

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **034950**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2020.04.09**

(51) Int. Cl. *A61P 35/00* (2006.01)

(21) Номер заявки  
**201700464**

(22) Дата подачи заявки  
**2016.03.25**

---

(54) **ПРОИЗВОДНЫЕ МАЙТАНЗИНОИДА, ИХ КОНЬЮГАТЫ И СПОСОБЫ  
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

---

(31) **62/139,044; 62/252,239**

(32) **2015.03.27; 2015.11.06**

(33) **US**

(43) **2018.11.30**

(86) **PCT/US2016/024343**

(87) **WO 2016/160615 2016.10.06**

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

(56) **WO-A1-2014145090**

**WO-A1-2014080251**

**KAWAI A. ET AL.: "CHEMICAL  
MODIFICATION OF ANSAMITOCINS 3.  
SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EFFECTS  
OF 3 ACYL ESTERS OF MAYTANSINOL",  
CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL  
BULLETIN, PHARMACEUTICAL SOCIETY OF  
JAPAN, JP, vol. 32, no. 9, 1 January 1984  
(1984-01-01), pages 3441-3451, XP008094318,  
ISSN: 0009-2363, table II**

(72) Изобретатель:  
**Ниттоли Томас, Маркотан Томас (US)**

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

---

(57) В изобретении представлены майтанзиноидные производные, их конъюгаты и способы лечения или профилактики пролиферативных заболеваний с их помощью.

**034950**

**B1**

**034950**

**B1**

Заявка на настоящий патент обладает приоритетом относительно предварительной заявки на патент США № 62/139044, озаглавленной "Производные майтанзиноида, конъюгаты и способы лечения пролиферативных заболеваний с их применением", поданной 27 марта 2015 г., а также обладает приоритетом относительно предварительной заявки на патент США № 62/252239, озаглавленной "Производные майтанзиноида, их конъюгаты и способы лечения пролиферативных заболеваний с их применением", поданной 6 ноября 2015 г. Содержание каждой упомянутой выше заявки включено в текст заявляемого изобретения во всей полноте в справочных целях.

### Область изобретения

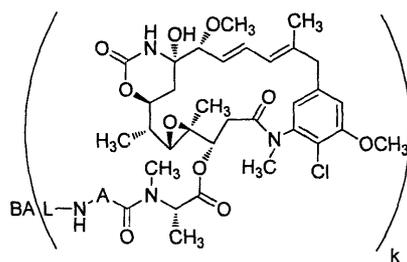
Заявляемое изобретение относится к производным майтанзиноидам, их конъюгатам и способам лечения пролиферативных заболеваний с их применением.

### Уровень техники

Проллиферативные заболевания, например рак, характеризуются неуправляемым ростом идиобластов. К используемым способам лечения относятся хирургический, лучевая терапия, химиотерапия, гормональная терапия и/или иммунотерапия. В некоторых из этих способов лечения, особенно в химиотерапии, используются антипролиферативные лекарственные средства, ограничивающие распространение идиобластов. Однако эти лекарственные средства, как правило, не отличаются избирательностью в уничтожении клеток, уничтожая как здоровые клетки, так и идиобласты. Для решения этой проблемы было исследовано множество подходов, нацеленных на доставку лекарственного средства, включая применение конъюгатов зондов направленной доставки лекарственных средств в область опухоли (таких как антитела или факторы роста) с токсинами для избирательного нацеливания на идиобласты. Антителные конъюгаты лекарственных средств (ADC) представляют собой соединения, состоящие из антитела, связанного с цитотоксическим средством посредством химического линкера. Такие соединения регулируют связывающее свойство антитела для его цели, чтобы доставить цитотоксическое средство к идиобласту. Таким образом, существует необходимость в антипролиферативных соединениях и их конъюгатах.

### Краткое описание

Заявляются соединения с формулой (I)

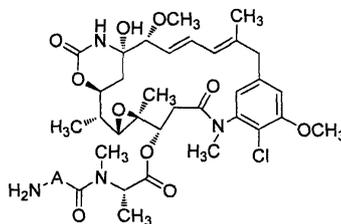


(I)

или их фармацевтически приемлемые соли,  
где А представляет собой арилен или гетероарилен;  
L представляет собой линкер;  
VA представляет собой связующий агент и  
k является целым числом от 1 до 30.

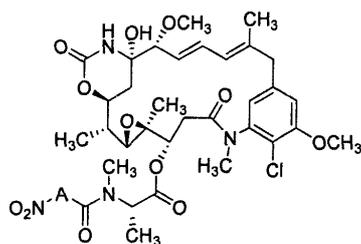
Заявляются стереоизомеры соединения с формулой (I).

Заявляются также соединения с формулой (II)



(II)

или их фармацевтически приемлемая соль,  
где А представляет собой арилен или гетероарилен.  
Также заявляются стереоизомеры соединений с формулой (II).  
Заявляются также соединения с формулой PP5



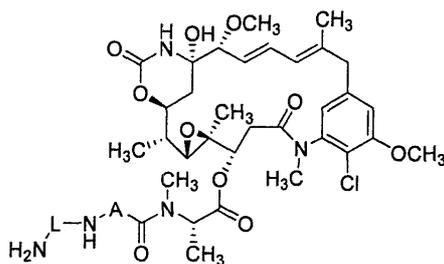
PP5

или их соль,

где А представляет собой арилен или гетероарилен.

Также заявляются стереоизомеры соединений с формулой PP5.

Заявляются также соединения с формулой PT1



PT1

PT1

или их соль,

где А представляет собой арилен или гетероарилен,

L представляет собой линкер.

Также заявляются стереоизомеры соединений с формулой PT1. Кроме того, заявляются способы лечения пролиферативных заболеваний, заключающиеся в приеме заявляемых соединений.

Помимо того, заявляются способы лечения пролиферативных заболеваний, заключающиеся в применении заявляемых конъюгатов.

Также заявляются способы приготовления соединений с формулой (I), заключающиеся в реагировании дегликозилированного антитела или агликозилированного антитела с соединением с формулой (PT1) в присутствии трансглутаминазы.

#### Краткое описание иллюстраций

На фиг. 1 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-4-аминобензамидо-цитруллин-валин-капролил-6-малеимида.

На фиг. 2 изображен график зависимости % жизнеспособности клетки от  $\text{Log}_{10}$  [M] определенных соединений, тестированных в примере 41.

На фиг. 3 изображен график зависимости % жизнеспособности клетки от  $\text{Log}_{10}$  [M] определенных соединений, тестированных в примере 41.

На фиг. 4 изображен график зависимости % жизнеспособности клетки от  $\text{Log}_{10}$  [M] определенных соединений, тестированных в примере 41.

На фиг. 5 изображен график зависимости % жизнеспособности клетки от  $\text{Log}_{10}$  [M] определенных соединений, тестированных в примере 41.

На фиг. 6 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(4-амин-2-фтор)бензамид-Cit-Val-Cap-Mal.

На фиг. 7 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(4-амин-2-трифторметил)бензамид-Cit-Val-Cap-Mal.

На фиг. 8 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(4-амин-2-метокси)бензамид-Cit-Val-Cap-Mal.

На фиг. 9 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-4-аминобензамида.

На фиг. 10 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(2-фтор-4-амин)бензамида.

На фиг. 11 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(2-трифторметил-4-амин)бензамида.

На фиг. 12 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(2-метокси-4-амин)бензамида.

На фиг. 13 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-

аланин-N-(3-трифторметил-4-амин)бензамида.

На фиг. 14 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-хлор-4-амин-5-фтор)бензамида.

На фиг. 15 изображена основная синтетическая схема приготовления соединений с формулой (II), где заместитель R определен ниже в настоящем изобретении.

На фиг. 16 изображена основная синтетическая схема приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2,5-дифтор-4-амин)бензамида.

На фиг. 17 изображена основная синтетическая схема приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(3-фтор-4-амино)бензамида.

На фиг. 18 изображена основная синтетическая схема приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(3-хлор-4-амин)бензамида.

На фиг. 19 изображена основная синтетическая схема приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(5-амино-8-карбоксиквинолин)карбоксамида.

На фиг. 20 изображена основная синтетическая схема приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(3-бром-4-амин)бензамида.

На фиг. 21 изображена основная синтетическая схема приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(3-метокси-4-амин)бензамида.

На фиг. 22 изображена основная синтетическая схема приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(2-метил-4-амин)бензамида.

На фиг. 23 изображена основная синтетическая схема приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(3-метил-4-амин)бензамида.

На фиг. 24 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(8-амин-5-карбоксиквинолин)карбоксамида.

На фиг. 25 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(3-метокси-4-амин)бензамид-Cit-Val-Cap-Mal.

На фиг. 26 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин(2-фтор-4-амин)бензамид-Cit-Val-Cap-6-амин.

На фиг. 27 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-метокси-5-амин)бензамида.

На фиг. 28 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амин-4-метокси)бензамида.

На фиг. 29 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амин-5-фтор)бензамида.

На фиг. 30 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-фтор-5-амин)бензамида.

На фиг. 31 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амин)бензамида.

На фиг. 32 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амин-4-фтор)бензамида.

На фиг. 33 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-аминобензамид-адипин-NHS.

На фиг. 34 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-4-аминобензамид-Cap-Mal.

На фиг. 35 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-метилсульфонил-4-амин)бензамида.

На фиг. 36 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-гидрокси-4-амин)бензамида.

На фиг. 37 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-амин)бензамида.

На фиг. 38 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(4-метокси-2-амин)бензамида.

На фиг. 39 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-морфолин-4-амин)бензамида.

На фиг. 40 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-ацетамид-4-амин)бензамида.

На фиг. 41 изображена синтетическая последовательность приготовления майтансин-N-метил-L-аланин-N-4-аминобензамид-Cit-Val-cap-дибромметилакрил.

На фиг. 42 изображен деконволюционный массовый спектр (MS) конъюгата антительного лекарственного средства, конъюгат PRLR-Q-63 из примера 43.

На фиг. 43 изображен деконволюционный спектр MS конъюгата изотипического контроля-Q-63 из примера 43.

На фиг. 44 изображен график зависимости % жизнеспособности клетки от  $\text{Log}_{10} [M]$  определенных

соединений, тестированных в примере 45.

На фиг. 45 изображен график зависимости % жизнеспособности клетки от  $\text{Log}_{10}$  [M] определенных соединений, тестированных в примере 45.

На фиг. 46 изображен график зависимости % жизнеспособности клетки от  $\text{Log}_{10}$  [M] определенных соединений, тестированных в примере 45.

На фиг. 47 изображен график зависимости % жизнеспособности клетки от  $\text{Log}_{10}$  [M] определенных соединений, тестированных в примере 45.

### Описание изобретения

#### А. Определения.

В настоящем изобретении термин "алкил" относится к молекулярному фрагменту моновалентного и насыщенного углеводородного радикала. Алкил является дополнительно замещенным и может быть линейным, разветвленным или циклическим, как, например, циклоалкил. Алкил включает, без ограничения перечисленным далее, вещества с 1-20 атомами углерода, например  $\text{C}_{1-20}$ алкил; 1-12 атомами углерода, например  $\text{C}_{1-12}$ алкил; 1-8 атомами углерода, например  $\text{C}_{1-8}$ алкил; 1-6 атомами углерода, например  $\text{C}_{1-6}$ алкил; и 1-3 атомами углерода, например  $\text{C}_{1-3}$ алкил. К примерам молекулярных фрагментов алкила относятся, без ограничения перечисленным далее, метил, этил, n-пропил, i-пропил, n-бутил, s-бутил, t-бутил, i-бутил, молекулярные фрагменты пентила, молекулярные фрагменты гексила, циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил.

В настоящем изобретении термин "галоалкил" относится к алкилу, определенному выше, где алкил включает в себя как минимум один заместитель, выбранный из галогена, например, F, Cl, Br или I.

В настоящем изобретении термин "алкенил" относится к молекулярному фрагменту моновалентного углеводородного радикала, содержащего как минимум два атома углерода и одну или более неароматическую углерод-углеродную связь. Алкенил является дополнительно замещенным и может иметь линейную, разветвленную или циклическую структуру. Алкенил включает, не ограничиваясь перечисленным далее, вещества, содержащие 2-20 атомов углерода, например  $\text{C}_{2-20}$ алкенил; 2-12 атомов углерода, например  $\text{C}_{2-12}$ алкенил; 2-8 атомов углерода, например  $\text{C}_{2-8}$ алкенил; 2-6 атомов углерода, например  $\text{C}_{2-6}$ алкенил; и 2-4 атомов углерода, например  $\text{C}_{2-4}$ алкенил. К примерам молекулярных фрагментов алкенила относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, винил, пропенил, бутенил и циклогексенил.

В настоящем изобретении термин "алкинил" относится к молекулярному фрагменту моновалентного углеводородного радикала, содержащего как минимум два атома углерода и одну или более тройную углерод-углеродную связь. Алкинил является дополнительно замещенным и может иметь линейную, разветвленную или циклическую структуру. Алкинил включает, не ограничиваясь перечисленным далее, вещества, содержащие 2-20 атомов углерода, например  $\text{C}_{2-20}$ алкинил; 2-12 атомов углерода, например  $\text{C}_{2-12}$ алкинил; 2-8 атомов углерода, например  $\text{C}_{2-8}$ алкинил; 2-6 атомов углерода, например  $\text{C}_{2-6}$ алкинил; и 2-4 атомов углерода, например  $\text{C}_{2-4}$ алкинил. К примерам молекулярных фрагментов алкинила относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, этинил, пропинил и бутинил.

В настоящем изобретении термин "алкокси" относится к молекулярному фрагменту моновалентного и насыщенного углеводородного радикала, где углеводород включает единичную связь с атомом кислорода и где радикал локализован на атоме кислорода, например  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-O}$ , для этокси. Алкокси заместители связаны с соединением, где они замещают через этот атом кислорода алкокси заместителя. Алкокси является дополнительно замещенным и может быть линейным, разветвленным или циклическим, как, например, циклоалкокси. Алкокси включает, не ограничиваясь перечисленным далее, вещества, содержащие 1-20 атомов углерода, например  $\text{C}_{1-20}$ алкокси; 1-12 атомов углерода, например  $\text{C}_{1-12}$ алкокси; 1-8 атомов углерода, например  $\text{C}_{1-8}$ алкокси; 1-6 атомов углерода, например  $\text{C}_{1-6}$ алкокси; и 1-3 атомов углерода, например  $\text{C}_{1-3}$ алкокси. К примерам молекулярных фрагментов алкокси относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, метокси, этокси, n-пропокси, i-пропокси, n-бутокси, s-бутокси, t-бутокси, i-бутокси, молекулярный фрагмент пентокси, молекулярный фрагмент гексокси, циклопропокси, циклобутокси, циклопентокси и циклогексокси.

В настоящем изобретении термин "галоалкокси" относится к алкокси, определенному выше, где алкокси включает в себя как минимум один заместитель, выбранный из галогена, например, F, Cl, Br или I.

В настоящем изобретении термин "арил" относится к молекулярному фрагменту радикала ароматического соединения, где кольцо состоит исключительно из атомов углерода. Арил является дополнительно замещенным и может иметь моноциклическую или полициклическую структуру, например, может быть бициклическим или трициклическим. К примерам молекулярных фрагментов арила относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, вещества, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, например  $\text{C}_{6-20}$ арил; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, например  $\text{C}_{6-15}$ арил, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, например  $\text{C}_{6-10}$ арил. К примерам молекулярных фрагментов арила относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, фенил, нафтил, фторэнил, азуленил, антрил, фенантрил и пиренил.

В настоящем изобретении термин "арилен" относится к молекулярному фрагменту радикала ароматического соединения, где кольцо состоит исключительно из атомов углерода. Арилен является дополнительно замещенным и может иметь моноциклическую или полициклическую структуру, например, может быть бициклическим или трициклическим. К примерам молекулярных фрагментов арила относятся, не ог-

раничиваясь перечисленным далее, вещества, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, например C<sub>6-20</sub>арилен; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, например C<sub>6-15</sub>арилен, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, например C<sub>6-10</sub>арилен.

В настоящем изобретении термин "алкарил" относится к арилу, замещенному по крайней мере одним алкилом. Алкарил является дополнительно замещенным.

В настоящем изобретении термин "гетероалкил" относится к алкилу, в котором один или более атомов углерода замещены гетероатомами.

В настоящем изобретении термин "гетероалкенил" относится к алкенилу, в котором один или более атомов углерода замещены гетероатомами.

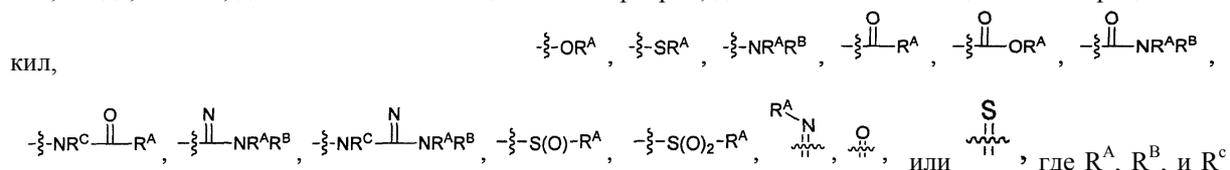
В настоящем изобретении термин "гетероалкинил" относится к алкенилу, в котором один или более атомов углерода замещены гетероатомами. К подходящим гетероатомам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, атомы азота, кислорода и серы. Гетероалкил является дополнительно замещенным. К примерам молекулярных фрагментов гетероалкила относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, аминоалкил, сульфониалкил, сульфинилалкил. К примерам молекулярных фрагментов гетероалкила относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, метиламин, метилсульфонил и метилсульфинил.

В настоящем изобретении термин "гетероарил" относится к моновалентному молекулярному фрагменту, представляющему собой радикал ароматического соединения, где кольцевые атомы содержат атомы углерода и как минимум один атом кислорода, серы, азота или фосфора. К примерам молекулярных фрагментов гетероарила относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, имеющие от 5 до 20 кольцевых атомов; от 5 до 15 кольцевых атомов; и от 5 до 10 кольцевых атомов. Гетероарил является дополнительно замещенным.

В настоящем изобретении термин "гетероарилен" относится к арилену, в котором один или более кольцевых атомов ароматического кольца заменены атомами кислорода, серы, азота или фосфора. Гетероарилен является дополнительно замещенным.

В настоящем изобретении термин "гетероциклоалкил" относится к циклоалкилу, в котором один или более атомов углерода замещены гетероатомами. К подходящим гетероатомам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, атомы азота, кислорода и серы. Гетероциклоалкил является дополнительно замещенным. К примерам молекулярных фрагментов гетероциклоалкила относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, морфолинил, шшеридинил, тетрагидропиранил, пирролидинил, имидазолидинил, оксазолидинил, тиазолидинил, диоксоланил, дитиоланил, оксанил или тианил.

В настоящем изобретении термин "дополнительно замещенный", употребляемый в отношении молекулярного фрагмента моновалентного радикала, например, дополнительно замещенный алкил, означает, что такой молекулярный фрагмент дополнительно связан с одним или более заместителей. К примерам таких заместителей относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, гало, циано, нитро, галоалкил, азидо, эпокси, дополнительно замещенный гетероарил, дополнительно замещенный гетероциклоалкил,



представляют собой, независимо в каждом случае, атом водорода, алкил, алкенил, алкинил, арил, алкарил, аралкил, гетероарил, или гетероциклоалкил, или R<sup>A</sup> и R<sup>B</sup>, вместе с атомами с которыми они связаны, формируют насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, где кольцо является дополнительно замещенным и где один или более кольцевых атомов дополнительно замещены гетероатомом. В некоторых реализациях R<sup>A</sup>, R<sup>B</sup> и R<sup>C</sup> не являются атомами водорода. В некоторых примерах R<sup>A</sup> представляет собой метил. В некоторых примерах R<sup>A</sup> представляет собой метиламин, метилсульфонил и метилсульфинил. В некоторых примерах R<sup>A</sup> представляет собой метиламин. В определенных реализациях, когда моновалентный радикал дополнительно замещен гетероарилом, дополнительно замещен гетероциклоалкилом, или дополнительно замещен насыщенным или ненасыщенным карбоциклическим кольцом, заместители в дополнительно замещенном гетероариле, дополнительно замещенном гетероциклоалкиле, или дополнительно замещенном насыщенном или ненасыщенном карбоциклическом кольце, если они замещены, не замещаются заместителями, которые дополнительно замещены добавочными заместителями. В некоторых реализациях, когда описываемая здесь группа дополнительно замещена, связанный с группой заместитель не замещен в отсутствие иных указаний.

В настоящем изобретении термин "связующий агент" относится к молекуле, способной образовывать связь с учетом особенностей конкретного связываемого партнера.

В настоящем изобретении термин "линкер" относится к дивалентному молекулярному фрагменту, ковалентно связывающему связующий агент с заявляемыми производными майтанзиноида.

В настоящем изобретении фраза "условия синтеза амида" относится к условиям реакции, благоприятным для образования амида, т.е. реакции карбоновой кислоты, активированной карбоновой кислоты или ацил галида с амином. В некоторых примерах условия синтеза амида относятся к условиям реакции,

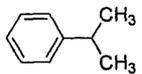
благоприятным для возникновения амидной связи между карбоновой кислотой и амином. В некоторых из этих примеров карбоновая кислота сначала преобразуется в активированную карбоновую кислоту до реакции активированной карбоновой кислоты и амина с образованием амида. К благоприятным условиям относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, применение реагентов для осуществления реакции между карбоновой кислотой и амином, включая, но не ограничиваясь перечисленным далее, дициклогексилкарбодиимид (DCC), диизопропилкарбодиимид (DIC), (бензотриазол-1-илокси)-трис-(диметиламино)фосфоний гексафторфосфат (BOP), (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинфосфоний гексафторфосфат (PyBOP), (7-азабензотриазол-1-илокси)трипирролидинфосфоний гексафторфосфат (PyAOP), бромтрипирролидинфосфоний гексафторфосфат (PyBrOP), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурионий гексафторфосфат (HBTU), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурионий тетрафторборат (TBTU), 1-[бис-(диметиламино)метил]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний 3-оксид гексафторфосфат (HATU), 2-этокси-1-этоксикарбонил-1,2-дигидроквинолин (EEDQ), 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (EDC), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидоний гексафторфосфат (CIP), 2-хлор-4,6-диметокси-1,3,5-триазин (CDMT) и карбонилдиимидазол (CDI). В некоторых примерах карбоновая кислота сначала преобразуется в активированный карбоновый эфир до реакции с амином с образованием амидной связи. В определенных реализациях карбоновая кислота реагирует с реагентом. Реагент активирует карбоновую кислоту посредством ее депротонизации с последующим формированием комплекса продуктов с депротонированной карбоновой кислотой как результата нуклеофильной атаки депротонированной карбоновой кислоты на протонированный реагент. Для определенных карбоновых кислот этот активированный эфир может оказаться более подверженным нуклеофильной атаке амином, чем карбоновая кислота до преобразования. За счет этого возникает амидная связь. Таким образом, карбоновая кислота характеризуется как активированная. К показательным реагентам относятся DCC и DIC.

В настоящем изобретении фраза "терапевтически эффективное количество" относится к количеству (соединения), достаточному для терапевтического эффекта у пациента, проходящего лечение, или для регулирования заболевания или расстройства, или к задержке или минимизации одного или более симптомов, связанных с заболеванием или расстройством.

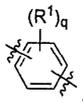
На изображениях определенных групп, молекулярных фрагментов, заместителей и атомов встречается волнистая линия, пересекающая связь для обозначения атома, через который связаны группы, молекулярные фрагменты, заместители и атомы. Например, фенильная группа, замещенная пропильной группой, изображенная как



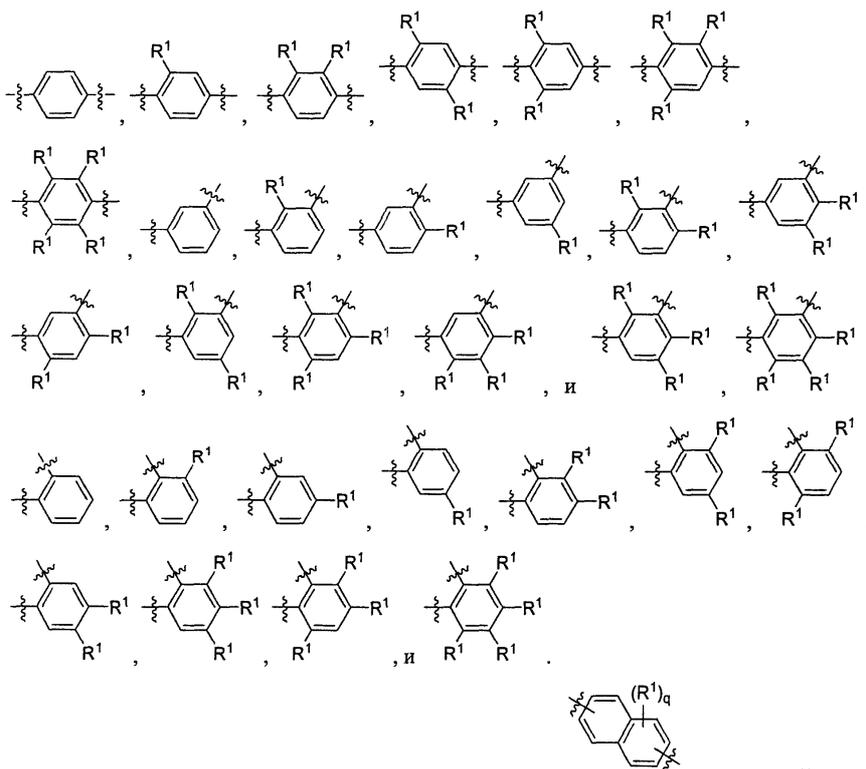
имеет следующую структуру:

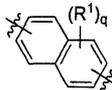


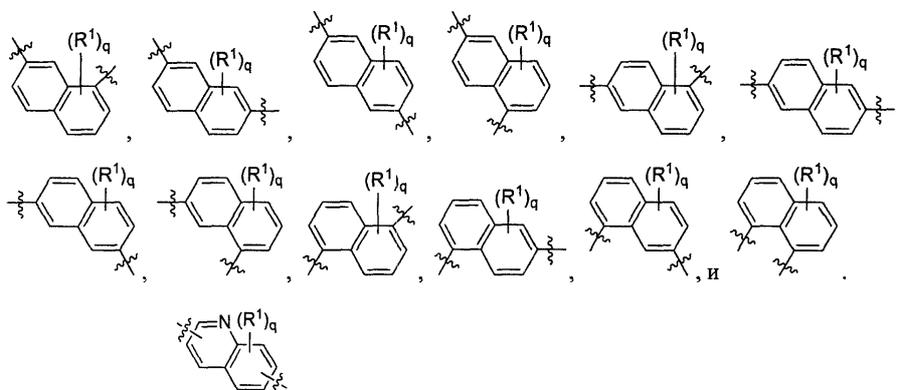
В настоящем изобретении иллюстрации, изображающие заместители, связанные с циклической группой (например, ароматическим, гетероароматическим, сплавленным кольцом, и насыщенным или ненасыщенным циклоалкилом или гетероциклоалкилом) посредством связи между кольцевыми атомами, означают, в отсутствие иных указаний, возможность замещения циклической группы заместителем на любой позиции кольца в циклической группе или на любом кольце в сплавленной кольцевой группе, соответствии с заявляемыми способами, или в соответствии со способами, известными в области заявляемого изобретения. Например, группа

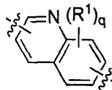


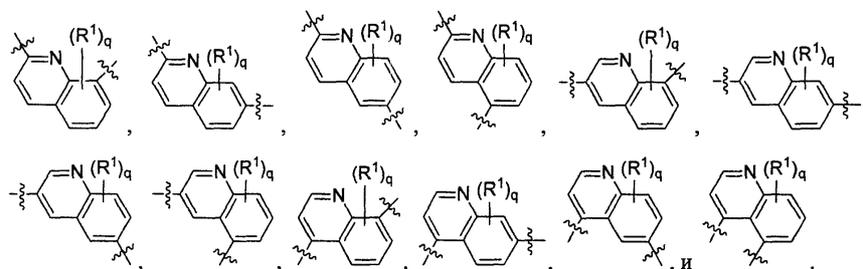
где индекс  $q$  представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 4 и в которой позиции заместителя  $R^1$  описаны в общих чертах, включает следующие группы, где позиции заместителя  $R^1$  описаны конкретно:



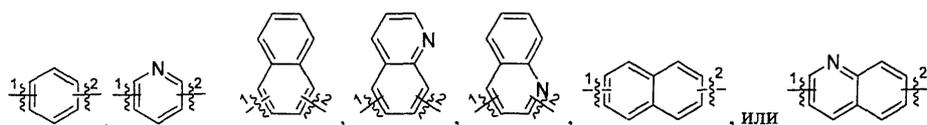
В дополнение к сказанному, и в качестве примера, группа , в которой позиции заместителя, отличающегося от  $R^1$ , связаны с циклической группой посредством связи между кольцевыми атомами, описаны в общих чертах, включает следующие группы, где позиции этих заместителей, отличающихся от  $R^1$ , описаны конкретно:



Так, например, группа , в которой позиции заместителя, отличающегося от  $R^1$ , связаны с циклической группой посредством связи между кольцевыми атомами, описаны в общих чертах, включает следующие группы, где позиции этих заместителей, отличающихся от  $R^1$ , описаны конкретно:

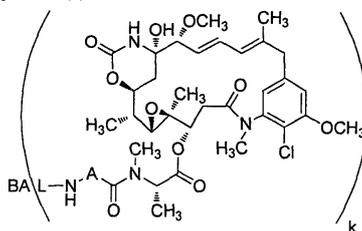


В каждой из этих структур, где позиции заместителей, отличающихся от  $R^1$ , описаны конкретно, заместитель  $R^1$  может быть связан с любой позицией в кольцевой группе или на любом кольце сплавленной кольцевой группы, не занятой одним из этих заместителей, отличающихся от  $R^1$ . В следующих неограничительных иллюстрациях демонстрируется возможность замещения циклической группы указанным заместителем на любой позиции кольца или на любом кольце сплавленной кольцевой группы:



В. Конъюгаты.

Заявляются соединения с формулой (I)



(I)

или их фармацевтически приемлемые соли,

где А представляет собой арилен или гетероарилен;

L представляет собой линкер;

ВА представляет собой связующий агент и

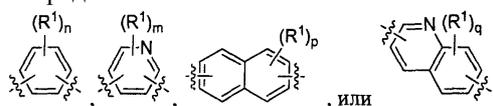
k является целым числом от 1 до 30.

1. Молекулярные фрагменты "А".

В некоторых реализациях А представляет собой арилен. В некоторых реализациях А представляет собой гетероарилен. В некоторых реализациях арилен или гетероарилен замещен одной или более электроноакцепторной группой и/или одной или более электронодонорной группой.

В некоторых реализациях А представляет собой дивалентный радикал бензола, пиридина, нафталина или квинолона, которые дополнительно замещены. В некоторых реализациях А представляет собой дивалентный радикал бензола, дополнительно замещенный звеном, выбранным из группы, содержащей амин, амид, алкил, гало, галоалкил, алкокси и галоалкокси.

В некоторых реализациях А представляет собой



где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, арил, алка-

рил, аралкил, гало, гетероарил, гетероциклоалкил, гидроксил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где R<sup>A</sup> представляет собой алкил или гетероалкил;

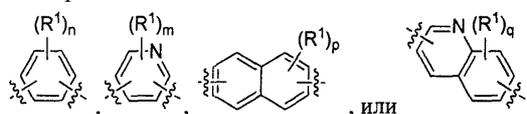
n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5.

