

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202491769** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.09.17

(22) Дата подачи заявки
2023.01.13

(51) Int. Cl. *C07D 493/20* (2006.01)
C07D 493/22 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)
A61K 31/365 (2006.01)

(54) **ПРОИЗВОДНЫЕ ВЕРРУКАРИНА А И ИХ КОНЬЮГАТЫ АНТИТЕЛО-
ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО**

(31) 63/299,824; 63/367,108

(32) 2022.01.14; 2022.06.27

(33) US

(86) PCT/US2023/060656

(87) WO 2023/137443 2023.07.20

(71) Заявитель:

РИДЖЕНЕРОН

ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Ниттоли Томас (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В данном документе предложены производные веррукарина А, производные линкер-веррукарин А и их конъюгаты антитело-лекарственное средство. В одном варианте осуществления производные веррукарина А, производные линкер-веррукарин А и конъюгаты антитело-лекарственное средство являются пригодными для лечения вирусных заболеваний.

A1

202491769

202491769

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-581583EA/019

ПРОИЗВОДНЫЕ ВЕРРУКАРИНА А И ИХ КОНЬЮГАТЫ АНТИТЕЛО – ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО

Родственные заявки

[1] Данная заявка испрашивает приоритет по предварительным заявкам на патент США № 63/299,824, поданной 14 января 2022 г., и 63/367,108, поданной 27 июня 2022 г. Содержание каждой из вышеупомянутых заявок включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ЗАЯВЛЕНИЕ О СПОНСИРОВАНИИ ИССЛЕДОВАНИЯ ФЕДЕРАЛЬНЫМ ПРАВИТЕЛЬСТВОМ США

[2] Настоящее изобретение было выполнено при поддержке правительства США по контракту ОТА № HNSO100201700020C, заключенному с Управлением перспективных биомедицинских исследований и разработок (Biomedical Advanced Research and Development Authority - BARDA). Правительство США имеет определенные права на настоящее изобретение.

Перечень последовательностей

[3] Данная заявка содержит Перечень последовательностей, который предоставлен в виде файла XML с именем «10968WO01_SL.xml», созданного 9 января 2023 г., размером 457 018 байт, который полностью включен в данный документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[4] В данном документе предложены производные веррукарина А и их конъюгаты антитело - лекарственное средство (antibody drug conjugate - ADC). Производные веррукарина А и конъюгаты ADC, предложенные в данном документе, можно использовать, *среди прочего*, при лечении вирусных заболеваний.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[5] Веррукарин А представляет собой трихотеценовый токсин, который изучали при лечении различных раковых заболеваний. Однако токсичность веррукарина А является слишком высокой, чтобы обеспечить терапевтическое окно для его применения в качестве терапии. Таким образом, для решения этой проблемы были предложены ADC веррукарина А (патенты США №№ 4,744,981, 10,232,051 и 10,985,112; публикация заявки на патент США № US 2015/0250896). Также было продемонстрировано, что веррукарин А обладает значительной антивирусной активностью против, например, штамма вируса осповакцины DII и штамма вируса болезни Ньюкасла Miyadera (NDV) (Tamura et al. J. Anitbiot. (Токуо) 1968, 21(2):160-161), а также аренавируса Хунин (JUNV) (Garcia et al. Planta Med. 2002, 68(3):209-212).

[6] ADC сочетают в себе силу специфичности антител со способностью сайт-специфического нацеливания на определенный тип клеток или тканей с полезной нагрузкой. Такая сайт-специфичность позволяет использовать токсичную полезную нагрузку, у которой в противном случае не было бы достаточного терапевтического окна.

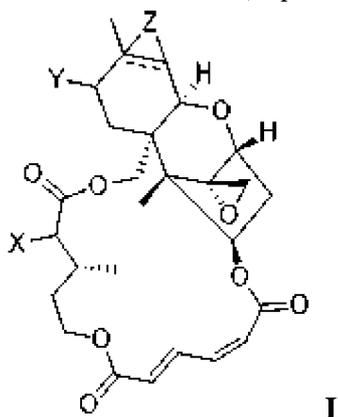
Исследования в данной области вызвали значительный интерес и привели к появлению на рынке фармацевтических продуктов, включительно с ADCETRIS® (брентуксимаб ведотин) и KADCYLA™ (адо-трастузумаб эмтанзин).

[7] За некоторыми исключениями, современные методы антивирусной терапии просто лечат симптомы заболевания или ингибируют репликацию вируса. Такие виды лечения могут замедлить прогрессирование заболевания, пока естественный иммунный ответ не станет эффективным либо пока не будет достигнут вирусный стазис. Более того, существует небольшое количество антивирусных терапевтических средств широкого спектра действия, если таковые существуют вообще. Таким образом, существует значительная неудовлетворенная потребность в лечении и профилактике вирусных инфекций.

[8] Более того, разработка противовирусных средств, в которых используется альтернативный механизм действия, является критически важной для снижения риска развития вирусами резистентности к существующим терапевтическим средствам. Применение ADC, содержащих полезную нагрузку широкого спектра действия, может способствовать использованию широкого диапазона противовирусных антител, которые часто не имеют достаточной нейтрализующей активности, чтобы быть эффективными сами по себе. Таким образом, существует постоянная потребность в эффективных сайт-специфических способах лечения вирусных инфекций.

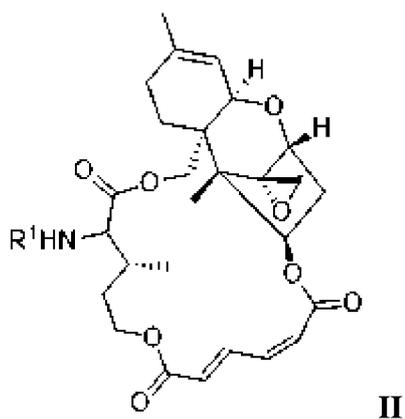
СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[9] В данном документе предложены производные веррукарина А и их ADC. В одном варианте осуществления производные веррукарина А для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, имеют формулу I:



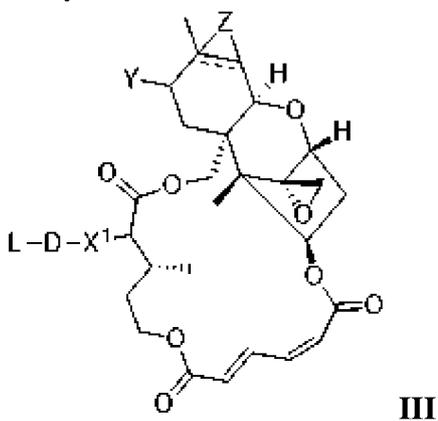
[10] или их фармацевтически приемлемого производного, где X, Y и Z имеют такие значения, как определено в данном документе.

[11] В другом варианте осуществления производные веррукарина А для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, имеют формулу II:



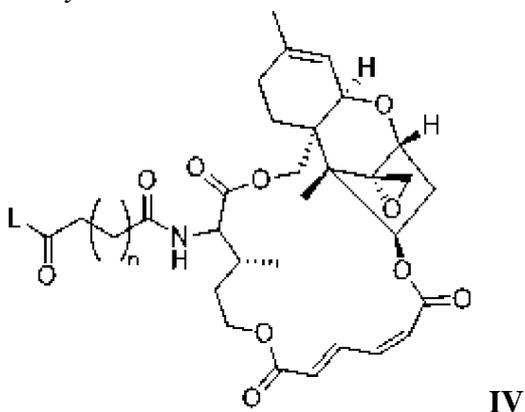
[12] или их фармацевтически приемлемого производного, где R^1 имеет такое значение, как определено в данном документе.

[13] В другом варианте осуществления предложены производные линкер - веррукарин А формулы III для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе:



[14] или их фармацевтически приемлемое производное, где X^1 , D, L, Y и Z имеют такие значения, как определено в данном документе.

[15] В другом варианте осуществления предложены производные линкер - веррукарин А формулы IV для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе:



[16] или их фармацевтически приемлемое производное, где L и n имеют такие значения, как определено в данном документе.

[17] В другом варианте осуществления предложены ADC формулы V для

применения в композициях и способах, предложенных в данном документе:

[18] $Z-(L-X)_v V$

[19] или их фармацевтически приемлемое производное, где:

[20] Z представляет собой противовирусный антигенсвязывающий домен;

[21] L представляет собой связывающую группу, определенную в данном документе;

[22] X представляет собой производное веррукарина A; и

[23] v представляет собой целое число от 1 до 12.

[24] В другом варианте осуществления производные веррукарина A и их ADC, предложенные в данном документе, можно использовать в способах лечения вирусных заболеваний. В одном варианте осуществления вирусное заболевание представляет собой грипп, COVID-19 или Эболу.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

i. Определения

[25] Для облегчения понимания настоящего изобретения, изложенного в данном описании, ниже определен ряд терминов.

[26] Если не указано иное, все употребляемые в данном документе технические и научные термины имеют то же значение, которое обычно понимается рядовым специалистом в данной области техники. Все патенты, заявки, опубликованные заявки и другие публикации включены посредством ссылки во всей их полноте. В случае наличия нескольких определений термина, упомянутого в данном документе, следует руководствоваться определением, представленным в данном разделе, если не указано иное.

[27] Формы единственного числа включают в себя формы множественного числа, если из контекста явным образом не следует иное.

[28] При употреблении в контексте данного документа термин «субъект» представляет собой животное, такое как млекопитающее, включительно с человеком, например, пациентом.

[29] При употреблении в контексте данного документа биологическая активность относится к активности соединения *in vivo* или физиологическим реакциям, которые возникают при введении соединения, композиции или другой смеси *in vivo*. Следовательно, биологическая активность охватывает собой терапевтические эффекты и фармакокинетическое поведение таких соединений, композиций и смесей. Биологическую активность можно наблюдать в системах *in vitro*, предназначенных для тестирования такой активности.

[30] При употреблении в контексте данного документа «грипп» означает вирус гриппа А, В и С. «Вирус гриппа А» означает вирус, включая восемнадцать подтипов, определяемых их гемагглютининовыми белками (H1-H18), и одиннадцать подтипов, определяемых их белками нейраминидазы (N1-N11). Возможны все комбинации этих подтипов, включенные в объем вируса гриппа А в настоящем изобретении. Подтипы,

которые поражают человека, включают в себя H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 и H10; и N1, N2, N6, N7, N8 и N9. Таким образом, в определенных вариантах осуществления вирус гриппа А представляет собой комбинацию этих подтипов. В определенных вариантах осуществления вирус гриппа А может представлять собой подтип H1N1, H3N2 и т.п.

[31] При употреблении в контексте данного документа термин «SARS-CoV-2» означает вирус SARS-CoV-2, включая его варианты (например, варианты, подлежащие мониторингу, варианты, представляющий интерес, варианты, вызывающие озабоченность, и варианты, представляющие большую опасность). По состоянию на июнь 2022 г. варианты, подлежащие мониторингу, включают в себя: Альфа (линии B.1.1.7 и Q), Бета (линия B.1.351 и произошедшие от нее линии), Гамма (линия P.1 и произошедшие от нее линии), Дельта (линии B.1.617.2 и AY), Эпсилон (B.1.427 и B.1.429), Эта (B.1.525), Йота (B.1.526), Каппа (B.1.617.1), 1.617.3, Мю (B.1.621 и B.1.621.1) и Дзета (P.2). По состоянию на июнь 2022 г. варианты, вызывающие озабоченность, включают в себя Омикрон (линии B.1.1.529, BA.1, BA.1.1, BA.2, BA.3, BA.4 и BA.5).

[32] При употреблении в контексте данного документа термин «антигенсвязывающий домен» означает любой пептид, полипептид, молекулу нуклеиновой кислоты, молекулу каркасного типа, молекулу отображения пептида или полипептидсодержащую конструкцию, которые способны специфически связывать конкретный антиген, представляющий интерес. При употреблении в контексте данного документа термин «антигенсвязывающий домен» включает в себя антитела и антигенсвязывающие фрагменты антител. Все ссылки на белки, полипептиды и белковые фрагменты в данном документе предназначены для обозначения человеческой версии соответствующего белка, полипептида или белкового фрагмента, если явно не указано, что они принадлежат к виду, отличному от человека.

[33] При употреблении в контексте данного документа термин «специфически связывается» или подобное означает, что антигенсвязывающий домен образует комплекс с конкретным антигеном, характеризующийся константой диссоциации (K_D), составляющей 500 пМ или меньше, и не связывает другие неродственные антигены при обычных условиях тестирования.

[34] При употреблении в контексте данного документа «неродственные антигены» - это белки, пептиды или полипептиды, которые имеют меньше чем 95% аминокислотной идентичности друг с другом.

[35] При употреблении в контексте данного документа термин «антитело» означает любую антигенсвязывающую молекулу или молекулярный комплекс, содержащий по меньшей мере одну область, определяющую комплементарность (complementarity determining region - CDR), которая специфически связывается с конкретным антигеном (например, на или в частице вируса гриппа или частице вируса SARS-CoV-2) или взаимодействует с ним. Термин «антитело» включает в себя иммуноглобулиновые молекулы, содержащие четыре полипептидные цепи - две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями, а также их мультимеры

(например, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно обозначаемую в данном документе как HCVR или V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно обозначаемую в данном документе как LCVR или V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (C_{L1}). V_H - и V_L -области могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), с вкраплениями более консервативных областей, называемых каркасными областями (framework region - FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца до карбокси-конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[36] При употреблении в контексте данного документа термин «антигенсвязывающий фрагмент» антитела означает любой встречающийся в природе, получаемый ферментативным путем, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген с образованием комплекса.

[37] При употреблении в контексте данного документа термин «антитело человека» означает антитела, имеющие переменные и константные области, происходящие из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Тем не менее, антитела человека могут включать в себя аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека (например, мутации, вводимые случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*), например, в CDR и, в частности, в CDR3. Однако при употреблении в контексте данного документа термин «антитело человека» не предназначен для охвата антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида млекопитающих, такого как мышь, были привиты к каркасным последовательностям человека.

[38] При употреблении в контексте данного документа термин «рекомбинантное антитело человека» означает все антитела человека, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными средствами, такие как антитела, экспрессированные с использованием рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина (дополнительно описано ниже), антитела, выделенные из библиотеки рекомбинантных комбинаторных антител человека (дополнительно описано ниже), антитела, выделенные из животного (например, мыши), которое является трансгенным по генам иммуноглобулина человека (см., например, работу Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20: 6287-6295) или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими средствами, которые включают в себя сплайсинг последовательностей генов иммуноглобулинов человека с другими последовательностями ДНК.

[39] При употреблении в данном документе в контексте аминокислотных

последовательностей термин «существенная идентичность» или «по существу идентичный» означает, что две аминокислотные последовательности, при оптимальном выравнивании, например, с помощью программ GAP или BESTFIT с использованием весовых коэффициентов гэпа по умолчанию, имеют по меньшей мере 95%, 98% или 99% идентичности последовательностей.

[40] При употреблении в контексте данного документа термин «поверхностный плазмонный резонанс» относится к оптическому явлению, которое позволяет анализировать взаимодействия в реальном времени путем обнаружения изменений в концентрациях белка в биосенсорной матрице, например, с использованием системы VIAcore™ (Biacore Life Sciences, подразделение GE Healthcare, г. Пискатауэй, штат Нью-Джерси, США).

[41] При употреблении в контексте данного документа термин « K_D » означает равновесную константу диссоциации конкретного белок-белкового взаимодействия (например, взаимодействия антитело - антиген). Если не указано иное, значения K_D , представленные в данном документе, относятся к значениям K_D , определенным с помощью анализа способом поверхностного плазмонного резонанса при температуре 25°C.

[42] При употреблении в контексте данного документа фармацевтически приемлемые соли включают в себя, помимо прочего, соли аминов, таких как, помимо прочего, N,N'-дибензилэтилендиамин, хлорпрокаин, холин, аммоний, диэтаноламин и другие гидроксиалкиламины, этилендиамин, N-метилглюкамин, прокаин, N-бензилфенэтиламин, 1-пара-хлорбензил-2-пирролидин-1'-илметилбензимидазол, диэтиламин и другие алкиламины, пиперазин и трис(гидроксиметил)аминометан; соли щелочных металлов, таких как, помимо прочего, литий, калий и натрий; соли щелочноземельных металлов, таких как, помимо прочего, барий, кальций и магний; соли переходных металлов, таких как, помимо прочего, цинк; и неорганические соли, такие как, помимо прочего, гидрофосфат натрия и динатрийфосфат; и также включают в себя, помимо прочего, соли минеральных кислот, такие как, помимо прочего, гидрохлориды и сульфаты; и соли органических кислот, такие как, помимо прочего, ацетаты, лактаты, малаты, тартраты, цитраты, аскорбаты, сукцинаты, бутираты, валераты, мезилаты и фумараты.

[43] При употреблении в контексте данного документа лечение означает любой способ, при котором один или большее количество симптомов болезни или нарушения облегчаются или иным образом благоприятно изменяются. Лечение также охватывает собой любое фармацевтическое применение композиций, описанных в данном документе, такое как применение для лечения вирусных инфекций.

[44] При употреблении в контексте данного документа облегчение симптомов конкретного нарушения путем введения конкретного соединения или фармацевтической композиции относится к любому уменьшению, будь то постоянному или временному, продолжительному или преходящему, которое может быть приписано или ассоциировано

с введением соединения или фармацевтической композиции.

[45] При употреблении в контексте данного документа термин «IC₅₀» относится к количеству, концентрации или дозе определенного тестируемого соединения, при которых достигается 50%-ное ингибирование максимального ответа в анализе, который измеряет такой ответ.

[46] Там, где группы указаны посредством их обычных химических формул, записанных слева направо, они в равной степени охватывают химически идентичные группы, которые были бы получены в результате записи данной структуры справа налево, например, -CH₂O- эквивалентно -OCH₂-.

[47] Термин «алкил» сам по себе или в составе другого заместителя означает, если не указано иное, насыщенный углеводородный радикал с прямой (т. е. неразветвленной) или разветвленной цепью. Термин «алкилен» сам по себе или в составе другого заместителя означает двухвалентный радикал, полученный из алкила. Как правило, алкильная (или алкиленовая) группа будет иметь от 1 до 24 атомов углерода, включительно с группами, имеющими 10 или меньшее число атомов углерода. «Низший алкил» или «низший алкилен» представляет собой алкильную или алкиленовую группу с более короткой цепью, обычно содержащую шесть или меньшее число атомов углерода. Примеры алкильных групп включают в себя, помимо прочего, такие группы, как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, трет-бутил, изобутил, втор-бутил, их гомологи и изомеры, например, н-пентил, н-гексил, н-гептил, н-октил и тому подобное.

[48] Термин «алкенил» сам по себе или в составе другого заместителя означает, если не указано иное, углеводородный радикал с прямой (т. е. неразветвленной) или разветвленной цепью, имеющий одну или большее количество двойных углерод-углеродных связей. Термин «алкенилен» сам по себе или в составе другого заместителя означает двухвалентный радикал, полученный из алкенила. Как правило, алкенильная (или алкениленовая) группа будет иметь от 1 до 24 атомов углерода, включительно с группами, имеющими 10 или меньшее число атомов углерода. «Низший алкенил» или «низший алкенилен» представляет собой алкенильную или алкениленовую группу с более короткой цепью, обычно содержащую шесть или меньшее число атомов углерода. Примеры алкенильных групп включают в себя, помимо прочего, винил (т. е. этенил), 2-пропенил, кротил, 2-изопентенил, 2-(бутадиенил), 2,4-пентадиенил, 3-(1,4-пентадиенил) и их высшие гомологи и изомеры.

[49] Термин «алкинил» сам по себе или в составе другого заместителя означает, если не указано иное, углеводородный радикал с прямой (т. е. неразветвленной) или разветвленной цепью, имеющий одну или большее количество тройных углерод-углеродных связей, что может включать в себя двух- и многовалентные радикалы, имеющие обозначенное число атомов углерода, (т. е. C₁-C₁₀ означает от одного до десяти атомов углерода). Примеры алкинильных групп включают в себя, помимо прочего, этинил, 1- и 3-пропинил, 3-бутинил и их высшие гомологи и изомеры.

[50] Термины «алкокси», «алкиламино» и «алкилтио» (или тиоалкокси)

употребляются в их общепринятом смысле и относятся к тем алкильным группам, которые присоединены к остальной части молекулы посредством атома кислорода, аминогруппы или атома серы, соответственно.

[51] Термин «гетероалкил» сам по себе или в комбинации с другим термином означает, если не указано иное, углеводородный радикал с прямой или разветвленной цепью, состоящий из гетероатома в цепи, выбранного из группы, состоящей из O, N, P, Si и S, и в котором атомы азота и серы могут необязательно быть окисленным, и атом азота может иметь алкильный заместитель для обеспечения валентности и/или необязательно может быть кватернизированным. Гетероатом(-ы) O, N, P, Si и S может(могут) быть помещен(-ы) в любое внутреннее положение гетероалкильной группы. Примеры включают в себя, помимо прочего, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ и $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$. Вплоть до двух гетероатомов могут быть последовательными, например, $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ и $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$. Подобным образом термин «гетероалкилен» сам по себе или в составе другого заместителя означает двухвалентный радикал, полученный из гетероалкила, как проиллюстрировано, но без ограничения ими, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$. Для алкиленовых и гетероалкиленовых связывающих групп ориентация связывающей группы не подразумевается направлением, в котором записана формула связывающей группы. Например, формула $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ может означать как $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$, так и $-\text{R}'\text{C}(\text{O})_2-$.

[52] Термины «циклоалкил» и «гетероциклоалкил» сами по себе или в комбинации с другими терминами отображают, если не указано иное, циклические варианты «алкила» и «гетероалкила», соответственно, включительно с бициклическими, трициклическими и мостиковыми бициклическими группами. В дополнение к этому для гетероциклоалкила гетероатом может занимать положение, в котором гетероцикл присоединен к остальной части молекулы. Термины «циклоалкилен» и «гетероциклоалкилен» сами по себе или в составе другого заместителя означают двухвалентный радикал, полученный из циклоалкила и гетероциклоалкила. Примеры циклоалкила включают в себя, помимо прочего, циклопентил, циклогексил, 1-циклогексенил, 3-циклогексенил, циклогептил, норборнанил, бицикло(2.2.2)октанил и тому подобное. Примеры гетероциклоалкила включают в себя, помимо прочего, 1-(1,2,5,6-тетрагидропиридил), 1-пиперидинил, 2-пиперидинил, 3-пиперидинил, 4-морфолинил, 3-морфолинил, тетрагидрофуран-2-ил, тетрагидрофуран-3-ил, тетрагидротиен-2-ил, тетрагидротиен-3-ил, 1-пиперазинил, 2-пиперазинил, 1- или 2-азабицикло(2.2.2)октанил и тому подобное.

[53] Термин «арил» означает, если не указано иное, полиненасыщенный ароматический углеводородный заместитель, который может представлять собой одно кольцо или множество колец (предпочтительно, от 1 до 3 колец), которые конденсированы вместе или связаны ковалентно. Термин «гетероарил» относится к арильным группам, которые содержат от одного до четырех гетероатомов, выбранных из N, O и S, в кольце(-ах), при этом атомы азота и серы необязательно окислены, а атом(-ы)

азота необязательно кватернизирован(-ы). Гетероарильную группу можно присоединить к остальной части молекулы через атом углерода или гетероатом. Термины «арилен» и «гетероарилен» сами по себе или в составе другого заместителя означают двухвалентный радикал, полученный из арила и гетероарила. Неограничивающие примеры арильных и гетероарильных групп включают в себя фенил, 1-нафтил, 2-нафтил, 4-бифенил, 1-пирролил, 2-пирролил, 3-пирролил, 3-пиразолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил, пиразинил, 2-оксазолил, 4-оксазолил, 5-оксазолил, 3-изоксазолил, 4-изоксазолил, 5-изоксазолил, 2-тиазолил, 4-тиазолил, 5-тиазолил, 2-фурил, 3-фурил, 2-тиенил, 3-тиенил, 2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил, 2-пиримидил, 4-пиримидил, 5-бензотиазолил, пуринил, 2-бензимидазолил, 5-индолил, 1-изохинолил, 5-изохинолил, 2-хиноксалинил, 5-хиноксалинил, 3-хинолил и 6-хинолил. Термин «гетероарильный» относится к гетероарильной группе, которая положительно заряжена на одном или большем числе гетероатомов.

[54] Подразумевается, что каждый из вышеприведенных терминов включает в себя как замещенную, так и незамещенную формы указанного радикала. Неограничивающие примеры фрагментов-заместителей для каждого типа радикала приведены ниже.

[55] Фрагменты-заместители для алкильных, гетероалкильных, алкиленовых, алкенильных, гетероалкиленовых, гетероалкенильных, алкинильных, циклоалкильных, гетероциклоалкильных, циклоалкенильных и гетероциклоалкенильных групп в одном варианте осуществления выбраны из дейтерия, $-OR'$, $=O$, $=NR'$, $=N-OR'$, $-NR'R''$, $-SR'$, галогена, $-SiR'R''R'''$, $-OC(O)R'$, $-C(O)R'$, $-CO_2R'$, $-CONR'R''$, $-OC(O)NR'R''$, $-NR''C(O)R'$, $-NR'-C(O)NR''R'''$, $-NR''C(O)_2R'$, $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$, $-NR-C(NR'R'')=NR''''$, $-S(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)_2NR'R''$, $-NRSO_2R'$, $-CN$ и $-NO_2$ в числе, начинающемся от нуля до числа атомов водорода в таком радикале. В одном варианте осуществления фрагменты-заместители для циклоалкильных, гетероциклоалкильных, циклоалкенильных и гетероциклоалкенильных групп также включают в себя замещенный и незамещенный алкил, замещенный и незамещенный алкенил и замещенный и незамещенный алкинил. Каждый из R' , R'' , R''' и R'''' в одном варианте осуществления независимо представляет собой водород, замещенный или незамещенный гетероалкил, замещенный или незамещенный циклоалкил, замещенный или незамещенный гетероциклоалкил, замещенный или незамещенный арил (например, арил, замещенный 1-3 галогенами), замещенный или незамещенный алкил, алкокси- или тиоалкоксигруппы, или арилалкильные группы. Когда соединение, предложенное в данном документе, включает в себя, например, больше чем одну группу R , каждая из групп R выбирается независимо, как каждая из групп R' , R'' , R''' и R'''' , когда присутствует больше чем одна из данных групп. Когда R' и R'' присоединены к одному и тому же атому азота, они могут быть объединены с атомом азота с образованием 4-, 5-, 6- или 7-членного кольца. Например, подразумевается, что $-NR'R''$ включает в себя, помимо прочего, 1-пирролидинил и 4-морфолинил. Из вышеприведенного обсуждения фрагментов-заместителей специалисту в данной области техники будет понятно, что термин «алкил» подразумевается как

включающий в себя группы, включающие в себя атомы углерода, связанные с группами, отличными от водородных групп, такими как галогеналкил (например, $-\text{CF}_3$ и $-\text{CH}_2\text{CF}_3$) и ацил (например, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CF}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{OCH}_3$ и тому подобное).

[56] Фрагменты-заместители для арильных и гетероарильных групп в одном варианте осуществления выбраны из дейтерия, галогена, замещенного и незамещенного алкила, замещенного и незамещенного алкенила и замещенного и незамещенного алкинила, $-\text{OR}'$, $-\text{NR}'\text{R}''$, $-\text{SR}'$, $-\text{SiR}'\text{R}''\text{R}'''$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{CO}_2\text{R}'$, $-\text{CONR}'\text{R}''$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$, $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{NR}'-\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}'''$, $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$, $-\text{NR}-\text{C}(\text{NR}'\text{R}''\text{R}''')=\text{NR}''''$, $-\text{NR}-\text{C}(\text{NR}'\text{R}''\text{R}''')=\text{NR}''''$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'\text{R}''$, $-\text{NRSO}_2\text{R}'$, $-\text{CN}$ и $-\text{NO}_2$, $-\text{R}'$, $-\text{N}_3$, $-\text{CH}(\text{Ph})_2$, фтор(C_1 - C_4)алкокси и фтор(C_1 - C_4)алкила в числе, варьирующемся от нуля до общего числа атомов водорода в системе ароматических колец; и при этом R' , R'' , R''' и R'''' в одном варианте осуществления независимо выбраны из водорода, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного гетероалкила, замещенного или незамещенного циклоалкила, замещенного или незамещенного гетероциклоалкила, замещенного или незамещенного арила и замещенного или незамещенного гетероарила. Когда соединение, предложенное в данном документе, включает в себя, например, больше чем одну группу R , каждая из групп R выбирается независимо, как каждая из групп R' , R'' , R''' и R'''' , когда присутствует больше чем одна из данных групп.

[57] Два фрагмента-заместителя на соседних атомах арильного или гетероарильного кольца могут необязательно образовывать кольцо формулы $-\text{Q}'-\text{C}(\text{O})-(\text{CRR}')_q-\text{Q}''-$, где Q' и Q'' независимо представляют собой $-\text{NR}-$, $-\text{O}-$, $-\text{CRR}'-$ или одинарную связь, а q представляет собой целое число от 0 до 3. В качестве альтернативы, два фрагмента-заместителя на соседних атомах арильного или гетероарильного кольца необязательно могут быть замещены заместителем формулы $-\text{A}-(\text{CH}_2)_r-\text{B}-$, где A и B независимо представляют собой $-\text{CRR}'-$, $-\text{O}-$, $-\text{NR}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'-$ или одинарную связь, а r представляет собой целое число от 1 до 4. Одна из одинарных связей нового кольца, сформированного таким образом, необязательно может быть замещена двойной связью. В качестве альтернативы, два фрагмента-заместителя на соседних атомах арильного или гетероарильного кольца необязательно могут быть замещены заместителем формулы $-(\text{CRR}')_s-\text{X}'-(\text{CR}''\text{R}''')_d-$, где s и d независимо представляют собой целые числа от 0 до 3, а X' представляет собой $-\text{O}-$, $-\text{NR}'-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$ или $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'-$. Фрагменты-заместители R , R' , R'' и R''' в одном варианте осуществления независимо выбраны из водорода, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного циклоалкила, замещенного или незамещенного гетероциклоалкила, замещенного или незамещенного арила и замещенного или незамещенного гетероарила.

[58] Термин «галоген» сам по себе или в составе другого заместителя означает, если не указано иное, атом фтора, хлора, брома или йода. В качестве дополнения, такие термины, как «галогеналкил», подразумеваются как включающие в себя моногалогеналкил и полигалогеналкил. Например, термин «галоген(C_1 - C_4)алкил» подразумевается как включающий в себя, но не ограничивающийся ими, трифторметил,

2,2,2-трифторэтил, 4-хлорбутил, 3-бромпропил и тому подобное.

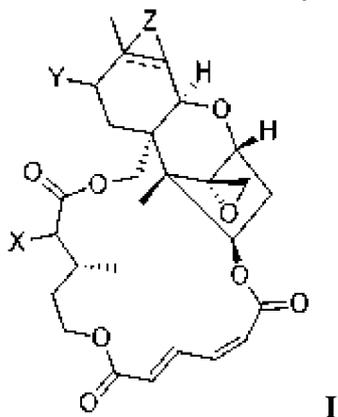
[59] При употреблении в контексте данного документа термин «оксо» означает атом кислорода, который связан двойной связью с атомом углерода.

[60] При употреблении в контексте данного документа термин «гетероатом» или «кольцевой гетероатом» подразумевается как включающий в себя кислород (O), азот (N), серу (S), фосфор (P) и кремний (Si).

[61] Определенные производные веррукарина А или АСС, предложенные в данном документе, обладают асимметричными атомами углерода (оптическими центрами) или двойными связями; рацематы, диастереомеры, таутомеры, геометрические изомеры и индивидуальные изомеры включены в объем данного изобретения. АСС, предложенные в данном документе, не включают в себя те, которые известны в данной области техники, как слишком неустойчивые для синтеза и/или выделения.

II. Производные веррукарина А

[62] В одном варианте осуществления в данном документе предложены производные веррукарина А формулы I для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе:



[63] или их фармацевтически приемлемое производное, где:

[64] X представляет собой NR^1R^2 , OR^3 или SR^4 ;

[65] каждый из R^1 и R^2 независимо представляет собой H, алкил, OR^5 или COR^6 , или вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил;

[66] R^3 представляет собой алкил или COR^7 ;

[67] R^4 представляет собой H или COR^8 ;

[68] R^5 представляет собой H или алкил;

[69] R^6 представляет собой R^9 , OR^{10} или $NR^{11}R^{12}$;

[70] каждый из R^7 - R^9 независимо представляет собой алкил или аралкил;

[71] каждый из R^{10} - R^{12} независимо представляет собой H, алкил или аралкил;

[72] Y представляет собой H или OH; и

[73] (i) Z представляет собой O, а --- представляет собой одинарную связь; или (ii)

Z отсутствует, а --- представляет собой двойную связь.

[74] В другом варианте осуществления каждый из R^1 и R^2 независимо представляет

собой H, низший алкил или COR^6 или вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил.

[75] В другом варианте осуществления каждый из R^1 и R^2 независимо представляет собой H, метил, этил, C(O)-алкилен-CO-W , где W представляет собой OR^{13} или $\text{NR}^{14}\text{R}^{15}$, или C(O)-CH(V)-CH_3 , где V представляет собой OR^{16} или $\text{NR}^{17}\text{R}^{18}$, или вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют пиперазинил, пиперидинил, пирролидинил, имидазолидинил или азепинил; каждый из R^{13} и R^{16} независимо представляет собой H или алкил; а каждый из R^{14} , R^{15} , R^{17} и R^{18} независимо представляет собой H, алкил, гидрокси или алкокси.

[76] В другом варианте осуществления каждый из R^1 и R^2 независимо представляет собой H, метил, этил, $\text{C(O)-(C}_{2-4}\text{алкилен)-CO-W}$, где W представляет собой OR^{13} или $\text{NR}^{14}\text{R}^{15}$, или C(O)-CH(V)-CH_3 , где V представляет собой OR^{16} или $\text{NR}^{17}\text{R}^{18}$, или вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют пиперазинил; каждый из R^{13} и R^{16} независимо представляет собой H или метил; а каждый из R^{14} , R^{15} , R^{17} и R^{18} независимо представляет собой H, метил, гидрокси или метокси.

[77] В другом варианте осуществления R^1 представляет собой H, метил, этил, $\text{C(O)CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $\text{C(O)CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $\text{C(O)CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $\text{C(O)CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOMe}$, $\text{C(O)CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHOH}$, $\text{C(O)CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHOMe}$, C(O)-CH(OH)-CH_3 , $\text{C(O)-CH(NH}_2\text{)-CH}_3$ или $\text{C(O)-CH(NMe}_2\text{)-CH}_3$.

[78] В другом варианте осуществления R^2 представляет собой H или метил.

[79] В другом варианте осуществления R^1 и R^2 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 4-метил-1-пиперазинил.

[80] В другом варианте осуществления R^3 представляет собой метил или C(O)-алкил , где алкил необязательно замещен. В другом варианте осуществления R^3 представляет собой метил или $\text{C(O)-CH(NR}^{19}\text{R}^{20}\text{)-CH}_3$, где каждый из R^{19} и R^{20} независимо представляет собой H, алкил или CO-алкил . В другом варианте осуществления R^3 представляет собой метил, $\text{C(O)-CH(NHMe)-CH}_3$ или $\text{C(O)-CH(NHAc)-CH}_3$.

[81] В другом варианте осуществления R^4 представляет собой COR^8 . В другом варианте осуществления R^4 представляет собой C(O)Me .

[82] В другом варианте осуществления R^5 представляет собой H или метил.

[83] В другом варианте осуществления R^6 представляет собой R^9 , где R^9 представляет собой алкилен- CO-W , где W представляет собой OR^{13} или $\text{NR}^{14}\text{R}^{15}$, R^{13} представляет собой H или метил; а каждый из R^{14} и R^{15} независимо представляет собой H, метил, гидрокси или метокси. В другом варианте осуществления R^6 представляет собой $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOMe}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHOH}$ или $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHOMe}$.

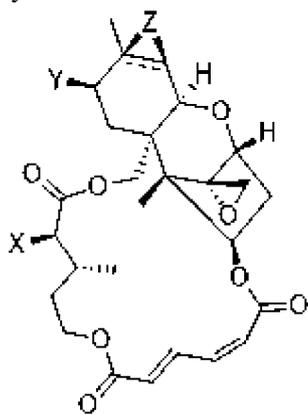
[84] В другом варианте осуществления каждый из R^7 и R^8 независимо представляет собой алкил. В другом варианте осуществления каждый из R^7 и R^8 независимо представляет собой метил.

[85] В другом варианте осуществления каждый из R^{10} - R^{12} независимо представляет

собой H или алкил. В другом варианте осуществления каждый из R¹⁰-R¹² независимо представляет собой H или метил.

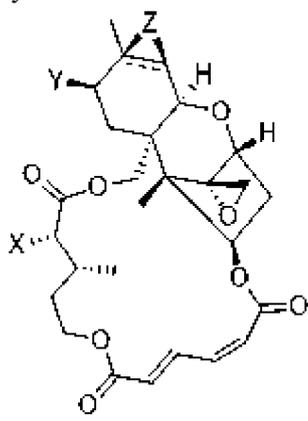
[86] В другом варианте осуществления Y представляет собой H, Z отсутствует, а --- представляет собой двойную связь. В другом варианте осуществления Y представляет собой OH, Z отсутствует, а --- представляет собой двойную связь. В другом варианте осуществления Y представляет собой H, Z представляет собой O, а --- представляет собой одинарную связь.

[87] В одном варианте осуществления производные веррукаринина А формулы I для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, имеют формулу Ia:



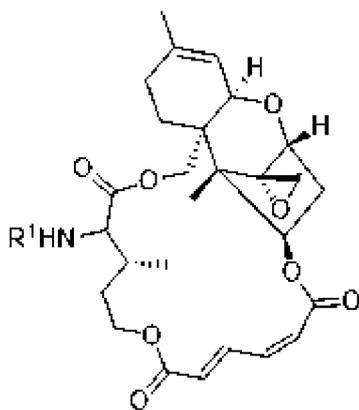
[88] или его фармацевтически приемлемого производного, где переменные являются такими, как определено в настоящем документе.

[89] В другом варианте осуществления производные веррукаринина А формулы I для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, имеют формулу Ib:



[90] или его фармацевтически приемлемого производного, где переменные являются такими, как определено в настоящем документе.

[91] В одном варианте осуществления в данном документе предложены производные веррукаринина А формулы II для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе:



[92] или их фармацевтически приемлемое производное, где:

[93] R^1 представляет собой H или $-COR^6$; и

[94] R^6 представляет собой -алкилен- $COOH$.

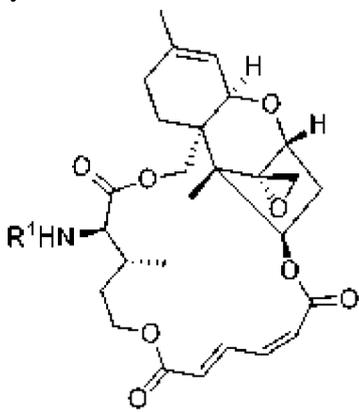
[95] В другом варианте осуществления R^1 представляет собой H. В другом варианте осуществления R^1 представляет собой $-COR^6$.

[96] В другом варианте осуществления R^6 представляет собой $-(CR^{21}R^{22})_mCOOH$, где каждый из R^{21} и R^{22} независимо представляет собой H или алкил; а m представляет собой целое число от 0 до 6. В другом варианте осуществления каждый из R^{21} и R^{22} независимо представляет собой H или метил. В другом варианте осуществления каждый из R^{21} и R^{22} представляет собой H.

[97] В другом варианте осуществления m равно 2, 3 или 4. В другом варианте осуществления m равно 2. В другом варианте осуществления m равно 3. В другом варианте осуществления m равно 4.

[98] В другом варианте осуществления R представляет собой $-COR^1$, где R^1 представляет собой $-(CH_2)_mCOOH$, где m равно 2, 3 или 4. В другом варианте осуществления R^1 представляет собой $-CO-(CH_2)_2COOH$. В другом варианте осуществления R^1 представляет собой $-CO-(CH_2)_3COOH$. В другом варианте осуществления R^1 представляет собой $-CO-(CH_2)_4COOH$.

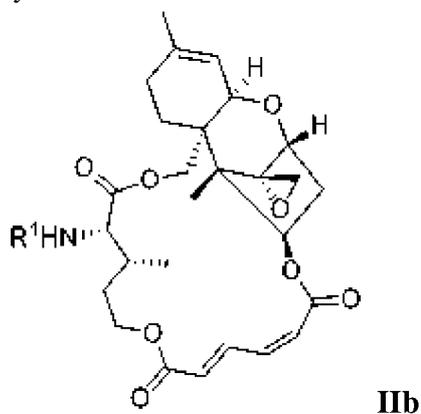
[99] В другом варианте осуществления производные веррукарина А формулы II для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, имеют формулу IIa:



[100] или их фармацевтически приемлемого производного, где R^1 имеет такое

значение, как определено в данном документе.

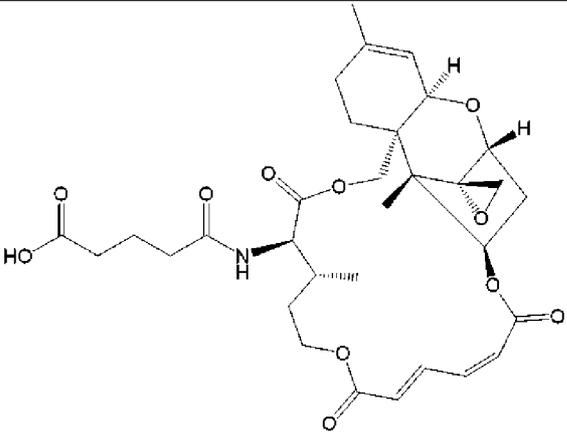
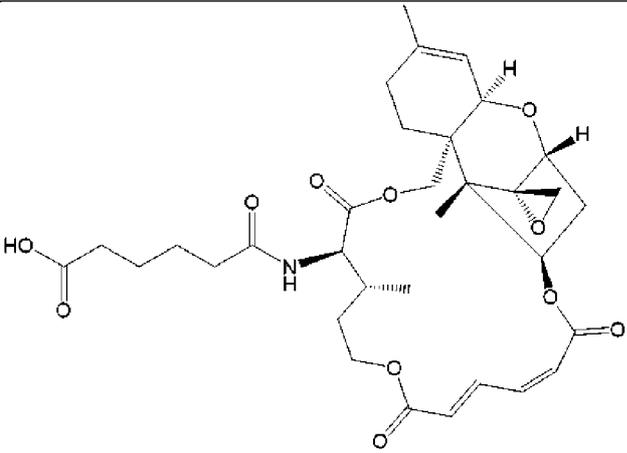
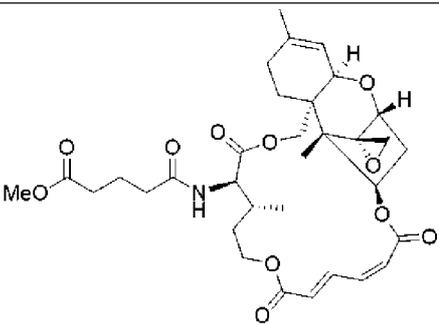
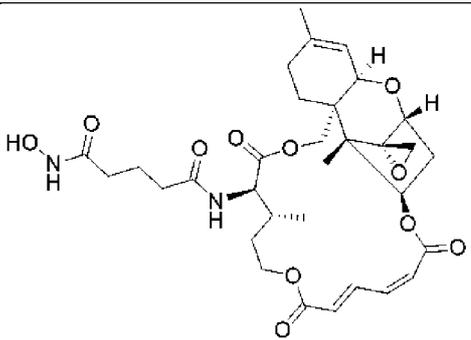
[101] В другом варианте осуществления производные веррукарина А формулы II для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, имеют формулу IIb:

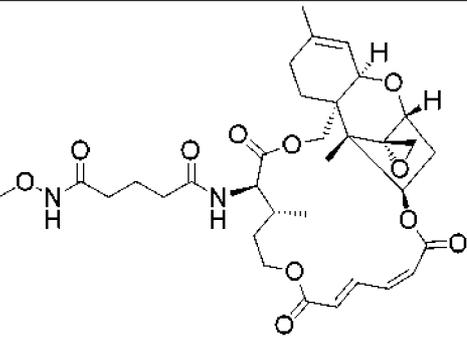
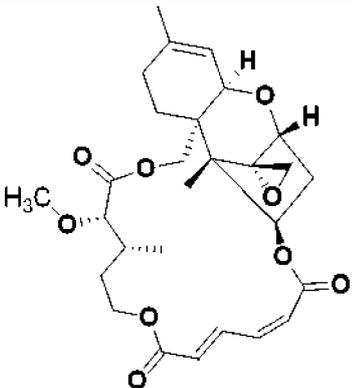
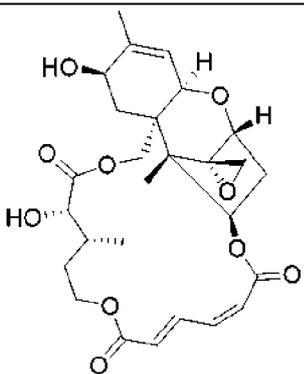
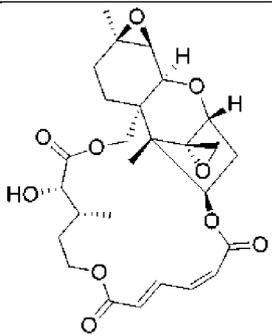
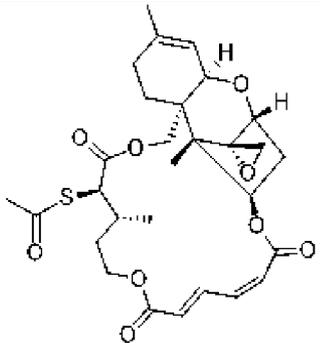


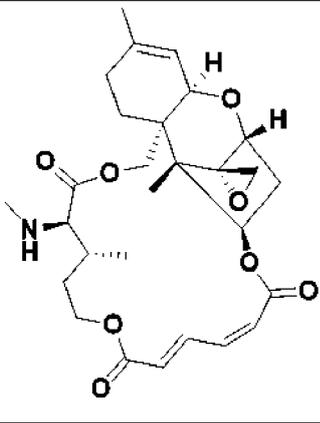
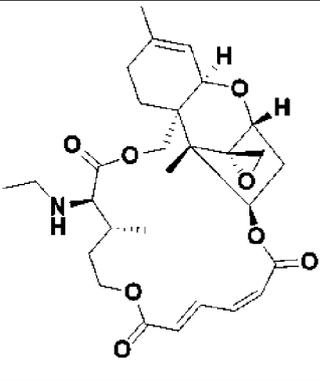
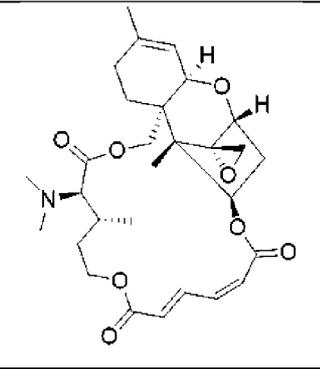
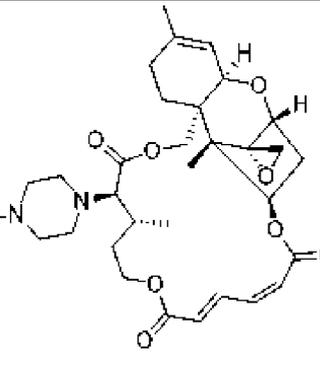
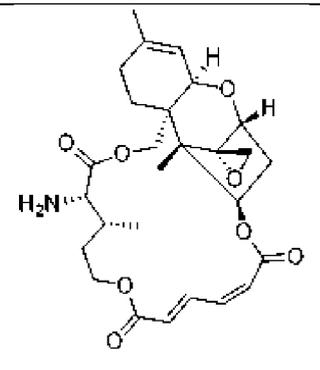
[102] или их фармацевтически приемлемого производного, где R¹ имеет такое значение, как определено в данном документе.

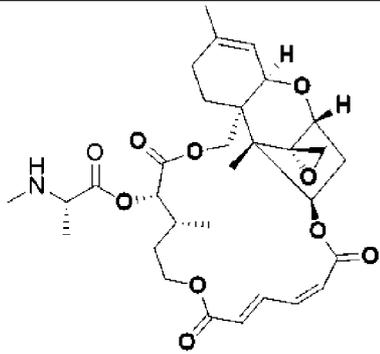
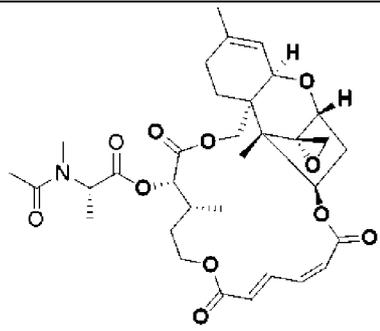
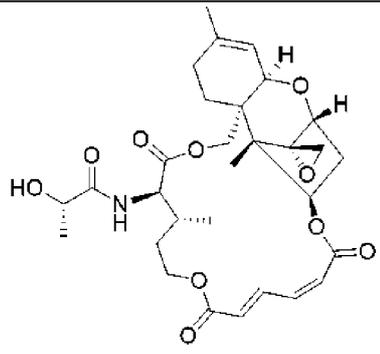
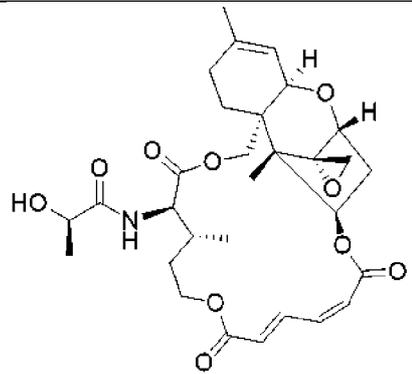
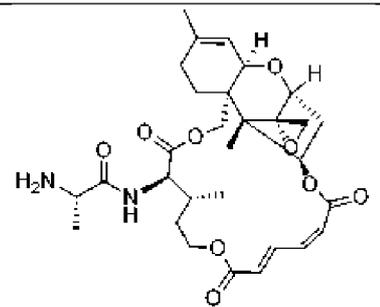
[103] В одном варианте осуществления производные веррукарина А для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, выбраны из:

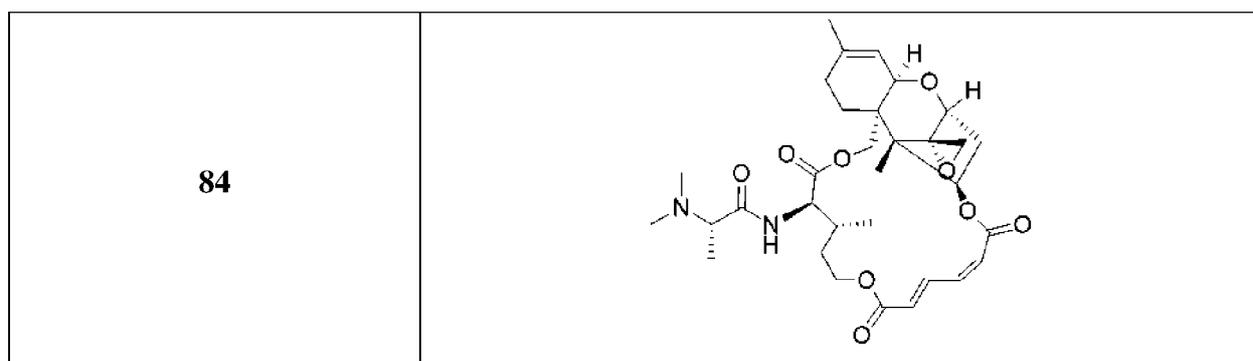
Соединение	Структура
<p style="text-align: center;">4</p> <p>(R)-амино-веррукарин А</p>	
<p style="text-align: center;">5</p>	

6	 <p>Chemical structure of compound 6, a complex polycyclic molecule. It features a central core with multiple rings, including a decalin system and a bicyclic system. The structure is substituted with a methyl group, a hydroxyl group, and a long chain containing a carboxylic acid group and an amide linkage. The amide group is connected to a ring system that includes a double bond and a carbonyl group.</p>
7	 <p>Chemical structure of compound 7, a complex polycyclic molecule. It features a central core with multiple rings, including a decalin system and a bicyclic system. The structure is substituted with a methyl group, a hydroxyl group, and a long chain containing a carboxylic acid group and an amide linkage. The amide group is connected to a ring system that includes a double bond and a carbonyl group.</p>
22	 <p>Chemical structure of compound 22, a complex polycyclic molecule. It features a central core with multiple rings, including a decalin system and a bicyclic system. The structure is substituted with a methyl group, a hydroxyl group, and a long chain containing a methyl ester group and an amide linkage. The amide group is connected to a ring system that includes a double bond and a carbonyl group.</p>
24	 <p>Chemical structure of compound 24, a complex polycyclic molecule. It features a central core with multiple rings, including a decalin system and a bicyclic system. The structure is substituted with a methyl group, a hydroxyl group, and a long chain containing a primary amide group and an amide linkage. The amide group is connected to a ring system that includes a double bond and a carbonyl group.</p>

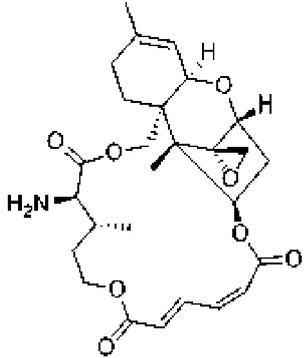
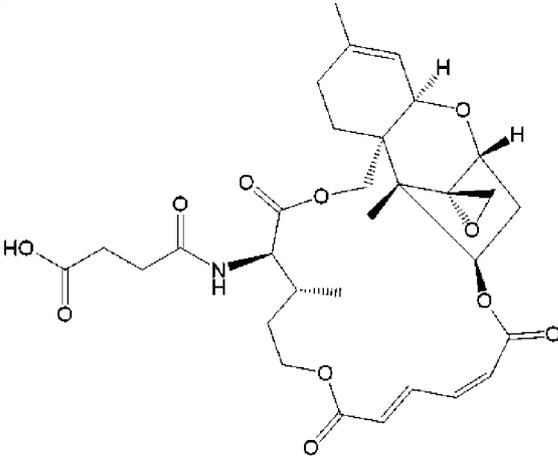
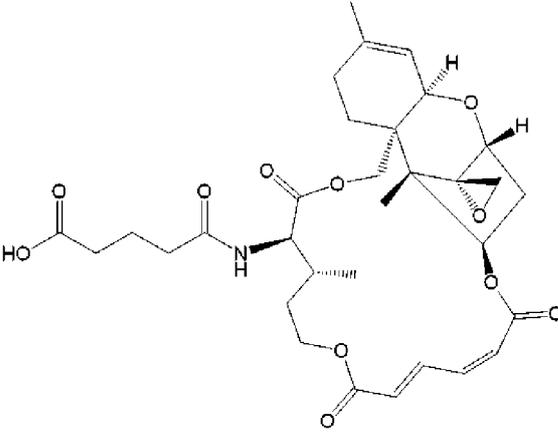
25	
54	
55	
56	
57	

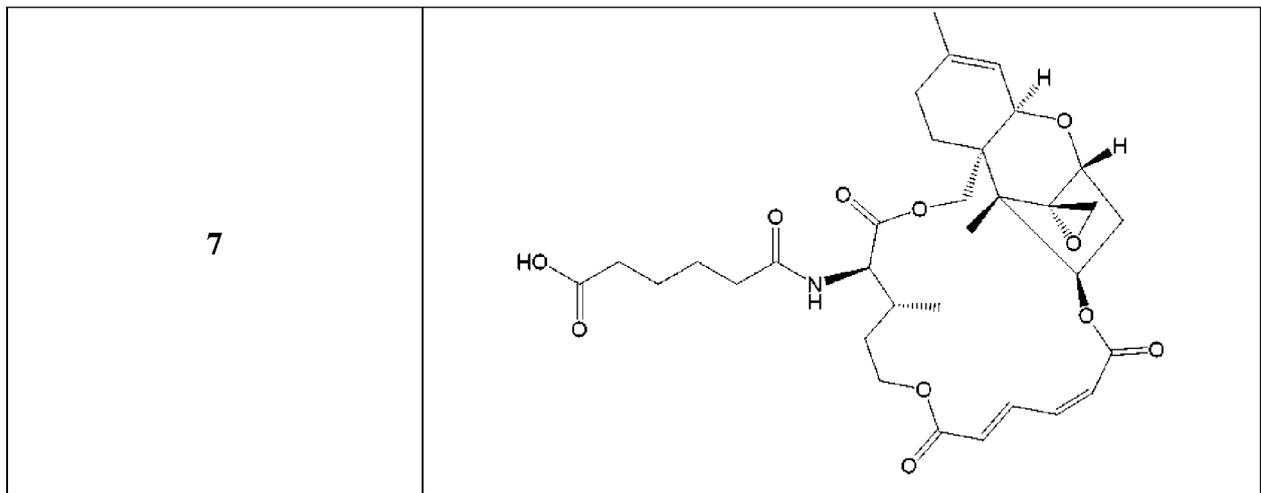
58	
59	
60	
61	
64	

65	 <p>Chemical structure of compound 65, a complex polycyclic molecule. It features a central bicyclic core with multiple oxygen atoms and a long chain containing a double bond and a carbonyl group. A side chain is attached to the core, consisting of a methyl group, a chiral center with a hydroxyl group, and a carbonyl group.</p>
66	 <p>Chemical structure of compound 66, similar to 65. It features a central bicyclic core with multiple oxygen atoms and a long chain containing a double bond and a carbonyl group. A side chain is attached to the core, consisting of a methyl group, a chiral center with a hydroxyl group, and a carbonyl group.</p>
78	 <p>Chemical structure of compound 78, similar to 65. It features a central bicyclic core with multiple oxygen atoms and a long chain containing a double bond and a carbonyl group. A side chain is attached to the core, consisting of a hydroxyl group, a chiral center with a hydroxyl group, and a carbonyl group.</p>
80	 <p>Chemical structure of compound 80, similar to 65. It features a central bicyclic core with multiple oxygen atoms and a long chain containing a double bond and a carbonyl group. A side chain is attached to the core, consisting of a hydroxyl group, a chiral center with a hydroxyl group, and a carbonyl group.</p>
82	 <p>Chemical structure of compound 82, similar to 65. It features a central bicyclic core with multiple oxygen atoms and a long chain containing a double bond and a carbonyl group. A side chain is attached to the core, consisting of a primary amine group, a chiral center with a hydroxyl group, and a carbonyl group.</p>



[104] В другом варианте осуществления производные веррукарина А для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, выбраны из:

Соединение	Структура
<p data-bbox="225 792 564 887">4 (R)-амино-веррукарин А</p>	
5	
6	



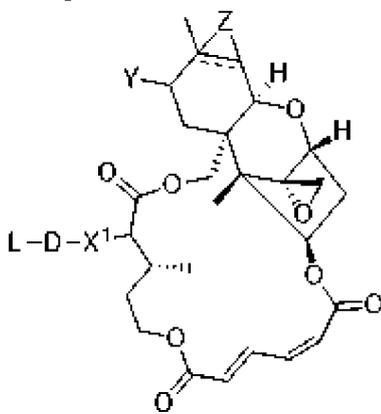
III. СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ ВЕРРУКАРИНА А

[105] Производные веррукарина А, предложенные в данном документе, могут быть получены способами, хорошо известными специалистам в данной области техники. Например, свободная гидроксильная группа веррукарина А может быть дериватизирована как уходящая группа, например, трифлат с использованием стандартных способов, например, трифлатный ангидрид и пиридин. Уходящая группа может быть смещена нуклеофилом, например, амином или защищенным амином, азидом и т. п. С полученного производного amino или азидо затем может быть снята защита или оно может быть восстановлено, например, с помощью трифенилфосфина, с получением amino-веррукарин А, например, соединения **4**.

[106] Amino-веррукарин А затем ацилируют в стандартных условиях, например, с помощью ангидрида алкилена и дикарбоновой кислоты и третичного амина, с получением HOOC-алкилен-CO- веррукарин А амида, например, соединений **5**, **6** и **7**.

IV. ПРОИЗВОДНЫЕ ЛИНКЕР - ВЕРРУКАРИН А

[107] В одном варианте осуществления в данном документе предложены производные линкер - веррукарин А формулы III для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе:



[108] или их фармацевтически приемлемое производное, где X^1 представляет собой O или NH; D отсутствует или представляет собой $-C(O)-(CH_2)_{2-5}-C(O)-$ или $-O-NH-C(O)-(CH_2)_{2-5}-C(O)-$; L представляет собой связывающую группу; Y представляет собой H или

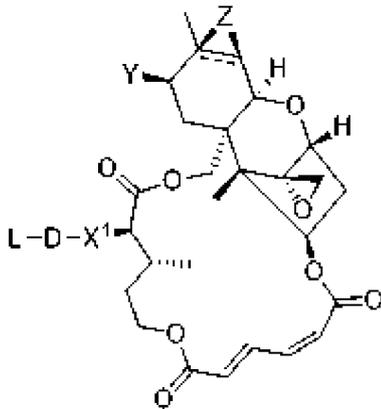
ОН; и (i) Z представляет собой O, а --- представляет собой одинарную связь; или (ii) Z отсутствует, а --- представляет собой двойную связь.

[109] В одном варианте осуществления Y представляет собой H, Z отсутствует, а --- представляет собой двойную связь. В другом варианте осуществления Y представляет собой ОН, Z отсутствует, а --- представляет собой двойную связь. В другом варианте осуществления Y представляет собой H, Z представляет собой O, а --- представляет собой одинарную связь.

[110] В другом варианте осуществления X представляет собой O. В другом варианте осуществления X представляет собой NH.

[111] В другом варианте осуществления D отсутствует. В другом варианте осуществления D представляет собой $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_{2-5}-\text{C}(\text{O})-$. В другом варианте осуществления D представляет собой $-\text{O}-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_{2-5}-\text{C}(\text{O})-$. В другом варианте осуществления D представляет собой $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})-$. В другом варианте осуществления D представляет собой $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_3-\text{C}(\text{O})-$. В другом варианте осуществления D представляет собой $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_4-\text{C}(\text{O})-$. В другом варианте осуществления D представляет собой $-\text{O}-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_3-\text{C}(\text{O})-$.

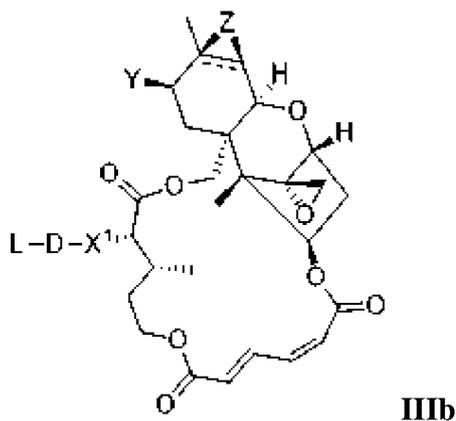
[112] В одном варианте осуществления производные линкер - веррукарин A формулы III имеют формулу IIIa:



IIIa

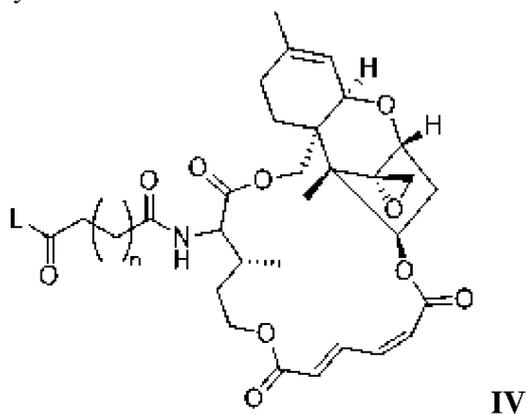
[113] или его фармацевтически приемлемого производного, где переменные являются такими, как определено в настоящем документе.

[114] В одном варианте осуществления производные линкер - веррукарин A формулы III имеют формулу IIIb:



[115] или его фармацевтически приемлемого производного, где переменные являются такими, как определено в настоящем документе.

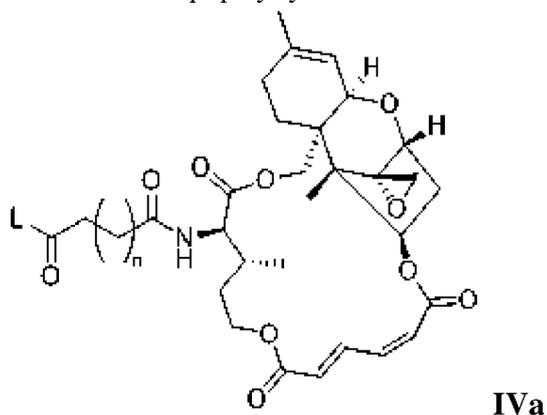
[116] В одном варианте осуществления производные линкер - веррукарин А для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, имеют формулу IV:



или их фармацевтически приемлемой производной, где L представляет собой связывающую группу, а n представляет собой целое число от 1 до 4.

[117] В другом варианте осуществления n равно 1, 2 или 3. В другом варианте осуществления n равно 1. В другом варианте осуществления n равно 2. В другом варианте осуществления n равно 3.

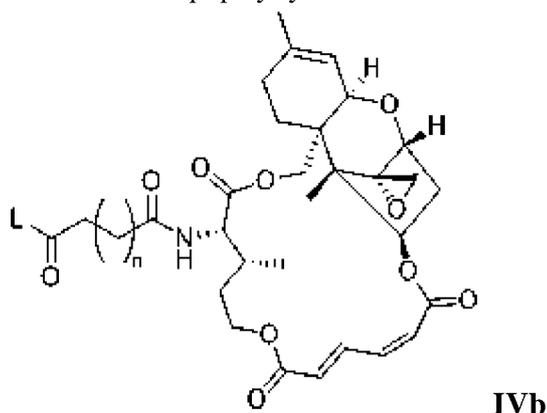
[118] В одном варианте осуществления производные линкер - веррукарин А формулы IV имеют формулу IVa:



[119] или его фармацевтически приемлемого производного, где переменные

являются такими, как определено в настоящем документе.

[120] В другом варианте осуществления производные линкер - веррукарин А формулы IV имеют формулу IVb:



[121] или его фармацевтически приемлемого производного, где переменные являются такими, как определено в настоящем документе.

[122] В определенных вариантах осуществления L представляет собой любую группу или фрагмент, которые связывают селен с полезной нагрузкой. Подходящие линкеры можно найти, например, в работах *Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins*, Phillips, G. L., Ed.; Springer Verlag: New York, 2013; *Antibody-Drug Conjugates*, Ducry, L., Ed.; Humana Press, 2013; *Antibody-Drug Conjugates*, Wang, J., Shen, W.-C., and Zaro, J. L., Eds.; Springer International Publishing, 2015. В определенных вариантах осуществления группа L для производных веррукарина А и ADC, предложенных в данном документе, достаточно стабильна, чтобы использовать циркулирующий период полураспада антигенсвязывающего домена, и, в то же время, способна высвобождать свою полезную нагрузку после опосредованной антигеном интернализации ADC. Линкер L может быть расщепляемым или нерасщепляемым. Расщепляемые линкеры для использования в качестве L в данном изобретении включают в себя линкеры, которые расщепляются в результате внутриклеточного метаболизма после интернализации, например, расщепления посредством гидролиза, восстановления или ферментативной реакции. Нерасщепляемые линкеры для использования в качестве L в данном изобретении включают в себя линкеры, которые высвобождают присоединенную полезную нагрузку посредством лизосомальной деградации антигенсвязывающего домена после интернализации. Подходящие линкеры L включают в себя, помимо прочего, кислотно-лабильные линкеры, гидролизно-лабильные линкеры, ферментативно расщепляемые линкеры, восстановительно-лабильные линкеры, саморазрушающиеся линкеры и нерасщепляемые линкеры. Подходящие линкеры L также включают в себя, помимо прочего, те, которые представляют собой или содержат пептиды, углеводы, глюкуроны, звенья полиэтиленгликоля (PEG), гидразоны, малокапроильные звенья, дипептидные звенья, валин-цитрулиновые звенья и парааминобензилокси звенья (PAB).

