3'.
444. Соединение по одному из п. п. 378-443, в котором L^E представляет собой $-(C=O)-$.
445. Соединение по одному из п. п. 378-443, в котором L^E представляет собой $-S(O)_2-$.
446. Соединение по одному из п. п. 378-445, в котором каждый R^I и R^J представляет собой водород.
447. Соединение по одному из п. п. 378-445, в котором каждый R^I и R^J представляет собой C_{1-3} алкил.
448. Соединение по одному из п. п. 378-445, в котором один из R^I и R^J представляет собой водород, а другой из R^I и R^J представляет собой C_{1-3} алкил.
449. Соединение по одному из п. п. 378-448, в котором L^C представляет собой $-(CR^I R^J)-$.
450. Соединение по одному из п. п. 378-449, в котором s представляет собой 0.

451. Соединение по одному из п. п. 378-449, в котором s представляет собой 1.

452. Соединение по одному из п. п. 378-451, в котором каждый Su^1 независимо представляет собой 5-6-членный гетероарил.

453. Соединение по одному из п. п. 378-451, в котором каждый Su^1 представляет собой пиразол, необязательно замещенный одним или более R^K .

454. Соединение по одному из п. п. 378-451, в котором каждый Su^1 независимо выбирается из группы, включающей: пиразол, имидазол, фуран, тиофен, тиазол, изотиазол, оксазол, изоксазол, пиррол, пиридазин, пиридин, пиримидин и пиразин, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K .

455. Соединение по одному из п. п. 378-451, в котором каждый Su^1 независимо выбирается из группы, включающей: имидазол, фуран, тиофен, тиазол, изотиазол, оксазол, изоксазол, пиррол, пиридазин, пиридин, пиримидин и пиразин, каждый из которых необязательно замещен одним или более R^K .

456. Соединение по одному из п. п. 378-451, в котором каждый Su^1 независимо представляет собой C_{4-5} циклоалкил, необязательно замещенный одним или более R^K .

457. Соединение по одному из п. п. 378-456, в котором каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: C_{1-3} алкил, C_{1-3} галоалкил и галоген.

458. Соединение по п. 457, в котором каждый R^K независимо выбирается из группы, включающей: метил, этил, $-CF_3$ и галоген.

459. Соединение по одному из п. п. 378-451, в котором все Su^1 являются одинаковыми.

460. Соединение по одному из п. п. 378-451, в котором все Su^1 являются различными.

461. Соединение по одному из п. п. 378-460, в котором L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}-$.

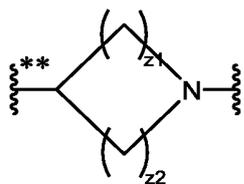
462. Соединение по одному из п. п. 378-460, в котором L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-3}-$.

463. Соединение по одному из п. п. 378-460, в котором L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-6}O-$.

464. Соединение по одному из п. п. 378-460, в котором L^{AA} представляет собой $-(CH_2)_{1-3}O-$.

465. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Su^2 представляет собой 4-6-членный гетероцикл.

466. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Su^2 имеет структуру:



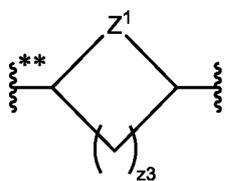
, при этом каждый из нижних индексов z_1 и z_2 независимо представляет собой целое число от 1 до 3, а ** показывает присоединение к L^{AA} .

467. Соединение по п. 466, в котором z_1 и z_2 представляют собой 1.

468. Соединение по п. 466, в котором z_1 и z_2 представляют собой 2.

469. Соединение по п. 466, в котором z_1 представляет собой 1, а z_2 представляет собой 2.

470. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Su^2 имеет структуру:



, где

Z^1 выбирается из группы, включающей: $-O-$, $-S-$, $-CR^N R^O-$ и $-NR^P-$, R^N , R^O и R^P независимо представляют собой водород или C_{1-6} алкил, нижний индекс z_3 представляет собой целое число от 1 до 3, а ** показывает присоединение к L^{AA} .

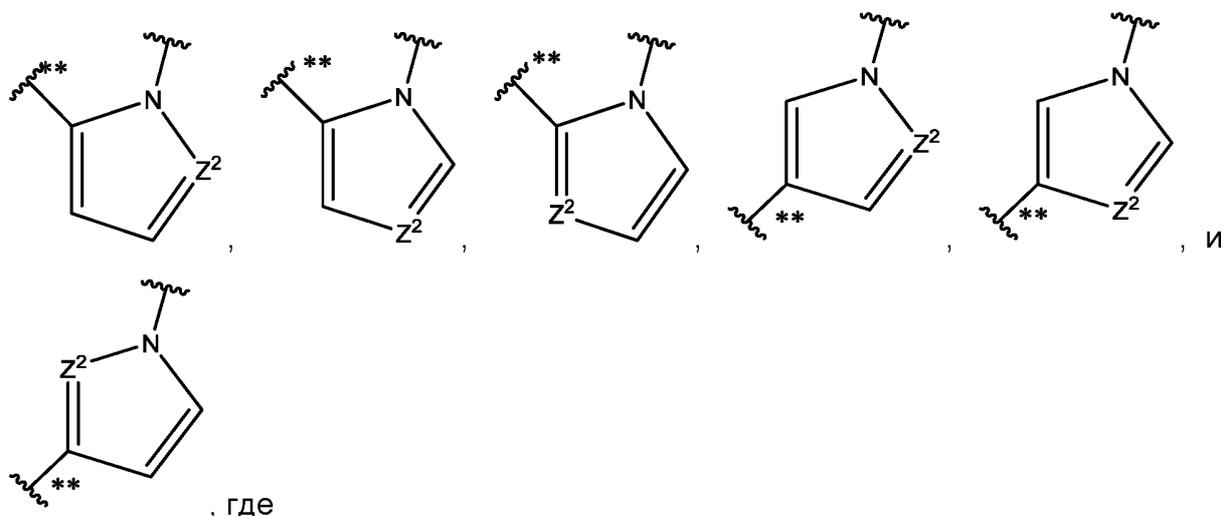
471. Соединение по п. 470, в котором R^N и R^O представляют собой водород.

472. Соединение по п. 470, в котором R^P представляет собой водород.

473. Соединение по п. 470, в котором R^P представляет собой метил.

474. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Su^2 представляет собой 5-6-членный гетероарил.

475. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Cu^2 выбирается из группы, включающей:



Z^2 представляет собой $=\text{CR}^{\text{N}}-$ или $=\text{H}-$,

R^{N} представляет собой водород или C_{1-6} алкил, и

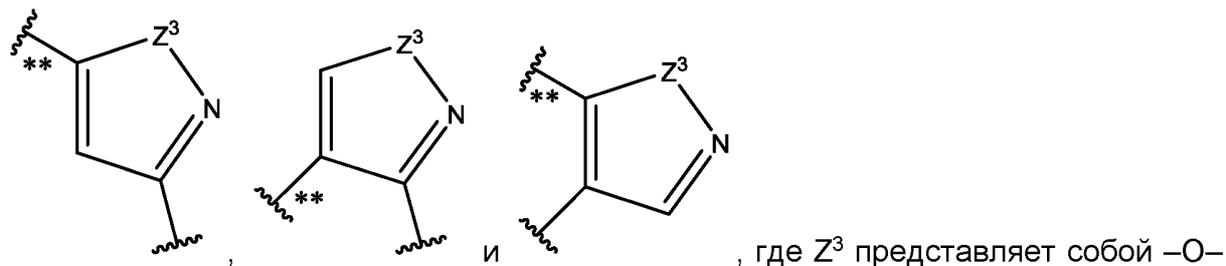
** показывает присоединение к L^{AA} .

476. Соединение по п. 475, в котором Z^2 представляет собой $=\text{CR}^{\text{N}}-$.

477. Соединение по п. 476, в котором R^{N} представляет собой водород.

478. Соединение по п. 475, в котором Z^2 представляет собой $=\text{H}-$.

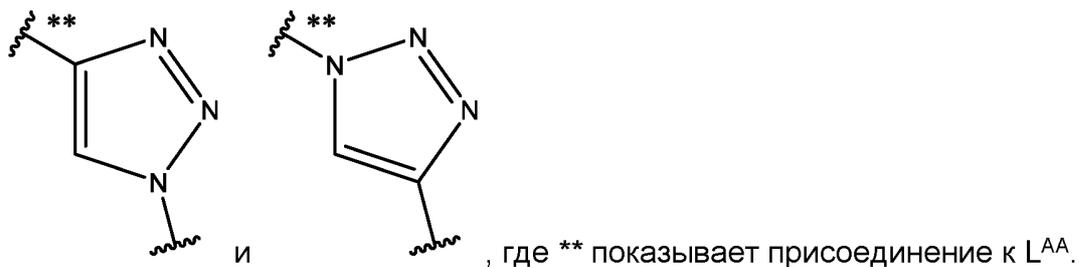
479. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Cu^2 выбирается из группы, включающей:



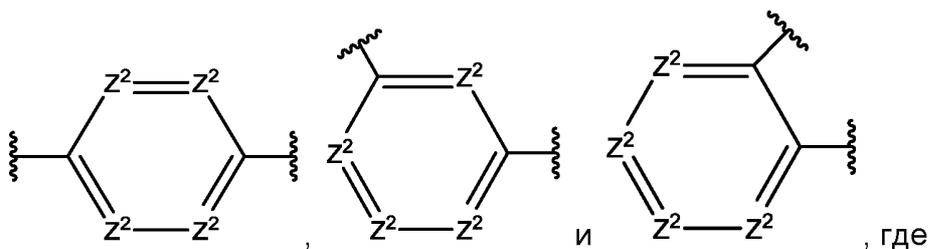
480. Соединение по п. 479, в котором ** показывает присоединение к L^{AA} .

481. Соединение по п. 479, где ** показывает присоединение к L^{D} , NR^{HH} , Y , W или L^{BB} .

482. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Cu^2 выбирается из группы, включающей:



483. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Su^2 выбирается из группы, включающей:



каждый Z^2 независимо представляет собой $=CR^N-$ или $=H-$, а каждый R^N независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил.

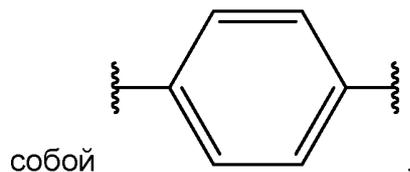
484. Соединение по п. 483, в котором по меньшей мере один Z^2 представляет собой $=H-$.

485. Соединение по п. 483, в котором один Z^2 представляет собой $=H-$, а остальные переменные Z^2 представляют собой $=CR^N-$.