В некоторых реализациях А представляет собой



где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой гало, галоалкил, галоалкокси, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, алкокси, галоалкокси, арил, алкарил, аралкил, гетероарил, гетероалкил,

гетероциклоалкил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где R<sup>A</sup> представляет собой алкил или гетероалкил;

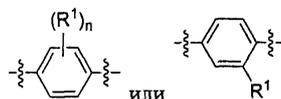
n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5.

В некоторых реализациях А представляет собой



где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой гало, галоалкил, гидроксил, алкил,

алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано,

нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $\text{R}^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

$n$  является целым числом от 0 до 4;

$m$  является целым числом от 0 до 3;

$r$  является целым числом от 0 до 6;

$q$  является целым числом от 0 до 5.

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  представляет собой  $\text{C}_{1-6}$ алкил или  $\text{C}_{1-6}$ алкокси.

В некоторых из этих реализаций  $\text{R}^1$  представляет собой метил, этил, метокси или этокси.

В некоторых из этих реализаций  $\text{R}^1$  представляет собой метокси.

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  представляет собой независимо алкил или гало.

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  представляет собой независимо  $\text{C}_{1-6}$ алкил,  $\text{C}_{1-6}$ галоалкил или гало. В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  независимо представляет собой гало. В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  независимо представляет собой фтор, хлор, бром, йод или трифторметил. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0, 1 или 2. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0 или 1. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0.

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  представляет собой  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ .

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  представляет собой  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ , где  $\text{R}^A$  представляет собой метил.

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  представляет собой гидроксил.

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  представляет собой N-метилформамид.

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  представляет собой морфолинил.

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  независимо представляет собой алкил, алкокси или гало.

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  независимо представляет собой  $\text{C}_{1-6}$ алкил,  $\text{C}_{1-6}$ алкокси,  $\text{C}_{1-6}$ галоалкил,  $\text{C}_{1-6}$ галоалкокси или гало.

В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  независимо представляет собой гало.

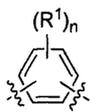
В некоторых реализациях  $\text{R}^1$  независимо представляет собой фтор, хлор, бром, йод или трифторметил.

В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0, 1 или 2.

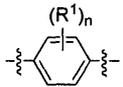
В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0 или 1.

В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0.

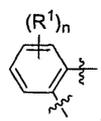
В некоторых реализациях  $A$  представляет собой



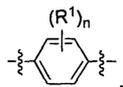
В некоторых реализациях  $A$  представляет собой



В некоторых реализациях  $A$  представляет собой

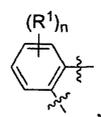


В некоторых реализациях  $A$  представляет собой



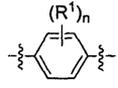
где  $n$  принимает значения 0, 1 или 2.

В некоторых реализациях  $A$  представляет собой

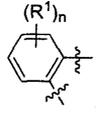


где  $n$  принимает значения 0, 1 или 2.

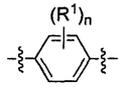
В некоторых реализациях  $A$  представляет собой



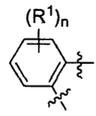
где n принимает значения 0 или 1 и  
 $R^1$  представляет собой алкокси, гало или галоалкил.  
 В некоторых реализациях A представляет собой



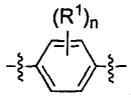
где n принимает значения 0 или 1 и  
 $R^1$  представляет собой алкокси, гало или галоалкил.  
 В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой алкокси.  
 В некоторых реализациях A представляет собой



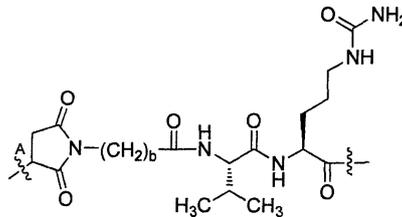
где n принимает значения 0 или 1 и  
 $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкокси, гало или  $C_{1-6}$ галоалкил.  
 В некоторых реализациях A представляет собой



где n принимает значения 0 или 1 и  
 $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкокси, гало или  $C_{1-6}$ галоалкил.  
 В некоторых примерах  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкокси.  
 В некоторых реализациях A представляет собой

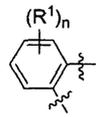


где n принимает значения 0 или 1;  
 $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкокси, гало или  $C_{1-6}$ галоалкил; и  
 L представляет собой

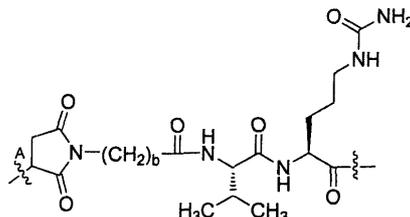


где b является целым числом от 2 до 8 и  

 представляет собой связь со связующим агентом.  
 В некоторых реализациях A представляет собой



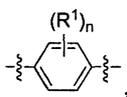
где n принимает значения 0 или 1;  
 $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкокси, гало или  $C_{1-6}$ галоалкил; и  
 L представляет собой



где b является целым числом от 2 до 8 и

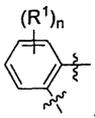
$\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой связь со связующим агентом.

В некоторых реализациях А представляет собой



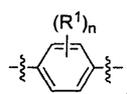
где n принимает значения 0, 1, 2, 3 или 4.

В некоторых реализациях А представляет собой



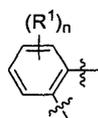
где n принимает значения 0, 1, 2, 3 или 4.

В некоторых реализациях А представляет собой



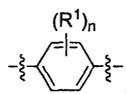
где  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил, гало или  $C_{1-6}$ галоалкил и n принимает значения 0, 1 или 2.

В некоторых реализациях А представляет собой



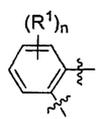
где  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил, гало или  $C_{1-6}$ галоалкил и n принимает значения 0, 1 или 2.

В некоторых реализациях А представляет собой



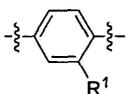
где  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкил или  $C_{1-6}$ галоалкокси и n принимает значения 0, 1, 2, 3 или 4.

В некоторых реализациях А представляет собой



где  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкил или  $C_{1-6}$ галоалкокси и n принимает значения 0, 1, 2, 3 или 4.

В некоторых реализациях А представляет собой

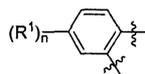


где  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало или  $C_{1-6}$ галоалкил.

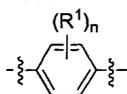
В определенных реализациях из этого числа  $R^1$  представляет собой метокси или метил.

В некоторых конкретных реализациях  $R^1$  представляет собой метокси.

В некоторых реализациях А представляет собой



В некоторых реализациях А представляет собой

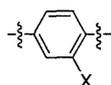


где  $R^1$  представляет собой гало или трифторметил и n принимает значения 0, 1 или 2.

В некоторых реализациях А представляет собой

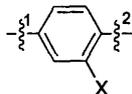


В некоторых реализациях А представляет собой



где X представляет собой атом водорода, гало или трифторметил.

В некоторых реализациях A представляет собой

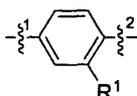


где X представляет собой атом водорода, гало или трифторметил.

 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилом.

В некоторых реализациях A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, арил, гетероалкил, гало, галоалкил, галоалкокси или гидроксил;

 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилом.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой 1-метилэтил-тиол, фенил, 2-фторфенил, пиридинил, 4-пиридинил, пирролидинил или 1-пирролидинил.

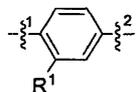
В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой трифторметил.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой метокси.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой фтор.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой водород.

В некоторых реализациях A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, арил, гетероалкил, гало, галоалкил, галоалкокси или гидроксил;

 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилом.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой 1-метилэтил-тиол, фенил, 2-фторфенил, пиридинил, 4-пиридинил, пирролидинил или 1-пирролидинил.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой трифторметил.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой метокси.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой фтор.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой водород.

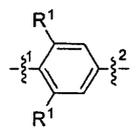
В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой сульфонил.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой N-метилформамид.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой гидроксил.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой морфолинил.

В некоторых реализациях A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, арил, гетероалкил, гало, галоалкил или галоалкокси;

 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилом.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой алкил или алкокси.

В некоторых конкретных реализациях  $R^1$  представляет собой пропиламин, дифтор-метокси, фенил, 2-фторфенил.

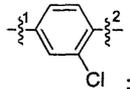
В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой трифторметил.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой метокси.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой фтор.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой водород.

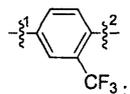
В некоторых реализациях А представляет собой



 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

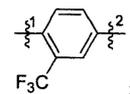
В некоторых реализациях А представляет собой



 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

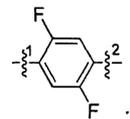
В некоторых реализациях А представляет собой



 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

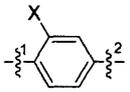
В некоторых реализациях А представляет собой



 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

В некоторых реализациях А представляет собой

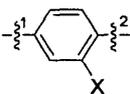


где X представляет собой F, Cl, Br, CN, метокси, диметиламин или циклопропан;

 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

В некоторых реализациях А представляет собой

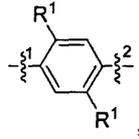


где X представляет собой F, Cl, Br, CN, метокси, диметиламин, 1-метил-этил-тио или циклопропил;

 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

В некоторых реализациях А представляет собой



где каждый  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкил или галоалкокси;

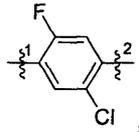
 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой водород, фтор, трифторметил или метокси.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой фтор, хлор, бром, или йод.

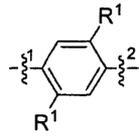
В некоторых реализациях А представляет собой



где  представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

В некоторых реализациях А представляет собой

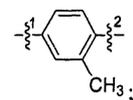


где каждый  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкил или галоалкокси;

 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

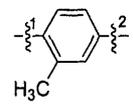
В некоторых реализациях А представляет собой



 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

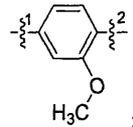
В некоторых реализациях А представляет собой



 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

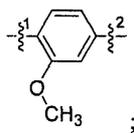
В некоторых реализациях А представляет собой



 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

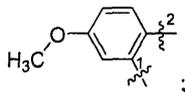
В некоторых реализациях А представляет собой



 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

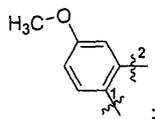
В некоторых реализациях А представляет собой



 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

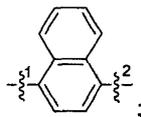
В некоторых реализациях А представляет собой



 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

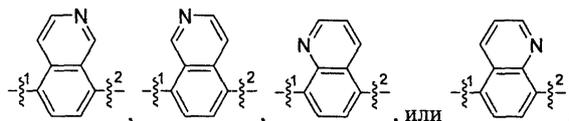
В некоторых реализациях А представляет собой



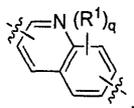
 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

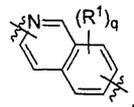
В некоторых реализациях А представляет собой



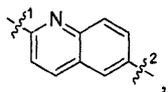
В некоторых реализациях А представляет собой



В некоторых реализациях А представляет собой



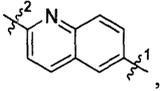
В некоторых реализациях А представляет собой



где  представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

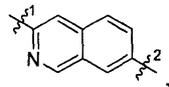
В некоторых реализациях А представляет собой



где  представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

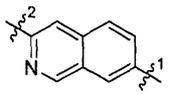
В некоторых реализациях А представляет собой



где  представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

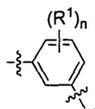
В некоторых реализациях А представляет собой



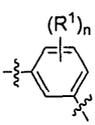
где  представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

В некоторых реализациях А представляет собой

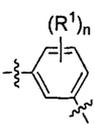


В некоторых реализациях А представляет собой



где n принимает значения 0, 1, 2 или 3.

В некоторых реализациях А представляет собой



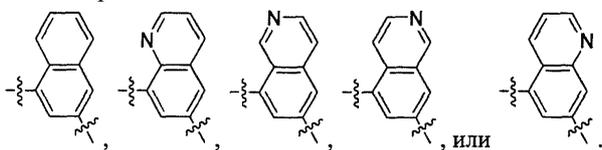
где R<sup>1</sup> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкил, C<sub>1-6</sub>алкокси, гало, C<sub>1-6</sub>галоалкил, C<sub>1-6</sub>галоалкокси, C<sub>1-6</sub>гетероалкил и

n принимает значения 0, 1, 2, 3 или 4.

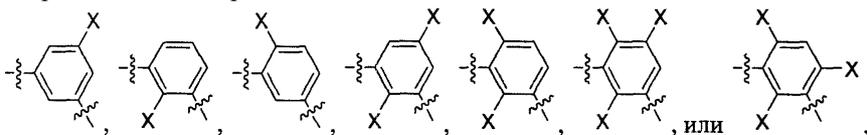
В некоторых реализациях А представляет собой



В некоторых реализациях А представляет собой



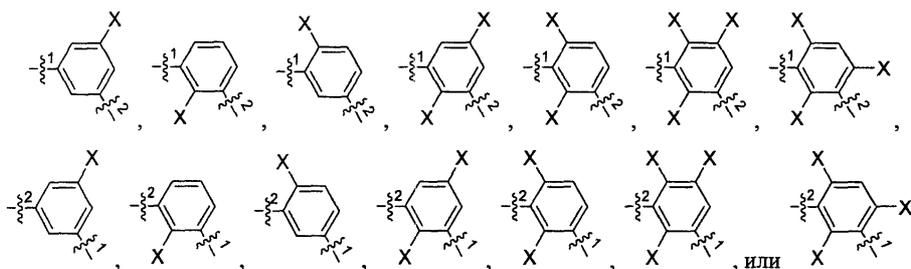
В некоторых реализациях А представляет собой



где X независимо при каждом появлении, представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероалкил.

В некоторых реализациях X представляет собой фтор, хлор, бром, йод, диметиламин, метиламин, метокс, этокси или трифторметил.

В некоторых реализациях А представляет собой



где X независимо при каждом появлении, представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероалкил.

В некоторых реализациях X представляет собой фтор, хлор, бром, йод, диметиламин, метиламин, метокси, этокси, трифторметил или метокси;

 представляет собой связь с атомом азота и

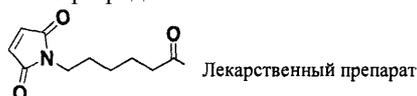
 представляет собой связь с карбонилем.

## 2. Линкеры.

Линкерная часть заявляемых конъюгатов представляет собой молекулярный фрагмент дивалентного фрагмента, ковалентно связывающего связующий агент с заявляемыми производными майтанзиноида. Подходящими линкерами являются такие, которые освобождают майтанзиноидную часть в присутствии энзима, или в конкретном диапазоне, или при конкретном значении pH.

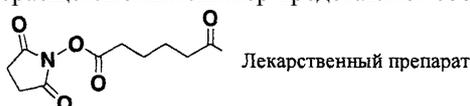
В некоторых реализациях линкер содержит энзим-расщепляемый молекулярный фрагмент. К показательным энзим-расщепляемым молекулярным фрагментам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, пептидные связи, эфирные связи, гидразоны и дисульфидные связи. В некоторых реализациях линкер содержит катепсин-расщепляемый линкер.

В некоторых реализациях, линкер содержит нерасщепляемый молекулярный фрагмент. В некоторых реализациях нерасщепляемый линкер представляет собой



или его остаток.

В некоторых реализациях нерасщепляемый линкер представляет собой

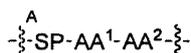


или его остаток.

К подходящим линкерам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, химически связанные с двумя цистеиновыми остатками одиночного связующего агента, например антитела. Подобные линкеры могут служить для дублирования дисульфидных связей антитела, разрывааемых в результате процесса конъюгации.

В некоторых реализациях линкер содержит одну или две аминокислоты. К подходящим аминокислотам относятся природные, искусственные, стандартные, нестандартные, протеиногенные и L- или D-α-аминокислоты. В некоторых реализациях линкер содержит аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глютамин, аспарагиновую кислоту, глютаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, или их производные. В некоторых реализациях линкер содержит валин и цитруллин.

В некоторых реализациях линкер представляет собой



где SP представляет собой спейсер;

 одну или несколько связей к связующему агенту;

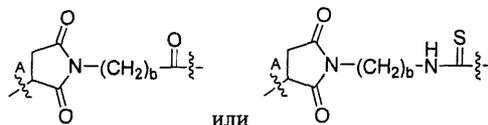
AA<sup>1</sup> представляет собой аминокислоту и

AA<sup>2</sup> представляет собой аминокислоту.

Спейсер представляет собой дивалентный молекулярный фрагмент, крепящий молекулярный фрагмент AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup> к связующему агенту (ВА). К подходящим спейсерам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, содержащие алкилен или полиэтиленгликоль. Концы спейсеров, т.е. часть спейсера, непосредственно прикрепленная к связующему агенту или AA<sup>1</sup>, могут быть получены непосредственно из реактивных молекулярных фрагментов, используемых для соединения оголенного антитела или AA<sup>1</sup>

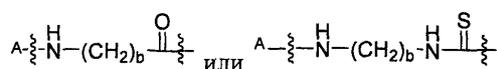
со спейсером в процессе химического синтеза конъюгата. В некоторых примерах к подходящим спейсерам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, первичный аминоконцевой алкилен или первичный аминоконцевой полиэтиленгликоль. Первичный аминоконцевой конец спейсера может непосредственно крепиться к дегликозилированному антителу или к гликозилированному антителу в присутствии трансглутаминазы.

В некоторых реализациях спейсер содержит алкилен. В некоторых реализациях спейсер содержит C<sub>5-7</sub>-алкилен. В некоторых реализациях соединение представляет собой:



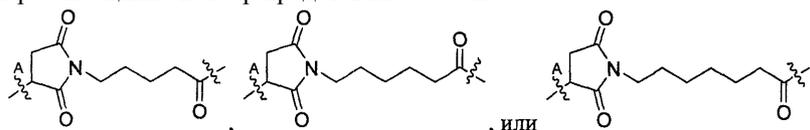
где представляет собой связь со связующим агентом и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях спейсер содержит первичный первичный аминоконцевой алкилен. В некоторых реализациях спейсер содержит NH<sub>2</sub>-C<sub>5-7</sub>-алкилен. В некоторых реализациях спейсер представляет собой



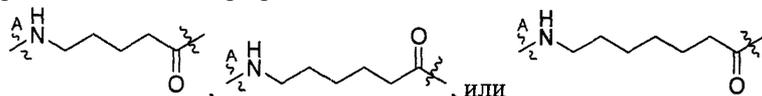
где представляет собой связь со связующим агентом и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях спейсер представляет собой



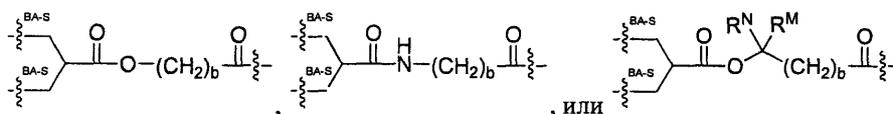
где представляет собой связь со связующим агентом.

В некоторых реализациях спейсер представляет собой



где представляет собой связь со связующим агентом.

В некоторых реализациях спейсер представляет собой

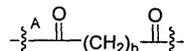


где R<sup>N</sup> представляет собой атом водорода или алкил;

R<sup>M</sup> представляет собой алкил;

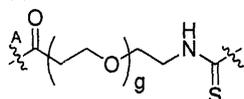
две связи, представленные , представляют собой связи к цистеинам связующего агента;  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях спейсер представляет собой



где представляет собой связь со связующим агентом и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

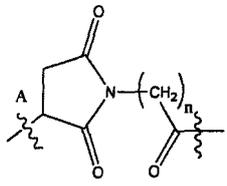
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



где  $\begin{matrix} A \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{matrix}$  представляет собой связь со связующим агентом и  $g$  является целым числом от 2 до 20.

В некоторых реализациях  $g$  принимает значения 2-8. В некоторых реализациях  $g$  принимает значения 2, 4, 6 или 8.

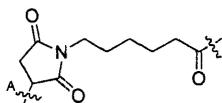
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



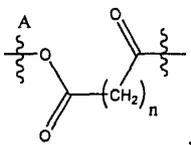
где  $n$  является целым числом от 4 до 10.

В некоторых реализациях  $n$  принимает значения 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых реализациях спейсер представляет собой



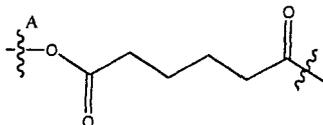
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



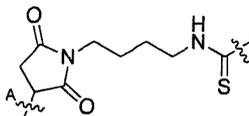
где  $n$  является целым числом от 4 до 10.

В некоторых реализациях  $n$  принимает значения 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

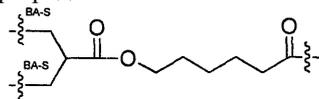
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



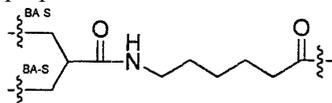
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



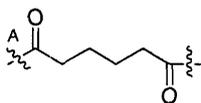
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



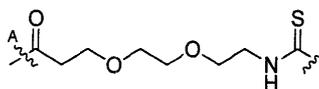
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



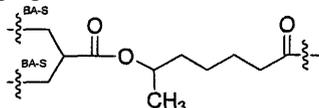
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



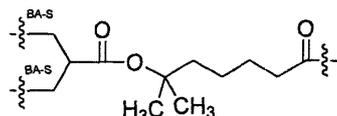
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



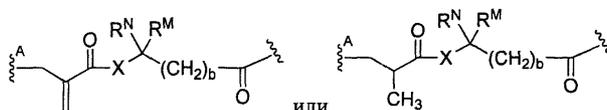
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



В некоторых реализациях спейсер представляет собой



В некоторых реализациях спейсер представляет собой



где представляет собой связь со связующим агентом;

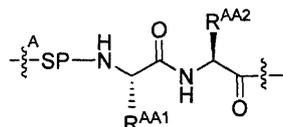
X представляет собой N или O;

$R^N$  и  $R^M$ , каждый независимо, представляют собой водород или алкил и

b является целым числом от 1 до 8.

В некоторых реализациях  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин, цитруллин-валин, лизин-фенилаланин, фенилаланин-лизин, валин-аспарагин, аспарагин-валин, треонин-аспарагин, аспарагин-треонин, серин-аспарагин, аспарагин-серин, фенилаланин-аспарагин, аспарагин-фенилаланин, лейцин-аспарагин, аспарагин-лейцин, изолейцин-аспарагин, аспарагин-изолейцин, глицин-аспарагин, аспарагин-глицин, глутаминовая кислота-аспарагин, аспарагин-глутаминовая кислота, цитруллин-аспарагин, аспарагин-цитруллин, аланин-аспарагин или аспарагин-аланин.

В некоторых реализациях  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин или цитруллин-валин. В некоторых реализациях  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин. В некоторых реализациях линкер представляет собой



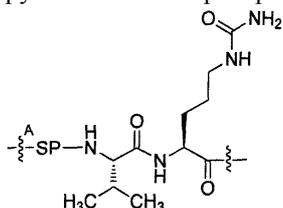
где SP представляет собой спейсер;

одну или несколько связей к связующему агенту;

$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку.

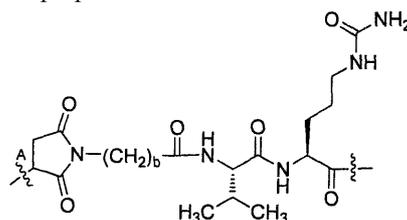
В настоящем изобретении термин "аминокислотная боковая цепочка" относится к неводородному заместителю, прикрепленному к  $\alpha$ -углероду  $\alpha$ -аминокислоты, включая природные и искусственные аминокислоты. К примерам аминокислотных боковых цепочек относятся, не ограничиваясь перечисленным далее,  $\alpha$ -углерод заместитель аланина, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, лизин, аргинин, гистидин и цитруллин. В некоторых реализациях линкер представляет собой



где SP представляет собой спейсер и

представляет собой одну или несколько связей к связующему агенту.

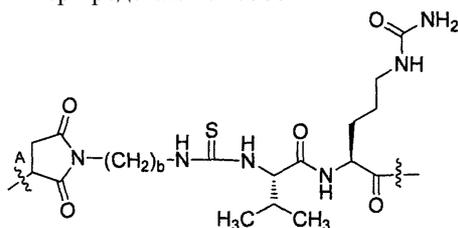
В некоторых реализациях линкер представляет собой



где представляет собой связь со связующим агентом и

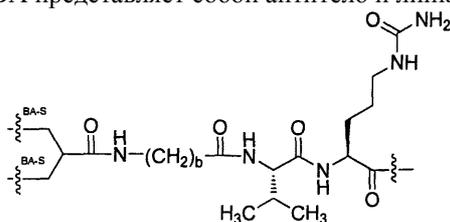
$b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях линкер представляет собой



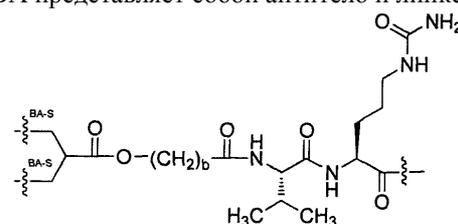
где  представляет собой связь со связующим агентом и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях ВА представляет собой антитело и линкер представляет собой



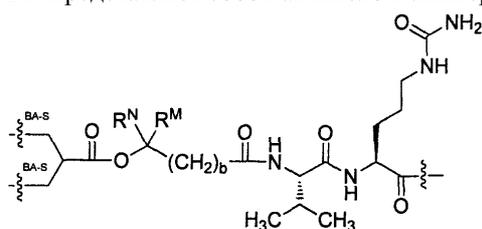
где две связи, представленные , представляют собой связи к цистеинам антитела и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях ВА представляет собой антитело и линкер представляет собой



где две связи, представленные , представляют собой связи к цистеинам антитела и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях ВА представляет собой антитело и линкер представляет собой

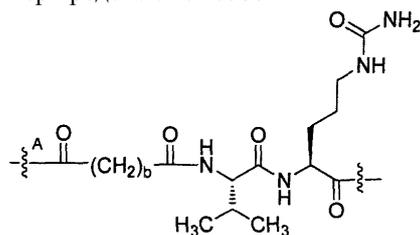


где  $R^N$  представляет собой атом водорода или алкил;

$R^M$  представляет собой алкил;

две связи, представленные , представляют собой связи к цистеинам антитела и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

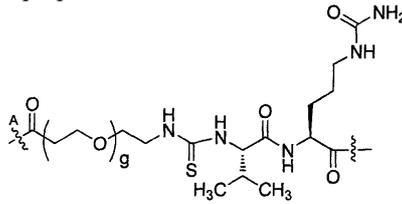
В некоторых реализациях линкер представляет собой



где  представляет собой связь со связующим агентом и

$b$  является целым числом от 2 до 8.

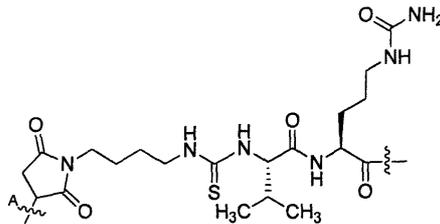
В некоторых реализациях линкер представляет собой



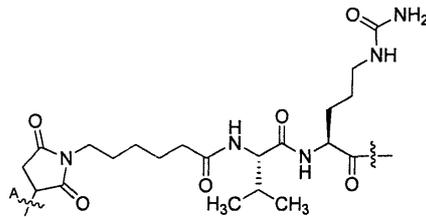
где  представляет собой связь со связующим агентом и  $g$  является целым числом от 2 до 20.

В некоторых реализациях  $g$  является целым числом от 2 до 8.

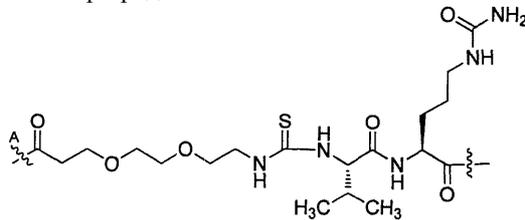
В некоторых реализациях  $g$  принимает значения 2, 4, 6 или 8. В некоторых реализациях линкер представляет собой



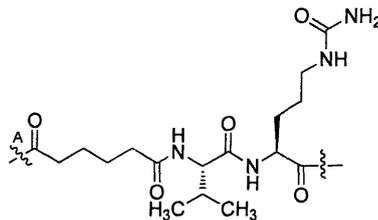
В некоторых реализациях линкер представляет собой



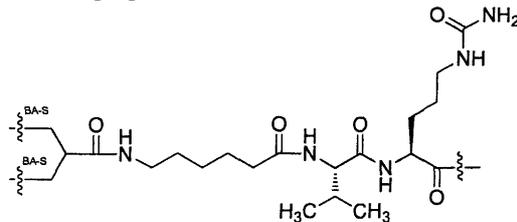
В некоторых реализациях линкер представляет собой



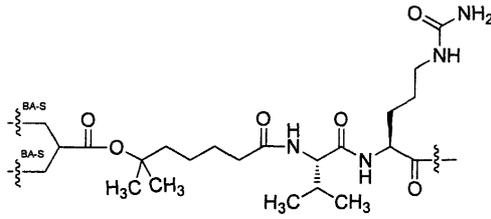
В некоторых реализациях линкер представляет собой



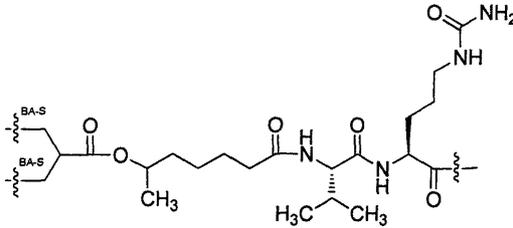
В некоторых реализациях линкер представляет собой



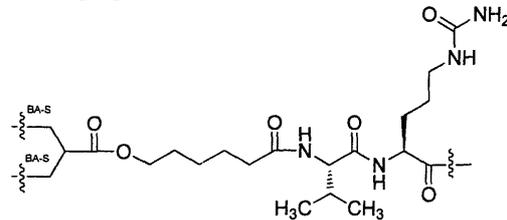
В некоторых реализациях линкер представляет собой



В некоторых реализациях линкер представляет собой



В некоторых реализациях линкер представляет собой



### 3. Связующие агенты.

К подходящим связующим агентам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, антитела, лимфокины, гормоны, факторы роста, вирусные рецепторы, интерлейкины или другие клеточно-связующие или пептидно-связующие молекулы или вещества.

В некоторых реализациях связующим агентом является антитело. В некоторых реализациях антитело представляет собой моноклональное антитело, поликлональное антитело, фрагмент антитела (Fab, Fab' и F(ab)<sub>2</sub>, мини-антитело, диатело, триотело и подобные), или биспецифичное антитело. Описываемые антитела могут быть гуманизированы способами, заявленными в патенте США № 6596541 и в патентной публикации США № 2012/0096572, каждый из этих источников включен во всей полноте в настоящем изобретении в виде ссылки.