[123] Любая молекула линкера или технология линкера, известная в данной области техники, может применяться в качестве L в производных веррукарина А и ADC,

предложенных в данном документе. В определенных вариантах осуществления линкер L представляет собой расщепляемый линкер. В других вариантах осуществления линкер L представляет собой нерасщепляемый линкер. В определенных вариантах осуществления линкеры L, которые можно использовать в ADC, предложенных в данном документе, включают в себя линкеры, которые содержат или состоят, например, из MC (6-малеимидокапроила), MP (малеимидопропаноила), val-cit (валина-цитруллина), val-ala (валина-аланина), дипептидного сайта в расщепляемых протеазой линкерах, ala-phe (аланина-фенилаланина), дипептидного сайта в расщепляемых протеазой линкерах, PAB (п-аминобензилокси), а также их варианты и комбинации. Дополнительные примеры линкеров L, которые можно использовать в производных веррукарина A и ADC, предложенных в данном документе, раскрыты, например, в патенте США № 7754681 и в работе Ducry, *Bioconjugate Chem.*, 2010, 21: 5-13, и в представленных в них ссылках.

[124] В определенных вариантах осуществления линкеры L стабильны в физиологических условиях. В определенных вариантах осуществления линкеры L являются расщепляемыми, например, способными высвободить по меньшей мере полезную часть в присутствии фермента или при определенном диапазоне или значении pH. В некоторых вариантах осуществления линкер L содержит фрагмент, расщепляемый ферментом. В одном варианте осуществления расщепляемые ферментом линкеры L включают в себя, помимо прочего, пептидные связи, сложноэфирные связи и гидразоны. В некоторых вариантах осуществления линкер L содержит линкер, расщепляемый катепсином.

[125] В некоторых вариантах осуществления линкер L содержит нерасщепляемый фрагмент.

[126] В некоторых вариантах осуществления линкер L содержит одну или большее количество аминокислот. Подходящие аминокислоты включают в себя натуральные, ненатуральные, стандартные, нестандартные, протеиногенные, непротеиногенные и L- или D- α -аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления линкер L содержит аланин, валин, глицин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин, их производное или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления одна или большее количество боковых цепей аминокислот связаны с группой боковой цепи, описанной ниже. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит валин и цитруллин. В некоторых вариантах осуществления линкер L содержит лизин, валин и цитруллин. В некоторых вариантах осуществления линкер L содержит лизин, валин и аланин. В некоторых вариантах осуществления линкер L содержит валин и аланин. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот аланина и аланина или двухвалентного -AA-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот глутаминовой кислоты и аланина или -EA-. В некоторых вариантах

осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот глутаминовой кислоты и глицина или -EG-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот глицина и глицина или -GG-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот глутамина, валина и цитруллина, или -Q-V-Cit- или -QVCit-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот глутаминовой кислоты, валина и цитруллина, или -E-V-Cit- или -EVCit-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот -GGGGS-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот -GGGGG-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот -GGGGK-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот -GFGG-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот лизина, валина и цитруллина или -KVCit-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот -KVA-. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой пептид, содержащий или состоящий из аминокислот -VA-.

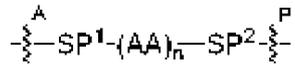
[127] В некоторых вариантах осуществления линкер L содержит саморасщепляющуюся группу. Саморасщепляющаяся группа может представлять собой любую такую группу, известную специалистам в данной области техники. В конкретных вариантах осуществления саморасщепляющаяся группа представляет собой п-аминобензил (PAB) или его производное. Полезные производные включают в себя п-аминобензилоксикарбонил (PABC) и п-амино- α -метилбензил (MePAB). Специалистам в данной области техники будет понятно, что саморасщепляющаяся группа способна осуществить химическую реакцию, которая высвобождает оставшиеся атомы линкера L из полезной нагрузки.

[128] В других вариантах осуществления группа L может быть модифицирована посредством одной или большего количества усиливающих групп. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа может быть связана с боковой цепью любой из аминокислот в L. В одном варианте осуществления аминокислоты для связывания усиливающих групп включают в себя лизин, аспарагин, аспартат, глутамин, глутамат и цитруллин. Связь с усиливающей группой может быть прямой связью с боковой цепью аминокислоты, или связь может быть не прямой через спейсер и/или реакционноспособную группу. В одном варианте осуществления спейсеры и реакционноспособные группы включают в себя любые из описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа может представлять собой любую группу, которая придает благоприятный эффект полезной нагрузке, линкеру полезной нагрузки или ADC, включая, помимо прочего, биологические, биохимические,

синтетические, солюбилизующие, визуализирующие, детектирующие и реактивные эффекты и тому подобное. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа представляет собой гидрофильную группу. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа представляет собой циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа представляет собой алкил-, гетероалкил-, алкенил-, гетероалкенилсульфоновую кислоту, гетероалкенилтаурин, гетероалкенилфосфорную кислоту или фосфат, гетероалкениламин (например, четвертичный амин) или гетероалкенилсахар. В определенных вариантах осуществления сахара включают в себя, помимо прочего, моносахариды, дисахариды и полисахариды. Иллюстративные моносахариды включают в себя глюкозу, рибозу, дезоксирибозу, ксилозу, арабинозу, маннозу, галактозу, фруктозу и тому подобное. В определенных вариантах осуществления сахара включают в себя сахарные кислоты, такие как глюкуроновая кислота, дополнительно включительно с конъюгированными формами, такими как глюкурониды (т. е. путем глюкуронизации). Иллюстративные дисахариды включают в себя мальтозу, сахарозу, лактозу, лактулозу, трегалозу и тому подобное. Иллюстративные полисахариды включают в себя амилозу, амилопектин, гликоген, инулин, целлюлозу и тому подобное. Циклодекстрин может представлять собой любой циклодекстрин, известный специалистам. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой альфа-циклодекстрин, бета-циклодекстрин или гамма-циклодекстрин, или их смеси. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой альфа-циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой бета-циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрин представляет собой гамма-циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа способна улучшать растворимость остальной части ADC. В определенных вариантах осуществления алкил-, гетероалкил-, алкенил- или гетероалкенилсульфоновая кислота является замещенной или незамещенной. В определенных вариантах осуществления алкил-, гетероалкил-, алкенил- или гетероалкенилсульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_x\text{-NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_x\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_x\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, $-(\text{CH}_2)_x\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$ или $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y\text{-C(O)N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C(O)NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, где x равно 1, 2, 3, 4 или 5, и y равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкил- или алкенилсульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. В другом варианте осуществления гетероалкил- или гетероалкенилсульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_x\text{-NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, где x равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил-, гетероалкил-, алкенил- или гетероалкенилсульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_x\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, где x равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил-, гетероалкил-, алкенил- или гетероалкенилсульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y\text{-C(O)NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, где y равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил-, гетероалкил-, алкенил- или гетероалкенилсульфоновая кислота представляет

собой $-(\text{CH}_2)_x\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, где x равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил-, гетероалкил-, алкенил- или гетероалкенилсульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_x\text{-C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, где x равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил-, гетероалкил-, алкенил- или гетероалкенилсульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y\text{-C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, где y равно 1, 2, 3, 4 или 5.

[129] В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой:



где:

SP^1 представляет собой спейсер;

SP^2 представляет собой спейсер;

$\begin{array}{c} \text{A} \\ \text{---} \\ \text{---} \end{array}$ представляет собой одну или большее количество связей с антигенсвязывающим доменом Z ;

$\begin{array}{c} \text{P} \\ \text{---} \\ \text{---} \end{array}$ представляет собой одну или большее количество связей с производным веррукарина A ;

каждая AA представляет собой аминокислотный остаток; и

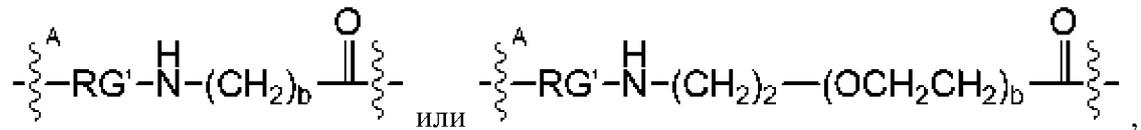
n представляет собой целое число от нуля до десяти.

[130] Спейсер SP^1 представляет собой фрагмент, который соединяет фрагмент или остаток $(AA)_n$ с антигенсвязывающим доменом Z или с остатком реакционной группы, который связан с Z . Пригодные спейсеры SP^1 включают в себя, помимо прочего, те, которые содержат алкилен или полиэфир, или и тот, и другой. Концы спейсеров, например, часть спейсера, связанная с Z или AA , могут представлять собой фрагменты, полученные из реакционных фрагментов, которые используются в целях сочетания антитела или AA со спейсером в ходе химического синтеза конъюгата. В определенных вариантах осуществления n равно 0, 1, 2, 3 или 4 (т. е. когда n равно 0, AA отсутствует). В одном варианте осуществления n равно 2. В другом варианте осуществления n равно 3. В другом варианте осуществления n равно 4.

[131] В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^1 содержит алкилен. В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^1 содержит алкилен C_{5-7} . В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^1 содержит полиэфир. В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^1 содержит полимер этиленоксида, такой как полиэтиленгликоль (PEG). Полимерные единицы полиэтиленгликоля обычно обозначены как $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p-$, где p представляет собой целое число от одного до ста. Например, $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2-$ также может обозначаться как $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{-OCH}_2\text{CH}_2-$ или PEG_2 . В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG_1 . В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG_2 . В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG_3 . В

определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG₈₄. В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG₈₅. В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG₈₆. В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG₈₇. В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG₈₈. В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG₈₉. В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG₉₀. В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG₉₁. В определенных вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой PEG₉₂.

[132] В некоторых вариантах осуществления спейсер SP¹ представляет собой:



где:

RG' представляет собой остаток реакционной группы после реакции реакционной группы RG со связывающим агентом;

$\begin{array}{c} \text{A} \\ \text{---} \end{array}$ представляет собой связь с антигенсвязывающим доменом Z;

$\begin{array}{c} \text{---} \\ \text{---} \end{array}$ представляет собой связь с (AA)_n;

n представляет собой целое число от нуля до десяти; и

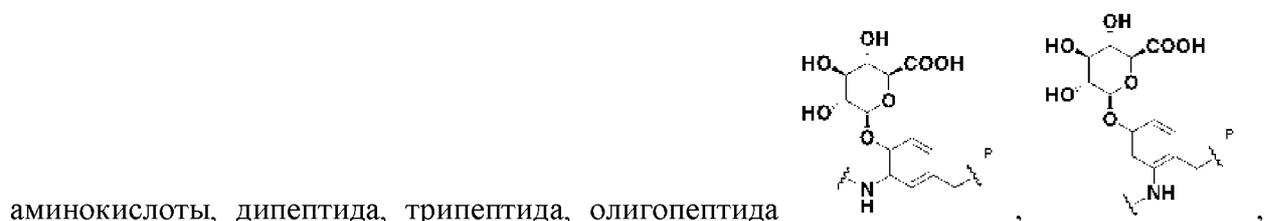
b независимо представляет собой целое число от 1 до 92.

[133] Реакционная группа RG может представлять собой любую реакционную группу, известную специалистам в данной области техники как такая, которая способна образовывать одну или большее количество связей с антигенсвязывающим доменом Z. Реакционная группа RG представляет собой фрагмент, содержащий в своей структуре часть, которая способна вступать в реакцию со связывающим агентом (например, вступать в реакцию с антителом на его остатках цистеина или лизина, или на азидном фрагменте, например, функционализированное PEG-N₃ антитело на одном или большем количестве остатков глутамина; или на аминокислотном фрагменте, например, функционализированное PEG-NH₂ антитело на одном или большем количестве остатков глутамина) с образованием конъюгатов лекарственное средство-антитело, описанных в данном документе. После конъюгации с антигенсвязывающим доменом реакционная группа становится остатком реакционной группы (RG'). Иллюстративные реакционные группы включают в себя, помимо прочего, те, которые содержат галогенацетильную, изотиоцианатную, сукцинимидную, N-гидроксисукцинимидную или малеимидную части, которые способны вступать в реакцию со связывающим агентом.

[134] Спейсер SP², когда он присутствует, представляет собой фрагмент, который соединяет фрагмент (AA)_n с полезной нагрузкой. Пригодные спейсеры включают в себя, помимо прочего, описанные выше как спейсеры SP¹. Дополнительные пригодные спейсеры SP² включают в себя, помимо прочего, те, которые содержат алкилен или

полиэфир, или и тот, и другой. Концы спейсеров SP^2 , например, часть спейсера, непосредственно связанная с производным веррукаринина А или АА, могут представлять собой фрагменты, полученные из реакционных фрагментов, которые используются в целях сочетания производного веррукаринина А или АА со спейсером SP^2 в ходе химического синтеза конъюгата. В некоторых примерах концы спейсеров SP^2 , например, часть спейсера SP^2 , непосредственно связанная с производным веррукаринина А или АА, могут представлять собой остатки реакционных фрагментов, которые используются в целях сочетания производного веррукаринина А или АА со спейсером в ходе химического синтеза конъюгата.

[135] В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^2 , когда он присутствует, выбран из группы, состоящей из $-NH-(p-C_6H_4)-CH_2-$, $-NH-(p-C_6H_4)-CH_2OC(O)-$,



и любой их комбинации. В определенных вариантах осуществления каждый ---P представляет собой связь с полезной нагрузкой, а каждый ---NH--- представляет собой связь с $(AA)_n$ или отсутствует, если $n=0$.

[136] В приведенной выше формуле каждый $(AA)_n$ представляет собой аминокислоту или необязательно *n*-аминобензилоксикарбонильный остаток (РАВС). *n* может быть равно 0; если это так, $(AA)_n$ отсутствует. В одном варианте осуществления, если РАВС присутствует, то присутствует только один РАВС. В другом варианте осуществления остаток РАВС, если он присутствует, связан с концевым АА в группе $(AA)_n$ рядом с полезной нагрузкой. Пригодные аминокислоты для каждого АА включают в себя натуральные, ненатуральные, стандартные, нестандартные, протеиногенные, непротеиногенные и L- или D- α -аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления АА содержит аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин, их производное или любую их комбинацию (например, дипептиды, трипептиды и олигопептиды и т.п.) В определенных вариантах осуществления одна или большее количество боковых цепей аминокислот связаны с группой боковой цепи, описанной ниже. В некоторых вариантах осуществления *n* равно двум. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет

собой валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой глицин-валин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой валин-цитруллин-РАВС. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой цитруллин-валин-РАВС. В некоторых вариантах осуществления n равно трем. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления n равно четырем. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой глутамат-валин-цитруллин-РАВ. В некоторых вариантах осуществления $(AA)_n$ представляет собой глутамин-валин-цитруллин-РАВС.

[137] В другом варианте осуществления L представляет собой расщепляемый линкер.

[138] В другом варианте осуществления L представляет собой кислотнo-лабильный линкер, гидролизно-лабильный линкер, ферментативно расщепляемый линкер, восстановительно-лабильный линкер или саморазрушающийся линкер.

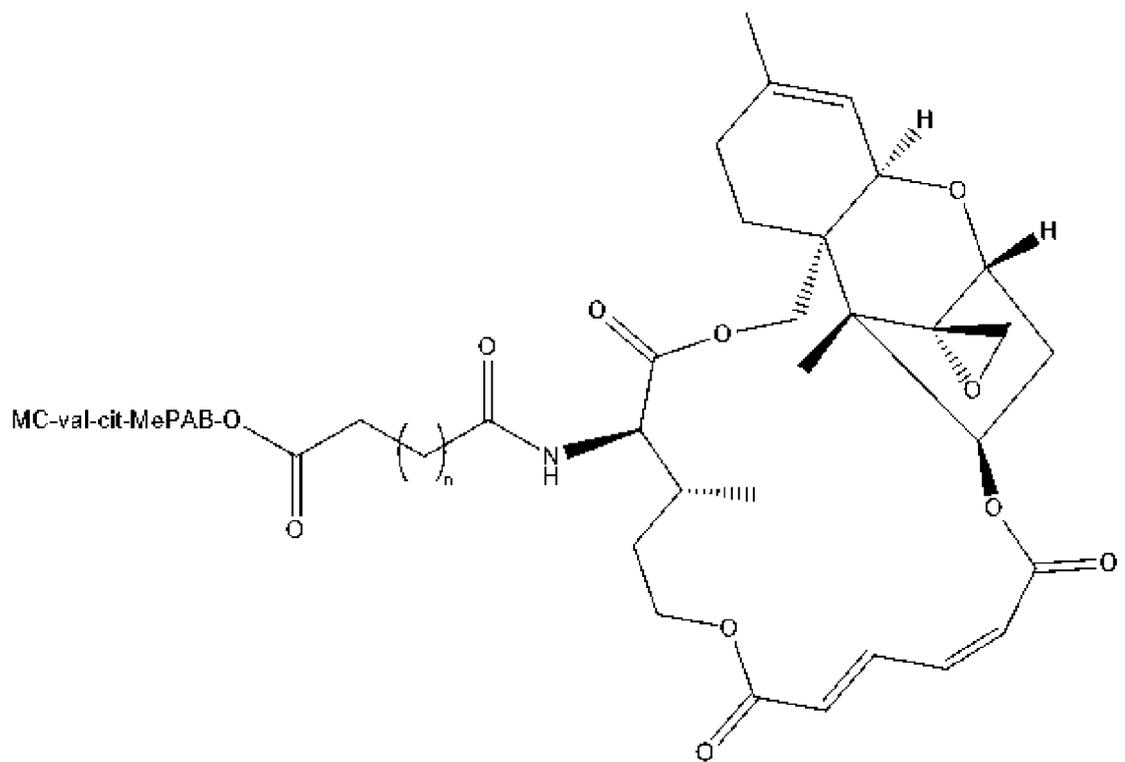
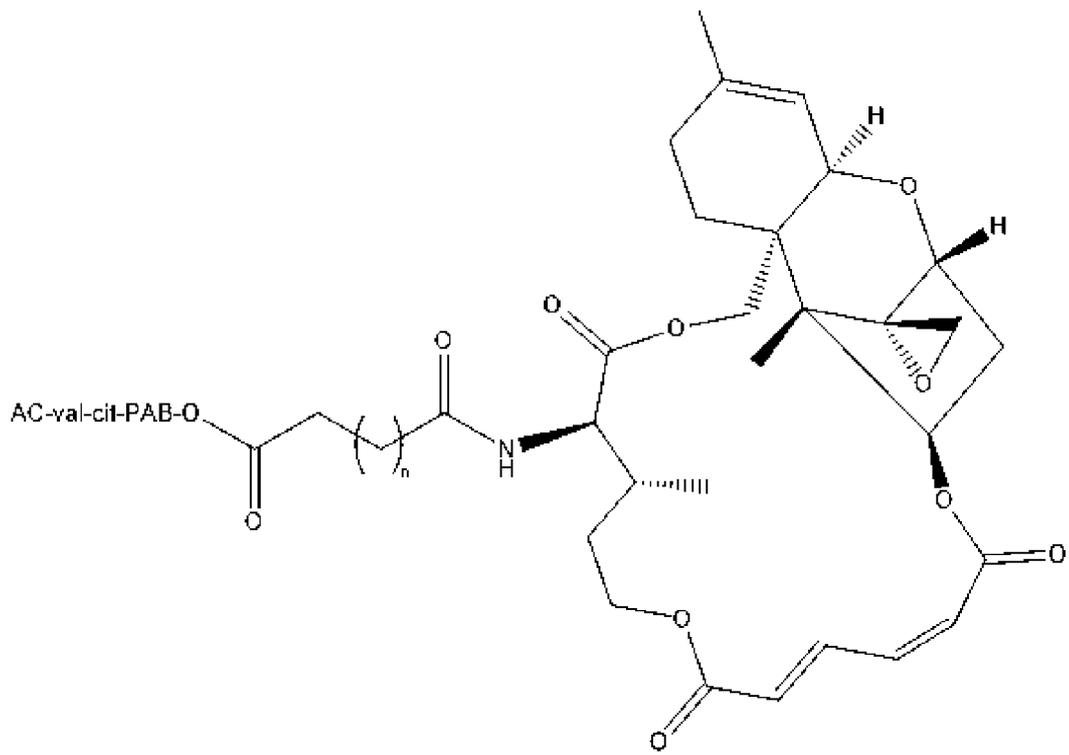
[139] В другом варианте осуществления L включает в себя или представляет собой пептид, углевод, N-гидроксисукцинимидиловый эфир, глюкуроид, одно или больше количество звеньев полиэтиленгликоля, гидразон, малокапроильное звено, дипептидное звено, валин-цитрулиновое звено или парааминобензильное звено или их комбинации.

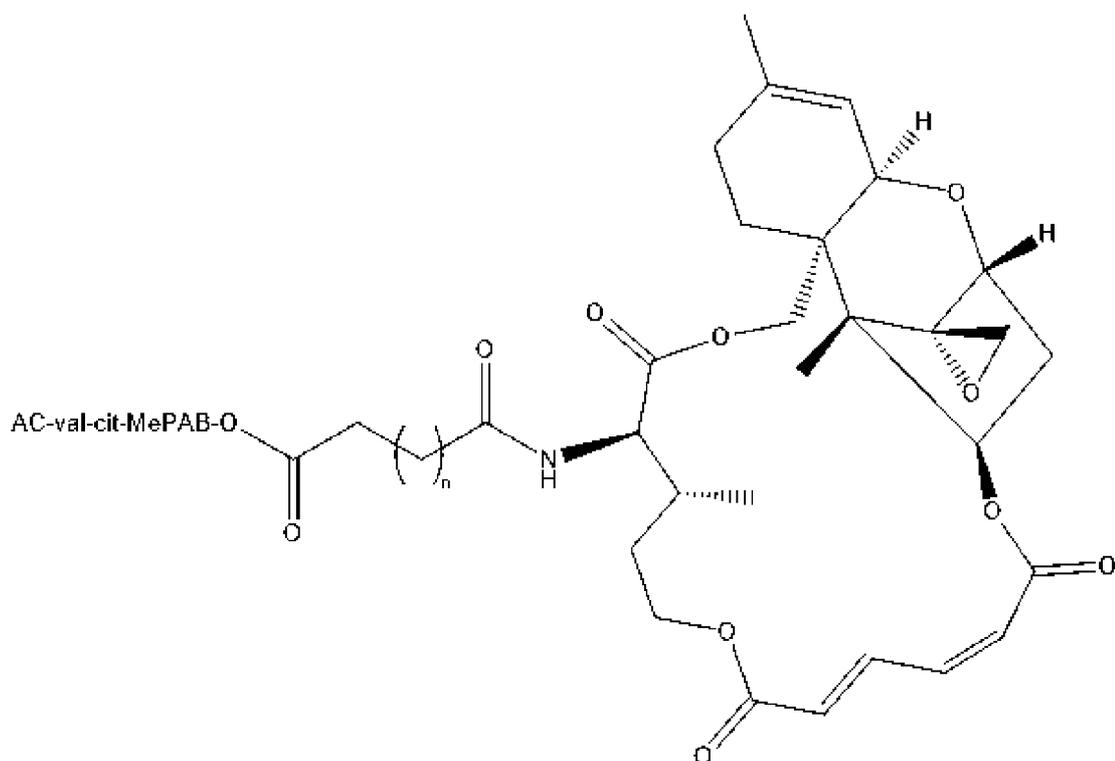
[140] В другом варианте осуществления L включает в себя или представляет собой пептид, углевод, глюкуроид, одно или больше количество звеньев полиэтиленгликоля, гидразон, малокапроильное звено, дипептидное звено, валин-цитрулиновое звено или парааминобензильное звено или их комбинации.

[141] В другом варианте осуществления L включает в себя или представляет собой МС (6-малеимидокапроил), МР (малеимидопропаноил), val-cit (валин-цитруллин), val-ala (валин-аланин), изолейцин-фенилаланин-цитруллин, дипептидный сайт в расщепляемом протеазой линкере, ala-phe (аланин-фенилаланин) или РАВ (п-аминобензилокси) или их комбинации.

[142] В другом варианте осуществления L включает в себя или представляет собой МС (6-малеимидокапроил), МР (малеимидопропаноил), val-cit (валин-цитруллин), val-ala (валин-аланин), дипептидный сайт в расщепляемом протеазой линкере, ala-phe (аланин-фенилаланин) или РАВ (п-аминобензилокси) или их комбинации.

[143] В другом варианте осуществления L включает в себя val-cit. В другом варианте осуществления L содержит или состоит из val-cit-РАВ. В другом варианте осуществления L содержит или состоит из val-cit-МеРАВ (val-cit-(п-амино- α -бензилокси)).

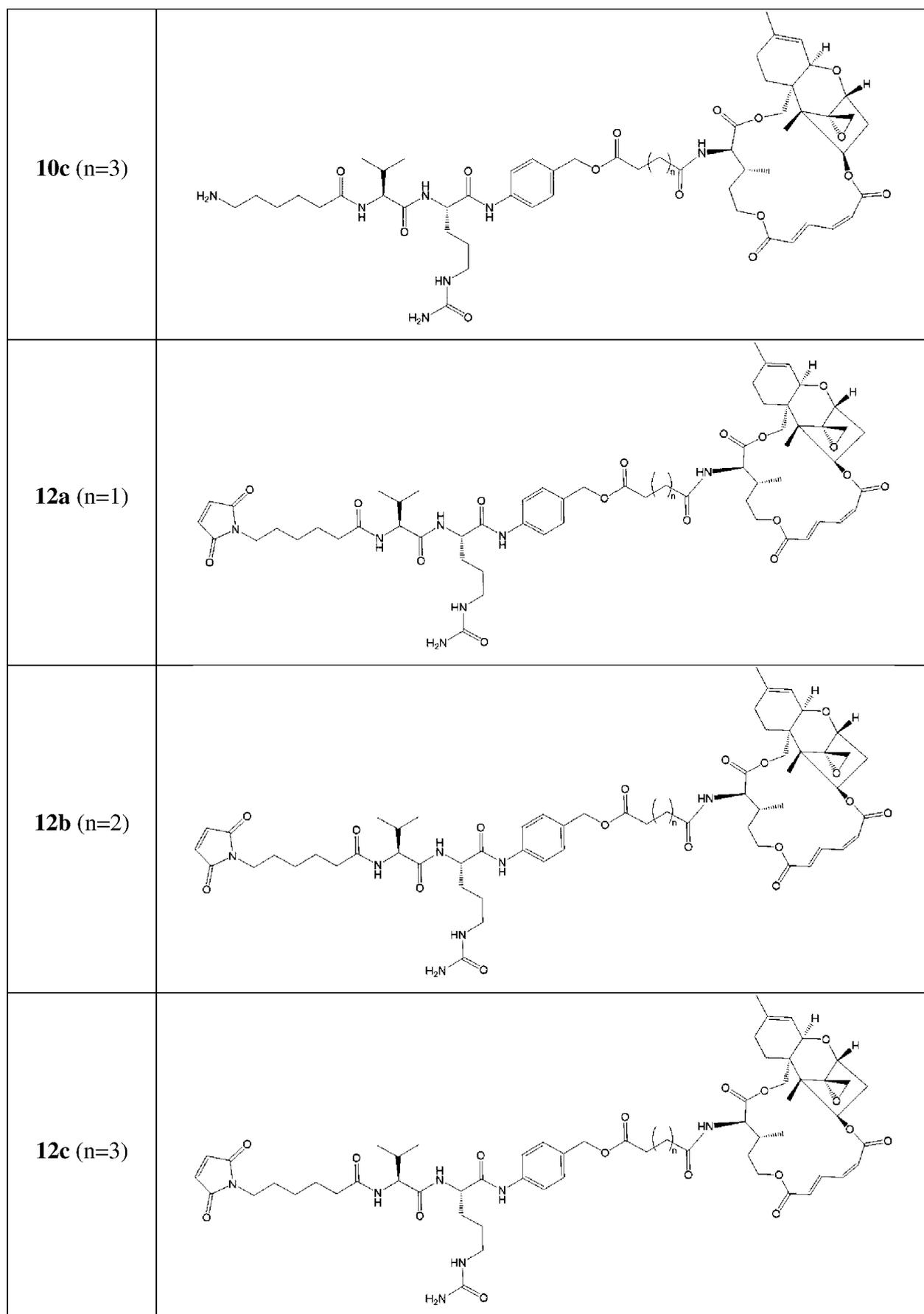


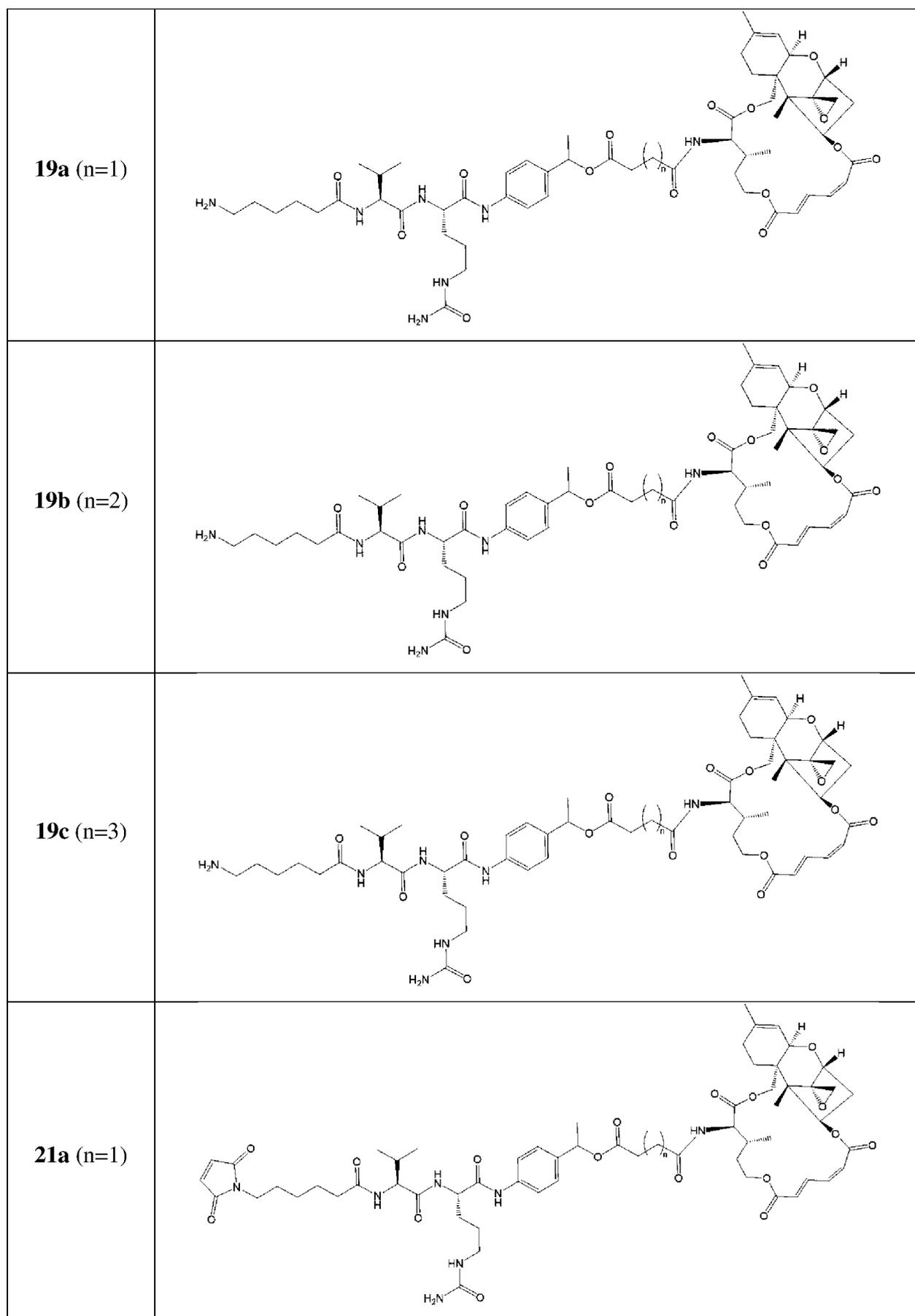


где n представляет собой целое число в диапазоне 1-4, или в другом варианте осуществления n равно 1, 2 или 3.

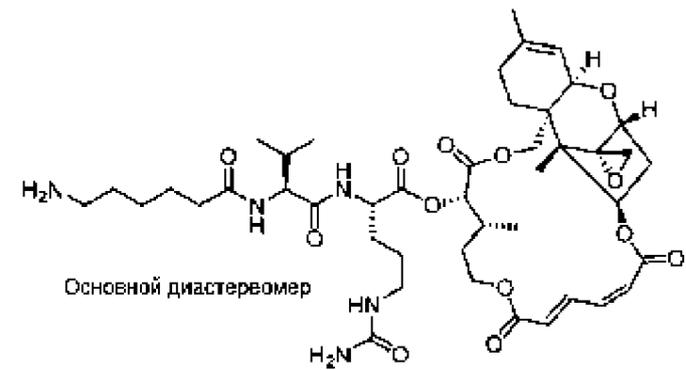
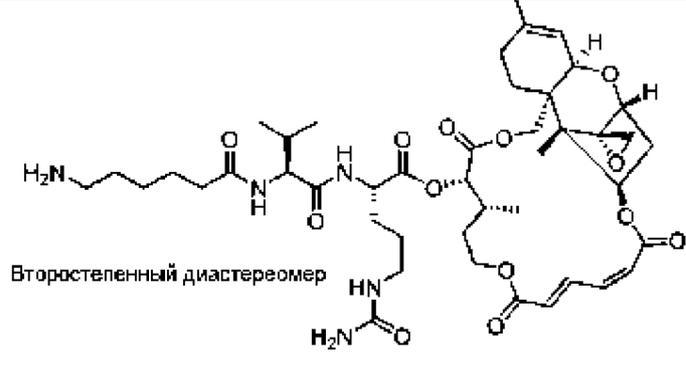
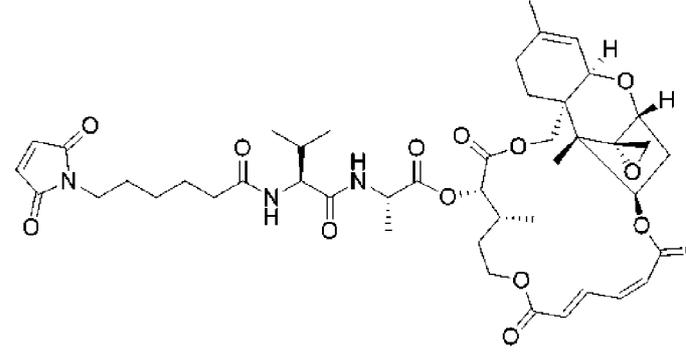
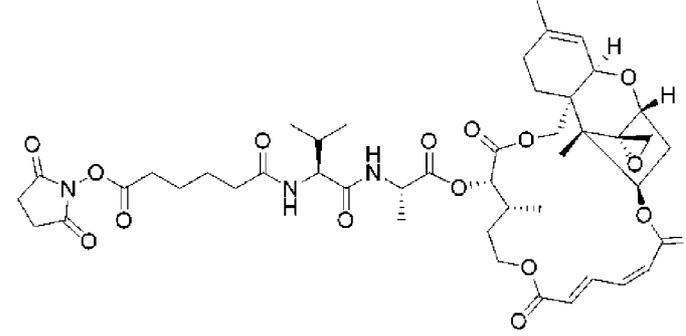
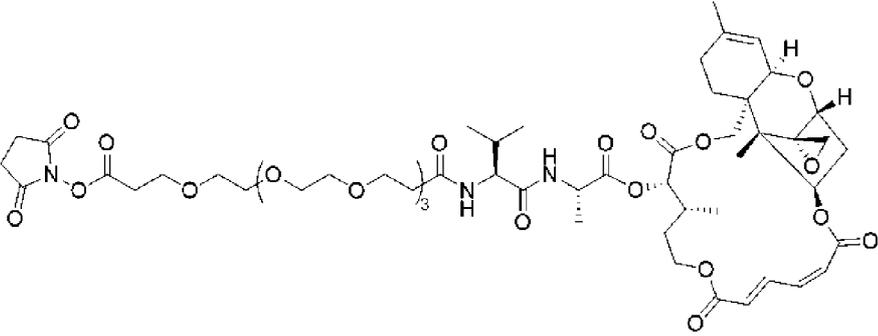
[145] В одном варианте осуществления производное линкер - веррукарин А для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, выбрано из:

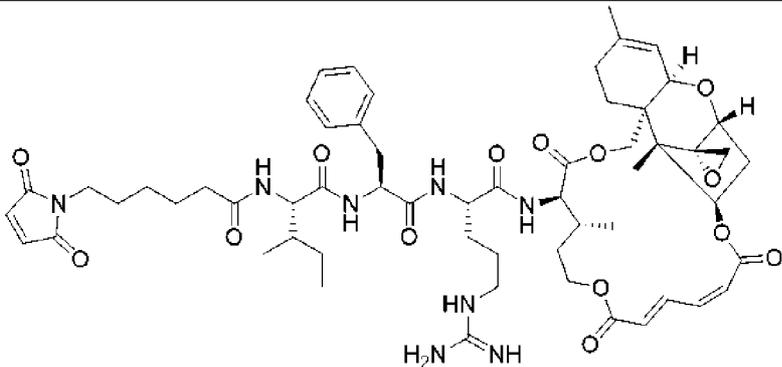
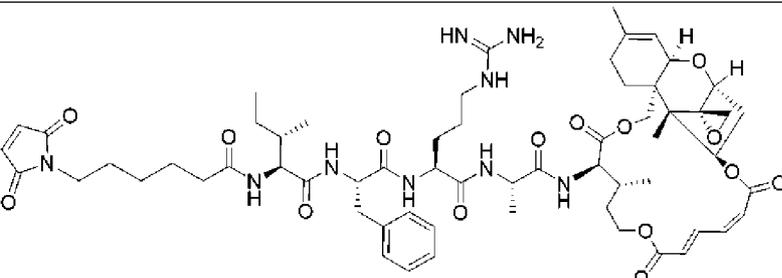
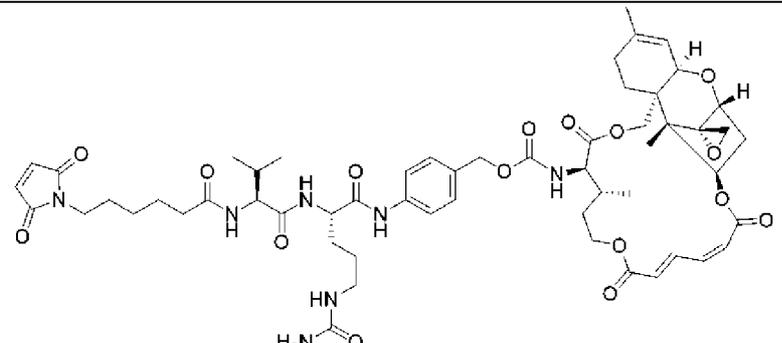
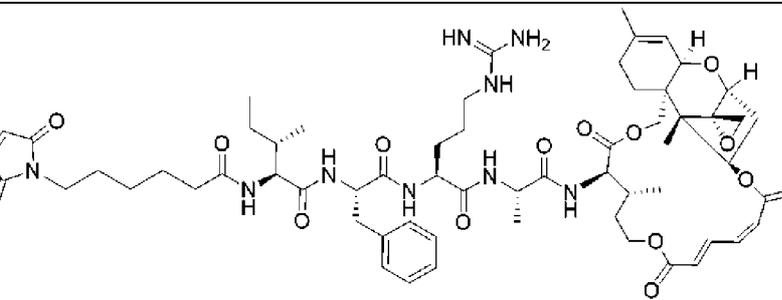
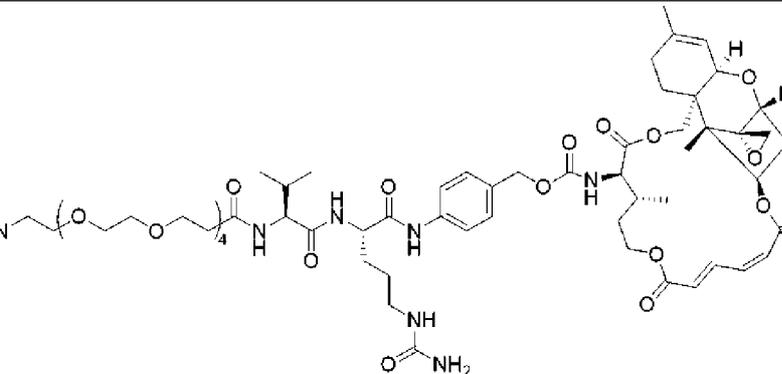
Соединение	Структура
10a ($n=1$)	
10b ($n=2$)	

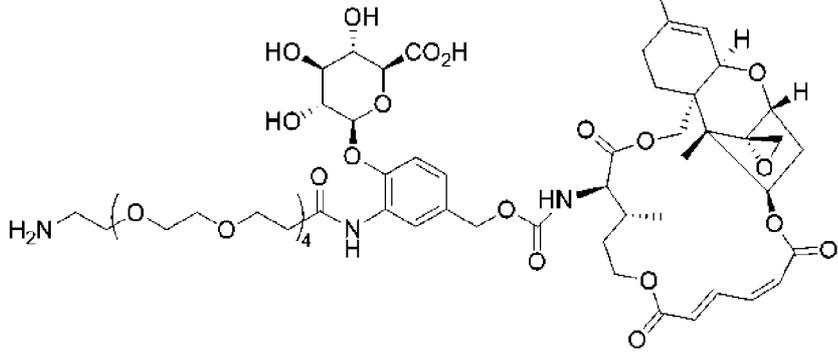
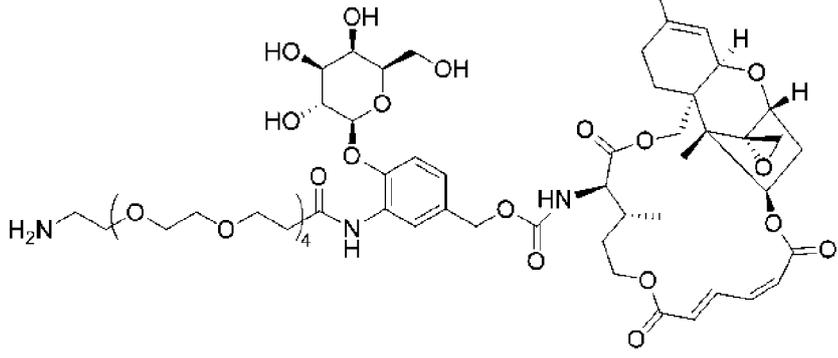
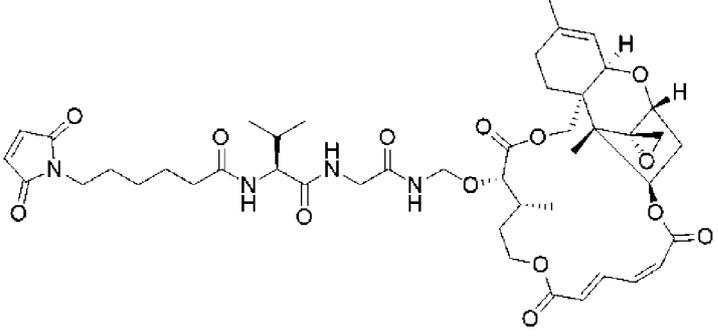
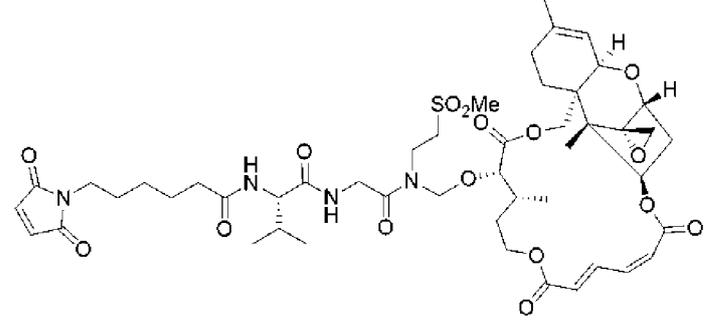
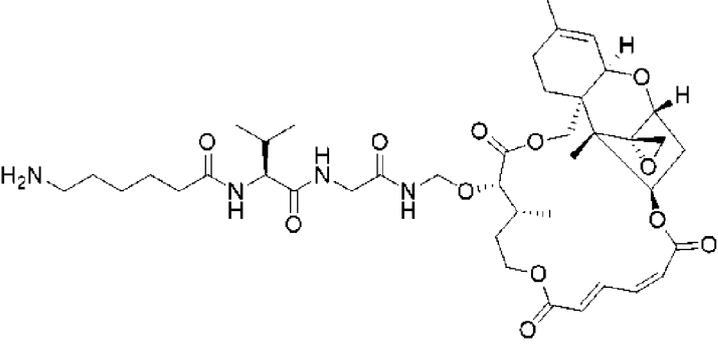




21b (n=2)	
21c (n=3)	
37	
46	
53	

70a	 <p>Основной диастереомер</p> <p>The structure shows a complex polycyclic core with multiple stereocenters. Attached to this core is a side chain consisting of a methyl group, a chiral center with a methyl group, and a terminal primary amine group. The stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>
70b	 <p>Второстепенный диастереомер</p> <p>This structure is identical to 70a but represents a different diastereomer, with the stereochemistry of the side chain inverted.</p>
74	 <p>The structure features a five-membered imidazole ring substituted with a carbonyl group and a long alkyl chain. The alkyl chain is connected to the side chain of the polycyclic core.</p>
75	 <p>The structure features a five-membered imidazole ring substituted with a carbonyl group and a long alkyl chain. The alkyl chain is connected to the side chain of the polycyclic core.</p>
76	 <p>The structure features a five-membered imidazole ring substituted with a carbonyl group and a long alkyl chain. The alkyl chain is connected to the side chain of the polycyclic core and includes a polyether segment represented by a bracket with a subscript 3.</p>

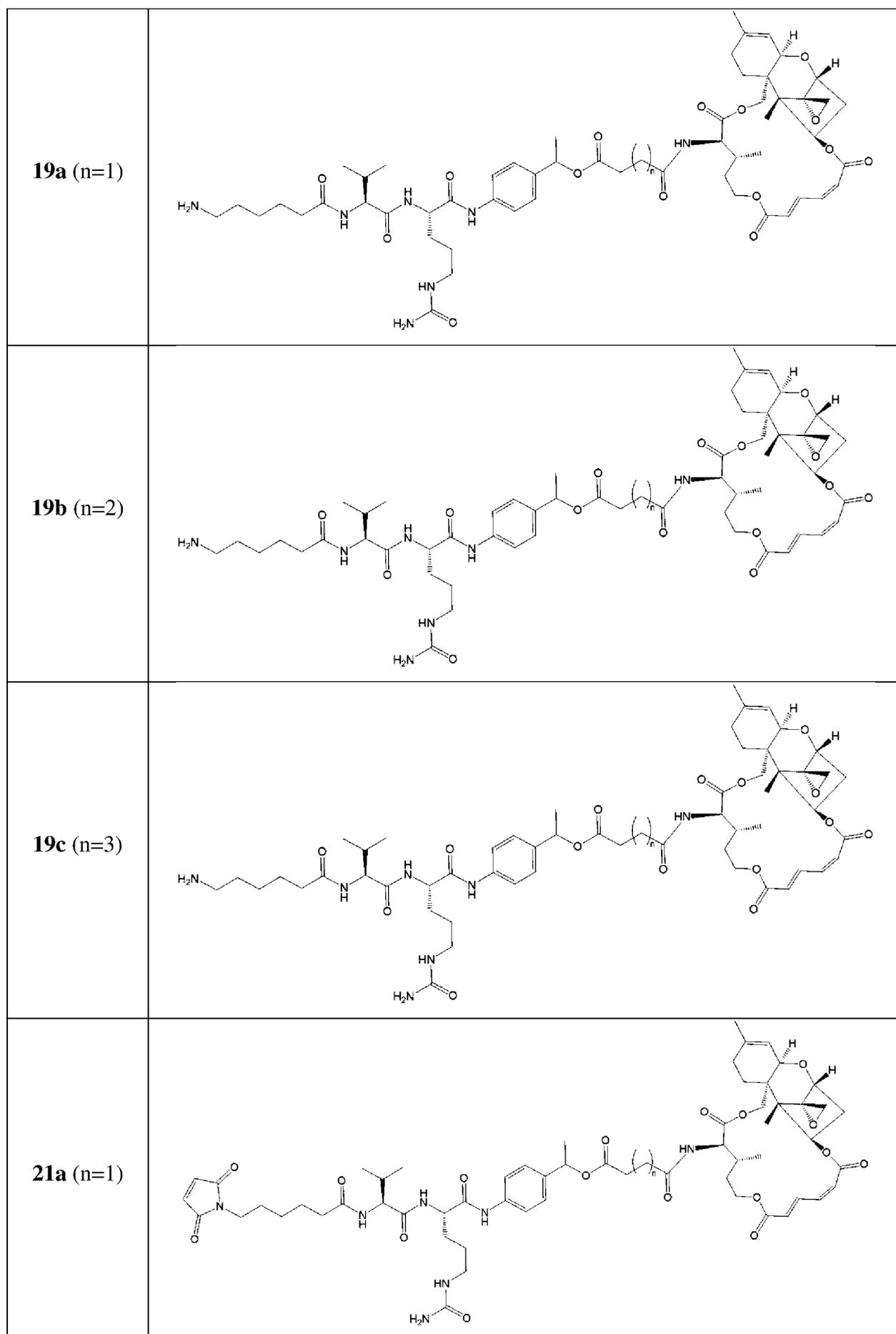
88	
91	
97	
95	
101	

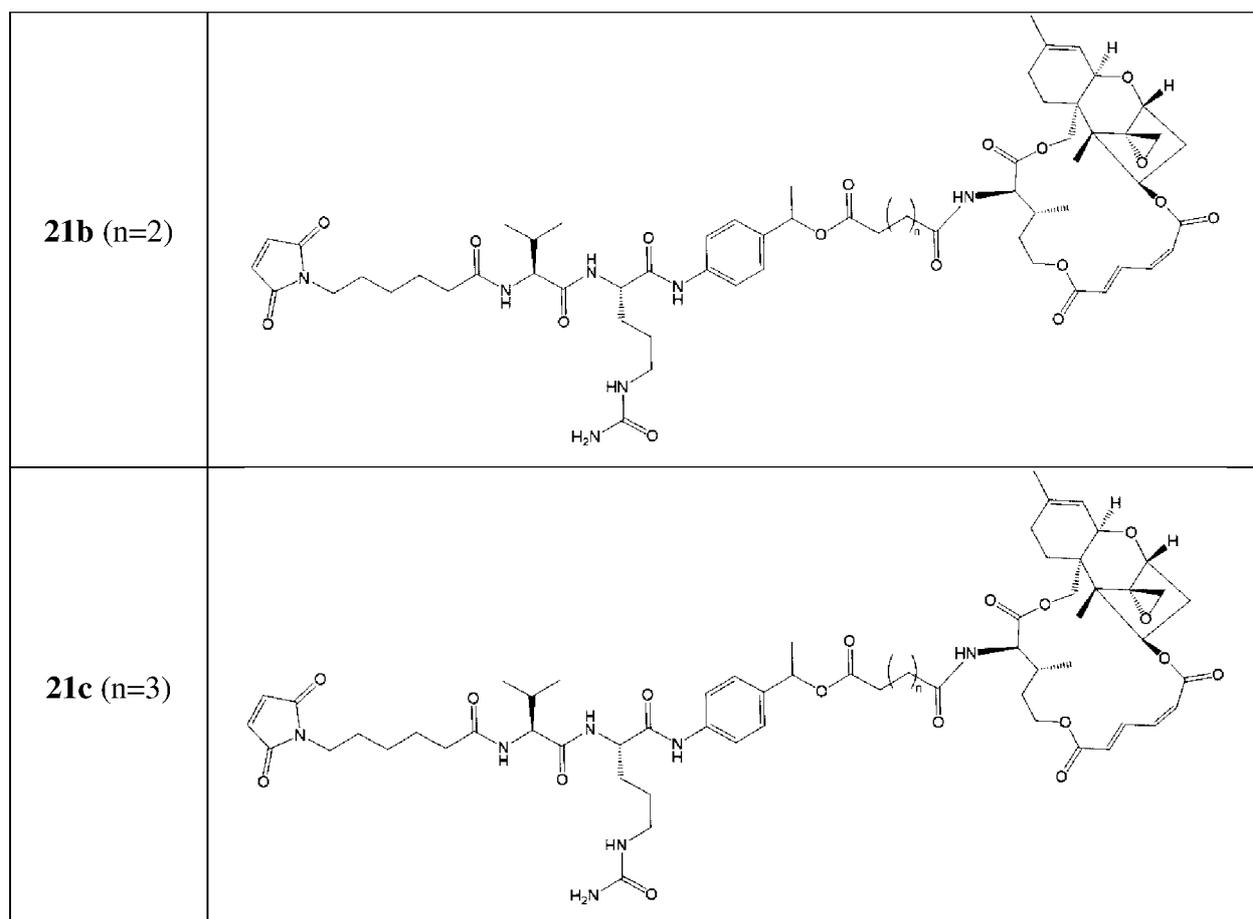
106	
109	
114	
118	
121	

124	
126	

[146] В одном варианте осуществления производное линкер - веррукарин А для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, выбрано из:

Соединение	Структура
10a (n=1)	
10b (n=2)	



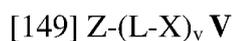


V. Синтез производных линкер - веррукарин А

[147] Производные линкер - веррукарин А, предложенные в данном документе, могут быть получены в соответствии со способами, хорошо известными специалистам в данной области техники. Например, концевая карбоновая кислота в производных веррукарин А, предложенных в данном документе, затем может быть этерифицирована в стандартных условиях, например, с помощью производного *p*-аминобензилового спирта, с получением соединений линкер - веррукарин А, например, соединений **10a-c**, **12a-c**, **19a-c** и **21a-c**.

VI. КАЛП для применения в композициях и способах

[148] В одном варианте осуществления в данном изобретении предложены ADC для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, имеющие формулу V:



[150] или их фармацевтически приемлемое производное, где:

[151] Z представляет собой антигенсвязывающий домен против гриппа, антигенсвязывающий домен против SARS-CoV-2 или SARS-CoV-2 или антигенсвязывающий домен против Эболы;

[152] L представляет собой связывающую группу, определенную в данном документе;

[153] X представляет собой производное веррукарин А; и

[154] v представляет собой целое число от 1 до 12.

[155] В одном варианте осуществления X представляет собой производное веррукарина A , определенное в данном документе. В другом варианте осуществления v представляет собой целое число от 1 до 10, от 1 до 8, от 1 до 6 или от 1 до 4. В другом варианте осуществления v равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В другом варианте осуществления v равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8. В другом варианте осуществления v равно около 2 или равно 2.

A. АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ Z

[156] Подходящие антигенсвязывающие домены Z для любого ADC, предложенного в данном документе, включают в себя, помимо прочего, антитела, вирусные рецепторы или любые другие клеточно-связывающие или пептид-связывающие молекулы или вещества. В других вариантах осуществления антигенсвязывающие домены, которые можно использовать в ADC, предложенных в данном документе, включают в себя антитела, антигенсвязывающие фрагменты антител, пептиды, которые специфически взаимодействуют с конкретным антигеном (например, пептитела), рецепторные молекулы, которые специфически взаимодействуют с конкретным антигеном, белки, содержащие лигандсвязывающую часть рецептора, которая специфически связывает конкретный антиген, антигенсвязывающие каркасы (например, DARPIn, белки с HEAT-повторами, белки с ARM-повторами, белки с тетраатрикопептидными повторами и другие каркасы на основе встречающихся в природе белков с повторами и т. д. (см., например, работу Voersma and Pluckthun, 2011, *Curr. Opin. Biotechnol.* 22: 849-857 и приведенные в ней ссылки)), а также аптамеры или их части. Полноразмерная аминокислотная последовательность иллюстративного гемагглютинина (HA) гриппа представлена в GenBank под номером доступа ACP44150.1.

[157] В одном варианте осуществления антигенсвязывающие домены Z включают в себя антитела (например, полностью человеческие антитела) и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с белками вируса гриппа, такие как поверхностные белки гемагглютинина (HA), нейраминидазы (NA) и матрицы-2 (M2). В некоторых вариантах осуществления эти антигенсвязывающие домены Z модулируют взаимодействие вируса гриппа с клетками-хозяевами. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты связываются со зрелым гемагглютинином. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты связываются с гемагглютининовым белком-предшественником HA0. Антитела HA против гриппа могут связываться с HA вируса гриппа с высокой аффинностью. В определенных вариантах осуществления антитела по данному изобретению представляют собой блокирующие антитела, причем антитела могут связываться с HA гриппа и блокировать присоединение вируса к клеткам-хозяевам и/или проникновение вируса в клетки-хозяева. В некоторых вариантах осуществления блокирующие антитела по данному изобретению могут блокировать связывание вируса гриппа с клетками и тем самым могут ингибировать или нейтрализовать вирусную инфекционность клеток-хозяев. В некоторых вариантах осуществления блокирующие

антитела могут быть применимы для лечения субъекта, страдающего от инфекции вируса гриппа. Антитела при введении субъекту, нуждающемуся в этом, могут уменьшать инфекцию, вызванную вирусом, таким как грипп, у субъекта. Антитела могут использоваться для снижения вирусной нагрузки у субъекта. Антитела могут использоваться отдельно или в качестве дополнительной терапии с другими терапевтическими фрагментами или способами, известными в данной области техники для лечения вирусной инфекции. В определенных вариантах осуществления антитела могут связываться с эпитопом в стеблевой области НА вируса, области головки НА вируса или в обеих областях. Кроме того, антитела могут использоваться в профилактических целях (до инфицирования), чтобы защитить млекопитающее от инфекции, или могут использоваться в терапевтических целях (после того, как инфекция была установлена), чтобы облегчить ранее установленную инфекцию, или могут использоваться, чтобы облегчить по меньшей мере один симптом, связанный с инфекцией.

[158] В одном варианте осуществления антигенсвязывающие домены Z включают в себя антитела (например, полностью человеческие антитела) и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с белками SARS-CoV-2, такими как шиповидный гликопротеин (который может также называться шиповидный белок или SARS-CoV-2-S). В некоторых вариантах осуществления эти антигенсвязывающие домены Z модулируют взаимодействие SARS-CoV-2 с клетками-хозяевами. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты связываются со зрелым шиповидным гликопротеином. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты связываются с шиповидным белком-предшественником. Антитела против SARS-CoV-2-S могут связываться с шиповидным гликопротеином с высокой аффинностью. В определенных вариантах осуществления антитела по данному изобретению представляют собой блокирующие антитела, причем антитела могут связываться с SARS-CoV-2-S и блокировать присоединение вируса к клеткам-хозяевам и/или проникновение вируса в клетки-хозяева, например, путем блокирования взаимодействия между шиповидным гликопротеином и его рецептором ACE2. В некоторых вариантах осуществления блокирующие антитела по данному изобретению могут блокировать связывание SARS-CoV-2 с клетками и тем самым могут ингибировать или нейтрализовать вирусную инфекционность клеток-хозяев. В некоторых вариантах осуществления блокирующие антитела могут быть применимы для лечения субъекта, страдающего от инфекции SARS-CoV-2 и/или испытывающего симптомы COVID-19. Антитела при введении субъекту, нуждающемуся в этом, могут уменьшать инфекцию, вызванную вирусом, таким как SARS-CoV-2, у субъекта. Антитела могут использоваться для снижения вирусной нагрузки у субъекта. Антитела могут использоваться отдельно или в качестве дополнительной терапии с другими терапевтическими фрагментами или способами, известными в данной области техники для лечения вирусной инфекции. В определенных вариантах осуществления антитела

могут связываться с эпитопом в рецептор-связывающем домене шиповидного гликопротеина. Кроме того, антитела могут использоваться в профилактических целях (до инфицирования), чтобы защитить млекопитающее от инфекции, или могут использоваться в терапевтических целях (после того, как инфекция была установлена), чтобы облегчить ранее установленную инфекцию, или могут использоваться, чтобы облегчить по меньшей мере один симптом, связанный с инфекцией.

[159] В определенных вариантах осуществления антитела получают от мышей, иммунизированных первичным иммуногеном, таким как полноразмерный HA гриппа, SARS-CoV-2-S или GP вируса Эбола, или рекомбинантной формой HA гриппа, SARS-CoV-2-S или GP вируса Эбола или их фрагментами с последующей иммунизацией вторичным иммуногеном или иммуногеном активным фрагментом HA гриппа, SARS-CoV-2-S или GP вируса Эбола. В определенных вариантах осуществления антитела получают от мышей, иммунизированных композицией вакцины против гриппа, SARS-CoV-2 или Эболы с последующей бустерной иммунизацией одним или большим количеством рекомбинантно полученных пептидов HA гриппа, SARS-CoV-2-S или Эболы, соответственно. В определенных вариантах осуществления антитела получают от людей. В определенных вариантах осуществления антитела получают от млекопитающих (например, отличных от людей млекопитающих). В определенных вариантах осуществления антитела получают от отличных от людей приматов.

[160] Иммуноген может представлять собой биологически активный и/или иммуногенный фрагмент HA гриппа, SARS-CoV-2-S или вируса Эболы или ДНК, кодирующую его активный фрагмент. Для гриппа фрагмент может быть получен из стеблевой области белка HA (см., например, работу Sui *et al.* Nature Struct. and Mol. Biol., опубликованную онлайн 22 февраля 2009 г.; стр. 1-9), области головки белка HA или их комбинации. Для SARS-CoV-2 фрагмент может быть получен из полноразмерного белка SARS-CoV-2-S или из рецептор-связывающего домена (receptor binding domain - RBD). Для Эболы фрагмент может быть получен из полноразмерного белка Эболы или из GP вируса Эболы, включая аминоконцевой фрагмент (например, GP1) или карбоксиконцевой фрагмент (например, GP2).

[161] Антигенсвязывающие домены Z могут быть модифицированы для включения добавления или замены определенных остатков для мечения или в целях конъюгации с молекулами-носителями, такими как гемоцианин лимфы улитки (keyhole limpet hemocyanin - KLH). Например, цистеин может быть добавлен на N-конце или C-конце пептида, или линкерная последовательность может быть добавлена для подготовки пептида к конъюгации с, например, KLH для иммунизации.

[162] Определенные антитела против гриппа, антитела против HA гриппа или ADC, предложенные в данном документе, обладают антивирусной активностью, такой как способность связываться с HA гриппа и нейтрализовать его активность, как определено с помощью анализов *in vitro* или *in vivo*. Определенные антитела против гриппа, антитела против HA гриппа или ADC, предложенные в данном документе, способны связываться с

НА, однако не обладают нейтрализующей активностью, как определено с помощью анализов *in vitro* или *in vivo*. Способность антител или ADC по настоящему изобретению связываться с НА гриппа и нейтрализовать его активность и тем самым присоединение и/или проникновение вируса в клетку-хозяина с последующей вирусной инфекцией можно измерить с помощью стандартных способов, известных в данной области техники, включая анализы связывания, или анализы активности, как описано в данном документе.

[163] Определенные антитела против SARS-CoV-2, антитела против SARS-CoV-2-S или ADC, предложенные в данном документе, обладают антивирусной активностью, такой как способность связываться с SARS-CoV-2-S и нейтрализовать его активность, как определено с помощью анализов *in vitro* или *in vivo*. Определенные антитела против SARS-CoV-2, антитела против SARS-CoV-2-S или ADC, предложенные в данном документе, способны связываться с SARS-CoV-2-S, однако не обладают нейтрализующей активностью, как определено с помощью анализов *in vitro* или *in vivo*. Способность антител или ADC по настоящему изобретению связываться с SARS-CoV-2-S и нейтрализовать его активность и тем самым присоединение и/или проникновение вируса в клетку-хозяина с последующей вирусной инфекцией можно измерить с помощью стандартных способов, известных в данной области техники, включая анализы связывания, или анализы активности, как описано в данном документе.

[164] Определенные антитела против Эболы или ADC, предложенные в данном документе, обладают антивирусной активностью, такой как способность связываться с вирусом Эболы и нейтрализовать его активность, как определено с помощью анализов *in vitro* или *in vivo*. Определенные антитела против Эболы или ADC, предложенные в данном документе, способны связываться с Эболой, однако не обладают нейтрализующей активностью, как определено с помощью анализов *in vitro* или *in vivo*. Способность антител или ADC по настоящему изобретению связываться с вирусом Эболы и нейтрализовать его активность и тем самым присоединение и/или проникновение вируса в клетку-хозяина с последующей вирусной инфекцией можно измерить с помощью стандартных способов, известных в данной области техники, включая анализы связывания, или анализы активности, как описано в данном документе.

[165] Антигенсвязывающие домены Z, такие как антитела, или ADC, специфичные в отношении НА гриппа, SARS-CoV-2-S вируса Эболы, могут не содержать дополнительных меток или фрагментов, или они могут содержать N-концевую или C-концевую метку или фрагмент. В одном варианте осуществления метка или фрагмент представляет собой биотин. В анализе связывания местоположение метки (если она присутствует) может определять ориентацию пептида по отношению к поверхности, на которой связан пептид. Например, если поверхность покрыта авидином, пептид, содержащий N-концевой биотин, будет ориентирован таким образом, что C-концевая часть пептида будет дистальной по отношению к поверхности. В одном варианте осуществления метка может представлять собой радионуклид, флуоресцентный краситель или обнаруживаемую с помощью MPT метку. В определенных вариантах осуществления

такие меченные антитела могут использоваться в диагностических анализах, включая анализы визуализации. В одном варианте осуществления дополнительный фрагмент представляет собой пептидную метку. В одном варианте осуществления ADC включает в себя тяжелую цепь антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце тяжелой цепи антитела. В одном варианте осуществления ADC включает в себя тяжелую цепь антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце тяжелой цепи антитела, причем пептидная метка представляет собой ELQRP, LLQG, LLQGG, LLQLLQG, LLQYQG, LLQGA, LLQGSQ, SLLQG, LQG, LLQLQ, LLQLLQ, LLQGR, LLQYQGA, LQGG, LGQG или LLQLLQGA. См., например, WO 2012/059882, патент США № 9676871 и публикацию заявки на патент США US 2003/0138785. В одном варианте осуществления ADC, предложенные в данном документе, включают в себя тяжелую цепь антитела и дополнительно включают в себя пептидную метку (например, пентапептид) на С-конце тяжелой цепи антитела, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA (например, для применения при конъюгации линкер-полезная нагрузка посредством трансклутаминазы). В одном варианте осуществления ADC, предложенные в данном документе, включают в себя тяжелую цепь антитела и дополнительно включают в себя пептидную метку (например, пентапептид) на С-конце тяжелой цепи антитела, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность ELQGP (например, для применения при конъюгации линкер-полезная нагрузка посредством трансклутаминазы). В одном варианте осуществления ADC включает в себя две тяжелые цепи антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце каждой тяжелой цепи антитела. В одном варианте осуществления ADC включает в себя две тяжелые цепи антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце каждой тяжелой цепи антитела, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA. В одном варианте осуществления ADC включает в себя две тяжелые цепи антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце каждой тяжелой цепи антитела, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность ELQGP.

[166] В определенных вариантах осуществления антитело содержит легкую цепь. В определенных вариантах осуществления легкая цепь представляет собой легкую каппа-цепь. В определенных вариантах осуществления легкая цепь представляет собой легкую лямбда-цепь. В определенных вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgA. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgD. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgE. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgG. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgM. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgY. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой любой класс, например, IgG1, IgG2,

IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 или подкласс. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgG1. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgG2. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgG3. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgG4. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgA1. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой IgA2. В некоторых вариантах осуществления Z имеет молекулярную массу, равную по меньшей мере 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 10000, 50000 или 100000 Дальтон.