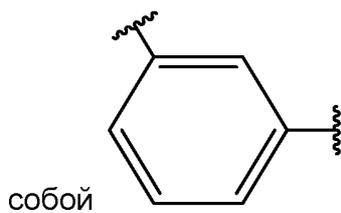
486. Соединение по п. 483, в котором два Z^2 представляют собой $=H-$, а остальные переменные Z^2 представляют собой $=CR^N-$.

487. Соединение по одному из п. п. 483, 485 и 486, в котором R^N и R^O представляют собой водород.

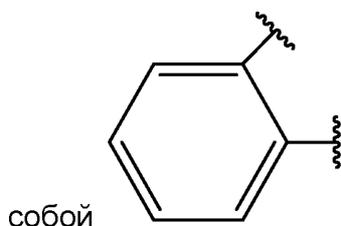
488. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Su^2 представляет



489. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Sy^2 представляет



490. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Sy^2 представляет



491. Соединение по одному из п. п. 378-464, в котором Sy^2 представляет собой циклобутил.

492. Соединение по одному из п. п. 378-491, в котором каждый R^{d3} , R^{e3} , R^{g1} , R^{h1} и R^{j1} независимо представляет собой водород или $-CH_3$.

493. Соединение по одному из п. п. 378-492, в котором каждый R^U независимо выбирается из группы, включающей $-CO_2H$, $-(C=O)NH_2$, $-S(O)_2NH_2$, $-CH_2NH_2$ и $-CH_2OH$.

494. Соединение по одному из п. п. 378-493, в котором t_1 представляет собой 0.

495. Соединение по одному из п. п. 378-493, в котором t_1 представляет собой 1.

496. Соединение по одному из п. п. 378-495, в котором u представляет собой 1, а L^D представляет собой $-(CH_2)_{1-3}$.

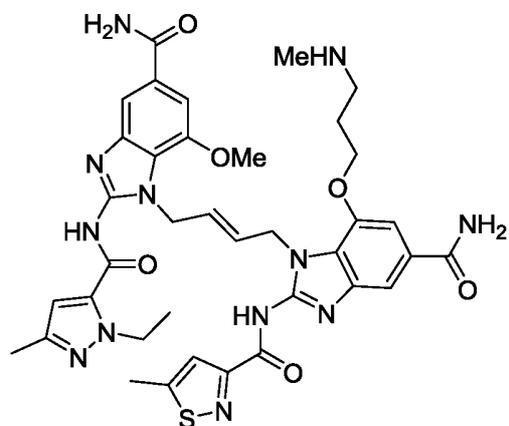
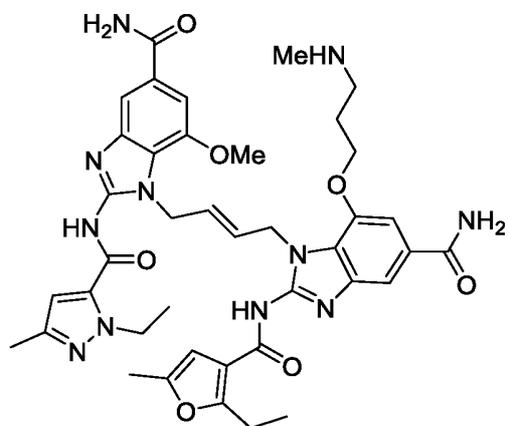
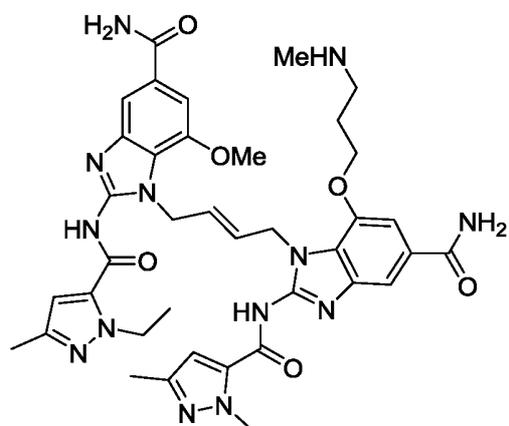
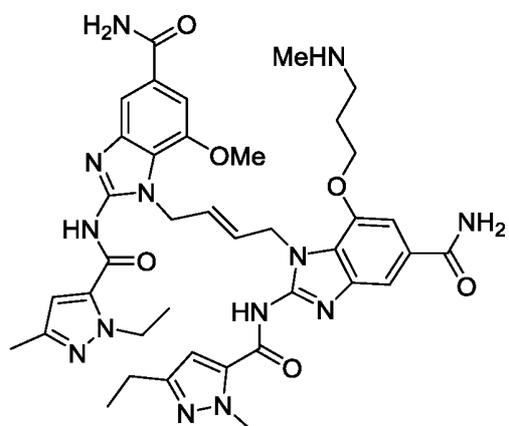
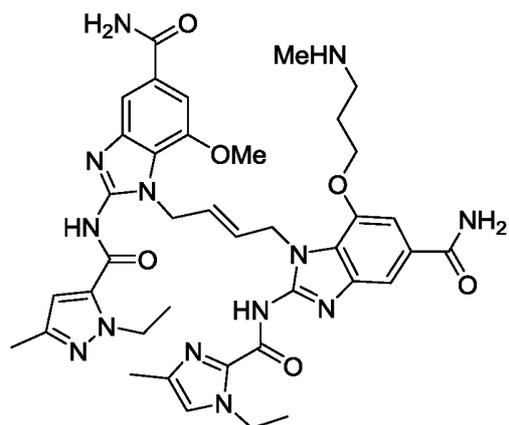
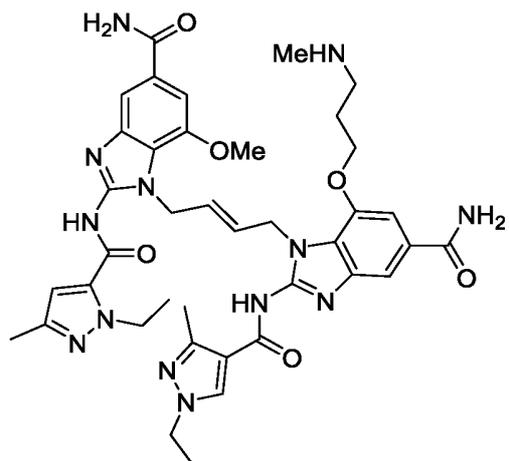
497. Соединение по одному из п. п. 378-495, в котором u представляет собой 0.

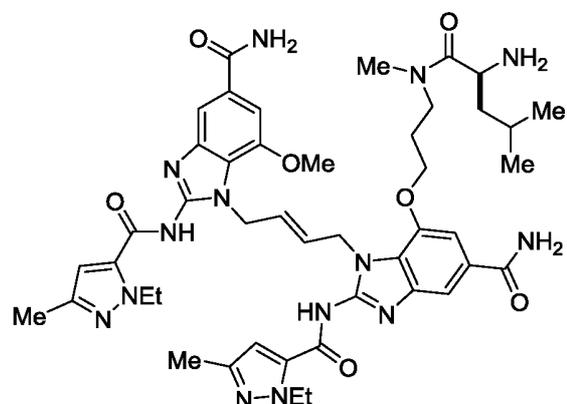
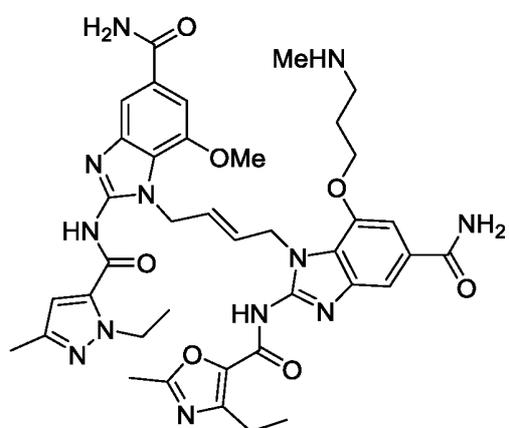
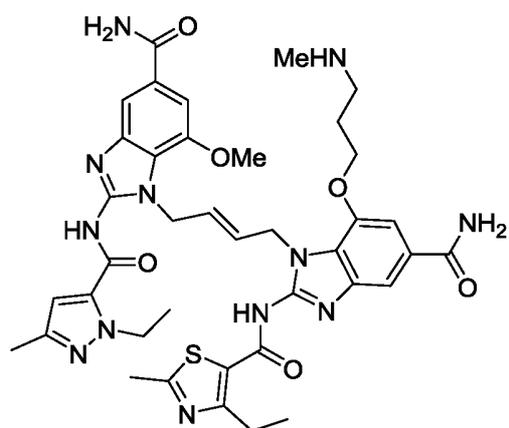
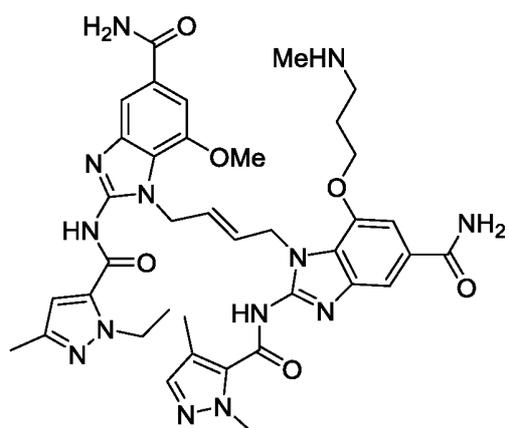
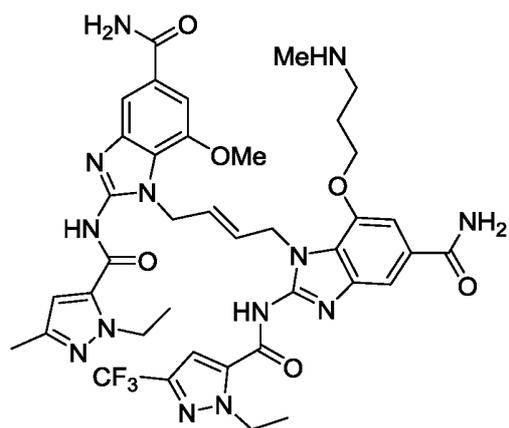
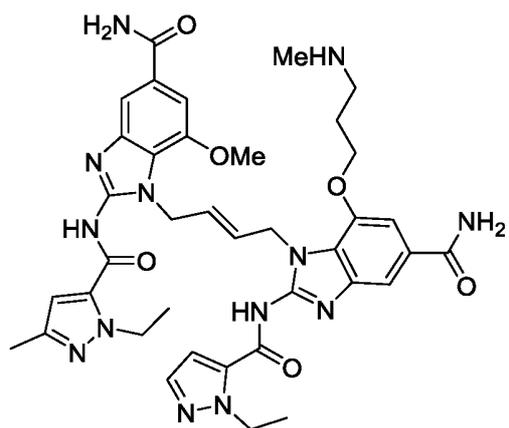
498. Соединение по одному из п. п. 378-497, в котором ZZ представляет собой $-NR^QR^R$.