Если связующим агентом является антитело, оно прикреплено к антигенсвязующему партнеру, представляющему собой полипептид, и может быть трансмембранной молекулой (то есть рецептором) или фактором роста, который может быть гликозилирован или фосфорилирован. К показательным антителам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, молекулы, такие как ренин; гормон роста, включая гормон роста человека и гормон роста крупного рогатого скота; рилизинг-фактор гормона роста; паратиреоидный гормон; тиреостимулирующий гормон; липопротеины; альфа1-антитрипсин; инсулиновая А-цепочка; инсулиновая В-цепочка; проинсулин; фолликулостимулирующий гормон; кальцитонин; лютеинизирующий гормон; глюкагон; коагулирующие факторы, такие как фактор vmc, фактор EX, тканевая тромбокиназа (TF) и фактор фон Виллебранда; антикоагулирующие факторы, такие как протеин С; атриальный натрийуретический фактор; легочный сурфактант; активатор плазминогена, такой, как урокиназа или моча человека плазминогенный активатор тканевого типа (t-PA); бомбезин; тромбин; гемопозитический фактор роста; фактор некроза опухолей-альфа и -бета; энкефалиназа; RANTES (регулятор активации экспрессии и секреции нормальных Т-клеток); человеческий макрофагальный белок воспаления (MIP-1-альфа); сывороточный альбумин, такой, как человеческий сывороточный альбумин; мюллерова ингибирующая субстанция; релаксин А-цепочка; релаксин В-цепочка; прорелаксин; мьппинный гонадотропин-связанный пептид; микробиологический протеин, такой, как беталактамаза; DNase; 19E; цитотоксичный Т-лимфоцит-связанный протеин (CTLA), такой, как CTLA-4; ингибин; активин; васкулярный эндотелиальный фактор роста (VEGF); рецепторы для гормонов или факторов роста; протеин А или D; ревматоидные факторы; нейротрофический фактор, такой, как нейротрофический фактор костной ткани (BDNF), нейротрофин-3, -4, -5 или -6 (NT-3, NT4, NT-5 или NT-6), или фактор роста нервов, такой, как NGF-β; тромбоцитарный фактор роста (PDGF); фактор роста фибробластов, такой, как aFGF и bFGF; рецептор 2 фактора роста фибробластов (FGFR2), эпидермальный фактор роста (EGF); трансформирующий фактор роста (TGF), такой как TGF-альфа и TGF-бета, включая TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3, TGF-β4 или TGF-β5; инсулиноподобный фактор роста-I и -II (IGF-1 и IGF-II); des(1-3)-IGF-1 (головной мозг IGF-1), связующие протеины инсулиноподобного фактора роста, EphCAM, GD3, FLT3, PSMA, PSCA, MUC1, MUC16, STEAP, CEA, TENB2, EphA рецепторы, EphB рецепторы, рецептор фолиевой кислоты, FOLRI, мезотелин, крипто, альфа-убетаб, интегрин, VEGF, VEGFR, EGFR, трансфер-

риновый рецептор, IRTA1, IRTA2, IRTA3, IRTA4, IRTA5; CD протеины, такие как CD2, CD3, CD4, CD5, CD6, CD8, CD11, CD14, CD19, CD20, CD21, CD22, CD25, CD26, CD28, CD30, CD33, CD36, CD37, CD38, CD40, CD44, CD52, CD55, CD56, CD59, CD70, CD79, CD80, CD81, CD103, CD105, CD134, CD137, CD138, CD152, или антитело, связанное с опухолевыми специфическими антигенами или рецепторами клеточной поверхности, описанными в патентной публикации США № 2008/0171040 или в патентной публикации США № 2008/0305044, включенными во всей полноте в список источников настоящей заявки; эритропоэтин; остеоиндуктивные факторы; иммунотоксины; костный морфогенетический протеин (BMP); интерферон, такой, как интерферон-альфа, -бета и -гамма; колониестимулирующие факторы (CSF), например, M-CSF, GM-CSF и G-CSF; интерлейкины (IL-), например, от IL-1 до IL-10; супероксиддисмутаза; T-клеточные рецепторы; поверхностные мембранные протеины; стимулятор гемолиза; вирусные антигены, такие, например, как часть ВИЧ капсулы; транспортные протеины; хоминг-рецепторы; адресины; регуляторные протеины; интегрины, такие как CD11a, CD11b, CD11c, CD18, ICAM, VLA-4 и VCAM; опухолевый специфический антиген, такой как AFP, ALK, B7H4, BAGE протеины,  $\beta$ -катенин, bcr-abl, BRCA1, BORIS, CA9 (карбоангидраза DC), каспаза-8, CD20, CD40, CD123, CDK4, CEA, CLEC12A, c-kit, cMET, CTLA4, циклин-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, эндоглин, Epcam, EphA2, ErbB2/Her2, ErbB3/Her3, ErbB4/Her4, ETV6-AML, Fra-1, FOLR1, GAGE протеины (например, GAGE-1, -2), GD2, GD3, GloboH, глипикан-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/EBNA1, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IGF1R, LGR5, LMP2, MAGE протеины (например, MAGE-1, -2, -3, -4, -6 и -12), MART-1, мезотелин, ML-IAP, Mucl, Muc16 (CA-125), MUM1, NA17, NGEF, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PDGFR-a, PDGFR-p, PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D, PLAC1, PRLR, PRAME, PSCA, PSGR, PSMA (FOLH1), RAGE протеины, Ras, RGS5, Rho, SART-1, SART-3, Steap-1, Steap-2, STn, сурвивин, TAG-72, TGF- $\beta$ , TMPRSS2, Tn, TNFRSF17, TRP-1, TRP-2, тирозиназа, и уроплакин-3, и фрагменты любых из перечисленных выше полипептидов.

К показательным антителам относятся также, не ограничиваясь перечисленным далее, BCMA, SLAMF7, B7H4, GPNMB, UPK3A и LGR5. В некоторых реализациях к антителам относится рецептор пролактина (PRLR) или простатический специфический мембраны антиген (PSMA).

К связующим агентам относится также, не ограничиваясь перечисленным далее, повторяющиеся протеины анкирина, интерфероны, лимфокины, такие как IL-2 или IL-3, гормоны, наподобие инсулина и глюкокортикоидов, факторы роста, такие как EGF, трансферрин и фибронектин типа III.

В некоторых реализациях связующие агенты взаимодействуют или связываются опухолевыми антигенами, включая специфичные антигены опухоли или общие антигены, сверхвыраженные или модифицированные на опухоли конкретного типа. К примерам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, альфа-актинин-4 с раком легких, ARTC1 с меланомой, BCR-ABL рекомбинационный белок с хроническим миелобластным лейкозом, B-RAF, CLPP или Cdc27 с меланомой, CASP-8 с плоскоклеточной карциномой, и hsp70-2 с гипернефроидной опухолью почки, а также следующие специфичные антигены опухоли, например: BAGE-1, GAGE, GnTV, KK-LC-1, MAGE-A2, NA88-A, TRP2-INT2.

В некоторых реализациях связующим агентом является антитело. В некоторых реализациях связующим агентом является моноклональное антитело. В некоторых реализациях связующим агентом является поликлональное антитело. В некоторых реализациях антитело представляет собой анти-PSMA, анти-MUC16, или анти-EGFRvIII, или анти-STEAP-2 антитело.

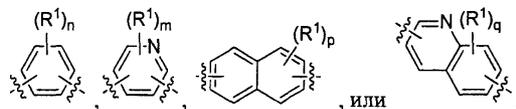
Линкеры могут быть прикреплены к связующему агенту, например, антительной или антиген-связующей молекуле, за счет крепления посредством конкретной аминокислоты в антителе или в антиген-связующей молекуле. К показательным аминокислотным креплениям, пригодным для использования в связи с заявляемым изобретением, относятся, например, лизин (см., например, патент США 5208020; патент США 2010/0129314; Голландер (Hollander) и соавторы, Bioconjugate Chem., 2008, 19:358-361; WO 2005/089808; патент США 5714586; патент США 2013/0101546; и патент США 2012/0585592), цистеин (см., например, патент США 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; US 2013/0101546 и патент США 7750116), селеноцистеин (см., например, WO 2008/122039; и Гофер (Hofer) и соавторы, Proc. Natl. Acad. Sci (труды Национальной академии наук), США, 2008, 705:12451-12456), формил глицин (см., например, Каррико (Carrico) и соавторы, Nat. Chem. Biol., 2007, 3:321-322; Эгровол (Agarwal) и соавторы, Proc. Natl. Acad. Sci. (труды Национальной академии наук), США, 2013, 110:46-51, и Рабука (Rabuka) и соавторы, Nat. Protocols, 2012, 70:1052-1067), искусственные аминокислоты (см., например, WO 2013/068874, и WO 2012/166559), и кислые аминокислоты (см., например, WO 2012/05982). Линкеры могут быть конъюгированы глютамином посредством химэнзимной конъюгации на основе транслглютаминазы (см., например, Деннлер (Dennler) и соавторы, Bioconjugate Chem. 2014, 25, -578 Линкеры также могут быть конъюгированы в антиген-связанный протеин посредством прикрепления к карбогидратам (см., например, патент США 2008/0305497, WO 2014/065661, и Райан (Ryan) и соавторы, Иммунология продуктов питания и сельского хозяйства, 2001, /5:127-130) и дисульфидные линкеры (см., например, WO 2013/085925, WO 2010/010324, WO 2011/018611, WO 2014/197854, и Шаунак (Shaunak) и соавторы, Nat. Chem. Biol., 2006, 2:312-313).

В некоторых реализациях представляет собой антители, и антители связывается с линкером посредством лизинового остатка. В некоторых реализациях антители связывается с линкером посредством цистеинового остатка.

#### 4. Показательные реализации.

В некоторых реализациях

A представляет собой:



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, арил, алкарил, аралкил, гало, гетероарил, гетероциклоалкил, гидроксил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

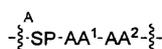
n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



где SP представляет собой спейсер;

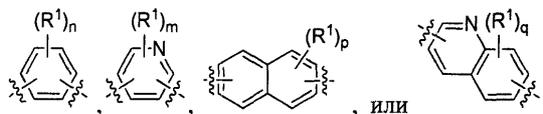


представляет собой одну или более связей со связующим агентом;

$\text{AA}^1$  представляет собой аминокислоту и

$\text{AA}^2$  представляет собой аминокислоту.

В некоторых реализациях A представляет собой:



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой  $\text{C}_{1-6}$ алкил,  $\text{C}_{1-6}$ галоалкил или гало;

n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



где SP представляет собой спейсер;



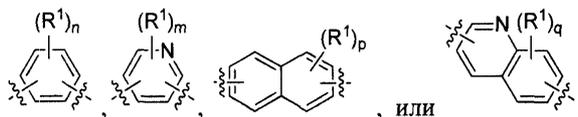
представляет собой одну или более связей к связующему агенту;

$\text{AA}^1$  представляет собой аминокислоту и

$\text{AA}^2$  представляет собой аминокислоту.

В некоторых реализациях

A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, гидроксил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



где SP представляет собой спейсер;



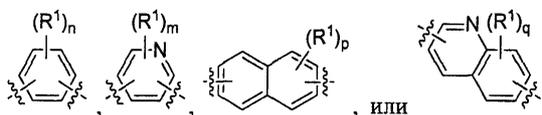
представляет собой одну или более связей к связующему агенту;

AA<sup>1</sup> представляет собой аминокислоту; и

AA<sup>2</sup> представляет собой аминокислоту.

В некоторых реализациях

A представляет собой:



где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой C<sub>1-6</sub>алкил, C<sub>1-6</sub>галоалкил или гало;

n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

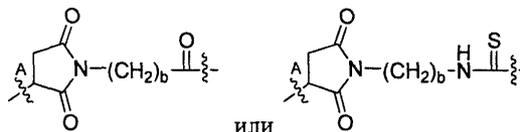
p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



где SP представляет собой:



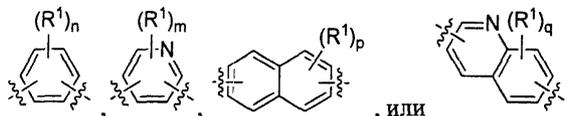
где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\underset{\text{z}}{\text{z}}}\text{---}$  представляет собой связь со связующим агентом и

b является целым числом от 2 до 8; и

AA<sup>1</sup> представляет собой аминокислоту и

AA<sup>2</sup> представляет собой аминокислоту.

В некоторых реализациях A представляет собой



где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, гидро-

ксил, циано, нитро,  $\text{---}\overset{\text{z}}{\text{z}}\text{---OR}^A$ ,  $\text{---}\overset{\text{z}}{\text{z}}\text{---SO}_2\text{R}^A$ ,  $\text{---}\overset{\text{z}}{\text{z}}\text{---C(=O)R}^A$ , или азидо,

где R<sup>A</sup> представляет собой алкил или гетероалкил;

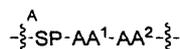
n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

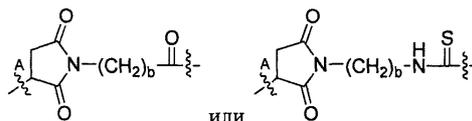
p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



где SP представляет собой:



где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\underset{\text{z}}{\text{z}}}\text{---}$  представляет собой связь со связующим агентом;

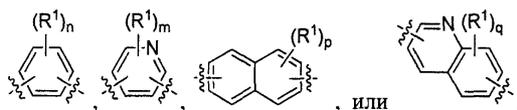
b является целым числом от 2 до 8;

AA<sup>1</sup> представляет собой аминокислоту и

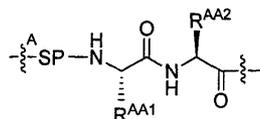
AA<sup>2</sup> представляет собой аминокислоту.

В некоторых реализациях

A представляет собой:



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ галоалкил или гало;  $n$  является целым числом от 0 до 4;  $m$  является целым числом от 0 до 3;  $p$  является целым числом от 0 до 6;  $q$  является целым числом от 0 до 5; и L представляет собой



где SP представляет собой спейсер;

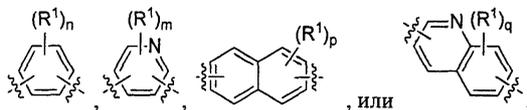


представляет собой одну или более связей к связующему агенту;

$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку.

В некоторых реализациях A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, гидро-

ксил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

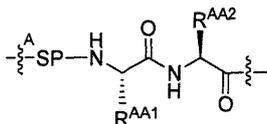
$n$  является целым числом от 0 до 4;

$m$  является целым числом от 0 до 3;

$p$  является целым числом от 0 до 6;

$q$  является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



где SP представляет собой спейсер;



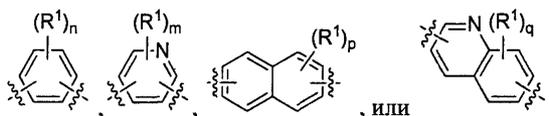
представляет собой одну или более связей к связующему агенту;

$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку.

В некоторых реализациях

A представляет собой:



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ галоалкил или гало;

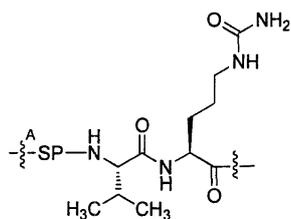
$n$  является целым числом от 0 до 4;

$m$  является целым числом от 0 до 3;

$p$  является целым числом от 0 до 6;

$q$  является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой

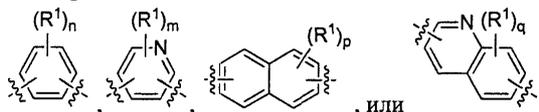


где SP представляет собой спейсер и



представляет собой одну или более связей к связующему агенту.

В некоторых реализациях A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано,

нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил;

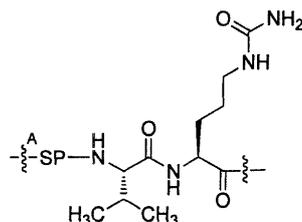
n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



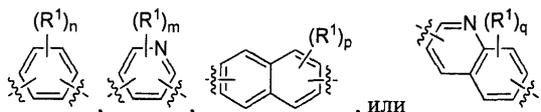
где SP представляет собой спейсер и



представляет собой одну или более связей к связующему агенту.

В некоторых реализациях

A представляет собой:



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ галоалкил или гало;

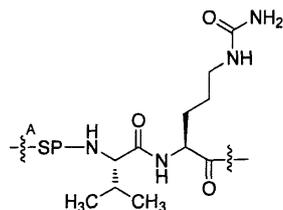
n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

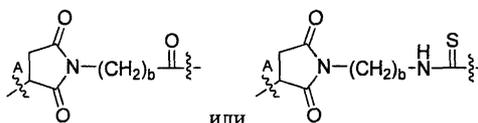
p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



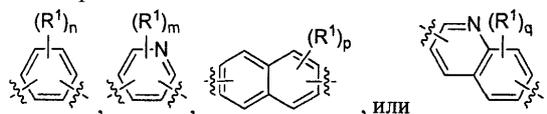
где SP представляет собой:



или

где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой связь со связующим агентом и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, гидро-

ксил, циано, нитро,  $\text{---}\text{OR}^A$ ,  $\text{---}\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $\text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{---}\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

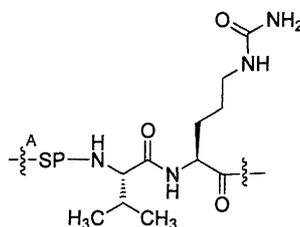
$n$  является целым числом от 0 до 4;

$m$  является целым числом от 0 до 3;

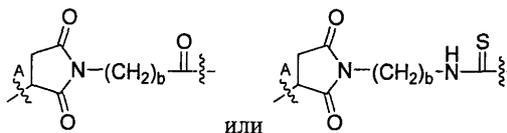
$p$  является целым числом от 0 до 6;

$q$  является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



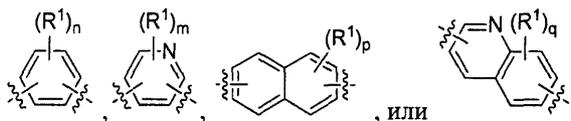
где SP представляет собой:



где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой связь со связующим агентом и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

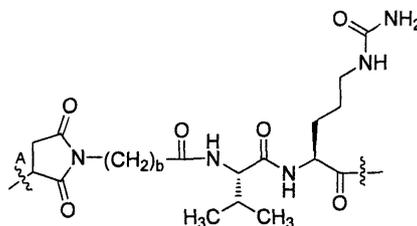
В некоторых реализациях

A представляет собой:



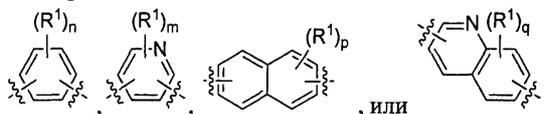
где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ галоалкил или гало; и  $n$ ,  $m$ ,  $p$  и  $q$  принимают значения 0, 1 или 2; и

L представляет собой



где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой связь со связующим агентом и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано,

нитро,  $-\xi-OR^A$ ,  $-\xi-SO_2R^A$ ,  $-\xi-\overset{O}{\parallel}-R^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил;

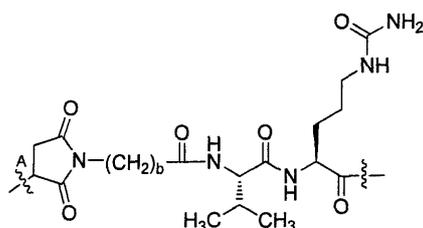
$p$  является целым числом от 0 до 4;

$m$  является целым числом от 0 до 3;

$r$  является целым числом от 0 до 6;

$q$  является целым числом от 0 до 5; и

$L$  представляет собой

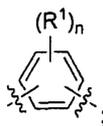


где  $-\xi-\overset{A}{\parallel}$  представляет собой связь со связующим агентом и

$b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях

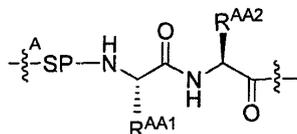
$A$  представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой  $C_{1-6}$ галоалкил или гало;

$n$  принимает значения 0, 1 или 2; и

$L$  представляет собой



где SP представляет собой спейсер;

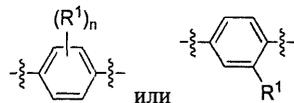


представляет собой одну или более связей к связующему агенту;

$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку.

В некоторых реализациях  $A$  представляет собой



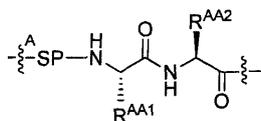
где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, гидро-

ксил, циано, нитро,  $-\xi-OR^A$ ,  $-\xi-SO_2R^A$ ,  $-\xi-\overset{O}{\parallel}-R^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

$p$  является целым числом от 0 до 4;

$L$  представляет собой



где SP представляет собой спейсер;



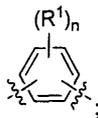
представляет собой одну или более связей к связующему агенту;

$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку.

В некоторых реализациях

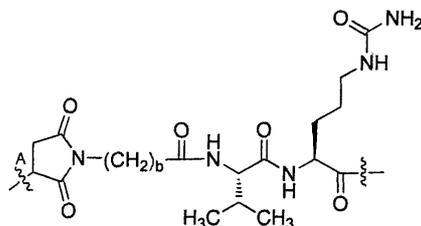
A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой гало;

n принимает значения 0, 1 или 2; и

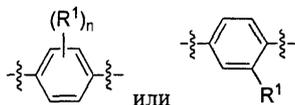
L представляет собой



где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой связь со связующим агентом и

b является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях A представляет собой

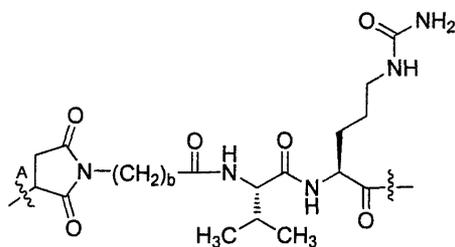


где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, гидро-

ксил, циано, нитро,  $\text{---}\text{OR}^A$ ,  $\text{---}\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $\text{---}\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

L представляет собой



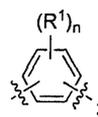
где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой связь со связующим агентом;

где n является целым числом от 0 до 4 и

b является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях

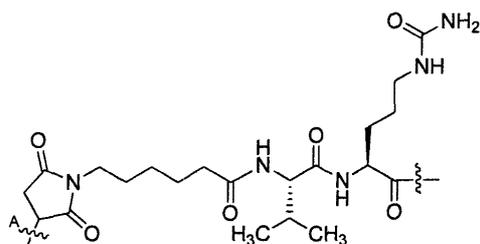
A представляет собой



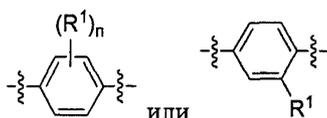
где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой гало;

n принимает значения 0, 1 или 2; и

L представляет собой



где представляет собой связь со связующим агентом.  
В некоторых реализациях А представляет собой



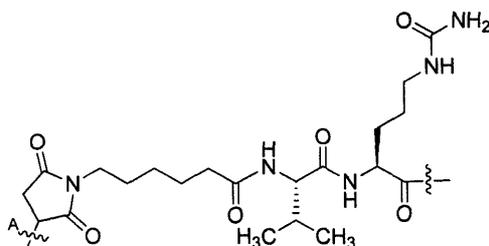
где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аракил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, гидро-

ксил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

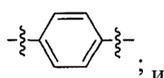
где  $n$  является целым числом от 0 до 4;

L представляет собой

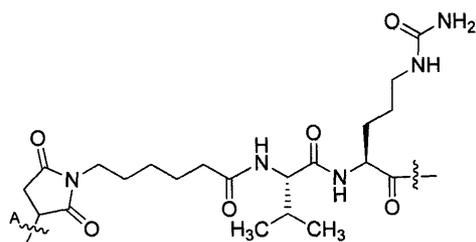


где представляет собой связь со связующим агентом.  
В некоторых реализациях

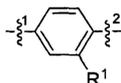
А представляет собой



L представляет собой



В некоторых реализациях А представляет собой



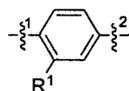
где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, арил, гетероалкил, гало, галоалкокси, галоалкил;

представляет собой связь с атомом азота и

представляет собой связь с карбонилем.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой 1-метилэтил-тиол, фенил, 2-фторфенил, пиридинил, 4-пиридинил, пирролидинил или 1-пирролидинил. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой водород.

В некоторых реализациях А представляет собой



где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, арил, гетероалкил, гало, галоалкил, галоалкокси;

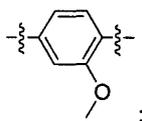
 представляет собой связь с атомом азота и

 представляет собой связь с карбонилем.

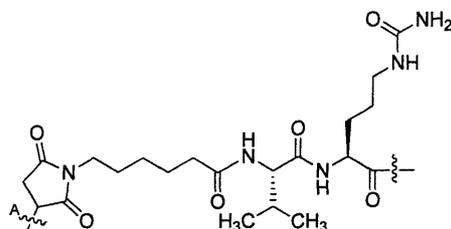
В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой 1-метилэтил-тиол, фенил, 2-фторфенил, пиридинил, 4-пиридинил, пирролидинил или 1-пирролидинил. В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой трифторметил. В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой метокси. В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой фтор. В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой водород.

В некоторых реализациях

А представляет собой



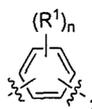
L представляет собой



В некоторых реализациях

ВА представляет собой антителио,

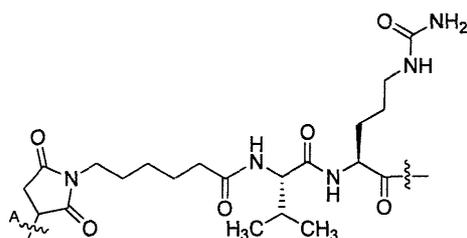
А представляет собой



где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой гало;

n принимает значения 0, 1 или 2; и

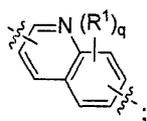
L представляет собой



где  представляет собой связь со связующим агентом.

В некоторых реализациях

А представляет собой

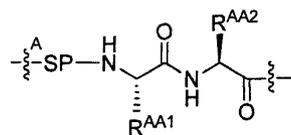


где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано,

нитро, , , , или азидо;

q является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



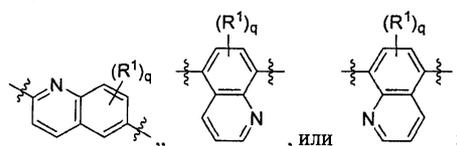
где SP представляет собой спейсер;

$\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой одну или более связей к связующему агенту;

$\text{R}^{\text{AA1}}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

$\text{R}^{\text{AA2}}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку.

В некоторых реализациях А представляет собой

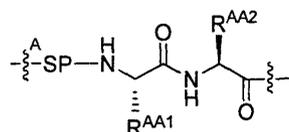


где  $\text{R}^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано,

нитро,  $\text{---}\text{OR}^{\text{A}}$ ,  $\text{---}\text{SO}_2\text{R}^{\text{A}}$ ,  $\text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{---}\text{R}^{\text{A}}$ , или азидо;

где q является целым числом от 0 до 5;

L представляет собой



где SP представляет собой спейсер;

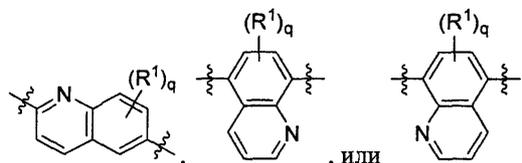
$\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой одну или более связей к связующему агенту;

$\text{R}^{\text{AA1}}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

$\text{R}^{\text{AA2}}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку.

В некоторых реализациях

A представляет собой:

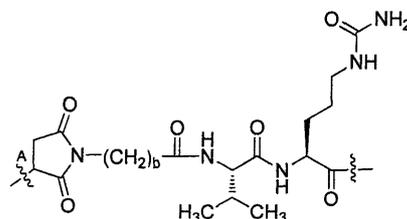


где  $\text{R}^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано,

нитро,  $\text{---}\text{OR}^{\text{A}}$ ,  $\text{---}\text{SO}_2\text{R}^{\text{A}}$ ,  $\text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{---}\text{R}^{\text{A}}$ , или азидо;

где q является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой

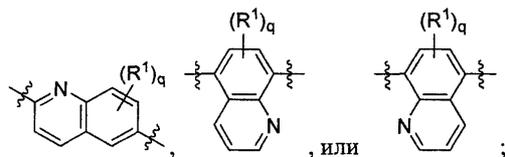


где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой связь со связующим агентом и

b является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях

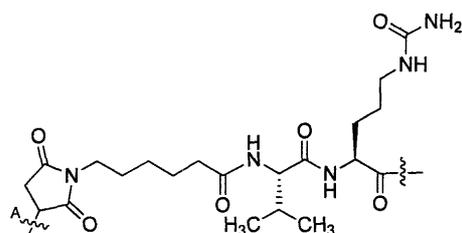
A представляет собой:



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано,

нитро,  $-\xi-OR^A$ ,  $-\xi-SO_2R^A$ ,  $-\xi-\overset{\text{O}}{\parallel}-R^A$ , или азидо;

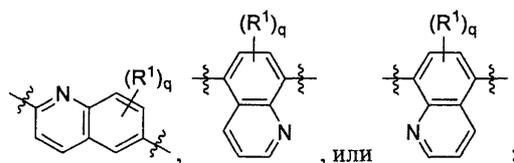
$q$  является целым числом от 0 до 5; и  $L$  представляет собой



где  $\xi$  представляет собой связь со связующим агентом.

В некоторых реализациях

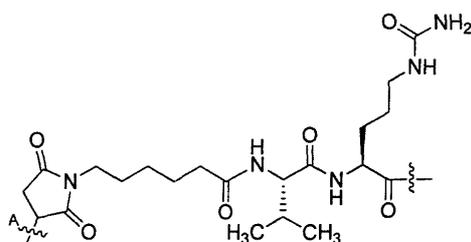
$A$  представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано,

нитро,  $-\xi-OR^A$ ,  $-\xi-SO_2R^A$ ,  $-\xi-\overset{\text{O}}{\parallel}-R^A$ , или азидо;

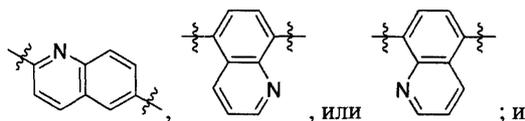
где  $q$  является целым числом от 0 до 5; и  $L$  представляет собой



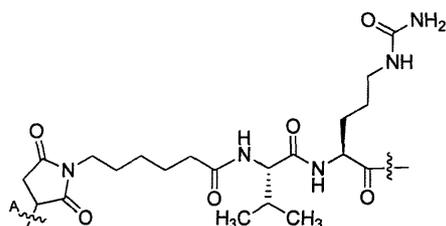
где  $\xi$  представляет собой связь со связующим агентом.

В некоторых реализациях

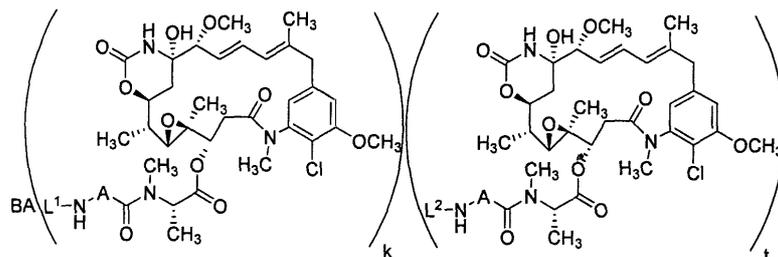
$A$  представляет собой:



$L$  представляет собой



В некоторых реализациях соединение с формулой (I) представляет собой:

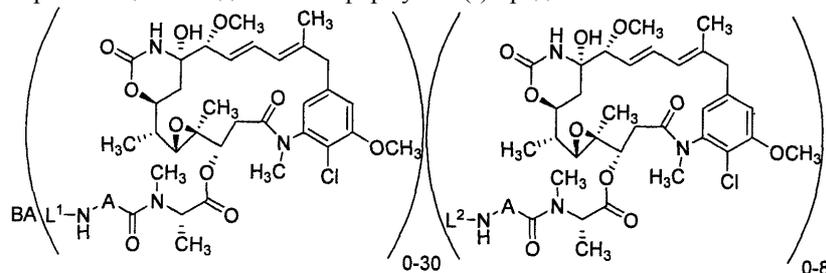


где А представляет собой арилен или гетероарилен,  $L^1$  и  $L^2$  представляют собой линкеры, ВА представляет собой связующий агент,  $k$  является целым числом от 0 до 30,  $t$  является целым числом от 0 до 8.