[167] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой фрагмент антитела. Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов для использования в ADC, предложенных в данном документе, включают в себя: (i) фрагменты Fab; (ii) фрагменты F(ab')₂; (iii) фрагменты Fd; (iv) фрагменты Fv; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) фрагменты dAb; и (vii) минимальные единицы распознавания, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, изолированная область, определяющая комплементарность (CDR), такая как пептид CDR3), или ограниченный пептид FR3-CDR3-FR4. В других вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела включает в себя другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, антитела с трансплантированными CDR, диатела, триатела, тетратела, минитела, нанотела (например, моновалентные нанотела, бивалентные нанотела и т. д.), малые модульные иммунофармацевтические препараты (SMIP) и вариабельные домены IgNAR акул. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fv. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fab. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой фрагмент F(ab')₂. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fab'. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой фрагмент scFv (sFv). В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой фрагмент scFv-Fc.

[168] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой поликлональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, включая первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен.

[169] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело.

[170] В определенных вариантах осуществления антитело может быть

сконструировано так, чтобы содержать остаток глутамина. Методики модификации последовательности антитела для включения остатка глутамина находятся в пределах компетенции специалистов в данной области техники (см., например, работу Ausubel *et al. Current Protoc. Mol. Biol.*). В одном варианте осуществления антитело включает в себя тяжелую цепь антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце тяжелой цепи антитела. В другом варианте осуществления антитело включает в себя тяжелую цепь антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку, например, последовательность распознавания трансглутаминазы или пентапептидную метку, на С-конце тяжелой цепи антитела, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA или ELQGP.

В. Получение антител человека

[171] Способы получения антител человека у трансгенных мышей известны в данной области техники. Любые такие известные способы можно применять в контексте данного изобретения для получения антител человека, которые специфически связываются с НА гриппа, SARS-CoV-2-S или вирусом Эбола. Иммуноген, содержащий любое из следующего может использоваться для получения антител к НА гриппа, SARS-CoV-2-S или вирусу Эбола. В определенных вариантах осуществления антитела по данному изобретению получают у мышей, иммунизированных полноразмерным нативным НА гриппа (см., например, номер доступа GenBank FJ966082.1), полноразмерным SARS-CoV-2-S, или рецептор-связывающим доменом SARS-CoV-2-S, или живым ослабленным или инактивированным вирусом, или ДНК, кодирующей белок или его фрагмент. Альтернативно, белок НА гриппа, SARS-CoV-2-S или Эболы или его фрагмент может быть получен с помощью стандартных биохимических методов, модифицирован и использован в качестве иммуногена. В одном варианте осуществления иммуноген представляет собой рекомбинантно полученный белок НА гриппа, или SARS-CoV-2-S, или его фрагмент. В определенных вариантах осуществления в данном изобретении иммуноген может представлять собой вакцину вируса гриппа или вакцину SARS-CoV-2. В определенных вариантах осуществления могут вводить одну или большее количество бустерных инъекций гриппа, SARS-CoV-2 или Эболы. В определенных вариантах осуществления бустерные инъекции гриппа могут содержать один или большее количество штаммов вируса гриппа или гемагглютининов, полученных из этих штаммов, например, см. Protein Sciences H1 A/New Caledonia/20/1999, H5 A/Indonesia/05/2005, H3 A/Victoria/361/2011, H7 A/Netherlands/219/2003, или H9 A/Hong Kong/1073/1988, или штаммы вируса гриппа B B/Victoria/2/87, B/Nanchang/3451/93, B/Singapore/11/1994, B/Florida/4/2006 или B/Yamagata/16/88. В определенных вариантах осуществления бустерные инъекции могут содержать смесь 1:1 штаммов гриппа или смесь 1:1 гемагглютининов, полученных из этих штаммов. В определенных вариантах осуществления иммуноген может представлять собой рекомбинантный пептид НА гриппа, экспрессируемый у *E. Coli* или в любой другой эукариотической клетке или клетке млекопитающего, такой как клетки яичника китайского хомяка (CHO) или вирус

гриппа сам по себе.

[172] Применяя технологию VELOCIMMUNE® (см., например, патент США № 6596541) или любой другой известный способ для получения моноклональных антител, первоначально выделяют высокоаффинные химерные антитела против HA гриппа, SARS-CoV-2-S или Эболы, имеющие переменную область человека и константную область мыши. Технология VELOCIMMUNE® предполагает получение трансгенной мыши, имеющей геном, содержащий переменные области тяжелой и легкой цепей человека, функционально связанные с эндогенными локусами константной области мыши, так что мышь вырабатывает антитело, содержащее переменную область человека и константную область мыши в ответ на антигенную стимуляцию. ДНК, кодирующие переменные области тяжелой и легкой цепей антитела, выделяют и функционально связывают с ДНК, кодирующей переменные области тяжелой и легкой цепей человека. ДНК затем экспрессируют в клетке, способной экспрессировать полностью человеческое антитело.

[173] Как правило, мышь VELOCIMMUNE® инфицируют антигеном, представляющим интерес, а лимфатические клетки (такие как В-клетки) получают у мышей, которые экспрессируют антитела. Лимфатические клетки могут быть слиты с линией клеток миеломы для получения immortalized линий клеток гибридомы, и такие линии клеток гибридомы подвергают скринингу и отбору, чтобы идентифицировать линии клеток гибридомы, которые вырабатывают антитела, специфичные в отношении антигена, представляющего интерес. ДНК, кодирующие переменные области тяжелой цепи и легкой цепи могут быть выделены и связаны с желаемыми изотипическими константными областями тяжелой цепи и легкой цепи. Такой белок антитела может быть получен в клетке, такой как клетка СНО. Альтернативно, ДНК, кодирующая антигенспецифические химерные антитела или переменные домены легкой и тяжелой цепей, может быть выделена непосредственно из антигенспецифических лимфоцитов.

[174] Первоначально выделяют высокоаффинные химерные антитела, имеющие переменную область человека и константную область мыши. Как описано в WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1, полное содержание каждого из которых включено посредством ссылки, антитела характеризуют и отбирают по желаемым характеристикам, включающим в себя аффинность, селективность, эпитоп и т. д. Константные области мыши заменяют желаемой константной областью человека для получения полностью человеческого антитела по данному изобретению, например, IgG1 или IgG4 дикого типа или модифицированного IgG1 или IgG4. В то время как выбранная константная область может варьироваться в зависимости от конкретного применения, характеристики высокой аффинности к антигену и специфичности к целевой молекуле присущи переменной области.

С. Биоэквиваленты

[175] Антигенсвязывающие домены Z, включая антитела против HA гриппа и фрагменты антител, антитела против SARS-CoV-2-S и фрагменты антител, а также

антитела против Эболы и фрагменты антител, предложенные для применения в ADC по данному изобретению, охватывают белки, имеющие аминокислотные последовательности, которые отличаются от последовательностей описанных антител, однако сохраняют способность связывать НА гриппа, SARS-CoV-2-S или вирус Эбола, соответственно. Такие варианты антитела и фрагменты антител содержат одно или большее количество добавлений, делеций или замен аминокислот по сравнению с исходной последовательностью, но проявляют биологическую активность, которая по существу эквивалентна активности описанных антител. Аналогичным образом, последовательности ДНК по данному изобретению, кодирующие антитело, охватывают последовательности, которые содержат одно или большее количество добавлений, делеций или замен нуклеотидов по сравнению с описанной последовательностью, но которые кодируют антитело или фрагмент антитела, которое является по существу биоэквивалентным антителу или фрагменту антитела по данному изобретению. Другие биоэквивалентные антитела против НА гриппа и фрагменты антител описаны в WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1, полное содержание каждой из которых включено посредством ссылки. Другие биоэквивалентные антитела против SARS-CoV-2-S и фрагменты антител описаны, например, в патенте США № 10787501. Другие биоэквивалентные антитела против Эболы и фрагменты антител описаны, например, в патенте США № 11530255 и 9771414.

D. Биологические характеристики антител

[176] В целом, антигенсвязывающие домены Z, включая антитела, предложенные в данном документе, функционируют путем связывания с НА гриппа, SARS-CoV-2-S или вирусом Эбола. Например, в данном документе предложены антитела и антигенсвязывающие фрагменты антител, которые связывают НА гриппа, SARS-CoV-2-S или вирус Эбола (например, при 25°C или при 37°C) с K_D менее чем 10 нМ, как измерено с помощью биосенсора на основе биослойной интерферометрии в реальном времени (анализ Octet HTX) или с помощью поверхностного плазмонного резонанса. В определенных вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты связывают НА гриппа, SARS-CoV-2-S или Эболу с K_D менее чем около 5 нМ, менее чем около 2 нМ, менее чем около 1 нМ, менее чем около 500 пМ, менее чем 250 пМ или менее чем 100 пМ, как измерено с помощью поверхностного плазмонного резонанса, например, используя формат анализа, описанный в WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1, полное содержание каждой из которых включено посредством ссылки, или по существу аналогичный анализ.

[177] Неограничивающие примеры анализов *in vitro* для измерения активности связывания представлены в примере 3 в WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1, полное содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки. В примере 3 WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1 аффинность связывания и константа диссоциации антител против НА гриппа для НА гриппа определяли с помощью биосенсора на основе биослойной интерферометрии в реальном времени (анализ Octet

НТХ). В примере 4 и 5 WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1 использовали анализы нейтрализации, чтобы определить инфекционность различных штаммов группы 1 вируса гриппа. В примере 6 WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1 было показано, что определенные антитела опосредуют комплементзависимую цитотоксичность (complement dependent cytotoxicity - CDC) инфицированных вирусом клеток *in vitro*. В примерах 7 и 10 WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1 продемонстрировано, что определенные антитела по изобретению способны нейтрализовать инфекцию гриппа А *in vivo* при введении в профилактических или терапевтических целях.

[178] В одном варианте осуществления антигенсвязывающие домены Z, включая антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, для применения в ADC, предложенных в данном документе, являются такими, которые связывают HA гриппа, SARS-CoV-2-S или вирус Эбола с периодом полужизни диссоциации ($t_{1/2}$) более чем около 100 минут, как измерено с помощью поверхностного плазмонного резонанса при 25°C, например, используя формат анализа, описанный в WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1, полное содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки, или по существу аналогичный анализ. В определенных вариантах осуществления антитела или антигенсвязывающие фрагменты для применения в ADC, предложенных в данном документе, связывают HA гриппа, SARS-CoV-2-S или вирус Эболы с $t_{1/2}$ более чем около 200 минут, более чем около 300 минут, более чем около 400 минут, более чем около 500 минут, более чем около 600 минут, более чем около 700 минут, более чем около 800 минут, более чем около 900 минут или более чем около 1000 минут, как измерено с помощью поверхностного плазмонного резонанса при 25°C, например, используя формат анализа, описанный в WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1, полное содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки (например, формат захвата imAb или захвата антигена), или по существу аналогичный анализ. В одном варианте осуществления антитела и антигенсвязывающие фрагменты по данному изобретению связывают HA гриппа, SARS-CoV-2-S или Эболу с периодом полужизни диссоциации ($t_{1/2}$) более чем 300 минут. В одном варианте осуществления антитело по данному изобретению обеспечивает увеличение в около 1,5-2 раза периода полужизни диссоциации по сравнению с антителом сравнения, обозначенным Control I mAb, при тестировании у обезьян и мышей.

[179] В другом варианте осуществления антигенсвязывающие домены Z, включая антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, для применения в ADC, предложенных в настоящем документе, являются такими, которые нейтрализуют инфекционность вируса гриппа, SARS-CoV-2 или вируса Эбола в их клетках-хозяевах. В некоторых вариантах осуществления антитела демонстрируют эффективность нейтрализации против различных репрезентативных вирусов гриппа группы 1 (H1N1 A/Puerto Rico/08/1934; H5N1 A/Vietnam/1203/2004; H1N1 A California/07/2009; H1N1 A/Wisconsin/1933; H1N1 A/Brisbane/59/1997, H9N2 A Hong Kong/33982/2009, H13N6 a/gull/Maryland/704/1977 и H16N3 A/shorebird/Delaware/172/2006) с IC₅₀ в диапазоне от около 1,6 нМ до около 130 нМ

в анализе микронейтрализации, например, как показано в примерах 4 и 5 в WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1, полное содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки, или в по существу аналогичном анализе. В одном варианте осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые нейтрализуют инфекционность вируса гриппа для его клеток-хозяев, делают это с IC_{50} менее чем 130 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитела демонстрируют эффективность нейтрализации против любого из вариантов SARS-CoV-2, описанных в данном документе, включая, помимо прочего, варианты дельта и омикрон. В некоторых вариантах осуществления антитела демонстрируют эффективность нейтрализации против любого варианта вируса Эбола.

[180] В других вариантах осуществления антигенсвязывающие домены Z, включая антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, для применения в ADC, предложенных в настоящем документе, являются такими, которые опосредуют комплементзависимую цитотоксичность инфицированных клеток с EC_{50} в диапазоне от около 20 нМ до около 66 нМ (см. пример 6 в WO 2016/100807 or US 2016/0176953 A1, полное содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки). В одном варианте осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты опосредуют комплементзависимую цитотоксичность инфицированных клеток с EC_{50} менее чем 66 нМ.

[181] В другом варианте осуществления антитела против НА гриппа А для применения в ADC, предложенных в настоящем документе, демонстрируют увеличение защиты, или нейтрализации инфекции гриппа А *in vivo*, по сравнению с контрольным антителом. В другом варианте осуществления антитела против SARS-CoV-2-S для применения в ADC, предложенных в настоящем документе, демонстрируют увеличение защиты, или нейтрализации инфекции SARS-CoV-2 *in vivo*, по сравнению с контрольным антителом. В другом варианте осуществления антитела против Эболы для применения в ADC, предложенных в настоящем документе, демонстрируют увеличение защиты, или нейтрализации инфекции Эболы *in vivo*, по сравнению с контрольным антителом. Определенные антитела демонстрируют нейтрализацию при введении в профилактических (перед инфекцией) или терапевтических (после инфекции) целях; см. пример 7 в WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1, полное содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки.

[182] В одном варианте осуществления антигенсвязывающие домены Z, включая выделенные рекомбинантные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, специфически связываются с НА гриппа, причем антитело или его фрагмент демонстрирует две или более из следующих характеристик: (a) является полностью человеческим моноклональным антителом; (b) связывается с НА гриппа с константой диссоциации (K_D) менее чем 10^{-9} М, как измерено с помощью анализа поверхностного плазмонного резонанса; (c) демонстрирует период полужизни диссоциации ($t_{1/2}$) в диапазоне от около 370 минут до более чем 1000 минут; (d) демонстрирует нейтрализацию вирусов гриппа А группы 1, выбранных из H1N1, H5N1, H9N2, H13N6 и H16N3, с IC_{50} в

диапазоне от около 1,6 нМ до около 130 нМ; (е) демонстрирует комплемент-опосредованный лизис инфицированных вирусом гриппа клеток с EC_{50} от около 20 нМ до около 66 нМ; или (f) демонстрирует защиту, как измерено увеличением выживания в животной модели инфекции вируса гриппа при введении до или после вирусной инфекции.

[183] В одном варианте осуществления антигенсвязывающие домены Z, включая выделенные рекомбинантные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, специфически связываются с вариантом омикрон SARS-CoV-2, причем антитело или его фрагмент демонстрирует две или более из следующих характеристик: (a) является полностью человеческим моноклональным антителом; (b) связывается с вариантом омикрон SARS-CoV-2 с константой диссоциации (K_D) менее чем 10^{-9} М, как измерено с помощью анализа поверхностного плазмонного резонанса; (c) демонстрирует период полужизни диссоциации ($t_{1/2}$) в диапазоне от около 370 минут до более чем 1000 минут; (d) демонстрирует нейтрализацию вирусов SARS-CoV-2, выбранных из линий омикрона B.1.1.529, BA.1, BA.1.1, BA.2, BA.3, BA.4 и BA.5, с IC_{50} в диапазоне от около 1,6 нМ до около 130 нМ; (е) демонстрирует комплемент-опосредованный лизис инфицированных вирусом SARS-CoV-2 клеток с EC_{50} от около 20 нМ до около 66 нМ; или (f) демонстрирует защиту, как измерено увеличением выживания в животной модели инфекции SARS-CoV-2 при введении до или после вирусной инфекции.

[184] В одном варианте осуществления антигенсвязывающие домены Z, включая выделенные рекомбинантные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, специфически связываются с вирусом Эбола, причем антитело или его фрагмент демонстрирует две или более из следующих характеристик: (a) является полностью человеческим моноклональным антителом; (b) связывается с вирусом Эбола с константой диссоциации (K_D) менее чем 10^{-9} М, как измерено с помощью анализа поверхностного плазмонного резонанса; (c) демонстрирует период полужизни диссоциации ($t_{1/2}$) в диапазоне от около 370 минут до более чем 1000 минут; (d) демонстрирует нейтрализацию вирусов Эбола с IC_{50} в диапазоне от около 1,6 нМ до около 130 нМ; (е) демонстрирует комплемент-опосредованный лизис инфицированных вирусом Эбола клеток с EC_{50} от около 20 нМ до около 66 нМ; или (f) демонстрирует защиту, как измерено увеличением выживания в животной модели инфекции вируса Эбола при введении до или после вирусной инфекции.

[185] Антигенсвязывающие домены Z, включая антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, для применения в ADC по данному изобретению могут обладать двумя или большим количеством из упомянутых выше биологических характеристик или любой их комбинацией. Другие биологические характеристики антигенсвязывающих доменов Z, включая антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, для применения в ADC по данному изобретению станут очевидны специалисту в данной области техники из рассмотрения настоящего изобретения, включая рабочие примеры в данном документе.

Е. Аминокислотные и нуклеотидные последовательности варибельной

области тяжелой и легкой цепей

[186] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен Z, конъюгированный с линкером - полезной нагрузкой или полезной нагрузкой, может представлять собой антитело, которое нацелено на HA гриппа. Иллюстративные антитела против HA гриппа можно найти, например, в WO 2016/100807 или US 2016/0176953 A1, полное содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антитело против HA гриппа содержит определяющую комплементарность область (HCDR) 1 тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 20; HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 22; HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 24; определяющую комплементарность область (LCDR)-1 легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 28; LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 30; и LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 32. В некоторых вариантах осуществления антитело против HA гриппа содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую SEQ ID NO:18, и переменную область легкой цепи (LCVR), содержащую SEQ ID NO: 26. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления антитело против HA гриппа может быть получено с помощью сайт-направленного мутагенеза, чтобы вставить в сайт остаток глутамина, не приводя к потере функции или связывания антитела. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность ELQGP. В одном варианте осуществления антитело включает в себя две HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце каждой HCVR. В одном варианте осуществления антитело включает в себя две HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR, причем каждая пептидная метка независимо представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA или пентапептидную последовательность ELQGP.

[187] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен Z, конъюгированный с линкером - полезной нагрузкой или полезной нагрузкой, может представлять собой антитело, которое нацелено на SARS-CoV-2. Примеры антител против SARS-CoV-2 можно найти, например, в патенте США № 10787501, который полностью включен в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антитело против SARS-CoV-2 содержит определяющую комплементарность область (HCDR)-1 тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 315 или 335; HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 317 или 337; HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 319 или 339; определяющую комплементарность область (LCDR)-1 легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 323 или 343;

LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 325 или 345; и LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 327 или 347. В некоторых вариантах осуществления антитело против SARS-CoV-2 содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую SEQ ID NO: 313 или 333, и переменную область легкой цепи (LCVR), содержащую SEQ ID NO: 321 или 341. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления антитело против SARS-CoV-2 может быть получено с помощью сайт-направленного мутагенеза, чтобы вставить в сайт остаток глутамина, не приводя к потере функции или связывания антитела. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность ELQGP. В одном варианте осуществления антитело включает в себя две HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце каждой HCVR. В одном варианте осуществления антитело включает в себя две HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR, причем каждая пептидная метка независимо представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA или пентапептидную последовательность ELQGP.

[188] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен Z, конъюгированный с линкером - полезной нагрузкой или полезной нагрузкой, может представлять собой антитело, которое нацелено на вирус Эбола. Примеры антител против вируса Эбола можно найти, например, в патенте США №№ 9771414 и 11530255, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антитело против вируса Эболы содержит определяющую комплементарность область (HCDR)-1 тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 355; HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 357; HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 359; определяющую комплементарность область (LCDR)-1 легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 363; LCDR2, содержащую SEQ ID NO: WAS; и LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 365. В некоторых вариантах осуществления антитело против вируса Эболы содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую SEQ ID NO: 353 и переменную область легкой цепи (LCVR), содержащую SEQ ID NO: 361. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления антитело против SARS-CoV-2 может быть получено с помощью сайт-направленного мутагенеза, чтобы вставить в сайт остаток глутамина, не приводя к потере функции или связывания антитела. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR,

причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR. В одном варианте осуществления антитело включает в себя HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность ELQGP. В одном варианте осуществления антитело включает в себя две HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце каждой HCVR. В одном варианте осуществления антитело включает в себя две HCVR и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце HCVR, причем каждая пептидная метка независимо представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA или пентапептидную последовательность ELQGP.

[189] В таблице 1 представлены идентификаторы аминокислотных последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей и CDR выбранных антител против HA гриппа, SARS-CoV-2 и Эболы. Соответствующие идентификаторы последовательностей нуклеиновой кислоты представлены в таблице 2.

Таблица 1. Идентификаторы аминокислотных последовательностей

SEQ ID NO:								
Обозначение антитела	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb11723	2	4	6	8	10	12	14	16
mAb11729	18	20	22	24	26	28	30	32
mAb11820	34	36	38	40	42	44	46	48
mAb11829	50	52	54	56	58	60	62	64
mAb11829*	50	52	54	56	66	68	70	72
mAb11829	50	52	54	56	58	60	62	64
mAb11830	74	76	78	80	82	84	86	88
mAb11830*	74	76	78	80	66	68	70	72
mAb11903	90	92	94	96	98	100	102	104
mAb14571	106	108	110	112	114	116	118	120
mAb14571	106	108	110	112	114	116	118	120
mAb11704	122	124	126	128	130	132	134	136
mAb11711	138	140	142	144	146	148	150	152
mAb11714	154	156	158	160	162	164	166	168
mAb11717	170	172	174	176	178	180	182	184
mAb11724	186	188	190	192	194	196	198	200
mAb11727	202	204	206	208	210	212	214	216

mAb11730*	218	220	222	224	226	228	230	232
mAb11731*	234	236	238	240	66	68	70	72
mAb11734*	242	244	246	248	66	68	70	72
mAb11736*	250	252	254	256	66	68	70	72
mAb11742*	258	260	262	264	66	68	70	72
mAb11744*	266	268	270	272	66	68	70	72
mAb11745*	274	276	278	280	66	68	70	72
mAb11747*	282	284	286	288	66	68	70	72
mAb11748*	290	292	294	296	66	68	70	72
mAb5385	298	299	300	301	302	303	304	305
mAb10985**	313	315	317	319	321	323	325	327
mAb10987***	333	335	337	339	341	343	345	347
mAb 3471 ^A	353	355	357	359	361	363	_*****	365
4A8 ^B	370	-	-	-	372	-	-	-

* mAb содержит одну или большее количество мутаций в константной области

** HC представляет собой SIN: 329; LC представляет собой SIN: 331

*** HC представляет собой SIN: 349; LC представляет собой SIN: 351

**** Lcdr2 представляет собой WAS

^A HC представляет собой SEQ ID NO: 367, LC представляет собой SEQ ID NO: 369

^B константная HC hIgG1 представляет собой SEQ ID NO: 371, константная LC представляет собой SEQ ID NO: 373

[190] SEQ ID NO: 14 представляет собой Lys Ala Ser; SEQ ID NO: 30 представляет собой Ala Ala Ser; SEQ ID NO: 46 представляет собой Lys Ala Ser; SEQ ID NO: 62 представляет собой Ala Ala Ser; SEQ ID NO: 70 представляет собой Ala Ala Ser; SEQ ID NO: 86 представляет собой Thr Ala Ser; SEQ ID NO: 102 представляет собой Gly Ala Ser; SEQ ID NO: 118 представляет собой Lys Ile Ser; SEQ ID NO: 134 представляет собой Ala Thr Ser; SEQ ID NO: 150 представляет собой Ala Ala Ser; SEQ ID NO: 166 представляет собой Ala Ala Ser; SEQ ID NO: 182 представляет собой Ala Ala Ser; SEQ ID NO: 198 представляет собой Ala Ala Ser; SEQ ID NO: 214 представляет собой Lys Ala Ser; SEQ ID NO: 230 представляет собой Gly Ala Ser; SEQ ID NO: 304 представляет собой Gly Asn Ser; SEQ ID NO: 325 представляет собой Gly Asn Ser; SEQ ID NO: 345 представляет собой Asp Val Ser. Оставшиеся SEQ ID NO из таблицы 1 показаны в перечне последовательностей XML, включенном в данный документ посредством ссылки.

Таблица 2. Идентификаторы последовательностей нуклеиновых кислот

SEQ ID NO:

Обозначение антитела	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb11723	1	3	5	7	9	11	13	15
mAb11729	17	19	21	23	25	27	29	31
mAb11820	33	35	37	39	41	43	45	47
mAb11829	49	51	53	55	57	59	61	63
mAb11829*	49	51	53	55	65	67	69	71
mAb11829	49	51	53	55	57	59	61	63
mAb11830	73	75	77	79	81	83	85	87
mAb11830*	73	75	77	79	65	67	69	71
mAb11903	89	91	93	95	97	99	101	103
mAb14571	105	107	109	111	113	115	117	119
mAb14571	105	107	109	111	113	115	117	119
mAb11704	121	123	125	127	129	131	133	135
mAb11711	137	139	141	143	145	147	149	151
mAb11714	153	155	157	159	161	163	165	167
mAb11717	169	171	173	175	177	179	181	183
mAb11724	185	187	189	191	193	195	197	199
mAb11727	201	203	205	207	209	211	213	215
mAb11730*	217	219	221	223	225	227	229	231
mAb11731*	233	235	237	239	65	67	69	71
mAb11734*	241	243	245	247	65	67	69	71
mAb11736*	249	251	253	255	65	67	69	71
mAb11742*	257	259	261	263	65	67	69	71
mAb11744*	265	267	269	271	65	67	69	71
mAb11745*	273	275	277	279	65	67	69	71
mAb11747*	281	283	285	287	65	67	69	71
mAb11748*	289	291	293	295	65	67	69	71
mAb10985**	312	324	316	318	320	322	324	326
mAb10987****	332	334	336	338	340	342	344	346
mAb 3471 ^A	352	354	356	358	360	362	*****	364

* mAb содержит одну или большее количество мутаций в константной области.

** HC представляет собой SEQ ID NO: 328; LC представляет собой SEQ ID

NO: 330

***** НС представляет собой SEQ ID NO: 348; LC представляет собой SEQ ID**

NO: 350

****** LCDR2 представляет собой TGG GCA TCT**

^A НС представляет собой SEQ ID NO: 366, LC представляет собой SEQ ID NO: 368

[191] SEQ ID NO: 13 представляет собой aagcgtct; SEQ ID NO: 29 представляет собой gctgcatcc; SEQ ID NO: 45 представляет собой aagcgtct; SEQ ID NO: 61 представляет собой gctgcatcc; SEQ ID NO: 69 представляет собой gctgcatcc; SEQ ID NO: 85 представляет собой actgcatcc; SEQ ID NO: 101 представляет собой ggtgcatcc; SEQ ID NO: 117 представляет собой aagatttct; SEQ ID NO: 133 представляет собой gctacatcc; SEQ ID NO: 149 представляет собой gctgcatcc; SEQ ID NO: 165 представляет собой gctgcatcc; SEQ ID NO: 181 представляет собой gctgcatcc; SEQ ID NO: 197 представляет собой gctgcatcc; SEQ ID NO: 213 представляет собой aagcgtct; SEQ ID NO: 229 представляет собой ggtgcatcc; SEQ ID NO: 324 представляет собой ggtaacagc; SEQ ID NO: 344 представляет собой gatgtcagt. Оставшиеся SEQ ID NO из таблицы 2 показаны в перечне последовательностей XML, включенном в данный документ посредством ссылки.

[192] Последовательность НС hIgG1 4A8 представляет собой SEQ ID NO: 374; аминокислотная последовательность НС hIgG1-НС-Cterm-LLQGA представляет собой SEQ ID NO: 375 и последовательность нуклеиновой кислоты представляет собой SEQ ID NO: 376; а аминокислотная последовательность НС hIgG1-НС-Cterm-ELQRP представляет собой SEQ ID NO: 377 и последовательность нуклеиновой кислоты представляет собой SEQ ID NO: 378.

F. Конъюгация производных линкер - веррукарин А -L-X с антигенсвязывающими доменами Z

[193] Производные линкер - веррукарин А -L-X можно конъюгировать с антигенсвязывающим доменом Z, например, антителом или антигенсвязывающим фрагментом, посредством присоединения на конкретной аминокислоте в антителе или антигенсвязывающем фрагменте. В одном варианте осуществления присоединения аминокислоты, которые можно использовать в данном изобретении, включают в себя, например, лизин (см., например, US 5208020; US 2010/0129314; Hollander *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 2008, 19:358-361; WO 2005/089808; US 5714586; US 2013/0101546; и US 2012/0585592), цистеин (см., например, US 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; US 2013/0101546; и US 7750116), селеноцистеин (см., например, WO 2008/122039; и Hofer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2008, 105:12451-12456), формил глицин (см., например, Carrico *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3:321-322; Agarwal *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2013, 110:46-51, и Rabuka *et al.*, *Nat. Protocols*, 2012, 10:1052-1067), неприродные аминокислоты (см., например, WO 2013/068874, и WO 2012/166559), и кислые аминокислоты (см., например, WO 2012/05982). Линкеры L также можно конъюгировать с антигенсвязывающими доменами

Z посредством присоединения к углеводам (см., например, US 2008/0305497, WO 2014/065661, Ryan *et al.*, *Food & Agriculture Immunol.*, 2001, 13:127-130, и Jeger *et al.*, *Angew Chem Int Ed Engl.*, 2010, 49:9995-9997).

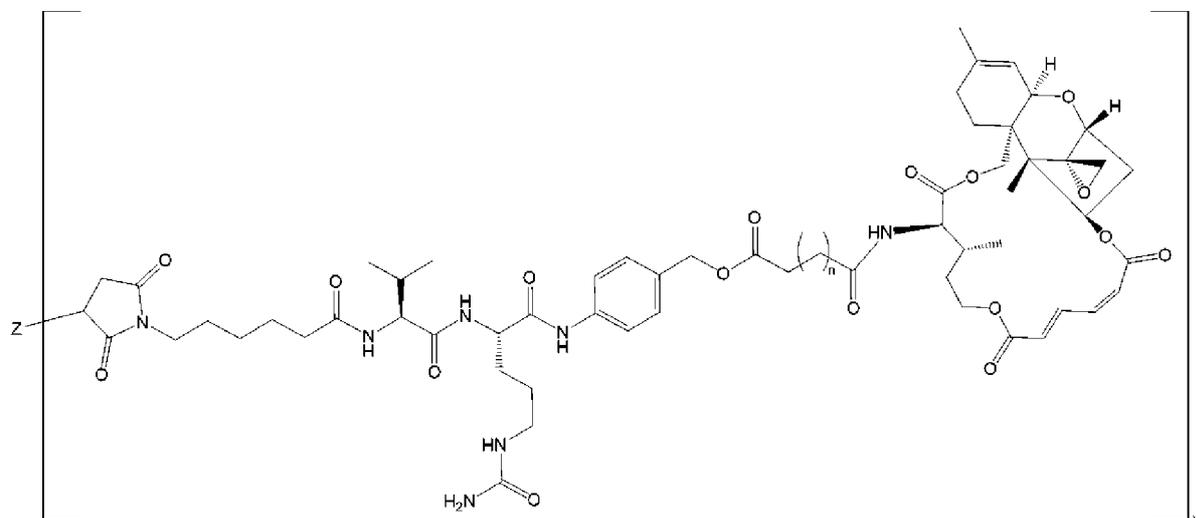
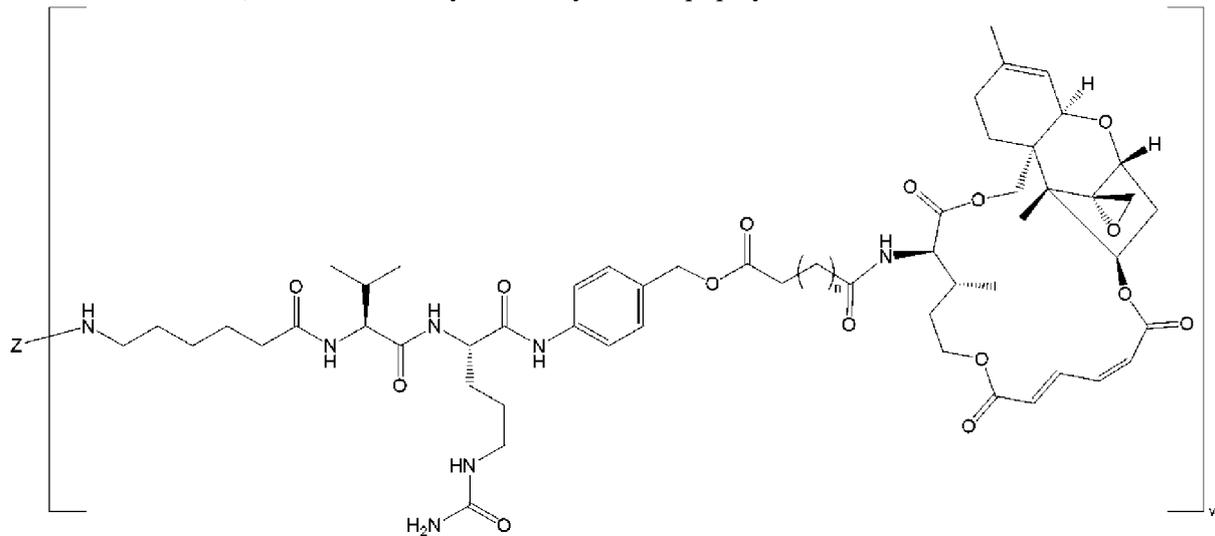
[194] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен Z представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связан с группой L производного линкер - веррукарин А -L-X посредством остатка лизина. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен Z представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связан с группой L производного линкер - веррукарин А -L-X посредством остатка цистеина.

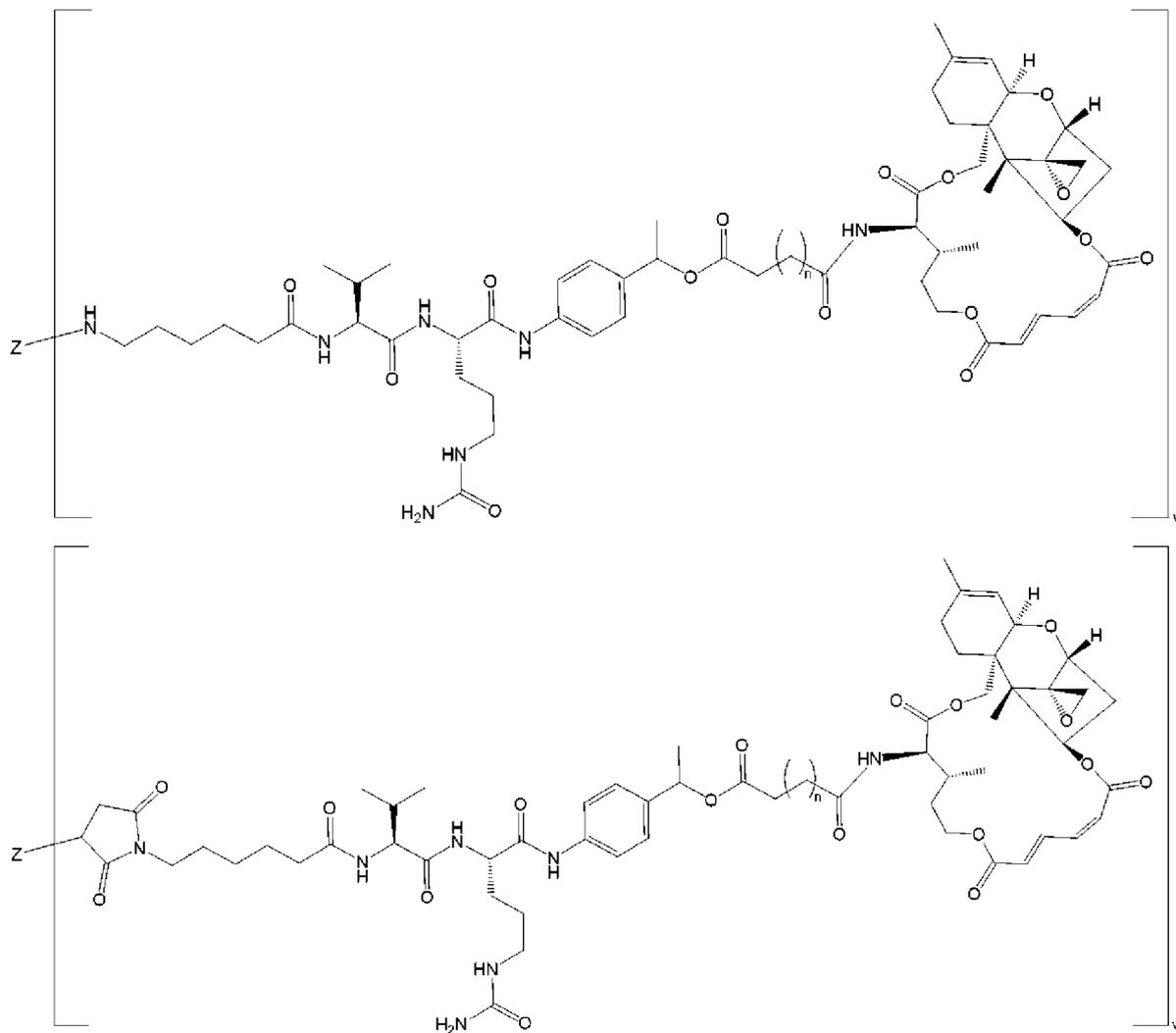
[195] В определенных вариантах осуществления группа L производного линкер - веррукарин А может быть конъюгирована с одним или большим количеством остатков глутамина в антигенсвязывающем домене Z посредством химико-ферментативной конъюгации на основе трансглутаминазы (см., например, Jeger *et al.*, *Angew Chem Int Ed Engl.*, 2010, 49:9995-9997 и Dennler *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 2014, 25:569-578). Например, в присутствии трансглутаминазы один или большее количество остатков глутамина антитела могут быть соединены с первичным аминсоединением. Первичные аминсоединения включают в себя, например, производные веррукарин А Х и производные линкер - веррукарин А -L-X, которые непосредственно обеспечивают конъюгаты лекарственное средство - антитело посредством опосредованного трансглутаминазой сочетания. Антитела, содержащие остатки глутамина, можно выделять из природных источников или конструировать так, чтобы они содержали один или большее количество остатков глутамина. Методики конструирования остатков глутамина в полипептидную цепь антитела (глутаминил-модифицированные антитела или антигенсвязывающие фрагменты) находятся в пределах компетенции специалистов в данной области техники. В определенных вариантах осуществления антитело является агликозилированным. В определенных вариантах осуществления антитело является гликозилированным.

[196] В определенных вариантах осуществления антитело, или глутаминил-модифицированное антитело, или антигенсвязывающий фрагмент содержит по меньшей мере один остаток глутамина в по меньшей мере одной последовательности полипептидной цепи. В определенных вариантах осуществления антитело, или глутаминил-модифицированное антитело, или антигенсвязывающий фрагмент содержит два полипептида тяжелой цепи, каждый с одним остатком Gln295 или Q295. В дополнительных вариантах осуществления антитело, или глутаминил-модифицированное антитело, или антигенсвязывающий фрагмент содержит один или большее количество остатков глутамина в сайте, отличном от тяжелой цепи 295. В данное изобретение включены антитела данного раздела, несущие мутацию(-и) N297Q, описанные в данном документе. В другом варианте осуществления антитела также могут быть конъюгированы в присутствии углеводов на N297 с помощью способов, описанных в Dickdiesser, *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 2020, 31, 1070–1076.

[197] В одном варианте осуществления антитело, или глутаминил-модифицированное антитело, или антигенсвязывающий фрагмент включает в себя тяжелую цепь антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце тяжелой цепи антитела. В одном варианте осуществления антитело, или глутаминил-модифицированное антитело, или антигенсвязывающий фрагмент включает в себя тяжелую цепь антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце тяжелой цепи антитела, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA или ELQGP. В одном варианте осуществления антитело, или глутаминил-модифицированное антитело, или антигенсвязывающий фрагмент включает в себя две тяжелые цепи антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце каждой тяжелой цепи антитела. В одном варианте осуществления антитело, или глутаминил-модифицированное антитело, или антигенсвязывающий фрагмент включает в себя две тяжелые цепи антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце каждой тяжелой цепи антитела, причем пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA или ELQGP.

[198] В другом варианте осуществления в данном документе предложены соединения ADC, имеющие одну из следующих формул:





где n , v и Z определены в данном документе.

VII. Синтез ADC

[199] Также в данном изобретении представлен способ синтеза ADC, представленных в данном документе. ADC, предложенные в данном документе, могут быть получены в соответствии со стандартными способами, хорошо известными специалистам в данной области техники.

[200] Например, антитела со сконструированным сайтом конъюгации на C-конце, например, полипептид или «Q-метка», могут вступать в реакцию с производным линкер - веррукарин А, имеющим первичный амин в присутствии трансглутаминазы, например, бактериальной трансглутаминазы, с получением ADC, предложенных в данном документе.

[201] Альтернативно, несконструированные антитела можно обработать избытком ТСЕР (трис(2-карбоксиил)фосфин) для восстановления межцепочечных дисульфидных связей. Восстановленное антитело затем вступает в реакцию с производным линкер - веррукарин А, имеющим малеимидогруппу, с получением ADC, предложенных в данном документе.

[202] В обоих случаях ADC можно очищать с помощью стандартных методик, например, эксклюзионной хроматографии в ФСБ/5% глицерине.

VIII. Фармацевтические композиции

[203] Фармацевтические композиции, предложенные в данном документе, содержат терапевтически эффективные количества одного или большего количества производных веррукарина А, производных линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

[204] Производные веррукарина А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC могут быть составлены в виде подходящих фармацевтических составов. Как правило, описанные выше производные веррукарина А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC составляют в фармацевтические композиции с использованием методик и процедур, хорошо известных в данной области техники (см., например, Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Seventh Edition 1999).

[205] В композициях эффективные концентрации одного или большего количества производных веррукарина А, производных линкер - веррукарин А и/или ADC или фармацевтически приемлемых солей смешаны с подходящим фармацевтическим носителем. В определенных вариантах осуществления концентрации производных веррукарина А, производных линкер - веррукарин А и/или ADC в композициях, при их введении, эффективны для доставки количества, которое лечит, предотвращает или облегчает один или большее количество симптомов и/или прогрессирующее заболевание или нарушения, описанных в данном документе.

[206] Как правило, композиции составлены для введения разовой дозы. Для составления композиции массовую долю производных веррукарина А, производных линкер - веррукарин А и/или ADC растворяют, суспендируют, диспергируют или другим образом смешивают в выбранном носителе в эффективной концентрации так, чтобы облегчить или смягчить заболевание, которое лечат. Фармацевтические носители, подходящие для введения производных веррукарина А, производных линкер - веррукарин А и/или ADC, представленных в данном документе, включают в себя любые такие носители, известные специалистам в данной области техники как подходящие для конкретного способа введения.

[207] В некоторых вариантах осуществления производное веррукарина А, производное линкер - веррукарин А и/или ADC включается в фармацевтически приемлемый носитель в количестве, достаточном для оказания терапевтически полезного эффекта при отсутствии нежелательных побочных эффектов у пациента, которого лечат. Терапевтически эффективную концентрацию можно определить эмпирически путем исследования соединений в *in vitro* и *in vivo* системах, описанных в данном документе и хорошо известных специалистам в данной области техники, и затем экстраполировать на основании этого для дозировки для людей. В некоторых вариантах осуществления производное веррукарина А, производное линкер - веррукарин А и/или ADC вводят способом для достижения терапевтически эффективной концентрации полезной нагрузки. В некоторых вариантах осуществления используют сопутствующую диагностику (см., например, работу Olsen D and Jorgensen J T, Front. Oncol., 2014 May 16, 4: 105, doi:

10.3389/fonC.2014.00105) для определения терапевтической концентрации и профиля безопасности производного веррукарина А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC у конкретных субъектов или групп субъектов.

[208] Концентрация производного веррукарина А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC в фармацевтической композиции будет зависеть от скоростей абсорбции, распределения в тканях, инактивации и экскреции производного веррукарина А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, физико-химических характеристик производного веррукарина А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, режима введения доз и вводимого количества, а также других факторов, известных специалистам в данной области техники. Например, доставляемого количества достаточно для облегчения одного или большего количества симптомов заболевания или нарушения, как указано в данном документе.

[209] Композиции можно вводить сразу или их можно разделять на несколько меньших доз, вводимых с интервалами времени. Следует понимать, что точная доза и продолжительность лечения являются функцией заболевания, которое лечат, и их можно определить эмпирически с применением известных протоколов испытаний или экстраполяцией из данных *in vivo* или *in vitro*. Следует отметить, что концентрация и значения дозы могут также варьироваться в зависимости от тяжести состояния, которое необходимо облегчить. Кроме того, следует понимать, что для любого конкретного субъекта конкретные режимы введения доз необходимо корректировать с течением времени в соответствии с индивидуальной потребностью и профессиональным суждением лица, вводящего композиции или контролирующего введение композиций.

[210] Композиции могут включать в себя другие активные соединения для получения желаемых комбинаций свойств. Предложенные в данном документе производные веррукарина А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC или их фармацевтически приемлемые соли, как описано в данном документе, также можно с преимуществом вводить в терапевтических или профилактических целях вместе с другим фармакологическим агентом, который известен в общей области техники как полезный для лечения одного или большего количества заболеваний или медицинских состояний, упомянутых в данном документе. Следует понимать, что такая комбинированная терапия составляет дополнительный аспект композиций и способов лечения, представленных в данном документе.

IX. Дозирование

[211] Производные веррукарина А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, а также фармацевтические композиции, предложенные в данном документе, можно дозировать в определенных терапевтически или профилактически эффективных количествах, с определенными временными интервалами, в определенных дозированных лекарственных формах и определенными способами введения доз, как описано ниже.

[212] Способы, предложенные в данном документе, охватывают собой лечение

пациента, независимо от возраста пациента, хотя некоторые заболевания или нарушения более распространены в определенных возрастных группах.

[213] Производные веррукарина А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, или их фармацевтически приемлемую соль можно вводить повторно, если необходимо, например, до тех пор, пока у субъекта стабилизируется заболевание или произойдет регресс заболевания, или пока у субъекта не начнется прогрессирование заболевания или неприемлемая токсичность.

[214] Производные веррукарина А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, или их фармацевтически приемлемую соль можно вводить один раз в сутки (1 р./сут.) или разделить на несколько ежедневных доз, например, для введения два раза в сутки (2 р./сут.), три раза в сутки (3 р./сут.) и четыре раза в сутки (4 р./сут.). В дополнение к этому, введение может быть непрерывным (т. е. ежедневным на протяжении нескольких суток подряд или каждые сутки), периодическим, например, циклами (т. е. включительно с сутками, неделями или месяцами отдыха без лекарственного препарата). При употреблении в контексте данного документа термин «ежедневно» означает, что терапевтическое соединение, такое как производное веррукарина А, производное линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, или их фармацевтически приемлемую соль вводят один раз или больше чем один раз в сутки, например, в течение некоторого периода времени. Термин «непрерывный» означает, что терапевтическое соединение, такое как производное веррукарина А, производное линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, или их фармацевтически приемлемую соль вводят ежедневно в течение непрерывного периода, составляющего по меньшей мере от 10 суток до 52 недель. При употреблении в контексте данного документа термин «периодический» или «периодически» предназначен для обозначения остановки и запуска с регулярными или нерегулярными интервалами. Например, периодическое введение производного веррукарина А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе, или их фармацевтически приемлемой соли представляет собой введение в течение от одних до шести суток в неделю, введение циклами (например, ежедневное введение в течение двух-восьми недель подряд, затем период отдыха без введения продолжительностью до одной недели) или введение через сутки. При употреблении в контексте данного документа термин «циклически повторяющееся» означает, что терапевтическое соединение, такое как производное веррукарина А, производное линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, или их фармацевтически приемлемую соль вводят ежедневно или непрерывно, но с периодом отдыха. В некоторых таких вариантах осуществления введение осуществляется один раз в сутки в течение от двух до шести дней, затем период отдыха без введения в течение от пяти до семи дней.

X. Способы лечения

[215] В другом варианте осуществления предложен способ лечения субъекта с

помощью производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе, или их фармацевтически приемлемой соли. В другом варианте осуществления предложен способ лечения субъекта с помощью фармацевтической композиции, содержащей производное веррукарин А, производное линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, или их фармацевтически приемлемую соль. Фармацевтическая композиция содержит любое из производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе, или их фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемый носитель.

[216] В одном варианте осуществления производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, являются пригодными для лечения вирусных заболеваний. В одном варианте осуществления производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, являются пригодными для лечения COVID-19. SARS-CoV-2, вирус, вызывающий COVID-19, продемонстрировал замечательную способность мутировать в дополнительные патогенные варианты, например, бета, дельта, омикрон и т.п. Производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, являются пригодными для лечения некоторых или всех таких вариантов SARS-CoV-2. Например, часть антитела ADC, предложенных в данном документе, может быть получена или модифицирована для преодоления вирусного сопротивления в случае, если вариант SARS-CoV-2 развивает устойчивость к существующей части антитела. В другом варианте осуществления производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, являются пригодными для лечения Эболы.

[217] В определенных вариантах осуществления производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, являются пригодными для лечения гриппа, включая грипп А, В и С. В другом варианте осуществления предложен способ лечения гриппа у субъекта путем введения производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе. В другом варианте осуществления предложен способ лечения гриппа А у субъекта путем введения производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе. В другом варианте осуществления предложен способ лечения гриппа А у субъекта путем введения производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе, причем грипп А представляет собой любой из подтипов H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 и H10; и N1, N2, N6, N7, N8 и N9. В другом варианте осуществления предложен способ лечения гриппа А H1N1 у субъекта путем введения производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе. В другом варианте осуществления предложен способ лечения гриппа А H3N2 у субъекта путем введения производного веррукарин А,

производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе.

[218] В определенных вариантах осуществления производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, являются пригодными для лечения COVID-19, включая COVID-19, вызванный SARS-CoV-2, включая варианты Альфа (линии В.1.1.7 и Q), Бета (линия В.1.351 и произошедшие от нее линии), Гамма (линия P.1 и произошедшие от нее линии), Дельта (линии В.1.617.2 и AY), Эпсилон (В.1.427 и В.1.429), Эта (В.1.525), Йота (В.1.526), Каппа (В.1.617.1), 1.617.3, Мю (В.1.621 и В.1.621.1), Дзета (P.2) и Омикрон (линии В.1.1.529, ВА.1, ВА.1.1, ВА.2, ВА.3, ВА.4 и ВА.5). В другом варианте осуществления предложен способ лечения COVID-19 у субъекта путем введения производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе. В другом варианте осуществления предложен способ лечения COVID-19, вызванного вариантом омикрон SARS-CoV-2, у субъекта путем введения производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе. В другом варианте осуществления предложен способ лечения COVID-19, вызванного вариантом омикрон SARS-CoV-2, у субъекта путем введения производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе, причем COVID-19, вызванный вариантом омикрон SARS-CoV-2, представляет собой любой из подтипов В.1.1.529, ВА.1, ВА.1.1, ВА.2, ВА.3, ВА.4 и ВА.5. В другом варианте осуществления предложен способ лечения COVID-19, вызванного вариантом Омикрон ВА.4 SARS-CoV-2, у субъекта путем введения производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе. В другом варианте осуществления предложен способ лечения COVID-19, вызванного вариантом Омикрон ВА.5 SARS-CoV-2, у субъекта путем введения производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе.

[219] В определенных вариантах осуществления производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, являются пригодными для лечения Эболы, включая облегчение или снижение тяжести по меньшей мере одного симптома инфекции вируса Эбола, включая, помимо прочего, лихорадку, головную боль, усталость, потерю аппетита, миалгию, диарею, рвоту, боль в животе, обезвоживание и необъяснимое кровотечение. В другом варианте осуществления производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, являются пригодными в профилактических целях для субъектов с риском развития инфекции вируса Эбола.

[220] В контексте способов лечения, предложенных в данном документе, производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC можно вводить в виде монотерапии (т. е. как единственный терапевтический агент) или в комбинации с одним или большим количеством дополнительных терапевтических агентов (примеры которых описаны в другом месте данного документа).

XI. Комбинированная терапия со вторым активным агентом

[221] В данном документе предложены композиции, содержащие любое из производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе, в комбинации с одним или большим количеством дополнительных терапевтически активных компонентов, и способы лечения, включающие в себя введение таких комбинаций субъекту.

[222] Производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, могут быть совместно составлены и/или вводятся в комбинации с одним или большим количеством дополнительных терапевтически активных компонентов, выбранных из осельтамивира, занамивира, перамивира, балоксавира, амантадина и римантадина. Производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, также могут быть совместно составлены и/или вводятся в комбинации с одним или большим количеством дополнительных терапевтически активных компонентов, выбранных из молнупиравира, ремдесивира, барицитиниба, нирматрелвира, ритонавира, бектеловимаба, тоцилизумаба, казиривиламаба и имдевимаба. В другом варианте осуществления производные веррукарин А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, могут быть совместно составлены и/или вводятся в комбинации с одним или большим количеством дополнительных терапевтически активных компонентов, выбранных из противовирусного лекарственного средства, противовоспалительного лекарственного средства (такого как кортикостероиды и нестероидные противовоспалительные средства), антитела против вируса Эбола, вакцины против вируса Эбола, ТКМ ebola (малые интерферирующие РНК, которые нацелены на вирусную РНК-полимеразу), бринцидофовира (CMX-001), фавипиравира (T-705), BCX-4430, AVI-7537 (антисмысловые фосфородиамидат-морфолиновые олигомеры, которые нацелены на ген VP24 вируса Эбола), интерферонов или любой другой паллиативной терапии для лечения инфекции вируса Эбола.

[223] Дополнительный(-е) терапевтически активный(-е) компонент(-ы), например, любой из перечисленных выше агентов или их производные, можно вводить непосредственно до, одновременно с или вскоре после введения производного веррукарин А, производного линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе. В другом варианте осуществления предложены фармацевтические композиции, в которых производное веррукарин А, производное линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, составлены совместно с одним или большим количеством дополнительных терапевтически активных компонентов, как описано в данном документе.

[224] При употреблении в контексте данного документа термин «в комбинации» включает в себя применение больше чем одного средства терапии (например, одного или большего количества профилактических и/или терапевтических агентов). Однако употребление термина «в комбинации» не ограничивает порядок, в котором средства

терапии (например, профилактические и/или терапевтические агенты) вводятся субъекту с заболеванием или нарушением. Первое средство терапии (например, производное веррукарина А, производное линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе) можно вводить до (например, за 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель до), одновременно или после (например, через 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель после) введения субъекту второго средства терапии (например, профилактического или терапевтического агента). В данном документе также предусмотрена тройная терапия.

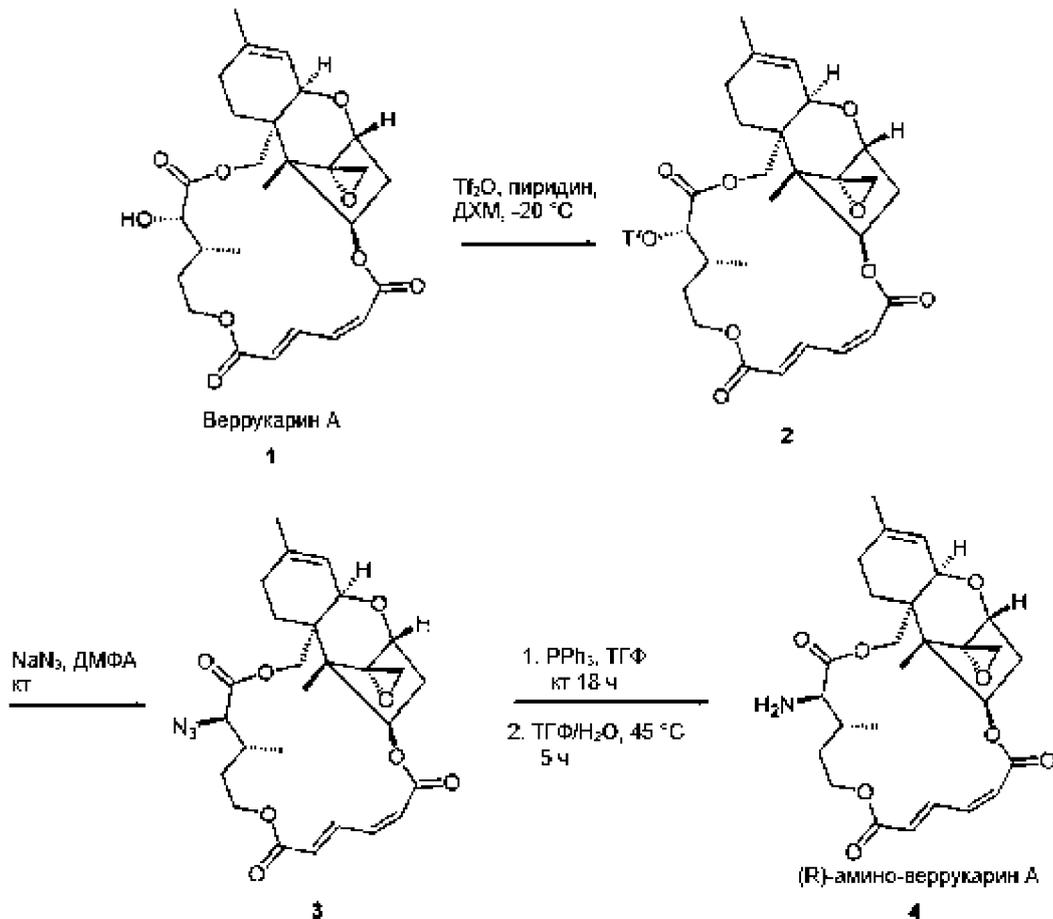
[225] Введение субъекту производных веррукарина А, производных линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенных в данном документе, или его производного, и одного или большего количества вторых активных агентов может происходить одновременно или последовательно с помощью одних и тех же или разных путей введения. Пригодность конкретного пути введения, используемого для конкретного активного агента, будет зависеть от самого активного агента (например, можно ли его вводить перорально без разложения перед попаданием в кровоток).

XII. Примеры

[226] Приведенные ниже примеры предназначены для иллюстрации определенных вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и не предназначены для ограничения объема данного изобретения.

[227] Производные веррукарина А, производные линкер - веррукарин А и/или ADC, предложенные в данном документе, были синтезированы, как указано ниже. Все использованные растворители были использованы в исходном виде и приобретены у компании Sigma Aldrich или Fisher Scientific. Спектры ^1H регистрировали на приборах ЯМР Varian Inova 300 МГц и 500 МГц NMR. Химические сдвиги (δ) приведены в м. д. по отношению к растворителям ЯМР, используемым для анализа, и обозначаются как с - синглет, д - дублет, т - триплет, кв. - квартет, дд - дублет дублетов, дт - дублет триплетов, дк - дублет квартетов и м - мультиплет. Постоянные спин-спинового взаимодействия (J) приведены в герцах (Гц). Хроматографическую чистоту определяли с помощью системы ЖХ/МС Agilent 1100, 1260 Infinity с квадруполом ЖХ/МС 6130 или с помощью систем ЖХ/МС серии 1200, используя аналитические колонки Chromolith[®] FastGradient RP-18e (50 × 2 мм, Merck KGaA, P/N 1.52007.0001) и следующий метод аналитической ВЭЖХ: объем инъекции 2-10 мкл; скорость потока: 1 мл/мин.; 5-95% ацетонитрил в воде в течение 4 мин.; диодно-матричный детектор Agilent при $\lambda=254$ нм; комнатная температура. Масс-спектрометрию низкого разрешения выполняли на системах Agilent, используя источники ионизации электрораспылением, и анализировали с помощью одноквадрупольного масс-детектора или масс-детектора с ионной ловушкой.

ПРИМЕР 1

[228] (*R*)-амино-веррукарин А: соединение 4

[229] **Соединение 2:** К раствору веррукарина А (**1**, 5 мг, 0,01 ммоль) в ДХМ (1,5 мл) при -20°C добавляли пиридин (0,3 мл) с последующим медленным добавлением ангидрида трифторметансульфокислоты (3,4 мкл, 0,02 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при такой же температуре в течение 1 часа, после чего реакция была завершена по данным анализа ЖХМС. Реакционную смесь разбавляли водой (2 мл) и экстрагировали ДХМ (3x2 мл). Объединенные органические слои промывали водой и сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением **2** в виде бесцветного масла, которое использовали на следующей стадии без очистки. МС (ИЭР, пол.): расчет. для $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{F}_3\text{O}_{11}\text{S}$, 634,2; получено 635,1 (M+H), 657,1 (M+Na).

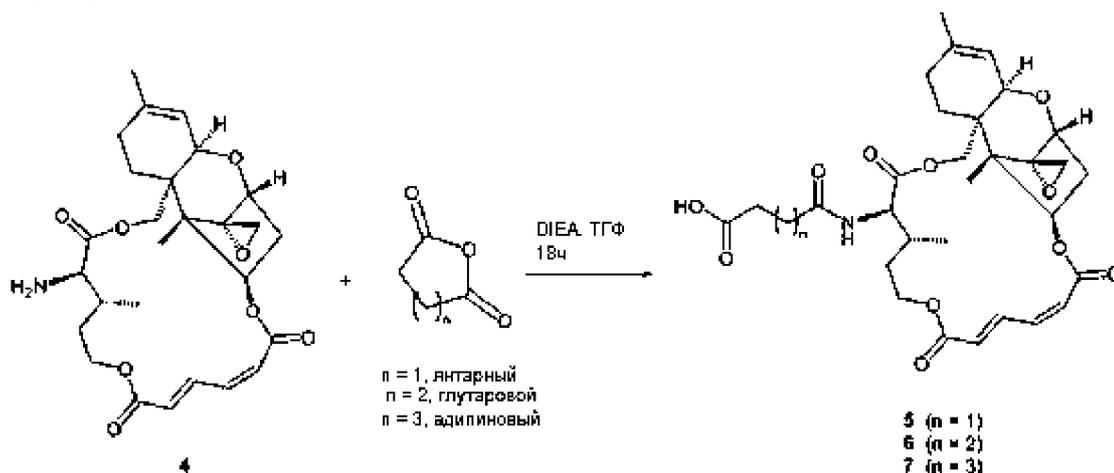
[230] **Соединение 3:** К раствору неочищенного **2** (0,01 ммоль) в безводном ДМФА (0,5 мл) при комнатной температуре добавляли азид натрия (2 мг, 0,03 ммоль) и смесь интенсивно перемешивали в течение 45 мин., после чего реакция была завершена по данным анализа ЖХМС. Реакционную смесь разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (3x3 мл). Объединенные органические слои сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаточные растворители удаляли под высоким вакуумом с получением **3**, которое использовали на следующей стадии без очистки. МС (ИЭР, пол.): расчет. для $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_8$, 527,2; получено 528,3 (M+H), 550,2 (M+Na).

[231] **Соединение 4:** К раствору ТГФ (1 мл) **3** (0,01 ммоль) добавляли

трифенилфосфин (6 мг, 0,02 ммоль) при комнатной температуре и реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов. Добавляли ДИ воду (0,2 мл) и смесь нагревали до 50°C в течение 8 часов. Реакционную смесь концентрировали *in vacuo* и остаток растворяли в ДМСО (0,6 мл) и вводили в ISCO (5,5 г C18 Aq, используя 5-95% MeCN/воду, которые оба имеют 0,05% AcOH) для очистки. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **4** в виде почти белого рыхлого твердого вещества (3,8 мг, 77% за три стадии). МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₂₇H₃₅NO₈, 501,2; получено 502,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,07 (дд, J=15,7, 11,7 Гц, 1H), 6,68 (т, J=11,4 Гц, 1H), 6,14 (д, J=11,1 Гц, 1H), 6,05 (д, J=15,7 Гц, 1H), 5,80 (дд, J=8,1, 4,0 Гц, 1H), 5,45 (д, J=4,6 Гц, 1H), 4,53-4,47 (м, 2H), 4,27 (д, J=12,3 Гц, 1H), 4,05 (тд, J=11,5, 3,2 Гц, 1H), 3,88 (д, J=5,1 Гц, 1H), 3,62 (д, J=5,1 Гц, 1H), 3,18 (д, J=9,1 Гц, 1H), 3,14 (д, J=3,9 Гц, 1H), 2,83 (д, J=3,9 Гц, 1H), 2,53 (дд, J=15,5, 8,2 Гц, 1H), 2,39-2,32 (м, 1H), 2,24-2,19 (м, 1H), 2,09-1,95 (м, 5H), 1,81-1,76 (м, 2H), 1,76 (с, 3H), 1,35-1,30 (м, 1H), 1,03 (д, J=6,7 Гц, 3H), 0,91 (с, 3H).