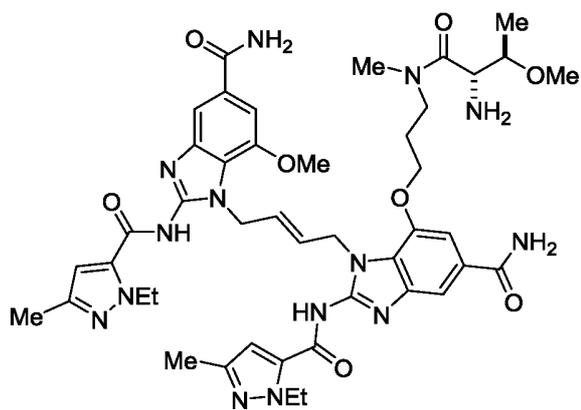
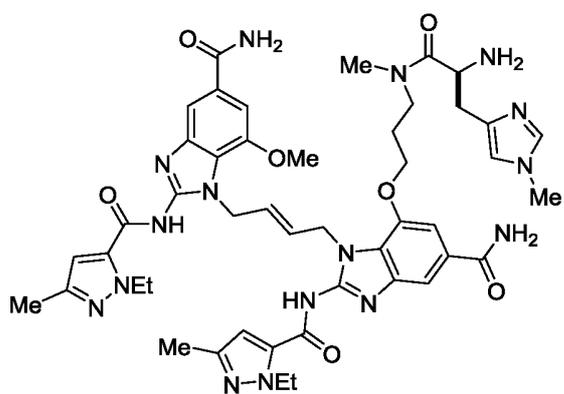
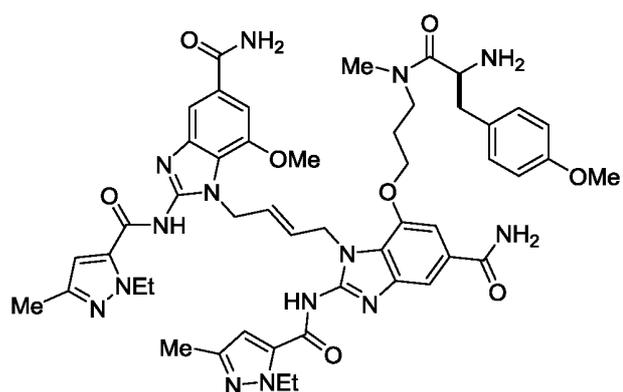
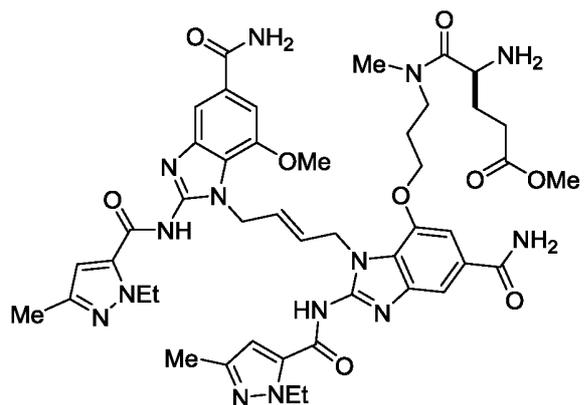
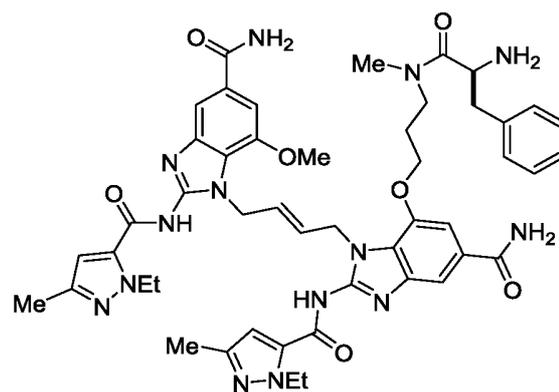
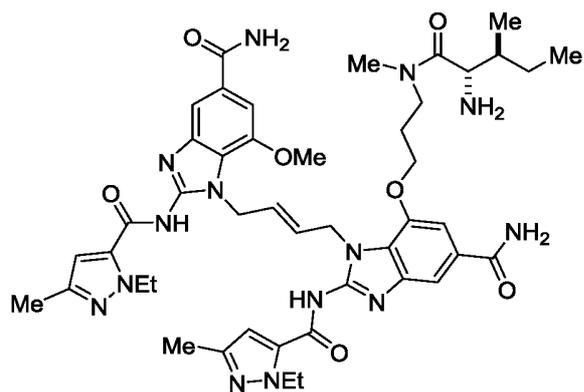
499. Соединение по п. 498, в котором R^Q представляет собой C_{1-6} алкил,

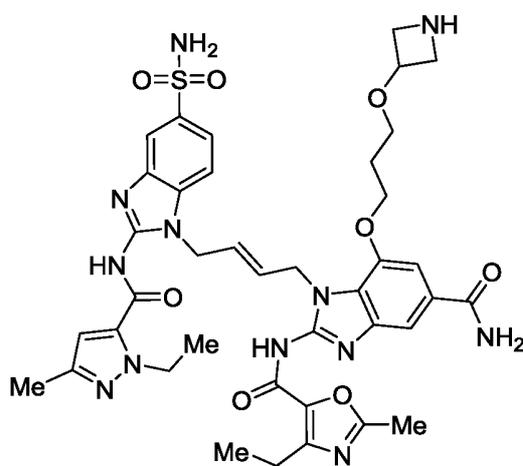
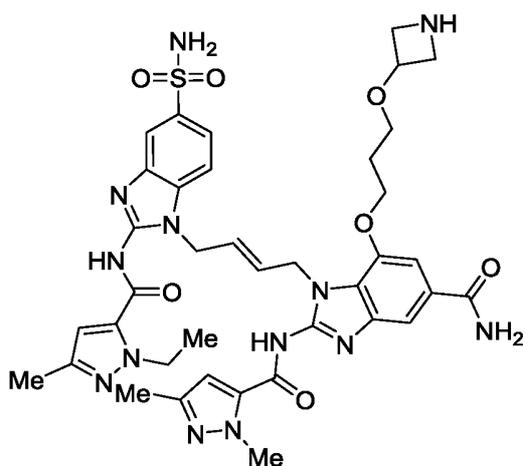
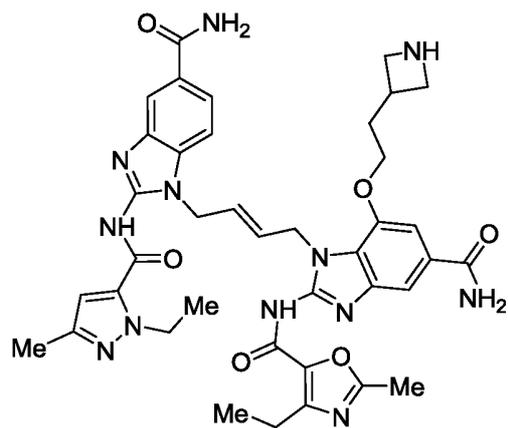
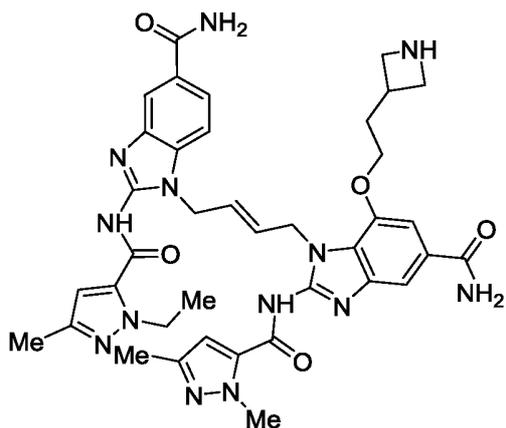
500. Соединение по п. 498, в котором R^Q представляет собой C_{3-6} циклоалкил.

501. Соединение по п. 500, в котором R^Q представляет собой циклопропил.
502. Соединение по п. 498, в котором R^Q представляет собой $-(CH_2)_{1-3}C_{3-6}$ циклоалкил.
503. Соединение по одному из п. п. 498-501, в котором R^R представляет собой водород.
504. Соединение по одному из п. п. 378-497, в котором ZZ представляет собой $-C(=O)N^SR^T$.
505. Соединение по одному из п. п. 378-497, в котором ZZ представляет собой $-C(O)O(t\text{-бутил})$.
506. Соединение по одному из п. п. 378-497, в котором ZZ представляет собой $-CO_2H$.
507. Соединение по одному из п. п. 378-497, в котором ZZ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей: аланин, валин, изолейцин, лейцин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, гистидин, аргинин, глицин, серин, треонин, фенилаланин, *O*-метилсерин, *O*-метиласпарагиновую кислоту, *O*-метилглутаминовую кислоту, *N*-метиллизин, *O*-метилтирозин, *O*-метилгистидин и *O*-метилтреонин.
508. Соединение по п. 378, выбранное из группы, включающей:









и их фармацевтически приемлемые соли.

509. Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), имеющий формулу:



где:

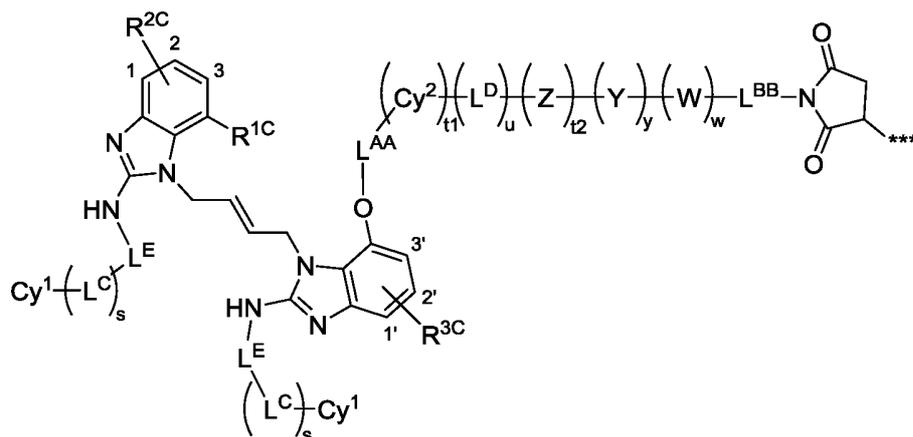
Ab - антитело,

каждый S^* представляет собой атом серы из цистеинового остатка антитела,

D' представляет собой группу лекарственного средства, которая является радикалом соединения формулы (IV) по одному из п. п. 216-377, а нижний индекс p представляет собой целое число от 2 до 8.