В некоторых из этих реализаций  $L^1$  представляет собой линкер, прикрепленный к ВА посредством лизинового остатка. В некоторых из этих реализаций коэффициент  $k$  означает количество линкеров,  $L^1$ , прикрепленных к ВА посредством лизиновых остатков на ВА. В некоторых из этих реализаций  $L^2$  представляет собой линкер, прикрепленный к ВА посредством цистеинового остатка. В некоторых из этих реализаций коэффициент  $t$  означает количество линкеров  $L^2$ , прикрепленных к ВА посредством цистеиновых остатков на ВА. В некоторых из этих реализаций линкер  $L^2$  представляет собой моодентатный линкер,  $t$  является целым числом от 0 до 8.

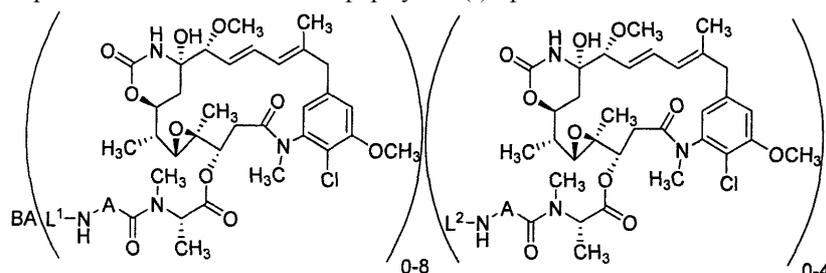
В некоторых из этих реализаций, когда линкер  $L^2$ , представляет собой бидентатный линкер,  $t$  является целым числом от 0 до 4. В некоторых из этих примеров сумма  $k + t$  представляет собой число в диапазоне 1-8.

В некоторых реализациях соединение с формулой (I) представляет собой:



где А представляет собой арилен или гетероарилен,  $L^1$  и  $L^2$  представляют собой линкеры, ВА представляет собой связующий агент. В некоторых из этих реализаций  $L^1$  представляет собой линкер, прикрепленный к ВА посредством лизинового остатка. В некоторых из этих реализаций  $L^2$  представляет собой линкер, прикрепленный к ВА посредством цистеинового остатка.

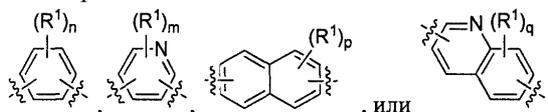
В некоторых реализациях соединение с формулой (I) представляет собой:



где А представляет собой арилен или гетероарилен,  $L^1$  и  $L^2$  представляют собой линкеры, ВА представляет собой связующий агент.

В некоторых из этих реализаций  $L^1$  представляет собой линкер, прикрепленный к ВА посредством лизинового остатка. В некоторых из этих реализаций  $L^2$  представляет собой линкер, прикрепленный к ВА посредством цистеинового остатка.

В некоторых реализациях А представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой гало, галоалкил, галоалкокси, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, алкокси, галоалкокси, арил, алкарил, аралкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо, где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

$n$  является целым числом от 0 до 4;

$m$  является целым числом от 0 до 3;

$r$  является целым числом от 0 до 6;

$q$  является целым числом от 0 до 5.

В некоторых реализациях линкер представляет собой



где SP представляет собой спейсер;



представляет собой одну или более связей к связующему агенту;

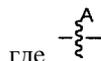
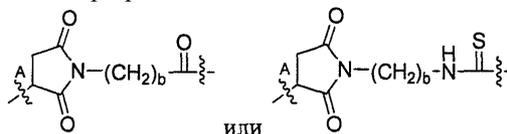
$\text{AA}^1$  представляет собой аминокислоту; и

$\text{AA}^2$  представляет собой аминокислоту.

Спейсер представляет собой дивалентный молекулярный фрагмент, крепящий молекулярный фрагмент  $\text{AA}^1\text{-AA}^2$  к связующему агенту (BA). К подходящим спейсерам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, содержащие алкилен или полиэтиленгликоль. Концы спейсеров, т.е. часть спейсера, непосредственно прикрепленная к связующему агенту или  $\text{AA}^1$ , могут быть получены непосредственно из реактивных молекулярных фрагментов, используемых для соединения антитела или  $\text{AA}^1$  со спейсером в процессе химического синтеза конъюгата.

В некоторых реализациях спейсер содержит алкилен. В некоторых реализациях спейсер содержит  $\text{C}_{5-7}$ -алкилен.

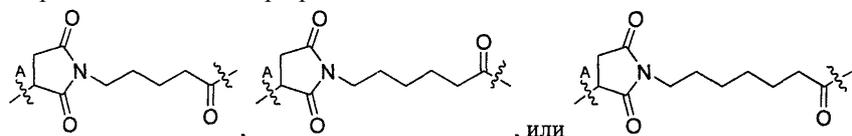
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



где  $\text{-}\overset{\text{A}}{\underset{\text{A}}{\text{S}}}\text{-}$  представляет собой связь со связующим агентом и

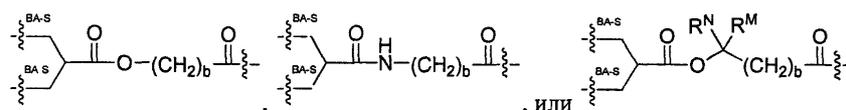
$b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях спейсер представляет собой



где  $\text{-}\overset{\text{A}}{\underset{\text{A}}{\text{S}}}\text{-}$  представляет собой связь со связующим агентом.

В некоторых реализациях спейсер представляет собой



где  $\text{R}^N$  представляет собой атом водорода или алкил;

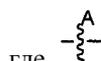
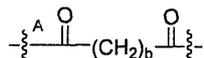
$\text{R}^M$  представляет собой алкил;



две связи, представленные  $\text{-}\overset{\text{BA-S}}{\underset{\text{BA-S}}{\text{S}}}\text{-}$ , представляют собой связи к цистеинам связующего агента и

$b$  является целым числом от 2 до 8.

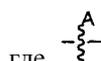
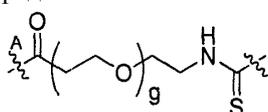
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



где  $\text{-}\overset{\text{A}}{\underset{\text{A}}{\text{S}}}\text{-}$  представляет собой связь со связующим агентом и

$b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях спейсер представляет собой

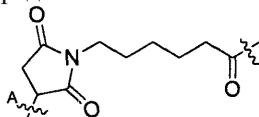


где  $\text{-}\overset{\text{A}}{\underset{\text{A}}{\text{S}}}\text{-}$  представляет собой связь со связующим агентом и

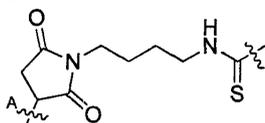
$g$  является целым числом от 2 до 20.

В некоторых реализациях  $g$  принимает значения 2-8. В некоторых реализациях  $g$  принимает значения 2, 4, 6 или 8.

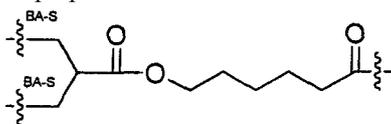
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



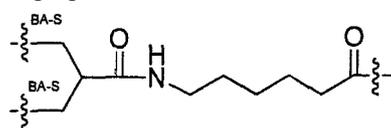
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



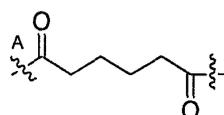
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



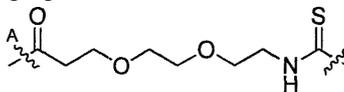
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



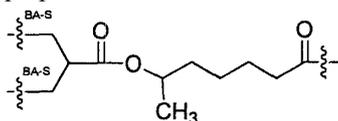
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



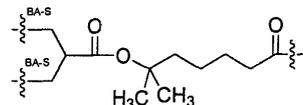
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



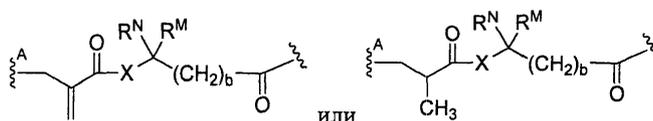
В некоторых реализациях спейсер представляет собой



В некоторых реализациях спейсер представляет собой



В некоторых реализациях спейсер представляет собой



где  $\overset{\text{A}}{\sim}$  представляет собой связь со связующим агентом;

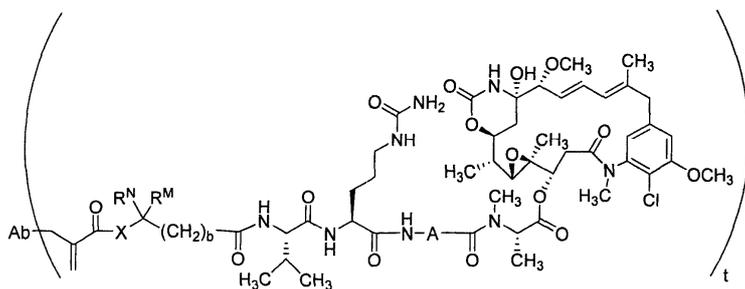
$X$  представляет собой  $N$  или  $O$ ;

$R^N$  и  $R^M$ , каждый независимо, представляют собой водород или алкил и

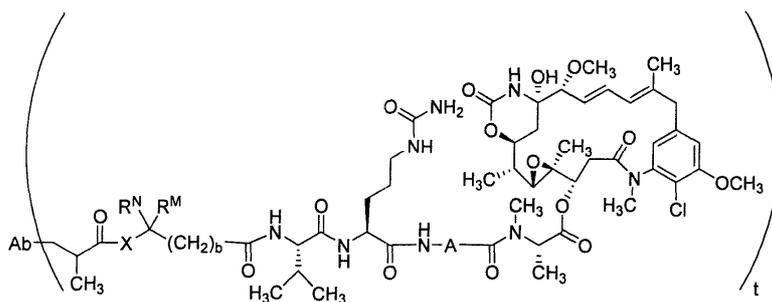
$b$  является целым числом от 1 до 8.

В некоторых реализациях  $AA^1-AA^2$  представляют собой валин-цитруллин, цитруллин-валин, лизин-фенилаланин, фенилаланин-лизин, валин-аспарагин, аспарагин-валин, треонин-аспарагин, аспарагин-треонин, серин-аспарагин, аспарагин-серин, фенилаланин-аспарагин, аспарагин-фенилаланин, лейцин-аспарагин, аспарагин-лейцин, изолейцин-аспарагин, аспарагин-изолейцин, глицин-аспарагин, аспарагин-глицин, глутаминовая кислота-аспарагин, аспарагин-глутаминовая кислота, цитруллин-аспарагин, аспарагин-цитруллин, аланин-аспарагин или аспарагин-аланин.

В некоторых реализациях  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин или цитруллин-валин. В некоторых реализациях  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин. В некоторых реализациях соединение с формулой (I) представляет собой:



или



где X представляет собой N или O;

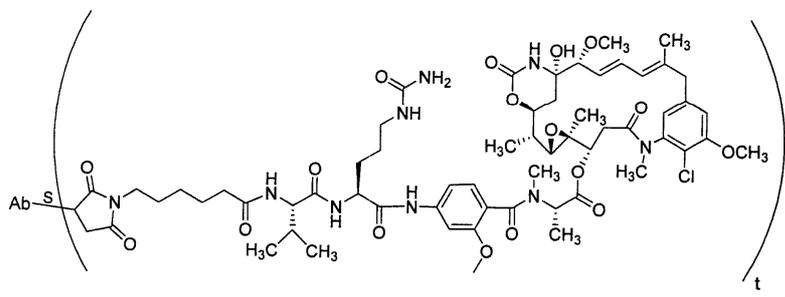
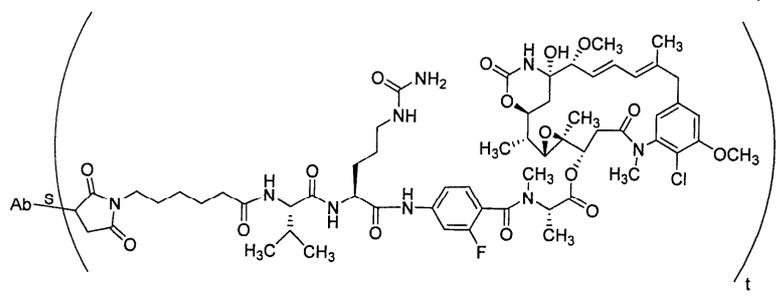
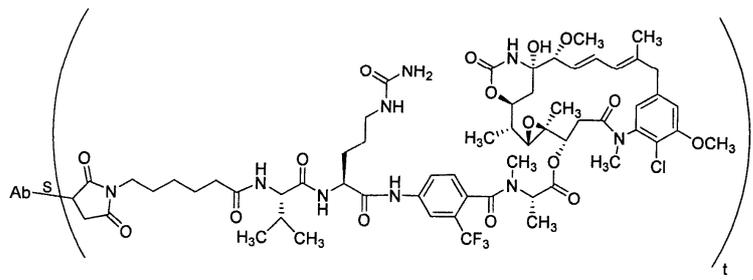
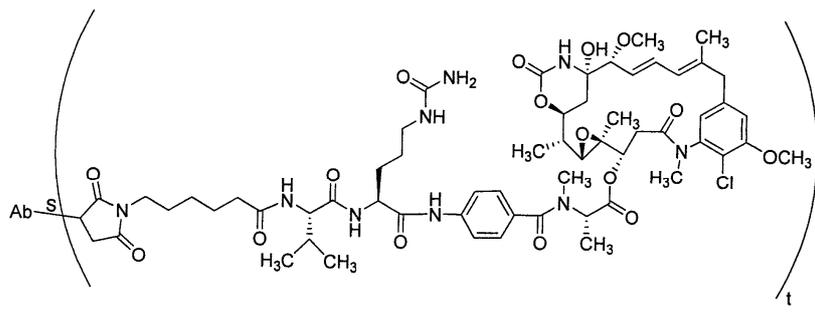
$R^N$  и  $R^M$  независимо представляют собой водород или арил;

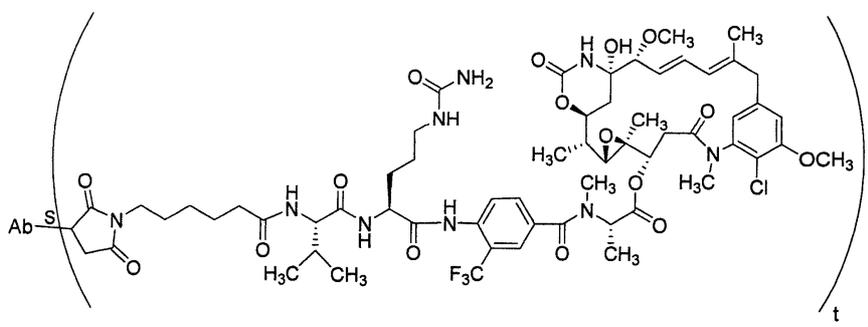
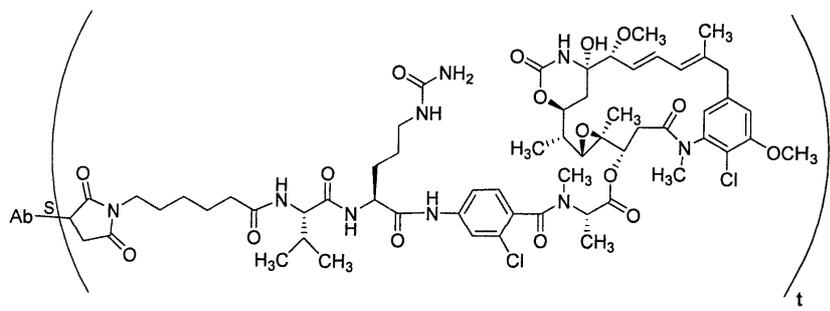
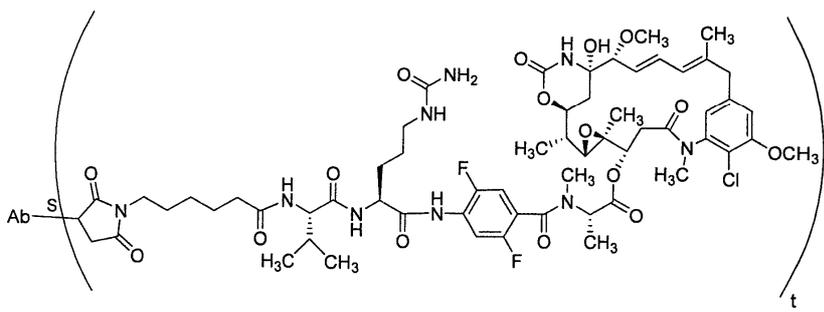
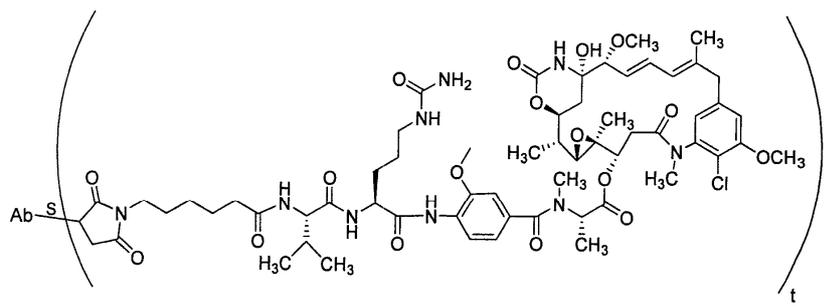
b является целым числом от 1 до 8;

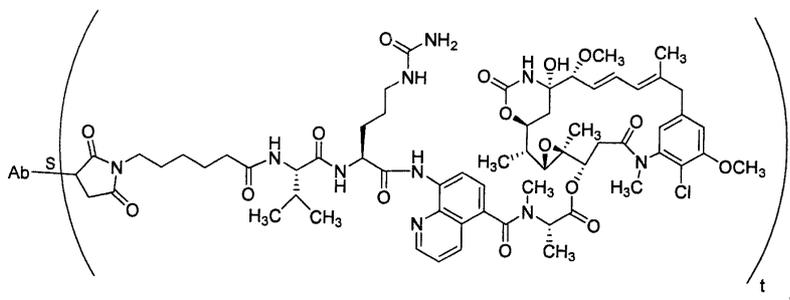
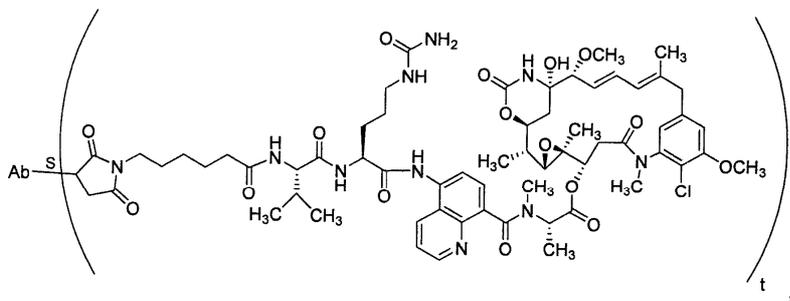
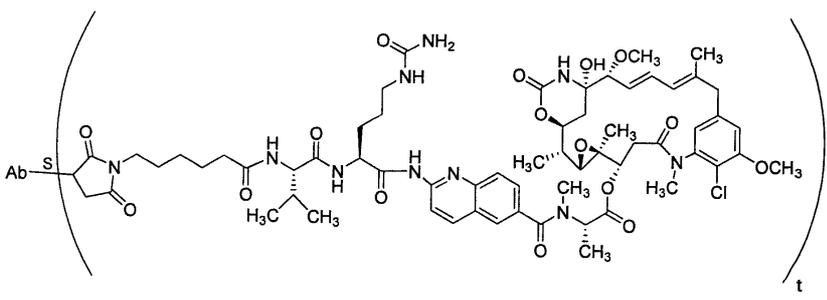
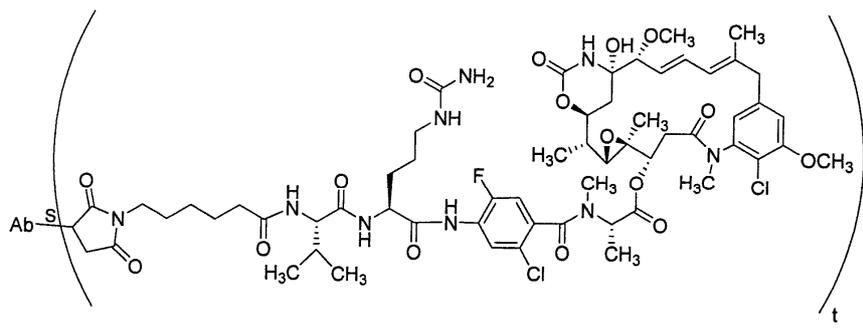
A представляет собой арил или гетероарил и

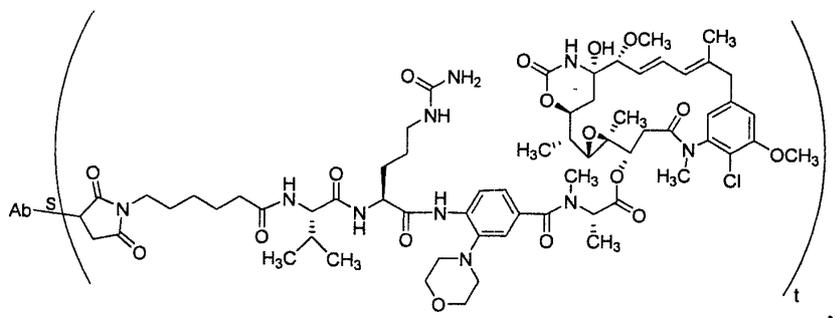
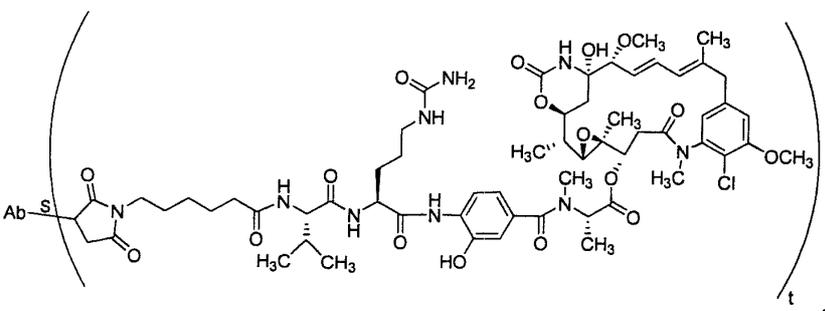
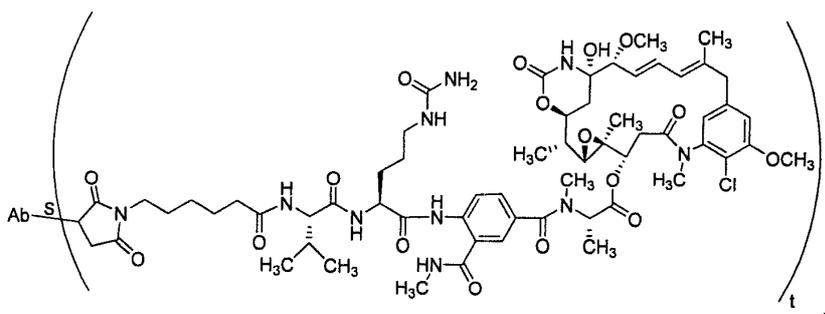
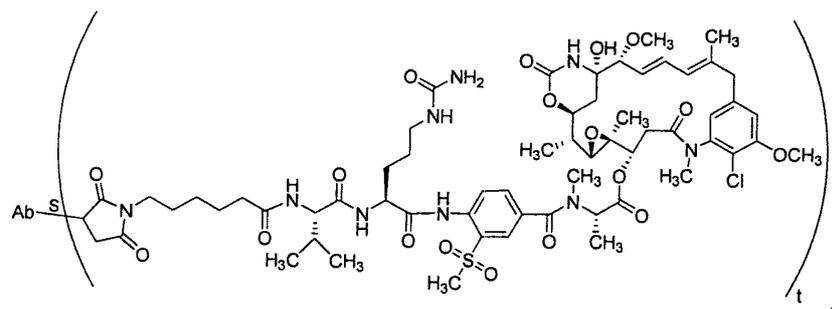
t является целым числом в диапазоне 1-8.

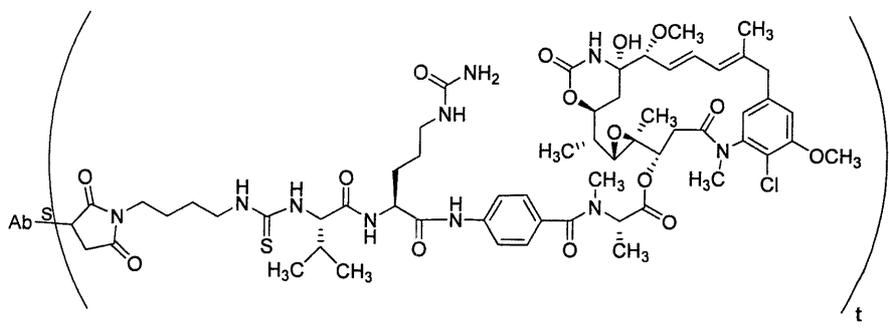
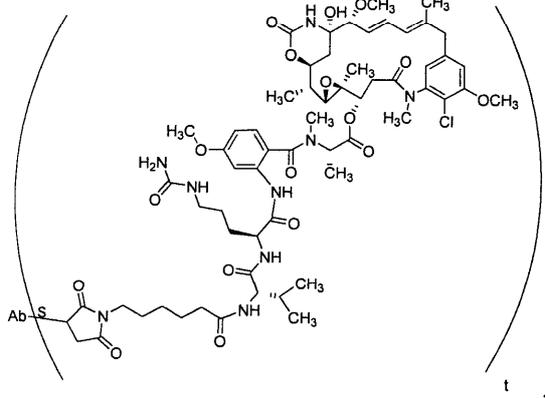
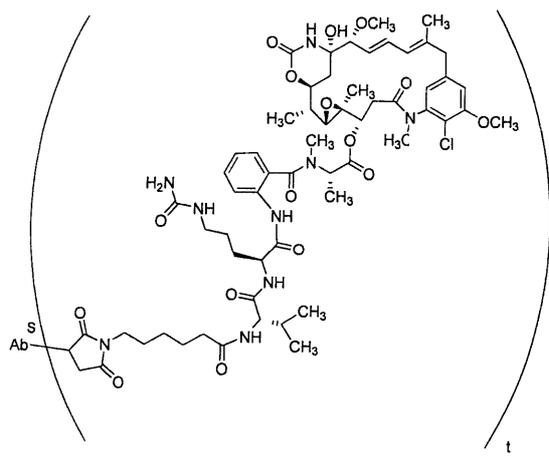
В некоторых реализациях соединение с формулой (I) представляет собой:

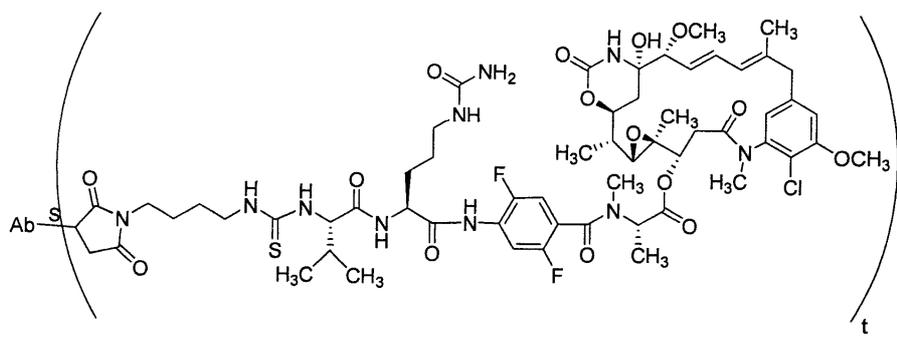
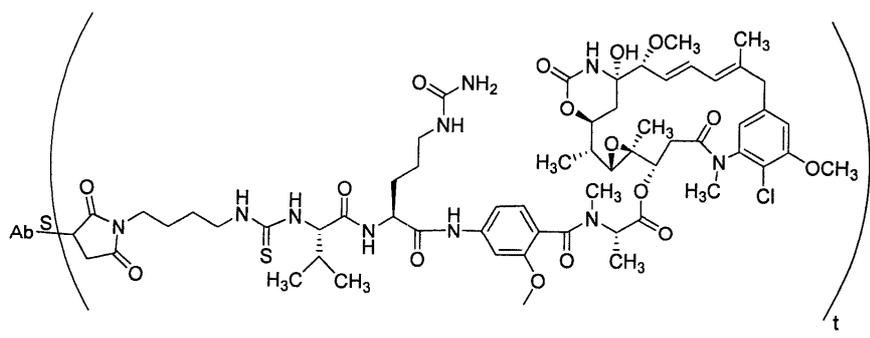
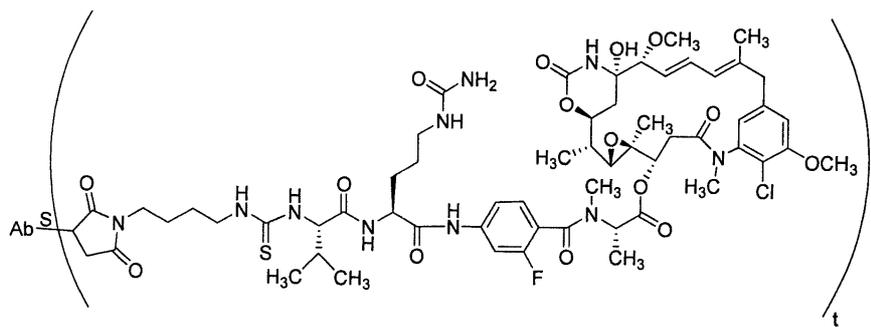
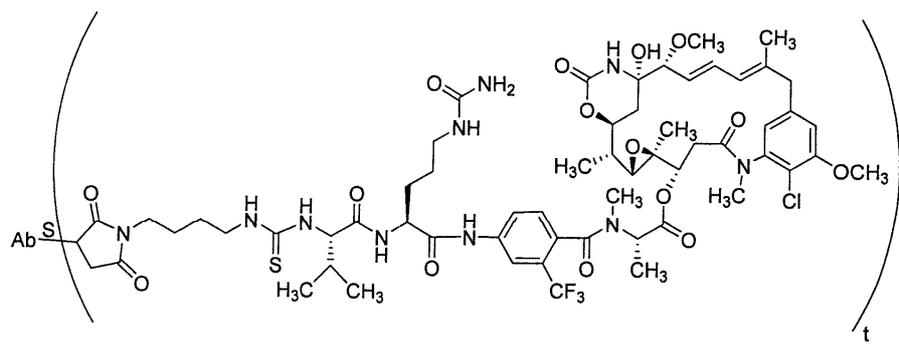