Пример 2

[232] Соединение **5**, соединение **6** и соединение **7**



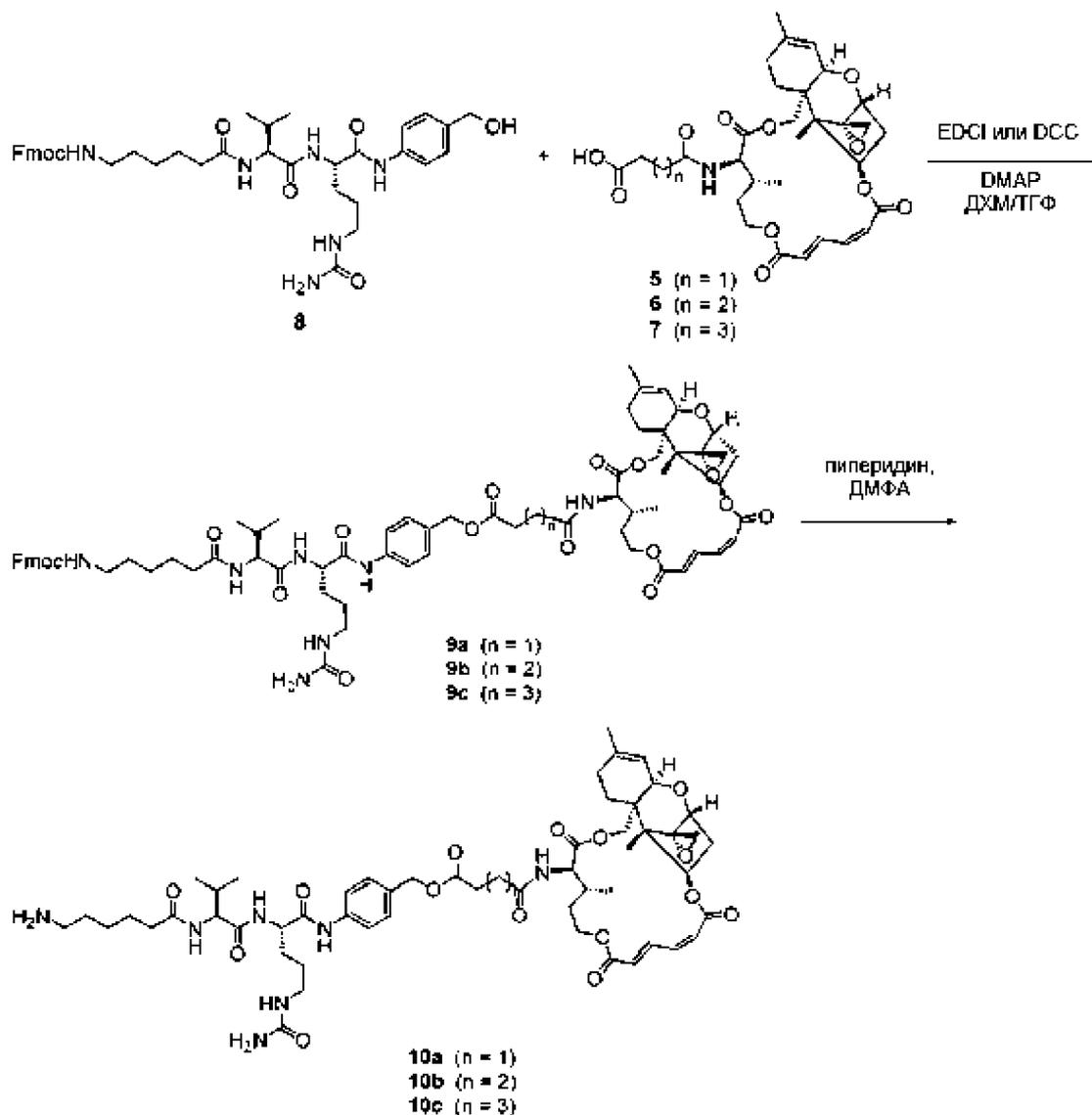
[233] **Соединение 5**: К раствору (*R*)-амино-веррукарина А (**4**, 7 мг, 0,014 ммоль) и янтарного ангидрида (2 мг, 0,02 ммоль) в безводном ТГФ (0,6 мл) при комнатной температуре добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (8 мкл, 0,042 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч. Летучие вещества удаляли *in vacuo*, а остаток растворяли в ДМФА (0,5 мл) и очищали Teledyne ISCO EZ prep на колонке 30×150 мм Gemini, используя градиентное элюирование 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **5** (7,8 мг, 93%) в виде почти белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₃₁H₃₉NO₁₁, 601,3; получено 602,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,15 (дд, J=15,7, 11,7 Гц, 1H), 6,70 (т, J=11,4 Гц, 1H), 6,15 (д, J=11,0 Гц, 1H), 6,07-6,04 (м, 2H), 5,80 (дд, J=7,9, 4,0 Гц, 1H), 5,41 (д, J=4,5 Гц, 1H), 4,50 (дт, J=10,8, 3,6 Гц, 1H), 4,40 (д, J=12,3 Гц, 1H), 4,33-4,28 (м, 2H), 4,01 (тд, J=11,2, 2,8 Гц, 1H), 3,86 (д, J=5,0 Гц, 1H), 3,59 (д, J=5,0 Гц, 1H), 3,13 (д, J=3,8 Гц, 1H), 2,83 (д, J=3,8 Гц, 1H), 2,75-2,64 (м, 2H), 2,56-2,42 (м, 2H), 2,21 (тд, J=9,9, 5,2 Гц, 2H), 2,02-1,88 (м, 5H), 1,73 (с, 3H), 1,68-1,63 (м, 1H), 1,49-1,44 (м, 1H), 1,08 (д, J=6,7 Гц, 3H), 0,85 (с, 3H).

[234] **Соединение 6:** Используя аналогичный способ и масштаб, что и для соединения **5**, получали соединения **6** с применением глутарового ангидрида. Фактический выход составил 8,0 мг (выход 94%). МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{32}H_{41}NO_{11}$, 615,3; получено 616,3 (М+Н). 1H -ЯМР (500 МГц; $CDCl_3$): δ 8,14 (дд, $J=15,7$, 11,7 Гц, 1Н), 6,70 (т, $J=11,3$ Гц, 1Н), 6,15 (д, $J=11,0$ Гц, 1Н), 6,06 (д, $J=15,8$ Гц, 1Н), 5,85 (д, $J=8,2$ Гц, 1Н), 5,79 (дд, $J=7,7$, 3,8 Гц, 1Н), 5,41 (д, $J=4,6$ Гц, 1Н), 4,49-4,46 (м, 1Н), 4,39 (д, $J=12,4$ Гц, 1Н), 4,30 (к, $J=7,6$ Гц, 2Н), 4,02 (тд, $J=11,2$, 2,0 Гц, 1Н), 3,86 (д, $J=5,0$ Гц, 1Н), 3,58 (д, $J=5,0$ Гц, 1Н), 3,12 (д, $J=3,8$ Гц, 1Н), 2,84 (д, $J=3,7$ Гц, 1Н), 2,53-2,40 (м, 3Н), 2,29 (т, $J=7,3$ Гц, 2Н), 2,21 (тд, $J=9,9$, 5,8 Гц, 2Н), 1,99-1,88 (м, 6Н), 1,73 (с, 3Н), 1,65 (д, $J=6,2$ Гц, 1Н), 1,49 (т, $J=12,6$ Гц, 1Н), 1,09 (д, $J=6,5$ Гц, 3Н), 0,84 (с, 3Н).

[235] **Соединение 7:** Используя аналогичный способ и масштаб, что и для соединения **5**, получали соединения **7** с применением адипинового ангидрида. Фактический выход составил 5,6 мг (выход 63%). МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{33}H_{43}NO_{11}$, 629,3; получено 630,3 (М+Н). 1H -ЯМР (500 МГц; $CDCl_3$): δ 8,16 (дд, $J=15,6$, 11,7 Гц, 1Н), 6,70 (т, $J=11,4$ Гц, 1Н), 6,15 (д, $J=11,1$ Гц, 1Н), 6,06 (д, $J=15,7$ Гц, 1Н), 5,88 (д, $J=8,0$ Гц, 1Н), 5,80 (дд, $J=8,2$, 4,0 Гц, 1Н), 5,41 (д, $J=5,1$ Гц, 1Н), 4,52 (дт, $J=11,0$, 3,9 Гц, 1Н), 4,40 (д, $J=12,3$ Гц, 1Н), 4,30 (т, $J=10,2$ Гц, 2Н), 4,03 (тд, $J=11,4$, 3,0 Гц, 1Н), 3,86 (д, $J=5,0$ Гц, 1Н), 3,58 (д, $J=5,2$ Гц, 1Н), 3,13 (д, $J=3,8$ Гц, 1Н), 2,83 (д, $J=3,9$ Гц, 1Н), 2,51 (дд, $J=15,5$, 8,1 Гц, 1Н), 2,38-2,36 (м, 2Н), 2,23-2,18 (м, 4Н), 2,06-1,87 (м, 5Н), 1,73 (с, 3Н), 1,68-1,62 (м, 4Н), 1,47 (дд, $J=14,0$, 11,1 Гц, 1Н), 1,10 (д, $J=6,7$ Гц, 3Н), 0,83 (с, 3Н).

Пример 3

[236] **Соединение 10а, 10б и 10с**



[237] **Соединение 9a:** К смеси соединения **8** (9 мг, 0,011 ммоль) и соединения **5** (4,5 мг, 0,007 ммоль) в ТГФ/ДХМ (1+1 мл) добавляли EDCI (2,3 мг, 0,011 ммоль) и DMAP (0,5 мг, 0,004 ммоль) и реакцию смесь перемешивали в течение 18 ч. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и остаток очищали на колонке ISCO 30 g C18Aq, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **9b** (7 мг, 77%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₇₀H₈₇N₇O₁₇, 1297,6; получено 1298,5 (M+H).

[238] **Соединение 9b:** Соединение **9b** получали, придерживаясь общей процедуры с использованием кислоты **6**. Выход=76%. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₇₁H₈₉N₇O₁₇, 1311,6; получено 1312,5 (M+H).

[239] **Соединение 9c:** Соединение **9c** получали, придерживаясь общей процедуры с использованием кислоты **7**. Выход=71%. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₇₂H₉₁N₇O₁₇, 1325,6; получено 1326,5 (M+H).

[240] **Соединение 10a:** К раствору соединения **9a** (7 мг, 0,0053 ммоль) в ДМФА (0,8

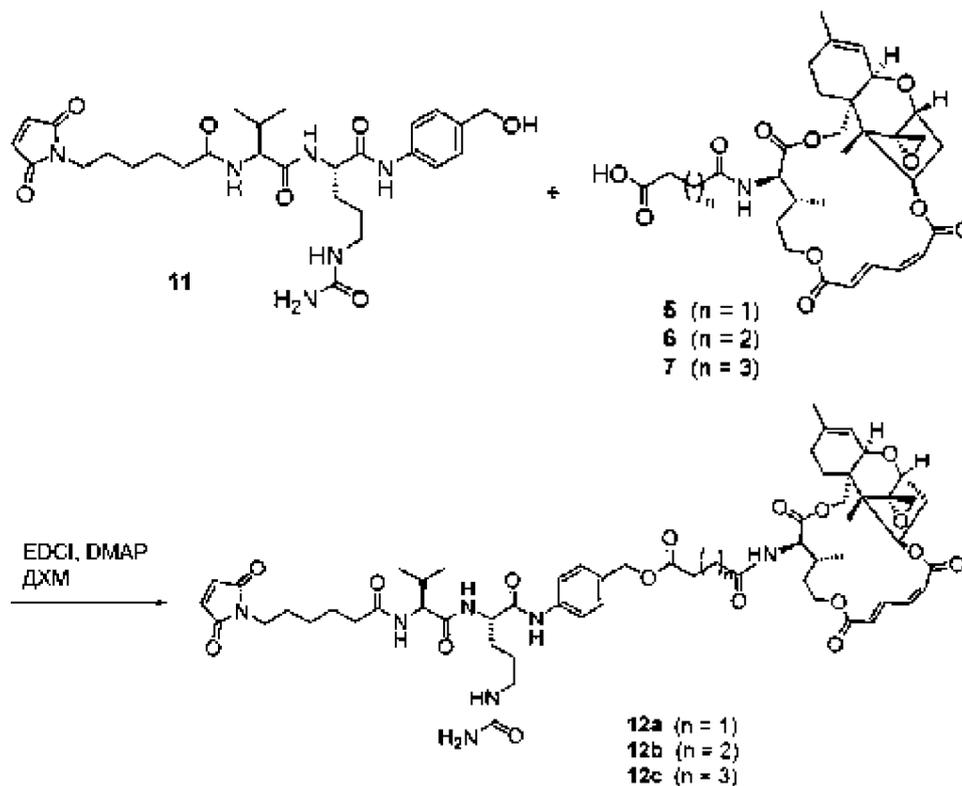
мл) добавляли 5% пиперидин в ДМФА (0,5 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 60 мин, затем очищали на колонке 30×150 мм Gemini, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **10a** (4,8 мг, 84%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₅₅H₇₇N₇O₁₅, 1075,5; получено 1076,4 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; ДМСО-d₆): δ 10,01 (с, 1H), 8,22 (д, J=5,8 Гц, 1H), 8,16-8,13 (м, 1H), 7,96-7,91 (м, 1H), 7,88-7,83 (м, 1H), 7,59 (д, J=7,9 Гц, 2H), 7,27 (д, J=8,1 Гц, 2H), 6,87 (т, J=11,3 Гц, 1H), 6,24 (т, J=12,3 Гц, 2H), 6,04-6,00 (м, 1H), 5,76-5,74 (м, 1H), 5,41 (с, 2H), 5,26 (д, J=3,4 Гц, 1H), 5,00 (с, 2H), 4,40-4,35 (м, 2H), 4,18-4,11 (м, 2H), 4,02-3,99 (м, 1H), 3,95-3,90 (м, 1H), 3,74-3,71 (м, 1H), 3,68-3,65 (м, 2H), 3,03-2,94 (м, 5H), 2,74 (д, J=3,3 Гц, 1H), 2,43-2,40 (м, 2H), 2,19-2,07 (м, 4H), 1,98-1,92 (м, 2H), 1,82 (с, 2H), 1,65-1,57 (м, 8H), 1,47 (дд, J=4,2, 3,1 Гц, 3H), 1,36-1,34 (м, 3H), 1,24-1,23 (м, 4H), 0,91 (д, J=6,4 Гц, 2H), 0,83 (дд, J=11,9, 6,8 Гц, 7H), 0,74 (с, 3H).

[241] **Соединение 10b** получали из соединения **9b**, следуя аналогичной процедуре. Выход=68%. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₅₆H₇₉N₇O₁₅, 1089,6; получено 1090,6 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; ДМСО-d₆): δ 10,01 (с, 1H), 8,15 (д, J=6,3 Гц, 1H), 7,94 (ддд, J=15,6, 11,6, 0,9 Гц, 1H), 7,61 (д, J=8,6 Гц, 2H), 7,27 (д, J=8,6 Гц, 2H), 6,87 (т, J=11,7 Гц, 1H), 6,24 (дд, J=13,3, 11,1 Гц, 2H), 5,76 (дд, J=8,0, 3,7 Гц, 1H), 5,44-5,43 (м, 1H), 5,27 (д, J=2,3 Гц, 1H), 5,01 (с, 2H), 4,42-4,38 (м, 1H), 4,33-4,31 (м, 1H), 4,11 (д, J=12,2 Гц, 2H), 4,02 (д, J=12,3 Гц, 1H), 3,92 (тд, J=11,3, 4,2 Гц, 1H), 3,73 (дд, J=10,0, 6,1 Гц, 1H), 3,68 (д, J=5,2 Гц, 1H), 3,65 (д, J=5,3 Гц, 1H), 3,02 (д, J=4,0 Гц, 1H), 2,99-2,93 (м, 3H), 2,74 (д, J=4,1 Гц, 1H), 2,63 (дт, J=3,7, 1,9 Гц, 1H), 2,60 (дд, J=14,4, 7,1 Гц, 2H), 2,43-2,39 (м, 2H), 2,37-2,33 (м, 4H), 2,21-2,16 (м, 5H), 2,01-1,92 (м, 2H), 1,87 (с, 3H), 1,74-1,71 (м, 3H), 1,65 (м, 2H), 1,60 (с, 3H), 1,50-1,36 (м, 7H), 1,28-1,23 (м, 4H), 0,91 (д, J=6,6 Гц, 3H), 0,84 (т, J=6,4 Гц, 6H), 0,74 (с, 3H).

[242] **Соединение 10c** получали из соединения **9c**, следуя аналогичной процедуре. Выход=56%. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₅₇H₈₁N₇O₁₅, 1103,6; получено 1104,4 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; ДМСО-d₆): δ 10,00 (с, 1H), 8,10 (д, J=6,3 Гц, 1H), 7,96-7,90 (м, 2H), 7,59 (д, J=8,4 Гц, 2H), 7,27 (д, J=8,6 Гц, 2H), 6,87 (т, J=11,5 Гц, 1H), 6,61-6,59 (м, 1H), 6,24 (т, J=12,6 Гц, 3H), 5,77-5,74 (м, 1H), 5,42-5,41 (м, 2H), 5,28-5,27 (м, 1H), 5,00 (с, 2H), 4,41-4,33 (м, 3H), 4,13-4,10 (м, 2H), 4,01 (д, J=12,4 Гц, 1H), 3,95-3,90 (м, 2H), 3,74 (дд, J=9,7, 6,3 Гц, 1H), 3,68-3,65 (м, 2H), 3,01 (д, J=4,0 Гц, 2H), 2,99-2,94 (м, 2H), 2,73 (д, J=3,9 Гц, 1H), 2,63 (т, J=1,6 Гц, 1H), 2,45-2,40 (м, 1H), 2,35-2,32 (м, 3H), 2,20-2,14 (м, 5H), 1,99-1,92 (м, 2H), 1,84 (с, 1H), 1,78-1,72 (м, 1H), 1,66-1,61 (м, 4H), 1,50-1,46 (м, 4H), 1,39-1,34 (м, 3H), 0,91 (д, J=6,6 Гц, 3H), 0,85-0,82 (м, 6H), 0,74 (с, 3H).

Пример 4

[243] **Соединение 12a, 12b и 12c**



[244] **Соединение 12a:** Соединение **12a** получали из кислоты **5** и спирта **11** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **9a**. Выход=13% после 2 очисток. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{59}H_{77}N_7O_{17}$, 1155,5; получено 1156,3 (M+H). 1H ЯМР (500 МГц; ДМСО- d_6) δ 10,03 (с, 1H), 8,23-8,20 (м, 1H), 8,15-8,12 (м, 1H), 7,93 (дд, $J=12,0$, 15,5 Гц, 1H), 7,82 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 7,58 (д, $J=8,5$ Гц, 2H), 7,26 (д, $J=8,5$ Гц, 2H), 7,16 (ушир. м, 3H), 6,99 (с, 2H), 6,86 (т, $J=11,5$ Гц, 1H), 6,26-6,21 (м, 2H), 6,01-5,98 (ушир. м, 1H), 5,76-5,74 (м, 1H), 5,42-5,38 (м, 2H), 5,26 (д, $J=4,5$ Гц, 1H), 5,02-4,97 (м, 2H), 4,42-4,34 (м, 2H), 4,17 (дд, $J=8,5$, 7,0 Гц, 1H), 4,12 (д, $J=12,5$ Гц, 1H), 4,00 (д, $J=12,5$, 1H), 3,95-3,89 (м, 1H), 3,73 (дд, $J=6,5$, 10,0 Гц, 1H), 3,67 (д, $J=5,0$ Гц, 2H), 3,03 (д, $J=4,0$ Гц, 2H), 3,00-2,91 (м, 1H) 2,73 (д, $J=4,0$ Гц, 1H), 2,62 (дт, $J=3,5$, 2,0 Гц, 1H), 2,45-2,38 (м, 1H), 2,35 (м, 2H), 2,20-2,06 (м, 2H), 1,98-1,91 (м, 2H), 1,77-1,58 (м, 4H), 1,58-1,52 (м, 9H), 1,47-1,40 (м, 2H), 1,37-1,30 (м, 1H), 1,30-1,08 (м, 4H), 0,90 (д, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,82 (дд, $J=15,5$, 7,0 Гц, 6H), 0,74 (с, 3H).

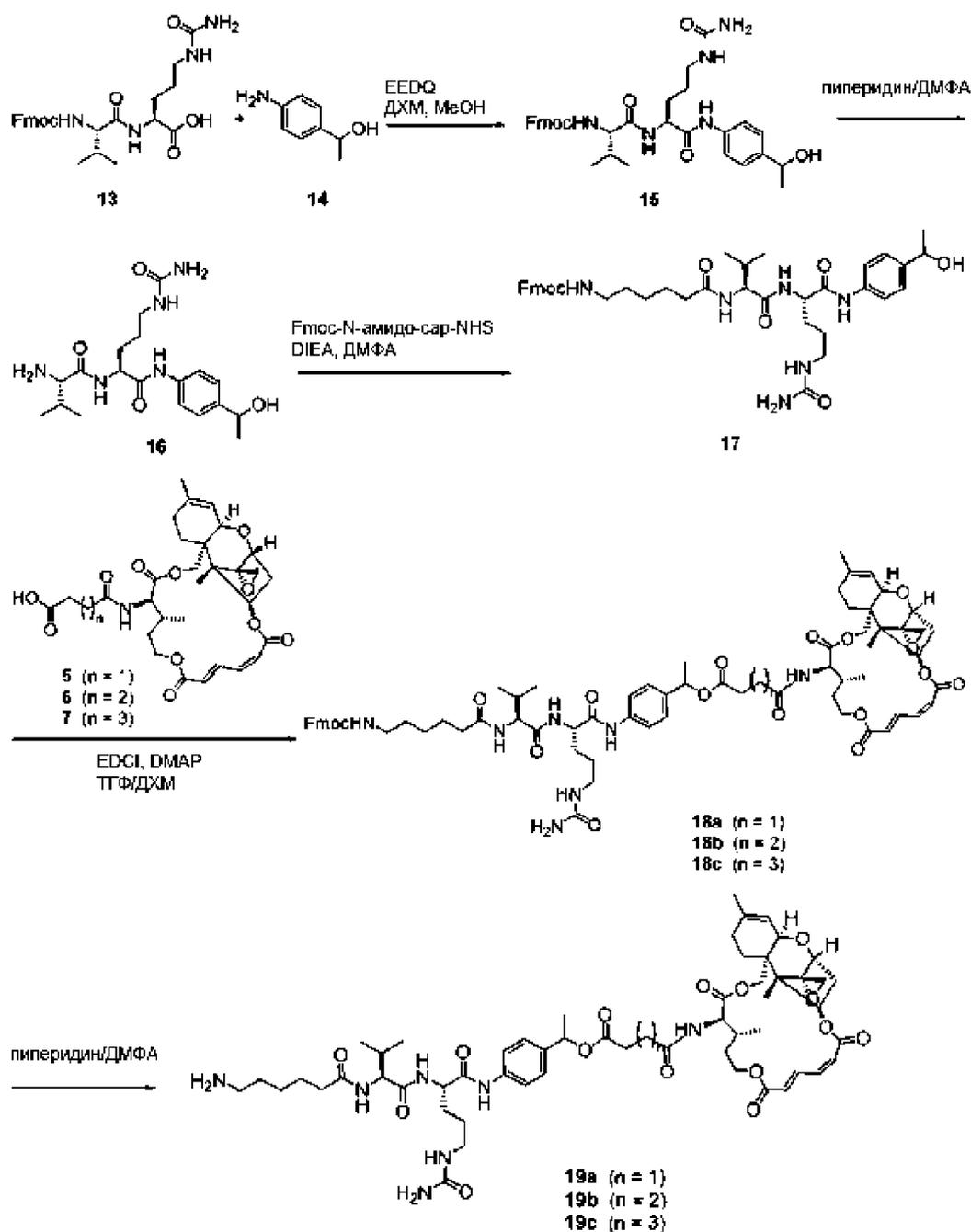
[245] **Соединение 12b:** Соединение **12b** получали из кислоты **6** и спирта **11** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **9a**. Выход=41%. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{60}H_{79}N_7O_{17}$, 1169,6; получено 1170,3 (M+H). 1H -ЯМР (500 МГц; ДМСО- d_6): δ 9,98 (с, 1H), 8,15 (д, $J=6,2$ Гц, 1H), 8,06 (д, $J=7,4$ Гц, 1H), 7,94 (ддд, $J=15,6$, 11,7, 0,9 Гц, 1H), 7,78 (д, $J=8,6$ Гц, 1H), 7,58 (д, $J=8,6$ Гц, 2H), 7,27 (д, $J=8,6$ Гц, 2H), 6,99 (с, 2H), 6,87 (т, $J=11,5$ Гц, 1H), 6,54-6,48 (м, 3H), 6,24 (т, $J=12,4$ Гц, 2H), 5,95 (т, $J=5,6$ Гц, 1H), 5,76 (дд, $J=8,1$, 3,8 Гц, 1H), 5,38 (дд, $J=1,6$, 1,1 Гц, 2H), 5,27 (д, $J=4,7$ Гц, 1H), 5,00 (с, 2H), 4,42-4,34 (м, 2H), 4,18 (дд, $J=8,6$, 6,9 Гц, 1H), 4,11 (д, $J=12,2$ Гц, 1H), 4,02 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 3,92 (тд, $J=11,4$, 4,2 Гц, 1H), 3,73 (дд, $J=9,9$, 6,2 Гц, 1H), 3,67 (дд, $J=11,1$, 5,1 Гц, 2H), 3,01 (дд, $J=12,7$, 5,4 Гц, 2H), 2,93 (дт, $J=13,0$, 6,5 Гц, 1H), 2,74 (д, $J=4,0$ Гц, 1H), 2,63 (дт, $J=3,6$, 1,8

Гц, 1Н), 2,42 (дд, $J=15,1$, 8,2 Гц, 1Н), 2,35 (тд, $J=7,5$, 2,8 Гц, 2Н), 2,18 (дт, $J=11,4$, 7,1 Гц, 4Н), 2,13-2,06 (м, 2Н), 1,98-1,92 (м, 2Н), 1,90 (д, $J=9,2$ Гц, 1Н), 1,73 (дд, $J=14,1$, 8,3 Гц, 3Н), 1,67-1,56 (м, 6Н), 1,47 (дк, $J=14,8$, 7,4 Гц, 4Н), 1,27-1,23 (м, 2Н), 1,17 (дт, $J=15,3$, 7,7 Гц, 2Н), 0,91 (д, $J=6,6$ Гц, 3Н), 0,82 (дд, $J=15,5$, 6,8 Гц, 6Н), 0,74 (с, 3Н).

[246] **Соединение 12с**: Соединение **12с** получали из кислоты **7** и спирта **11** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **9а**. Выход=23%. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{61}H_{81}N_7O_{17}$, 1183,6; получено 1184,4 (М+Н). 1H ЯМР (500 МГц; ДМСО-d₆) δ 10,00 (с, 1Н), 8,12-8,07 (м, 2Н), 7,93 (дд, $J=12,5$, 16 Гц, 1Н), 7,83-7,78 (ушир. с, 1Н), 7,58 (д, $J=8,0$ Гц, 2Н), 7,26 (д, $J=8,0$ Гц, 2Н), 6,98 (с, 2Н), 6,86 (т, $J=11,5$ Гц, 1Н), 6,82-6,72 (ушир. с, 1Н), 6,26-6,20 (м, 2Н), 6,00-5,96 (ушир. с, 1Н), 5,77-5,73 (м, 1Н), 5,42-5,37 (м, 2Н), 5,35-5,30 (ушир. с, 1Н), 5,29-5,26 (м, 1Н), 5,01-4,97 (ушир. с, 2Н), 4,40-4,33 (м, 2Н), 4,18-4,15 (м, 1Н), 4,11 (д, $J=12,5$ Гц, 1Н), 4,03-3,98 (м, 1Н), 3,95-3,89 (м, 1Н), 3,74 (дд, $J=6,5$, 10,0 Гц, 1Н), 3,67 (д, $J=4,5$ Гц, 1Н), 3,66-3,63 (м, 1Н), 3,05-2,87 (м, 4Н), 2,73 (д, $J=3,5$ Гц, 1Н), 2,63-2,58 (м, 1Н), 2,46-2,39 (м, 2Н), 2,37-2,30 (м, 2Н), 2,22-2,05 (м, 4Н), 1,99-1,91 (м, 2Н), 1,81-1,69 (м, 1Н), 1,69-1,63 (м, 3Н), 1,63-1,54 (м, 4Н), 1,53-1,37 (м, 8Н), 1,37-1,31 (м, 1Н), 1,28-1,13 (м, 4Н), 0,90 (д, $J=6,5$ Гц, 3Н), 0,82 (дд, $J=7$, 15 Гц, 6Н), 0,73 (с, 3Н).

Пример 5

[247] **Соединение 19а, 19б, 19с**



[248] **Соединение 15**: К раствору Fmoc-Val-Cit-OH (**13**, 497 мг, 1,0 ммоль) и 1-(4-аминофенил)этан-1-ола (**14**, 274 мг, 2,0 ммоль) в ДХМ (4,5 мл) и MeOH (2 мл) добавляли EEDQ (495 мг, 2,0 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч. при комнатной температуре. Реакционная смесь превратилась в камедь. Добавляли дополнительный ДХМ (4,5 мл) и MeOH (2 мл) и смесь перемешивали в течение ночи. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и остаток последовательно промывали диэтиловым эфиром (5 мл), этилацетатом (5 мл) и диэтиловым эфиром (5 мл). Остаток сушили в высоком вакууме с получением соединения **15** (585 мг, 95%) в виде светло-желтого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{34}H_{41}N_5O_6$, 615,3; получено 616,3 (M+H).

[249] **Соединение 16**: К раствору соединения **15** (150 мг, 0,244 ммоль) в ДМФА (1

мл) добавляли 5% пиперидиновый раствор в ДМФА (1 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 45 мин при комнатной температуре. В результате очистки на колонке Teledyne ISCO 50 g C18 Aq, используя градиентное элюирование 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH), получали соединение **16** (103 мг, 94%) в виде его ацетатной соли. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₁₉H₃₁N₅O₄, 393,2; получено 394,3 (M+H).

[250] **Соединение 17**: К раствору соединения **16** (30 мг, 0,076 ммоль) и Fmoc-N-амидо-сар-NHS (34 мг, 0,076 ммоль) в ДМФА добавляли DIEA (20 мкл, 0,114 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 ч. В результате очистки на колонке Teledyne ISCO 50 g C18 Aq, используя градиентное элюирование 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH) соединение **17** (20 мг, 36%). МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₄₀H₅₂N₆O₇, 728,4; получено 729,3 (M+H).

[251] **Соединение 18a**: Соединение **18a** получали из кислоты **5** и спирта **17** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **9a**. Выход=47%, МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₇₁H₈₉N₇O₁₇, 1311,6; получено 1312,5 (M+H).

[252] **Соединение 18b**: Соединение **18b** получали из кислоты **6** и спирта **17** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **9a**. Выход=75%. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₇₂H₉₁N₁₇O₁₇, 1325,6; получено 1326,6 (M+H).

[253] **Соединение 18c**: Соединение **18c** получали из кислоты **7** и спирта **17** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **9a**. Выход=50%. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₇₃H₉₃N₇O₁₇, 1339,7; получено 1340,5 (M+H).

[254] **Соединение 19a**: Соединение **19a** получали из соединения **18a** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **10a**. Выход=60%. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₅₆H₇₉N₇O₁₅, 1089,6; получено 1090,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; ДМСО-d₆): δ 9,98 (с, 1H), 8,21 (с, 1H), 8,15-8,11 (м, 1H), 7,97-7,91 (м, 2H), 7,57 (д, J=7,9 Гц, 2H), 7,46 (д, J=7,8 Гц, 1H), 7,27 (т, J=7,0 Гц, 2H), 7,10 (д, J=7,2 Гц, 1H), 6,86 (д, J=11,4 Гц, 1H), 6,61 (с, 1H), 6,24 (т, J=12,3 Гц, 2H), 6,02 (с, 1H), 5,75-5,73 (м, 2H), 5,40 (д, J=6,3 Гц, 2H), 5,27 (т, J=4,4 Гц, 1H), 4,40-4,35 (м, 2H), 4,18-4,11 (м, 2H), 4,03-3,98 (м, 1H), 3,94-3,90 (м, 1H), 3,73-3,71 (м, 1H), 3,68-3,64 (м, 2H), 3,03 (дд, J=5,0, 4,4 Гц, 2H), 3,00-2,93 (м, 3H), 2,74-2,73 (м, 1H), 2,59-2,57 (м, 2H), 2,35 (с, 3H), 2,28 (с, 1H), 2,19-2,15 (м, 3H), 2,06 (с, 1H), 1,95 (тд, J=2,2, 0,9 Гц, 2H), 1,86 (с, 2H), 1,66-1,58 (м, 6H), 1,48 (с, 1H), 1,42-1,38 (м, 6H), 1,26-1,23 (м, 4H), 0,90 (д, J=6,2 Гц, 3H), 0,83 (дд, J=11,1, 6,9 Гц, 6H), 0,74 (с, 3H).

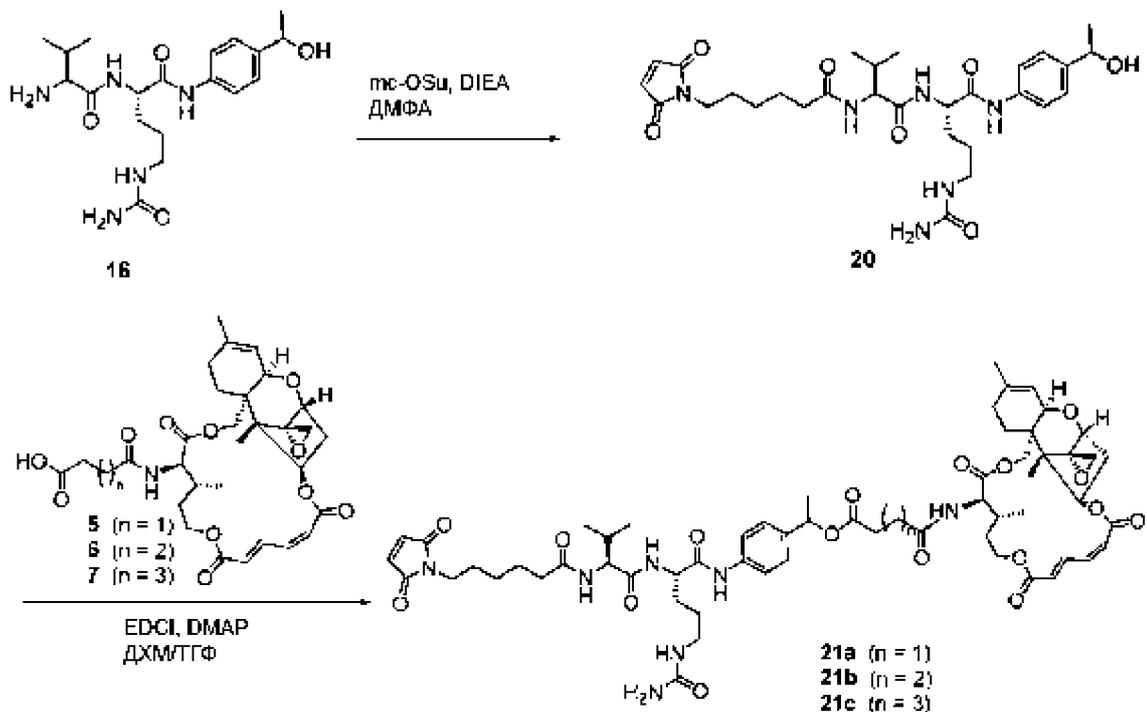
[255] **Соединение 19b**: Соединение **19b** получали из соединения **18b** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **10a**. Выход=33%. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₅₇H₈₁N₇O₁₅, 1103,6; получено 1104,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; ДМСО-d₆): δ 9,98-9,97 (м, 1H), 8,15-8,13 (м, 2H), 7,97-7,91 (м, 1H), 7,56 (д, J=8,3 Гц, 2H), 7,27 (д, J=8,2 Гц, 2H), 6,89-6,84 (м, 1H), 6,51 (с, 1H), 6,26-6,21 (м, 2H), 6,02 (с, 1H), 5,77-5,73 (м, 2H), 5,41-5,39 (м, 2H), 5,28-5,26 (м, 1H), 4,83 (д, J=5,2 Гц, 1H), 4,60 (т, J=5,7 Гц, 1H), 4,40-4,35 (м, 2H), 4,19-4,16 (м, 1H), 4,12-4,09 (м, 1H), 4,02 (дд, J=11,1, 4,1 Гц, 2H), 3,93-3,87 (м, 2H), 3,74-3,71 (м, 1H), 3,67 (ддд, J=7,2, 5,0, 3,1 Гц, 2H), 3,62-3,60 (м, 1H), 3,03-2,91 (м, 4H), 2,73 (д, J=0,4 Гц, 1H), 2,66 (дд, J=1,0, 0,5 Гц, 2H), 2,63 (т, J=1,9 Гц, 1H), 2,36-2,30 (м, 3H), 2,27

(т, $J=7,4$ Гц, 1H), 2,20-2,15 (м, 4H), 1,98-1,93 (м, 2H), 1,89 (с, 1H), 1,72-1,70 (м, 3H), 1,61-1,59 (м, 4H), 1,49 (д, $J=5,7$ Гц, 4H), 1,43 (д, $J=6,4$ Гц, 4H), 0,91-0,90 (м, 3H), 0,83 (м, 8H), 0,73 (д, $J=1,5$ Гц, 3H).

[256] **Соединение 19с**: Соединение **19с** получали из соединения **18с** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **10а**. Выход=55%. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{58}H_{83}N_7O_{15}$, 1117,6; получено 1118,4 (M+H). 1H -ЯМР (500 МГц; ДМСО- d_6): δ 9,98 (с, 1H), 8,10 (д, $J=6,1$ Гц, 1H), 7,97-7,90 (м, 2H), 7,57 (д, $J=8,2$ Гц, 2H), 7,27 (д, $J=7,2$ Гц, 2H), 6,87 (т, $J=11,3$ Гц, 1H), 6,24 (т, $J=12,9$ Гц, 2H), 5,76-5,73 (м, 2H), 5,40 (ддд, $J=6,9, 2,1, 0,9$ Гц, 2H), 5,28-5,27 (м, 1H), 4,40-4,34 (м, 2H), 4,16-4,10 (м, 2H), 4,02-3,99 (м, 1H), 3,99-3,90 (м, 1H), 3,76-3,72 (м, 1H), 3,69-3,65 (м, 2H), 3,06-2,91 (м, 6H), 2,73 (т, $J=0,6$ Гц, 1H), 2,63-2,62 (м, 1H), 2,35-2,32 (м, 1H), 2,33-2,27 (м, 3H), 2,21-2,06 (м, 6H), 1,97-1,93 (м, 2H), 1,83 (с, 2H), 1,66-1,58 (м, 8H), 1,49-1,45 (м, 6H), 1,45-1,40 (м, 4H), 1,39-1,35 (м, 3H), 0,91 (д, $J=5,8$ Гц, 3H), 0,85-0,82 (м, 6H), 0,74 (д, $J=0,3$ Гц, 3H).

Пример 6

[257] Соединение 21а, 21b и 21с



[258] **Соединение 20**: К раствору соединения **16** (30 мг, 0,076 ммоль) и $m\text{-CPyB}$ (23,5 мг, 0,076 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли DIEA (20 мкл, 0,114 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, затем очищали на колонке 50 г C18 Аq, используя градиентное элюирование 5-95% MeCN/ H_2O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения **20** (28 мг, 66%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{29}H_{42}N_6O_7$, 586,3; получено 587,3 (M+H).

[259] **Соединение 21а**: Соединение **21а** получали из кислоты **5** и спирта **20** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **10а**. Выход=13%. МС (ИЭР,

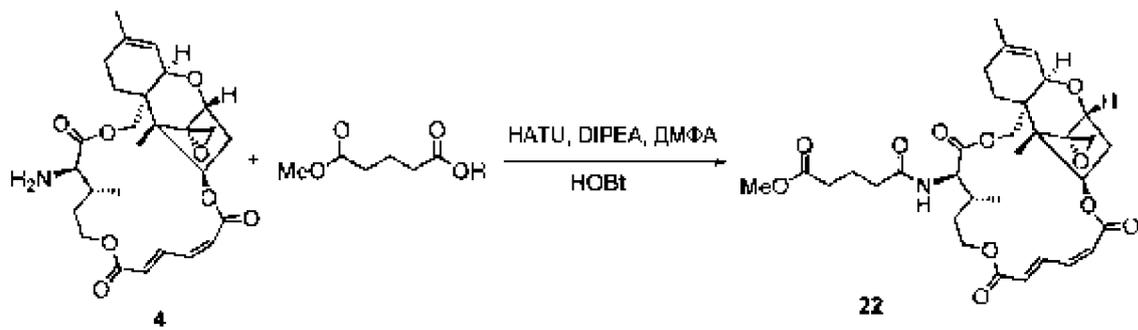
пол.): рассчит. для $C_{60}H_{79}N_7O_{17}$, 1169,6; получено 1170,3 (M+H). 1H -ЯМР (500 МГц; ДМСО- d_6): δ 10,00 (с, 1H), 8,21-8,19 (м, 1H), 8,13-8,11 (м, 1H), 7,96-7,90 (м, 1H), 7,83-7,80 (м, 1H), 7,56 (д, $J=8,5$ Гц, 2H), 7,26 (д, $J=8,3$ Гц, 2H), 6,99 (с, 2H), 6,87 (т, $J=11,5$ Гц, 1H), 6,27-6,21 (м, 2H), 6,00-5,97 (м, 1H), 5,77-5,71 (м, 2H), 5,39-5,38 (м, 2H), 5,28-5,26 (м, 1H), 4,41-4,33 (м, 2H), 4,19-4,10 (м, 2H), 4,02-3,99 (м, 1H), 3,95-3,89 (м, 1H), 3,73-3,71 (м, 1H), 3,71-3,65 (м, 3H), 3,04-3,03 (м, 2H), 3,00-2,92 (м, 3H), 2,74-2,73 (м, 1H), 2,43-2,40 (м, 1H), 2,21-2,14 (м, 2H), 2,14-2,06 (м, 2H), 1,98-1,91 (м, 2H), 1,80-1,76 (м, 1H), 1,66-1,57 (м, 9H), 1,48-1,45 (м, 4H), 1,42 (м, 5H), 1,23-1,15 (м, 4H), 0,91-0,90 (м, 3H), 0,84-0,80 (м, 6H), 0,74 (с, 3H).

[260] **Соединение 21b**: Соединение **21b** получали из кислоты **6** и спирта **20** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **10a**. Выход=15%. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{61}H_{81}N_{17}O_{17}$, 1183,6; получено 1184,4 (M+H). 1H -ЯМР (500 МГц; ДМСО- d_6): δ 9,99 (с, 1H), 8,15-8,13 (м, 1H), 8,11-8,09 (м, 1H), 7,94 (м, 2H), 7,82-7,79 (м, 1H), 7,57-7,55 (м, 2H), 7,27-7,26 (м, 2H), 6,99 (с, 2H), 6,89-6,84 (м, 1H), 6,26-6,21 (м, 2H), 5,97 (м, 1H), 5,77-5,73 (м, 2H), 5,39 (с, 2H), 5,28-5,26 (м, 1H), 4,41-4,33 (м, 2H), 4,17 (дд, $J=8,3$, 7,1 Гц, 1H), 4,12-4,09 (м, 1H), 4,03-4,01 (м, 1H), 3,94-3,89 (м, 1H), 3,73 (дд, $J=10,0$, 6,1 Гц, 1H), 3,69-3,64 (м, 2H), 3,03 (д, $J=4,0$ Гц, 1H), 3,01-2,99 (м, 1H), 2,93 (т, $J=6,3$ Гц, 2H), 2,73 (т, $J=3,6$ Гц, 1H), 2,63 (т, $J=1,8$ Гц, 1H), 2,53 (т, $J=1,9$ Гц, 1H), 2,45 (т, $J=1,8$ Гц, 2H), 2,45-2,39 (м, 2H), 2,35 (т, $J=1,8$ Гц, 1H), 2,34-2,30 (м, 2H), 2,20-2,16 (м, 3H), 2,13-2,06 (м, 2H), 1,97-1,93 (м, 2H), 1,72-1,69 (м, 3H), 1,66-1,57 (м, 6H), 1,50-1,42 (м, 5H), 1,24-1,23 (м, 2H), 1,20-1,16 (м, 2H), 0,91-0,90 (м, 3H), 0,82 (дд, $J=14,7$, 6,8 Гц, 6H), 0,73 (д, $J=2,0$ Гц, 3H).

[261] **Соединение 21c**: Соединение **21c** получали из кислоты **7** и спирта **20** с помощью аналогичной процедуры, что и для соединения **10a**. Выход=11%. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{62}H_{83}N_{17}O_{17}$, 1197,6; получено 1198,3 (M+H). 1H -ЯМР (500 МГц; ДМСО- d_6): δ 9,98 (с, 1H), 8,10-8,08 (м, 2H), 7,93-7,90 (м, 1H), 7,58-7,55 (м, 2H), 7,27-7,25 (м, 2H), 6,99 (с, 2H), 6,85 (дд, $J=11,1$, 0,6 Гц, 1H), 6,24 (т, $J=13,0$ Гц, 2H), 5,77-5,72 (м, 2H), 5,39-5,38 (м, 2H), 5,28 (тд, $J=2,2$, 1,0 Гц, 1H), 4,39-4,35 (м, 2H), 4,18-4,10 (м, 2H), 4,00 (ддд, $J=11,7$, 2,0, 0,8 Гц, 1H), 3,92 (с, 1H), 3,76-3,72 (м, 1H), 3,69-3,65 (м, 2H), 3,02-3,00 (м, 2H), 2,98-2,93 (м, 2H), 2,74-2,73 (м, 1H), 2,35-2,29 (м, 3H), 2,20-2,06 (м, 6H), 1,96-1,93 (м, 2H), 1,62-1,59 (м, 6H), 1,49-1,45 (м, 8H), 1,42 (д, $J=6,7$ Гц, 4H), 0,91 (д, $J=6,6$ Гц, 3H), 0,82 (дд, $J=14,7$, 6,7 Гц, 6H), 0,73 (с, 3H).

Пример 7

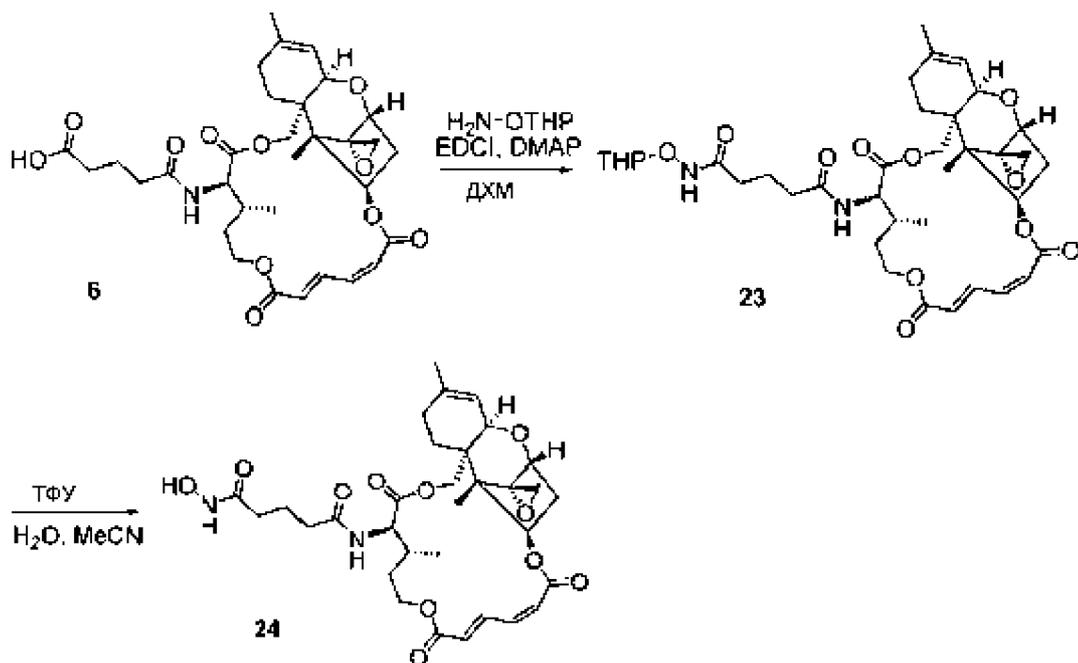
[262] **Соединение 22**



[263] **Соединение 22**: К раствору метилглутарата (2,4 мг, 0,016 ммоль) в безводном ДМФА (0,8 мл) добавляли HATU (6,2 мг, 0,016 ммоль), HOBT (2,2 мг, 0,016 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламин (5,7 мкл, 0,033 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 минут, затем охлаждали до 0°C. Добавляли (*R*)-аминоверрукарин А (**4**, 8,2 мг, 0,016 ммоль) и перемешивание продолжали в течение 20 минут при 0°C, затем в течение 1 часа при комнатной температуре. Продукт очищали на колонке 5,5 г C18Aq ISCO, элюируя 5-100% MeCN в H₂O с 0,05% AcOH в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **22** (7,5 мг, 73%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₃₃H₄₃NO₁₁, 629,28; получено 630,3 (M+H). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆): δ 8,27 (д, *J*=6,5 Гц, 1H), 7,98-7,92 (м, 1H), 6,88 (т, *J*=11,5 Гц, 1H), 6,27-6,23 (м, 2H), 5,78-5,75 (м, 2H), 5,30-5,29 (м, 1H), 4,43-4,39 (м, 1H), 4,12 (д, *J*=12,0 Гц, 1H), 4,04 (д, *J*=12,0 Гц, 1H), 3,97-3,90 (м, 1H), 3,75 (дд, *J*=11,0, 6,5 Гц, 1H), 3,70-3,66 (м, 2H), 3,59 (с, 3H), 3,05 (д, *J*=4,0 Гц, 1H), 2,76 (д, *J*=4,0 Гц, 1H), 2,36-2,28 (м, 3H), 2,23-2,17 (м, 3H), 2,12-2,08 (м, 1H), 1,98-1,93 (м, 1H), 1,81-1,68 (м, 2H), 1,67-1,59 (м, 5H), 1,29-1,22 (м, 2H), 0,92 (д, *J*=6,5 Гц, 3H), 0,75 (с, 3H).

Пример 8

[264] **Соединение 24**



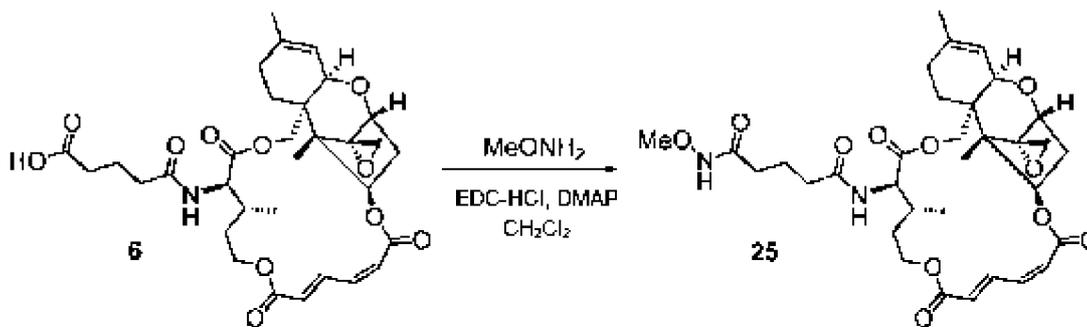
[265] **Соединение 23**: К раствору соединения **6** (15 мг, 0,0244 ммоль), *O*-

(тетрагидро-2*H*-пиран-2-ил)гидроксиламина (3,4 мг, 0,029 ммоль) и DMAP (0,3 мг, 0,002 ммоль) в безводном ДХМ (0,24) добавляли EDCI (7 мг, 0,037 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Продукт очищали на колонке 5,5 г C18Aq ISCO, элюируя 5-100% MeCN в H₂O с 0,05% AcOH в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **23** (12 мг, 69%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₃₇H₅₀N₂O₁₂, 714,34; получено 715,64 (M+H).

[266] **Соединение 24**: К раствору соединения **23** (6,0 мг, 0,0084 ммоль) в смеси 1:1 MeCN и H₂O (0,16 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (13 мкл, 0,1679 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Продукт очищали на колонке 5,5 г C18Aq ISCO, элюируя 5-95% MeCN в H₂O с 10 mM NH₄OAc в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **24** (4,0 мг, 76%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₃₂H₄₂N₂O₁₁, 630,69; получено 631,44 (M+H). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆): δ 10,3 (ушир., 1H), 8,65 (ушир., 1H), 8,13 (дд, *J*=6,0, 0,5 Гц, 1H), 7,95 (дд, *J*=15,5, 12,5 Гц, 1H), 6,88 (т, *J*=11,5 Гц, 1H), 6,28-6,23 (м, 2H), 5,78-5,73 (м, 1H), 5,29-5,28 (м, 1H), 4,42-4,39 (м, 1H), 4,12 (д, *J*=12,0 Гц, 1H), 4,03 (д, *J*=12,0 Гц, 1H), 3,96-3,91 (м, 1H), 3,75 (дд, *J*=10,0, 6,5 Гц, 1H), 3,69-3,66 (м, 2H), 3,03 (д, *J*=1,5 Гц, 1H), 2,81 (д, *J*=4,0 Гц, 1H), 2,24-2,05 (м, 5H), 1,98-1,93 (м, 3H), 1,81-1,73 (м, 2H), 1,72-1,59 (м, 5H), 1,28-1,23 (м, 2H), 0,92 (д, *J*=6,5 Гц, 3H), 0,75 (с, 3H).

Пример 9

[267] Соединение 25

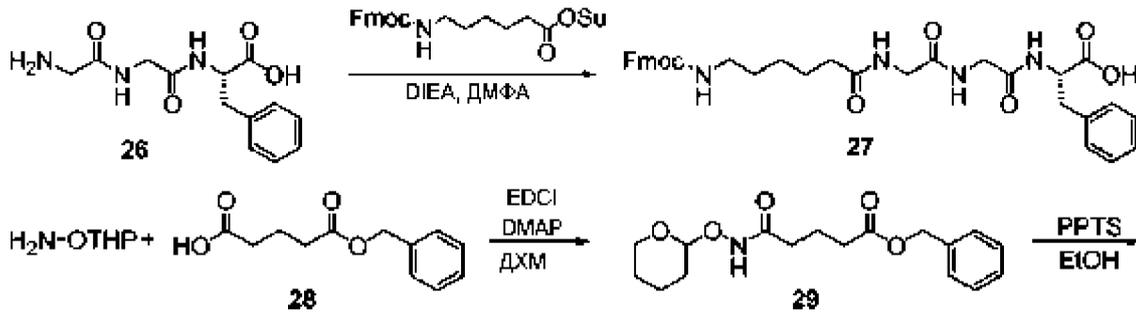


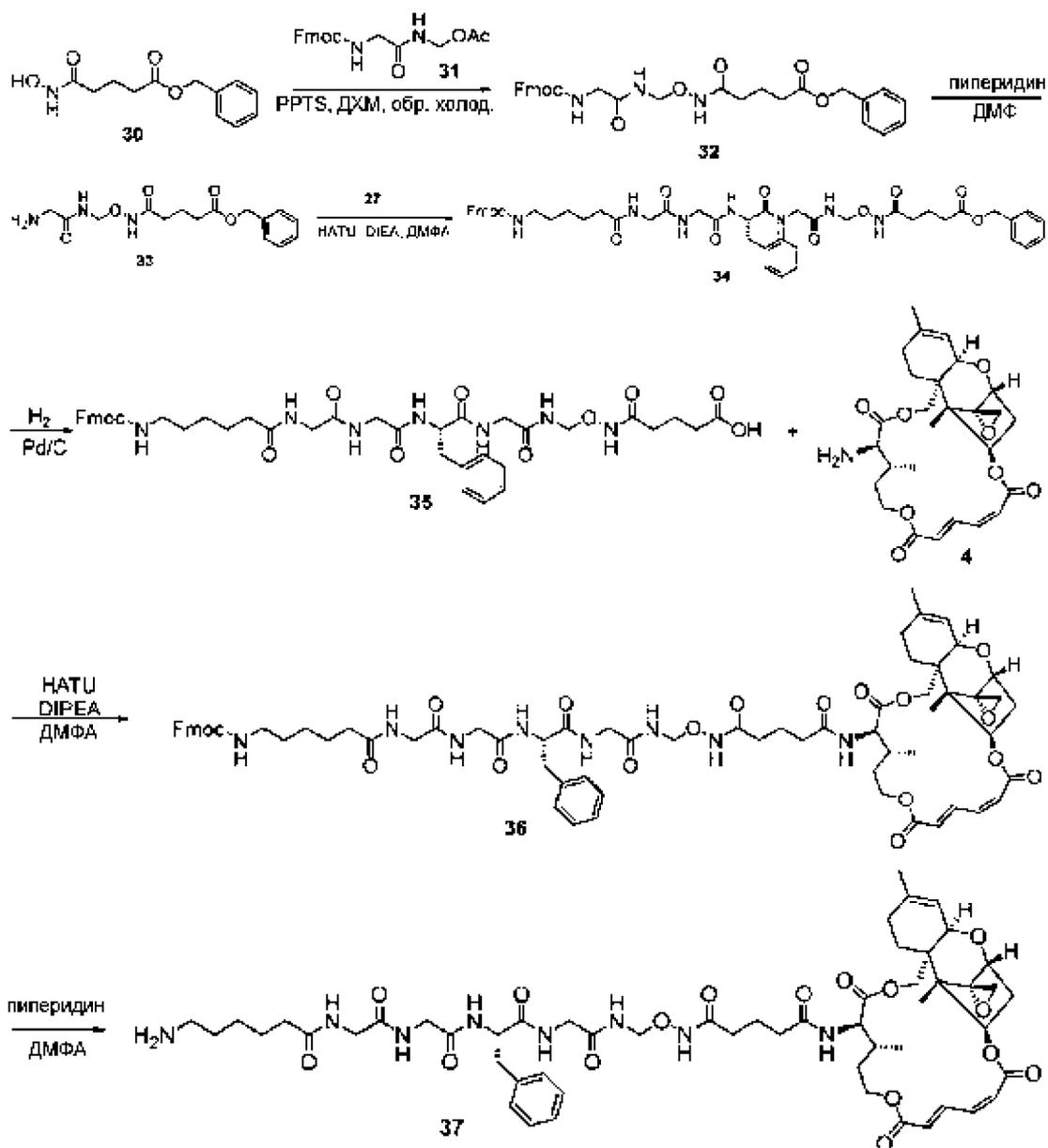
[268] **Соединение 25**: Раствор приблизительно 0,3 М MeONH₂ в ТГФ получали из HCl-соли MeONH₂ (42,5 мг, 0,5 ммоль) и KOH (28 мг, 0,5 ммоль) в ТГФ (1,5 мл). Суспензию фильтровали перед использованием. К раствору соединения **6** (5 мг, 0,00812 ммоль) и DMAP (0,1 мг, 0,000818 ммоль) в ДХМ добавляли 0,3 М раствор MeONH₂ в ТГФ (50 мл, 0,015 ммоль) и EDC-HCl (3 мг, 0,0156 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Реакционную смесь концентрировали в вакууме. Продукт очищали с помощью хроматографии на колонке 5,5 г C18Aq ISCO, элюируя 5-100% MeCN в H₂O с 0,05% HOAc в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **25** (4,4 мг, 85%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.):

рассчит. для $C_{33}H_{44}N_2O_{11}$, 644,29; получено 645,3 (M+H). 1H -ЯМР (300 МГц; $CDCl_3$): δ 8,5 (ушир. с, 1H), 8,11 (дд, $J=15,7, 11,6$ Гц, 1H), 6,69 (т, $J=11,4$ Гц, 1H), 6,14 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 6,10 (д, $J=15,8$ Гц, 1H) 5,97 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 5,77 (дд, $J=8,1, 4,1$ Гц, 1H), 5,41 (ушир. д, $J=5,5$ Гц, 1H), 4,47 (ддд, $J=11,1, 4,7, 3,5$ Гц, 1H), 4,38 (д, $J=12,2$ Гц, 1H), 4,30 (д, $J=12,9$ Гц, 1H), 4,29 (д, $J=8,6$ Гц, 1H), 4,07-3,98 (м, 1H), 3,85 (д, $J=5,0$ Гц, 1H), 3,75 (с, 3H), 3,58 (д, $J=5,0$ Гц, 1H), 3,12 (д, $J=3,8$ Гц, 1H), 2,88 (д, $J=3,9$ Гц, 1H), 2,50 (дд, $J=15,5, 8,2$ Гц, 1H), 2,31 (т, $J=7,0$ Гц, 2H), 2,26-2,15 (м, 3H), 2,09-1,85 (м, 6H), 1,73 (с, 3H), 1,68-1,61 (м, 1H), 1,51-1,41 (м, 2H), 1,09 (д, $J=6,7$ Гц, 3H), 0,86 (с, 3H).

Пример 10

[269] Соединение 37





[270] **Соединение 27**: К раствору соединения **26** (100 мг, 0,36 ммоль) и *N*-гидроксисукцинимидного эфира Fmoc-6-аминогексановой кислоты (177,4 мг, 0,39 ммоль) в безводном ДМФА (3,5 мл) добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (0,19 мл, 1,07 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Продукт очищали с помощью хроматографии на колонке 150 г C18Aq ISCO, элюируя 0-100% MeCN в H₂O с 0,05% AcOH обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **27** (200 мг, 91%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₃₄H₃₈N₄O₇, 614,6; получено 615,6 (M+H).

[271] **Соединение 29**: К раствору соединения **28** (2,00 г, 9,00 ммоль), *O*-(тетрагидро-2*H*-пиран-2-ил)гидроксиламина (1,27 г, 10,80 ммоль) и DMAP (0,11 г, 0,90 ммоль) в безводном ДХМ (90 мл) добавляли EDCI (2,59 г, 13,50 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Продукт очищали на колонке 80 г SiO₂, элюируя 50-100% EtOAc в гексанах. Чистые фракции объединяли и концентрировали с получением соединения **29** (2,8 г, 97%) в виде бесцветного геля. МС

(ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{17}H_{23}NO_5$, 321,37; получено 344,39 (M+Na).

[272] **Соединение 32**: К раствору соединения **29** (576 мг, 1,79 ммоль) в этаноле (6,0 мл) добавляли PPTS (225 мг, 0,90 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 дней, пока не получали соединение **30** в качестве основного продукта. Реакционную смесь концентрировали *in vacuo* и остаток растворяли в ДХМ (6,0 мл). Добавляли соединение **31** (660 мг, 1,79 ммоль) и PPTS (225 мг, 0,90 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течении 1 дня. Реакционную смесь разбавляли EtOAc (20 мл) и промывали насыщ. $NaHCO_3$ (20 мл), водой (20 мл), затем соляным раствором (20 мл). Продукт очищали на колонке 40 г SiO_2 (предварительно обработанной 0,1% Et_3N), элюируя 0-100% EtOAc в ДХМ. Чистые фракции объединяли и концентрировали с получением соединения **32** (293 мг, 30%) в виде бесцветного геля. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{30}H_{31}N_3O_7$, 545,59; получено 546,55 (M+H).

[273] **Соединение 33**: К раствору соединения **32** (200 мг, 0,367 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли 5% пиперидиновый раствор в ДМФА (1 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт очищали на колонке 50 г C18Aq ISCO, элюируя 0-40% MeCN в H_2O с 10 mM NH_4OAc в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **33** (80,0 мг, 67%) в виде бесцветного геля. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{15}H_{21}N_3O_5$, 323,35; получено 324,34 (M+H).

[274] **Соединение 34**: К раствору соединения **27** (50,0 мг, 0,081 ммоль), соединения **33** (34,2 мг, 0,106 ммоль) и HATU (30,9 мг, 0,081 ммоль) в безводном ДМФА (1 мл) добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (28,3 мкл, 0,163 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Продукт очищали на колонке 15,5 г C18Aq ISCO, элюируя 0-80% MeCN в H_2O с 10 mM NH_4OAc в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **34** (41 мг, 55%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{49}H_{57}N_7O_{11}$, 920,03; получено 921,13 (M+H).

[275] **Соединение 35**: Раствор соединения **34** (35,0 мг, 0,038 ммоль) и Pd/C (7 мг, 20% по масс.) в абсолютном этаноле (760 мкл) получали в высушенной в сушильном шкафу круглодонной колбе. Колбу вакуумировали и трижды заполняли H_2 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи под давлением баллонного H_2 . Смесь фильтровали через шприцевой фильтр 0,45 мкм, а фильтрат концентрировали *in vacuo*. Соединение **35** (16 мг, 51%) получали в виде бесцветного геля и использовали без очистки. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{42}H_{51}N_7O_{11}$, 829,91; получено 830,93 (M+H).

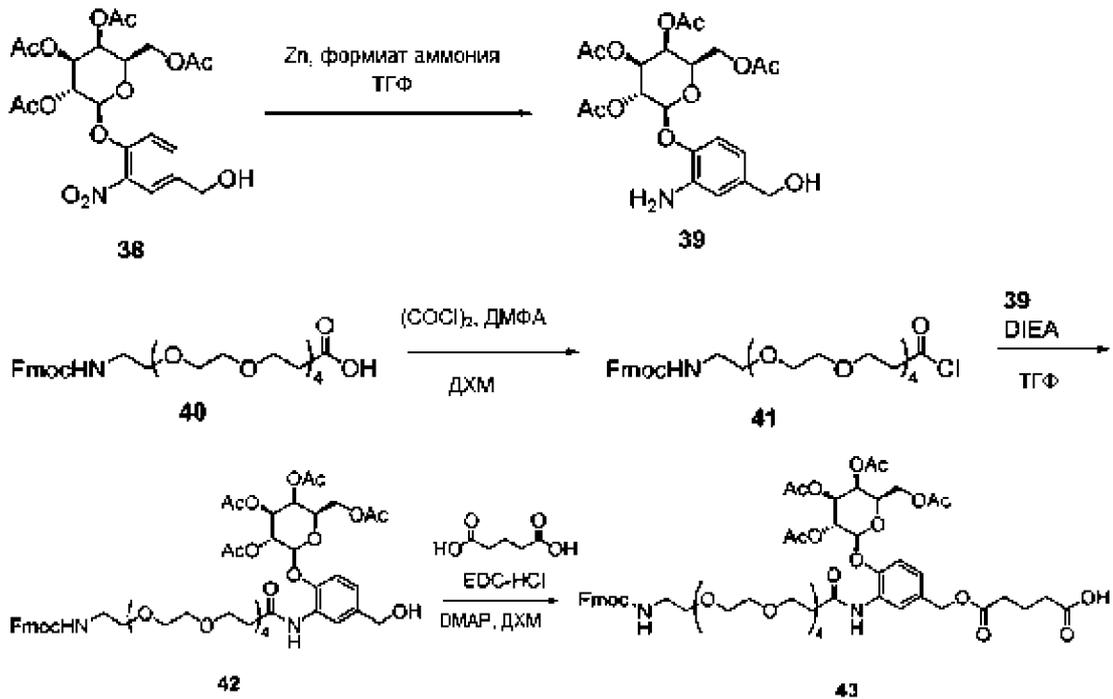
[276] **Соединение 36**: К раствору (*R*)-амино-веррукарина **А** (**4**, 9,0 мг, 0,018 ммоль), соединения **35** (16,0 мг, 0,019 ммоль) и HATU (10,2 мг, 0,027 ммоль) в безводном ДМФА (0,4 мл) добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (6,3 мкл, 0,036 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Продукт очищали на колонке 5,5 г C18Aq ISCO, элюируя 0-80% MeCN в H_2O с 10 mM NH_4OAc в обоих. Чистые

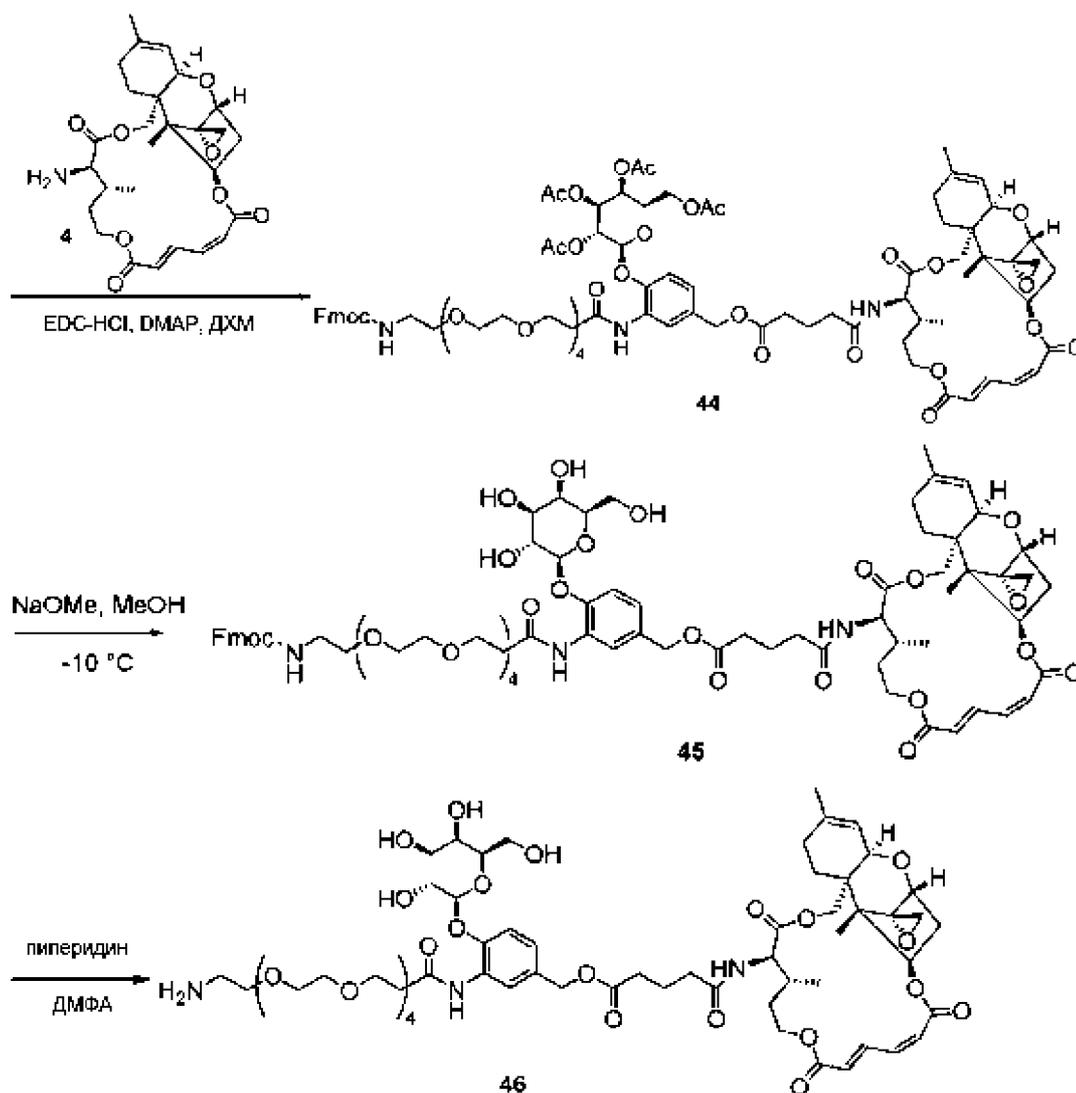
фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **36** (9 мг, 38%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{69}H_{84}N_8O_{18}$, 1313,47; получено 1314,50 (M+H).