510. ADC по п. 509, в котором радикал соединения формулы (IV) представляет собой, в частности, радикал в заместителе M.

511. ADC по п. 510, где D' имеет структуру:



где *** указывает на присоединение к S*.

512. ADC по одному из п. п. 509- 511, в котором антитело представляет собой гуманизованное антитело.

513. ADC по п. 509 или п. 511, в котором антитело представляет собой моноклональное антитело.

514. ADC по п. 509 или п. 511, в котором антитело фукозилировано.

515. ADC по п. 509 или п. 511, в котором антитело афукозилировано.

516. Композиция, содержащая распределение конъюгатов ADC по одному из п. п. 118-215 и 509-515.

517. Композиция по п. 516, содержащая также по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

518. Способ лечения онкологического заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества композиции по п. 516 или п. 517.

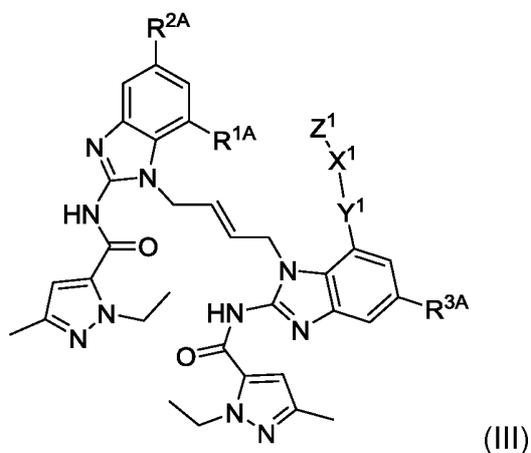
519. Способ лечения онкологического заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества конъюгата ADC по одному из п. п. 118-215 и 509-515.

520. Способ индуцирования противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества композиции по п. 516 или п. 517.

521. Способ индуцирования противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту

терапевтически эффективного количества конъюгата ADC по одному из п. п. 118-215 и 509-515.

522. Соединение формулы (III):



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

R^{1A} - водород, гидроксил, C_{1-6} алкокси, $-(C_{1-6} \text{ алкил})C_{1-6}$ алкокси, $-(CH_2)_n-NR^{AA}R^{BB}$,

R^{2A} и R^{3A} независимо представляет собой $-CO_2H$, $-(C=O)_m-NR^{CC}R^{DD}$ или $-(CH_2)_q-NR^{EE1}R^{FF1}$,

каждый нижний индекс nn независимо представляет собой целое число от 0 до 6,

каждый нижний индекс mm независимо представляет собой 0 или 1,

каждый нижний индекс qq представляет собой целое число от 0 до 6,

Y^1 представляет собой $-CH_2-$, $-O-$, $-S-$, $-NH-$ или $-H(CH_3)-$,

X^1 представляет собой C_{2-6} алкилен,

Z^1 представляет собой $-NR^{EE}R^{FF}$, $-C(=O)NR^{GG}R^{HH}$ или $-CO_2H$,

каждый R^{AA} , R^{BB} , R^{CC} и R^{DD} , R^{EE1} и R^{FF1} независимо представляет собой водород или C_{1-3} алкил, и

каждый R^{EE} , R^{FF} , R^{GG} и R^{HH} независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил.

523. Соединение по п. 522, в котором R^{1A} представляет собой водород.

524. Соединение по п. 522, в котором R^{1A} представляет собой гидроксил.

525. Соединение по п. 522, в котором R^{1A} представляет собой C_{1-6} алкокси-группу.

526. Соединение по п. 522 или п. 525, в котором R^1 представляет собой метокси-группу.

527. Соединение по п. 522, в котором R^{1A} представляет собой $-(C_{1-6}$ алкил) C_{1-6} алкокси.

528. Соединение по п. 522 или п. 527, в котором R^{1A} представляет собой метоксиэтил.

529. Соединение по п. 522, в котором R^1 представляет собой $-(CH_2)_{nn}-NR^{AA}R^{BB}$.

530. Соединение по п. 522 или п. 529, в котором R^{AA} и R^{BB} оба представляют собой водород.

531. Соединение по п. 522 или п. 529, в котором R^{AA} и R^{BB} независимо представляют собой C_{1-3} алкил.

532. Соединение по п. 522 или п. 529, в котором один из R^{AA} и R^{BB} представляет собой водород, а другой из R^{AA} и R^{BB} представляет собой C_{1-3} алкил.

533. Соединение по одному из п. п. 522 или 529-532, в котором каждый нижний индекс nn представляет собой 0.

534. Соединение по одному из п. п. 522 или 529-532, в котором каждый нижний индекс nn представляет собой 1.

535. Соединение по одному из п. п. 522 или 529-532, в котором каждый нижний индекс nn представляет собой 2.

536. Соединение по одному из п. п. 522 или 529-532, в котором каждый нижний индекс nn представляет собой 3, 4, 5 или 6.

537. Соединение по одному из п. п. 522-536, в котором R^{2A} и R^{3A} независимо представляют собой $-CO_2H$, $-(C=O)_{mm}-NR^{CC}R^{DD}$ или $-(CH_2)_q-NR^{EE1}R^{FF1}$, а R^{2A} и R^{3A} являются одинаковыми.

538. Соединение по одному из п. п. 522-536, в котором R^{2A} и R^{3A} независимо представляют собой $-CO_2H$, $-(C=O)_{mm}-NR^{CC}R^{DD}$ или $-(CH_2)_q-NR^{EE1}R^{FF1}$, а R^{2A} и R^{3A} являются различными.

539. Соединение по одному из п. п. 522-538, в котором R^{2A} представляет собой $-(C=O)_{mm}-NR^{CC}R^{DD}$.

540. Соединение по одному из п. п. 522-538, в котором R^{3A} представляет собой $-(C=O)_{mm}-NR^{CC}R^{DD}$.

541. Соединение по одному из п. п. 522-537 или 539-540, в котором каждый R^{CC} и каждый R^{DD} представляет собой водород.

542. Соединение по одному из п. п. 522-537 или 539-540, в котором каждый R^{CC} и каждый R^{DD} независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

543. Соединение по одному из п. п. 522-536 или 538-540, в котором один из R^{CC} и R^{DD} представляет собой водород, а другой из R^{CC} и R^{DD} представляет собой C_{1-3} алкил.

544. Соединение по одному из п. п. 522-543, в котором каждый нижний индекс mm представляет собой 0.

545. Соединение по одному из п. п. 522-543, в котором каждый нижний индекс mm представляет собой 1.

546. Соединение по одному из п. п. 522-538, в котором R^{2A} представляет собой $-(CH_2)_q-NR^{EE1}R^{FF1}$.

547. Соединение по одному из п. п. 522-538, в котором R^{3A} представляет собой $-(CH_2)_q-NR^{EE1}R^{FF1}$.

548. Соединение по одному из п. п. 522-538 или 546-547, в котором каждый R^{EE1} и каждый R^{FF1} представляют собой водород.

549. Соединение по одному из п. п. 522-538 или 546-547, в котором каждый R^{EE1} и каждый R^{FF1} независимо представляет собой C_{1-3} алкил.

550. Соединение по одному из п. п. 522-538 или 546-547, в котором один из каждый R^{EE1} и каждый R^{FF1} представляет собой водород, а другой из каждый R^{EE1} и каждый R^{FF1} представляет собой C_{1-3} алкил.

551. Соединение по одному из п. п. 522-538 или 546-547, в котором каждый нижний индекс qq представляет собой 0.

552. Соединение по одному из п. п. 522-538 или 546-550, в котором каждый нижний индекс qq представляет собой целое число от 1 до 6.

553. Соединение по одному из п. п. 522-538, в котором R^{3A} представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$.

554. Соединение по одному из п. п. 522-538, в котором R^{2A} представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$.

555. Соединение по одному из п. п. 522-554, в котором Y^1 представляет собой $-\text{CH}_2-$.

556. Соединение по одному из п. п. 522-554, в котором Y^1 представляет собой $-\text{O}-$.

557. Соединение по одному из п. п. 522-554, в котором Y^1 представляет собой $-\text{S}-$.

558. Соединение по одному из п. п. 522-554, в котором Y^1 представляет собой $-\text{NH}-$.

559. Соединение по одному из п. п. 522-558, в котором X^1 представляет собой C_{2-5} алкилен.

560. Соединение по одному из п. п. 522-559, в котором X^1 представляет собой C_{2-4} алкилен.

561. Соединение по одному из п. п. 522-560, в котором X^1 представляет собой этилен или n-пропилен.

562. Соединение по одному из п. п. 522-561, в котором Z^1 представляет собой $-\text{NR}^{\text{E}1}\text{R}^{\text{F}1}$.

563. Соединение по одному из п. п. 522-562, в котором R^{EE} и R^{FF} оба представляют собой водород.

564. Соединение по одному из п. п. 522-562, в котором R^{EE} и R^{FF} независимо представляют собой C_{1-6} алкил.

565. Соединение по одному из п. п. 522-562, в котором один из R^{EE} и R^{FF} представляет собой водород, а другой из R^{EE} и R^{FF} представляет собой C_{1-6} алкил.

566. Соединение по п. 564 или п. 565, в котором C_{1-6} алкил представляет собой C_{1-3} алкил.

567. Соединение по п. 566, в котором C_{1-3} алкил представляет собой метил.

568. Соединение по одному из п. п. 522-561, в котором Z^1 представляет собой $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{GG}}\text{R}^{\text{HH}}$.

569. Соединение по одному из п. п. 522-561 или п. 568, в котором R^{GG} и R^{HH} оба представляют собой водород.

570. Соединение по одному из п. п. 522-561 или п. 568, в котором R^{GG} и R^{HH} независимо представляют собой C_{1-6} алкил.

571. Соединение по одному из п. п. 522-561 или п. 568, в котором один из R^{GG} и R^{HH} представляет собой водород, а другой из R^{GG} и R^{HH} представляет собой C_{1-6} алкил.

572. Соединение по п. 570 или п. 571, в котором C_{1-6} алкил представляет собой C_{1-3} алкил.

573. Соединение по п. 569, в котором C_{1-3} алкил представляет собой метил.

574. Соединение по одному из п. п. 522-561, в котором Z^1 представляет собой $-CO_2H$.