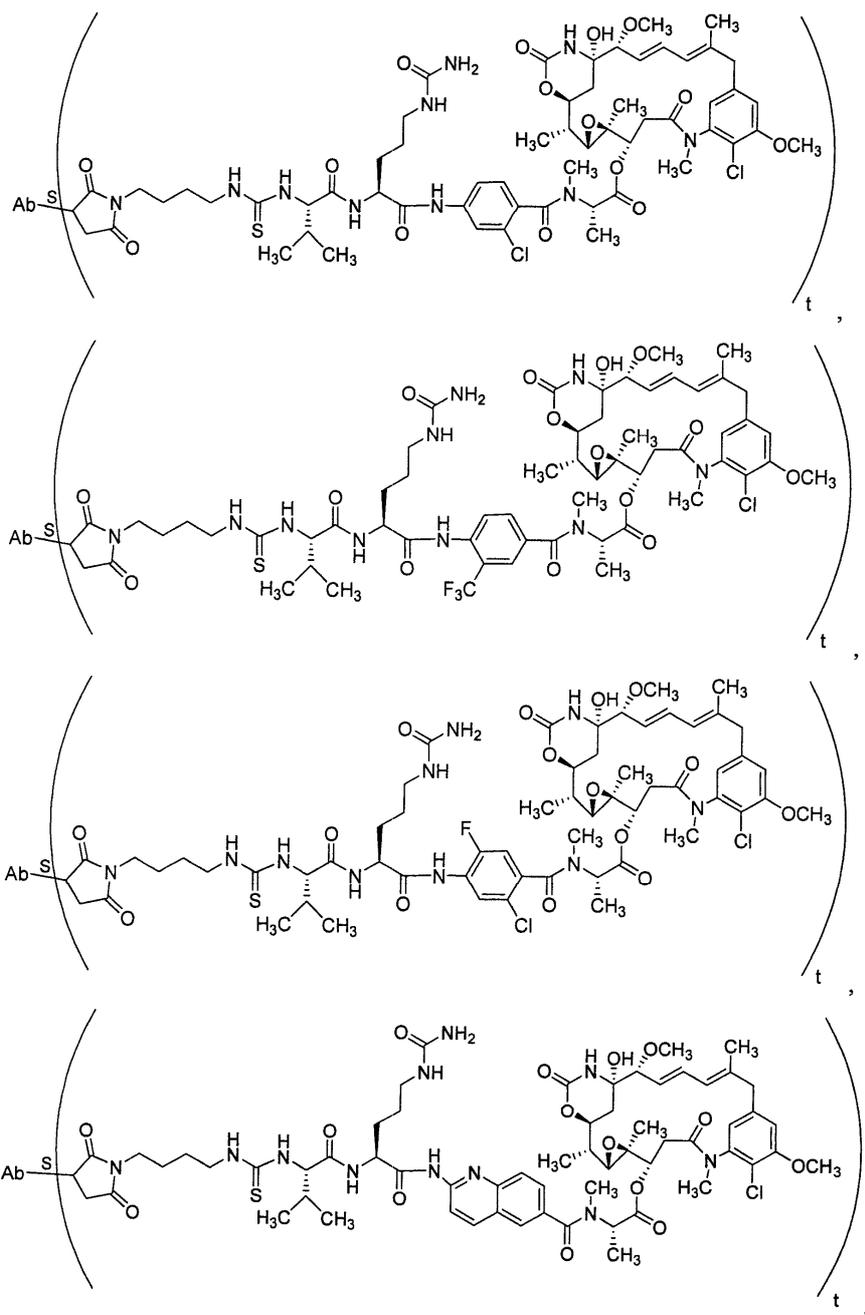


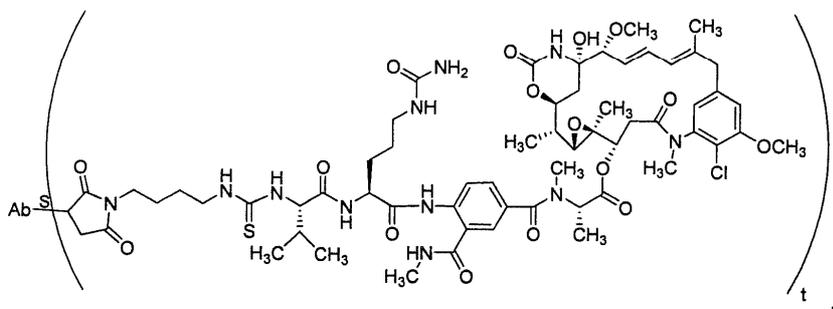
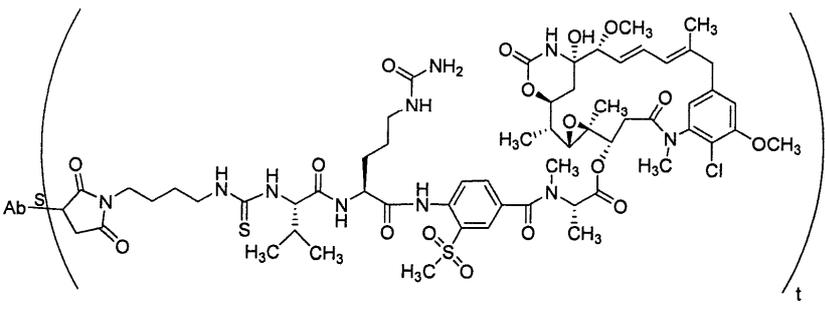
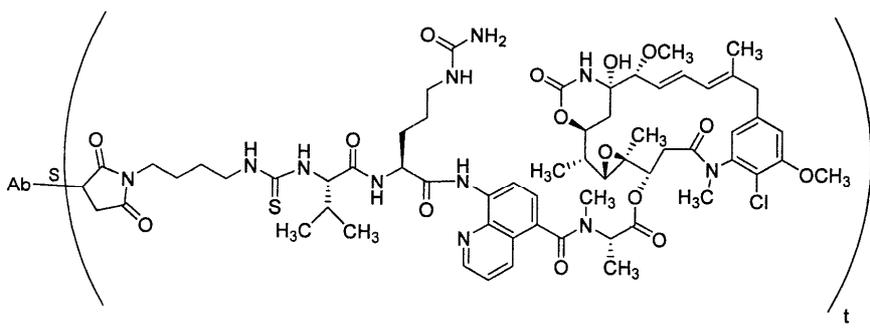
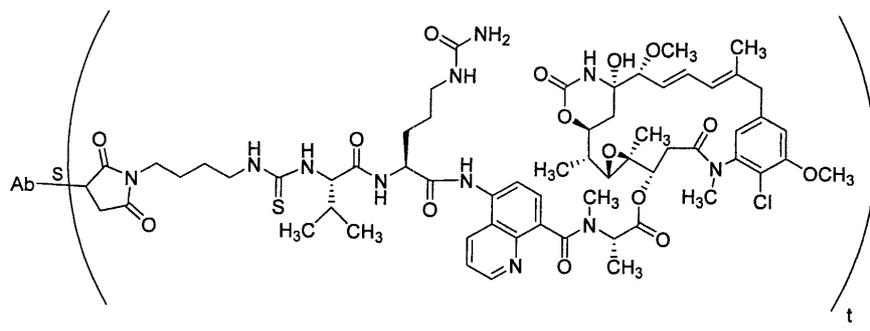


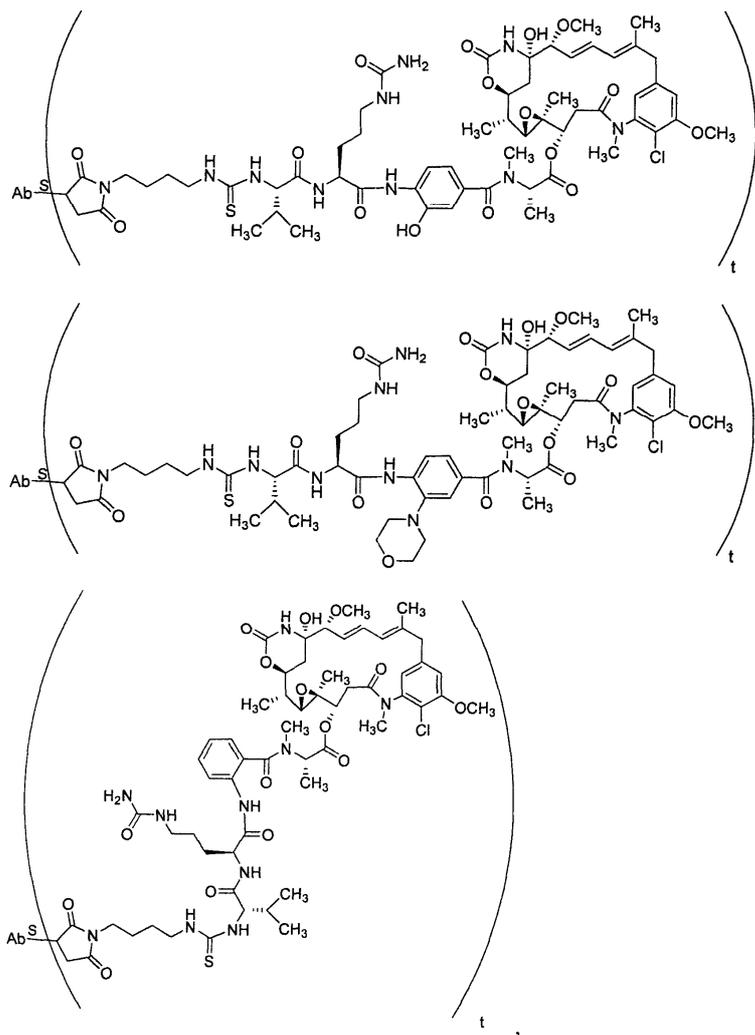


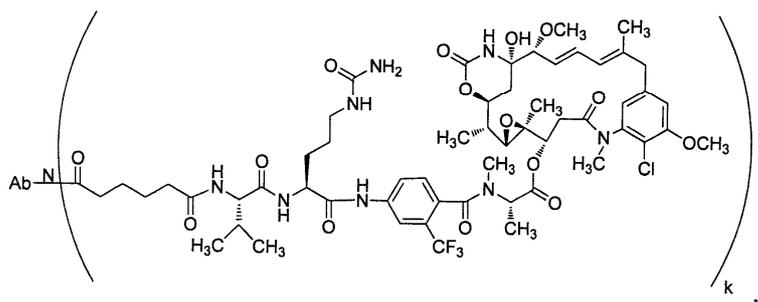
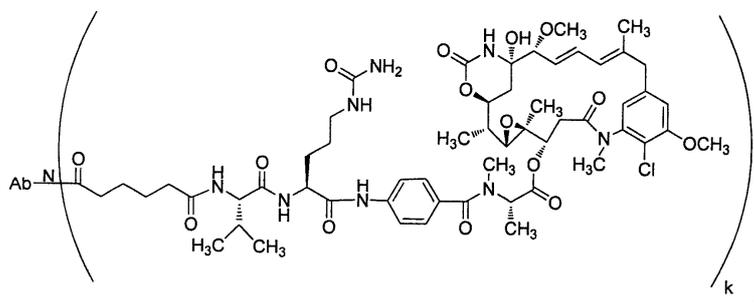
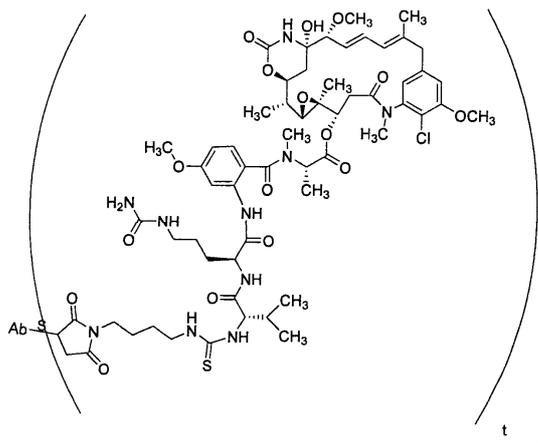


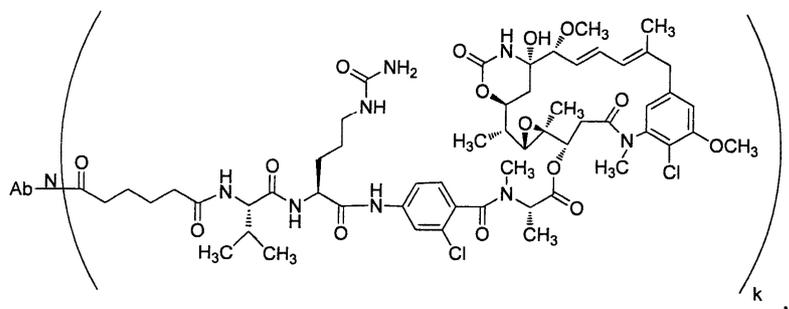
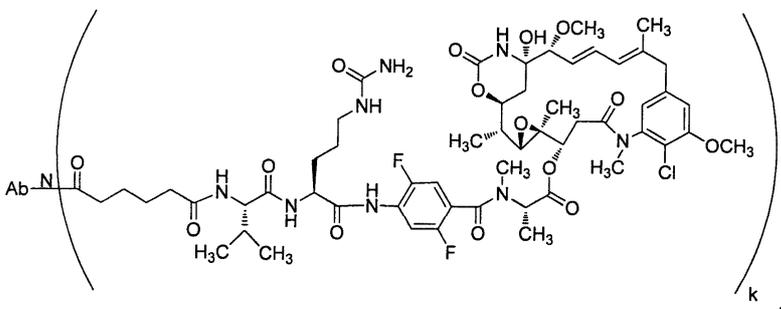
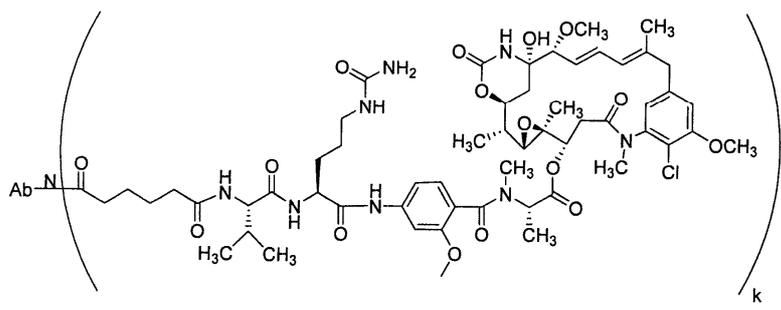
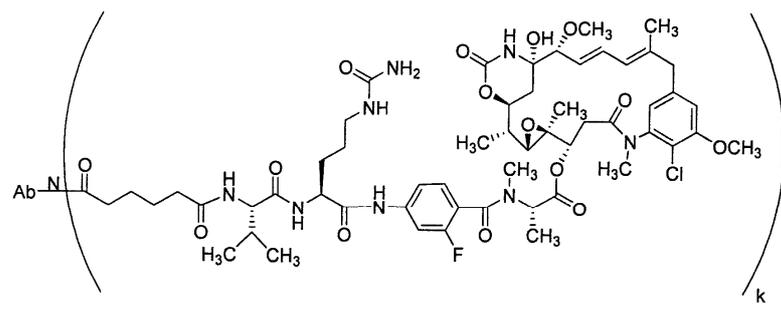




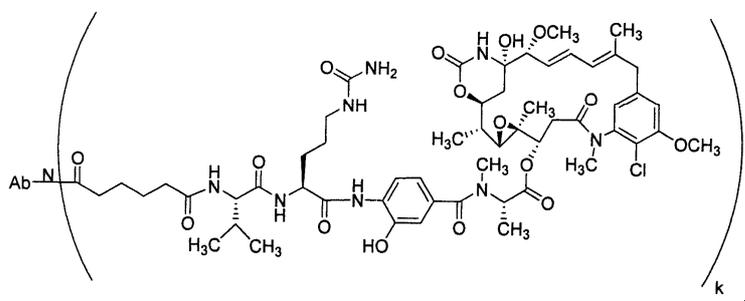
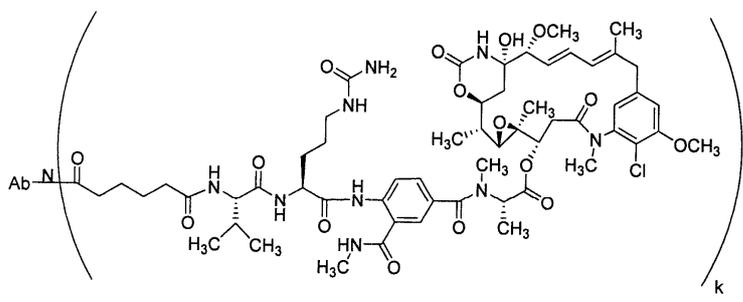
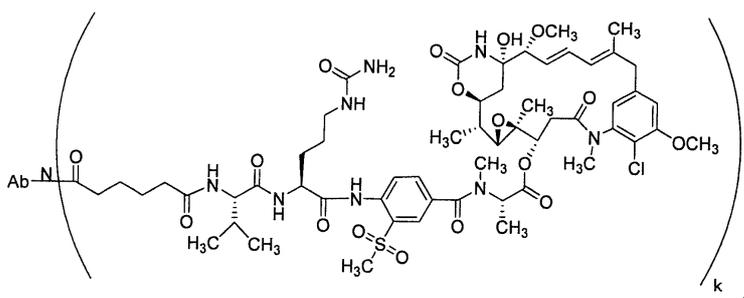
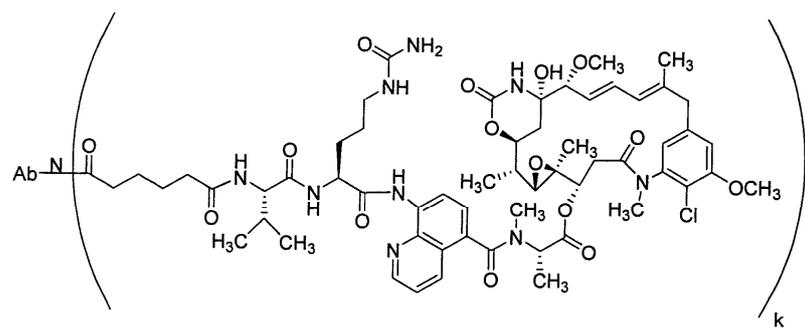


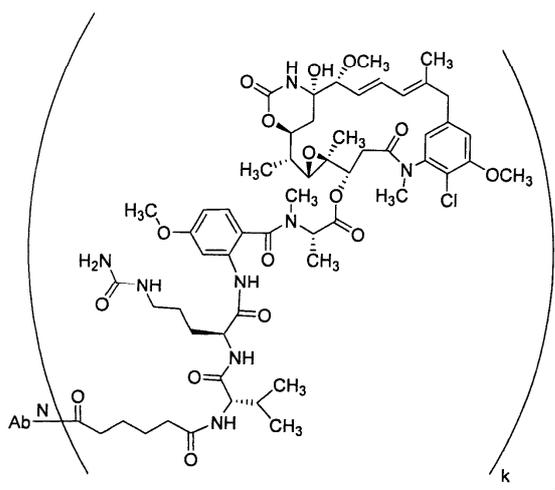
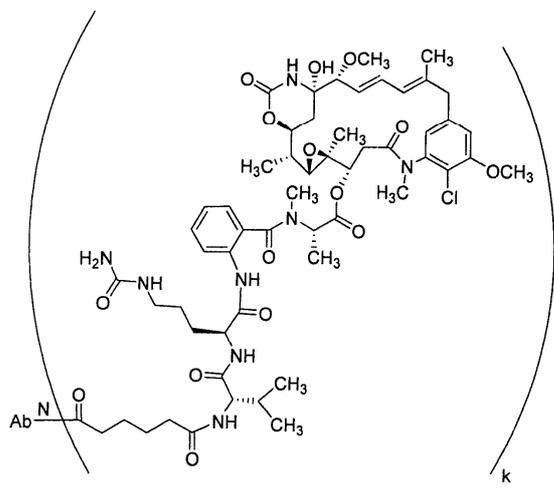
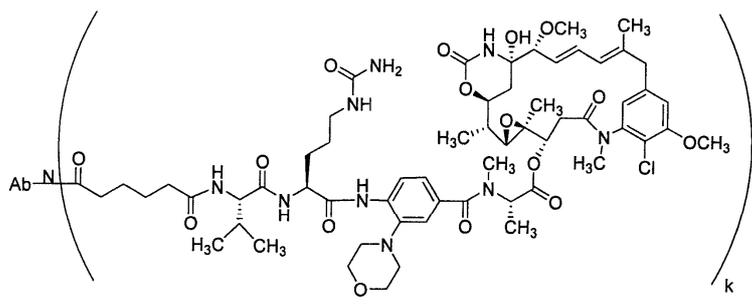


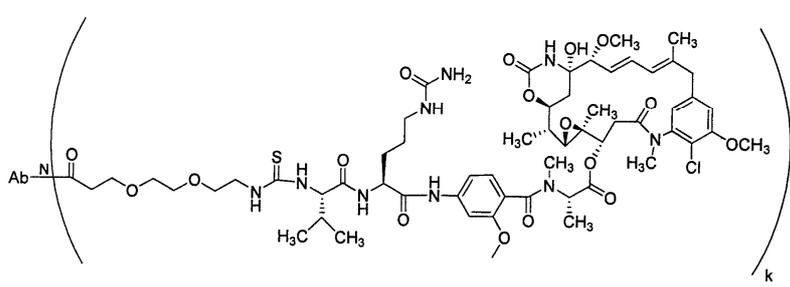
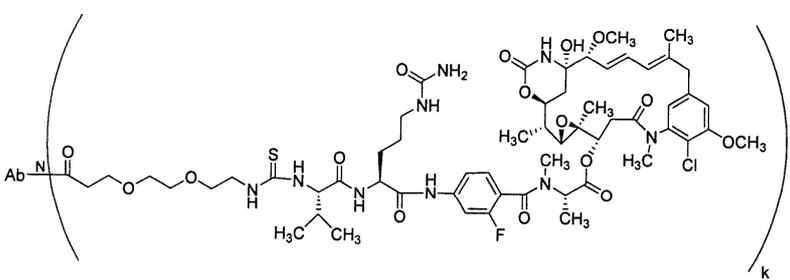
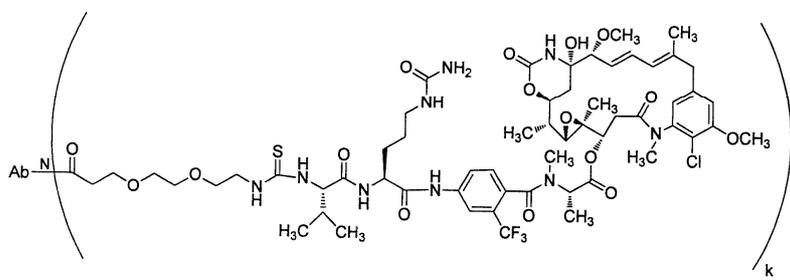
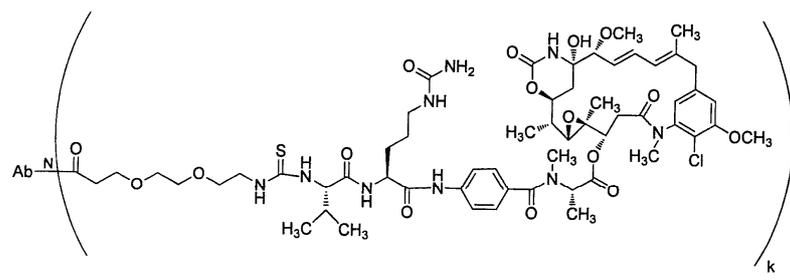