[277] **Соединение 37**: К раствору соединения **36** (9 мг, 0,0069 ммоль) в ДМФА (0,1 мл) добавляли 5% пиперидиновый раствор в ДМФА (0,3 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Продукт очищали на колонке 5,5 г C18Aq ISCO, элюируя 0-80% MeCN в H_2O с 10 mM NH_4OAc в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **37** (3,1 мг, 41%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{54}H_{74}N_8O_{18}$, 1091,23; получено 1092,4 (M+H). 1H ЯМР (500 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,20-8,12 (м, 5H), 8,08-8,04 (м, 1H), 7,95 (дд, $J=15,5, 12,5$ Гц, 1H), 7,25-7,24 (м, 5H), 7,19-7,17 (м, 1H), 6,87 (т, $J=11,5$ Гц, 1H), 6,27-6,22 (м, 2H), 5,78-5,75 (м, 1H), 5,29-5,28 (м, 1H), 4,76-4,75 (м, 2H), 4,53-4,49 (м, 1H), 4,42-4,38 (м, 1H), 4,12 (д, $J=12,0$ Гц, 1H), 4,03 (д, $J=12,0$ Гц, 1H), 3,96-3,90 (м, 1H), 3,76-3,71 (м, 4H), 3,69-3,66 (м, 5H), 3,60-3,55 (м, 1H), 3,07-3,02 (м, 3H), 2,81-2,80 (м, 1H), 2,59-2,56 (м, 2H), 2,46-2,41 (м, 1H), 2,18-2,11 (м, 5H), 1,99-1,93 (м, 3H), 1,82-1,58 (м, 12H), 1,50-1,46 (м, 2H), 1,40-1,35 (м, 2H), 1,29-1,22 (м, 4H), 0,92 (д, $J=7,0$ Гц, 3H), 0,75 (с, 3H).

Пример 11

[278] **Соединение 46**





[279] **Соединение 38** получали в соответствии с описанной в литературе методикой в Bioconjugate Chemistry (2016), 27(10), 2549-2557.

[280] **Соединение 39**: Аргон барботировали через раствор ТГФ (10 мл) соединения **38** (150 мг, 0,30 ммоль) в течение 10 минут. Добавляли порошок цинка (505 мг, 7,72 ммоль) и формиат аммония (60 мг, 0,92 ммоль) и реакционную смесь нагревали до $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 16 часов. Реакционную смесь фильтровали через слой целита, а фильтрат концентрировали с получением соединения **39** (141 мг, 99%), которое использовали без очистки. МС (ИЭР, пол.): расчет. для $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}$, 469,1; получено 470,2 (M+H).

[281] **Соединение 42**: К раствору Fmoc-PEG8-амидо- COOH (**40**, 240 мг, 0,36 ммоль) в безводном ДХМ (10 мл) добавляли оксалилхлорид (62 мкл, 0,72 ммоль) и ДМФА (2 мкл). После перемешивания в течение 30 минут летучие вещества удаляли *in vacuo* с получением Fmoc-PEG8-амидо- COCl , **41**. В отдельном флаконе соединение **39** (141 мг, 0,30 ммоль) растворяли в безводном ТГФ (5 мл) и добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (125 мкл, 0,72 ммоль) с последующим добавлением хлорангидрида (**41**) в ТГФ (5 мл). Через 1 час растворители удаляли при пониженном давлении и остаток очищали на колонке ISCO 100 г С18Аq, элюируя 5-95% MeCN/ H_2O (оба имеют 0,05% AcOH).

Фракции, содержащие желаемый продукт, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **42** (205 мг, 61%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{55}H_{74}N_2O_{22}$, 1114,5; получено 1115,4 (М+Н).

[282] **Соединение 43**: К раствору соединения **42** (45 мг, 0,0404 ммоль), глутаровой кислоты (10 мг, 0,0757 ммоль) и DMAP (9,0 мг, 0,0737 ммоль) в ДХМ (0,7 мл) добавляли EDC-HCl (10 мг, 0,0522 ммоль). Желтый раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. После того как данные ЖХМС показали, что реакция завершена, реакционную смесь концентрировали в вакууме. Продукт очищали с помощью хроматографии на колонке 50 г C18Aq ISCO, элюируя 25-80% MeCN в H_2O (оба содержат 0,05% HOAc). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **43** (40 мг, 81%) в виде бесцветного вязкого масла. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{60}H_{80}N_2O_{25}$, 1228,5; получено, 1229,7 (М+Н).

[283] **Соединение 44**: К раствору соединения **43** (32 мг, 0,0260 ммоль), (*R*)-аминоверрукарин (**4**, 12 мг, 0,0239 ммоль) и DMAP (3,2 мг, 0,0263 ммоль) в ДХМ (1 мл) добавляли EDC-HCl (5,0 мг, 0,0263 ммоль). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2,5 часов, затем разбавляли ДХМ (4 мл) и промывали 0,5 N HCl (водн.) (1 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали ДХМ (2×3 мл). Объединенные органические слои промывали насыщ. $NaHCO_3$ (водн.), затем насыщенным соевым раствором, затем сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали *в вакууме* с получением вязкого масла. Продукт очищали с помощью хроматографии на колонке 12 г Silica ISCO, элюируя 0-30% метанолом в ДХМ с получением соединения **44** (29 мг, 71%) в виде бесцветного масла. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{87}H_{113}N_3O_{32}$, 1711,73; получено 1713,27 (М+Н).

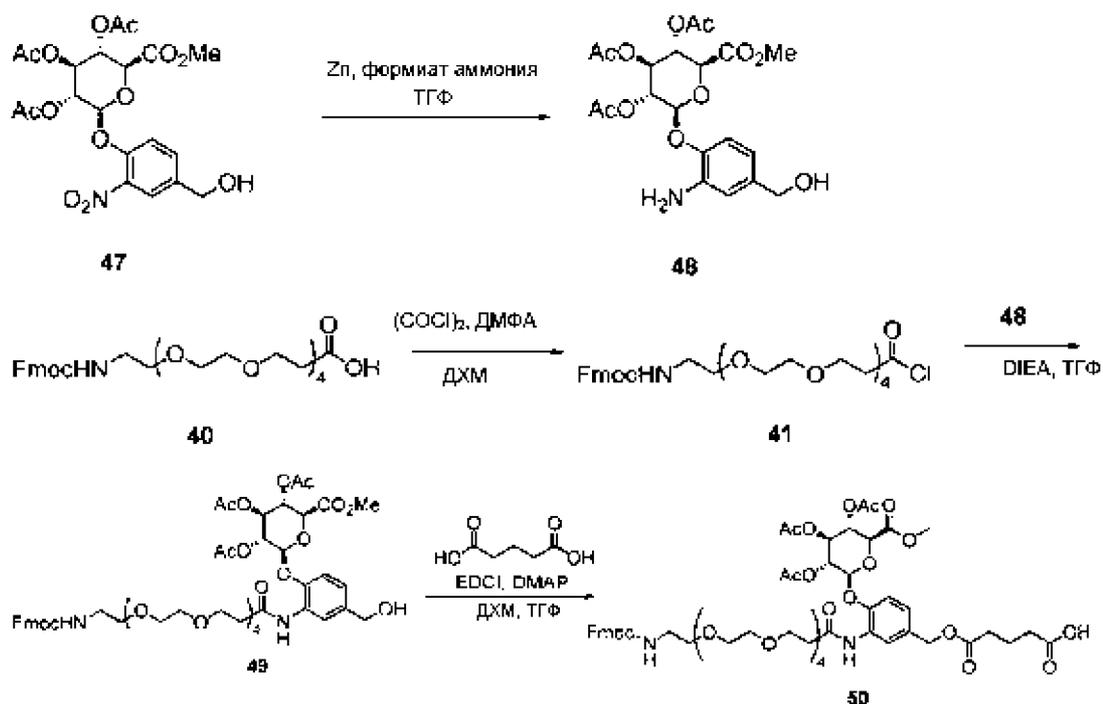
[284] **Соединение 45**: К $-10^{\circ}C$ раствору соединения **44** (10 мг, 0,00584 ммоль) в метаноле (0,9 мл) по каплям добавляли 0,1 М раствор метоксида натрия в MeOH (117 мл, 0,0117 ммоль) из шприца. Реакционную смесь перемешивали в холодной бане в течение 1,25 часа, затем гасили добавлением смолы Dowex 50X8 (водородная форма, 200-400 меш, 30 мг). Смесь перемешивали при комнатной температуре 2 минуты, затем твердые вещества удаляли фильтрацией через ватный тампон, промывая дополнительным этанолом. Фильтрат концентрировали *в вакууме*. Продукт очищали с помощью хроматографии на колонке 5,5 г ISCO C18Aq, элюируя 10-100% MeCN в H_2O (оба содержат 0,05% HOAc). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **45** (3,2 мг, 35%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{79}H_{105}N_3O_{28}$, 1543,7; получено 1545,2 (М+Н).

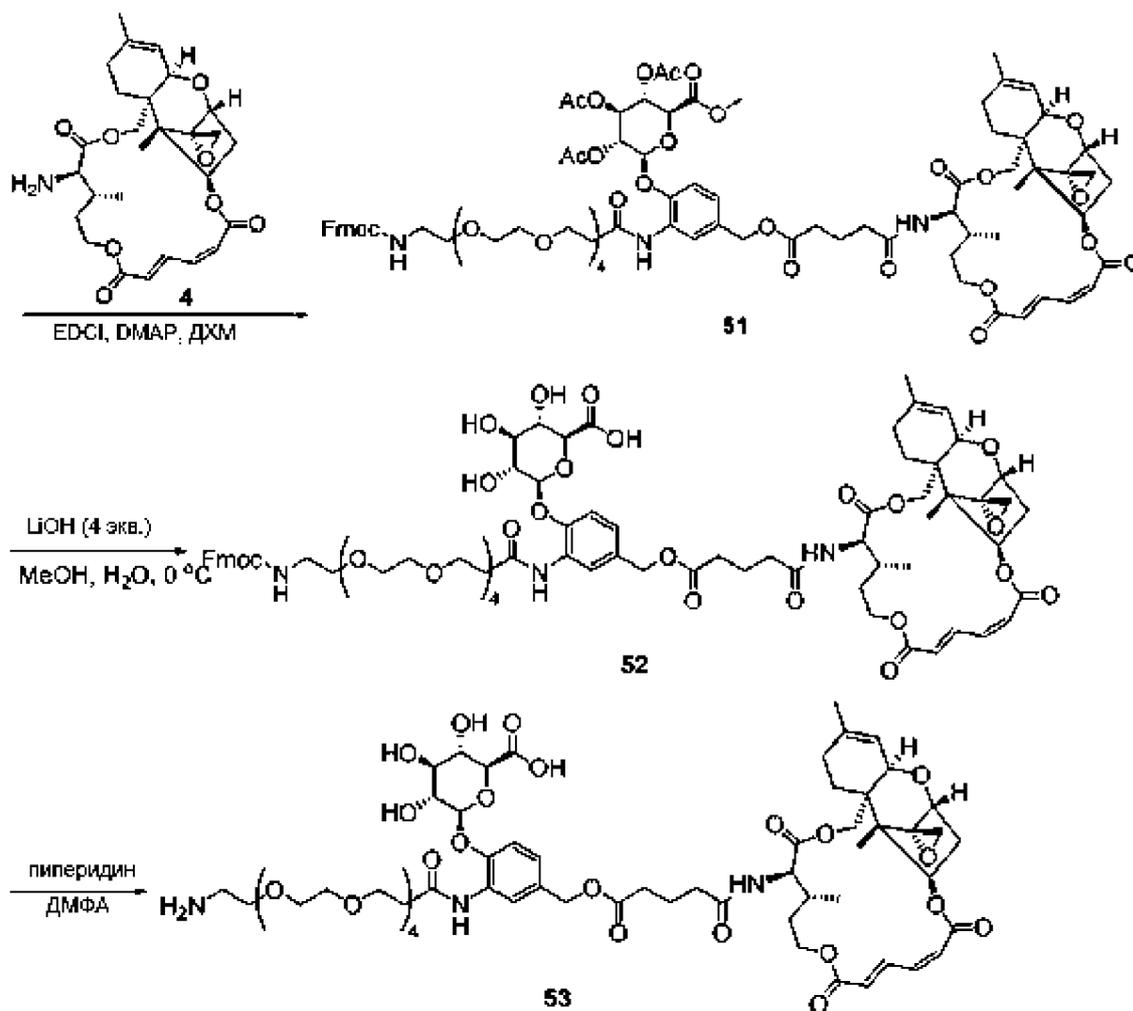
[285] **Соединение 46**: К раствору соединения **45** (5,8 мг, 0,0038 ммоль) в ДМФА (360 мл) добавляли 3,8 мкл 10% раствора пиперидина в ДМФА (0,38 мл, 0,0038 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Реакционный раствор загружали на колонку ISCO 5,5 г C18Aq и элюировали 0-100% MeCN в H_2O (оба содержат 0,05% HOAc). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **46** (2,4 мг, 48%) в виде

белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{64}H_{95}N_3O_{26}$, 1321,6; получено 1323,1 (М+Н). 1H ЯМР (300 МГц; CD_3OD) δ 8,27-8,17 (м, 2H), 7,29 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,12-7,08 (м, 1H), 6,85 (т, $J=11,3$ Гц, 1H), 6,22 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 6,14 (д, $J=15,6$ Гц, 1H), 5,87-5,83 (м, 1H), 5,41-5,39 (м, 1H), 5,16-5,06 (м, 2H), 4,79 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 4,54-4,48 (м, 1H), 4,37-4,24 (м, 2H), 4,10-4,01 (м, 2H), 3,95-3,75 (м, 10H), 3,69-3,58 (м, 36H), 3,04 (д, $J=4,1$ Гц, 1H), 2,96 (дд, $J=6,5, 3,9$ Гц, 2H), 2,81 (д, $J=3,8$ Гц, 1H), 2,72 (т, $J=5,9$ Гц, 2H), 2,56-2,43 (м, 3H), 2,43-2,26 (м, 4H), 2,19-2,11 (м, 1H), 1,99-1,89 (м, 4H), 1,85-1,66 (м, 7H), 1,39-1,28 (м, 4H), 1,07 (д, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,89 (с, 3H).

Пример 12

[286] Соединение 53





[287] **Соединение 47** получали в соответствии с описанной в литературе методикой в Bioconjugate Chemistry (2016), 27(10), 2549-2557.

[288] **Соединение 48**: Аргон барботировали через раствор ТГФ (10 мл) соединения **47** (80 мг, 0,165 ммоль) в течение 10 минут. Затем добавляли порошок цинка (268 мг, 4,12 ммоль) и формиат аммония (32 мг, 0,495 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 65°C в течение 16 часов. Реакционную смесь фильтровали через слой целита, а фильтрат концентрировали с получением соединения **48** (75 мг, 99%), которое использовали без очистки. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₂₀H₂₅NO₁₁, 455,1; получено 456,1 (M+H).

[289] **Соединение 49**: К раствору Fmoc-PEG8-амидо-COOH (**40**, 142 мг, 0,215 ммоль) в безводном ДХМ (10 мл) добавляли оксалилхлорид (37 мкл, 0,430 ммоль) и DMFA (2 мкл). После перемешивания в течение 30 минут летучие вещества удаляли в вакууме с получением Fmoc-PEG8-амидо-COCl (**41**). В отдельном флаконе соединение **48** (75 мг, 0,165 ммоль) растворяли в безводном ТГФ (5 мл) и добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (73 мкл, 0,430 ммоль) с последующим добавлением соединения **41** в ТГФ (5 мл). Через 1 час летучие вещества удаляли при пониженном давлении и остаток очищали на колонке ISCO 100 г C18Aq, элюируя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Фракции, содержащие желаемый продукт, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **49** (47,1 мг, 25%) в виде рыхлого белого твердого вещества. МС

(ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{54}H_{72}N_2O_{22}$, 1100,5; получено 1101,4 (M+H).

[290] **Соединение 50**: К раствору соединения **48** (56 мг, 0,051 ммоль), глутаровой кислоты (67 мг, 0,509 ммоль) и DMAP (9,3 г, 0,076 ммоль) в смеси 1:1 безводного ДХМ и ТГФ (5 мл) добавляли EDCI (58,5 мг, 0,305 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Продукт очищали на колонке 15,5 г C18Aq ISCO, элюируя 0-100% MeCN в H_2O с 0,05% AcOH в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **50** (37,5 мг, 61%) в виде белого твердого вещества. MS (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{59}H_{78}N_2O_{25}$, 1215,26; получено 1216,45 (M+H).

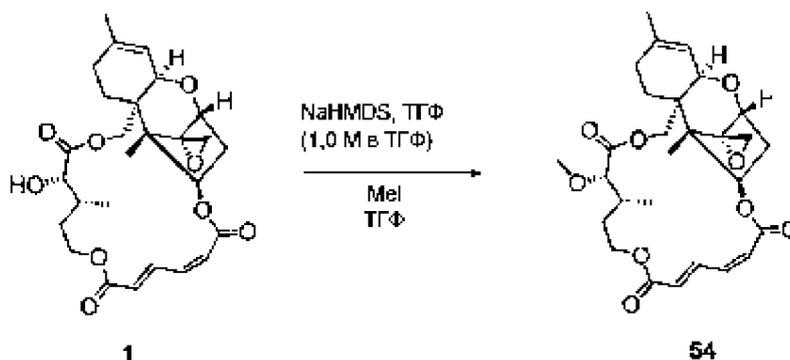
[291] **Соединение 51**: К раствору соединения **50** (17 мг, 0,014 ммоль), (*R*)-аминоверрукарина А (**4**, 7,0 мг, 0,014 ммоль) и DMAP (0,9 мг, 0,007 ммоль) в безводном ДХМ (2,3 мл) добавляли EDCI (8,1 мг, 0,042 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Продукт очищали на колонке 5,5 г C18Aq ISCO, элюируя 0-100% MeCN в H_2O с 0,05% AcOH в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **51** (20,5 мг, 86%) в виде белого твердого вещества. MS (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{86}H_{111}N_3O_{32}$, 1698,82; получено 1699,81 (M+H).

[292] **Соединение 52**: Раствор соединения **51** (20,5 мг, 0,012 ммоль) в смеси 2:1 MeOH и H_2O (4,5 мл) охлаждали до 0°C на ледяной бане. По каплям добавляли 0,1 M раствор LiOH в H_2O (483 мкл) и реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут, поддерживая при этом температуру 0°C. Добавляли каплю AcOH, чтобы погасить реакционную смесь. Продукт очищали на колонке 15,5 г C18Aq ISCO, элюируя 0-100% MeCN в H_2O с 0,05% AcOH в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **52** (6,8 мг, 30%) в виде белого твердого вещества. MS (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{79}H_{103}N_3O_{29}$, 1558,69; получено 1559,63 (M+H).

[293] **Соединение 53**: К раствору соединения **52** (6,8 мг, 0,004 ммоль) в ДМФА (121 мкл) добавляли 5% пиперидиновый раствор в ДМФА (24 мкл) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Продукт очищали с помощью Teledyne ISCO EZ prep на колонке 30×150 мм Gemini, элюируя 0-60% MeCN в H_2O с 0,05% AcOH в обоих. Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **53** (3,1 мг, 53%) в виде белого твердого вещества. MS (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{64}H_{93}N_3O_{27}$, 1336,44; получено 1337,4 (M+H). 1H ЯМР (500 МГц, MeOD): δ 8,22-8,17 (м, 2H), 7,35 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,08 (дд, $J=8,5, 1,5$ Гц, 1H), 6,82 (т, $J=11,0$ Гц, 1H), 6,18 (д, $J=11,5$ Гц, 1H), 6,11 (д, $J=15,5$ Гц, 1H), 5,82 (дд, $J=8,0, 3,5$ Гц, 1H), 5,38-5,37 (м, 1H), 5,08 (ушир., 2H), 4,85 (ушир., 1H), 4,78 (д, $J=7,0$ Гц, 1H), 4,49-4,46 (м, 1H), 4,32 (д, $J=12,5$ Гц, 1H), 4,23 (д, $J=12,5$ Гц, 1H), 4,03 (тд, $J=11,5, 3,0$ Гц, 1H), 3,89-3,83 (м, 3H), 3,76-3,70 (м, 5H), 3,67-3,59 (м, 34H), 3,53-3,51 (м, 3H), 3,10 (т, $J=10,5$ Гц, 2H), 3,02 (д, $J=4,0$ Гц, 1H), 2,81 (д, $J=3,5$ Гц, 1H), 2,72 (т, $J=5,0$ Гц, 2H), 2,52-2,23 (м, 8H), 2,12 (дт, $J=15,5, 5,0$ Гц, 1H), 1,94-1,89 (м, 3H), 1,81-1,73 (м, 3H), 1,67 (с, 3H), 1,35-1,29 (м, 1H), 1,05 (д, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,88 (с, 3H).

Пример 13

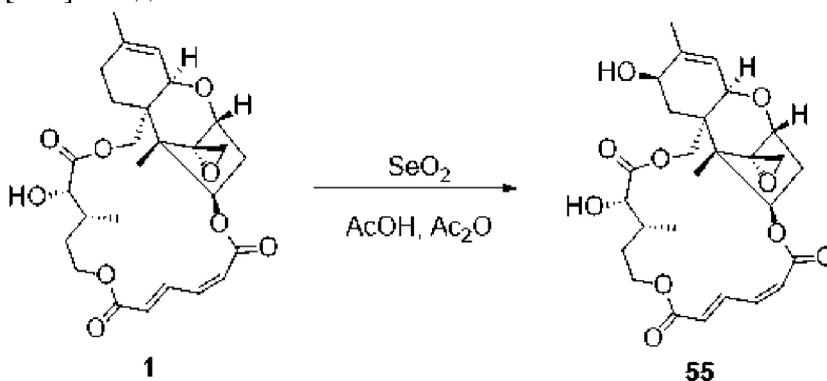
[294] **Соединение 54**



[295] **Соединение 54:** К раствору при 0°C веррукарина А (**1**, 5 мг, 0,01 ммоль) в безводном ТГФ (1 мл) добавляли NaHMDS (11 мкл, 1,0 М в ТГФ, 0,011 ммоль). Желтый раствор перемешивали в течение 5 минут, затем добавляли метилйодид (6,1 мкл, 0,1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 минут, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Реакционную смесь разбавляли насыщенным водным раствором хлорида аммония (1 мл) и водой (1 мл). Смесь экстрагировали дихлорметаном (3×3 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, затем сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью хроматографии на колонке ISCO 4 г silica gold, используя 35% этилацетат/гексаны для получения соединения **54** (5 мг, 97%). МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₂₈H₃₆O₉, 516,2; получено 517,3 (M+H), 539,2 (M+Na). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,02 (дд, *J*=15,6, 11,7 Гц, 1H), 6,67 (т, *J*=11,3 Гц, 1H), 6,16 (д, *J*=11,0 Гц, 1H), 6,05 (д, *J*=15,7 Гц, 1H), 5,80 (дд, *J*=7,9, 3,8 Гц, 1H), 5,45-5,44 (м, 1H), 4,72 (д, *J*=12,2 Гц, 1H), 4,48-4,46 (м, 1H), 4,20 (д, *J*=12,2 Гц, 1H), 4,02 (тд, *J*=11,4, 2,9 Гц, 1H), 3,87 (д, *J*=5,0 Гц, 1H), 3,69 (с, 1H), 3,59 (д, *J*=5,0 Гц, 1H), 3,38 (с, 3H), 3,13 (д, *J*=3,8 Гц, 1H), 2,82 (д, *J*=3,8 Гц, 1H), 2,50 (дд, *J*=15,4, 8,2 Гц, 1H), 2,35-2,33 (м, 1H), 2,23 (дт, *J*=15,4, 4,5 Гц, 1H), 2,02-1,83 (м, 3H), 1,77 (с, 3H), 1,56 (с, 3H), 0,98 (д, *J*=6,9 Гц, 3H), 0,87 (с, 3H).

Пример 14

[296] **Соединение 55**

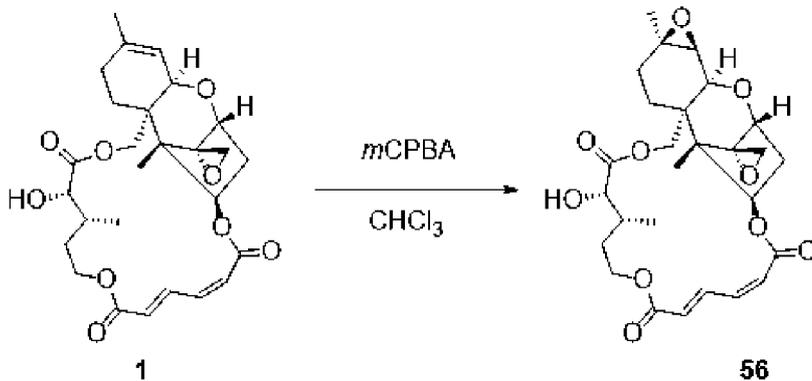


[297] **Соединение 55:** Раствор веррукарина А (**1**, 5 мг, 0,01 ммоль) и SeO₂ в 1:1 об./об. AcOH-Ac₂O (1 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 1 часа. Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и концентрировали досуха. Остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке 30×150 мм

Gemini, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **55** (3 мг, 58%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₂₇H₃₄O₁₀, 518,2; получено 519,2 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,05 (дд, *J*=15,2, 12,0 Гц, 1H), 6,69 (т, *J*=11,3 Гц, 1H), 6,16 (д, *J*=11,1 Гц, 1H), 6,06 (д, *J*=15,5 Гц, 1H), 5,77 (дд, *J*=8,1, 4,0 Гц, 1H), 5,53 (д, *J*=4,9 Гц, 1H), 4,73 (д, *J*=12,2 Гц, 1H), 4,54-4,51 (м, 1H), 4,29 (д, *J*=12,0 Гц, 1H), 4,18 (д, *J*=1,1 Гц, 1H), 4,04-3,97 (м, 2H), 3,90 (д, *J*=5,1 Гц, 1H), 3,59 (д, *J*=4,8 Гц, 1H), 3,15 (д, *J*=3,7 Гц, 1H), 2,85 (д, *J*=3,7 Гц, 1H), 2,48 (дд, *J*=15,3, 7,8 Гц, 1H), 2,39-2,35 (м, 1H), 2,26 (м, 1H), 2,18 (дд, *J*=8,7, 3,2 Гц, 1H), 2,11 (дд, *J*=12,5, 6,4 Гц, 1H), 1,99-1,93 (м, 1H), 1,89-1,86 (м, 4H), 1,85-1,77 (м, 2H), 0,89 (д, *J*=6,7 Гц, 3H), 0,87 (с, 3H).

Пример 15

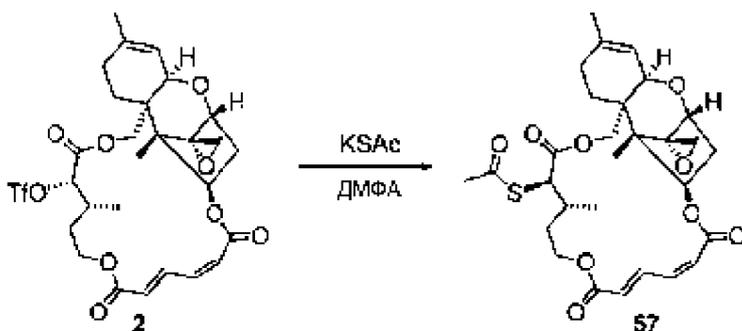
[298] Соединение **56**



[299] Соединение **56**: К раствору веррукарина А (**1**, 5 мг, 0,01 ммоль) в безводном хлороформе (0,5 мл) добавляли *m*-CPBA (1,9 мг, 0,011 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 24 часов, затем летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке 30×150 мм Gemini, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **56** (3,5 мг, 68%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₂₇H₃₄O₁₀, 518,2; получено 519,2 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,06 (дд, *J*=15,6, 11,8 Гц, 1H), 6,69 (т, *J*=11,3 Гц, 1H), 6,15 (д, *J*=11,1 Гц, 1H), 6,05 (д, *J*=15,7 Гц, 1H), 5,78 (дд, *J*=7,9, 4,0 Гц, 1H), 4,67 (д, *J*=12,1 Гц, 1H), 4,54-4,51 (м, 1H), 4,28 (д, *J*=12,2 Гц, 1H), 4,16 (с, 1H), 4,00-3,96 (м, 1H), 3,96 (д, *J*=4,8 Гц, 1H), 3,55 (д, *J*=4,2 Гц, 1H), 3,17 (д, *J*=3,6 Гц, 1H), 3,12 (д, *J*=5,2 Гц, 1H), 2,76 (д, *J*=3,5 Гц, 1H), 2,67-2,64 (м, 1H), 2,46 (дд, *J*=15,4, 8,3 Гц, 1H), 2,36 (т, *J*=5,8 Гц, 1H), 2,24 (дт, *J*=15,3, 4,4 Гц, 1H), 2,19 (с, 1H), 1,98-1,91 (м, 2H), 1,83-1,70 (м, 2H), 1,59-1,52 (м, 1H), 1,41 (с, 3H), 0,91 (д, *J*=6,7 Гц, 3H), 0,80 (с, 3H).

Пример 16

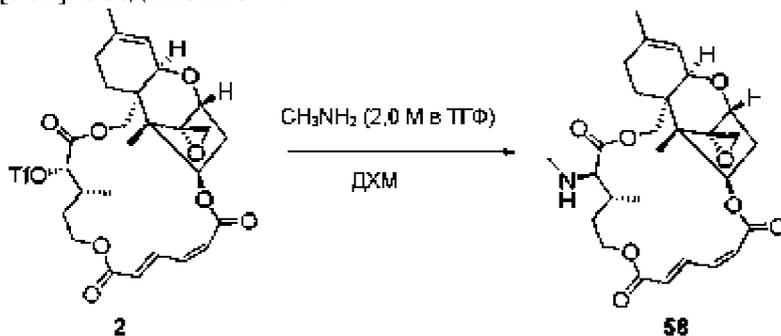
[300] Соединение **57**



[301] **Соединение 57:** К раствору трифлата веррукарина А (**2**, 5,0 мг, 0,0079 ммоль) в ДМФА (0,1 мл) в атмосфере аргона добавляли тиоацетат калия (2,7 мг, 0,0236 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут, после чего ЖХМС показала полное израсходование исходного материала. Реакционную смесь разводили EtOAc (1 мл) и промывали 1:1 солевым раствором/H₂O (1 мл). Водный слой экстрагировали EtOAc (2×1 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (1 мл), затем сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. В результате хроматографии на колонке ISCO 4 г Silica Gold, элюируя EtOAc/гексанами (0-100%), получали соединение **57** (4,4 мг, количественно) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₂₉H₃₆O₉S, 560,21; получено 561,2 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,05-8,00 (м, 1H), 6,69-6,64 (м, 1H), 6,15-6,13 (м, 1H), 6,03 (д, J=15,5 Гц, 1H), 5,78-5,76 (м, 1H), 5,41 (д, J=1,3 Гц, 1H), 4,55 (д, J=11,8 Гц, 1H), 4,49-4,46 (м, 1H), 4,20 (д, J=12,0 Гц, 1H), 3,98-3,95 (м, 2H), 3,85 (с, 1H), 3,56 (т, J=0,6 Гц, 1H), 3,13 (с, 1H), 2,85 (с, 1H), 2,52-2,47 (м, 1H), 2,37 (с, 3H), 2,31-2,26 (м, 1H), 2,22-2,16 (м, 2H), 1,98-1,83 (м, 3H), 1,80-1,74 (м, 4H), 1,33-1,25 (м, 1H), 1,13 (д, J=5,4 Гц, 3H), 0,89-0,86 (м, 3H).

Пример 17

[302] **Соединение 58**

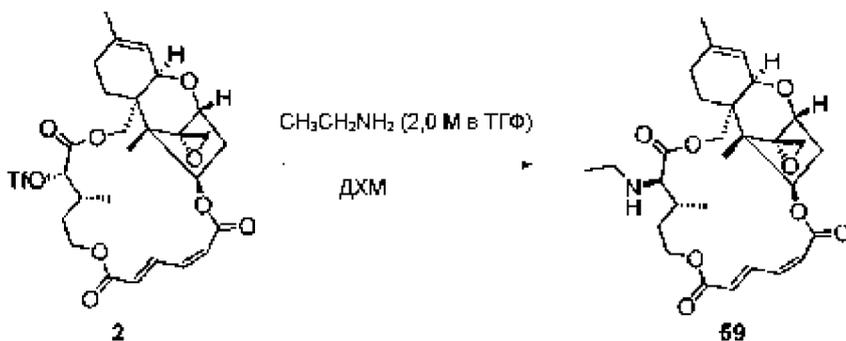


[303] **Соединение 58:** К раствору трифлата веррукарина А (**2**, 8 мг, 0,012 ммоль) в ДХМ (2 мл) при комнатной температуре добавляли метиламин (2 М в ТГФ, 2 мл, 4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут, после чего анализ ЖХМС показал ~40% превращение в желаемый продукт. Реакционную смесь концентрировали *in vacuo*, повторно растворяли в ДХМ (2 мл) и добавляли дополнительный раствор метиламина (2 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов, затем процесс повторяли. В тот момент ЖХМС показала, что реакция была завершена. Летучие вещества удаляли *in vacuo*. Остаток растворяли в ДМФА (0,5 мл), вводили в колонку ISCO 5,5 г

C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **58** (3,2 мг, 49%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₂₈H₃₇NO₈, 515,3; получено 516,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,11 (дд, J=15,5, 11,6 Гц, 1H), 6,70 (т, J=11,3 Гц, 1H), 6,15 (д, J=11,1 Гц, 1H), 6,06 (д, J=15,6 Гц, 1H), 5,84-5,82 (м, 1H), 5,46 (дд, J=3,1, 1,0 Гц, 1H), 4,65 (д, J=12,2 Гц, 1H), 4,55-4,52 (м, 1H), 4,17 (д, J=12,3 Гц, 1H), 4,04-3,99 (м, 1H), 3,89 (д, J=5,1 Гц, 1H), 3,61 (д, J=4,6 Гц, 1H), 3,15 (д, J=3,8 Гц, 1H), 2,88-2,84 (м, 2H), 2,54-2,49 (м, 3H), 2,42 (с, 3H), 2,27-2,22 (м, 1H), 2,00-1,95 (м, 4H), 1,77-1,75 (м, 1H), 1,46 (с, 3H), 1,28-1,24 (м, 1H), 1,03 (д, J=6,6 Гц, 3H), 0,90 (с, 3H).

Пример 18

[304] Соединение **59**



[305] Соединение **59**: К раствору трифлата веррукарина А (**2**, 6,3 мг, 0,01 ммоль) в ТГФ (1 мл) при комнатной температуре добавляли этиламин (2 М в ТГФ, 1 мл), и реакционную смесь перемешивали в течение 18 часов, после чего ЖХМС показала полное израсходование трифлата. Летучие вещества удаляли в вакууме. Остаток растворяли в ДМФА (0,5 мл) и вводили в колонку ISCO 5,5 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **59** (3,4 мг, 64%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₂₉H₃₉NO₈, 529,3; получено 530,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,11 (дд, J=15,7, 11,8 Гц, 1H), 6,70 (т, J=11,3 Гц, 1H), 6,15 (д, J=11,0 Гц, 1H), 6,06 (д, J=15,7 Гц, 1H), 5,83 (дд, J=7,9, 3,8 Гц, 1H), 5,46 (д, J=4,1 Гц, 1H), 4,62 (д, J=12,2 Гц, 1H), 4,55-4,52 (м, 1H), 4,17 (д, J=12,3 Гц, 1H), 4,02 (д, J=2,1 Гц, 1H), 3,89 (д, J=5,0 Гц, 1H), 3,61 (д, J=4,7 Гц, 1H), 3,15 (д, J=3,9 Гц, 1H), 2,95 (д, J=10,0 Гц, 1H), 2,84 (д, J=3,9 Гц, 1H), 2,63-2,49 (м, 4H), 2,25-2,23 (м, 1H), 2,02-1,95 (м, 4H), 1,77 (с, 3H), 1,69 (д, J=8,1 Гц, 1H), 1,26-1,23 (м, 1H), 1,12 (т, J=7,1 Гц, 3H), 1,02 (д, J=6,6 Гц, 3H), 0,90 (с, 3H).

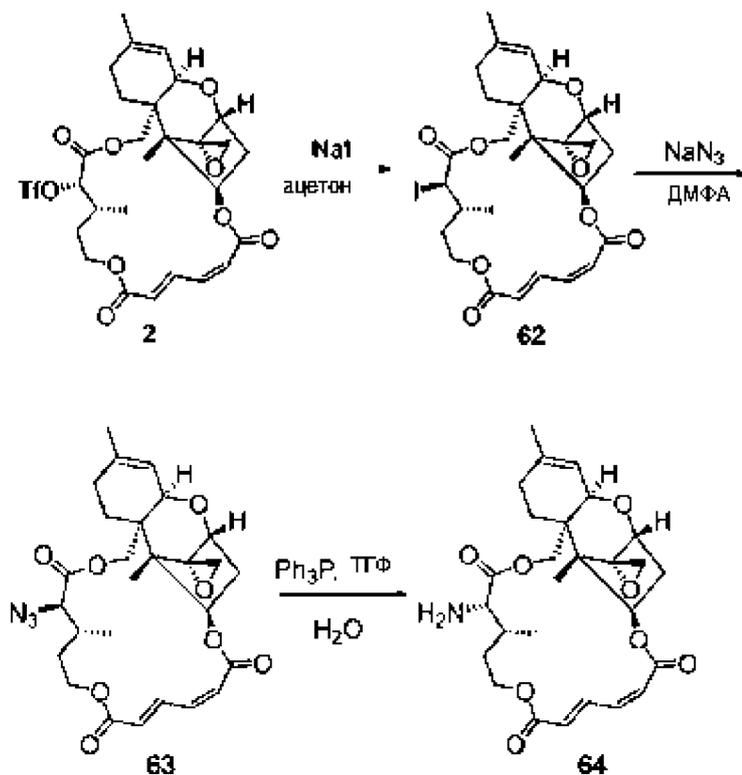
Пример 19

[306] Соединение **60**

неочищенным. Неочищенный продукт хроматографировали на колонке ISCO 4 г Silica, элюируя градиентом MeOH/ДХМ (0-10%). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и концентрировали с получением соединения **61** в виде белого твердого вещества (1,8 мг, 20%). МС (ИЭР, пол.): расчет. для $C_{32}H_{44}N_2O_8$, 584,3; получено 585,3 (M+H). 1H ЯМР (300 МГц; $CDCl_3$) δ 8,09 (дд, $J=15,7, 11,6$ Гц, 1H), 6,67 (т, $J=11,5$ Гц, 1H), 6,14 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 6,04 (д, $J=15,7$ Гц, 1H), 5,82 (дд, $J=8,1, 3,8$ Гц, 1H), 5,42-5,41 (м, 1H), 4,80 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 4,53-4,48 (м, 1H), 4,08-3,96 (м, 2H), 3,85 (д, $J=5,0$ Гц, 1H), 3,65-3,51 (м, 2H), 3,10 (д, $J=3,9$ Гц, 1H), 2,99 (д, $J=11,2$ Гц, 1H), 2,83 (д, $J=3,8$ Гц, 1H), 2,66-2,52 (м, 4H), 2,52-2,29 (м, 6H), 2,28-2,22 (м, 4H), 2,22-2,11 (м, 2H), 2,05-1,77 (м, 6H), 1,75 (с, 3H), 0,99 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 0,85 (с, 3H).

Пример 21

[310] Соединение **64**



[311] Соединение **62**: К раствору трифлата веррукарина А (**2**, 24 мг, 0,0378 ммоль) в ацетоне (0,4 мл) добавляли йодид натрия (9 мг, 0,0600 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12,5 часов, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Реакционную смесь разбавляли EtOAc (2 мл) и промывали H₂O (1 мл). Водный слой экстрагировали EtOAc (3×1 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (2 мл), затем сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. В результате хроматографии на колонке ISCO 5,5 г C18Aq, элюируя 20-80% MeCN в H₂O (оба содержат 0,05% HOAc), получали соединение **62** (11 мг, 43%). МС (ИЭР, пол.): расчет. для $C_{27}H_{33}IO_8$, 612,12; получено 613,1 (M+H), 635,1 (M+Na).

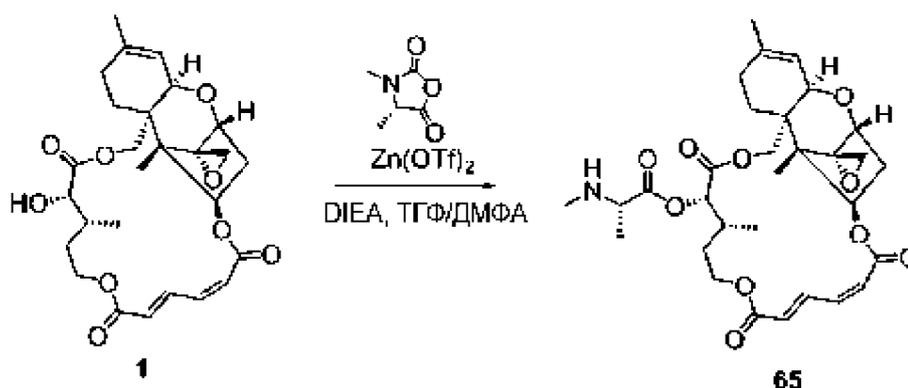
[312] Соединение **63**: К раствору соединения **62** (11 мг, 0,0178 ммоль) в ДМФА

(0,175 мл) добавляли азид натрия (3,5 мг, 0,0538 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов, затем разбавляли EtOAc (1 мл) и промывали H₂O (1 мл). Водный слой экстрагировали EtOAc (3×1 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (1 мл), затем сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. В результате хроматографии на колонке ISCO 4 г Silica, элюируя EtOAc/гексанами, получали соединение **63** (6 мг, 64%). МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₂₇H₃₃N₃O₈, 527,23; получено 528,3 (M+H).

[313] **Соединение 64**: К раствору соединения **63** (6 мг, 0,011 ммоль) в ТГФ (1 мл) добавляли трифенилфосфин (6 мг, 0,023 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. К реакционной смеси добавляли ДИ воду (0,2 мл) и смесь нагревали в алюминиевом блоке 45°C в течение 4,5 часов. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь концентрировали *in vacuo*. Продукт очищали с помощью хроматографии на колонке ISCO 5,5 г C18Aq, элюируя 5-100% MeCN в H₂O (оба содержат 0,05% HOAc). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и лиофилизировали с получением (S)-амино-веррукарин А (**64**, 2 мг, 36%) в виде рыхлого белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₂₇H₃₅NO₆, 501,24; получено 502,2 (M+H). ¹H ЯМР (300 МГц; CDCl₃) δ 8,01 (дд, J=15,7, 11,6 Гц, 1H), 6,66 (т, J=11,3 Гц, 1H), 6,16 (д, J=10,6 Гц, 1H), 6,04 (д, J=15,7 Гц, 1H), 5,79 (дд, J=8,0, 3,9 Гц, 1H), 5,44-5,42 (м, 1H), 4,66 (д, J=12,1 Гц, 1H), 4,51-4,44 (м, 1H), 4,17 (д, J=12,1 Гц, 1H), 4,04-3,95 (м, 1H), 3,86 (д, J=5,0 Гц, 1H), 3,65 (д, J=4,3 Гц, 1H), 3,57 (д, J=5,4 Гц, 1H), 3,44 (д, J=2,1 Гц, 1H), 3,12 (д, J=3,9 Гц, 1H), 2,81 (д, J=4,0 Гц, 1H), 2,49 (дд, J=15,4, 8,2 Гц, 1H), 2,41-2,36 (м, 1H), 2,22 (дт, J=15,6, 4,6 Гц, 1H), 1,99-1,74 (м, 7H), 1,74 (с, 3H), 0,88 (д, J=6,8 Гц, 3H) перекрывающиеся 0,87 (с, 3H).

Пример 22

[314] **Соединение 65**

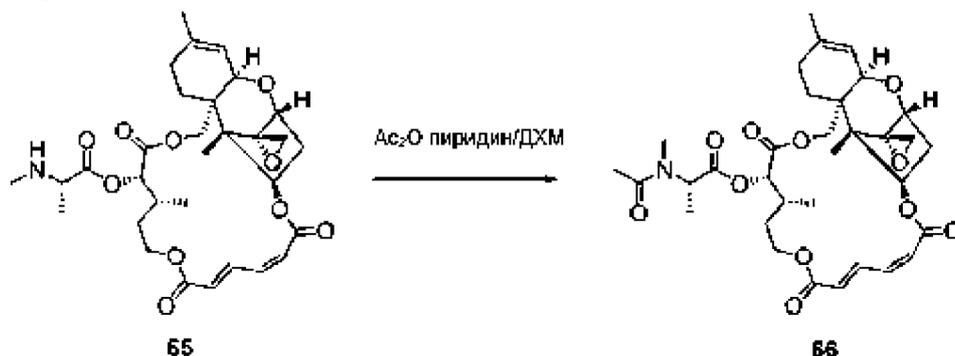


[315] **Соединение 65**: Веррукарин А (**1**, 5 мг, 0,01 ммоль) в небольшом флаконе сушили азеотропной перегонкой с толуолом (2×3 мл). Во флакон, содержащий веррукарин А в перчаточном боксе, добавляли (S)-3,4-диметилксазолидин-2,5-дион (9 мг, 0,07 ммоль), ТГФ (0,6 мл) и ДМФА (0,2 мл). Добавляли N, N-диизопропилэтиламин (11 мкл, 0,06 ммоль) с последующим добавлением трифлата цинка (11 мг, 0,03 ммоль). Реакционный флакон извлекали из перчаточного бокса и перемешивали в атмосфере

аргона в течение 22 часов, после чего по данным ЖХ-МС реакция была завершена. Реакцию гасили водой (0,3 мл) и перемешивали в течение 5 минут, затем вводили в колонку ISCO 15,5 г C18Aq и элюировали, используя 5-40% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **65** (4,9 мг, 85%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₃₁H₄₁NO₁₀, 587,3; получено 588,2 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,04 (дд, J=15,4, 11,9 Гц, 1H), 6,69 (т, J=11,3 Гц, 1H), 6,19 (д, J=11,1 Гц, 1H), 6,07 (д, J=15,6 Гц, 1H), 5,82 (дд, J=7,8, 3,3 Гц, 1H), 5,42 (д, J=3,9 Гц, 1H), 4,88 (с, 1H), 4,69 (д, J=12,0 Гц, 1H), 4,49 (д, J=10,9 Гц, 1H), 4,23-4,20 (м, 1H), 4,03 (т, J=11,1 Гц, 1H), 3,88 (д, J=5,0 Гц, 1H), 3,58 (д, J=4,9 Гц, 1H), 3,41-3,36 (м, 1H), 3,15-3,14 (м, 1H), 2,84-2,83 (м, 1H), 2,56-2,47 (м, 2H), 2,44 (с, 3H), 2,25 (дт, J=15,2, 4,6 Гц, 1H), 2,05-2,02 (м, 1H), 1,96-1,84 (м, 4H), 1,75 (д, J=6,2 Гц, 3H), 1,73-1,68 (м, 1H), 1,40 (д, J=7,0 Гц, 3H), 1,07 (д, J=6,8 Гц, 3H), 0,89 (с, 3H).

Пример 23

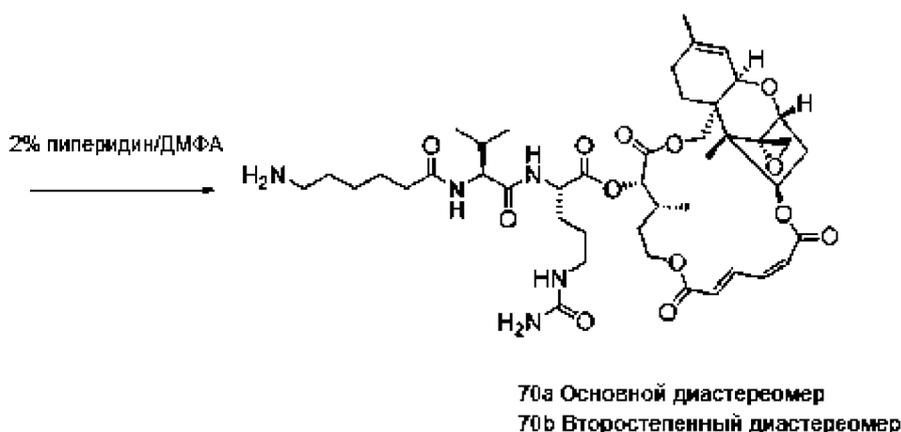
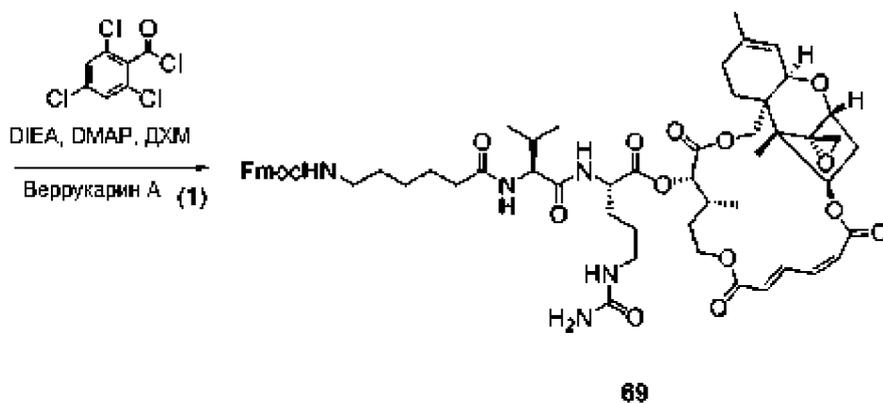
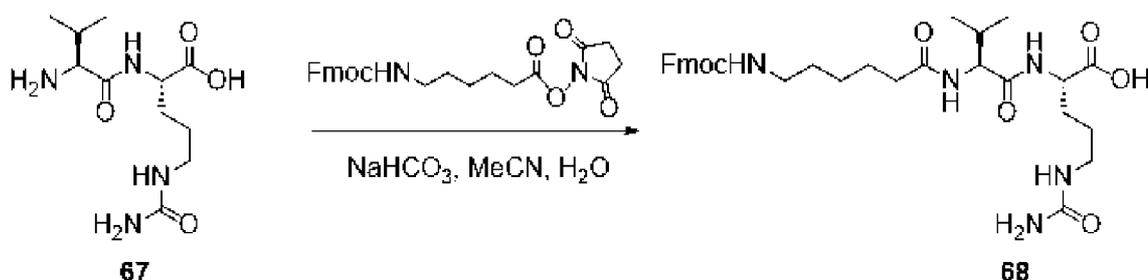
[316] Соединение 66



[317] **Соединение 66:** К раствору соединения **65** (3,8 мг, 0,0065 ммоль) в ДХМ (1 мл) при 0°С добавляли пиридин (1 мл) и уксусный ангидрид (6,6 мкл, 0,065 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 10 минут при 0°С, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Летучие вещества удаляли *в вакууме*. Остаток растворяли в ДМФА (0,5 мл) и очищали на колонке ISCO 5,5 г C18Aq, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **66** (2,6 мг, 65%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₃₃H₄₃NO₁₁, 629,3; получено 630,3 (M+H), 652,3 (M+Na). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,01 (дд, J=15,6, 11,7 Гц, 1H), 6,68 (т, J=11,4 Гц, 1H), 6,18 (д, J=11,1 Гц, 1H), 6,06 (д, J=15,8 Гц, 1H), 5,81 (дд, J=7,1, 3,1 Гц, 1H), 5,43 (д, J=3,0 Гц, 1H), 5,20 (к, J=7,3 Гц, 1H), 4,82 (с, 1H), 4,69 (д, J=12,2 Гц, 1H), 4,47 (дд, J=11,4, 1,0 Гц, 1H), 4,22 (д, J=11,9 Гц, 1H), 4,05-4,00 (м, 1H), 3,87 (д, J=4,8 Гц, 1H), 3,58 (д, J=4,9 Гц, 1H), 3,14 (д, J=3,5 Гц, 1H), 3,01 (с, 3H), 2,84 (с, 2H), 2,63 (с, 1H), 2,49 (дд, J=15,3, 8,2 Гц, 2H), 2,26-2,22 (м, 1H), 2,14 (с, 3H), 2,05-2,01 (м, 1H), 1,95-1,83 (м, 2H), 1,75 (с, 3H), 1,70-1,63 (м, 1H), 1,51 (д, J=7,3 Гц, 3H), 1,04 (д, J=6,9 Гц, 3H), 0,88 (с, 3H).

Пример 24

[318] Соединение 70a и соединение и 70b



[319] **Соединение 68**: К раствору N-гидроксисукцинимидного эфира Fmoc-6-аминогексановой кислоты (150 мг, 0,33 ммоль) и ТФУ-соли Val-Cit-OH (**67**, 127 мг, 0,33 ммоль) в ацетонитриле (3 мл) и воде (2 мл) добавляли насыщенный водный раствор NaHCO_3 (1 мл) при комнатной температуре. После перемешивания в течение 18 часов pH доводили до ~6 путем добавления уксусной кислоты. Реакционную смесь очищали на колонке ISCO 50 г C18Aq, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **68** (133 мг, 66%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₃₂H₄₃N₅O₇, 609,3; получено 610,3 (M+H).

[320] **Соединение 69**: К раствору соединения **68** (39,6 мг, 0,065 ммоль) и N, N-диизопропилэтиламина (15,6 мкл, 0,09 ммоль) в ДХМ (1 мл) при 0°C по каплям добавляли 2,4,6-трихлорбензоилхлорид (11 мкл, 0,07 ммоль) и раствор перемешивали в течение 1 часа при 0°C. К полученному раствору добавляли раствор ДХМ (1 мл) DMAP (9,2 мг, 0,075 ммоль), затем раствор ДХМ (1 мл) веррукарин А (**1**, 25 мг, 0,05 ммоль) при 0°C.

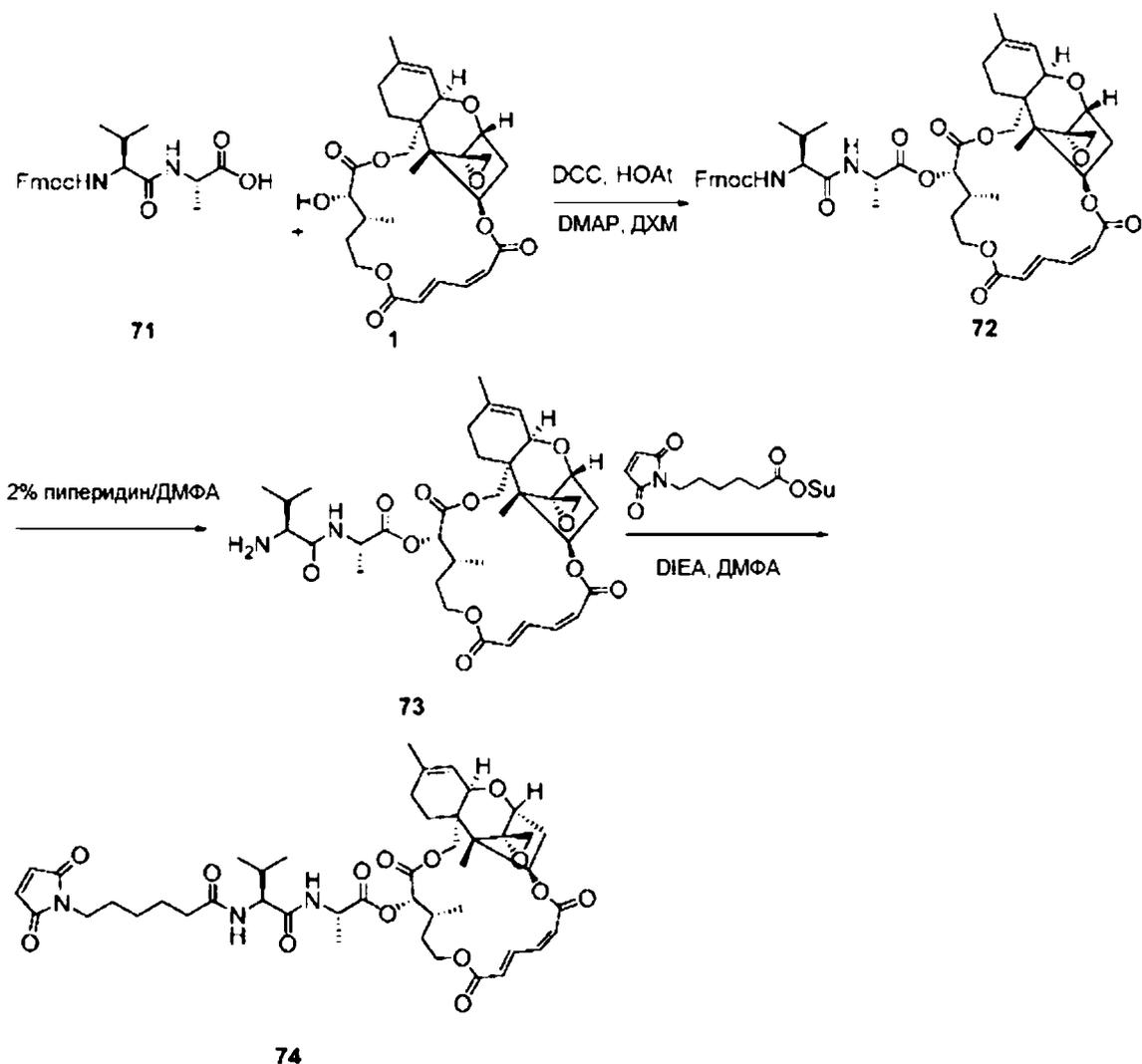
Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. Летучие вещества удаляли *in vacuo*. Остаток растворяли в ДМФА (1 мл) и очищали на колонке ISCO 50 г C18Aq, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Фракции, содержащие непрореагировавшее **1**, объединяли и лиофилизировали для восстановления 14 мг (56%) веррукарин А. Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **69** (10 мг, 42% BRSM) в виде почти белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₅₉H₇₅N₅O₁₅, 1093,5; получено 1094,2 (M+H), 1116,0 (M+Na).

[321] **Соединение 70a**: К раствору соединения **69** (25 мг, 0,023 ммоль) в ДМФА (1,5 мл) при комнатной температуре добавляли раствор 5% пиперидина в ДМФА (0,5 мл) и реакцию перемешивали в течение 30 минут. Два изомера (29:71 при 254 нм) наблюдали посредством ЖХ/МС. Реакционную смесь непосредственно вводили в колонку ISCO 15 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции, содержащие основной изомер, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **70a** (10,1 мг, 51%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₄₄H₆₅N₅O₁₃, 871,5; получено 872,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,02 (дд, J=15,3, 11,5 Гц, 1H), 7,83-7,79 (м, 1H), 7,19-7,14 (м, 1H), 6,71-6,66 (м, 1H), 6,18 (д, J=11,0 Гц, 1H), 6,07 (с, 1H), 5,99-5,96 (м, 1H), 5,81-5,78 (м, 1H), 5,42-5,41 (м, 2H), 4,87 (с, 1H), 4,66-4,59 (м, 2H), 4,49-4,45 (м, 1H), 4,27 (т, J=8,0 Гц, 1H), 4,22 (д, J=12,8 Гц, 1H), 4,01 (т, J=11,2 Гц, 1H), 3,87 (д, J=4,6 Гц, 1H), 3,57 (д, J=3,9 Гц, 1H), 3,18-3,12 (м, 7H), 2,83 (д, J=3,2 Гц, 3H), 2,50 (тд, J=14,7, 8,1 Гц, 2H), 2,23 (дт, J=10,1, 4,9 Гц, 3H), 2,09-1,81 (м, 9H), 1,76 (с, 3H), 1,64-1,59 (м, 5H), 1,37 (дд, J=12,9, 6,6 Гц, 2H), 1,04 (д, J=6,6 Гц, 3H), 0,98 (т, J=7,2 Гц, 6H), 0,87 (с, 3H).

[322] **Соединение 70b**: Смешанные фракции из ОФ-очистки лиофилизировали, затем повторно очищали на колонке ISCO 15 г C18Aq, элюируя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции, содержащие второстепенный диастереомер, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **70b** (6,1 мг, 31%). МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₄₄H₆₅N₅O₁₃, 871,5; получено 872,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,00 (дд, J=14,0, 12,6 Гц, 1H), 7,84-7,81 (м, 1H), 6,99-6,93 (м, 1H), 6,68 (т, J=11,3 Гц, 1H), 6,17 (дд, J=11,1, 0,8 Гц, 1H), 6,06-6,03 (м, 1H), 5,94-5,86 (м, 1H), 5,82-5,77 (м, 1H), 5,41 (тд, J=1,9, 0,8 Гц, 1H), 5,21-5,09 (м, 1H), 4,85 (т, J=1,7 Гц, 1H), 4,66-4,62 (м, 1H), 4,59-4,56 (м, 1H), 4,46-4,42 (м, 1H), 4,29-4,19 (м, 2H), 4,00-3,98 (м, 1H), 3,86 (тд, J=1,7, 0,8 Гц, 1H), 3,56 (ддд, J=4,0, 1,5, 0,8 Гц, 1H), 3,24-3,22 (м, 1H), 3,15-3,11 (м, 2H), 2,82 (м, 4H), 2,51-2,47 (м, 6H), 2,33-2,14 (м, 6H), 1,94-1,85 (м, 8H), 1,74 (м, 4H), 1,42-1,38 (м, 3H), 1,27 (с, 2H), 1,03-0,96 (м, 6H), 0,86 (д, J=0,4 Гц, 3H).

Пример 25

[323] **Соединение 74**



[324] **Соединение 72:** К смеси Fmoc-Val-Ala-OH (**71**, 10,3 мг, 0,025 ммоль), веррукарин А (**1**, 12,5 мг, 0,025 ммоль), *N, N*-дициклогексилкарбодиимида (10,3 мг, 0,05 ммоль), 1-гидрокси-7-азабензотриазола (3,5 мг, 0,025 ммоль) и DMAP (3,1 мг, 0,025 ммоль) добавляли безводный дихлорметан (1 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч, затем концентрировали *in vacuo* и очищали на колонке ISCO 15,5 г C18Aq, используя 5-100% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **72** (15 мг, 48%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₅₀H₅₈N₂O₁₃, 894,4; получено 895,2 (M+H), 917,3 (M+Na).

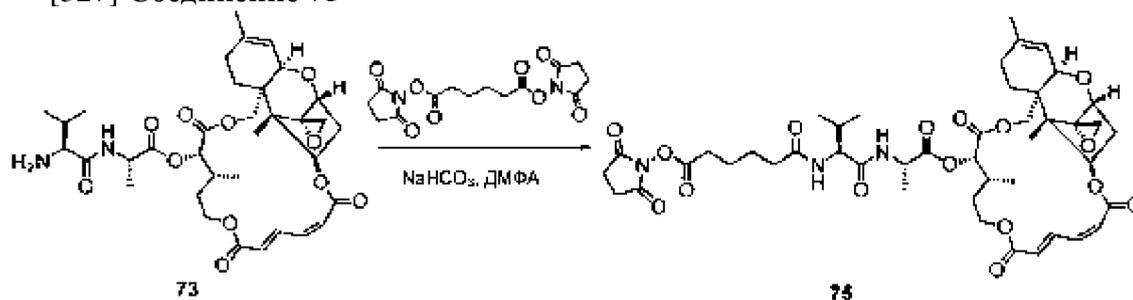
[325] **Соединение 73:** К раствору соединения **72** (14 мг, 0,015 ммоль) в ДМФА (0,5 мл) добавляли раствор 5% пиперидина в ДМФА (0,3 мл) и реакцию перемешивали в течение 30 минут. Реакционный раствор непосредственно вводили в колонку ISCO 15,5 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **73** (9 мг, 76%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₃₅H₄₈N₂O₁₁, 672,3; получено 873,2 (M+H).

[326] **Соединение 74:** К раствору соединения **73** (9 мг, 0,012 ммоль) и *N*-

гидроксисукцинимидного эфира 6-малеимидокапроновой кислоты (8,7 мг, 0,027 ммоль) в безводном ДМФА при 0°C добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь непосредственно вводили в колонку ISCO 15,5 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **74** (9 мг, 75%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₄₅H₅₉N₃O₁₄, 865,4; получено 866,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,03 (дд, *J*=15,7, 11,6 Гц, 1H), 6,69 (к, *J*=7,1 Гц, 3H), 6,41 (д, *J*=6,9 Гц, 1H), 6,18 (д, *J*=11,0 Гц, 1H), 6,07-6,03 (м, 2H), 5,81 (дд, *J*=7,8, 3,9 Гц, 1H), 5,42 (д, *J*=4,9 Гц, 1H), 4,89 (д, *J*=1,6 Гц, 1H), 4,75-4,66 (м, 2H), 4,49-4,46 (м, 1H), 4,31 (дд, *J*=8,5, 6,7 Гц, 1H), 4,22 (дд, *J*=12,3, 4,6 Гц, 1H), 4,03-3,98 (м, 1H), 3,88 (д, *J*=5,1 Гц, 1H), 3,58 (д, *J*=4,7 Гц, 1H), 3,54 (д, *J*=7,1 Гц, 2H), 3,14 (д, *J*=3,8 Гц, 1H), 2,83 (т, *J*=4,1 Гц, 1H), 2,51 (тд, *J*=16,2, 7,5 Гц, 2H), 2,27-2,21 (м, 3H), 2,10 (дт, *J*=13,0, 6,4 Гц, 1H), 2,06-2,01 (м, 1H), 1,93 (т, *J*=10,7 Гц, 2H), 1,82 (д, *J*=19,5 Гц, 1H), 1,77 (с, 3H), 1,69 (дт, *J*=14,3, 7,3 Гц, 3H), 1,62 (т, *J*=7,5 Гц, 4H), 1,49 (д, *J*=7,1 Гц, 2H), 1,35 (к, *J*=7,7 Гц, 2H), 1,05 (т, *J*=5,6 Гц, 3H), 0,97 (к, *J*=7,1 Гц, 6H), 0,87 (с, 3H).