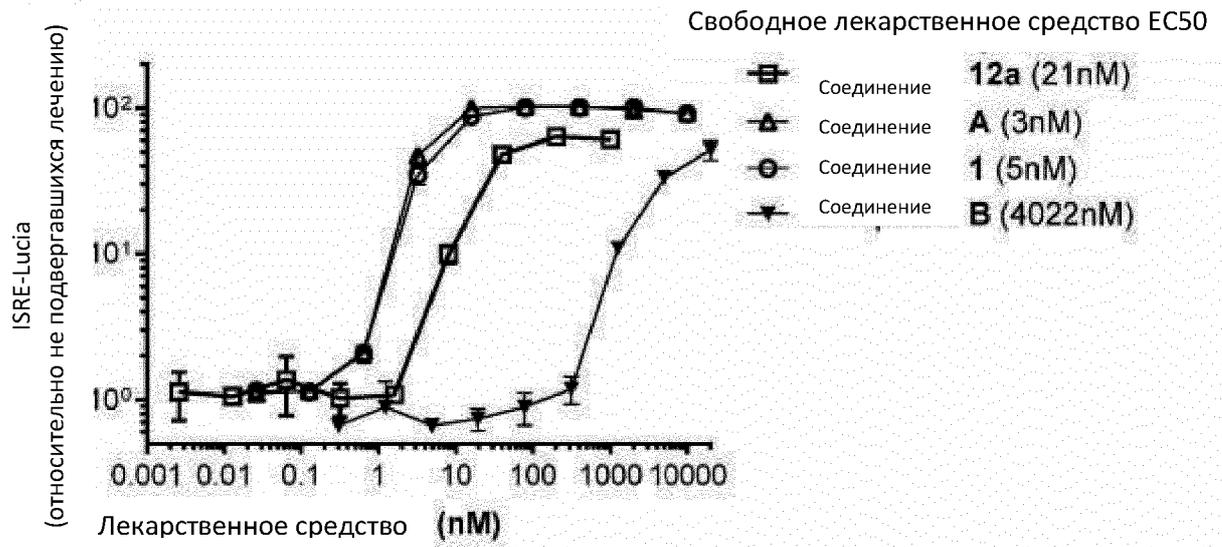
575. Соединение по п. 522, в котором R^{1A} представляет собой метокси-группу, а R^{2A} и R^{3A} оба представляют собой $-C(=O)NH_2$.

576. Соединение по п. 522 или п. 575, в котором Y^1 представляет собой $-O-$, а X^1 представляет собой C_3 алкилен.

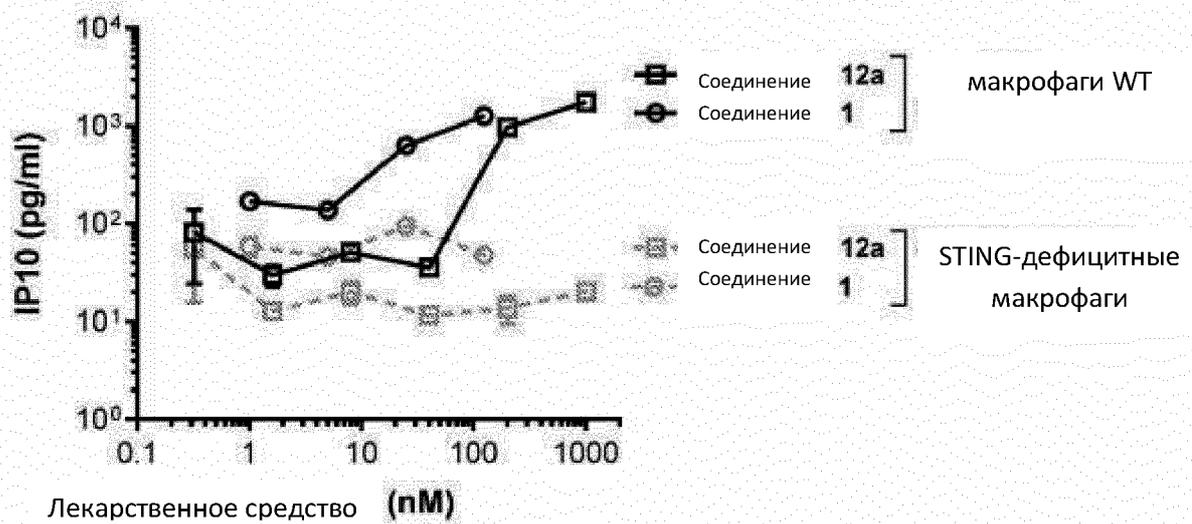
577. Соединение по одному из п. п. 522 или 575-576, в котором X^1 представляет собой N-пропилен.

578. Соединение по одному из п. п. 522 или 575-577, в котором Z^1 представляет собой $-NR^{EE}R^{FF}$.

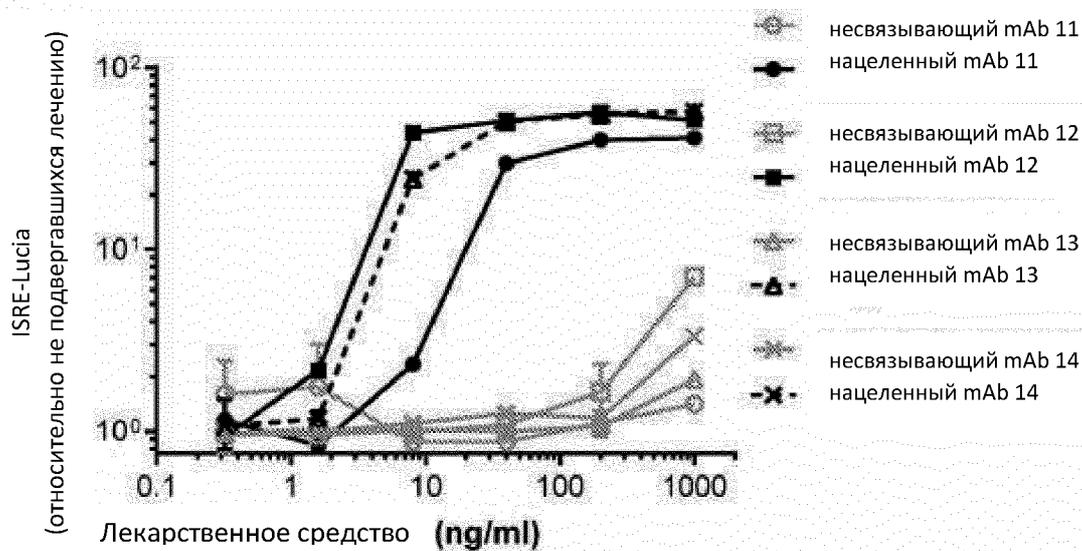
579. Соединение по одному из п. п. 522 или 575-578, в котором R^{EE} представляет собой водород, а R^{FF} представляет собой метил.