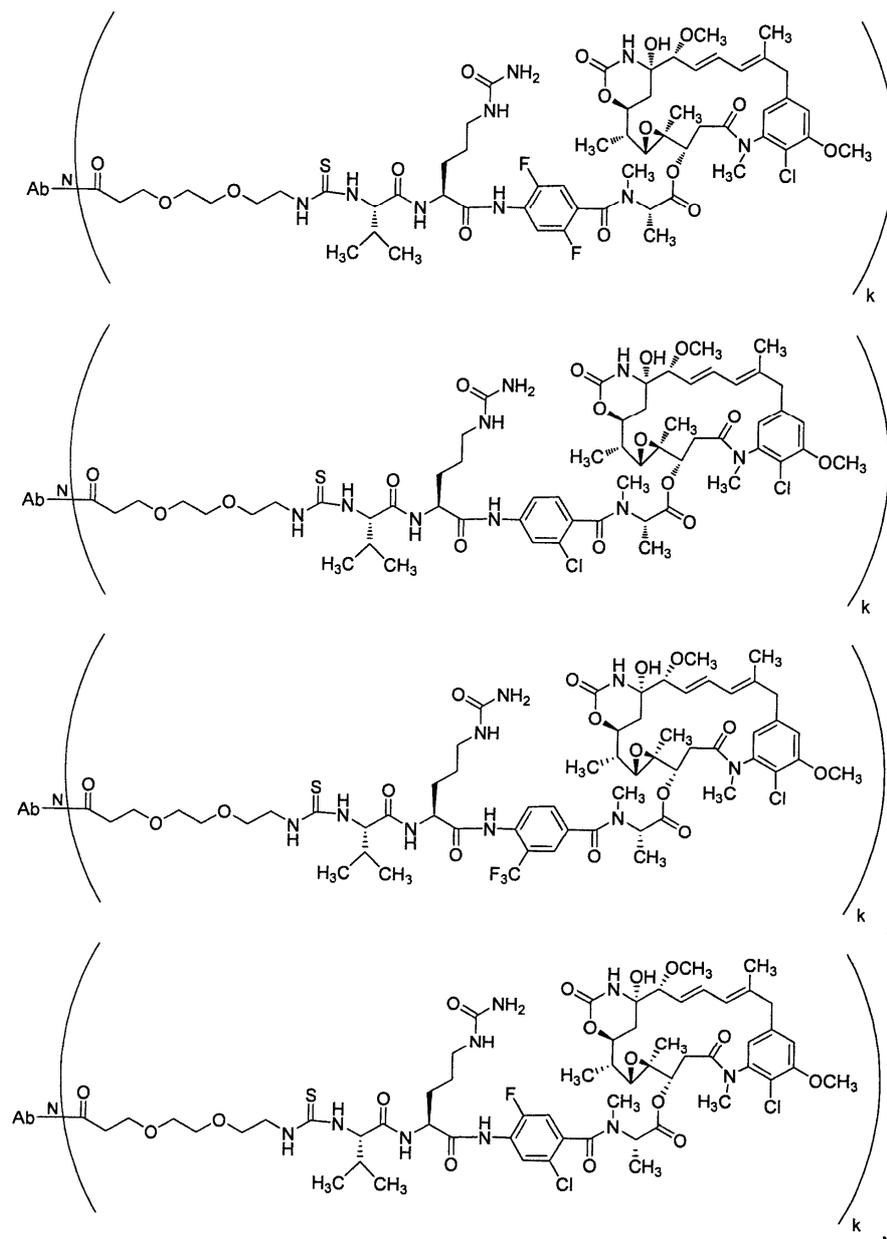


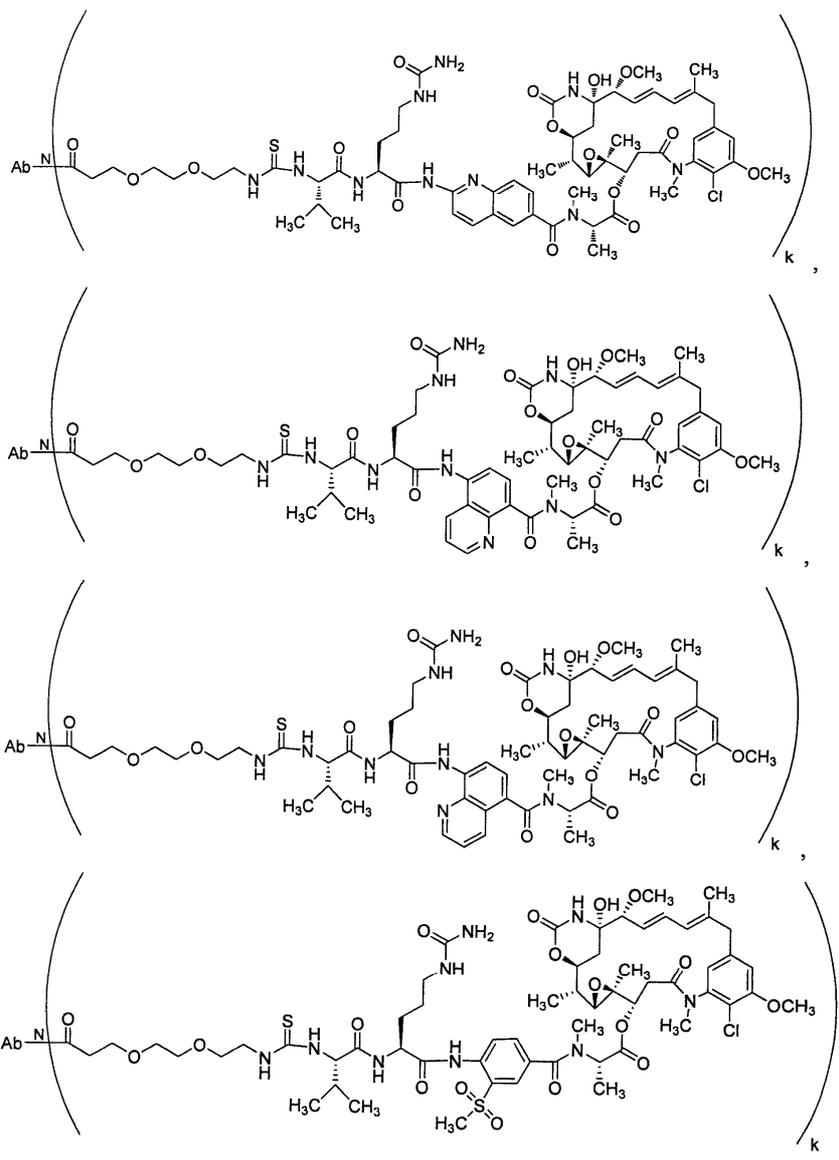


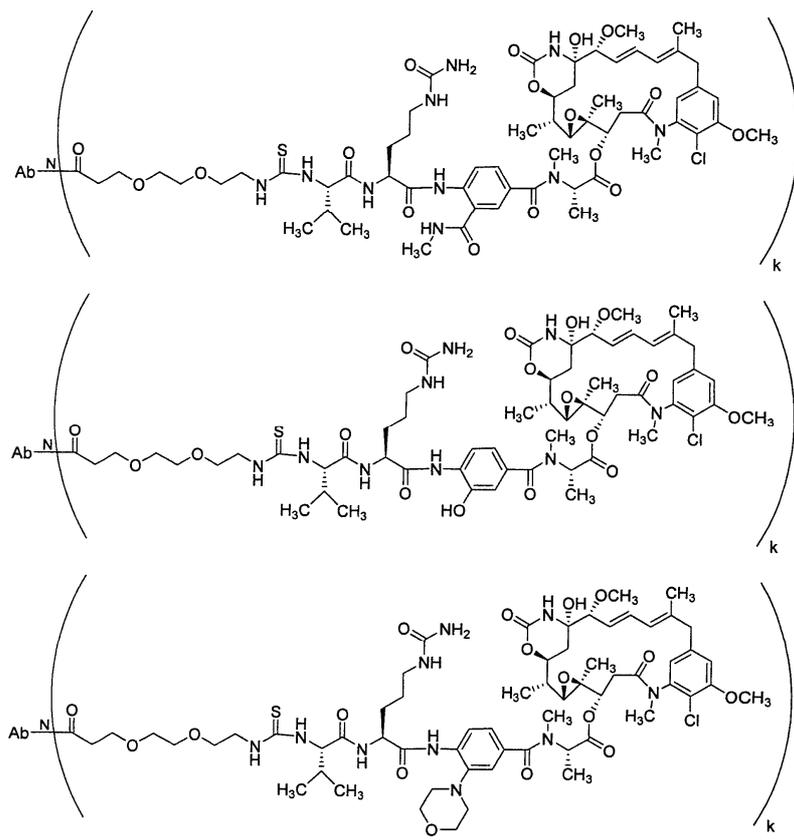


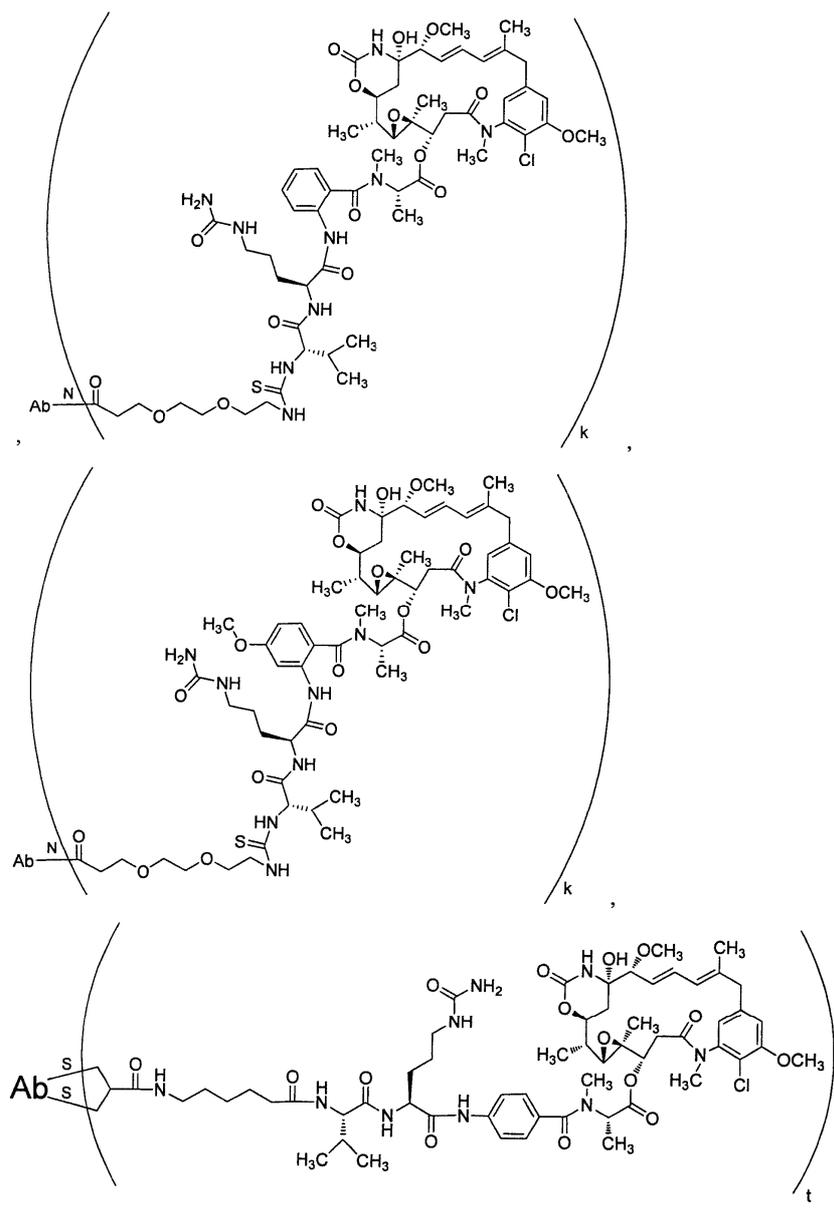


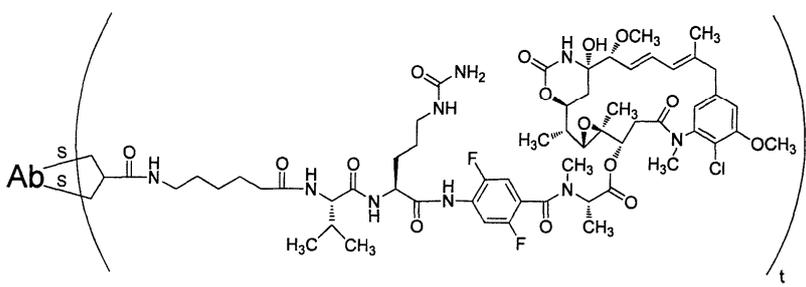
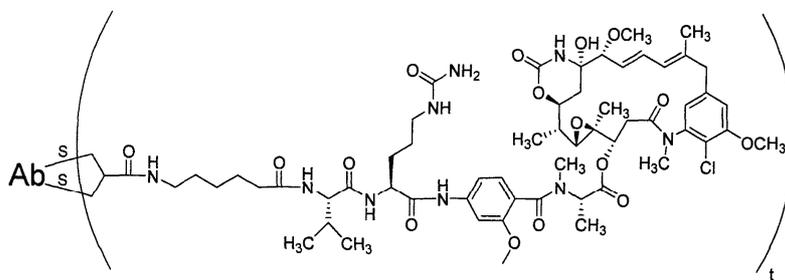
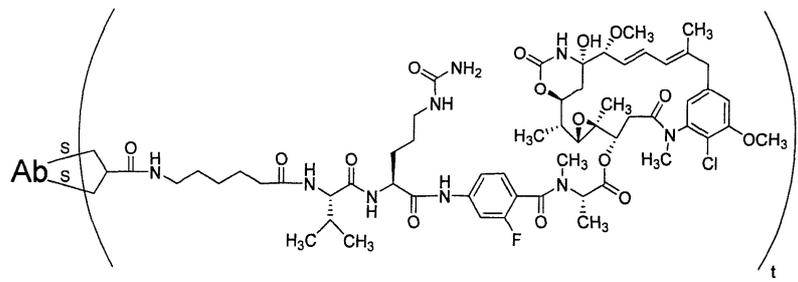
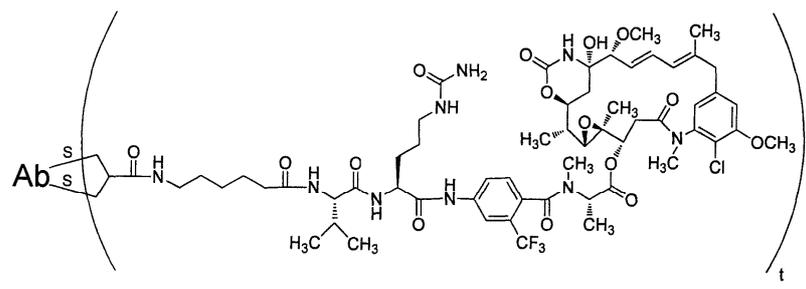


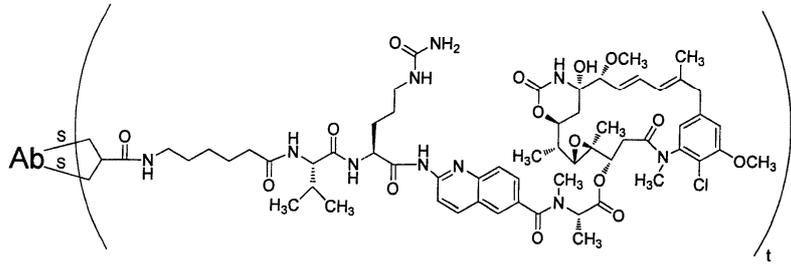
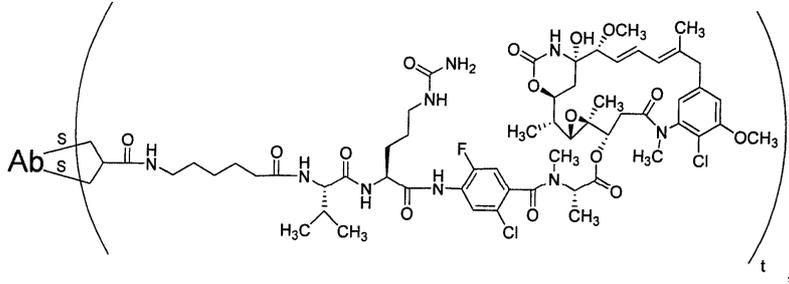
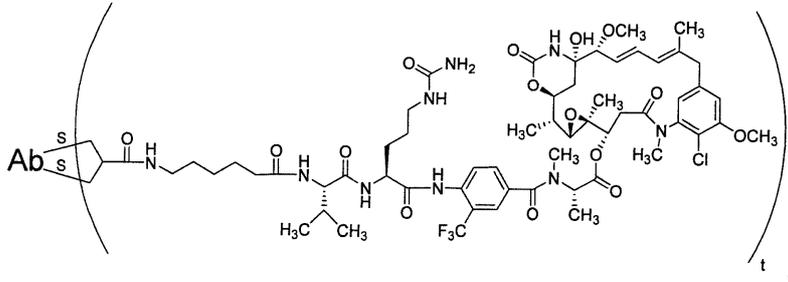
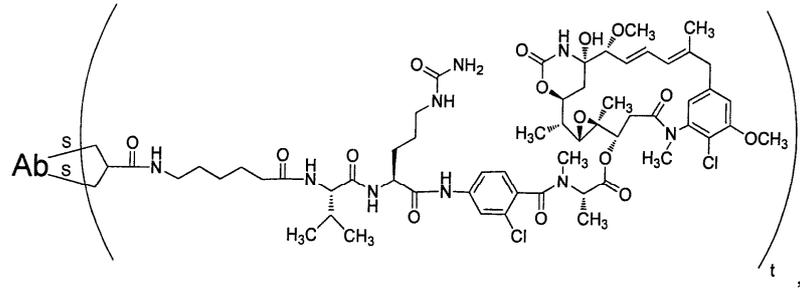


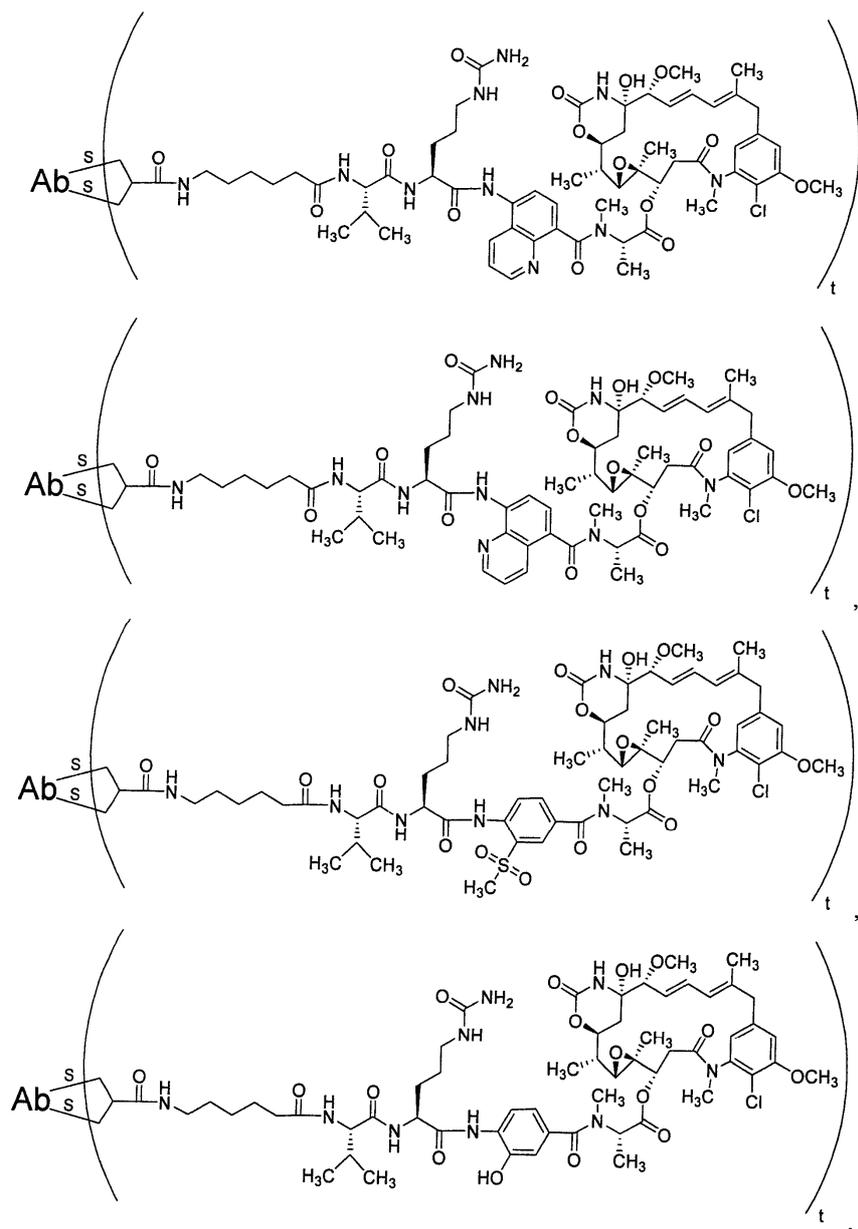


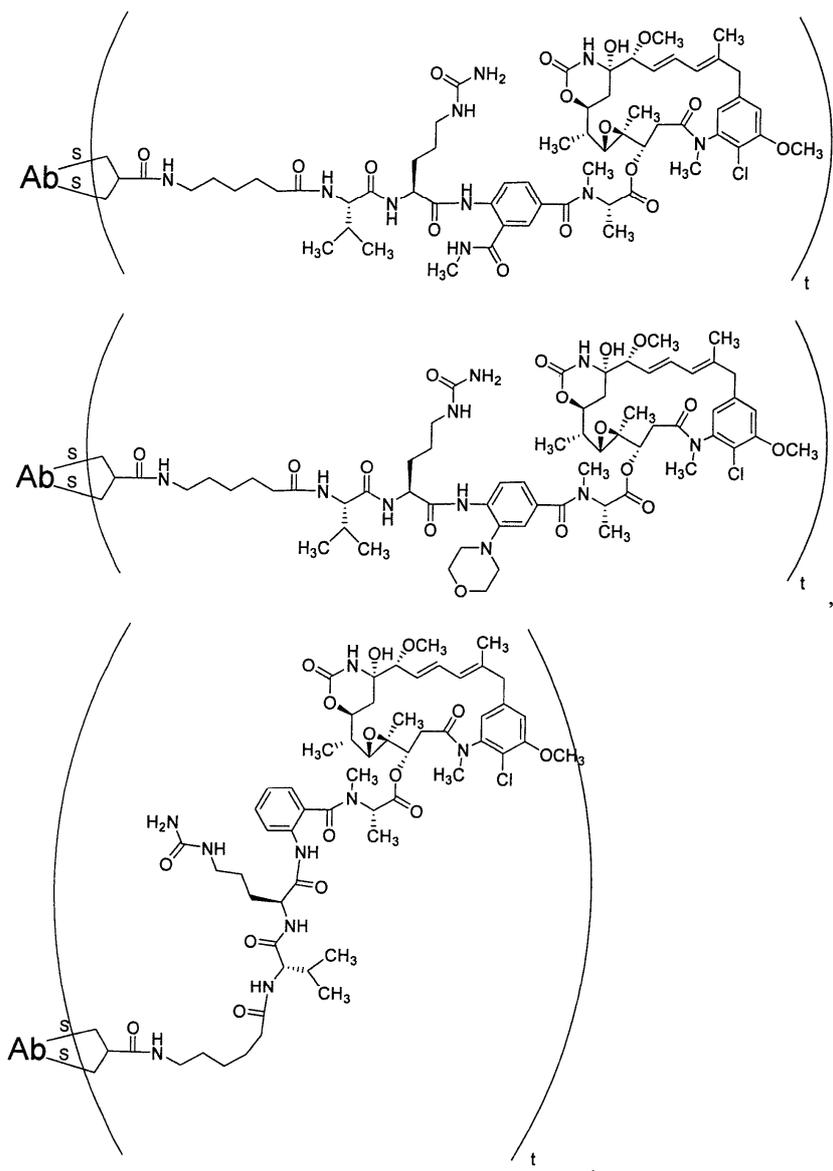


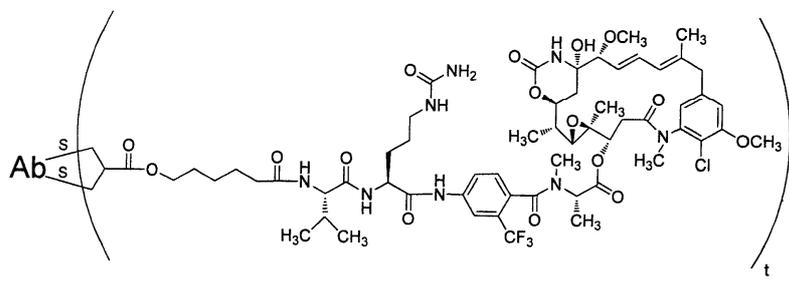
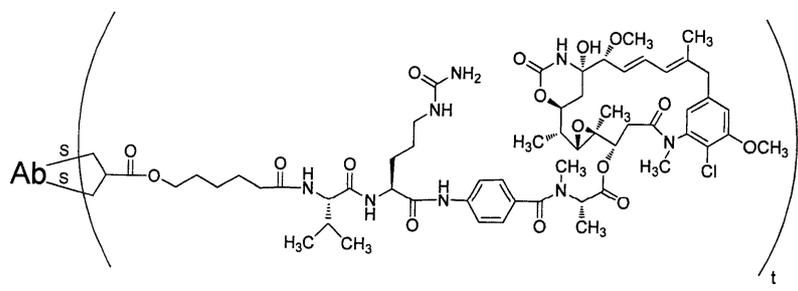
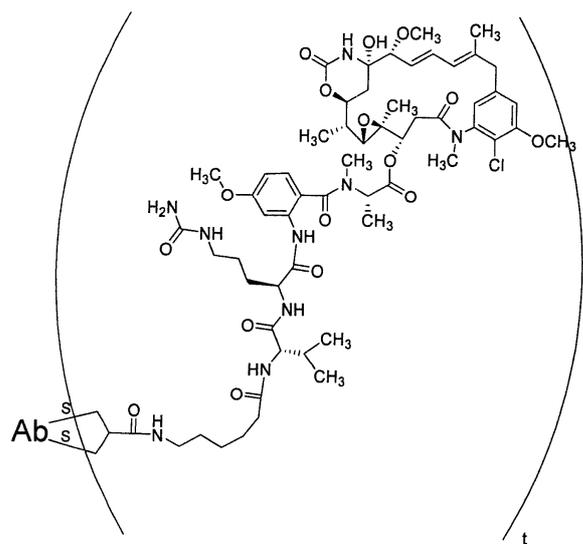


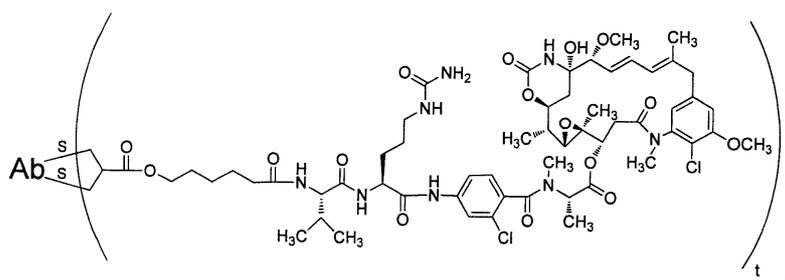
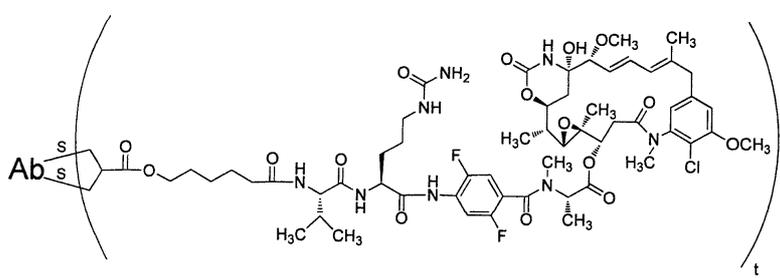
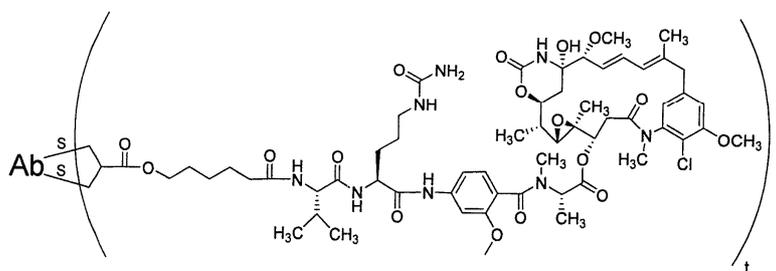
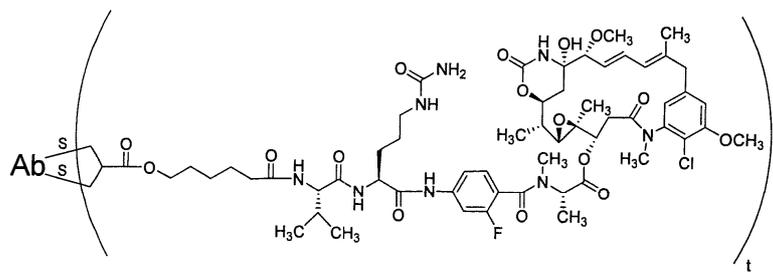


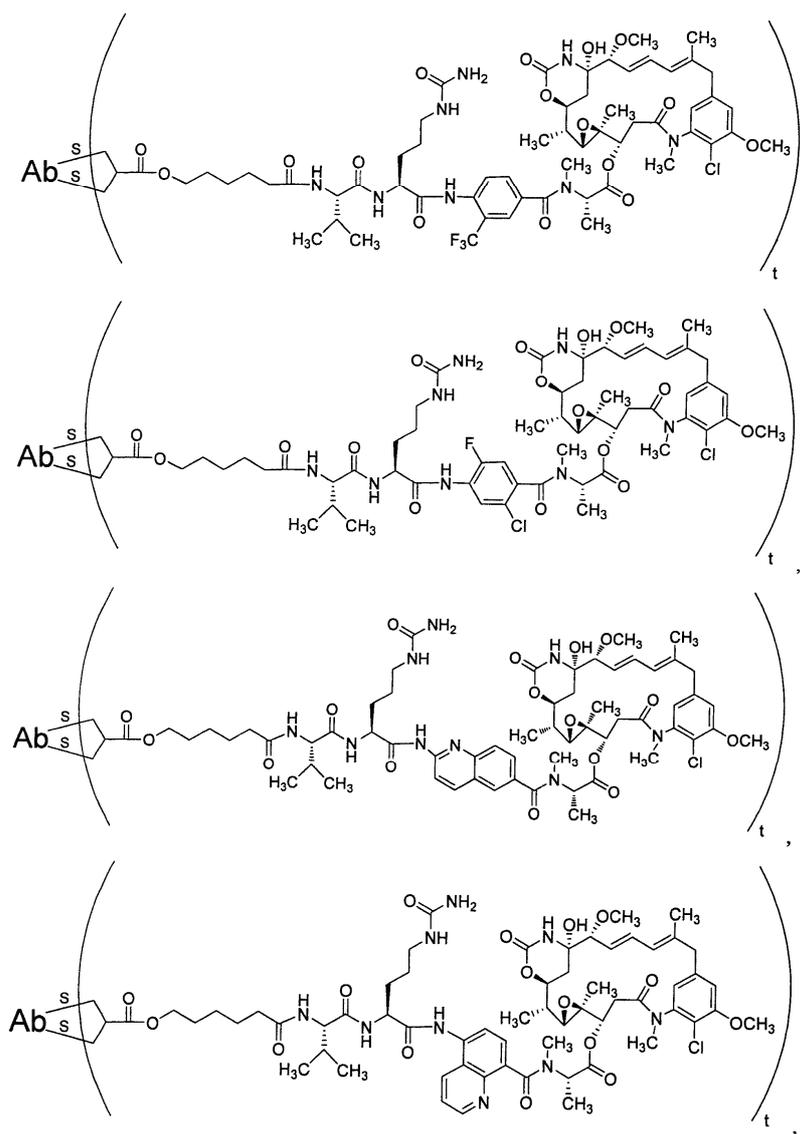


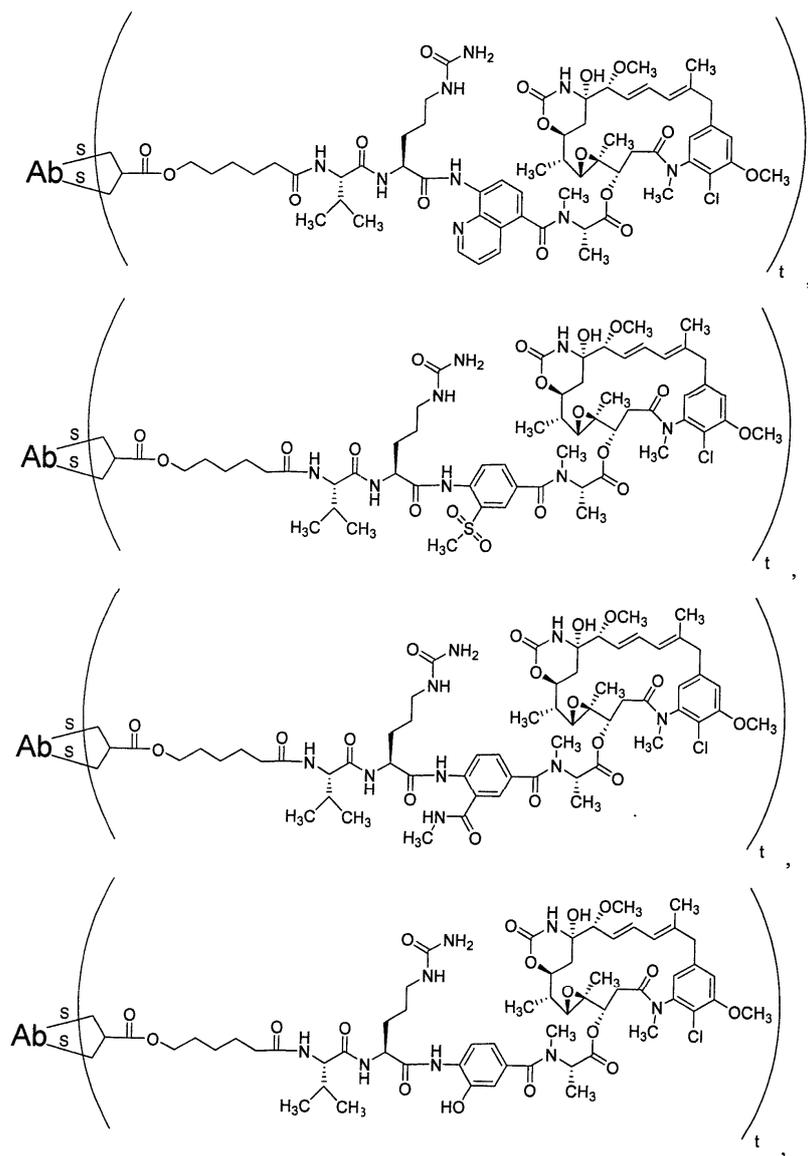




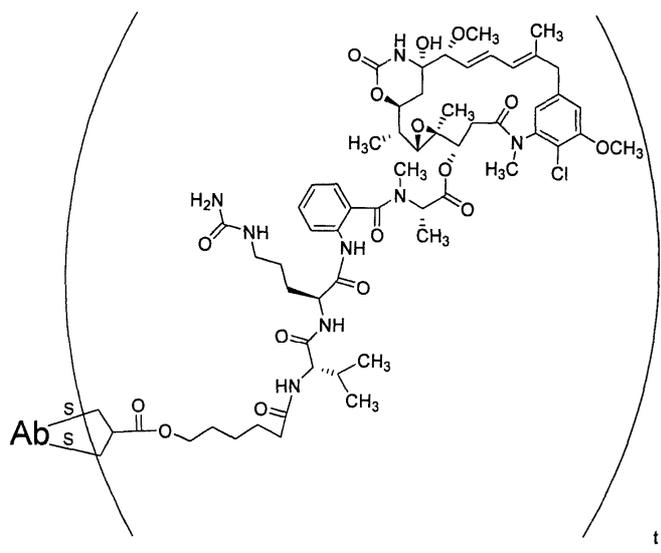
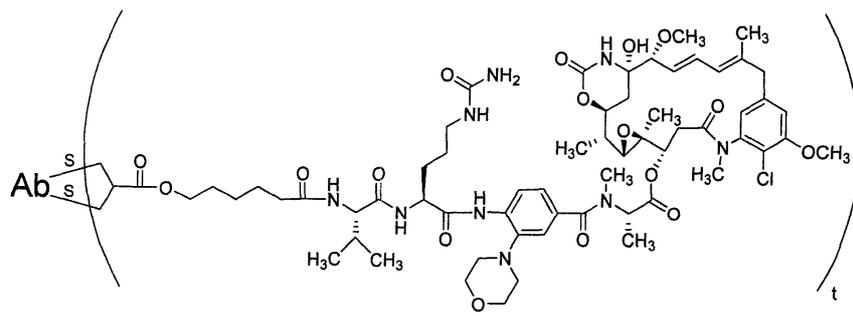