Пример 26

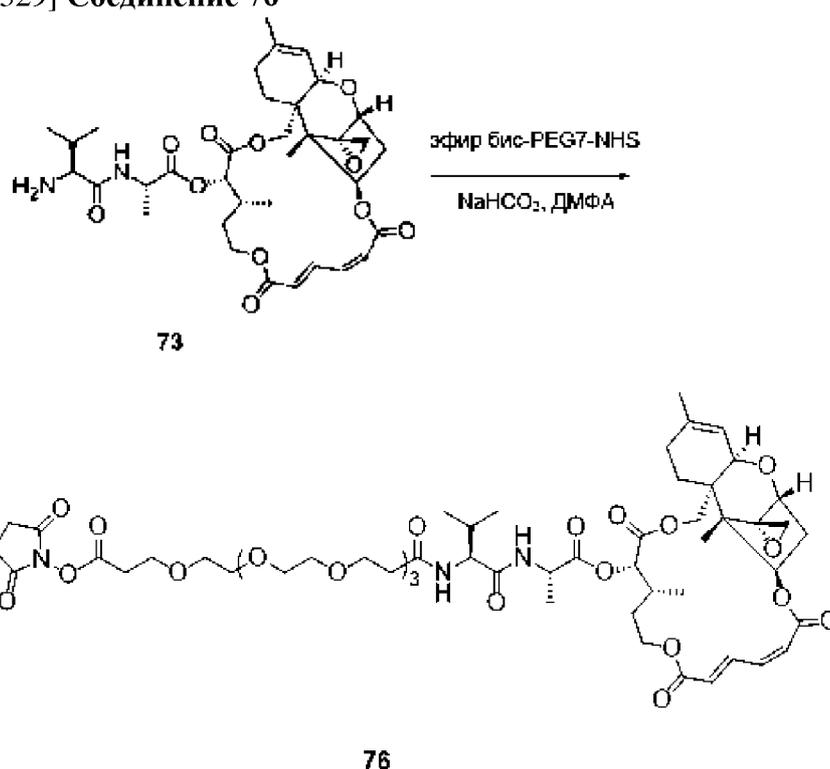
[327] Соединение 75



[328] Соединение 75: Смесь соединения **73** (9 мг, 0,012 ммоль), NaHCO₃ (3 мг, 0,036 ммоль) и бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) адипата (77,4 мг, 0,24 ммоль) в безводном ДМФА (1 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут. ЖХМС показала, что реакция завершилась. Реакционную смесь вводили в колонку ISCO 15,5 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **75** (9,7 мг, 95%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₄₅H₅₉N₃O₁₆, 897,4; получено 898,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,03 (дд, *J*=15,7, 11,6 Гц, 1H), 6,68 (т, *J*=11,4 Гц, 1H), 6,48 (д, *J*=7,0 Гц, 1H), 6,17 (т, *J*=9,4 Гц, 2H), 6,06 (д, *J*=15,7 Гц, 1H), 5,81 (дд, *J*=8,1, 4,0 Гц, 1H), 5,43-5,42 (м, 1H), 4,89 (д, *J*=1,9 Гц, 1H), 4,74 (т, *J*=7,1 Гц, 1H), 4,68 (дд, *J*=11,8, 3,7 Гц, 1H), 4,49-4,45 (м, 1H), 4,31 (дд, *J*=8,5, 6,5 Гц, 1H), 4,25-4,20 (м, 1H), 4,01 (тд, *J*=11,7, 3,0 Гц, 1H), 3,88 (д, *J*=5,1 Гц, 1H), 3,58 (д, *J*=4,9 Гц, 1H), 3,14 (д, *J*=3,9 Гц, 1H), 2,86-2,83 (м, 6H), 2,68-2,64 (м, 2H), 2,54-2,47 (м, 2H), 2,33-2,30 (м, 2H), 2,27-2,22 (м, 1H), 2,19-2,11 (м, 1H), 2,05-2,00 (м, 1H), 1,92 (д, *J*=10,1 Гц, 2H), 1,84-1,81 (м, 6H), 1,77 (с, 3H), 1,48 (д, *J*=7,1 Гц, 3H), 1,04 (д, *J*=6,8 Гц, 3H), 0,96 (дд, *J*=8,7, 6,9 Гц, 6H), 0,87 (с, 3H).

Пример 27

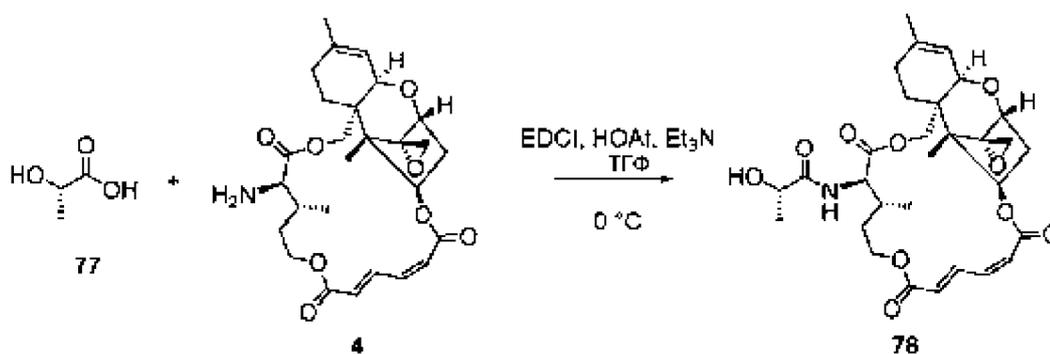
[329] Соединение 76



[330] **Соединение 76:** Смесь соединения **73** (7,4 мг, 0,0094 ммоль), эфира бис-PEG-7-NHS (87,4 мг, 0,14 ммоль) и NaHCO₃ (2,3 мг, 0,028 ммоль) в безводном ДМФА (2 мл) перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре. Неочищенную реакционную смесь вводили в колонку ISCO 15,5 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **76** (5 мг, 45%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₅₇H₈₃N₃O₂₃, 1177,5; получено 1178,5 (M+H). ¹H-ЯМР (300 МГц; CDCl₃): δ 8,05 (дд, J=15,3, 12,1 Гц, 1H), 6,92-6,89 (м, 1H), 6,70 (т, J=11,3 Гц, 2H), 6,20 (д, J=11,1 Гц, 1H), 6,08 (д, J=15,4 Гц, 1H), 5,84-5,80 (м, 1H), 5,45-5,43 (м, 1H), 4,91-4,88 (м, 1H), 4,76-4,66 (м, 2H), 4,52-4,45 (м, 1H), 4,34-4,21 (м, 2H), 4,07-3,98 (м, 1H), 3,88 (т, J=6,2 Гц, 3H), 3,79 (т, J=5,6 Гц, 3H), 3,74 (с, 24H), 3,59 (д, J=5,1 Гц, 1H), 3,16 (д, J=4,0 Гц, 1H), 2,96-2,85 (м, 5H), 2,58-2,47 (м, 4H), 2,30 (д, J=1,1 Гц, 2H), 2,30-2,20 (м, 3H), 2,09-1,81 (м, 4H), 1,81-1,76 (м, 3H), 1,55-1,48 (м, 3H), 1,06 (д, J=6,8 Гц, 3H), 0,99 (т, J=6,3 Гц, 6H), 0,89 (с, 3H).

Пример 28

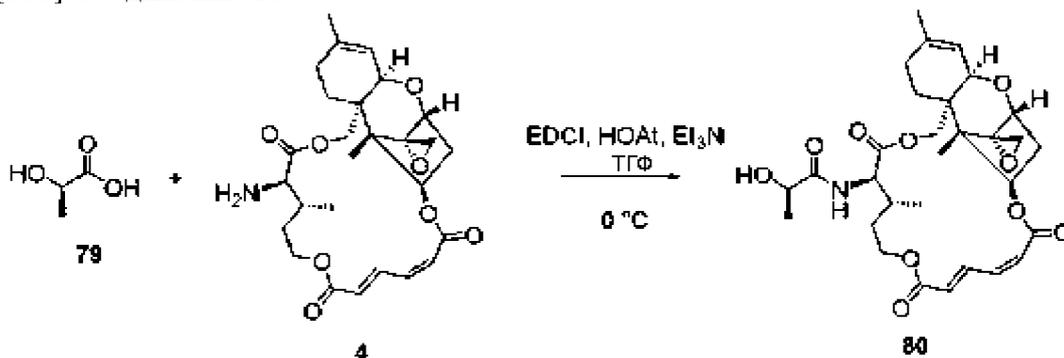
[331] Соединение 78



[332] **Соединение 78**: К раствору соединения **4** (5 мг, 0,01 ммоль) и L-молочной кислоты (**77**, 0,9 мг, 0,01 ммоль) в безводном ТГФ (0,5 мл) при 0 °С добавляли EDCI (2,9 мг, 0,015 ммоль), HOAt (2,0 мг, 0,015 ммоль) и триэтиламин (4,2 мкл, 0,03 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов, затем летучие вещества удаляли в вакууме. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ на колонке 30×150 мм Gemini, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% уксусную кислоту). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **78** в виде рыхлого белого твердого вещества (4,9 мг, 86%). МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₃₀H₃₉NO₁₀, 573,3; получено 574,2 (М+Н) ¹Н-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,11-8,06 (м, 1Н), 6,93 (д, J=8,9 Гц, 1Н), 6,69 (т, J=10,9 Гц, 1Н), 6,15 (д, J=11,1 Гц, 1Н), 6,05 (д, J=15,7 Гц, 1Н), 5,77 (дд, J=7,8, 3,4 Гц, 1Н), 5,43 (д, J=4,2 Гц, 1Н), 4,49-4,45 (м, 1Н), 4,39 (т, J=10,4 Гц, 1Н), 4,33 (м, 3Н), 4,03 (тд, J=11,5, 2,5 Гц, 1Н), 3,87 (д, J=5,2 Гц, 1Н), 3,59 (д, J=5,1 Гц, 1Н), 3,13 (дд, J=4,0, 1,3 Гц, 1Н), 2,82 (д, J=3,3 Гц, 1Н), 2,51 (дд, J=15,1, 8,1 Гц, 1Н), 2,22 (тд, J=9,6, 4,4 Гц, 3Н), 2,08-1,88 (м, 4Н), 1,77-1,74 (м, 4Н), 1,45 (м, 4Н), 1,12 (д, J=5,8 Гц, 3Н), 0,89 (с, 3Н).

Пример 29

[333] **Соединение 80**

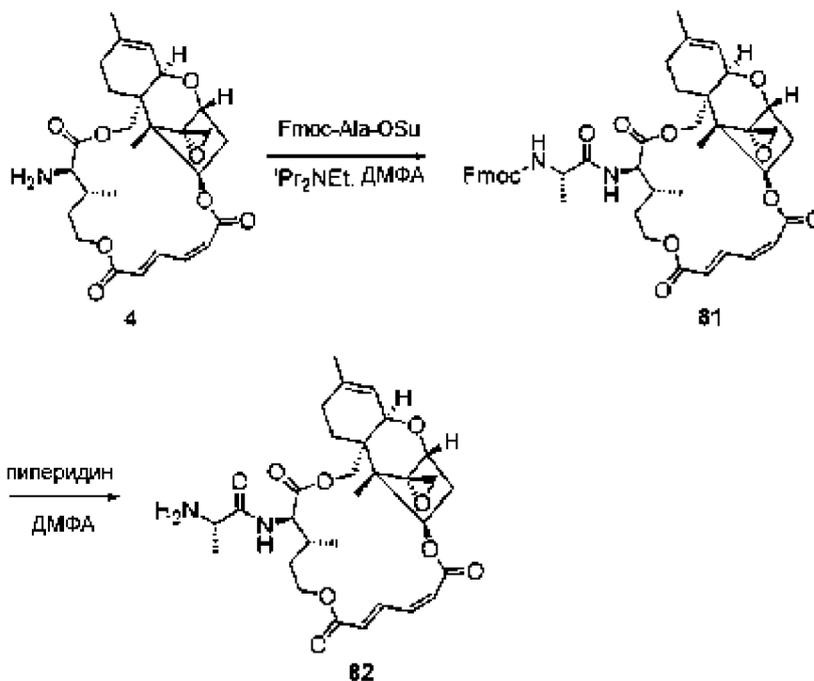


[334] **Соединение 80** (4,6 мг, 80%) получали с использованием вышеуказанной процедуры в одном масштабе, но начиная с D-молочной кислоты (**79**). МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₃₀H₃₉NO₁₀, 573,3; получено 574,2 (М+Н) ¹Н-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,09 (дд, J=15,7, 11,6 Гц, 1Н), 6,97 (д, J=8,8 Гц, 1Н), 6,69 (т, J=12,0 Гц, 1Н), 6,15 (д, J=11,0 Гц, 1Н), 6,05 (д, J=15,7 Гц, 1Н), 5,78 (дд, J=7,9, 4,0 Гц, 1Н), 5,42 (д, J=4,9 Гц, 1Н), 4,48-4,45 (м, 1Н), 4,40-4,32 (м, 3Н), 4,28 (ддд, J=6,6, 4,3, 2,1 Гц, 1Н), 4,06-4,00 (м, 1Н), 3,86 (д, J=5,0 Гц, 1Н), 3,59 (д, J=5,4 Гц, 1Н), 3,13 (д, J=3,9 Гц, 1Н), 2,81 (д, J=4,0 Гц, 1Н), 2,51 (дд, J=15,5, 8,3 Гц, 1Н), 2,24-2,19 (м, 2Н), 2,01-1,86 (м, 5Н), 1,74 (с, 3Н), 1,49 (д, J=6,8 Гц, 3Н), 1,48-1,44

(м, 1H), 1,11 (д, $J=6,7$ Гц, 3H), 0,88 (с, 3H).

Пример 30

[335] Соединение 82

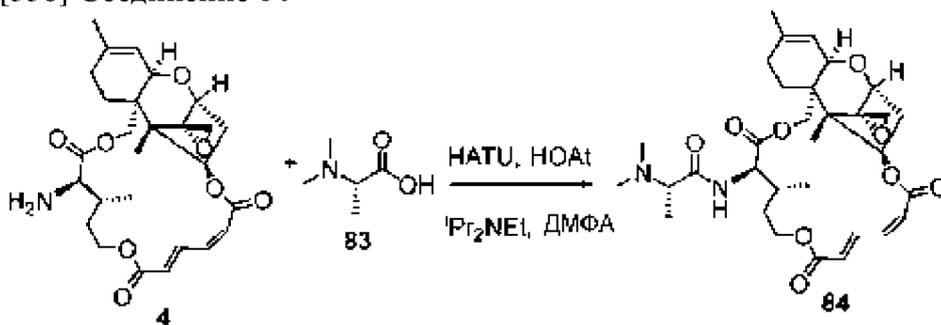


[336] Соединение 81: К раствору (R)-амино-веррукарин А (**4**, 8 мг, 0,0142 ммоль) и Fmoc-Ala-OSu (13 мг, 0,0318 ммоль) в безводном ДМФА (280 мл) добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (10 мл, 0,0574 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Реакционный раствор загружали на колонку ISCO 5,5 г C18 и элюировали 10-80% MeCN в H₂O (оба содержат 0,05% HOAc). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **81** (8 мг, 73%) в виде белого твердого вещества. МС МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₄₅H₅₀N₂O₁₁, 794,3; получено 817,2 (M+Na).

[337] Соединение 82: Соединение **81** (8,5 мг, 0,011 ммоль) обрабатывали 10% раствором пиперидина в ДМФА (100 мл). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 40 минут, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Реакционный раствор загружали на колонку ISCO 5,5 г C18 и элюировали 5-30% MeCN в H₂O (оба содержат 0,05% HOAc). Фракции с чистым продуктом объединяли и лиофилизировали с получением соединения **82** (6 мг, 98%) в виде рыхлого белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₃₀H₄₀N₂O₉, 572,3; получено 573,3 (M+H). ¹H ЯМР (300 МГц; CDCl₃) δ 8,07 (дд, $J=15,6, 11,5$ Гц, 1H), 7,88-7,85 (м, 1H), 6,68 (т, $J=11,4$ Гц, 1H), 6,14 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 6,04 (д, $J=15,6$ Гц, 1H), 5,78-5,74 (м, 1H), 5,43-5,41 (м, 1H), 4,47-4,40 (м, 1H), 4,33 (дд, $J=10,4, 7,2$ Гц, 3H), 4,05-4,01 (м, 1H), 3,86 (д, $J=5,1$ Гц, 1H), 3,57 (к, $J=5,7$ Гц, 2H), 3,13 (д, $J=4,0$ Гц, 1H), 2,80 (д, $J=4,0$ Гц, 1H), 2,51 (дд, $J=15,5, 8,1$ Гц, 1H), 2,25-2,17 (м, 2H), 2,06-1,76 (м, 6H), 1,76-1,70 (м, 3H), 1,49-1,39 (м, 2H), 1,34 (д, $J=7,0$ Гц, 3H), 1,10 (д, $J=6,7$ Гц, 3H), 0,88 (с, 3H).

Пример 31

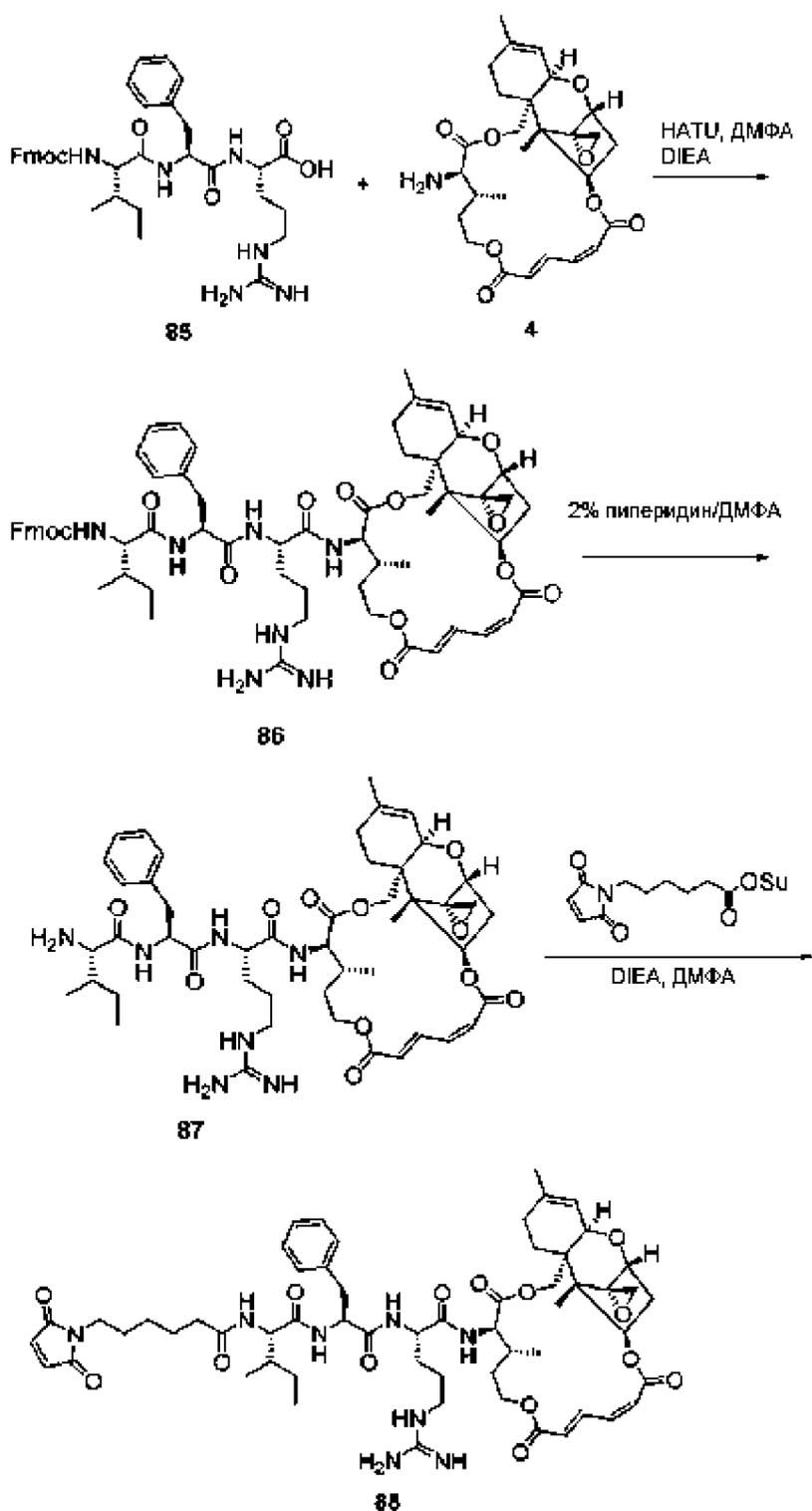
[338] Соединение 84



[339] **Соединение 84**: К раствору *N, N*-диметилаланина (**83**, 2,5 мг, 0,021 ммоль), HOAt (2,7 мг, 0,020 ммоль) и HATU (7,6 мг, 0,020 ммоль) в безводном ДМФА (75 мл) добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (3,5 мл, 0,020 ммоль). Полученный желтый раствор перемешивали в течение 5 минут, затем добавляли раствор (R)-амино-веррукарина А (**4**, 5 мг, 0,01 ммоль) в ДМФА (175 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Реакционный раствор загружали на колонку ISCO 5,5 г C18 и элюировали 5-100% MeCN в H₂O (оба содержат 0,05% HOAc). Фракции, содержащие продукт, лиофилизировали с получением соединения **84** (4,2 мг, 50%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₃₂H₄₄N₂O₉, 600,3; получено 601,3 (M+H). ¹H ЯМР (300 МГц; CDCl₃) δ 8,09 (дд, J=15,7, 11,7 Гц, 1H), 7,64 (д, J=9,2 Гц, 1H), 6,69 (т, J=11,3 Гц, 1H), 6,14 (д, J=10,8 Гц, 1H), 6,04 (д, J=15,6 Гц, 1H), 5,76 (дд, J=8,0, 4,0 Гц, 1H), 5,44-5,42 (м, 1H), 4,47-4,41 (м, 2H), 4,38-4,29 (м, 2H), 4,05-3,96 (м, 1H), 3,87 (д, J=5,1 Гц, 1H), 3,59 (д, J=5,0 Гц, 1H), 3,15 (д, J=3,9 Гц, 1H), 3,03 (к, J=7,0 Гц, 1H), 2,78 (д, J=4,1 Гц, 1H), 2,51 (дд, J=15,6, 8,1 Гц, 1H), 2,25 (с, 6H), 2,25-2,18 (м, 1H), 2,00-1,76 (м, 6H), 1,73 (с, 3H), 1,46-1,37 (м, 1H), 1,20 (д, J=7,0 Гц, 3H), 1,09 (д, J=6,6 Гц, 3H), 0,91 (с, 3H).

Пример 32

[340] Соединение 88



[341] **Соединение 85** (Fmoc-Ile-Phe-Arg-OH) получали, используя синтезатор пептидов.

[342] **Соединение 86**: К раствору соединения **85** (21 мг, 0,032 ммоль) в ДМФА (1,3 мл) при комнатной температуре добавляли HATU (15,2 мг, 0,04 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламин (14 мкл, 0,08 ммоль) с последующим добавлением (*R*)-аминоверрукарина **4** (9 мг, 0,016 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов, затем вводили в колонку ISCO 30 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением

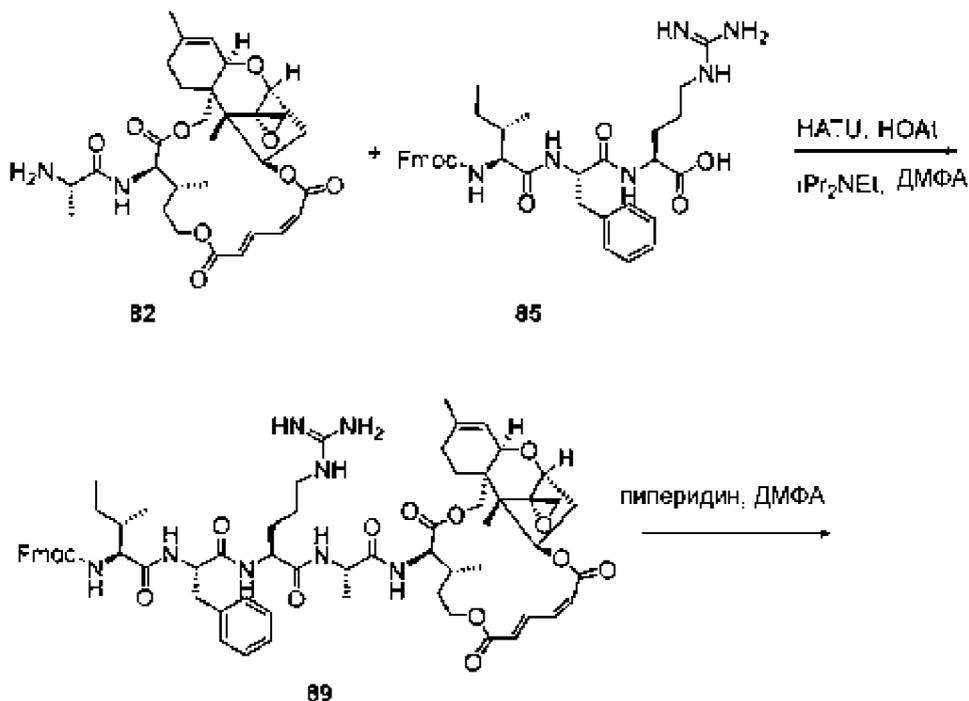
соединения **86** (12 мг, выход 59%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для $C_{63}H_{77}N_7O_{13}$, 1139,6; получено 1140,5 (M+H).

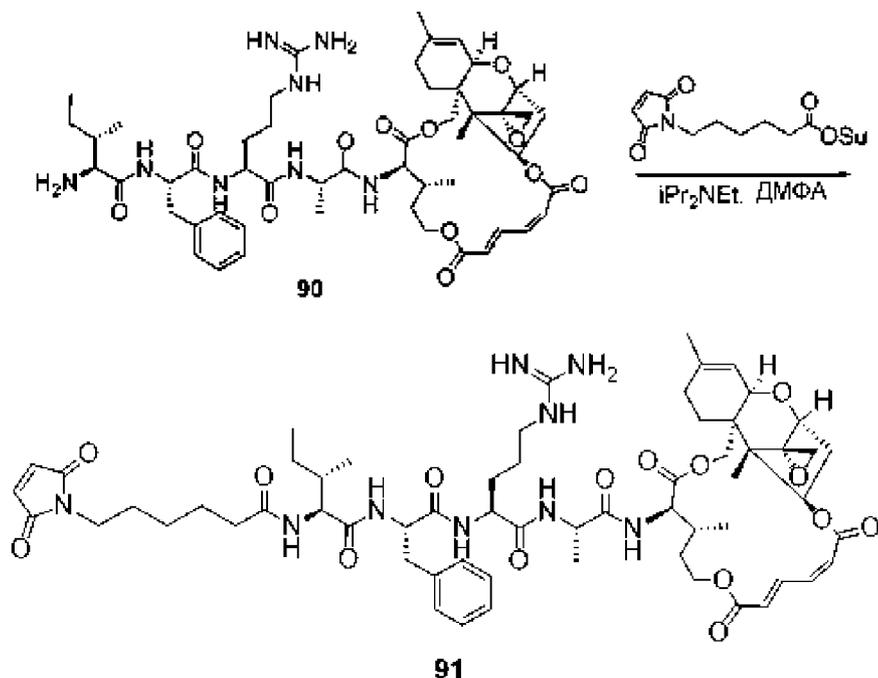
[343] **Соединение 87**: К раствору соединения **86** (12 мг, 0,01 ммоль) в ДМФА (0,8 мл) при комнатной температуре добавляли 5% раствор пиперидина в ДМФА (0,4 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 20 минут. Реакционный раствор вводили в колонку ISCO 30 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **87** (7,9 мг, 82%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для $C_{48}H_{67}N_7O_{11}$, 917,5; получено 918,2 (M+H).

[344] **Соединение 88**: К раствору соединения **87** (4,3 мг, 0,0046 ммоль) в ДМФА при комнатной температуре добавляли N-сукцинимидил 6-малеимидогексаноат (2,1 мг, 0,0069 ммоль) с последующим добавлением диизопропилэтиламина (2,4 мкл, 0,013 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа, затем вводили в колонку ISCO 15,5 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **88** (2 мг, 38%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для $C_{58}H_{78}N_8O_{14}$, 1110,6; получено 1111,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; ДМСО-d₆): δ 9,04-9,00 (м, 1H), 8,22-8,20 (м, 1H), 7,98-7,86 (м, 3H), 7,79-7,75 (м, 1H), 7,21-7,15 (м, 5H), 6,99 (с, 2H), 6,88-6,83 (м, 1H), 6,26-6,21 (м, 3H), 5,75-5,73 (м, 1H), 5,27-5,23 (м, 2H), 4,54-4,48 (м, 2H), 4,47-4,40 (м, 1H), 4,14-4,03 (м, 3H), 3,93-3,87 (м, 1H), 3,68-3,63 (м, 4H), 3,02-3,00 (м, 3H), 2,85-2,78 (м, 2H), 2,43-2,36 (м, 3H), 2,24-2,19 (м, 3H), 2,15-2,08 (м, 3H), 2,05-2,00 (м, 2H), 1,95-1,91 (м, 2H), 1,74-1,69 (м, 2H), 1,70-1,57 (м, 5H), 1,46-1,42 (м, 3H), 1,25-1,13 (м, 6H), 1,01-0,94 (м, 1H), 0,91 (д, J=7,7 Гц, 3H), 0,77-0,68 (м, 9H).

Пример 33

[345] **Соединение 91**





[346] **Соединение 89**: К раствору соединения **82** (14 мг, 0,0213 ммоль), НАТУ (10 мг, 0,0262 ммоль) и HOAt (3 мг, 0,0220 ммоль) в безводном ДМФА (250 мл) добавляли соединение **85** (6 мг, 0,0105 ммоль) в ДМФА (250 мл). Добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (4 мл, 0,0230 ммоль) и реакцию перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Раствор загружали на колонку ISCO 15,5 г C18Aq и элюировали 0-100% MeCN в H₂O (оба содержат 0,05% HOAc). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **89** (5 мг, 38%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₆₆H₈₂N₈O₁₄, 1210,6; получено, 1210,5 (M+).

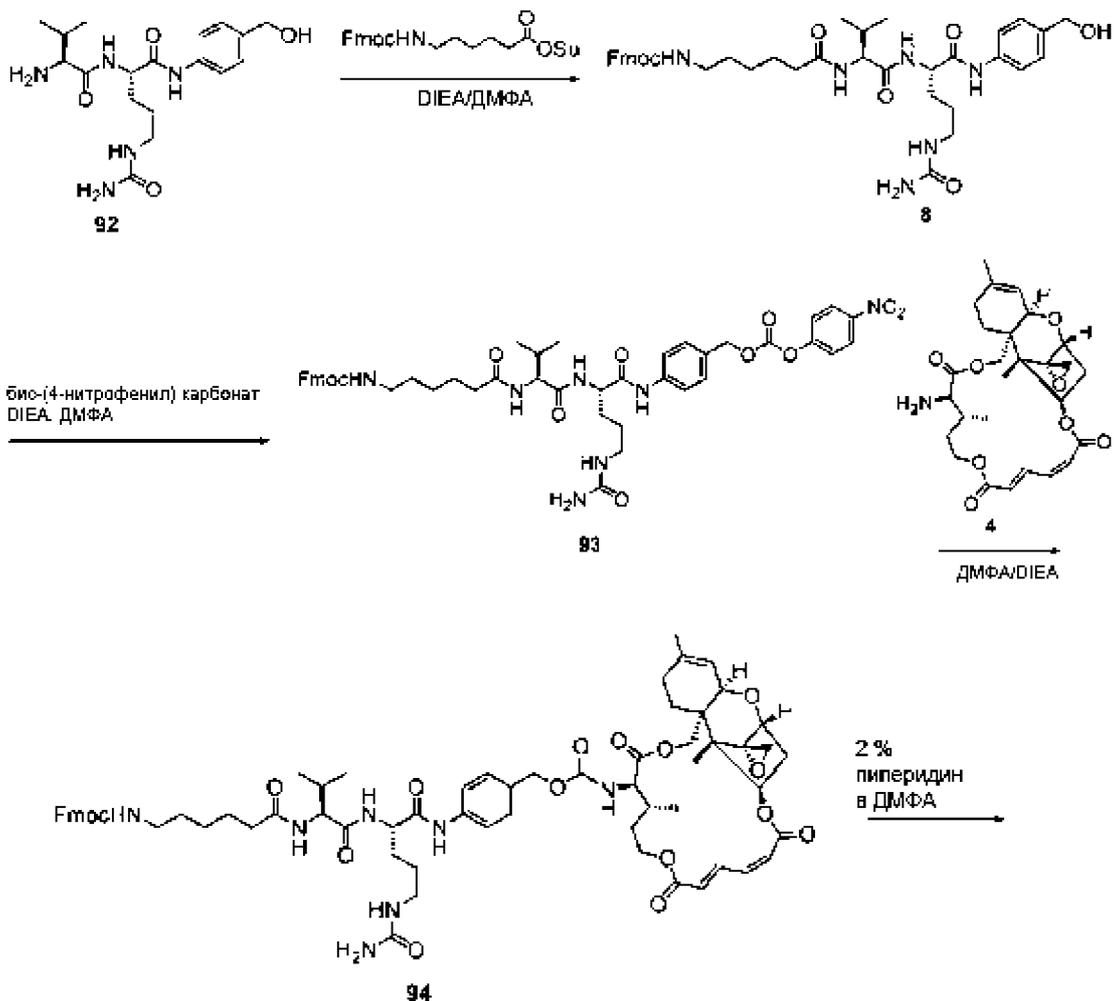
[347] **Соединение 90**: Соединение **89** (4,5 мг, 0,0037 ммоль) обрабатывали 10% пиперидином в ДМФА (150 мл). Через 40 минут ЖХМС указывала, что реакция была завершена. Реакционную смесь загружали на колонку ISCO 5,5 г C18 и элюировали 5-40% MeCN в H₂O (оба содержат 0,05% HOAc). Фракции, содержащие продукт с чистотой >95%, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **90** (2,3 мг, 62%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₅₁H₇₂N₈O₁₂, 988,5; получено 989,5 (M+H).

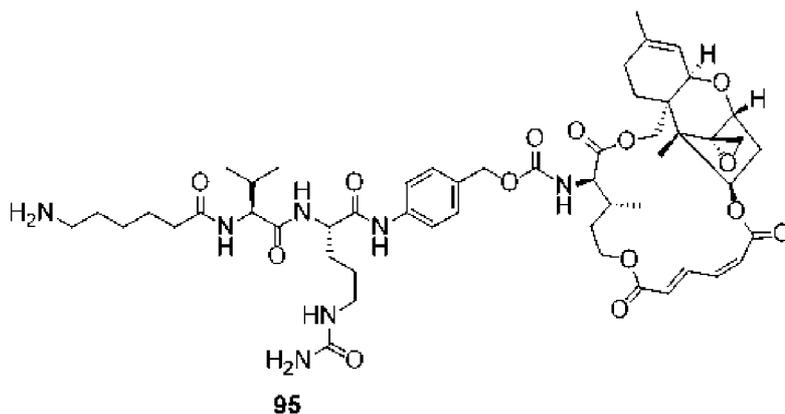
[348] **Соединение 91**: К раствору соединения **90** (4 мг, 0,00404 ммоль) и *N*-сукцинимидил 6-малеимидогексаноата (2 мг, 0,00649 ммоль) в безводном ДМФА (100 мл) добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (2 мл, 0,0115 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 2,75 часов ЖХ/МС показала присутствие непрореагировавшего амина, однако эфир NHS был израсходован. Добавляли дополнительный *N*-сукцинимидил 6-малеимидогексаноат (1 мг, 0,00324 ммоль) и реакцию перемешивали в течение 2 часов. В тот момент ЖХМС показала, что реакция была завершена. Реакционную смесь загружали на колонку ISCO 5,5 г C18Aq и

элюировали MeCN в H₂O (оба содержат 0,05% HOAc). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **91** (1 мг, 17%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₆₁H₈₃N₉O₁₅, 1181,6; получено, 1182,5 (М+Н). ¹Н ЯМР (300 МГц; CDCl₃) δ 8,41 (ушир. с, 1H), 8,10 (дд, J=12,3, 16,6 Гц, 1H), 7,69 (ушир. с, 1H), 7,49 (ушир. с, 1H), 7,18-7,15 (м, 5H), 7,03-7,00 (м, 1H), 6,78-6,73 (м, 2H), 6,55 (дд, J=11,6, 10,8 Гц, 1H), 6,03 (д, J=11,9 Гц, 1H), 5,95 (д, J=15,5 Гц, 1H), 5,78-5,74 (м, 1H), 5,43-5,41 (м, 1H), 4,67-4,57 (м, 1H), 4,47-3,91 (м, 6H), 3,90-3,85 (м, 1H), 3,60-3,49 (м, 4H), 3,24-3,20 (м, 2H), 3,08-2,99 (м, 2H), 2,84-2,83 (м, 1H), 2,65-2,54 (м, 2H), 2,37-2,16 (м, 4H), 2,05-2,04 (м, 3H), 1,46-1,27 (м, 9H), 1,10 (д, J=6,5 Гц, 3H), 0,99 (с, 3H), 0,82 (т, J=7,8 Гц, 3H), 0,72 (д, J=6,6 Гц, 3H).

Пример 34

[349] Соединение 95





[350] **Соединение 8:** К раствору *p*-гидроксисукцинимидного эфира Fmoc-6-аминогексановой кислоты (50 мг, 0,11 ммоль) и TФУ-соли Val-Cit-PAВ-OH (**92**, 50 мг, 0,1 ммоль) в ДМФА (1,3 мл) при комнатной температуре добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (52 мкл, 0,3 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 20 минут, затем вводили в колонку ISCO 30 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **8** (58 мг, 81%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₃₉H₅₀N₆O₇, 714,4; получено 715,3 (M+H).

[351] **Соединение 93:** К раствору соединения **8** (40 мг, 0,056 ммоль) в ДМФА (1,5 мл) при комнатной температуре добавляли бис-(4-нитрофенил) карбонат (20,4 мг, 0,067 ммоль) и *N, N*-диизопропилэтиламин (30 мкл, 0,168 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов, затем вводили в колонку ISCO 50 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **93** (29 мг, 57%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₄₆H₅₃N₆O₁₁, 879,4; получено 880,3 (M+H).

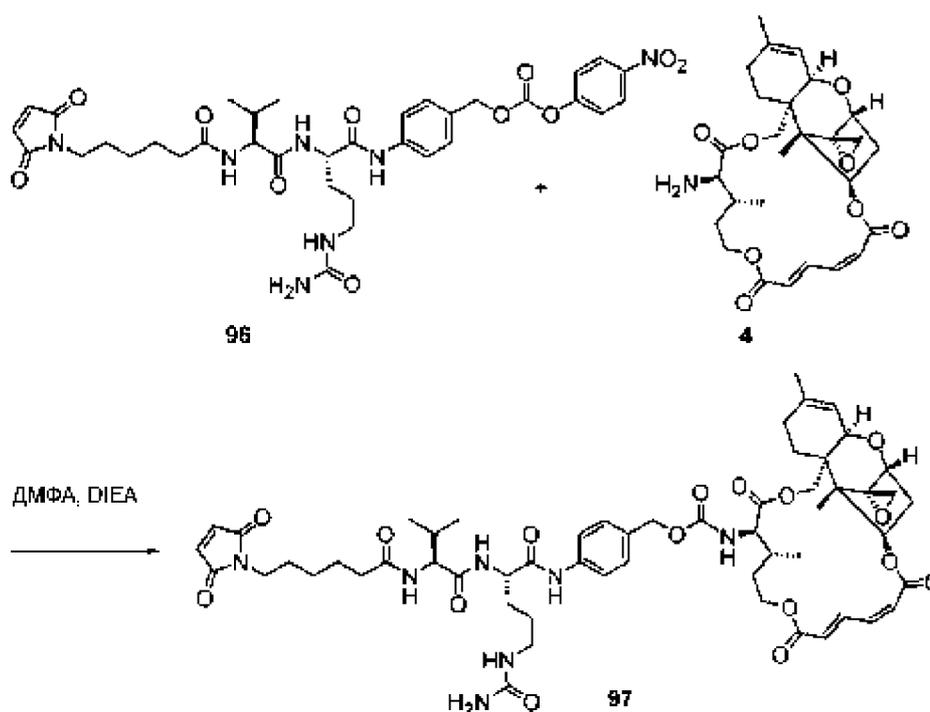
[352] **Соединение 94:** К раствору соединения **93** (30 мг, 0,034 ммоль) и (R)-амино-веррукарин А (**4**, 17,1 мг, 0,031 ммоль) в безводном ДМФА (1,3 мл) при комнатной температуре добавляли диизопропилэтиламин (16 мкл, 0,093 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 36 часов, затем вводили в колонку ISCO EZ-Prep HPLC (колонка 30×150 мм Gemini) и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Фракции, содержащие непрореагировавший исходный амин, объединяли и лиофилизировали для восстановления (R)-амино-веррукарин А (**4**, 4 мг, восстановление 23%). Фракции, содержащие желаемый продукт, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **94** (10 мг, выход BRSM 32%) в виде рыхлого белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₆₇H₈₃N₇O₁₆, 1241,6; получено 1242,3 (M+H).

[353] **Соединение 95:** К раствору соединения **94** (10 мг, 0,008 ммоль) в ДМФА (0,5 мл) при комнатной температуре добавляли 5% раствор пиперидина в ДМФА (0,5 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 20 минут. Продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке 30×150 мм Gemini, элюируя с 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением

соединения **95** (6,4 мг, 78%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{52}H_{73}N_7O_{14}$, 1019,5; получено 1020,2 (M+H). 1H -ЯМР (500 МГц; ДМСО- d_6): δ 10,02 (с, 1H), 8,14-8,11 (м, 1H), 7,92 (ддд, $J=15,5, 11,7, 0,9$ Гц, 1H), 7,89-7,82 (м, 1H), 7,75 (д, $J=6,5$ Гц, 1H), 7,61 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,28 (д, $J=8,3$ Гц, 2H), 6,85 (т, $J=11,4$ Гц, 1H), 6,23-6,18 (м, 2H), 6,01-5,98 (м, 1H), 5,75-5,73 (м, 1H), 5,40 (с, 2H), 5,26 (д, $J=4,0$ Гц, 1H), 5,03 (д, $J=12,4$ Гц, 1H), 4,86 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 4,45-4,41 (м, 1H), 4,39-4,35 (м, 1H), 4,17 (т, $J=7,8$ Гц, 1H), 4,12-4,03 (м, 2H), 3,90-3,85 (м, 1H), 3,66-3,61 (м, 3H), 3,00-2,91 (м, 4H), 2,41 (дд, $J=15,2, 8,2$ Гц, 1H), 2,19-2,08 (м, 4H), 1,98-1,89 (м, 2H), 1,81 (с, 1H), 1,70-1,66 (м, 3H), 1,62 (с, 3H), 1,50-1,41 (м, 6H), 1,37-1,32 (м, 3H), 1,26-1,22 (м, 6H), 0,91 (д, $J=6,6$ Гц, 3H), 0,83 (дд, $J=12,4, 6,7$ Гц, 6H), 0,65 (с, 3H).

Пример 35

[354] Соединение **97**



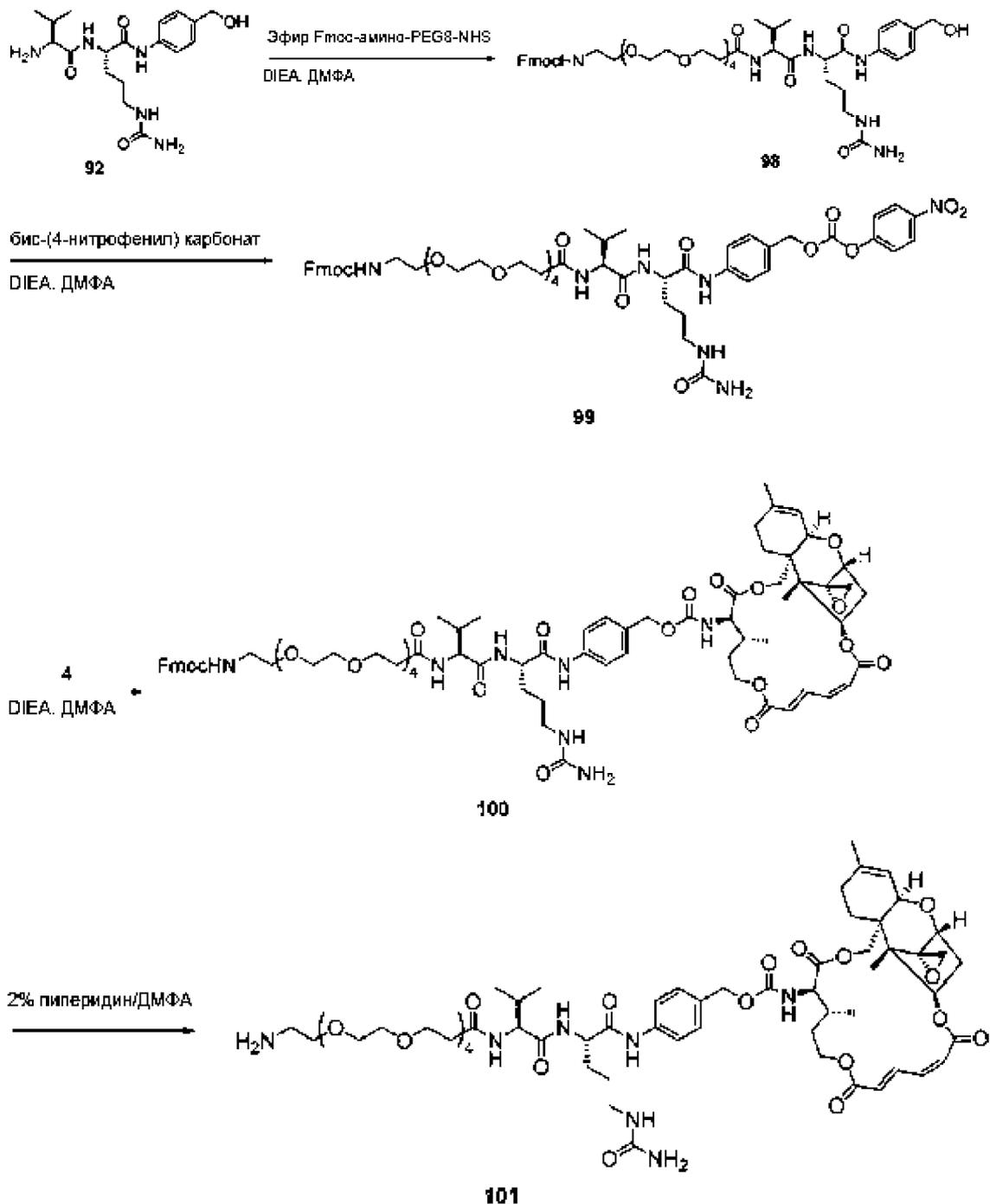
[355] Соединение **96** получали, следуя той же процедуре, что и для соединения **93**, за исключением того, что начинали с *N*-сукцинимидил 6-малеимидогексаноат вместо *N*-гидроксисукцинимидного эфира Fmoc-6-аминогексановой кислоты.

[356] Соединение **97**: К раствору ДМФА (1 мл) (*R*)-амино-веррукарин А (**4**, 6,9 мг, 0,014 ммоль) при комнатной температуре добавляли соединение **96** (11,4 мг, 0,015 ммоль) с последующим добавлением *N,N*-диизопропилэтиламина (7 мкл, 0,041 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 18 часов, после чего реакция была признана завершённой по данным анализа ЖХМС. Реакционную смесь вводили в колонку ISCO 15,5 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **97** (9 мг, выход 60%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для $C_{56}H_{73}N_7O_{16}$, 1099,5; получено 1100,5 (M+H). 1H -ЯМР (500 МГц; ДМСО- d_6): δ 10,06 (с, 1H), 8,17 (с, 1H),

7,93 (дд, $J=15,1$, 12,1 Гц, 1H), 7,84 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 7,75 (д, $J=6,5$ Гц, 1H), 7,62 (д, $J=8,3$ Гц, 2H), 7,29 (д, $J=8,3$ Гц, 2H), 7,00 (с, 2H), 6,86 (т, $J=11,4$ Гц, 1H), 6,23 (м, 2H), 6,02 (с, 1H), 5,75 (дд, $J=7,0$, 2,9 Гц, 1H), 5,41 (с, 2H), 5,27 (с, 1H), 5,04 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 4,87 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 4,46-4,43 (м, 1H), 4,38 (к, $J=6,5$ Гц, 1H), 4,18 (т, $J=7,7$ Гц, 1H), 4,08 (к, $J=14,7$ Гц, 2H), 3,89 (тд, $J=9,5$, 3,3 Гц, 1H), 3,67-3,62 (м, 4H), 3,02-2,95 (м, 4H), 2,44-2,39 (м, 1H), 2,21-2,13 (м, 3H), 2,13-2,07 (м, 3H), 1,98-1,90 (м, 2H), 1,70-1,63 (м, 5H), 1,50-1,43 (м, 6H), 1,26-1,16 (м, 3H), 0,92 (д, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,83 (дд, $J=15,1$, 6,7 Гц, 9H), 0,66 (с, 3H).

Пример 36

[357] Соединение 101



[358] **Соединение 98:** К раствору ТФУ-соли валин-цитруллин-РАВ-ОН (**92**, 100 мг, 0,2 ммоль) и эфира Fmoc-амино-PEG8-NHS (167 мг, 0,22 ммоль) в безводном ДМФА (2 мл) добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (40 мкл, 0,22 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 45 мин, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Продукт очищали с помощью хроматографии на колонке ISCO 100 г C18Aq, элюируя 5-95% MeCN в H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **98** (145 мг, 71%) в виде почти белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₅₂H₇₆N₆O₁₅, 1024,54; получено 1025,5 (M+H).

[359] **Соединение 99:** К раствору соединения **98** (50 мг, 0,0488 ммоль) и бис-(4-нитрофенил) карбоната (18 мг, 0,0585 ммоль) в безводном ДМФА (1 мл) при комнатной температуре добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (19 мкл, 0,146 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 18 часов. Добавляли дополнительный бис-(4-нитрофенил) карбонат (18 мг, 0,0585 ммоль) и перемешивание продолжали в течение 3 часов, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Реакционный раствор вводили в колонку ISCO 50 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **99** (37 мг, 64%) в виде почти белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₅₉H₇₉N₇O₁₉, 1189,5; получено 1190,5 (M+H).

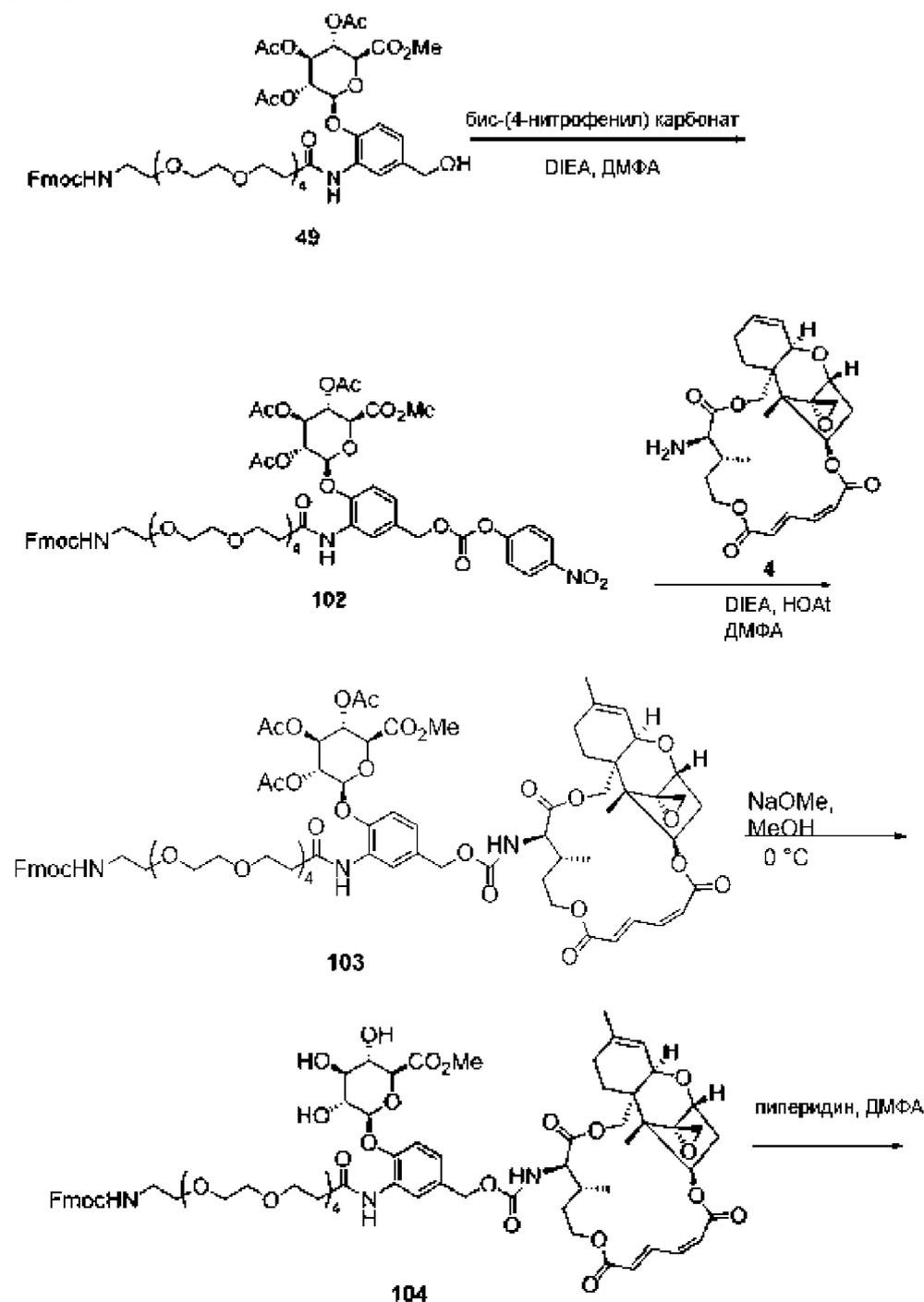
[360] **Соединение 100:** К раствору соединения **99** (30 мг, 0,025 ммоль) и (R)-амино-веррукарина А (**4**, 14 мг, 0,025 ммоль) в безводном ДМФА при комнатной температуре добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (12 мкл, 0,075 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 24 часов. Реакционную смесь вводили в колонку ISCO 30 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Фракции, содержащие желаемый продукт, объединяли и лиофилизировали. Лиофилизированные твердые вещества растворяли в ДМФА (1 мл) и дополнительно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке Gemini 30×150 мм, элюируя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **100** (8 мг, 21%) в виде почти белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₈₀H₁₀₉N₇O₂₄, 1551,8; получено 1552,7 (M+H).

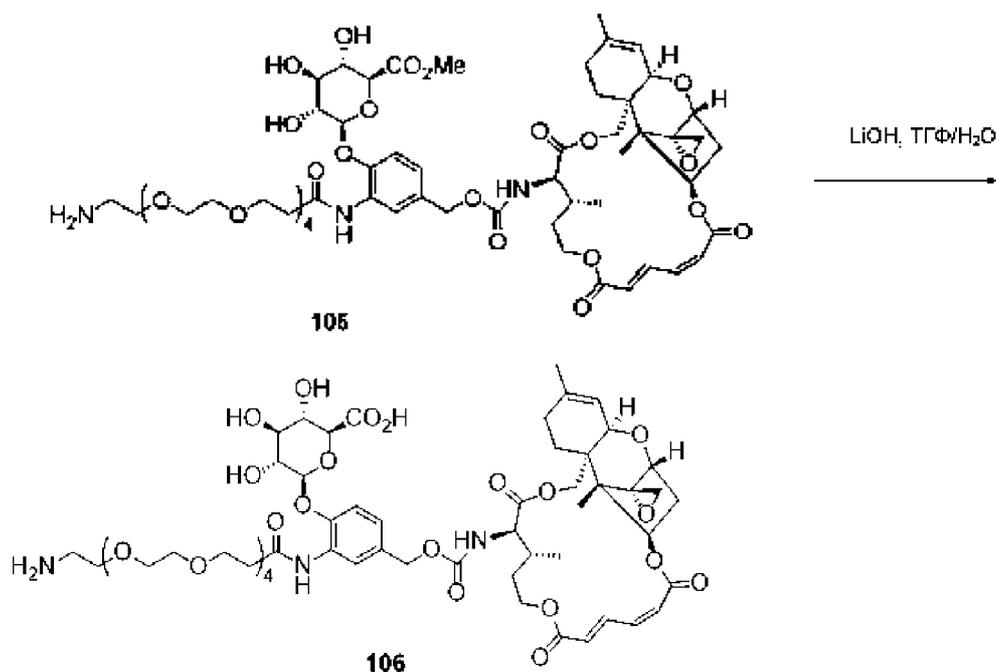
[361] **Соединение 101:** К раствору соединения **100** (8 мг, 0,005 ммоль) в ДМФА (0,6 мл) при комнатной температуре добавляли 5% раствор пиперидина в ДМФА (0,3 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 45 минут. Реакционный раствор вводили в колонку ISCO 30 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **101** (3,0 мг, 45%) в виде почти белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₆₅H₉₉N₇O₂₂, 1329,7; получено 1330,6 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; DMSO-d₆): δ 10,00 (с, 1H), 8,11 (д, *J*=7,5 Гц, 1H), 7,92 (дд, *J*=15,5, 11,7 Гц, 1H), 7,85 (д, *J*=8,7 Гц, 1H), 7,74 (д, *J*=6,6 Гц, 1H), 7,60 (д, *J*=8,4 Гц, 2H), 7,28 (д, *J*=8,4 Гц, 2H), 6,85 (т, *J*=11,4 Гц, 1H), 6,21 (дд, *J*=13,2, 10,3 Гц, 2H), 5,96 (т, *J*=5,6 Гц, 1H), 5,74 (дд, *J*=8,1, 4,1 Гц, 1H), 5,39 (с, 2H), 5,27-

5,26 (м, 1H), 5,04 (д, $J=12,4$ Гц, 1H), 4,86 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 4,45-4,41 (м, 1H), 4,39-4,36 (м, 1H), 4,22 (дд, $J=8,6, 6,9$ Гц, 1H), 4,10 (д, $J=12,1$ Гц, 1H), 4,05 (д, $J=12,1$ Гц, 1H), 3,90-3,85 (м, 1H), 3,66-3,56 (м, 5H), 3,46 (д, $J=16,6$ Гц, 2H), 3,03-2,91 (м, 4H), 2,77 (т, $J=5,5$ Гц, 2H), 2,41-2,35 (м, 3H), 2,18-2,16 (м, 1H), 2,09-2,06 (м, 1H), 1,94 (дт, $J=13,5, 5,6$ Гц, 2H), 1,90 (с, 1H), 1,70-1,68 (м, 3H), 1,62 (с, 3H), 1,51-1,43 (м, 6H), 1,22 (с, 3H), 0,91 (д, $J=6,6$ Гц, 3H), 0,83 (дд, $J=15,6, 6,7$ Гц, 6H), 0,65 (с, 3H).

Пример 37

[362] Соединение 106





[363] **Соединение 102:** К раствору соединения **49** (47,1 мг, 0,0428 ммоль) в безводном ДМФА (1 мл) добавляли бис-(4-нитрофенил) карбонат (20 мг, 0,064 ммоль) и *N, N*-диизопропилэтиламин (22 мкл, 0,128 ммоль). После перемешивания в течение 5 часов реакционную смесь очищали на колонке ISCO 50 г C18Aq, элюируя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **102** (36 мг, 66%) в виде желтоватого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₆₁H₇₅N₃O₂₆, 1265,5; получено 1266,8 (M+H).

[364] **Соединение 103:** К раствору соединения **102** (18 мг, 0,014 ммоль) и соединения **4** (7 мг, 0,014 ммоль) в безводном ДМФА (1 мл) добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (7,3 мкл, 0,042 ммоль) и HOAt (1,0 мг, 0,007 ммоль). После перемешивания в течение 24 часов реакционную смесь очищали на колонке ISCO 30 г C18Aq, элюируя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **103** (12 мг, 53%) в виде белого рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₈₂H₁₀₅N₃O₃₁, 1627,7; получено 1628,6 (M+H).

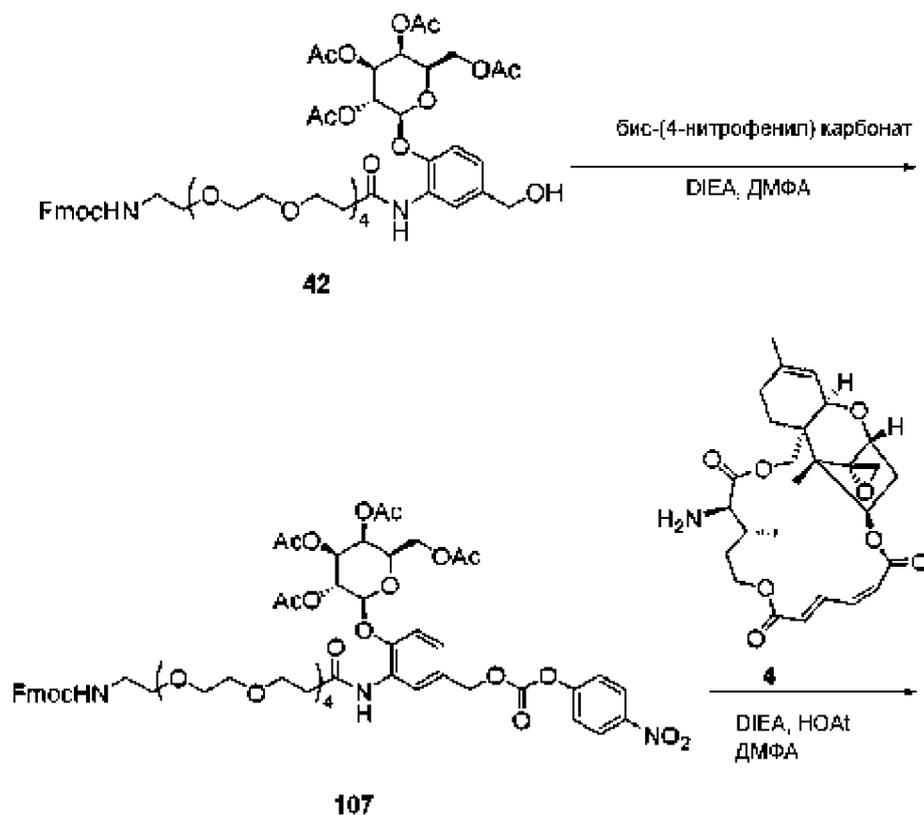
[365] **Соединение 105:** К раствору соединения **103** (20 мг, 0,012 ммоль) в безводном MeOH (1,5 мл) при 0°C добавляли 0,05 М NaOMe в MeOH (0,48 мл, 0,024 ммоль). После перемешивания в течение 10 минут при 0°C реакцию нейтрализовали смолой Dowex® (примерно 10 мг). Твердые вещества отфильтровывали, а фильтрат концентрировали *in vacuo* с получением неочищенного соединения **104**, которое затем растворяли в ДМФА (0,6 мл) и добавляли 5% пиперидин в ДМФА (0,3 мл). После перемешивания в течение 20 минут реакционную смесь очищали на колонке ISCO 30 г C18Aq, элюируя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **105** (4 мг, 26% за две стадии) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₆₁H₈₉N₃O₂₆,

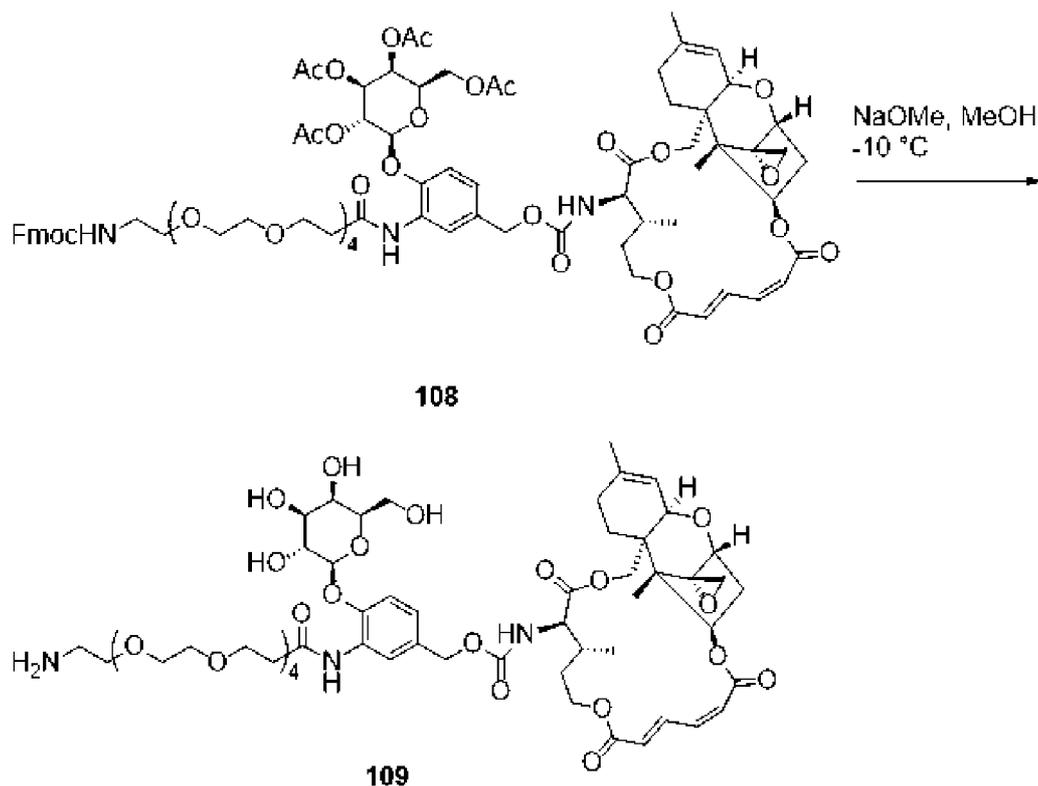
1279,6; получено 1280,5 (M+H).

[366] **Соединение 106**: К раствору соединения **105** (4 мг, 0,003 ммоль) в ТГФ (0,5 мл) и воде (375 мкл) добавляли 0,025М раствор LiOH (250 мкл, 0,006 ммоль) и реакцию смесь перемешивали в течение 2 часов. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке 30×150 мм Gemini, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **106** (2,5 мг, 66%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): рассчит. для C₆₀H₈₇N₃O₂₆, 1265,6; получено 1266,5 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; ДМСО-d₆): δ 9,31 (с, 1H), 8,17 (дд, J=1,3, 0,8 Гц, 1H), 7,90 (дд, J=15,2, 11,1 Гц, 1H), 7,77 (д, J=6,5 Гц, 1H), 7,16 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,03 (д, J=7,3 Гц, 1H), 6,84 (т, J=11,4 Гц, 1H), 6,21 (дд, J=17,1, 13,2 Гц, 2H), 5,75-5,72 (м, 1H), 5,69-5,68 (м, 1H), 5,26 (д, J=4,5 Гц, 1H), 5,07-5,05 (м, 1H), 4,90 (к, J=14,7 Гц, 2H), 4,56 (д, J=6,5 Гц, 1H), 4,44-4,41 (м, 1H), 4,11 (д, J=10,8 Гц, 1H), 4,02 (д, J=11,7 Гц, 1H), 3,89-3,85 (м, 1H), 3,73-3,61 (м, 5H), 3,52-3,48 (м, 24H), 3,09 (д, J=5,4 Гц, 1H), 2,89 (т, J=5,1 Гц, 4H), 2,58 (д, J=4,6 Гц, 1H), 2,19-2,16 (м, 2H), 2,08 (д, J=2,9 Гц, 2H), 1,93-1,90 (м, 2H), 1,62 (м, 4H), 1,47 (с, 3H), 1,25 (дд, J=12,2, 10,5 Гц, 2H), 0,91 (д, J=6,8 Гц, 3H), 0,67 (с, 3H).