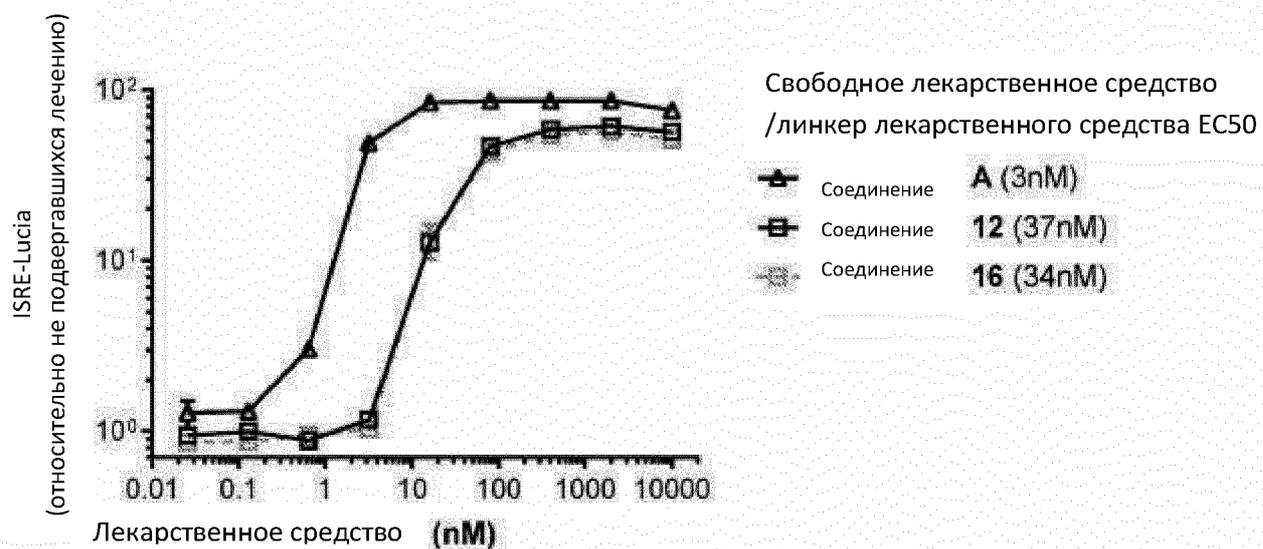
Фиг. 1



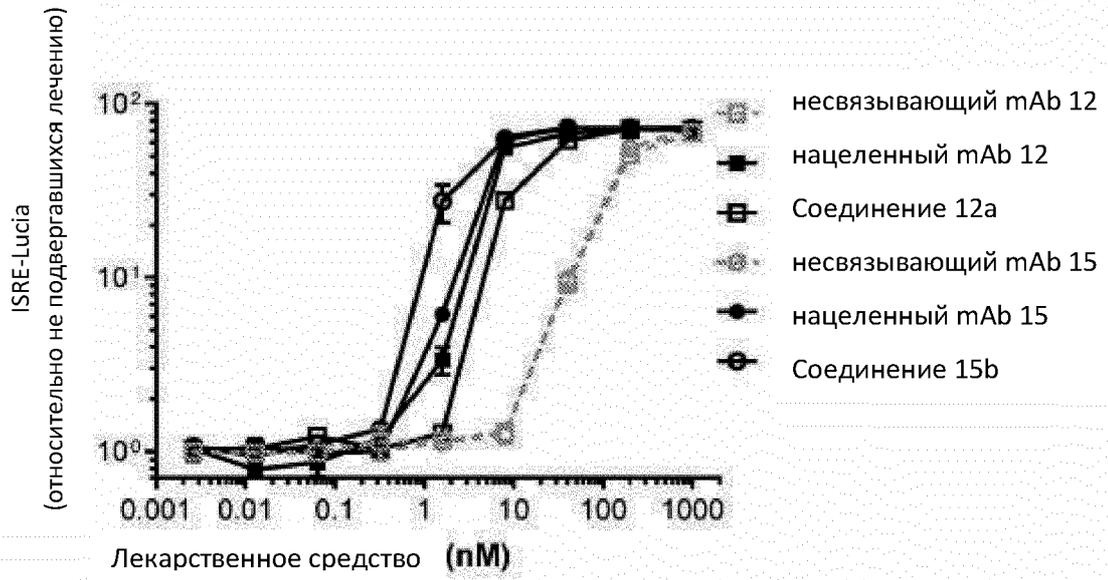
Фиг. 2



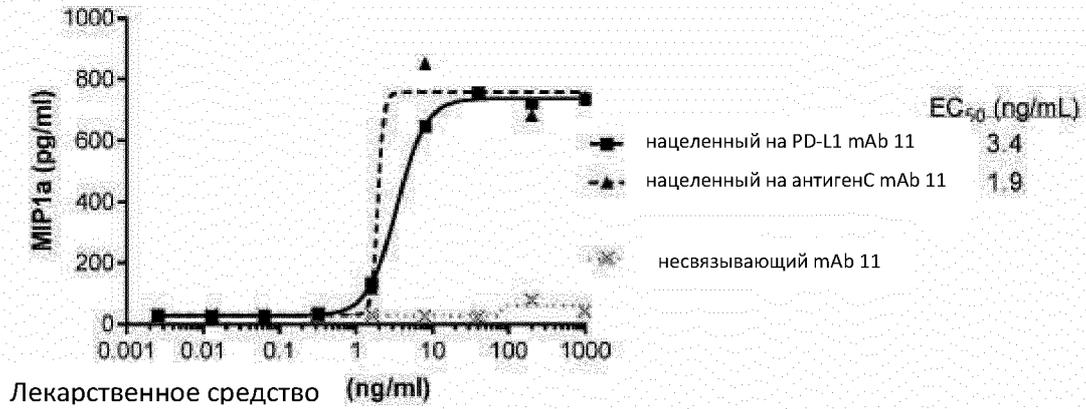
Фиг. 3



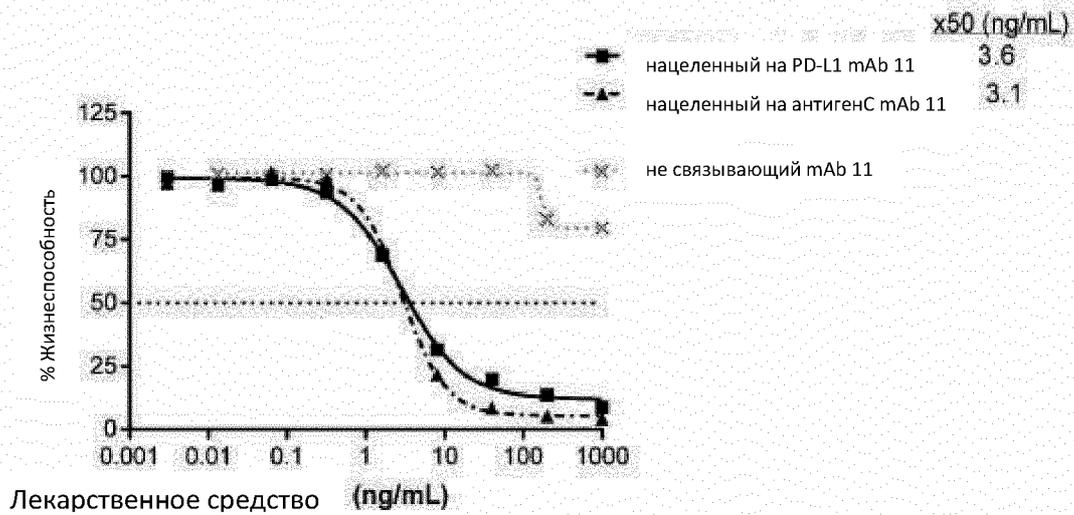
Фиг. 4



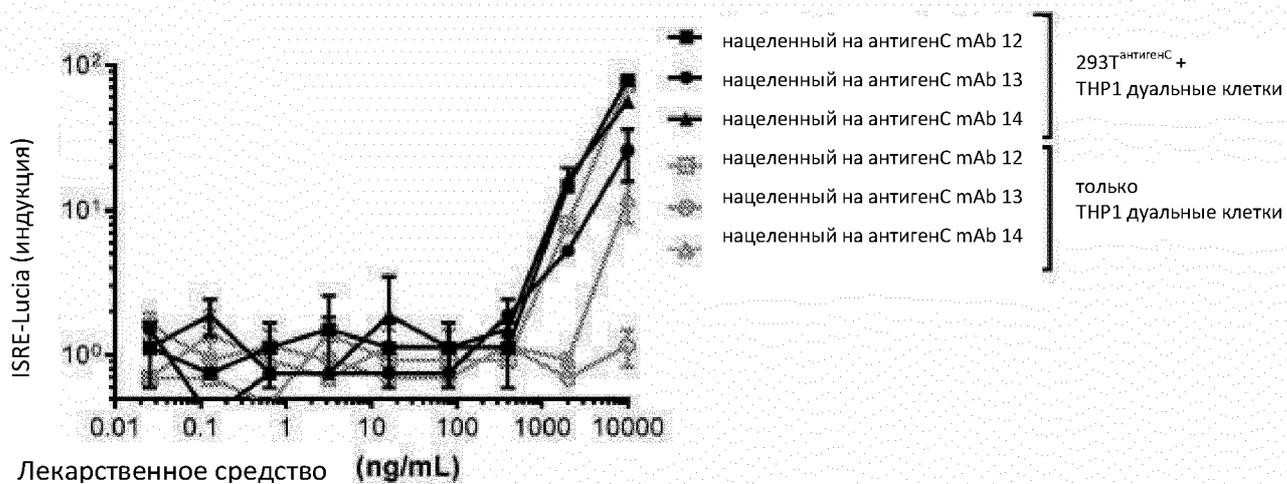
Фиг. 5



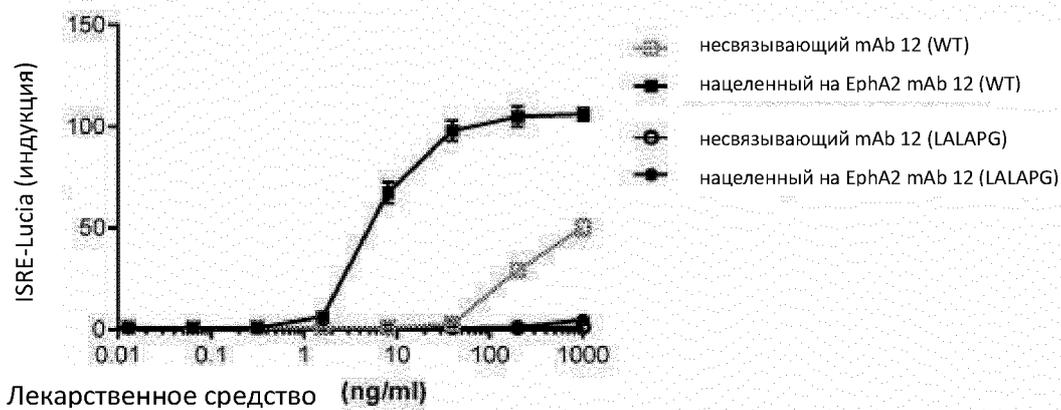
Фиг. 6А



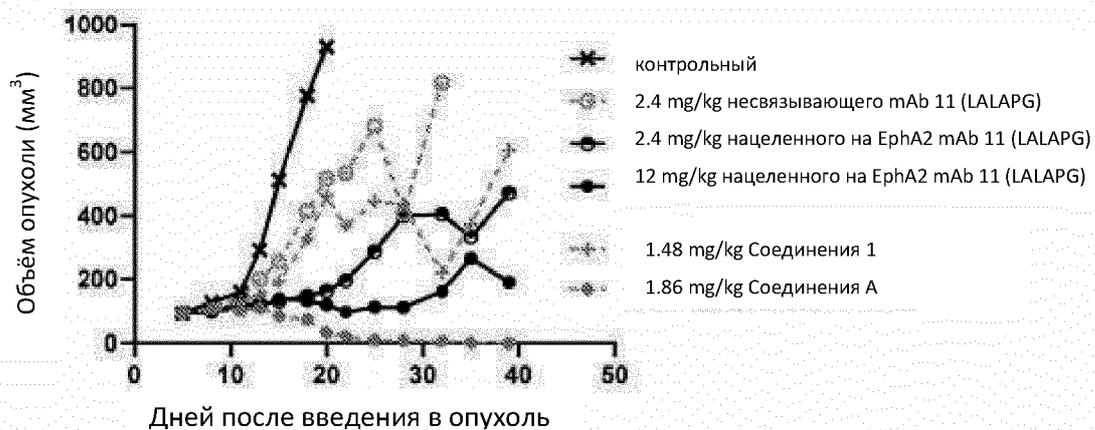
Фиг. 6В



Фиг. 7