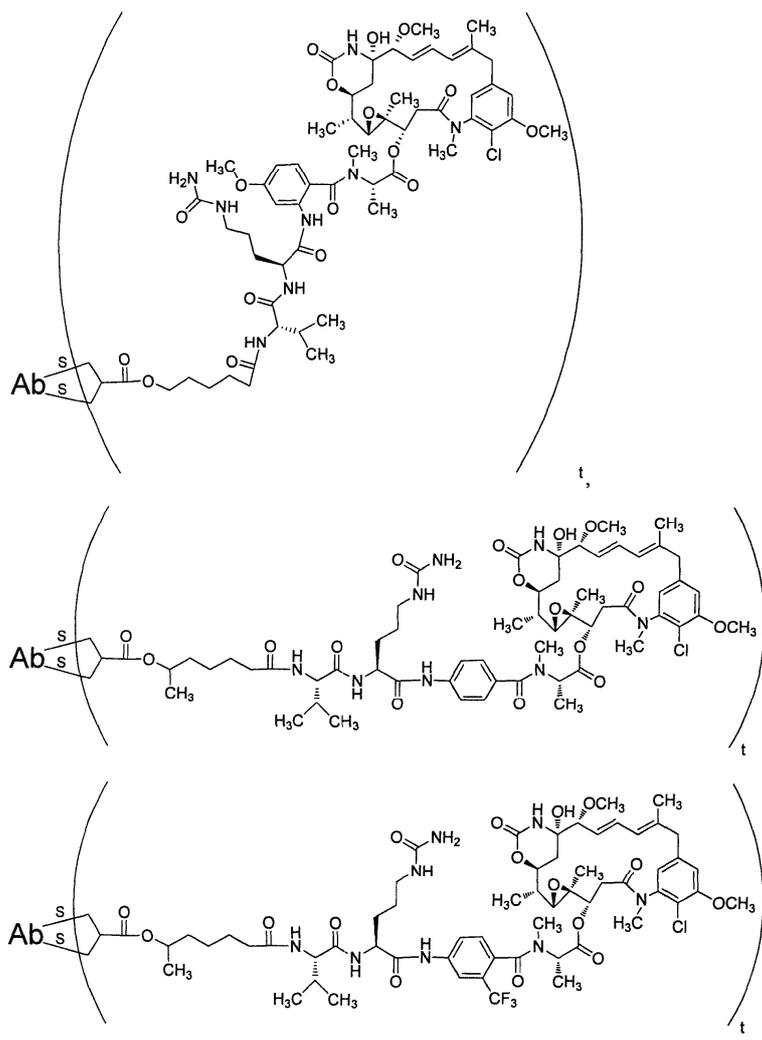


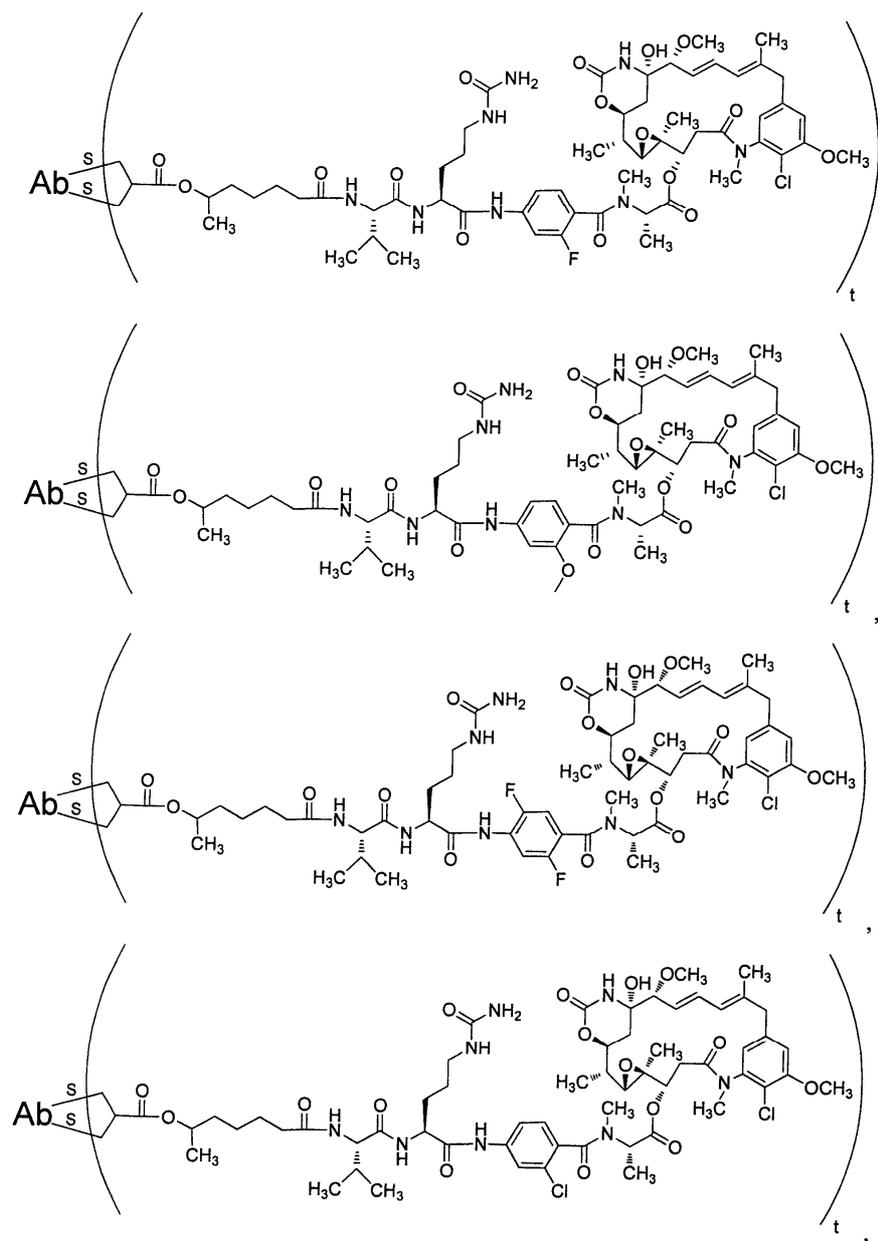


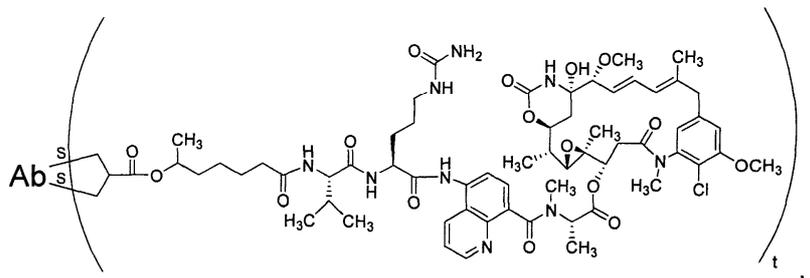
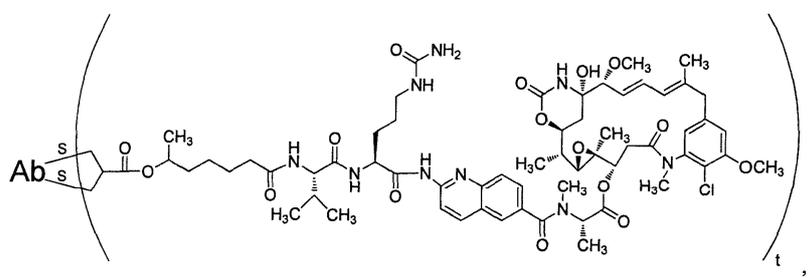
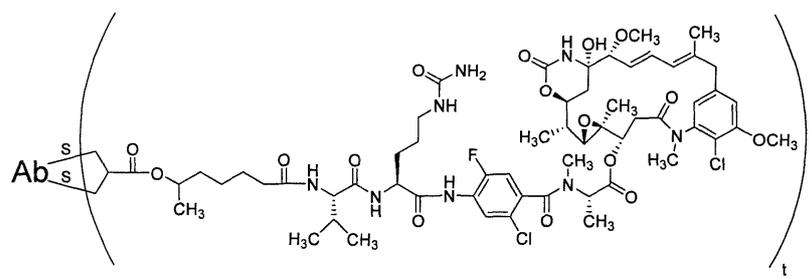
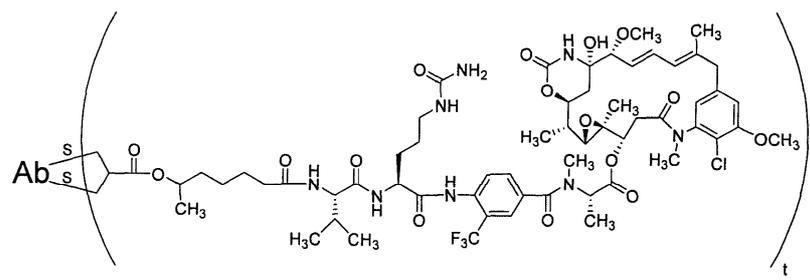


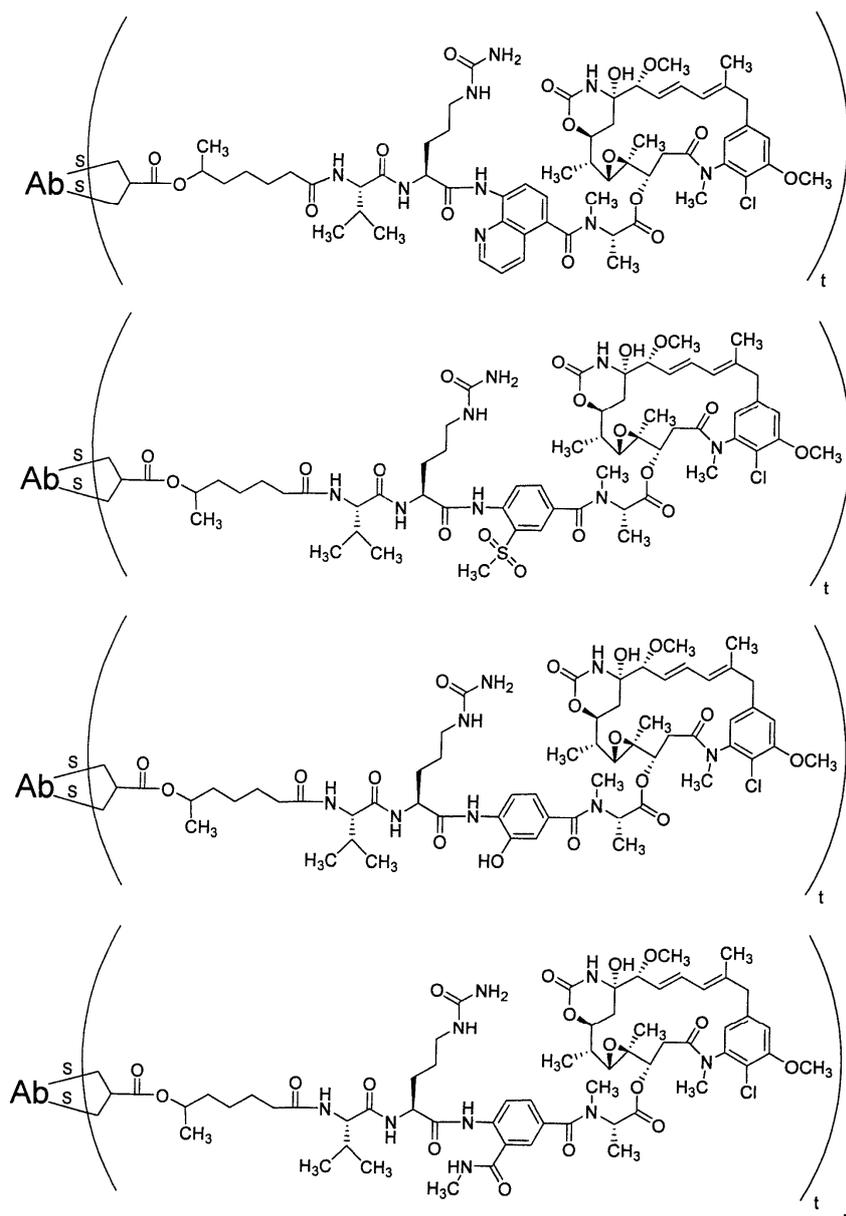
034950



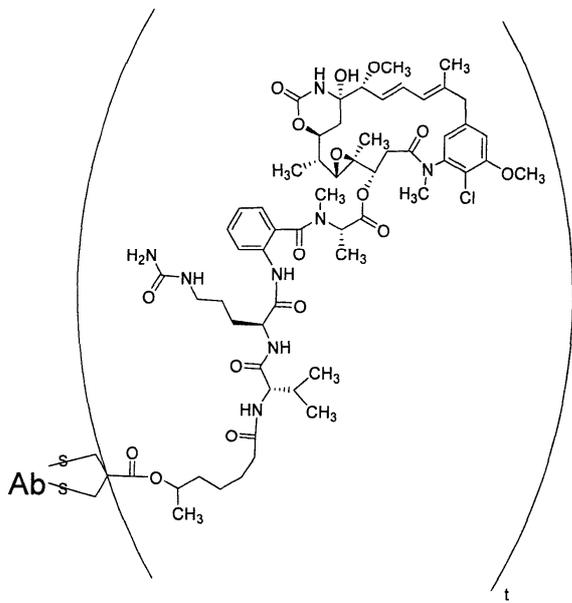
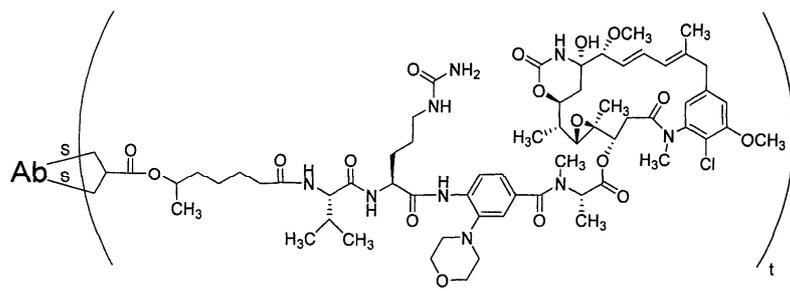


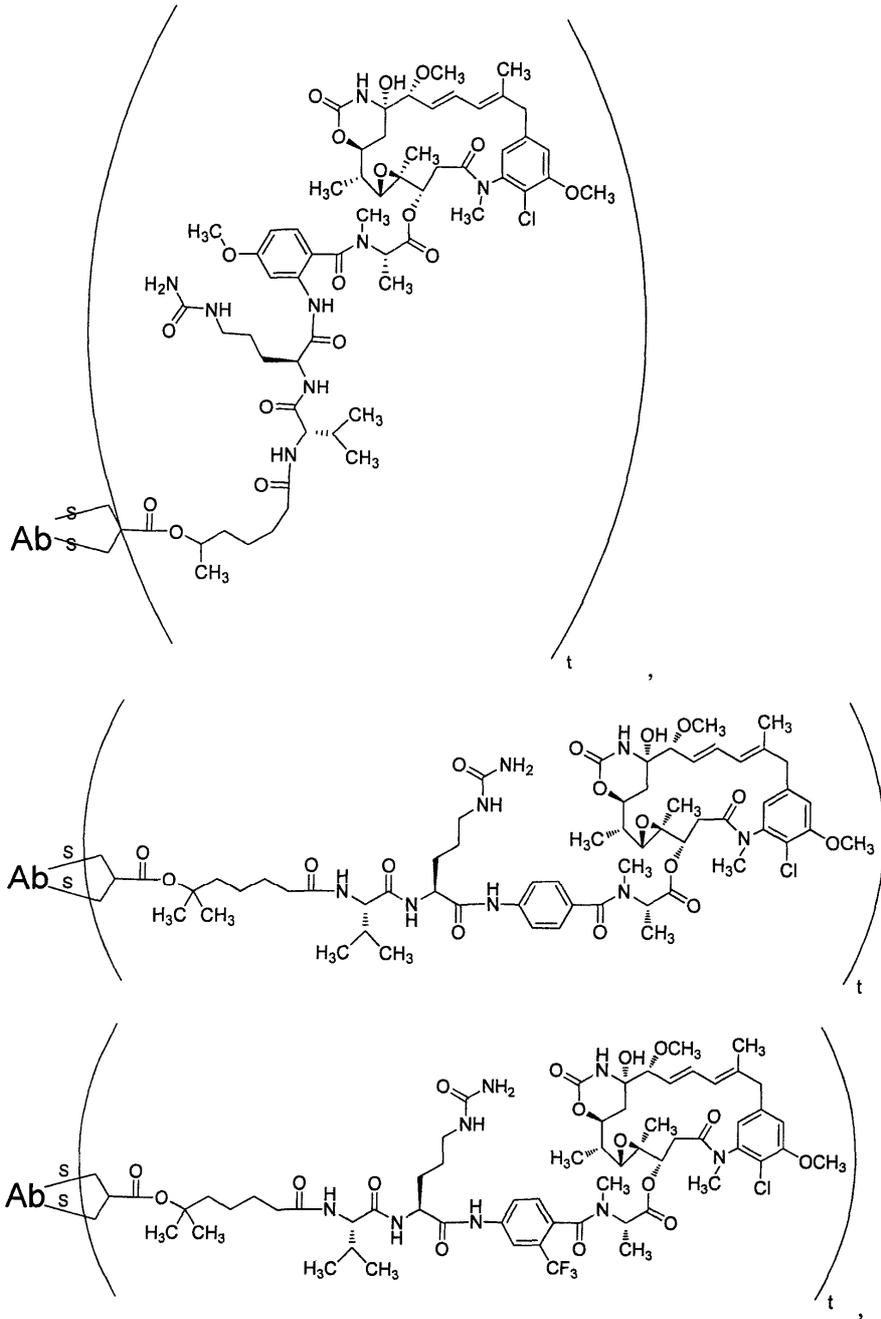


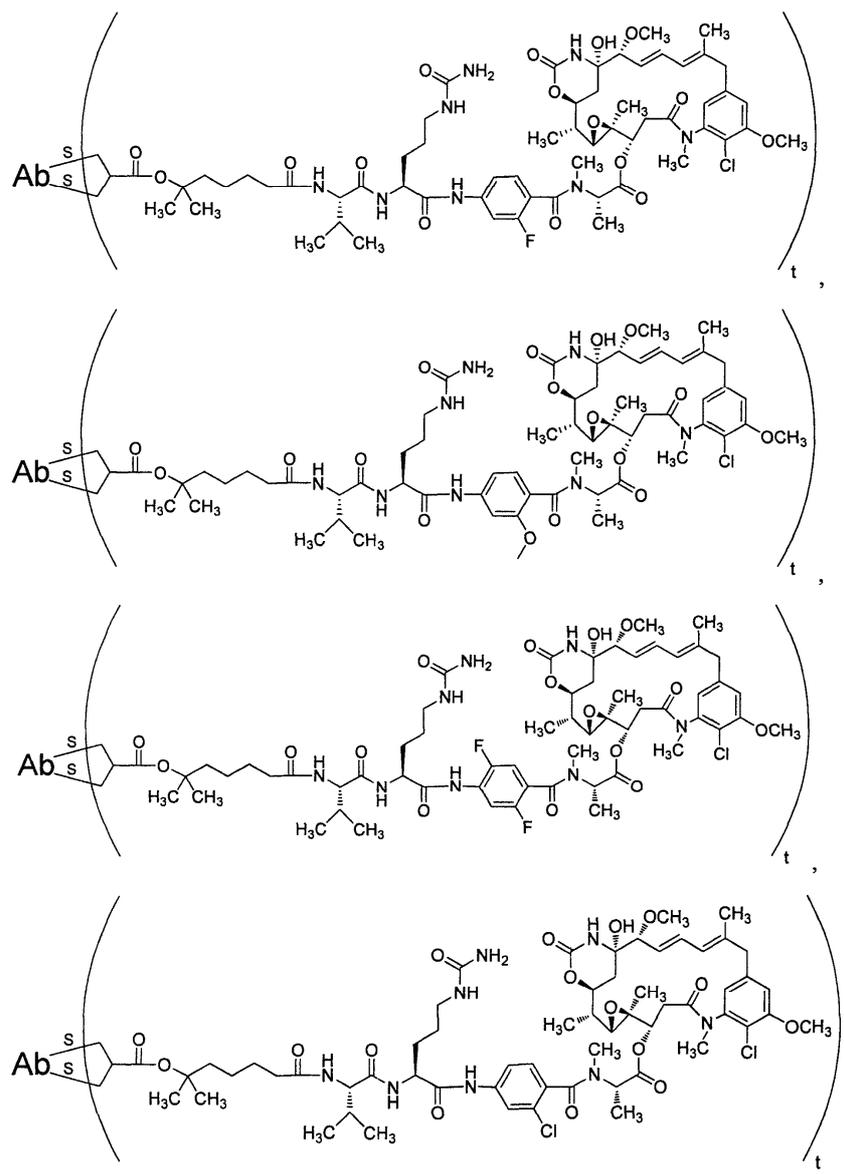


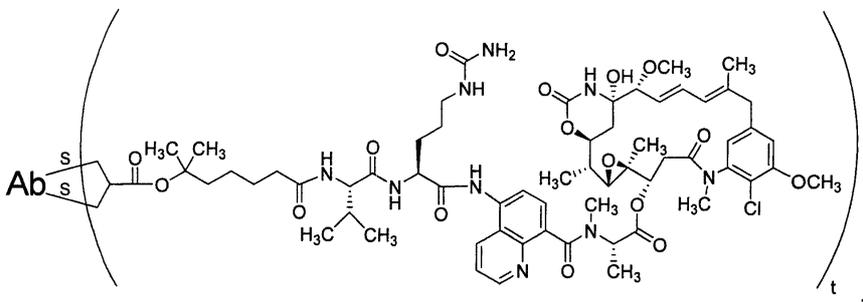
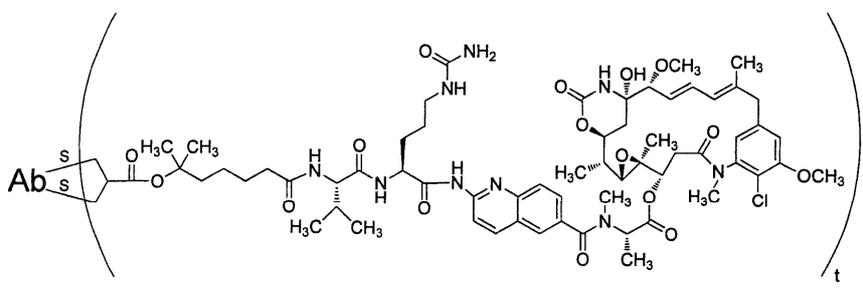
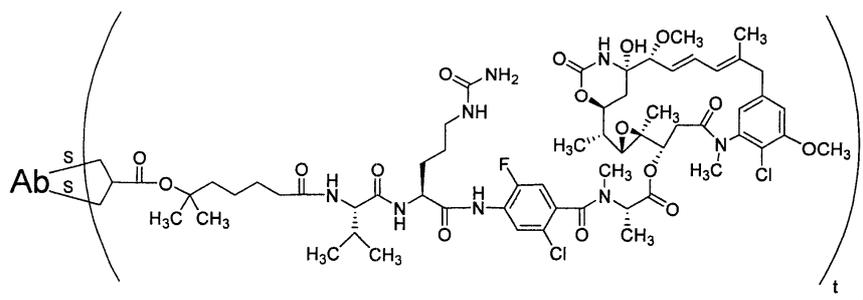
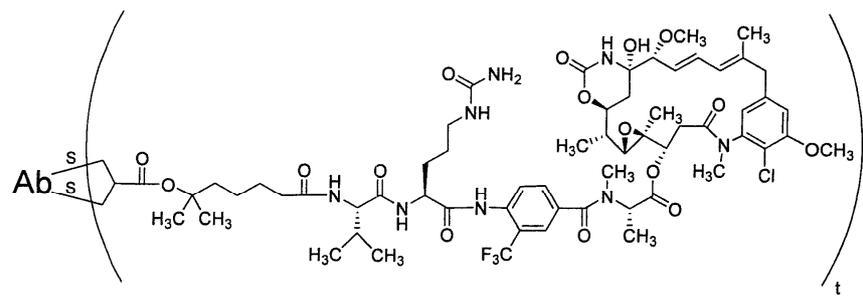


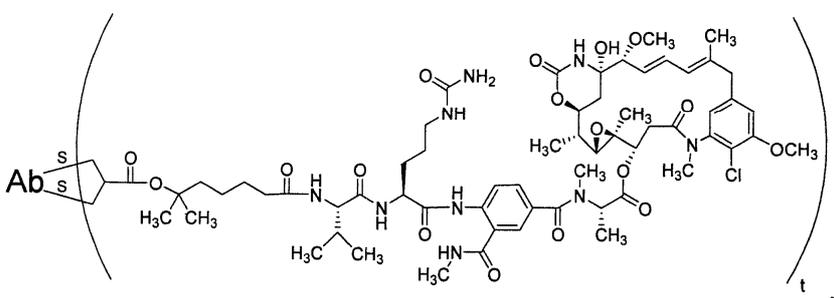
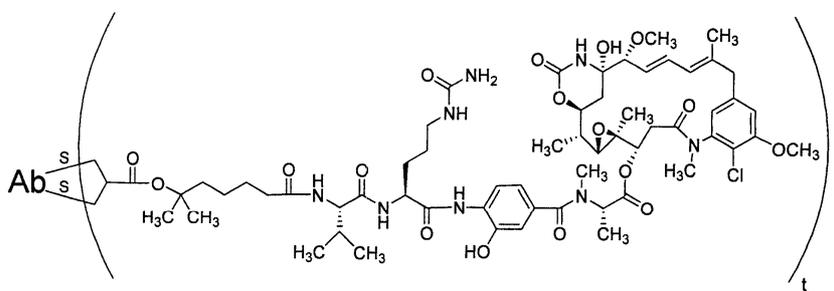
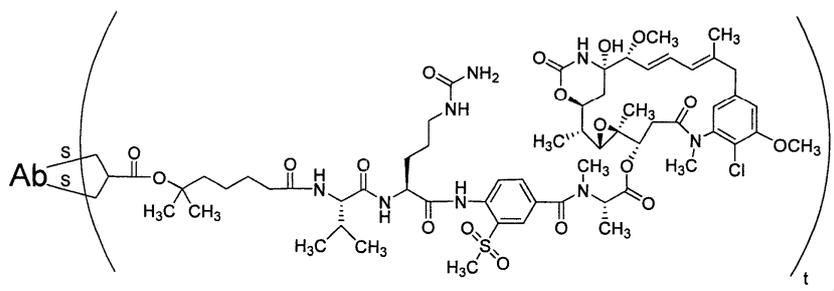
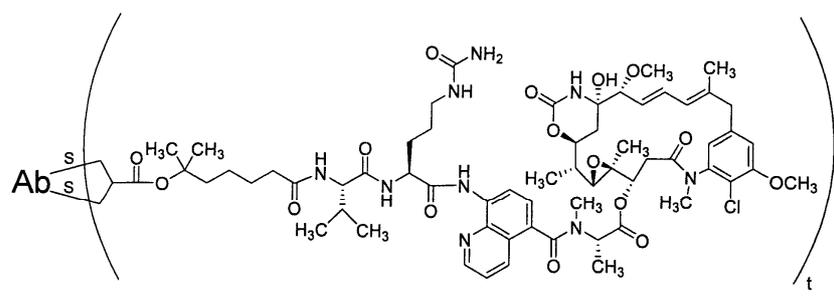
034950

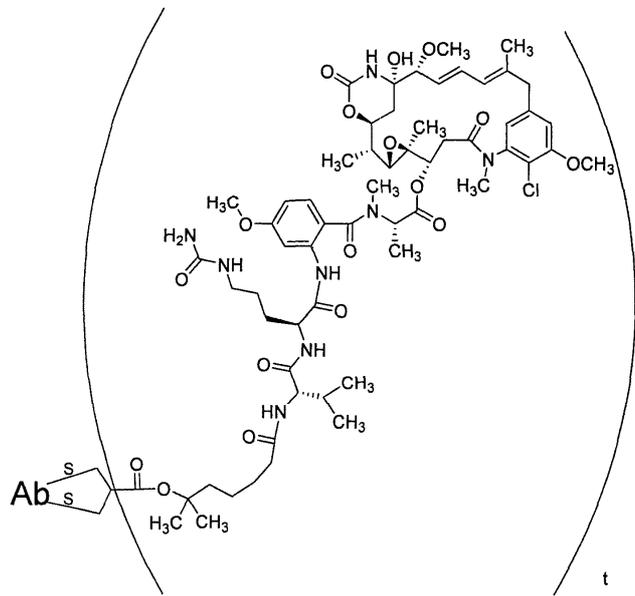
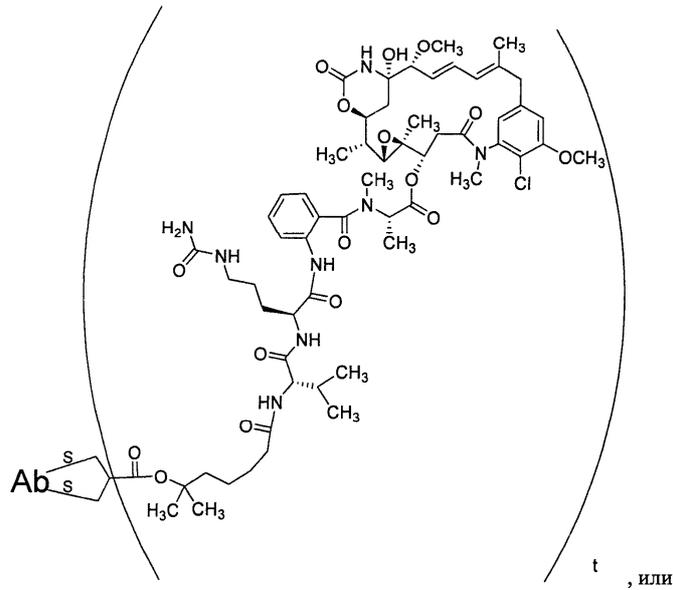
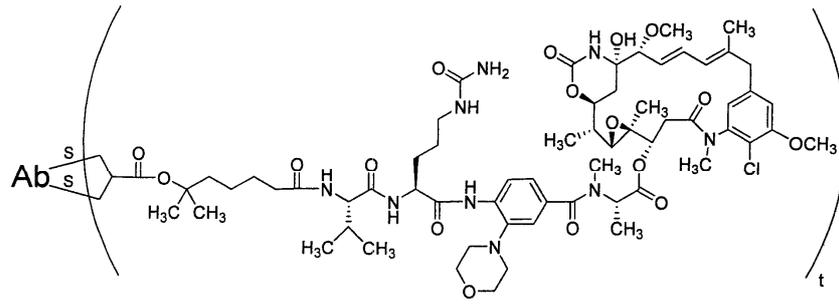












где Ab представляет собой антитело;

S представляет собой связь к цистеину антитела;

N представляет собой связь к лизину антитела;

k является целым числом от 1 до 30 и

t является целым числом от 1 до 8.

В некоторых примерах k является целым числом от 1 до 8.

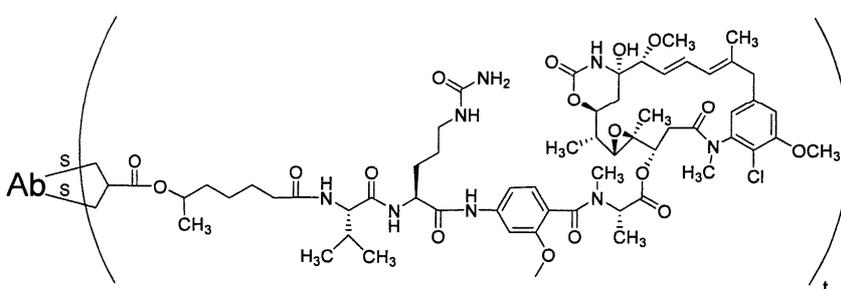
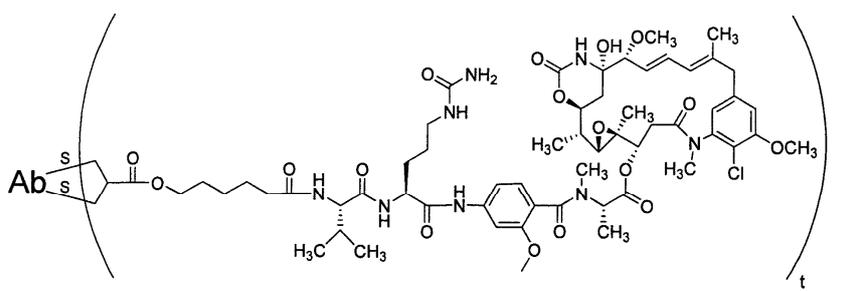
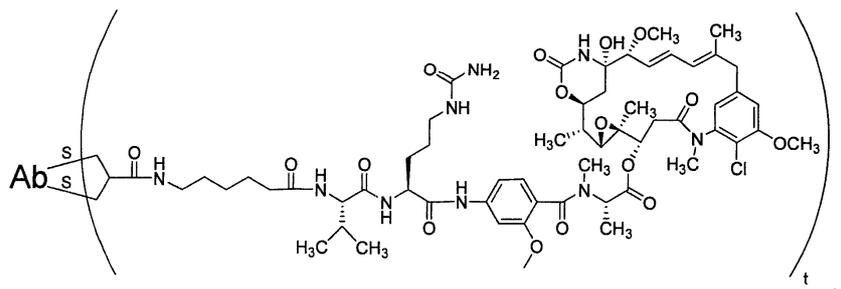
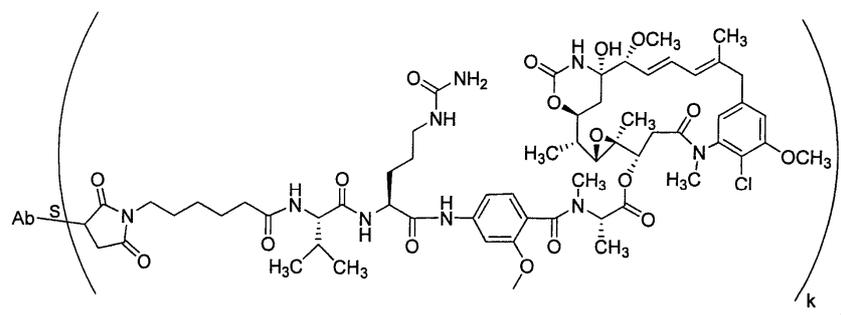
В некоторых примерах t является целым числом от 1 до 4.

В некоторых примерах, когда S представляет собой связь к цистеину антитела, до 8 заявляемых конъюгатов могут крепиться к антителу.