Пример 38

[367] **Соединение 109**





[368] **Соединение 107**: К раствору соединения **42** (190 мг, 0,17 ммоль) в безводном ДМФА (2 мл) добавляли бис-(4-нитрофенил) карбонат (104 мг, 0,34 ммоль) и *N, N*-диизопропилэтиламин (89 мкл, 0,51 ммоль). После перемешивания в течение 22 часов реакционную смесь загружали на колонку ISCO 100 г С18Аq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и лиофилизировали с получением соединения **107** (130 мг, 60%) в виде рыхлого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₆₂H₇₇N₃O₂₆, 1279,5; получено 1280,4 (M+H).

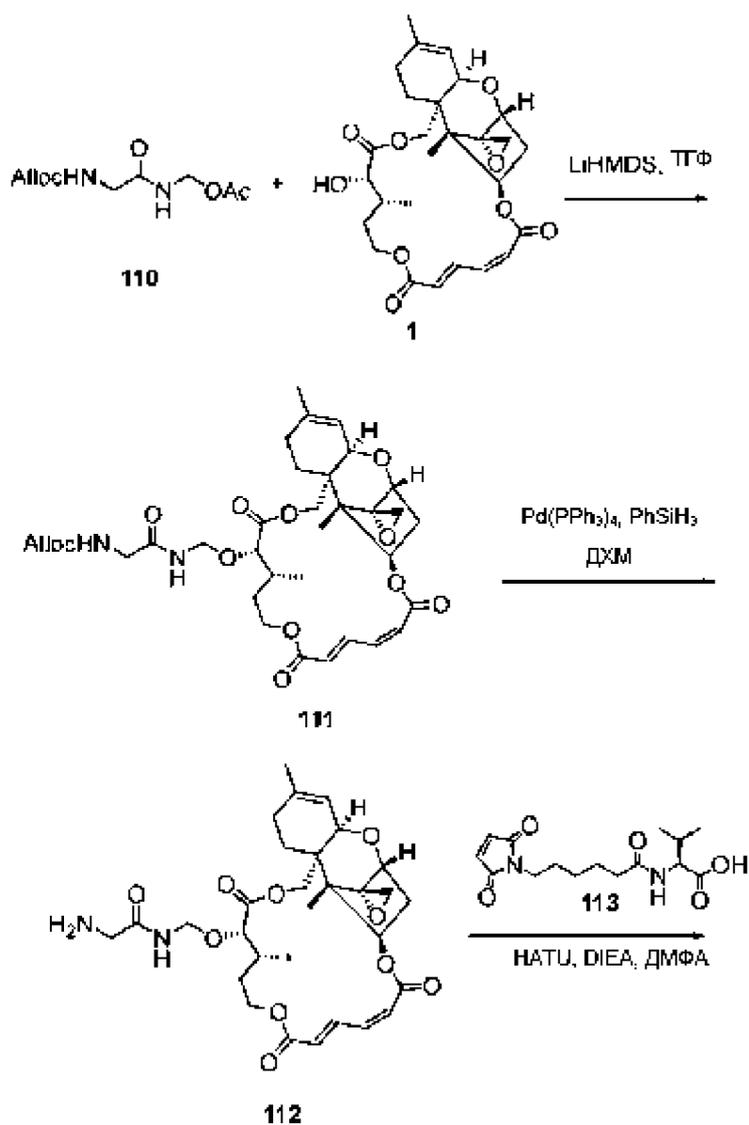
[369] **Соединение 108**: К раствору соединения **107** (45 мг, 0,035 ммоль) и соединения **4** (17,1 мг, 0,035 ммоль) в безводном ДМФА (1,5 мл) добавляли *N, N*-диизопропилэтиламин (18 мкл, 0,105 ммоль) и HOAt (2,5 мг, 0,018 ммоль). После перемешивания в течение 9 часов реакционную смесь очищали на колонке ISCO 100 г С18Аq, элюируя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **108** (44 мг, 76%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₈₃H₁₀₅N₃O₃₁, 1641,7; получено 1642,7 (M+H).

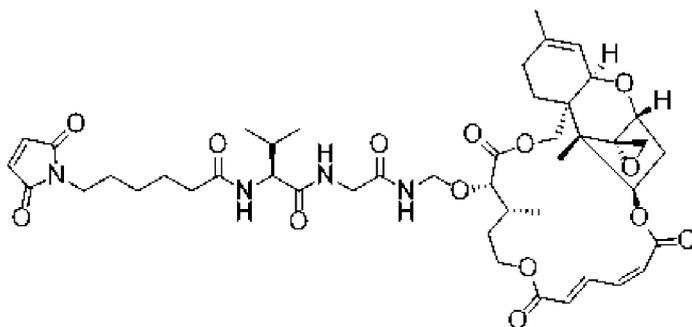
[370] **Соединение 109**: К раствору соединения **108** (30 мг, 0,018 ммоль) в безводном MeOH (1,5 мл) при -10°C добавляли 0,1 М NaOMe в MeOH (0,36 мл, 0,036 ммоль). После перемешивания в течение 90 минут при -10°C реакцию нейтрализовали смолой Dowex® (примерно 100 мг). Твердые вещества отфильтровывали, а фильтрат концентрировали *в вакууме*. Остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке 50×250 мм Luna, элюируя с 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **109** (5 мг, 18% за две стадии) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для

$C_{60}H_{89}N_3O_{26}$, 1251,6; получено 1252,5 (M+H). 1H -ЯМР (500 МГц; ДМСО- d_6): δ 9,16 (с, 1H), 8,23 (д, $J=1,4$ Гц, 1H), 7,91 (дд, $J=15,7, 11,8$ Гц, 1H), 7,77 (дд, $J=6,3, 4,2$ Гц, 1H), 7,15 (дд, $J=8,3, 2,4$ Гц, 1H), 7,02-6,99 (м, 1H), 6,84 (т, $J=11,5$ Гц, 1H), 6,20 (т, $J=13,3$ Гц, 2H), 5,74 (дд, $J=8,1, 3,7$ Гц, 1H), 5,26 (дт, $J=4,1, 1,1$ Гц, 1H), 4,98-4,85 (м, 3H), 4,56 (д, $J=7,7$ Гц, 1H), 4,45-4,41 (м, 1H), 4,19-3,98 (м, 3H), 3,90-3,84 (м, 2H), 3,71-3,63 (м, 8H), 3,52-3,47 (м, 26H), 3,12-3,00 (м, 3H), 2,67-2,62 (м, 7H), 2,35 (т, $J=1,9$ Гц, 1H), 2,20-2,06 (м, 2H), 1,94-1,90 (м, 1H), 1,88 (д, $J=3,6$ Гц, 2H), 1,67-1,62 (м, 5H), 1,55-1,46 (м, 2H), 1,27-1,22 (м, 1H), 0,91 (д, $J=6,7$ Гц, 3H), 0,66 (с, 3H).

Пример 39

[371] Соединение 114





114

[372] **Соединение 110:** (2-(((аллилокси)карбонил)амино)ацетидамидо)метилацетат (**110**) получали, используя процедуру из *Tetrahedron*, **2018**, 74(15), 1951-1956.

[373] **Соединение 111:** К раствору соединения **110** (27,6 мг, 0,12 ммоль) и веррукарина А (**1**, 30 мг, 0,06 ммоль) в безводном ТГФ (2,5 мл) при 0°C добавляли LiHMDS (72 мкл, 1,0 М раствор в гексанах, 0,072 ммоль). Через 30 минут ЖХ/МС показала 26% желаемого продукта и 60% непрореагировавшего **1**. Добавляли дополнительное **110** (14 мг, 0,06 ммоль) с последующим добавлением LiHMDS (60 мкл, 0,06 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 30 минут. Реакционную смесь гасили насыщенным водным хлоридом аммония (5 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Объединенные органические слои сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Продукт хроматографировали на колонке ISCO 4 г Silica Gold, элюируя 50% этилацетатом/гексанами для восстановления непрореагировавшего веррукарина А (**1**, 10 мг, 29%), а затем 80% этилацетатом/гексанами для элюирования соединения **111** (20,5 мг, 45%). МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₃₄H₄₄N₂O₁₂, 672,3; получено 673,3 (M+H).

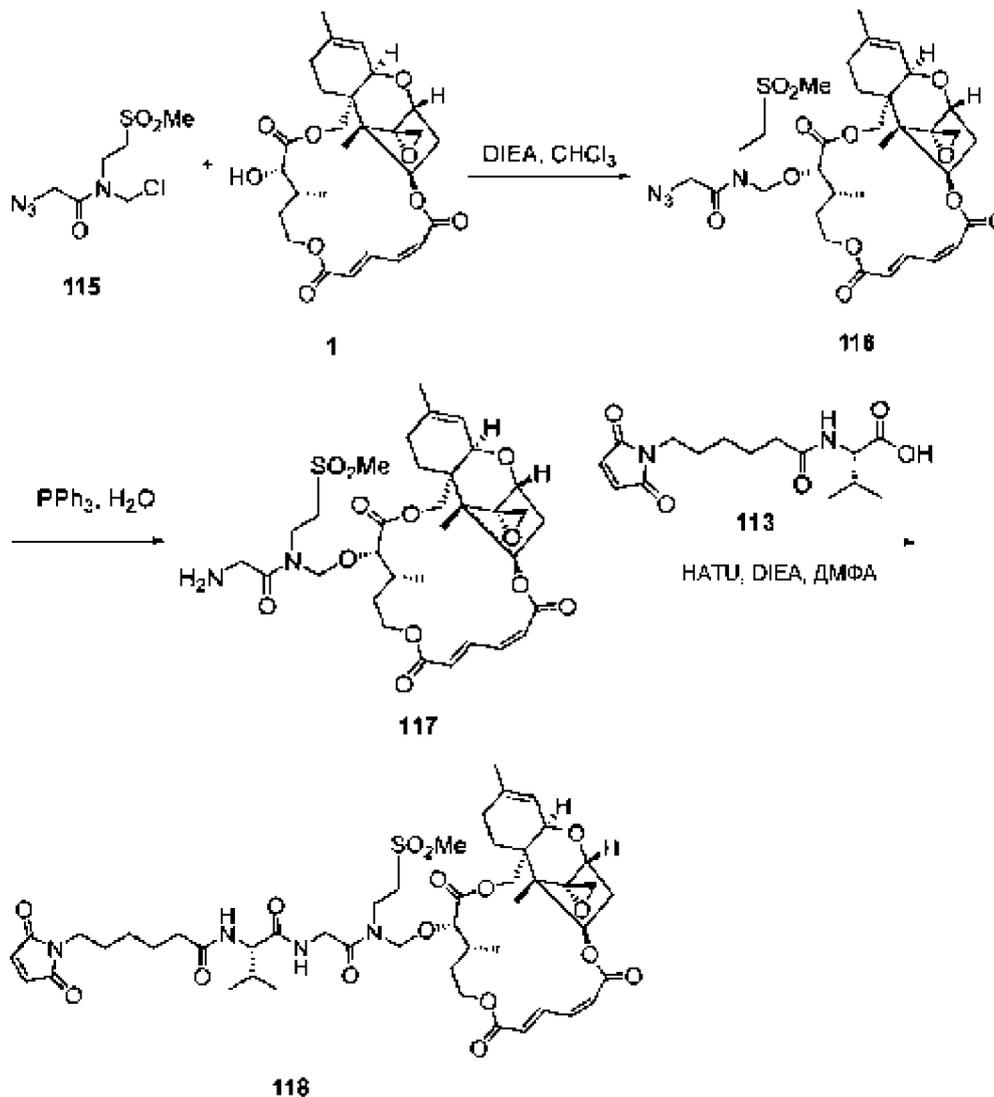
[374] **Соединение 112:** К раствору соединения **111** (15 мг, 0,022 ммоль) в дихлорметане (2,5 мл) добавляли Pd(PPh₃)₄ (2,5 мг, 0,0022 ммоль) и фенилсилан (4 мкл, 0,033 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа, после чего по данным ЖХМС реакция была завершена. Реакционную смесь фильтровали через слой целита и промывали дихлорметаном (3 мл). Фильтрат концентрировали с получением соединения **112**, которое использовали на следующей стадии без очистки. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₃₀H₄₀N₂O₁₀, 588,3; получено 589,3 (M+H).

[375] **Соединение 114:** К раствору соединения **112** (0,022 ммоль) в безводном ДМФА (1 мл) при комнатной температуре добавляли Mal-car-Val-OH (**113**, 3,7 мг, 0,022 ммоль) и NATU (12,6 мг, 0,033 ммоль) с последующим добавлением *N, N*-диизопропилэтиламина (12 мкл, 0,066 ммоль). Реакция была завершена через 30 минут по данным ЖХМС. Продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке 30×150 мм Gemini, элюируя с 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **114** (5 мг, 25% за два стадии). МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₄₅H₆₀N₄O₁₄, 880,4; получено 881,3 (M+H). ¹H-ЯМР (500 МГц; CDCl₃): δ 8,01 (дд, *J*=15,0, 11,6 Гц, 1H), 6,71 (с, 2H), 6,67 (т, *J*=11,4 Гц, 1H), 6,46 (т,

$J=5,2$ Гц, 1H), 6,17 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 6,04 (д, $J=15,6$ Гц, 1H), 5,99 (д, $J=6,9$ Гц, 1H), 5,82 (дд, $J=7,9$, 3,7 Гц, 1H), 5,44 (д, $J=3,3$ Гц, 1H), 4,91 (дд, $J=10,8$, 8,5 Гц, 1H), 4,77 (д, $J=12,0$ Гц, 1H), 4,63 (дд, $J=10,9$, 5,5 Гц, 1H), 4,47-4,44 (м, 1H), 4,14-4,08 (м, 3H), 4,01-3,96 (м, 2H), 3,87 (д, $J=5,0$ Гц, 1H), 3,79 (дд, $J=16,9$, 5,0 Гц, 1H), 3,58 (д, $J=5,0$ Гц, 1H), 3,53 (т, $J=7,1$ Гц, 2H), 3,14 (д, $J=3,9$ Гц, 1H), 2,85 (д, $J=3,9$ Гц, 1H), 2,49 (т, $J=7,5$ Гц, 1H), 2,38-2,35 (м, 1H), 2,25-2,20 (м, 3H), 2,12-2,04 (м, 3H), 1,91-1,87 (м, 2H), 1,77 (с, 3H), 1,69-1,62 (м, 3H), 1,36-1,27 (м, 6H), 0,99 (дд, $J=12,7$, 6,7 Гц, 6H), 0,93 (д, $J=6,8$ Гц, 3H), 0,86 (с, 3H).

Пример 40

[376] Соединение 118



[377] Соединение 116: К раствору веррукарина А (**1**, 25 мг, 0,05 ммоль) в безводном хлороформе (0,25 мл) добавляли соединение **115** (38 мг, 0,15 ммоль) и *N, N*-диизопропилэтиламин (35 мкл, 0,2 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 40°C в течение 22 часов. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке 30×150 мм Gemini, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **116** (15 мг, 43%) в виде белого рыхлого

твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{33}H_{44}N_4O_{12}S$, 720,3; получено 721,3 (M+H) и 743,3 (M+Na).

[378] **Соединение 117**: К раствору соединения **116** (15 мг, 0,02 ммоль) в 10:1 ТГФ/ H_2O (0,4 мл) добавляли трифенилфосфин (13,6 мг, 0,05 ммоль). После перемешивания в течение 24 часов при комнатной температуре реакционную смесь концентрировали досуха и использовали на следующей стадии без очистки. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{33}H_{46}N_2O_{12}S$, 694,3; получено 695,3 (M+H).

[379] **Соединение 118**: К раствору соединения **117** (0,02 ммоль) и Mal-car-Val-OH (**113**, 18,6 мг, 0,06 ммоль) в безводном ДМФА (0,4 мл) добавляли HATU (19 мг, 0,05 ммоль) и *N, N*-диизопропилэтиламин (10,3 мкл, 0,06 ммоль). После перемешивания в течение 1 часа реакционную смесь хроматографировали на колонке ISCO 30 г C18Aq используя 5-95% MeCN/ H_2O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **118** (5,2 мг, 27%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для $C_{48}H_{66}N_4O_{16}S$, 986,4; получено 987,4 (M+H). 1H -ЯМР (500 МГц; ацетон- d_6): δ 8,11-8,05 (т, J -14,2 Гц, 1H), 7,39-7,37 (м, 1H), 7,10-7,08 (м, 1H), 6,87 (д, J =9,8 Гц, 2H), 6,26 (д, J =11,2 Гц, 1H), 6,15 (д, J =15,8 Гц, 1H), 5,90-5,89 (м, 1H), 5,40-5,39 (м, 1H), 4,99 (д, J =1,8 Гц, 2H), 4,73-4,71 (м, 1H), 4,46-4,43 (м, 1H), 4,37-4,34 (м, 1H), 4,31 (с, 1H), 4,27-4,23 (м, 2H), 4,18-4,14 (м, 1H), 4,03-3,92 (м, 2H), 3,85-3,84 (м, 1H), 3,73 (т, J =6,5 Гц, 2H), 3,49-3,43 (м, 3H), 3,40-3,38 (м, 1H), 3,06-3,03 (м, 2H), 3,00 (с, 3H), 2,54-2,48 (м, 2H), 2,30-2,27 (м, 1H), 2,19-2,16 (м, 1H), 1,99-1,94 (м, 3H), 1,90-1,79 (м, 4H), 1,71 (с, 3H), 1,67-1,64 (м, 2H), 1,60-1,56 (м, 2H), 1,33 (т, J =7,6 Гц, 3H), 0,97-0,91 (м, 9H), 0,89 (с, 3H).

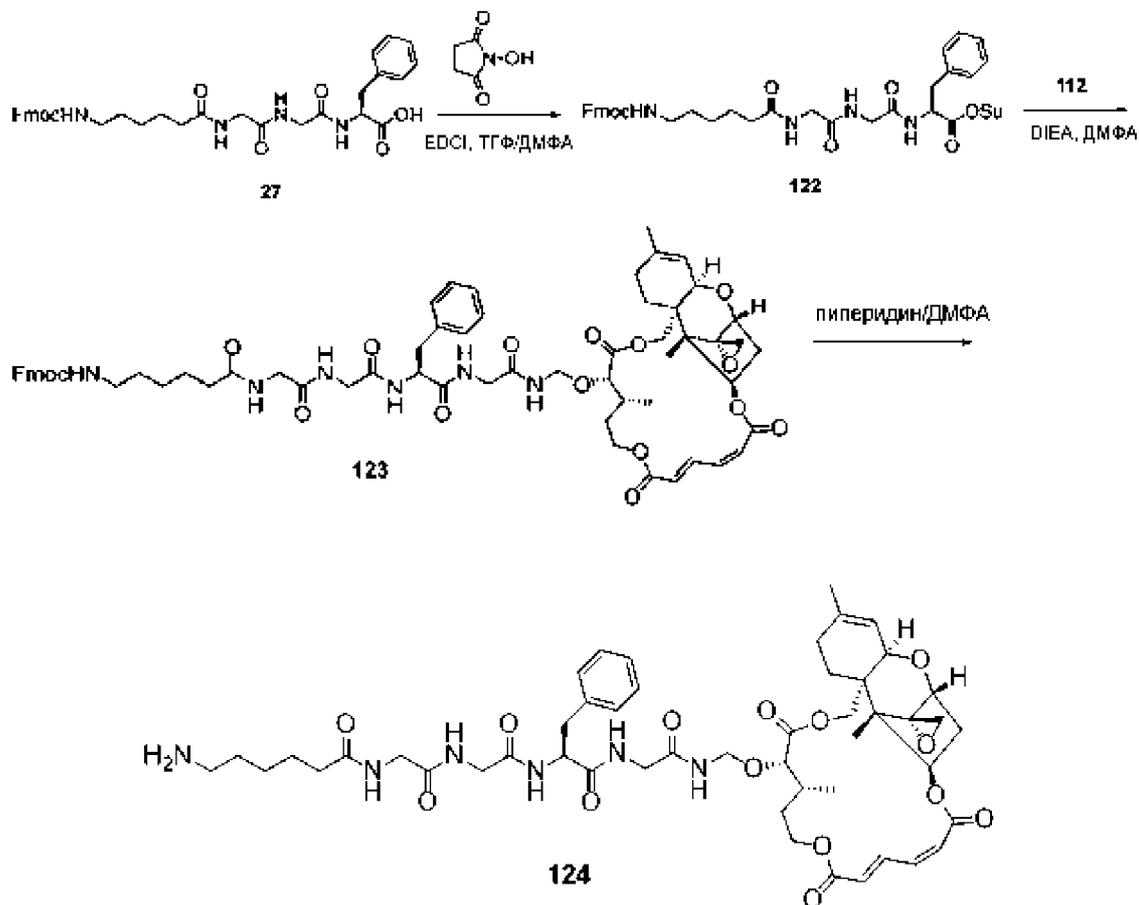
Пример 41

[380] **Соединение 121**

2,56-2,48 (м, 2H), 2,37-2,23 (м, 7H), 2,04 (д, $J=5,3$ Гц, 5H), 1,92-1,88 (м, 2H), 1,78 (с, 3H), 1,75-1,61 (м, 4H), 1,47-1,33 (м, 2H), 1,01 (дд, $J=11,9, 6,7$ Гц, 6H), 0,93 (д, $J=6,8$ Гц, 3H), 0,88 (с, 3H).

Пример 42

[383] Соединение 124



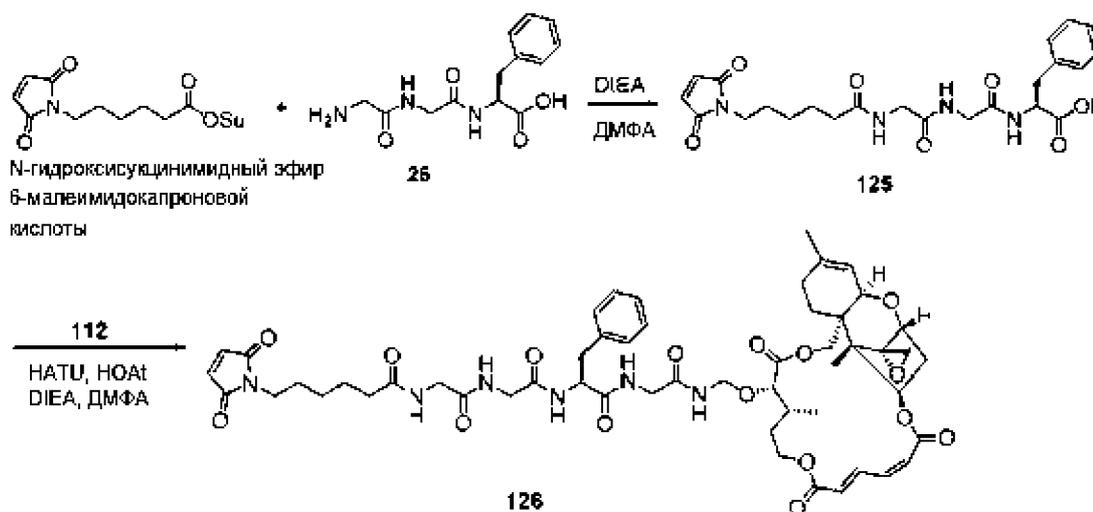
[384] **Соединение 122:** К раствору соединения **27** (80 мг, 0,130 ммоль) и *N*-гидроксисукцинимид (18 мг, 0,156 ммоль) в 1:1 ТГФ/ДМФА (0,8 мл) добавляли EDCI (37,4 мг, 0,195 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке 30×150 мм Gemini, используя 30-100% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **122** (66,2 мг, 72%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₃₈H₄₁N₅O₉, 711,3; получено 712,3 (M+H).

[385] **Соединение 123:** К раствору соединения **112** (12,3 мг, 0,021 ммоль) и соединения **122** (16,5 мг, 0,023 ммоль) в безводном ДМФА (1,5 мл) добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин. После перемешивания в течение 30 минут реакционную смесь загружали на колонку ISCO 15,5 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **123** (14,2 мг, 57%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчит. для C₆₄H₇₆N₆O₁₆, 1184,5; получено 1185,5 (M+H).

[386] **Соединение 124**: К раствору соединения **123** (14,2 мг, 0,012 ммоль) в ДМФА (1,0 мл) добавляли 5% раствор пиперидина в ДМФА (0,7 мл). После перемешивания в течение 40 минут реакционную смесь очищали с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке 30×150 мм Gemini, используя 5-95% MeCN/H₂O (оба имеют 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **124** (9,2 мг, 80%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₄₉H₆₆N₆O₁₄, 962,5; получено 963,4 (М+Н). ¹Н-ЯМР (500 МГц; ДМСО-d₆): δ 8,65-8,61 (м, 1Н), 8,43 (м, 1Н), 8,22-8,06 (м, 3Н), 7,83 (дд, *J*=15,5, 11,7 Гц, 1Н), 7,25-7,21 (м, 4Н), 7,16 (т, *J*=6,6 Гц, 1Н), 6,84 (т, *J*=11,4 Гц, 1Н), 6,30 (д, *J*=11,1 Гц, 1Н), 6,21 (д, *J*=15,5 Гц, 1Н), 5,80 (дд, *J*=7,9, 3,7 Гц, 1Н), 5,29 (д, *J*=4,4 Гц, 1Н), 4,60 (дд, *J*=10,3, 8,3 Гц, 1Н), 4,52-4,45 (м, 3Н), 4,30 (д, *J*=10,0 Гц, 1Н), 4,05 (т, *J*=5,5 Гц, 2Н), 3,91 (т, *J*=5,8 Гц, 1Н), 3,75-3,62 (м, 7Н), 3,58-3,53 (м, 1Н), 3,04 (дд, *J*=13,5, 3,5 Гц, 2Н), 2,94-2,88 (м, 3Н), 2,80 (д, *J*=13,1 Гц, 1Н), 2,64 (т, *J*=5,0 Гц, 1Н), 2,26-2,21 (м, 1Н), 2,12 (к, *J*=7,2 Гц, 2Н), 1,95 (дт, *J*=14,9, 4,5 Гц, 1Н), 1,88-1,85 (м, 2Н), 1,81 (с, 2Н), 1,76 (д, *J*=13,1 Гц, 2Н), 1,64 (с, 3Н), 1,55 (т, *J*=12,7 Гц, 1Н), 1,48 (дт, *J*=14,3, 7,2 Гц, 2Н), 1,34 (к, *J*=6,8 Гц, 2Н), 1,24 (дт, *J*=15,1, 7,4 Гц, 3Н), 0,76 (д, *J*=6,8 Гц, 3Н), 0,69 (с, 3Н).

Пример 43

[387] **Соединение 126**



[388] **Соединение 125** получали, используя тот же способ, что и для соединения **27**, за исключением того, что начинали с N-гидроксисукцинимидного эфира 6-малеимидакапроновой кислоты. МС (ИЭР, пол.): расчет. для C₂₃H₂₈N₄O₇, 472,2; получено 473,3 (М+Н).

[389] **Соединение 126**: К раствору соединения **112** (10 мг, 0,017 ммоль) и соединения **125** (9,5 мг, 0,020 ммоль) в безводном ДМФА (1,5 мл) добавляли HATU (9,7 мг, 0,026 ммоль), HOAt (1,5 мг, 0,017 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламин (6,0 мкл, 0,034 ммоль). После перемешивания в течение 30 минут реакционную смесь загружали на колонку ISCO 30 г C18Aq и элюировали 5-95% MeCN/H₂O (оба содержат 0,05% AcOH). Чистые фракции объединяли и лиофилизировали с получением соединения **126** (5,6 мг, 33%) в виде рыхлого почти белого твердого вещества. МС (ИЭР, пол.): расчет. для

$C_{53}H_{66}N_6O_{16}$, 1042,5; получено 1043,4 (M+H). 1H -ЯМР (500 МГц; ДМСО- d_6): δ 8,54 (т, $J=6,5$ Гц, 1H), 8,34 (т, $J=8,2$ Гц, 1H), 8,13-8,06 (м, 2H), 7,99 (д, $J=3,8$ Гц, 1H), 7,83 (ддд, $J=15,6, 11,6, 0,8$ Гц, 1H), 7,25-7,20 (м, 4H), 7,18-7,15 (м, 1H), 6,98 (с, 2H), 6,83 (д, $J=11,6$ Гц, 1H), 6,30 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 6,21 (д, $J=15,6$ Гц, 1H), 5,80 (дд, $J=7,9, 3,9$ Гц, 1H), 5,29 (д, $J=4,2$ Гц, 1H), 4,60 (дд, $J=10,7, 8,1$ Гц, 1H), 4,52-4,45 (м, 3H), 4,32-4,28 (м, 1H), 4,06-4,04 (м, 2H), 3,92 (тд, $J=11,5, 3,2$ Гц, 1H), 3,72 (т, $J=11,3$ Гц, 2H), 3,66 (м, 4H), 3,58 (тд, $J=18,4, 5,5$ Гц, 2H), 3,04 (дд, $J=13,3, 4,2$ Гц, 1H), 2,92 (д, $J=3,9$ Гц, 1H), 2,78 (дд, $J=13,6, 8,5$ Гц, 1H), 2,63-2,61 (м, 1H), 2,41 (дд, $J=13,4, 6,6$ Гц, 2H), 2,26-2,21 (м, 1H), 2,10 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 1,95 (тд, $J=9,7, 5,7$ Гц, 1H), 1,89-1,85 (м, 4H), 1,81-1,71 (м, 2H), 1,62-1,61 (с, 3H), 1,58-1,53 (м, 1H), 1,50-1,42 (м, 4H), 1,18 (дт, $J=15,5, 7,7$ Гц, 2H), 0,76 (д, $J=6,9$ Гц, 3H), 0,69 (с, 3H).

ПРИМЕР 44

[390] Синтез конъюгатов антитело против гемагглютинаина - лекарственное средство

[391] Моноклональное антитело mAb11729 против гемагглютинаина (против HA) было мутировано для введения консенсусной пентапептидной последовательности LLQGA на С-конце тяжелой цепи. Несвязывающее HA mAb (полученное из иммунологического антигена, не имеющего отношения к инфекционным заболеваниям), содержащее такую же консенсусную последовательность на С-конце тяжелой цепи, использовали в качестве несвязывающего изотипического контроля. Мутация позволила ферментативно конъюгировать антитела с максимальной загрузкой, составляющей 2, на тяжелых цепях (по одной на каждой тяжелой цепи).

[392] Второе моноклональное антитело F005-126 против гемагглютинаина (H3N2), взятое из литературы (Iba, et al., J. Virology 2014, vol 88, 7130-7144), было мутировано для введения консенсусной пентапептидной последовательности ELQGP на С-конце тяжелой цепи. Несвязывающее HA mAb (полученное из иммунологического антигена, не имеющего отношения к инфекционным заболеваниям), содержащее такие же консенсусные последовательности на С-конце тяжелой цепи или С-конце легкой цепи, использовали в качестве несвязывающего изотипического контроля. Мутация позволила ферментативно конъюгировать антитела с максимальной загрузкой, составляющей 2 (по одной на каждой тяжелой или легкой цепи).

[393] Антитела с сайтом конъюгации на С-конце тяжелой цепи были конъюгированы при 1 мг/мл в ФСБ, pH 7,4. Производные веррукарина A **10a, b, c; 19a, b, c; 46, 53, 101, 106** и **124** добавляли в 10-40-кратном молярном избытке по сравнению с антителом, и ферментативную реакцию инициировали добавлением 12 единиц бактериальной транслугтаминазы (Zedira или MilliporeSigma) на мг антитела и инкубировали при 37°C в течение 16 часов. Конъюгаты очищали с помощью ФСБ с 5% глицерином посредством эксклюзионной хроматографии (Superdex 200) и подвергали стерильной фильтрации. Концентрацию белка и соотношение лекарственного средства к антителу определяли путем УФ-спектрального анализа. Способом эксклюзионной ВЭЖХ установили, что все конъюгаты были >90% мономерными. Все конъюгированные

антитела анализировали с помощью масс-спектропии в отношении значений загрузок линкер - полезная нагрузка. Соотношения лекарственное средство - антитело приведены в таблице 3.

[394] Нативные mAb11729 и антитела изотипического контроля (1-10 мг/мл) в 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7,5, обрабатывали 2,2 экв. трис(2-карбоксиил)фосфином при 37°C в течение 90 мин для восстановления межцепочечных дисульфидных связей. Малеимида производные веррукарина А **12a, b, c, 21a, b, c** и **97** (1,2 эквиваленты/группа SH) в ДМСО (10 мг/мл) добавляли к восстановленному антителу и оставляли реагировать при 22°C в течение 1 ч. Конъюгаты очищали с помощью ФСБ с 5% глицерином посредством эксклюзионной хроматографии и подвергали стерильной фильтрации. Концентрацию белка и соотношение лекарственного средства к антителу определяли путем УФ-спектрального анализа. Способом эксклюзионной ВЭЖХ установили, что все использованные конъюгаты были >95% мономерными. Все конъюгированные антитела анализировали с помощью масс-спектропии в отношении значений загрузок линкер - полезная нагрузка. Соотношения лекарственное средство - антитело приведены в таблице 3.

[395] **Таблица 3.** Чистота (по данным ЭХ) и DAR конъюгатов.

Конъюгат антитело - лекарственный препарат	Соотношение лекарственного средства к антителу (DAR, ИЭР-МС)	ESI-МС, m/z (Конъюгат - Нативное)	Чистота (по данным ЭХ)
11729-НС-Cterm- LLQGA- 10a	2,2		>92%
Изотипический контроль-НС-Cterm- LLQGA- 10a	2,0		>91%
11729-НС-Cterm- LLQGA- 10b	2,2	151041-149075	>95%
Изотипический контроль-НС-Cterm- LLQGA- 10b	2,1	151404-149264	>95%
11729-НС-Cterm- LLQGA- 10c	2,1		>93%
Изотипический контроль-НС-Cterm- LLQGA- 10c	2,1		>93%
11729- 12b	8,0	LC 24694-23523 НС 52522-50613	>95%
Изотипический контроль- 12b	8,0	LC 24669-23498 НС 52728-50660	>98%
11729-НС-Cterm- LLQGA-	2,0		>93%

19a			
Изотипический контроль- НС-Cterm- LLQGA- 19a	1,9		>92%
11729-НС-Cterm- LLQGA- 19b	2,1	151076-149075	>91%
Изотипический контроль- НС-Cterm- LLQGA- 19b	2,0	151439-149264	>91%
11729-НС-Cterm- LLQGA- 19c	2,1		>93%
Изотипический контроль- НС-Cterm- LLQGA- 19c	2,0		>92%
11729- 21a	8,0		>99%
Изотипический контроль- 21a	8,0		>99%
11729- 21b	8,0		>99%
Изотипический контроль- 21b	8,0		>99%
F005-126-НС-Cterm- ELQRP- 10b	1,9		>96%
Изотипический контроль- НС-Cterm-ELQRP- 10b	1,8		>95%
F005-126-НС-Cterm- ELQRP- 19b	1,8		>95%
Изотипический контроль- НС-Cterm-ELQRP- 19b	1,8		>95%
10987- 12b	8,0	LC 23935-22765 НС 54108-50597	>99%
10985- 12b	8,0	LC 24027-22856 НС 54840-51329	>98%
10987-НС-Cterm- LLQGA- 10b	2,0	149849-147689	>96%
Изотипический контроль- НС-Cterm- LLQGA- 10b	2,0	151436-149264	>96%
10985-НС-Cterm- LLQGA-	2,0	151505-149343	>95%

10b			
3471- HC-Cterm- LLQGA- 10b	2,0	151940-149792	>96%
Клон 4A8-HC-Cterm- LLQGA- 10b	2,0	153825-151678	>96%
11729-HC-Cterm- LLQGA- 46			
Изотипический контроль- HC-Cterm- LLQGA- 46			
11729-HC-Cterm- LLQGA- 53			
Изотипический контроль- HC-Cterm- LLQGA- 53			
11729- 97	8,0		>95%
Изотипический контроль- 97	8,0		>95%
11729-HC-Cterm- LLQGA- 101	1,4		>98%
Изотипический контроль- HC-Cterm- LLQGA- 101	1,4		>98%
11729-HC-Cterm- LLQGA- 106	0,9		>98%
Изотипический контроль- HC-Cterm- LLQGA- 106	1,5		>99%
11729-HC-Cterm- LLQGA- 124	1,7		>99%
Изотипический контроль- HC-Cterm- LLQGA- 124	1,9		>99%

[396] Характеристика конъюгатов с помощью жидкостной хроматографии - масс-спектрометрии

[397] Для определения загрузок линкер - полезная нагрузка на антитело конъюгаты восстанавливали до тяжелых и легких цепей с помощью 50 мМ дитиотреитола, если конъюгаты были гликозилированными, то дополнительно дегликозилировали с помощью PNGазы, а затем анализировали с помощью ЖХ/МС. Полученные в результате молекулярные ионы при взвешивании по интенсивностям соответствовали загрузкам,

перечисленным в таблице 3.

[398] Конъюгаты анализировали с помощью ИЭР-МС для определения соотношения лекарственное средство:антитело (drug:antibody ratio - DAR), используя Waters Acquity UPLC, соединенный с масс-спектрометром Xevo G2-S QToF. Хроматографическое разделение проводили на колонке C4 (2,1 X 50 мм, ACQUITY UPLC BEH, белок C4, 1,7 мкм, 300 А) при 10-минутном градиенте (минута:процент подвижной фазы В; 0:10%, 1:10%, 5:90%, 7:90%, 7,2:10%, 10:10%). Подвижная фаза А представляла собой 0,1% муравьиную кислоту в воде, а подвижная фаза В представляла собой 0,1% муравьиную кислоту в ацетонитриле. Скорость потока была установлена на уровне 0,3 мл/мин. Детектор был установлен на сканирование TOF в диапазоне m/z 500-4500 с указанными основными параметрами (напряжение на капилляре: 3,0 кВ; пробоотборный конус: 80 В; смещение источника: 100 В; температура источника: 150°C; температура десольватации: 450°C; газовый поток в конусе: 0 л/час; газовый поток десольватации: 800 л/час). Спектры деконволюировали с помощью функции MaxEnt в программном обеспечении MassLynx. Полученные в результате молекулярные ионы при взвешивании по интенсивностям соответствовали загрузкам, перечисленным в таблице 3.

[399] Альтернативно, для определения загрузки лекарственных средств на антитело конъюгаты анализировали на Agilent 1260, используя колонку TSK-NPR Butyl HIC (хроматография с гидрофобным взаимодействием) с линейным градиентом от 25 мМ фосфата натрия с 1,5 М сульфатом аммония, pH 6,8, до 25 мМ фосфата натрия, pH 6,8, в течение 18 мин. Загрузку полезной нагрузки определяли посредством интеграции площадей пиков, соответствующих видам конъюгированных и неконъюгированных антител.

[400] Масс-спектрометрические спектры деконволюировали с помощью программного обеспечения Masslynx, а соотношение лекарственное средство - антитело (DAR) рассчитывали с помощью следующих уравнений.

1. Относительный процент (%) лекарственного средства (Dn) по распределению интенсивности пика (PI):

$$Dn\% = PI_n / \sum(PI_0 + PI_1 + PI_2 + \dots + PI_i) \times 100$$

$$(n = 0, 1, 2, 3, \dots, i)$$

2. Расчет среднего DAR:

$$DAR = \sum(1 \times D1\% + 2 \times D2\% + 3 \times D3\% + \dots + i \times Di\%)$$

ПРИМЕР 45

[401] Предпосылки

[402] Антитела, нацеленные на ближайший к мембране стеблевой домен НА гриппа, обычно демонстрируют увеличенную ширину по сравнению с антителами, нацеленными на глобулярную головку этой молекулы. Однако такая увеличенная ширина сопровождается снижением активности. Поэтому представляет интерес тот факт, можно ли повысить активность этих антител посредством конъюгации с противовирусными небольшими молекулами. mAb11729 представляет собой моноклональное антитело,

которое связывает стеблевой домен молекул HA гриппа группы 1 и которое демонстрирует противовирусную активность против H1N1 *in vitro*. Веррукарин А представляет собой широкую противовирусную молекулу, которая в данном случае была модифицирована таким образом, чтобы быть непроницаемой для клеток, и была конъюгирована с mAb11729.

[403] **Методика, результаты и выводы эксперимента**

Таблица 4. Используемые реагенты

Реагент	Поставщик
MDCK London	IRR
DMEM (1X)	Life Technologies
Пируват натрия (100 мМ)	Life Technologies
Фетальная бычья сыворотка, соответствует критериям, США	Life Technologies
Гентамицин	Life Technologies
30% раствор БСА с низким содержанием IgG	Sigma
ФСБ, pH 7,2 (1X)	Life Technologies
0,25% Трипсин-ЭДТА	Life Technologies
Трипановый синий	Life Technologies
Грипп H1N1 A/Puerto Rico/08/1934-GFP	

[404] **Противовирусная активность**

[405] Чтобы протестировать противовирусную эффективность, mAb11729 и ADC **10b, 19a, 19b** и **19c** анализировали в отношении их способности подавлять инфицирование клеток вирусом гриппа. Клетки MDCK London высевали в концентрации 20 000 клеток/лунку в 100 мкл среды для выращивания (DMEM, содержащая 1% пирувата натрия, 10% фетальной бычьей сыворотки и 0,5% гентамицина) в 96-луночный планшет. Клетки инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение 18 часов. На следующий день все антитела разбавляли до исходной концентрации 500 мкг/мл в трипсиновой инфекционной среде (DMEM, содержащая 1% пирувата натрия, 0,21% раствора БСА с низким содержанием IgG, 1 мг/мл трипсина, обработанного TPCK, и 0,5% гентамицина) и титровали 1:3 до конечной концентрации $8,5 \times 10^{-3}$ мкг/мл. Вирус гриппа H1N1 A/Puerto Rico/08/1934, который был сконструирован для экспрессии GFP в клетках, которые он инфицирует («H1N1 A/Puerto Rico/08/1934-GFP»), разбавляли до MOI один в трипсиновой инфекционной среде (Life Technologies) и смешивали 1:1 с разбавленным антителом или ADC. Среду для выращивания удаляли из засеянных 96-луночных планшетов и добавляли смесь вирус-антитело или вирус-ADC в клетки в количестве 100 мкл на лунку. Планшеты осторожно постукивали и возвращали в 37°C 5% CO₂ на 20 часов. Затем планшеты промывали один раз ФСБ и покрывали 50 мкл ФСБ. Планшеты сразу же считывали на предмет сигнала GFP на планшетном ридере Molecular Devices Spectramax i3x. ADC

демонстрировали убедительное повышение противовирусной активности против инфекции вируса гриппа А по сравнению с неконъюгированными антителами.

Таблица 5. Противовирусная активность ADC

ADC	IC ₅₀ log(M) ADC	Исходное антитело IC ₅₀ log(M)	Кратное увеличение по сравнению с исходным антителом
11729-НС-Сterm- LLQGA-10b	2,382E-09	1,658E-08	6,96
11729-НС-Сterm- LLQGA-19b	1,122E-09	1,768E-08	15,76
11729-НС-Сterm- LLQGA-19a	1,616E-09	1,253E-08	7,75
11729-НС-Сterm- LLQGA-19c	5,826E-10	1,677E-08	28,78

ПРИМЕР 46

[406] Чтобы оценить потенциал веррукарина А как противовирусной полезной нагрузки широкого спектра действия, непроницаемый для клеток веррукарин А конъюгировали с mAb10987, mAb10985 и клоном 4A8. mAb10987 и mAb10985 представляют собой моноклональные антитела, которые связывают отдельные эпитопы на рецептор-связывающем домене SARS-CoV-2, а клон 4A8 связывается за пределами RBD на шиповидном белке SARS-CoV-2.

[407] Чтобы протестировать противовирусную эффективность против SARS-CoV-2, mAb10987, mAb10985, и клон 4A8, и ADC mAb10987-12b, mAb10985-12b, mAb10987-10b, mAb10985-10b, и клон 4A8-10b анализировали в отношении их способности подавлять инфицирование клеток вирусом VSVΔG, экспрессирующим шиповидный белок SARS-CoV-2 на своей поверхности. Клетки Vero высевали в концентрации 20 000 клеток/лунку в 100 мкл среды для выращивания (DMEM, содержащая 10% фетальной бычьей сыворотки и 1% глутамин Pen-Strep) в 96-луночный планшет. Клетки инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение 18-24 часов. На следующий день все антитела разбавляли до исходной концентрации 10 мкг/мл в инфекционной среде (DMEM, содержащая 3% ФСБ и 1% PSG) и титровали 1:3 до конечной концентрации 1,69×10⁻⁴ мкг/мл. VSV-шиповидный вирус разбавляли до 4×10⁴ PFU/мл в инфекционной среде и смешивали 1:1 с разбавленным антителом или ADC. Смесь вирус-антитело инкубировали вместе в течение 30 минут. Среда для выращивания затем удаляли из засеянных 96-луночных планшетов и добавляли смесь вирус-антитело или вирус-ADC в клетки в количестве 100 мкл на лунку. Планшеты осторожно постукивали и возвращали в 37°C 5% CO₂ на 20 часов. Затем планшеты извлекали из инкубатора и фиксировали с помощью 2% PFA в течение 30 мин. 2% PFA затем удаляли и добавляли блокирующий буфер/буфер для пермеабиллизации (ФСБ с 3% БСА и 0,1% Triton-X100) к клеткам на 1 ч при комнатной

температуре. Блокирующий буфер затем заменяли раствором первичных антител (кроличьи антитела к VSV от Imanis, разбавленные 1:100 в блокирующем буфере). Планшеты инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре. Планшеты затем промывали 3X с помощью ФСБ. Раствор вторичных антител (козьи антитела к AF488 кролика, разбавленные 1:100 в блокирующем буфере) добавляли к клеткам на 1 ч при 37°C. Затем планшеты промывали 3X с помощью ФСБ и покрывали 100 мкл ФСБ. Флуоресценцию AF488 затем считывали с помощью планшет-ридера Molecular Devices Spectramax i3x. Анти-шиповидные антитела, конъюгированные с полезной нагрузкой веррукарин А, демонстрировали повышенную противовирусную активность против VSV-шиповидной инфекции по сравнению с неконъюгированным антителом (таблица 6).

Таблица 6. Противовирусная эффективность против SARS-CoV-2

	IC50 log(M) ADC	IC50 log(M) исходного антитела	Кратное увеличение по сравнению с исходным антителом
10987-12b	1,42E-11	4,97E-11	3,5
10987-NC-Cterm-LLQGA-10b	1,97E-11	4,97E-11	2,5
10985-12b	2,27E-10	5,03E-10	2,2
10985-NC-Cterm-LLQGA-10b	1,99E-10	5,03E-10	2,5
4A8-NC-Cterm-LLQGA-10b	2,90E-11	8,05E-11	2,8

Пример 47

[408] Чтобы дополнительно оценить потенциал веррукарин А как противовирусной полезной нагрузки широкого спектра действия, непроницаемый для клеток веррукарин А конъюгировали с mAb3471, моноклональным антителом, которое связывает гликопротеин вируса Эбола (EBOV).

[409] Чтобы протестировать противовирусную эффективность против EBOV, mAb3471 и ADB mAb3471-**10b** оценивали в отношении их способности подавлять инфицирование клеток VSVΔG, экспрессирующим гликопротеин (GP) EBOV на своей поверхности. Клетки Vero высевали в концентрации 20 000 клеток/лунку в 100 мкл среды для выращивания (DMEM, содержащая 10% фетальной бычьей сыворотки и 1% глутамин Penn-Strep) в 96-луночный планшет. Клетки инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение 18-24 часов. На следующий день все антитела разбавляли до исходной концентрации 200 мкг/мл в инфекционной среде (DMEM, содержащая 3% ФСБ и 1% PSG) и титровали 1:3 до конечной концентрации $3,39 \times 10^{-3}$ мкг/мл. Вирус VSV-EBOV-GP разбавляли до 4×10^4 PFU/мл в инфекционной среде и смешивали 1:1 с разбавленным антителом или ADC. Смесь вирус-антитело инкубировали вместе в течение 30 минут. Среду для выращивания затем удаляли из засеянных 96-луночных планшетов и добавляли смесь вирус-антитело или вирус-ADC в клетки в количестве 100 мкл на лунку. Планшеты осторожно постукивали и возвращали в 37°C 5% CO₂ на 20 часов. Затем планшеты извлекали из инкубатора и фиксировали с помощью 2% PFA в течение 30 мин. 2% PFA

затем удаляли и добавляли блокирующий буфер/буфер для пермеабилзации (ФСБ с 3% БСА и 0,1% Triton-X100) к клеткам на 1 ч при комнатной температуре. Блокирующий буфер затем заменяли раствором первичных антител (кроличьи антитела к VSV от Imanis, разбавленные 1:100 в блокирующем буфере). Планшеты инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре. Планшеты затем промывали 3X с помощью ФСБ. Раствор вторичных антител (козьи антитела к AF488 кролика, разбавленные 1:100 в блокирующем буфере) добавляли к клеткам на 1 ч при 37°C. Затем планшеты промывали 3X с помощью ФСБ и покрывали 100 мкл ФСБ. Флуоресценцию AF488 затем считывали с помощью планшет-ридера Molecular Devices Spectramax i3x. mAb3471, конъюгированное с полезной нагрузкой веррукарина А, демонстрировало повышенную противовирусную активность против инфекции VSV-EBOV-GP по сравнению с неконъюгированным антителом (таблица 7).

Таблица 7. Противовирусная эффективность против EBOV

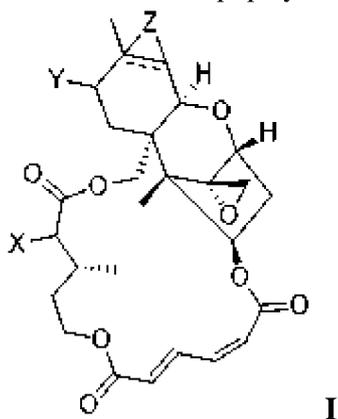
	IC50 log(M) ADC	IC50 log(M) исходного антитела	Кратное увеличение по сравнению с исходным антителом
3471-NC-Cterm-LLQGA-10b	2,22E-09	9,57E-09	4,3

[410] Это изобретение не должно ограничиваться по объему вариантами осуществления, описанными в примерах, которые предназначены в качестве отдельных иллюстраций некоторых аспектов, и при этом любые эквиваленты находятся в пределах объема этого изобретения. Различные модификации в дополнение к показанным и описанным в данном документе станут очевидны для специалистов в данной области техники из вышеприведенного описания. Предполагается, что такие модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения.

[411] В данном документе цитируются различные ссылки, такие как патенты, патентные заявки и публикации, описание которых настоящим полностью включено в данный документ посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I:



или его фармацевтически приемлемое производное, где:

X представляет собой NR^1R^2 , OR^3 или SR^4 ;

каждый из R^1 и R^2 независимо представляет собой H, алкил, OR^5 или COR^6 , или вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил;

R^3 представляет собой алкил или COR^7 ;

R^4 представляет собой H или COR^8 ;

R^5 представляет собой H или алкил;

R^6 представляет собой R^9 , OR^{10} или $NR^{11}R^{12}$;

каждый из R^7 - R^9 независимо представляет собой алкил или аралкил;

каждый из R^{10} - R^{12} независимо представляет собой H, алкил или аралкил;

Y представляет собой H или OH; и

(i) Z представляет собой O, а \equiv представляет собой одинарную связь; или (ii) Z отсутствует, а \equiv представляет собой двойную связь.

2. Соединение по п. 1, где каждый из R^1 и R^2 независимо представляет собой H, низший алкил или COR^6 , или вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил.

3. Соединение по п. 1 или п. 2, где каждый из R^1 и R^2 независимо представляет собой H, метил, этил, $C(O)$ -алкилен- CO -W, где W представляет собой OR^{13} или $NR^{14}R^{15}$, или $C(O)$ - $CH(V)$ - CH_3 , где V представляет собой OR^{16} или $NR^{17}R^{18}$, или вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют пиперазинил, пиперидинил, пирролидинил, имидазолидинил или азепинил; каждый из R^{13} и R^{16} независимо представляет собой H или алкил; а каждый из R^{14} , R^{15} , R^{17} и R^{18} независимо представляет собой H, алкил, гидроксиль или алкокси.

4. Соединение по любому из пп. 1-3, где каждый из R^1 и R^2 независимо представляет собой H, метил, этил, $C(O)$ -(C_{2-4} алкилен)- CO -W, где W представляет собой OR^{13} или $NR^{14}R^{15}$, или $C(O)$ - $CH(V)$ - CH_3 , где V представляет собой OR^{16} или $NR^{17}R^{18}$, или вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют пиперазинил; каждый из R^{13} и R^{16} независимо представляет собой H или метил; а каждый из R^{14} , R^{15} , R^{17} и R^{18}

независимо представляет собой H, метил, гидрокси или метокси.

5. Соединение по любому из пп. 1-4, где R^1 представляет собой H, метил, этил, $C(O)CH_2CH_2COOH$, $C(O)CH_2CH_2CH_2COOH$, $C(O)CH_2CH_2CH_2CH_2COOH$, $C(O)CH_2CH_2CH_2COOMe$, $C(O)CH_2CH_2CH_2CONHON$, $C(O)CH_2CH_2CH_2CONHOMe$, $C(O)-CH(OH)-CH_3$, $C(O)-CH(NH_2)-CH_3$ или $C(O)-CH(NMe_2)-CH_3$.

6. Соединение по любому из пп. 1-5, где R^2 представляет собой H или метил.

7. Соединение по любому из пп. 1-4, где R^1 и R^2 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 4-метил-1-пиперазинил.

8. Соединение по п. 1, где R^3 представляет собой метил или $C(O)$ -алкил, где алкил необязательно замещен.

9. Соединение по п. 1 или п. 8, где R^3 представляет собой метил или $C(O)-CH(NR^{19}R^{20})-CH_3$, где каждый из R^{19} и R^{20} независимо представляет собой H, алкил или CO -алкил.

10. Соединение по любому из пп. 1, 8 или 9, где R^3 представляет собой метил, $C(O)-CH(NHMe)-CH_3$ или $C(O)-CH(NHAc)-CH_3$.

11. Соединение по п. 1, где R^4 представляет собой COR^8 .

12. Соединение по п. 1 или п. 10, где R^4 представляет собой $C(O)Me$.

13. Соединение по п. 1, где R^5 представляет собой H или метил.

14. Соединение по п. 1, где R^6 представляет собой R^9 , где R^9 представляет собой алкилен- $CO-W$, где W представляет собой OR^{13} или $NR^{14}R^{15}$, R^{13} представляет собой H или метил; а каждый из R^{14} и R^{15} независимо представляет собой H, метил, гидрокси или метокси.

15. Соединение по п. 1 или п. 14, где R^6 представляет собой CH_2CH_2COOH , $CH_2CH_2CH_2COOH$, $CH_2CH_2CH_2CH_2COOH$, $CH_2CH_2CH_2COOMe$, $CH_2CH_2CH_2CONHON$ или $CH_2CH_2CH_2CONHOMe$.

16. Соединение по п. 1, где каждый из R^7 и R^8 независимо представляет собой алкил.

17. Соединение по п. 1 или п. 16, где каждый из R^7 и R^8 независимо представляет собой метил.

18. Соединение по п. 1, где каждый $R^{10}-R^{12}$ независимо представляет собой H или алкил.

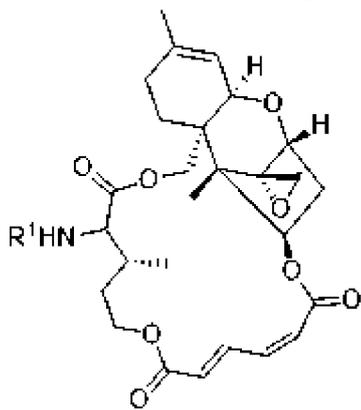
19. Соединение по п. 1 или п. 18, где каждый $R^{10}-R^{12}$ независимо представляет собой H или метил.

20. Соединение по любому из пп. 1-19, где Y представляет собой H, Z отсутствует, а \equiv представляет собой двойную связь.

21. Соединение по любому из пп. 1-19, где Y представляет собой OH, Z отсутствует, а \equiv представляет собой двойную связь.

22. Соединение по любому из пп. 1-19, где Y представляет собой H, Z представляет собой O, а \equiv представляет собой одинарную связь.

23. Соединение по п. 1, имеющее формулу II:



или его фармацевтически приемлемое производное, где:

R^1 представляет собой H или $-COR^6$; и

R^6 представляет собой -алкилен- $COOH$.

24. Соединение по п. 23, где R^1 представляет собой H.

25. Соединение по п. 23, где R^1 представляет собой $-COR^6$.

26. Соединение по п. 23 или п. 25, где R^6 представляет собой $-(CR^{21}R^{22})_mCOOH$, где каждый из R^{21} и R^{22} независимо представляет собой H или алкил; а m представляет собой целое число от 0 до 6.

27. Соединение по п. 26, где каждый из R^{21} и R^{22} независимо представляет собой H или метил.

28. Соединение по п. 26 или п. 27, где каждый из R^{21} и R^{22} представляет собой H.

29. Соединение по любому из пп. 26-28, где m равно 2, 3 или 4.

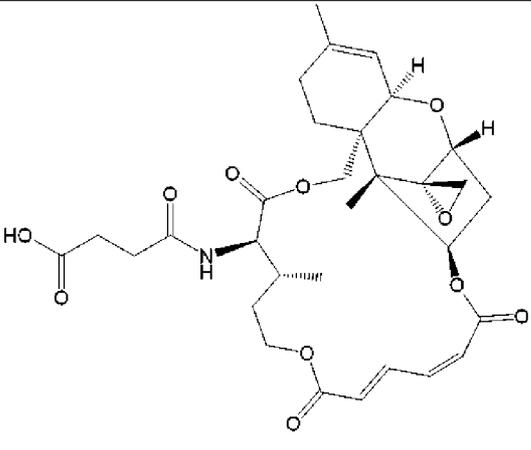
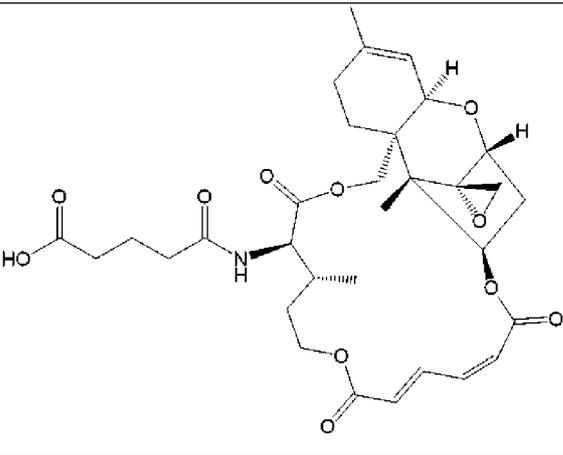
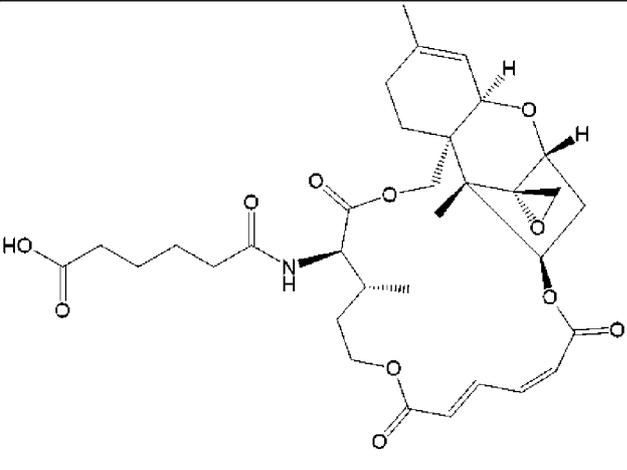
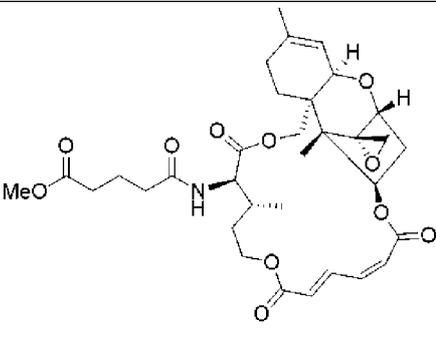
30. Соединение по любому из пп. 23 и 25-29, где R^1 представляет собой $-CO-(CH_2)_2COOH$.

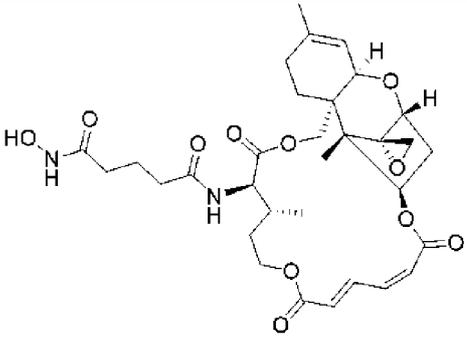
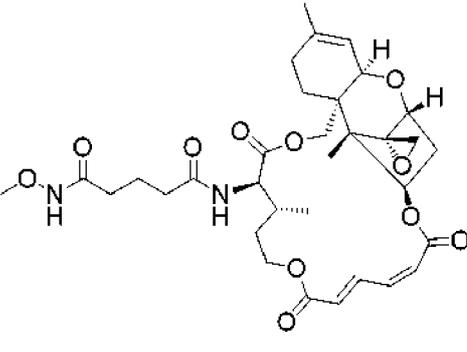
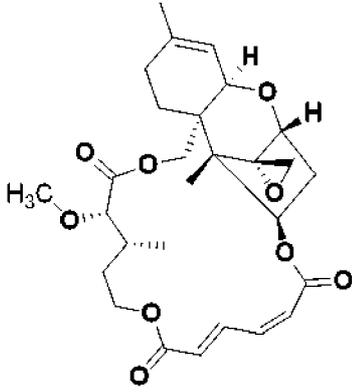
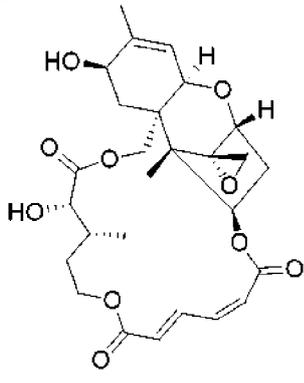
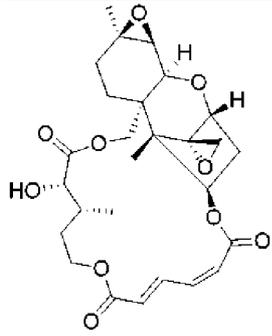
31. Соединение по любому из пп. 23 и 25-29, где R^1 представляет собой $-CO-(CH_2)_3COOH$.

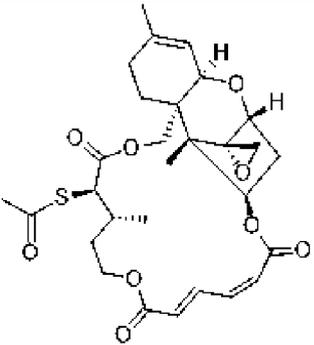
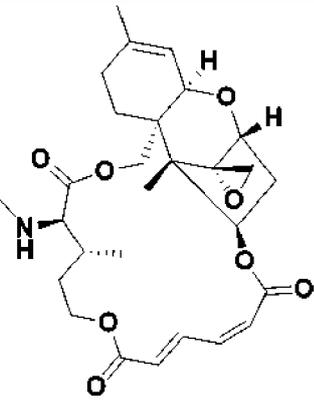
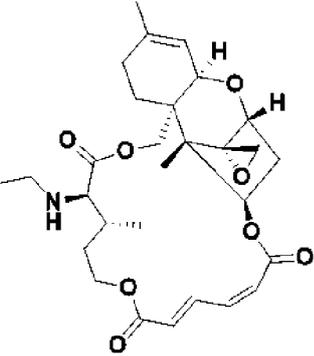
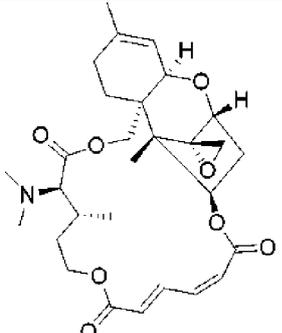
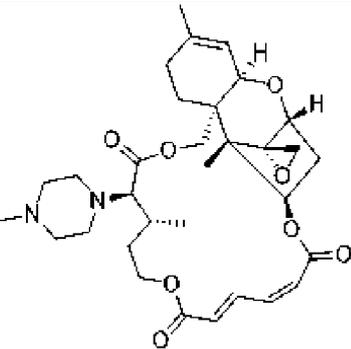
32. Соединение по любому из пп. 23 и 25-29, где R^1 представляет собой $-CO-(CH_2)_4COOH$.