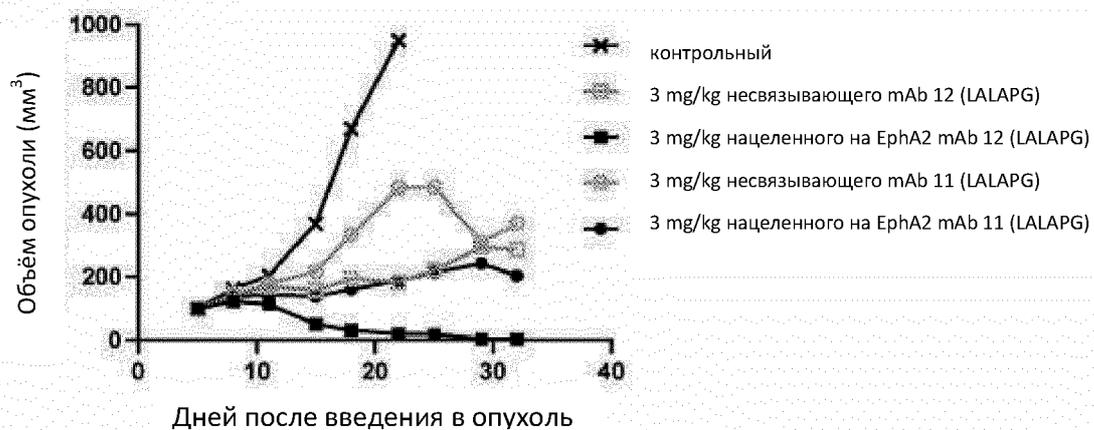
Фиг. 8



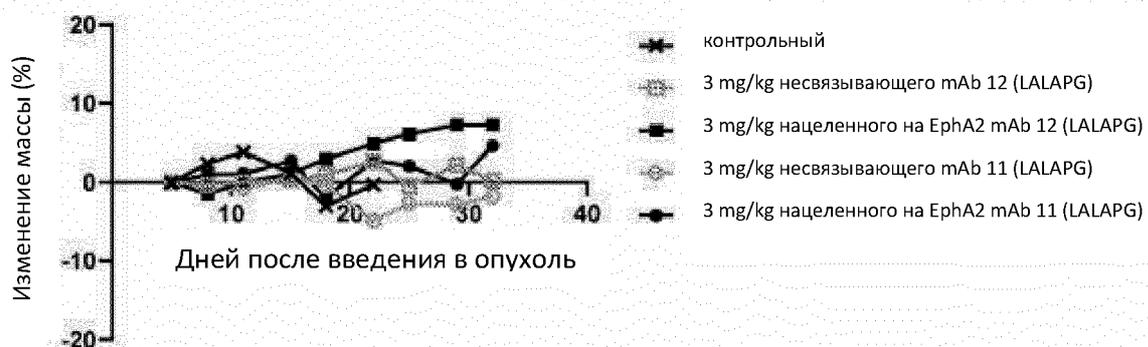
Фиг. 9А



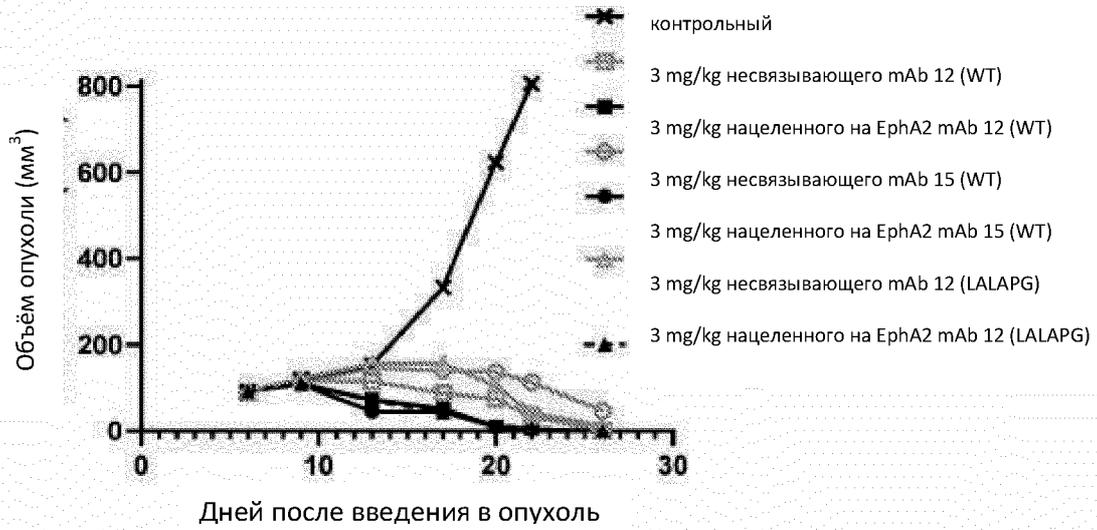
Фиг. 9В



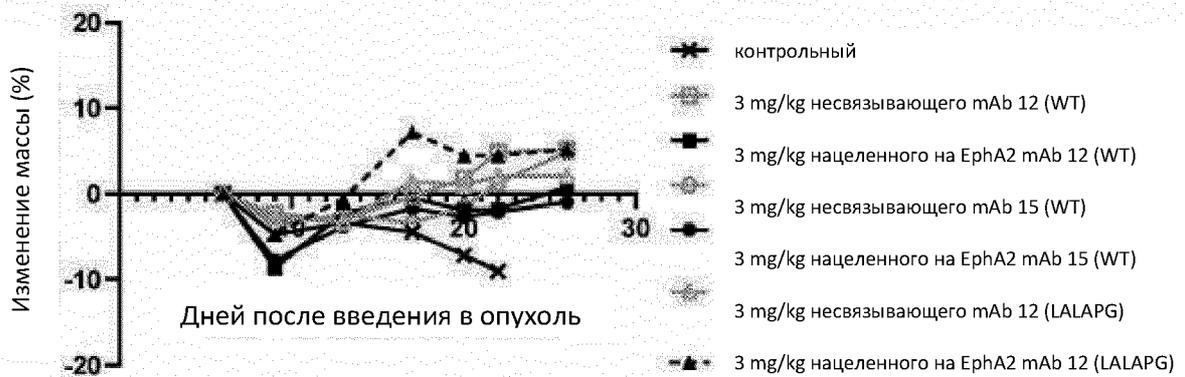
Фиг. 10А



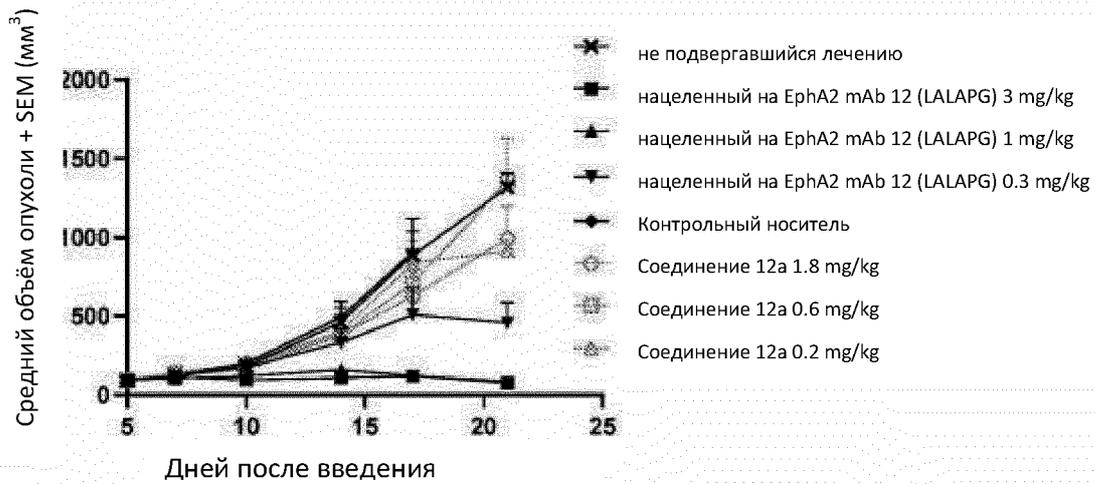
Фиг. 10В



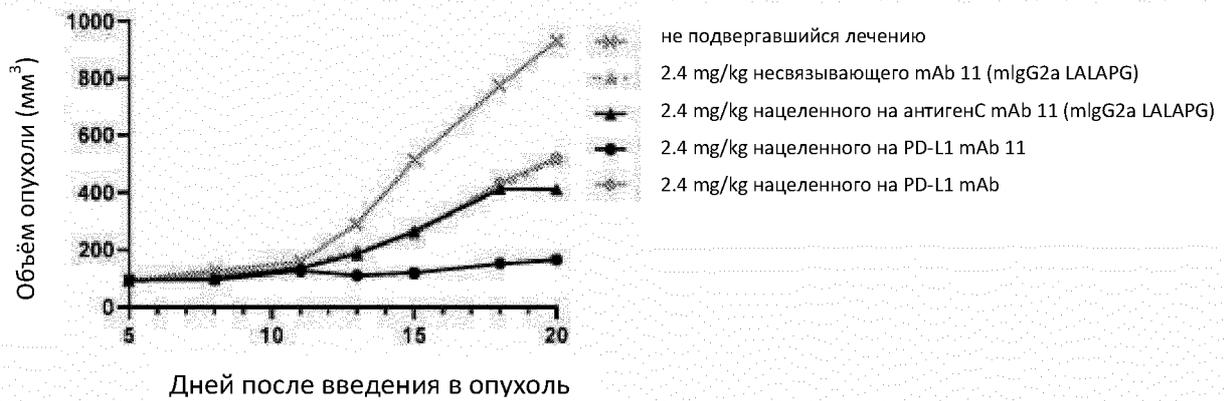
Фиг. 11А



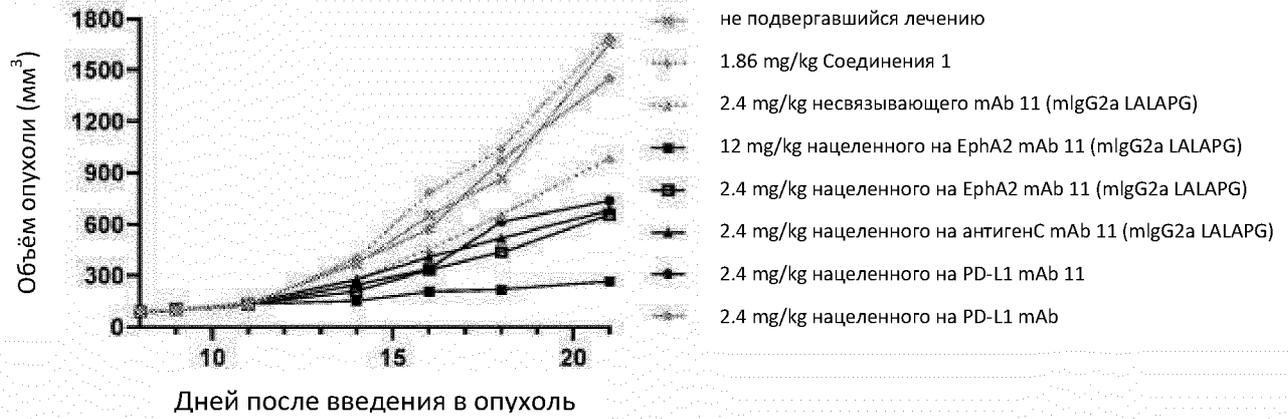
Фиг. 11В



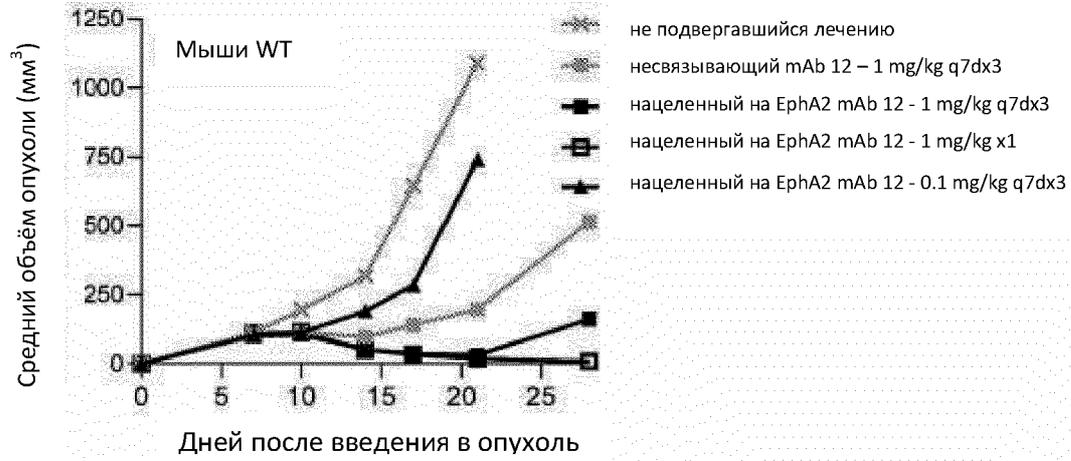
Фиг. 12



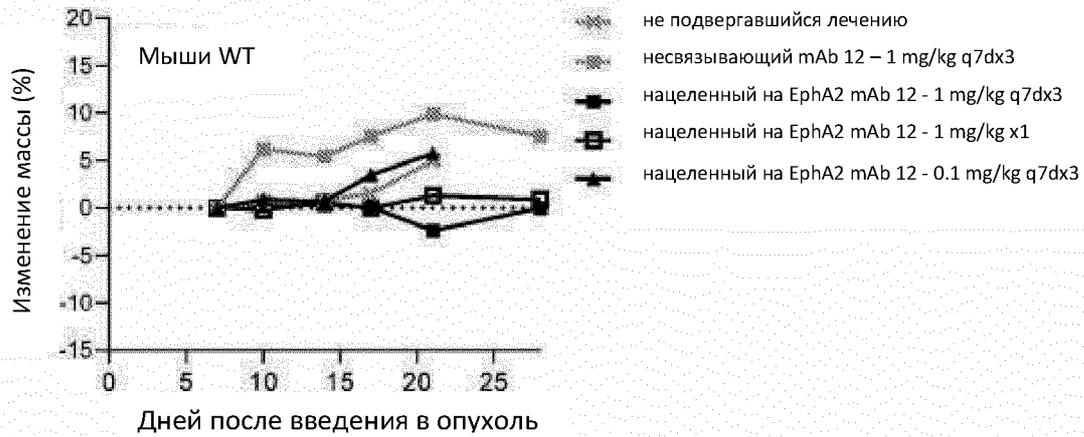
Фиг. 13



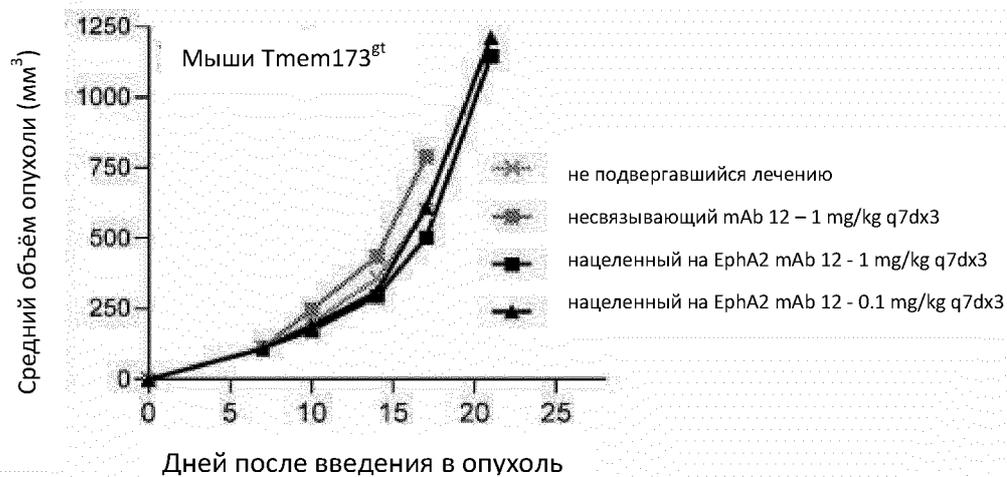
Фиг. 14



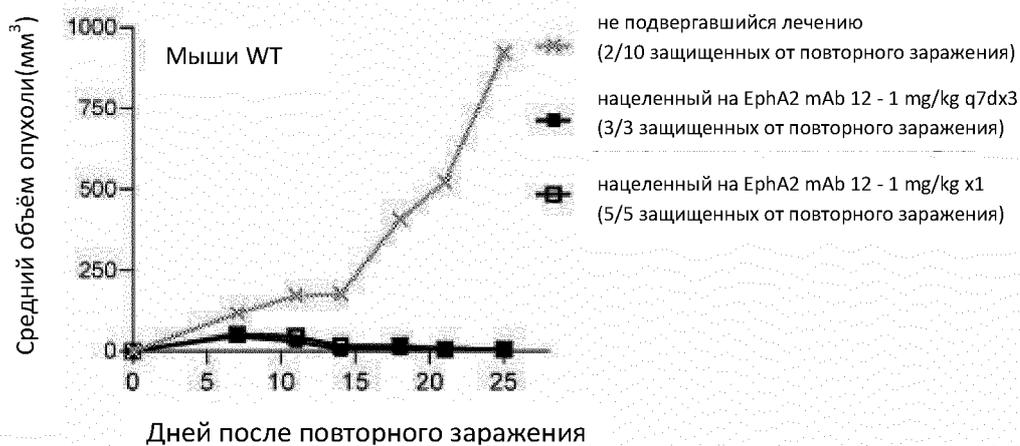
Фиг. 15А



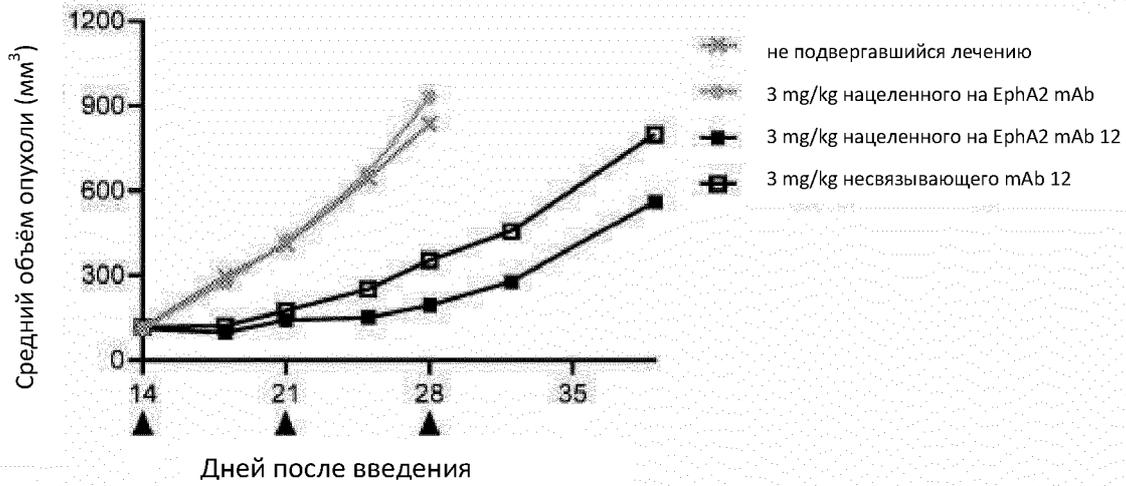
Фиг. 15В



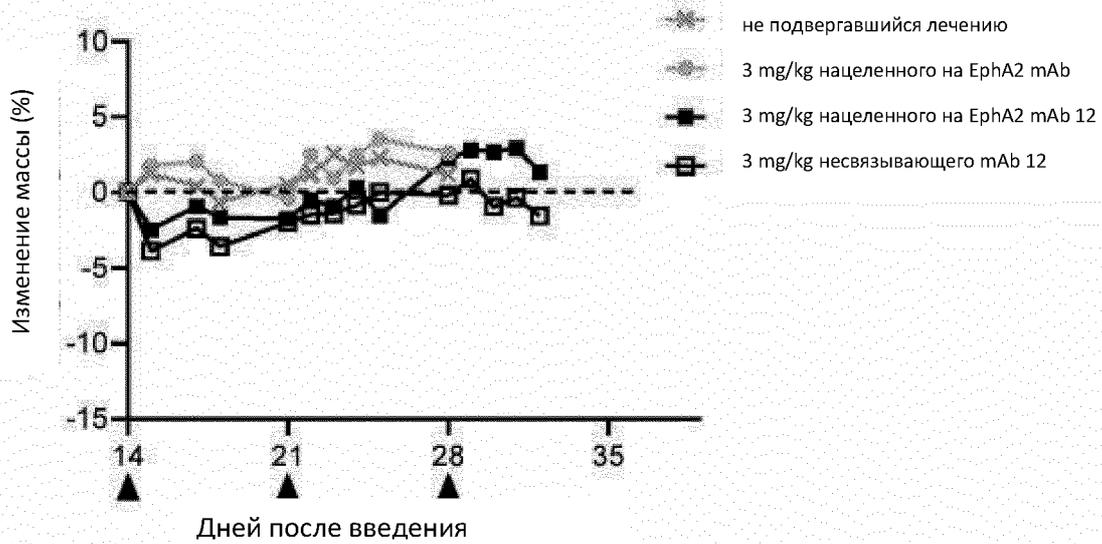
Фиг. 15C



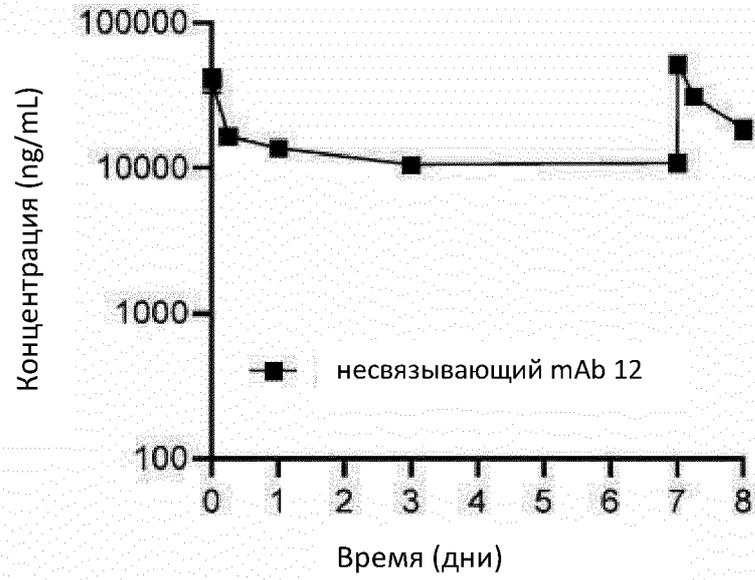
Фиг. 15D



Фиг. 16А



Фиг. 16В



I Фиг. 17