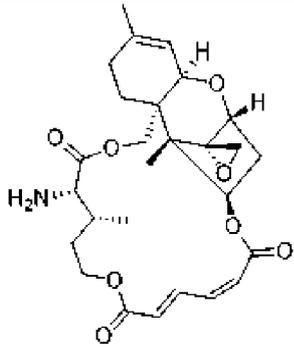
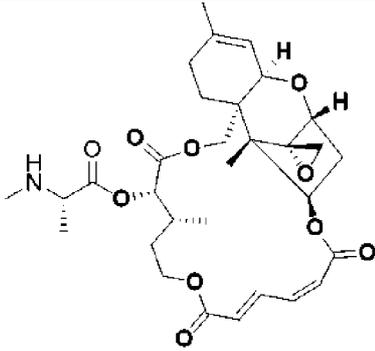
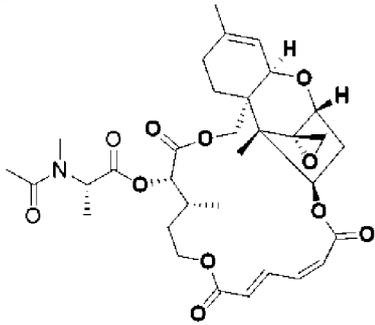
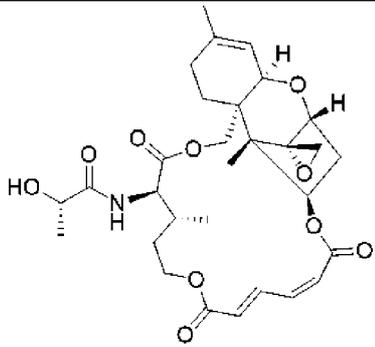
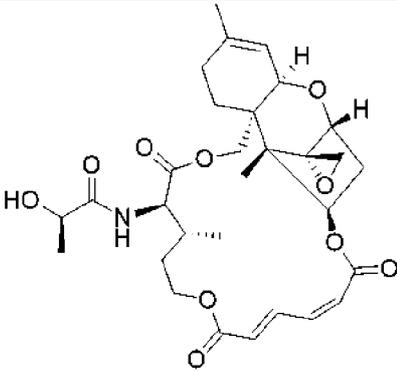
33. Соединение по любому из пп. 1-32, выбранное из

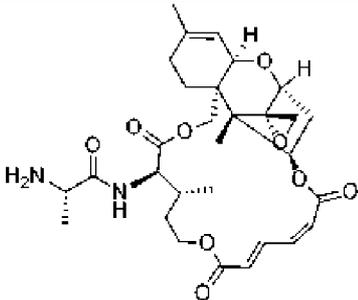
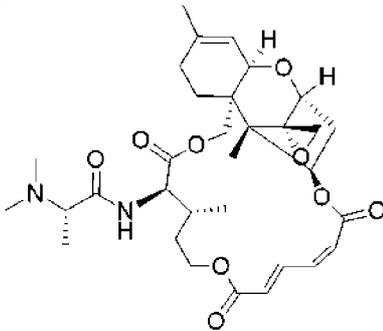
Соединение	Структура
<p style="text-align: center;">4</p> <p>(R)-амино-веррукарин А</p>	

5	
6	
7	
22	

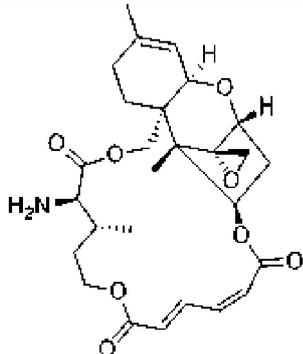
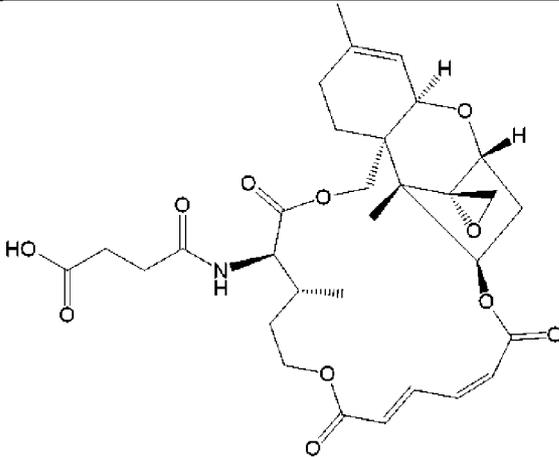
24	 <p>Chemical structure of compound 24, a complex polycyclic molecule. It features a central ring system with multiple oxygen atoms and a long chain extending from one side, terminating in a hydroxyl group (HO) and a methyl group (H₃C).</p>
25	 <p>Chemical structure of compound 25, a complex polycyclic molecule. It features a central ring system with multiple oxygen atoms and a long chain extending from one side, terminating in a hydroxyl group (HO) and a methyl group (H₃C).</p>
52	 <p>Chemical structure of compound 52, a complex polycyclic molecule. It features a central ring system with multiple oxygen atoms and a long chain extending from one side, terminating in a methyl group (H₃C).</p>
53	 <p>Chemical structure of compound 53, a complex polycyclic molecule. It features a central ring system with multiple oxygen atoms and a long chain extending from one side, terminating in a hydroxyl group (HO).</p>
54	 <p>Chemical structure of compound 54, a complex polycyclic molecule. It features a central ring system with multiple oxygen atoms and a long chain extending from one side, terminating in a hydroxyl group (HO).</p>

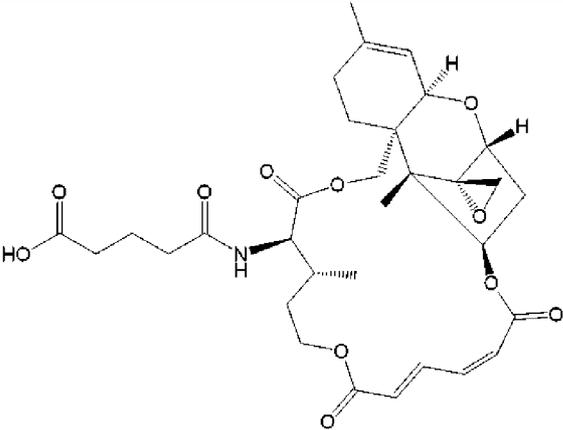
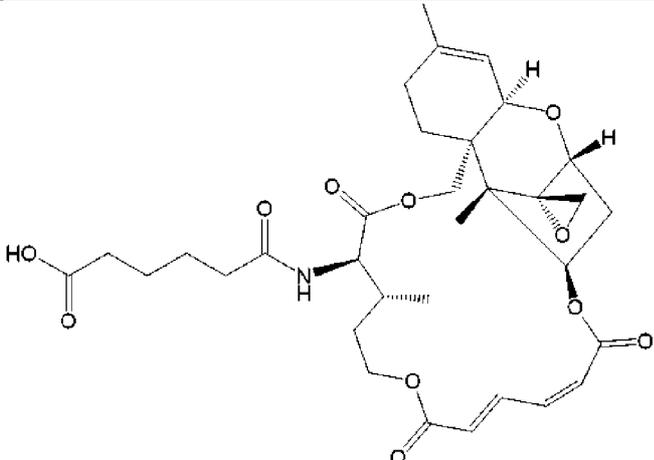
55	
56	
57	
58	
59	

62	 <p>Chemical structure of compound 62, a complex polycyclic molecule. It features a central bicyclic core with multiple oxygen atoms and a long chain containing a double bond and a terminal amino group (H_2N).</p>
64	 <p>Chemical structure of compound 64, a complex polycyclic molecule. It features a central bicyclic core with multiple oxygen atoms and a long chain containing a double bond and a terminal amide group (NH).</p>
65	 <p>Chemical structure of compound 65, a complex polycyclic molecule. It features a central bicyclic core with multiple oxygen atoms and a long chain containing a double bond and a terminal amide group (N).</p>
77	 <p>Chemical structure of compound 77, a complex polycyclic molecule. It features a central bicyclic core with multiple oxygen atoms and a long chain containing a double bond and a terminal amide group (NH).</p>
78	 <p>Chemical structure of compound 78, a complex polycyclic molecule. It features a central bicyclic core with multiple oxygen atoms and a long chain containing a double bond and a terminal amide group (NH).</p>

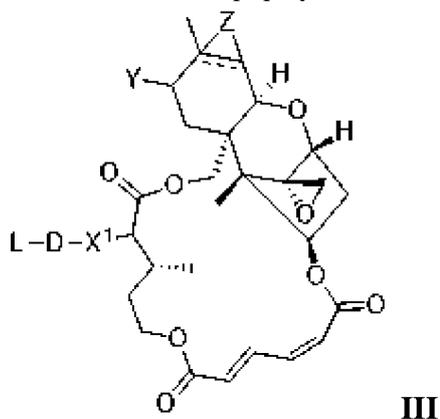
80	
81	

34. Соединение по любому из пп. 23-30, выбранное из

Соединение	Структура
<p>4 (R)-амино-веррукарин А</p>	
5	

6	
7	

35. Соединение формулы III:



или его фармацевтически приемлемое производное, где X^1 представляет собой O или NH; D отсутствует или представляет собой $-C(O)-(CH_2)_{2-5}-C(O)-$ или $-O-NH-C(O)-(CH_2)_{2-5}-C(O)-$; L представляет собой связывающую группу; Y представляет собой H или OH; и (i) Z представляет собой O, а $---$ представляет собой одинарную связь; или (ii) Z отсутствует, а $---$ представляет собой двойную связь.

36. Соединение по п. 35, где Y представляет собой H, Z отсутствует, а $---$ представляет собой двойную связь.

37. Соединение по п. 35, где Y представляет собой OH, Z отсутствует, а $---$ представляет собой двойную связь.

38. Соединение по п. 35, где Y представляет собой H, Z представляет собой O, а --- представляет собой одинарную связь.

39. Соединение по любому из пп. 35-38, где X представляет собой O.

40. Соединение по любому из пп. 35-38, где X представляет собой NH.

41. Соединение по любому из пп. 35-40, где D отсутствует.

42. Соединение по любому из пп. 35-40, где D представляет собой $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_{2-5}-\text{C}(\text{O})-$.

43. Соединение по любому из пп. 35-40, где D представляет собой $-\text{O}-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_{2-5}-\text{C}(\text{O})-$.

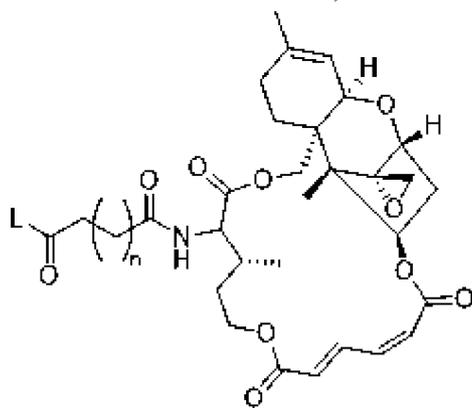
44. Соединение по любому из пп. 35-40 и 42, где D представляет собой $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})-$.

45. Соединение по любому из пп. 35-40 и 42, где D представляет собой $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_3-\text{C}(\text{O})-$.

46. Соединение по любому из пп. 35-40 и 42, где D представляет собой $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_4-\text{C}(\text{O})-$.

47. Соединение по любому из пп. 35-40 и 43, где D представляет собой $-\text{O}-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_3-\text{C}(\text{O})-$.

48. Соединение по п. 35, имеющее формулу IV:



IV

или его фармацевтически приемлемое производное, где L представляет собой связывающую группу, а n представляет собой целое число от 1 до 4.

49. Соединение по п. 48, где n равно 1, 2 или 3.

50. Соединение по любому из пп. 35-49, где L представляет собой расщепляемый линкер.

51. Соединение по любому из пп. 35-50, где L представляет собой кислотно-лабильный линкер, гидролизно-лабильный линкер, ферментативно расщепляемый линкер, восстановительно-лабильный линкер или саморазрушающийся линкер.

52. Соединение по любому из пп. 35-51, где L содержит или состоит из пептида, углевода, N-гидроксисукцинимидилового сложного эфира, глюкуронида, одного или большего количества звеньев полиэтиленгликоля, гидразона, мал-капроильного звена, дипептидного звена, валин-цитрулинового звена или парааминобензильного звена или их комбинаций.

53. Соединение по любому из пп. 35-52, где L содержит или состоит из пептида, углевода, глюкуронида, одного или большего количества звеньев полиэтиленгликоля, гидразона, мал-капроильного звена, дипептидного звена, валин-цитрулинового звена или парааминобензильного звена или их комбинаций.

54. Соединение по любому из пп. 35-53, где L содержит или состоит из MC (6-малеимидокапроила), MP (малеимидопропаноила), val-cit (валин-цитруллина), val-ala (валин-аланина), изолейцин-фенилаланин-цитруллина, дипептидного сайта в расщепляемом протеазой линкере, ala-phe (аланин-фенилаланина) или PAB (п-аминобензилокси) или их комбинаций.

55. Соединение по любому из пп. 35-54, где L содержит или состоит из MC (6-малеимидокапроила), MP (малеимидопропаноила), val-cit (валин-цитруллина), val-ala (валин-аланина), дипептидного сайта в расщепляемом протеазой линкере, ala-phe (аланин-фенилаланина) или PAB (п-аминобензилокси) или их комбинаций.

56. Соединение по любому из пп. 35-55, где L содержит или состоит из val-cit-PAB.

57. Соединение по любому из пп. 35-55, где L содержит или состоит из val-cit-MePAB (val-cit-(п-амино- α -бензилокси)).

58. Соединение по любому из пп. 35-55, где L содержит или состоит из AC (6-аминокапроила).

59. Соединение по любому из пп. 35-55, где L содержит или состоит из MC (6-малеимидокапроила).

60. Соединение по любому из пп. 35-55, где L содержит или состоит из MC-val-cit-PAB.

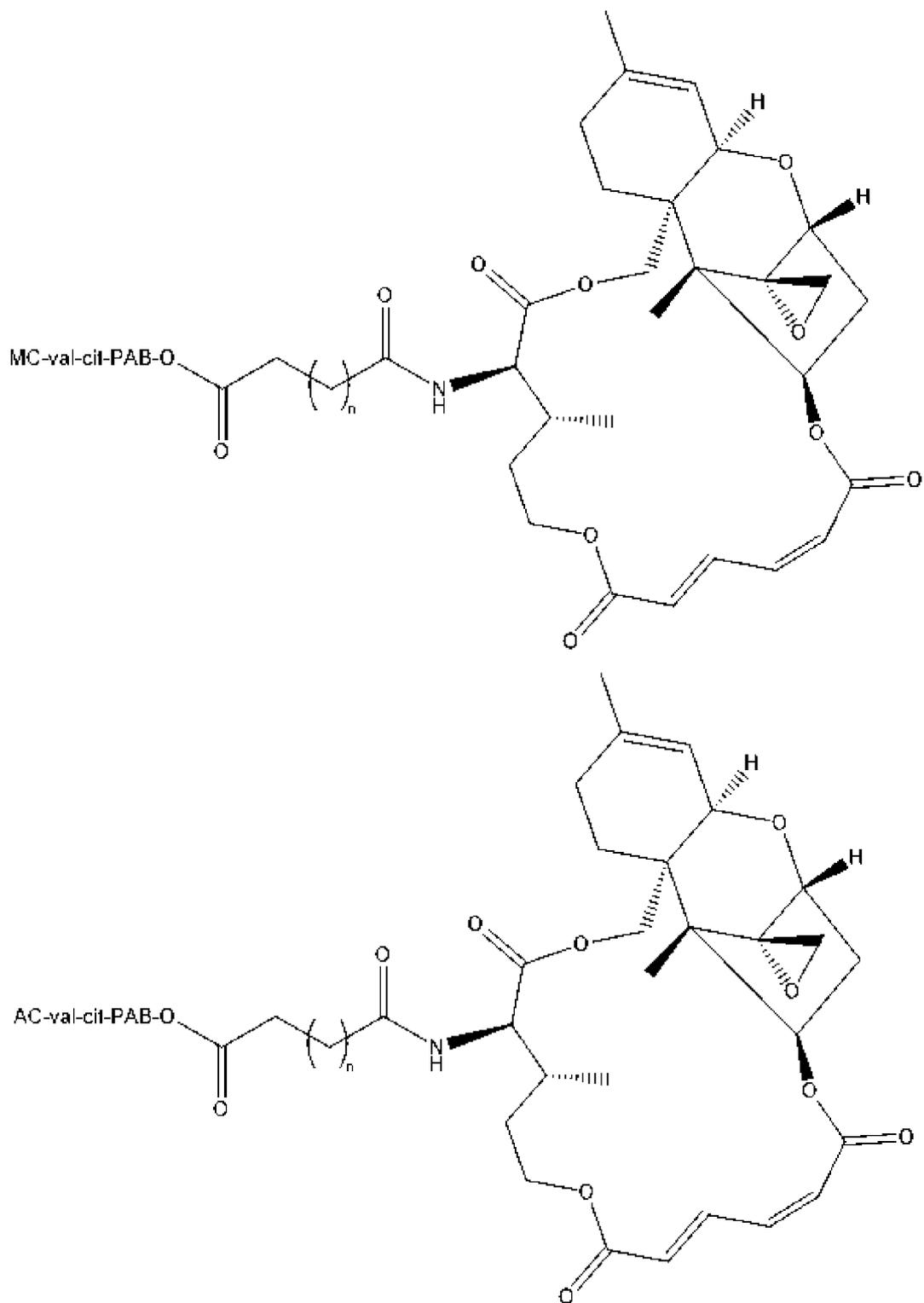
61. Соединение по любому из пп. 35-55, где L содержит или состоит из AC-val-cit-PAB.

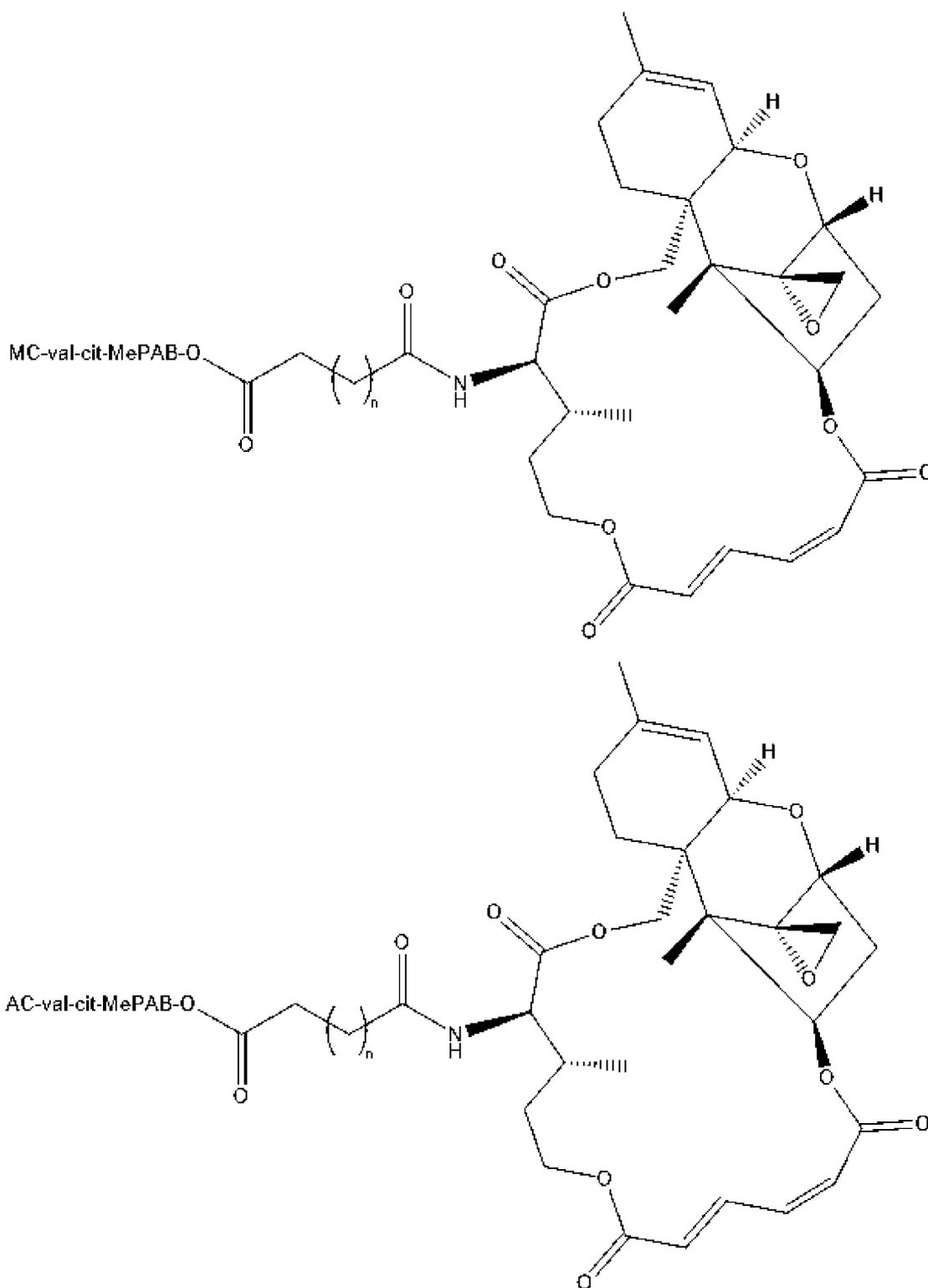
62. Соединение по любому из пп. 35-55, где L содержит или состоит из MC-val-cit-MePAB.

63. Соединение по любому из пп. 35-55, где L содержит или состоит из AC-val-cit-MePAB.

64. Соединение по любому из пп. 35-55, где L содержит или состоит из AC-GGFG-CH₂-.

65. Соединение по любому из пп. 35-64, имеющее одну из формул:

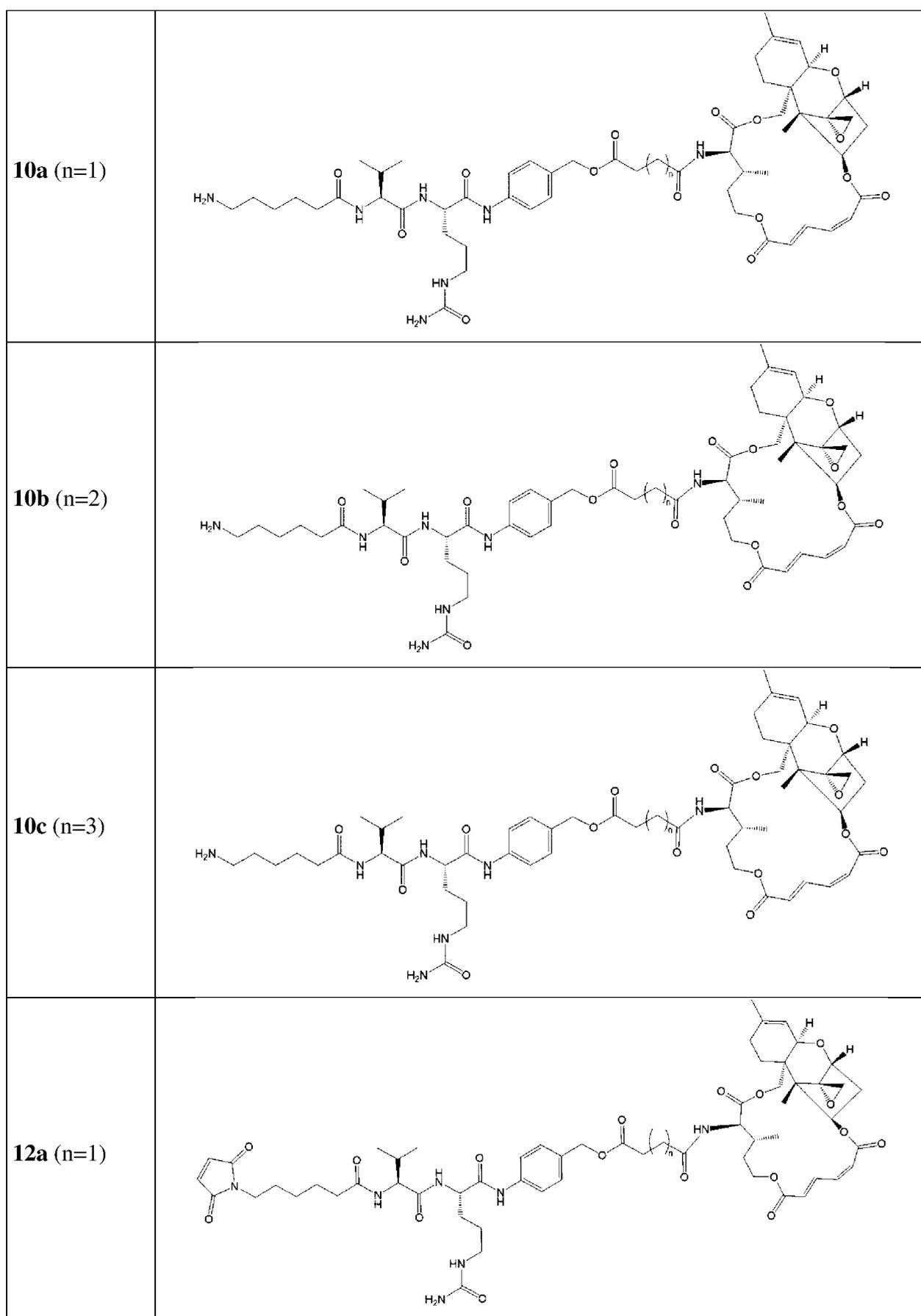


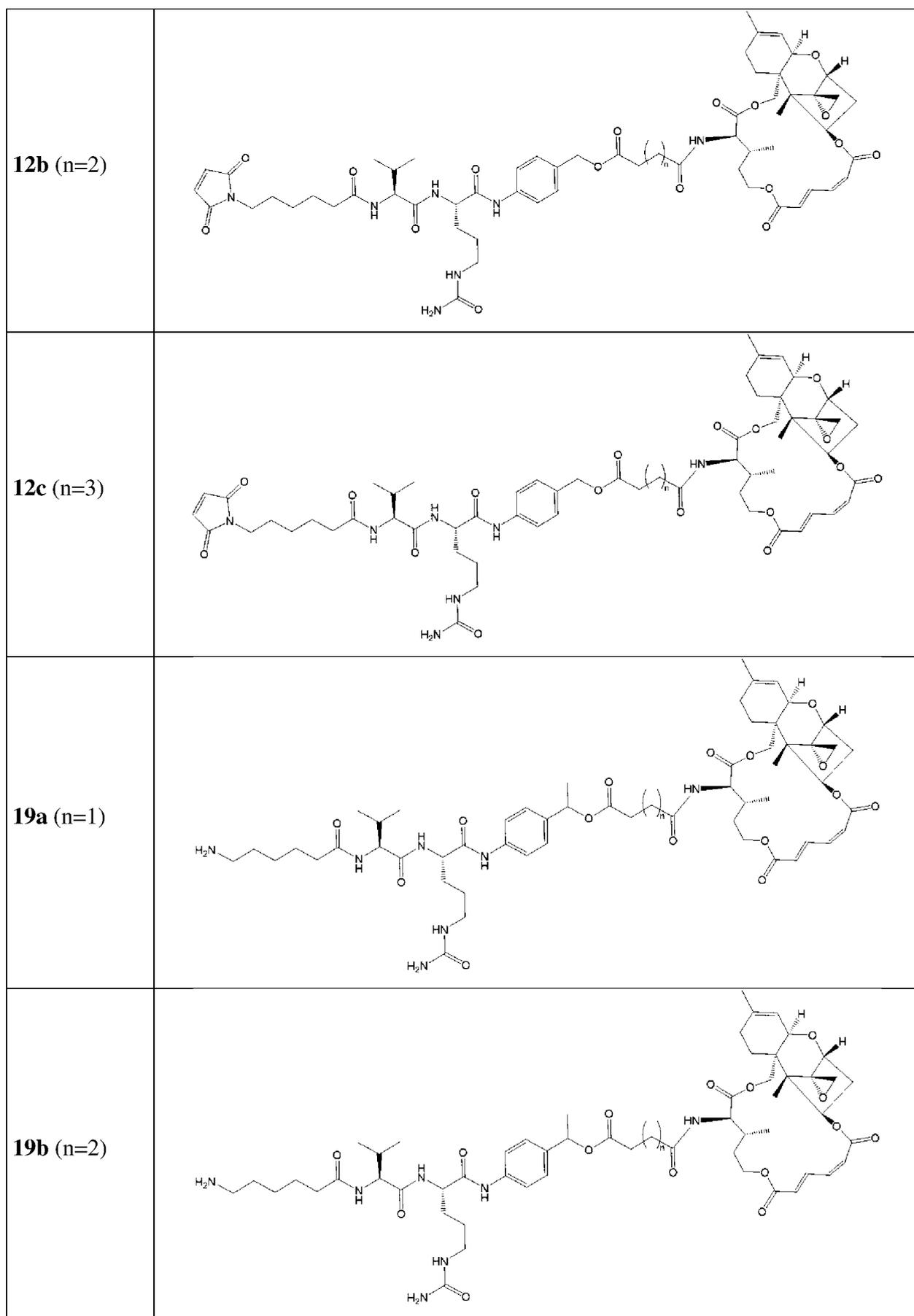


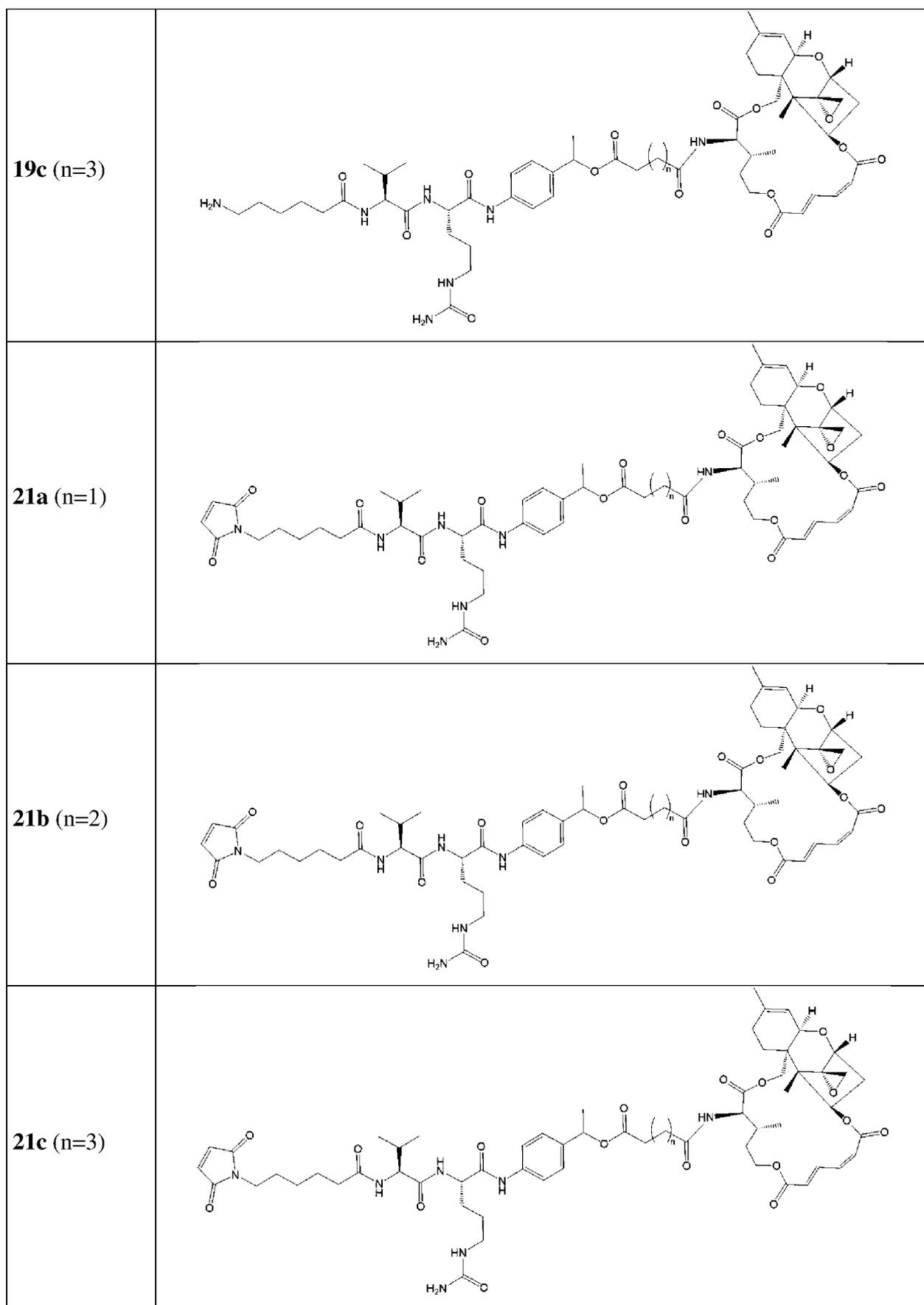
66. Соединение по любому из пп. 35-49, где L представляет собой нерасщепляемый линкер.

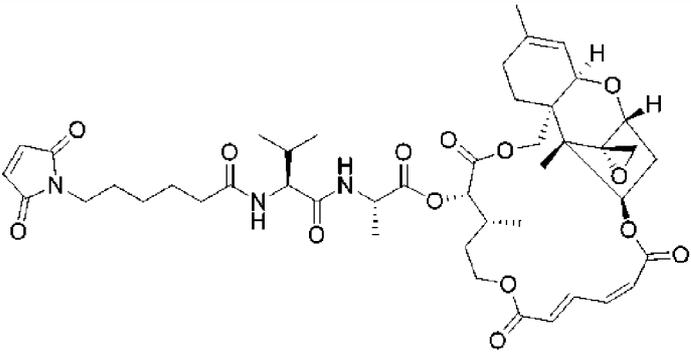
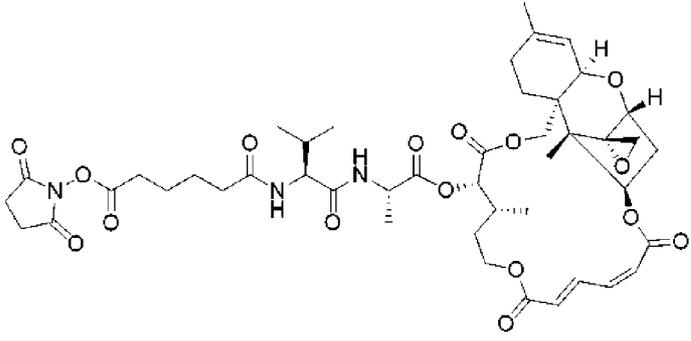
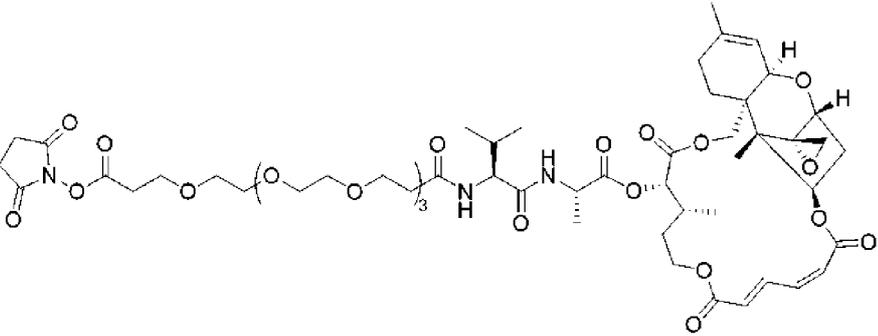
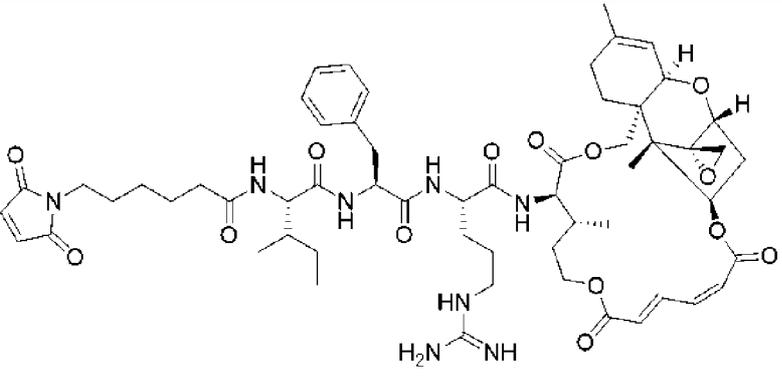
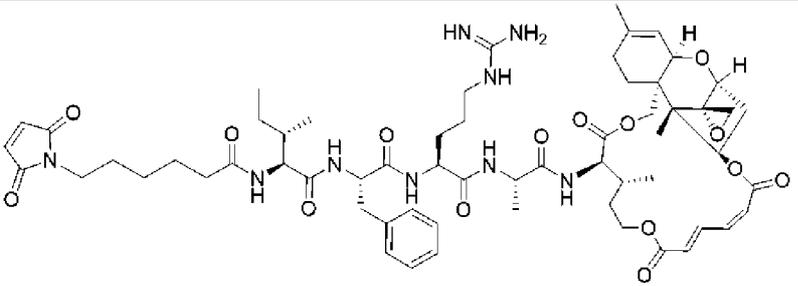
67. Соединение по любому из пп. 35-66, выбранное из

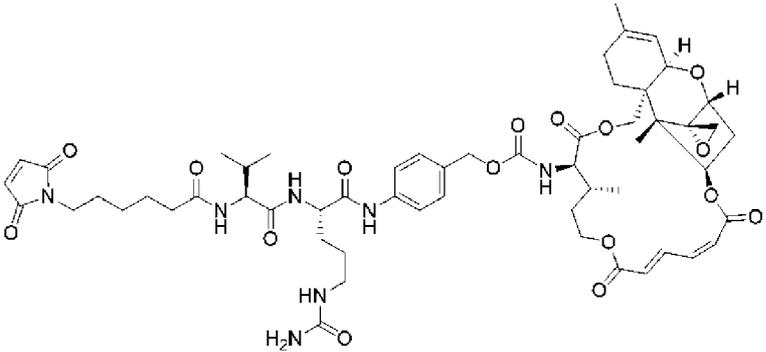
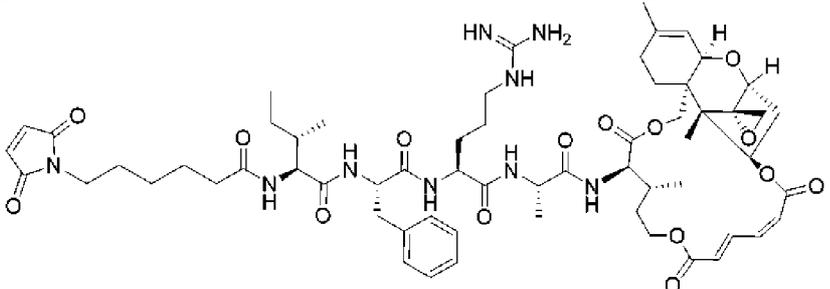
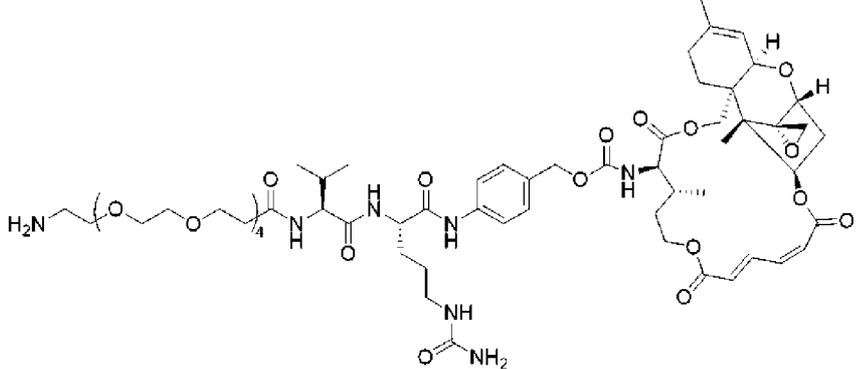
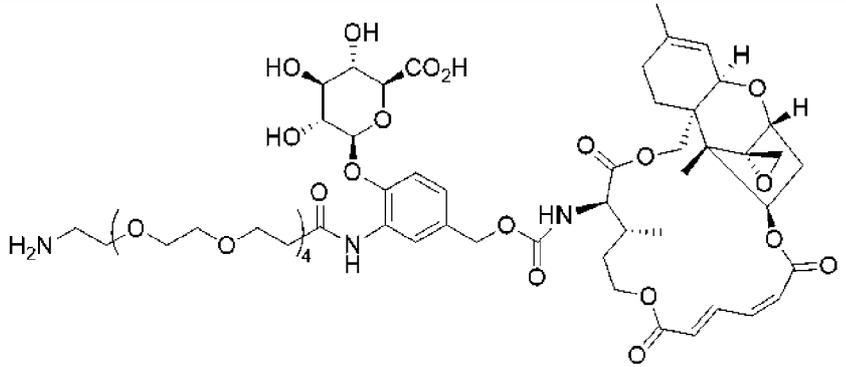
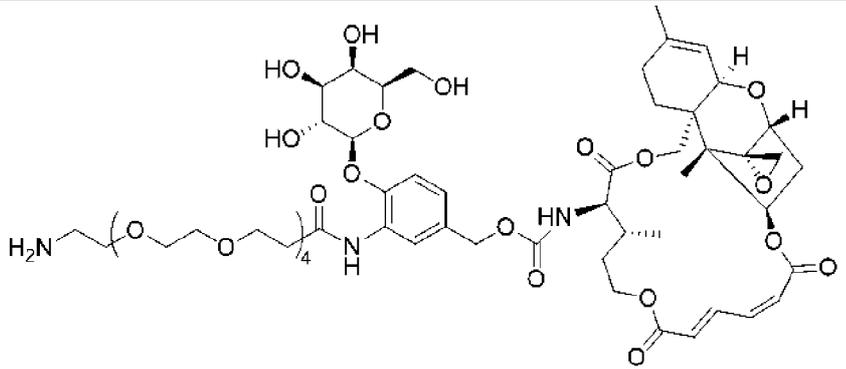
Соединение	Структура
------------	-----------

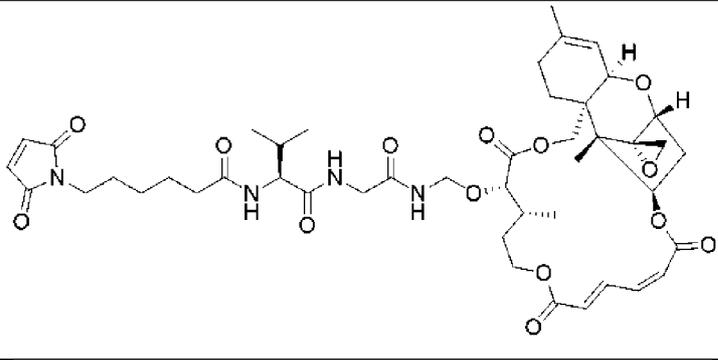
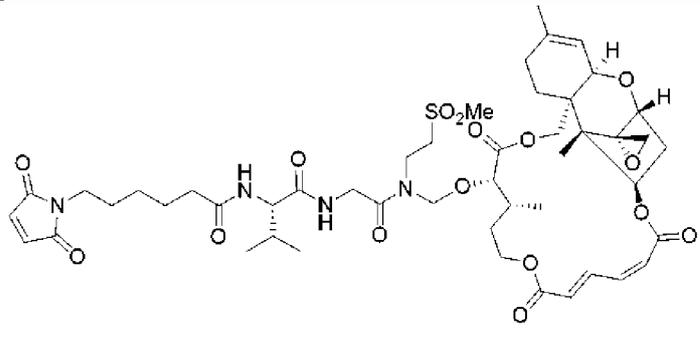
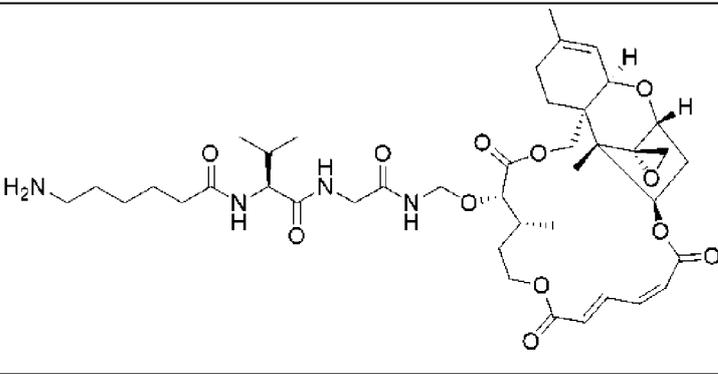
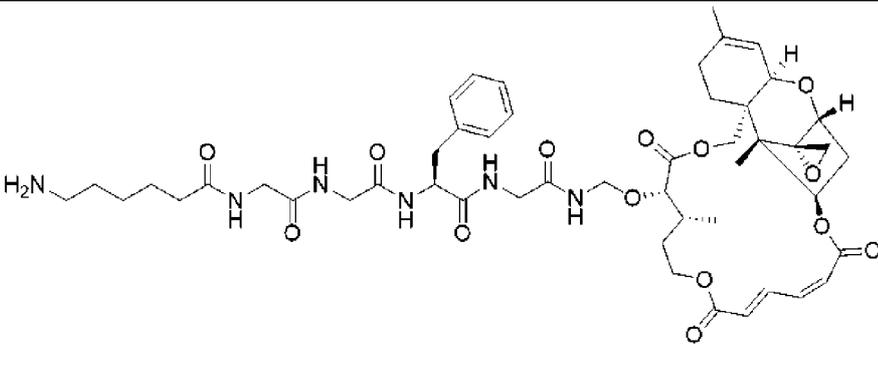
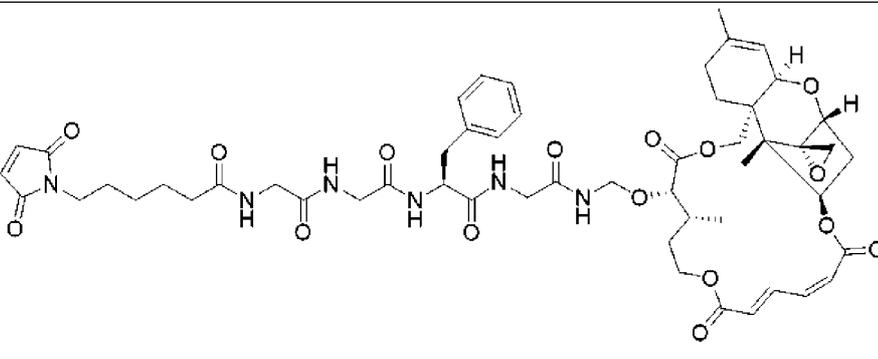






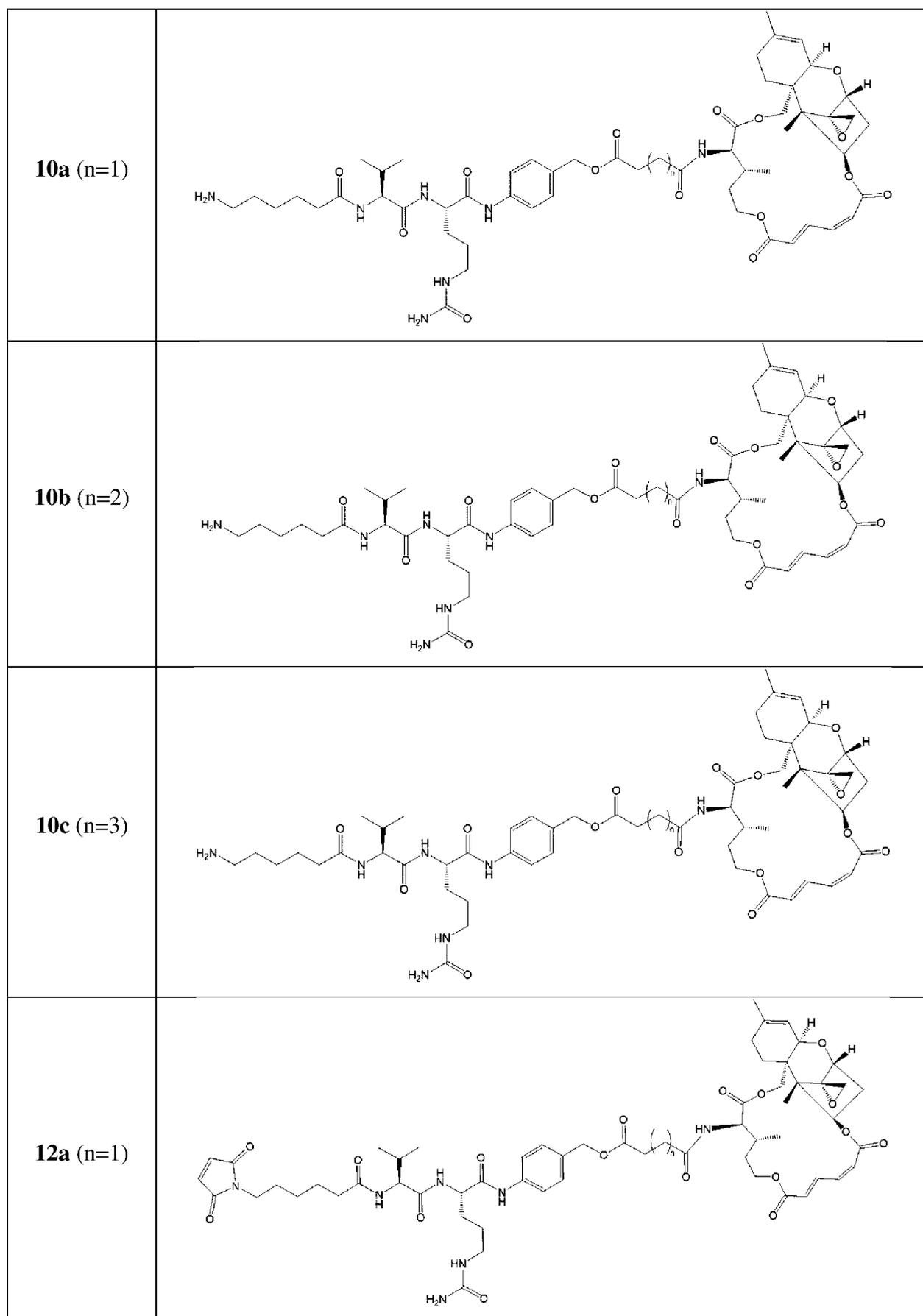
74	
75	
76	
88	
91	

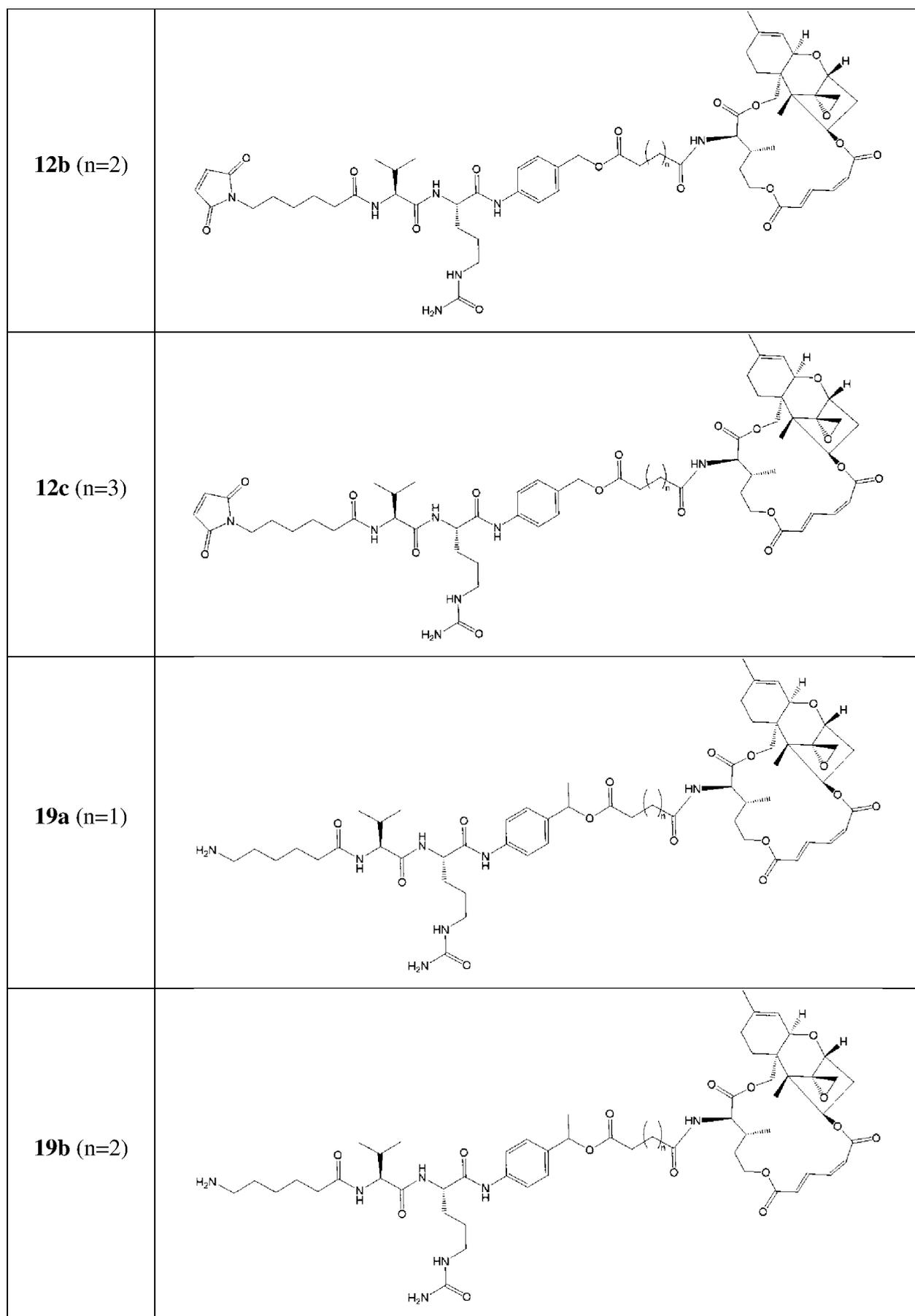
97	
95	
101	
106	
109	

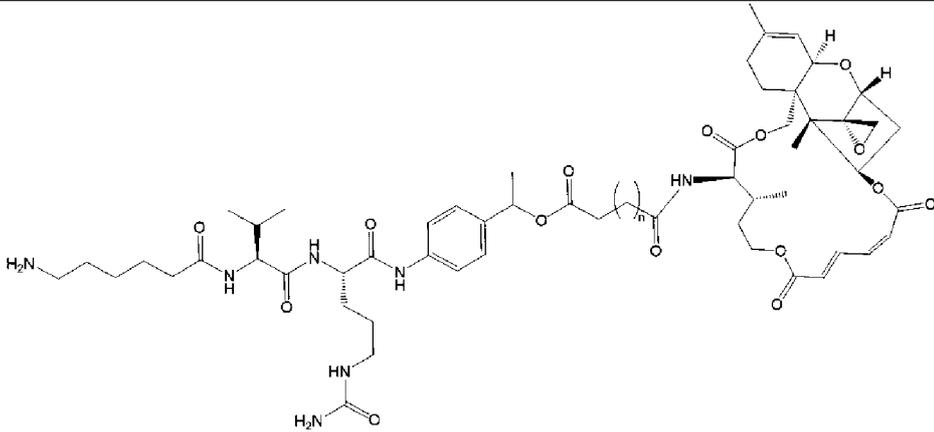
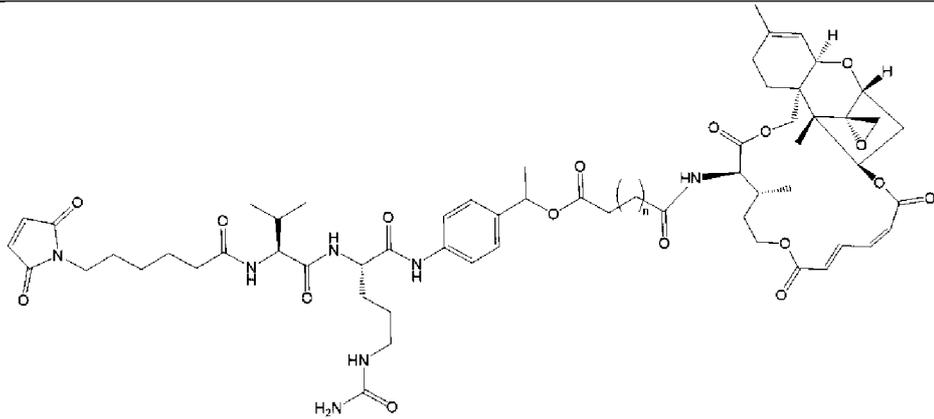
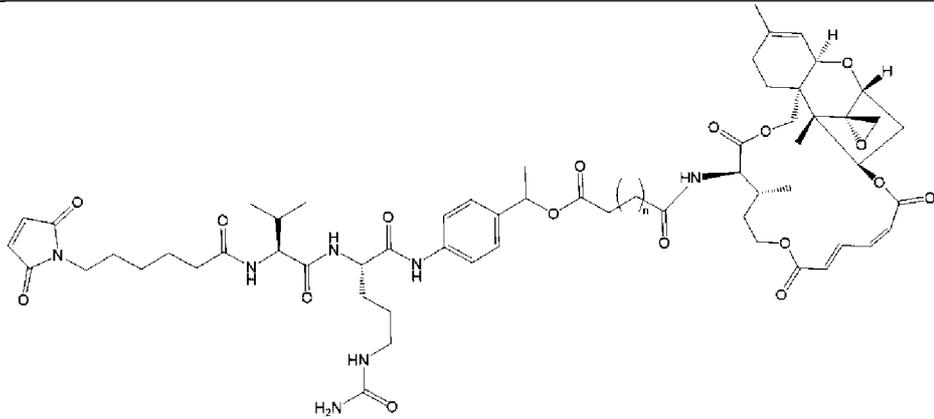
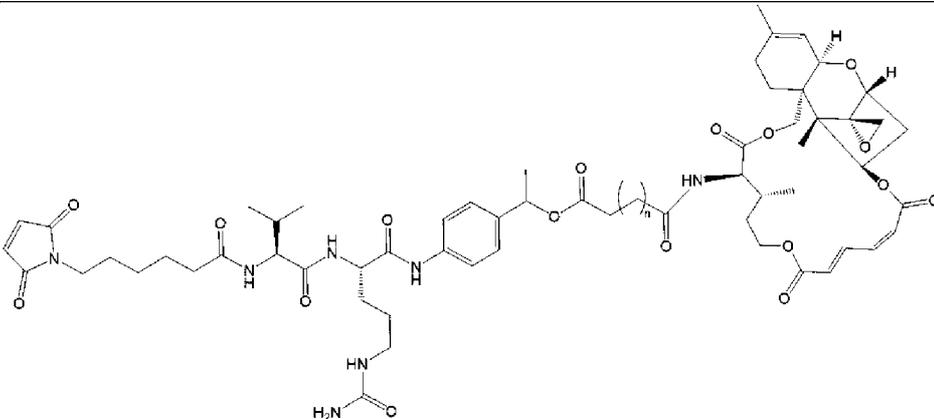
114	
118	
121	
124	
126	

68. Соединение по любому из пп. 35-67, выбранное из

Соединение	Структура
------------	-----------





<p>19c (n=3)</p>	
<p>21a (n=1)</p>	
<p>21b (n=2)</p>	
<p>21c (n=3)</p>	

69. Соединение формулы V:

Z-(L-X)_v, V,

или его фармацевтически приемлемое производное, где:

Z представляет собой антигенсвязывающий домен против гриппа;

L представляет собой связывающую группу;

X представляет собой производное веррукарина A; и

v представляет собой целое число от 1 до 12.

70. Соединение формулы V:



или его фармацевтически приемлемое производное, где:

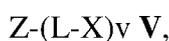
Z представляет собой антигенсвязывающий домен против SARS-CoV-2;

L представляет собой связывающую группу;

X представляет собой производное веррукарина A; и

v представляет собой целое число от 1 до 12.

71. Соединение формулы V:



или его фармацевтически приемлемое производное, где:

Z представляет собой антигенсвязывающий домен против вируса Эбола;

L представляет собой связывающую группу;

X представляет собой производное веррукарина A; и

v представляет собой целое число от 1 до 12.

72. Соединение по любому из пп. 69-71, где X представляет собой радикал, образованный в результате удаления H из соединения по любому из пп. 1-68.

73. Соединение по любому из пп. 69-72, где -L-X представляет собой радикал, образованный в результате удаления H из соединения по любому из пп. 35-68.

74. Соединение по любому из пп. 69-73, где v представляет собой целое число от 1 до 10.

75. Соединение по любому из пп. 69-74, где v представляет собой целое число от 1 до 8.

76. Соединение по любому из пп. 69-75, где v представляет собой целое число от 1 до 6.

77. Соединение по любому из пп. 69-76, где v представляет собой целое число от 1 до 4.

78. Соединение по любому из пп. 69-77, где v равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

79. Соединение по любому из пп. 69 и 72-78, где Z представляет собой антитело к НА вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент.

80. Соединение по любому из пп. 70 и 72-78, где Z представляет собой антитело к варианту омикрон SARS-CoV-2 или его антигенсвязывающий фрагмент.

81. Соединение по любому из пп. и 71-78, где Z представляет собой антитело к GP вируса Эбола или его антигенсвязывающий фрагмент.

82. Соединение по любому из пп. 69-81, где Z содержит пептидную метку.

83. Соединение по любому из пп. 69-82, где Z содержит тяжелую цепь антитела и пептидную метку на C-конце тяжелой цепи антитела.

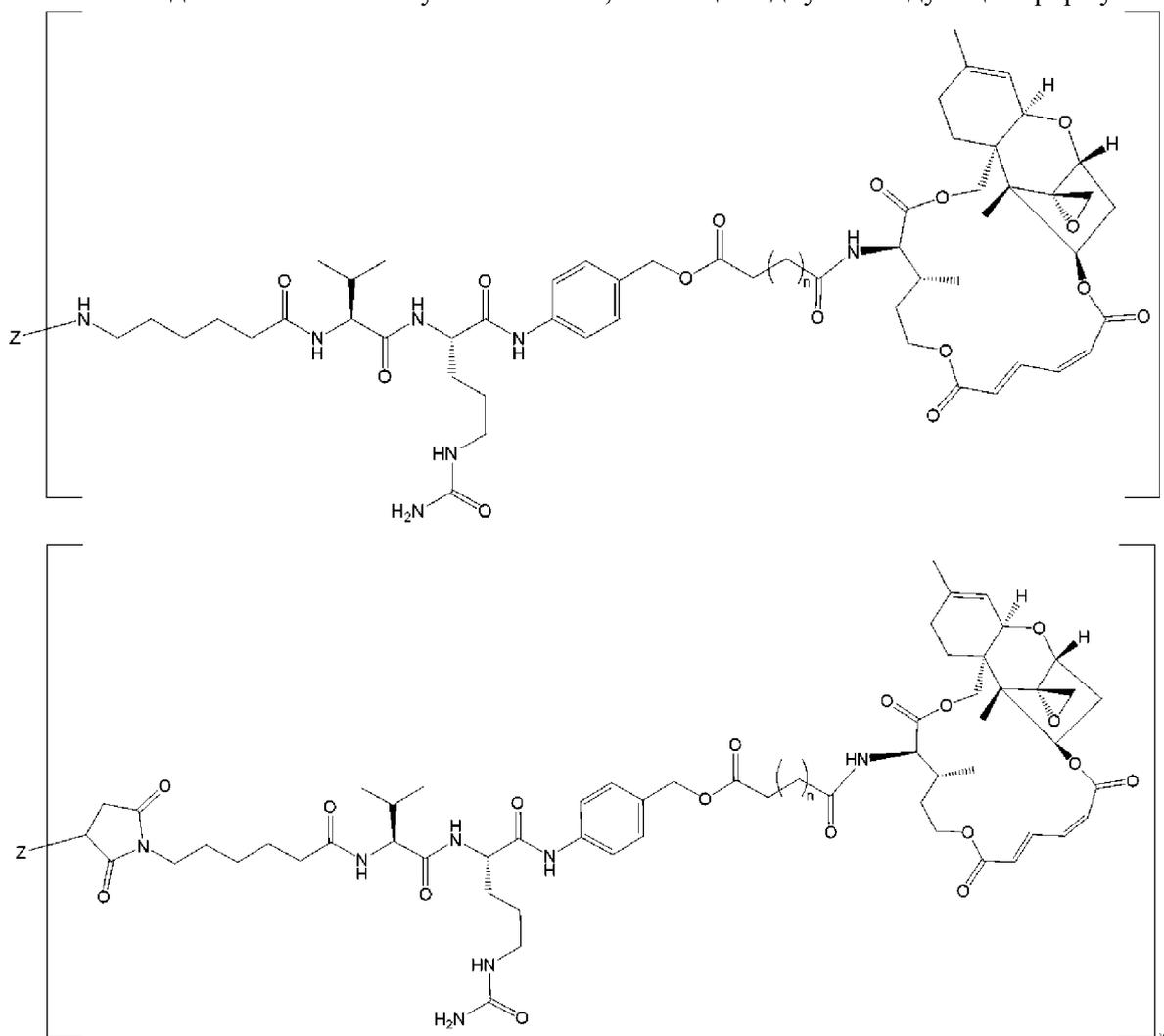
84. Соединение по любому из пп. 69-83, где Z содержит тяжелую цепь антитела и дополнительно включает в себя пептидную метку на С-конце тяжелой цепи антитела, причем пептидная метка представляет собой ELQRP, LLQG, LLQGG, LLQLLQG, LLQYQG, LLQGA, LLQSG, SLLQG, LQG, LLQLQ, LLQLLQ, LLQGR, LLQYQGA, LQGG, LGQG или LLQLLQGA.

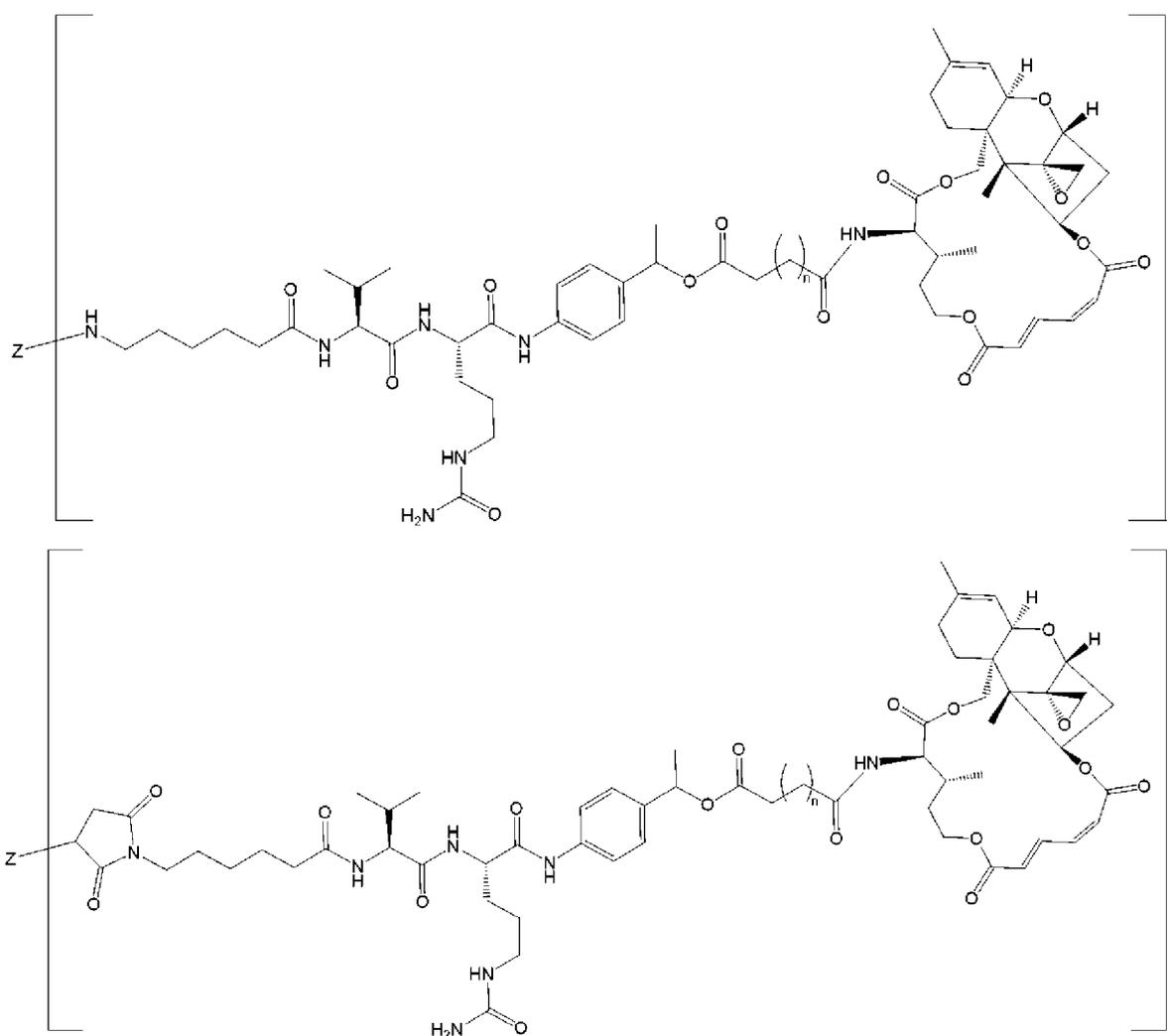
85. Соединение по любому из пп. 69-84, где Z содержит две тяжелых цепи антитела и пептидную метку на С-конце каждой тяжелой цепи антитела.

86. Соединение по любому из пп. 78-85, где пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность LLQGA.

87. Соединение по любому из пп. 78-85, где пептидная метка представляет собой пентапептидную последовательность ELQGP.

88. Соединение по любому из пп. 69-86, имеющее одну из следующих формул:





89. Соединение по любому из пп. 69-88, где v равно примерно 2 или равно 2.

90. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-89 и фармацевтически приемлемый носитель.

91. Способ лечения инфекции гриппа у субъекта, включающий введение субъекту соединения по любому из пп. 1-69, 72-79 и 82-89 или композиции по п. 90.

92. Способ по п. 91, в котором грипп представляет собой грипп А.

93. Способ лечения инфекции SARS-CoV-2 у субъекта, включающий введение субъекту соединения по любому из пп. 1-68, 70, 72-78, 80 и 82-89 или композиции по п. 90.

94. Способ по п. 93, в котором SARS-CoV-2 представляет собой вариант омикрон.

95. Способ лечения инфекции вируса Эбола у субъекта, включающий введение субъекту соединения по любому из пп. 1-68, 71-78 и 81-89 или композиции по п. 90.

По доверенности