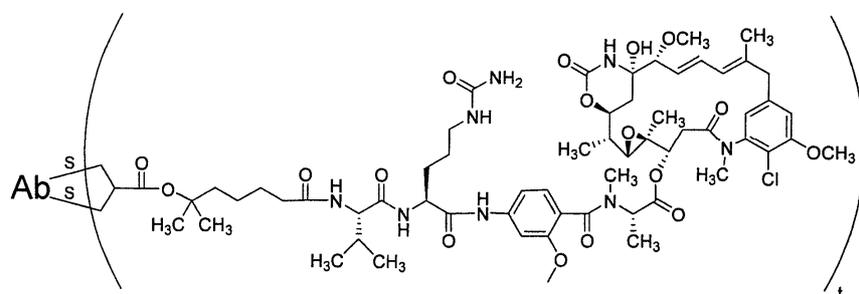
В некоторых примерах, когда N представляет собой связь к лизину антитела, до 30 заявляемых

конъюгатов могут крепиться к антителу.

В некоторых реализациях соединение с формулой (I) представляет собой:



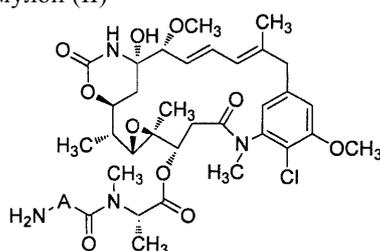
или



В некоторых реализациях  $k$  является целым числом от 1 до 30. В некоторых реализациях  $k$  является целым числом от 1 до 8. В некоторых реализациях  $k$  является целым числом от 1 до 6. В некоторых реализациях  $k$  является целым числом от 1 до 4. В некоторых реализациях  $k$  является целым числом от 1 до 3. В некоторых реализациях пропорция лекарственного средства к антителу (DAR) конъюгата находится в диапазоне от 1,0 до 3,0.

С. Производные майтанзиноида.

Заявляются соединения с формулой (II)



(II)

или их фармацевтически приемлемая соль,

где А представляет собой арилен или гетероарилен.

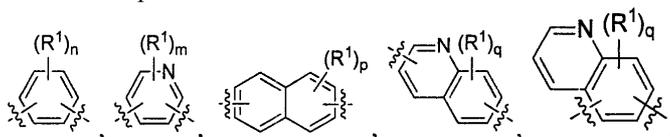
В некоторых реализациях эти соединения представляют собой полезную часть описываемых конъюгатов и высвобождаются, например, ферментативным протеолизом с последующей интернализацией конъюгата в клетку. Заявляемые способы включают способы лечения пролиферативного заболевания, например, рака, заключающиеся в приеме пациентами терапевтически эффективного количества конъюгата, например, конъюгата антительного лекарственного препарата, высвобождающего соединение с формулой (II) с последующей интернализацией упомянутого конъюгата в клетку упомянутого пациента.

В некоторых реализациях эти соединения представляют собой метаболический продукт описываемых конъюгатов, например, продукт ферментативного протеолиза. В некоторых реализациях эти соединения представляют собой катаболический продукт описываемых конъюгатов. В некоторых реализациях эти соединения представляют собой клеточный продукт описываемых конъюгатов.

В некоторых реализациях А представляет собой дивалентный радикал бензола, пиридина, нафталина или квинолона, которые дополнительно замещены.

В некоторых реализациях А представляет собой арилен.

В некоторых реализациях А представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, арил, алка-

рил, аралкил, гало, гетероарил, гетероциклоалкил, гидроксил, циано, нитро,  $-OR^A$ ,  $-SO_2R^A$ ,  $-C(=O)R^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

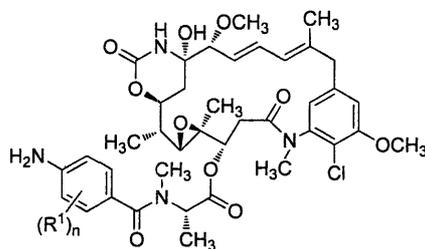
n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5.

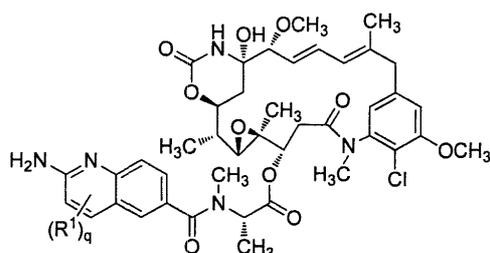
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIA)



(IIA)

где  $R^1$  и n определены выше.

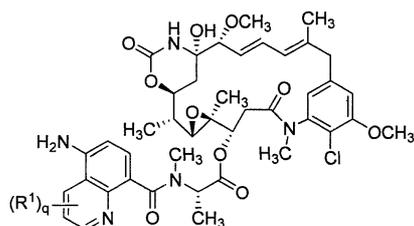
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIB):



(IIb)

где  $R^1$  и  $q$  определены выше.

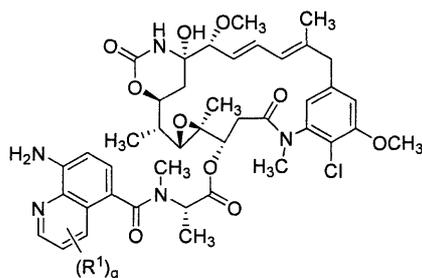
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIb2)



(IIb2)

где  $R^1$  и  $q$  определены выше.

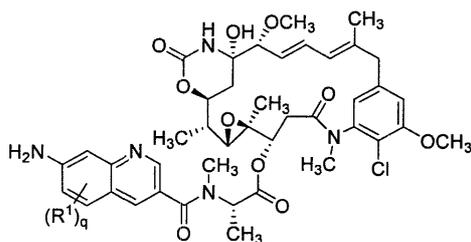
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIb3)



(IIb3)

где  $R^1$  и  $q$  определены выше.

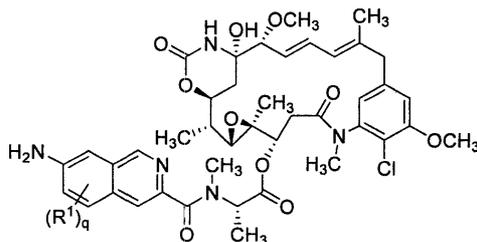
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIc)



(IIc)

где  $R^1$  и  $q$  определены выше.

В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IId)

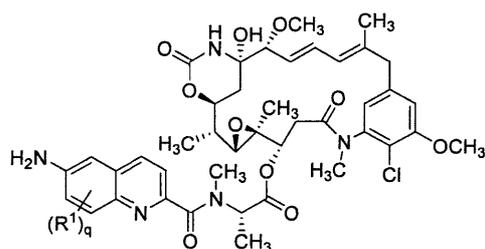


(IId)

где  $R^1$  и  $q$  определены выше.

В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой

(IIЕ)

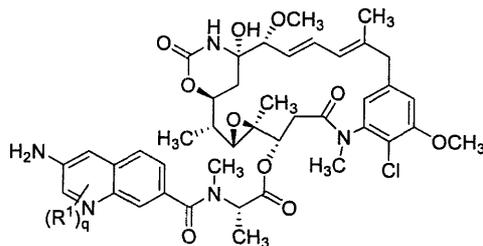


(IIЕ)

где  $R^1$  и  $q$  определены выше.

В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой

(IIF)

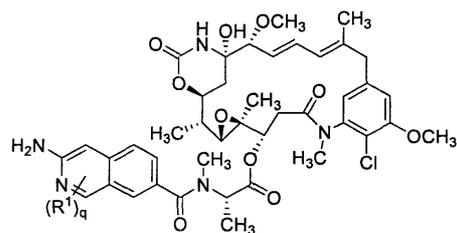


(IIF)

где  $R^1$  и  $q$  определены выше.

В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой

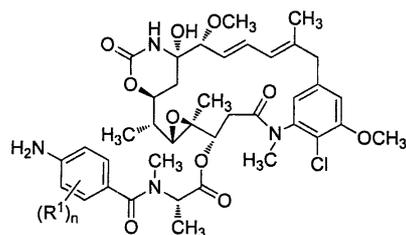
(IIG)



(IIG)

где  $R^1$  и  $q$  определены выше.

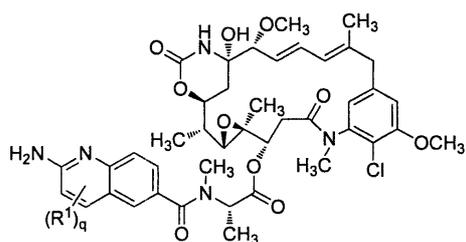
В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой независимо алкил или гало. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой независимо  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ галоалкил или гало. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой независимо  $C_{1-6}$ галоалкил или гало. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой гало. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой фтор, хлор, бром, йод или трифторметил. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0, 1 или 2. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0 или 1. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой алкил, алкокси, гетероалкил, гало, галоалкил или галоалкокси. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{1-6}$ галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси или гало. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой  $C_{1-6}$ алкил или  $C_{1-6}$ алкокси. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой алкокси. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой метокси, этокси, пропокси. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0, 1 или 2. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0 или 1. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0. В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIА)



(IIА)

где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой гало или трифторметил; и  $n$  принимает значения 0, 1 или 2.

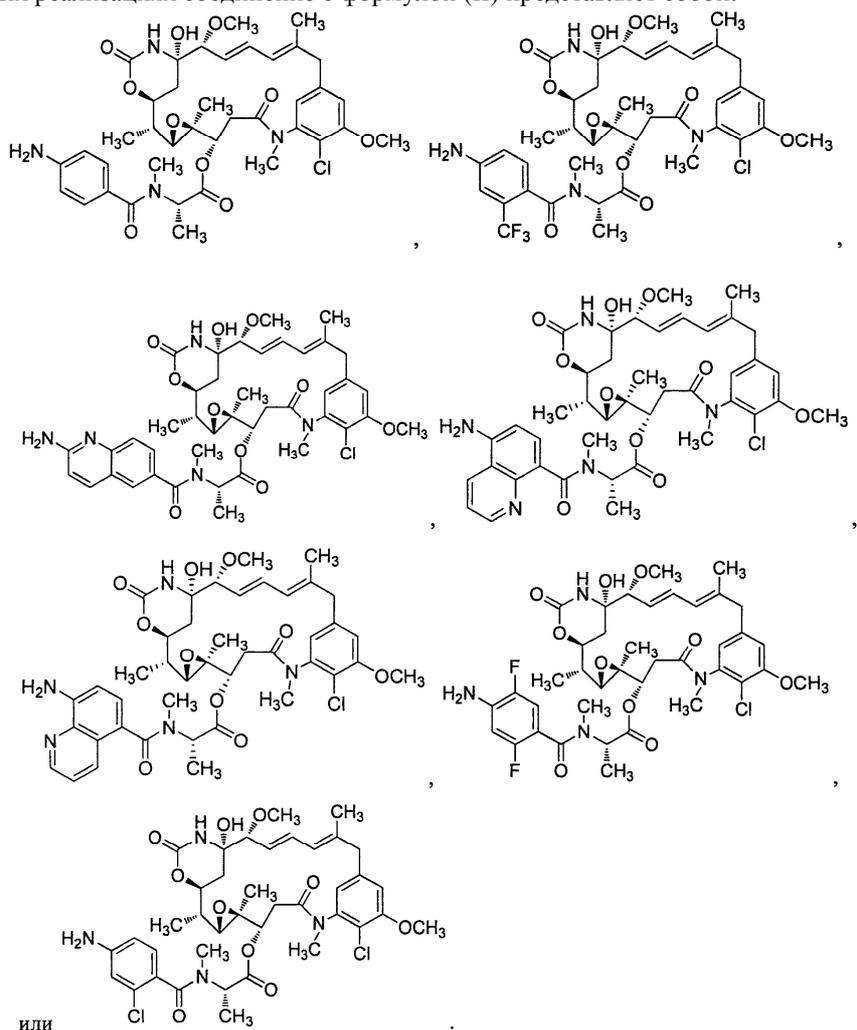
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIB)



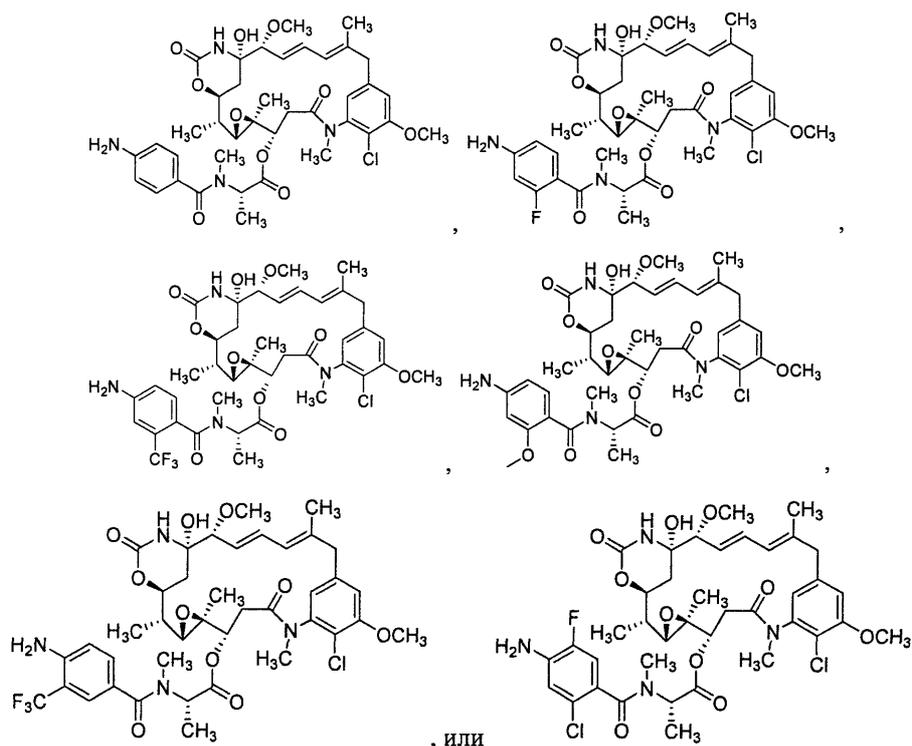
(IIB)

где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой гало или трифторметил; и  $q$  принимает значения 0, 1 или 2.

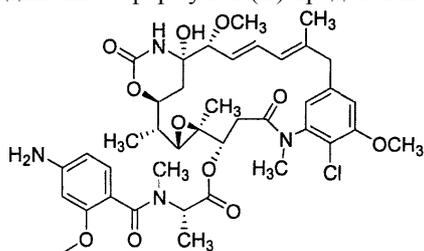
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой:



В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение, выбранное из:



В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой



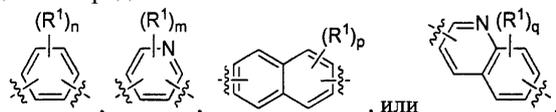
В некоторых реализациях эти соединения представляют собой полезную часть описываемых конъюгатов и высвобождаются, например, ферментативным протеолизом с последующей интернализацией конъюгата в клетку. Заявляемые способы включают способы лечения пролиферативного заболевания, например рака, заключающиеся в приеме пациентами терапевтически эффективного количества конъюгата, например конъюгата антительного лекарственного препарата, высвобождающего соединение с формулой (II) с последующей интернализацией упомянутого конъюгата в клетку упомянутого пациента.

В некоторых реализациях эти соединения представляют собой метаболический продукт описываемых конъюгатов, например продукт ферментативного протеолиза.

В некоторых реализациях А представляет собой дивалентный радикал бензола, пиридина, нафталина или квинолона, которые дополнительно замещены.

В некоторых реализациях А представляет собой арилен.

В некоторых реализациях А представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, гетероарил, гетероциклоалкил, гидроксил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

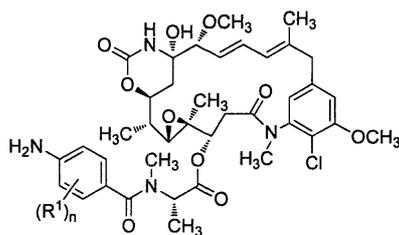
n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5.

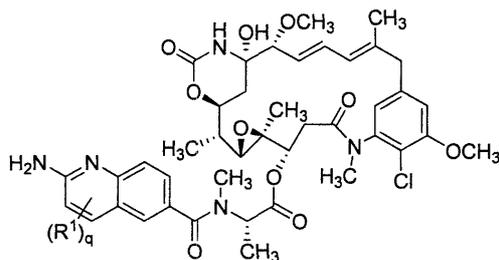
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIA)



(IIA)

где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой метокси, гало или трифторметил и  $n$  принимает значения 0, 1 или 2.

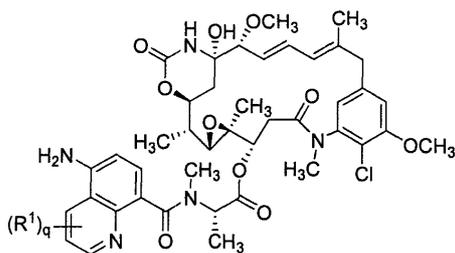
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIB)



(IIB)

где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой метокси, гало или трифторметил и  $q$  принимает значения 0, 1 или 2.

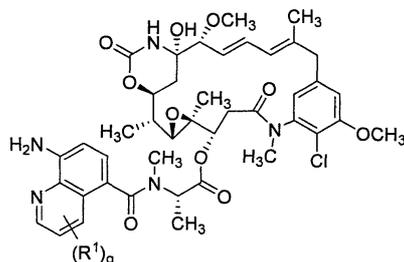
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIB2)



(IIB2)

где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой метокси, гало или трифторметил и  $q$  принимает значения 0, 1 или 2.

В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (IIB3)



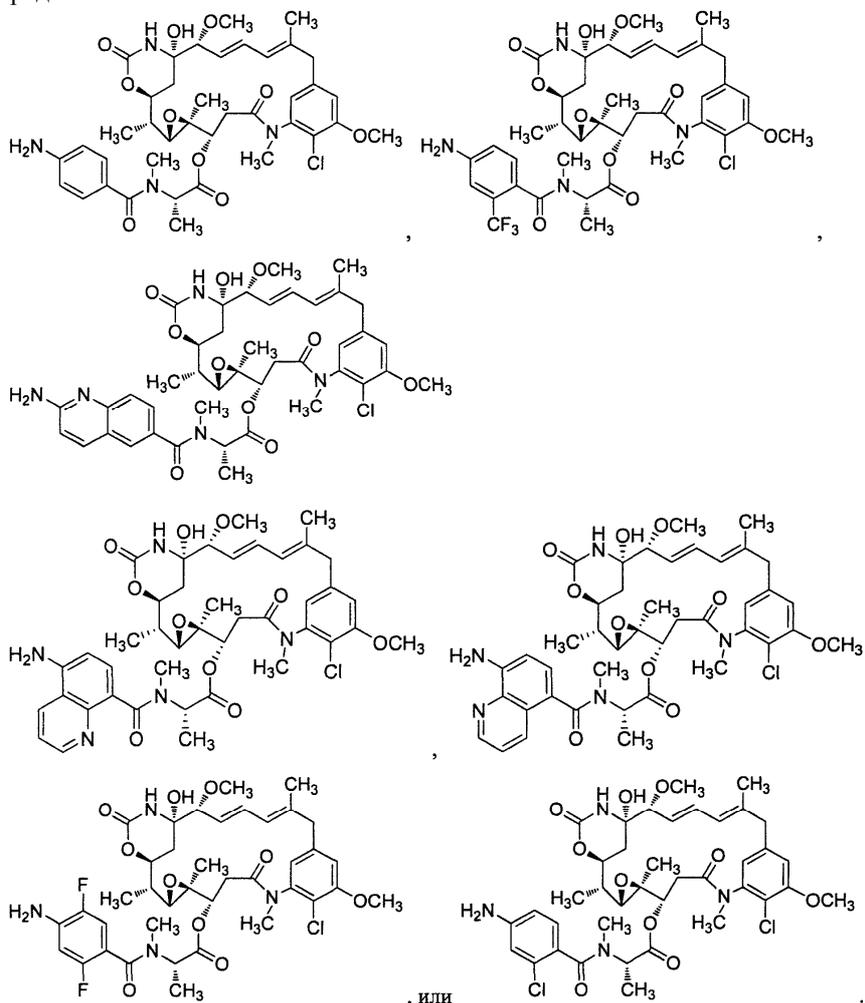
(IIB3)

где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой метокси, гало или трифторметил и  $q$  принимает значения 0, 1 или 2.

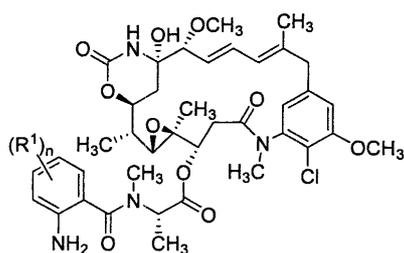
В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой алкил или гало. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой независимо  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ галоалкил или гало. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой независимо  $C_{1-6}$ галоалкил или гало. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой гало. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой фтор, хлор, бром, йод или трифторметил. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0, 1 или 2. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0 или 1. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0.

В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой алкил, алкокси, гетероалкил, гало, галоалкил или галоалкокси. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{1-6}$ галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси или гало. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представ-

ляет собой  $C_{1-6}$ алкил или  $C_{1-6}$ алкокси. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой алкокси. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой метокси, этокси, пропокси. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0, 1 или 2. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0 или 1. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0. В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой:



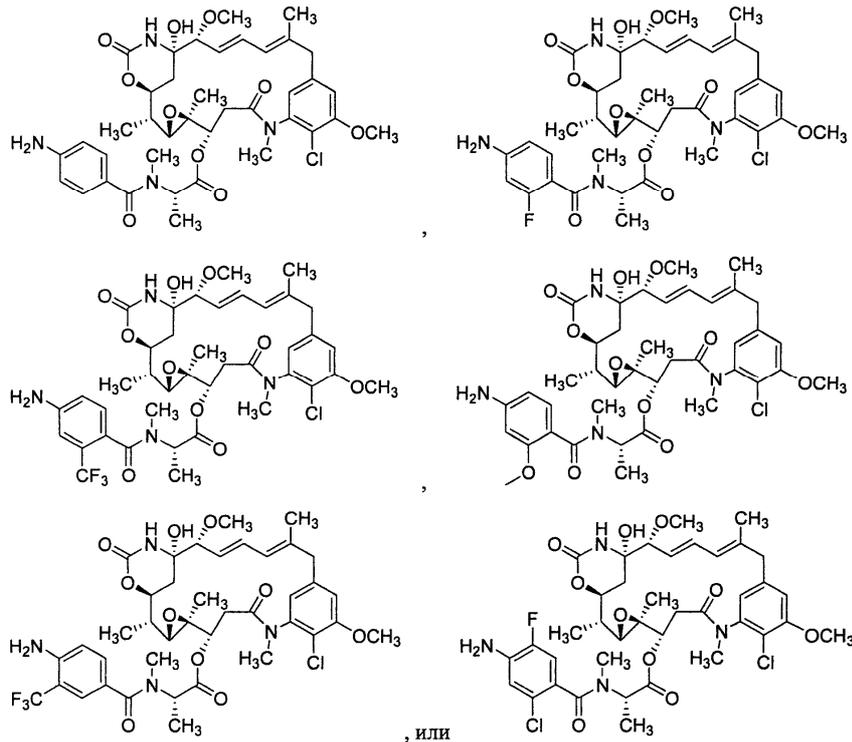
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение с формулой (III)



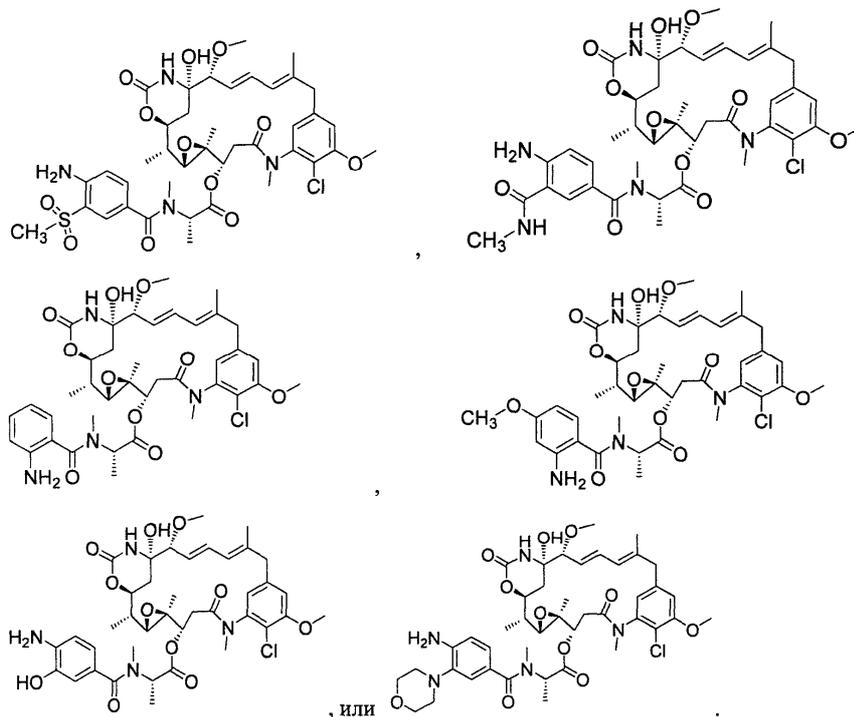
(III)

где  $R^1$  и  $n$  определены выше.

В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение, выбранное из:



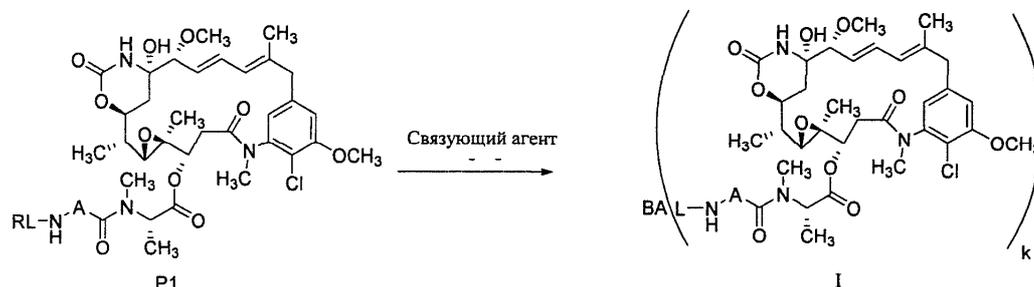
В некоторых реализациях соединение с формулой (II) представляет собой соединение, выбранное из:



#### D. Приготовление соединений.

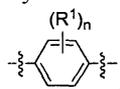
Соединения с формулой (I) могут быть синтезированы сочетанием соединений с формулой P1 и связующего агента, например, антитела в стандартных условиях конъюгации (см., например, Доронина (Doronina) и соавторы, *Nature Biotechnology* 2003, 21, 7, 778, этот источник включен в список литературы настоящего изобретения). Когда связующим агентом является антитело, оно может сочетаться с соединением формулы P1 посредством одного или более цистеиновых или лизиновых остатков антитела. Соединения формулы P1 могут сочетаться с цистеиновыми остатками, например, обработкой антитела восстановителем, например дитиотеритолом, для разрыва дисульфидных связей антитела, очисткой восстановленного антитела, например, гелевой фильтрацией, и последующим реагированием антитела с соединением формулы P1, содержащим реактивные молекулярные фрагменты, например, малеимидную группу. К подходящим растворителям относятся, не ограничиваясь водой, DMA, DMF и DMSO. Соединения

формулы P1, содержащие реактивный молекулярный фрагмент, например, активированный эфир или кислотную галидную группу, могут сочетаться с лизиновыми остатками. К подходящим растворителям относятся, не ограничиваясь водой, DMA, DMF и DMSO. Соединения формулы (I) можно очистить с помощью известных протеиновых технологий, включая, например, эксклюзионную хроматографию, диализ и ультрафильтрацию/диализацию.



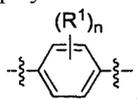
где RL представляет собой реактивный линкер, А представляет собой арилен или гетероарилен, L представляет собой линкер и ВА представляет собой связующий агент.

В некоторых реализациях соединение формулы P1 включает А, где А представляет собой



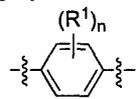
где n принимает значения 0 или 1 и R<sup>1</sup> представляет собой алкокси, гало или галоалкил.

В некоторых реализациях соединение формулы P1 включает А, где А представляет собой

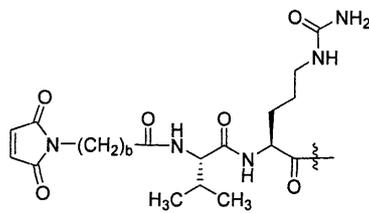


где n принимает значения 0 или 1 и R<sup>1</sup> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкокси, гало или C<sub>1-6</sub>галоалкил.

В некоторых реализациях соединение формулы P1 включает А, где А представляет собой



где n принимает значения 0 или 1; R<sup>1</sup> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкокси, гало, или C<sub>1-6</sub>галоалкил и RL представляет собой

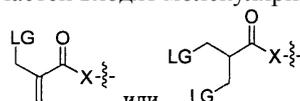


где b является целым числом от 2 до 8 и



представляет собой связь к связующему агенту.

Реактивный линкер представляет собой молекулярный фрагмент, часть структуры которого способна вступать в реакцию со связующим агентом (например, реагировать с антителом на его цистеиновых или лизиновых остатках) с образованием соединения формулы (I). Вслед за конъюгацией к связующему агенту реактивный линкер становится линкерными молекулярными фрагментами (L) соединения формулы (I). К показательным реактивным линкерам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, содержащие галоацетил-, изотиоцианат-, или малеимид-части, способные вступать в реакцию со связующим агентом. В состав реактивных частей входят молекулярные фрагменты следующей структуры:



где X представляет собой -O- или -NH- и LG представляет собой замещаемую группу, например Br. В некоторых реализациях соединение представляет собой



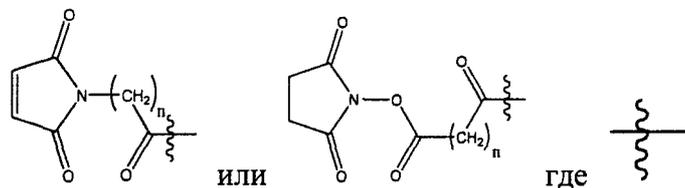
где SP<sup>R</sup> представляет собой реактивный спейсер;

AA<sup>1</sup> представляет собой аминокислоту и

AA<sup>2</sup> представляет собой аминокислоту.

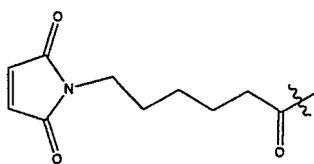
Реактивный спейсер представляет собой молекулярный фрагмент, содержащий описанную выше часть реактивного линкера, способную реагировать со связующим агентом и соединить эту часть с АА<sup>1</sup>. К подходящим спейсерам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, содержащие алкилен или полиэтиленгликоль, соединяющие АА<sup>1</sup> с частью, способной реагировать со связующим агентом (например, галоацетил, изотиоцианат или малеимид).

В некоторых реализациях реактивный спейсер содержит неразрываемый молекулярный фрагмент, выбранный из

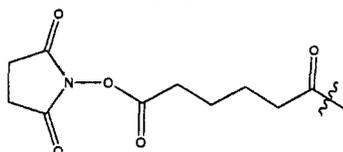


представляет одну или более связей с майтанзиноидной производной; и где  $n$  является целым числом от 4 до 10.

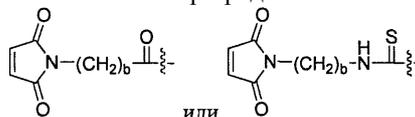
В некоторых примерах  $n$  принимает значения 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых реализациях реактивный спейсер представляет собой



В некоторых реализациях реактивный спейсер представляет собой

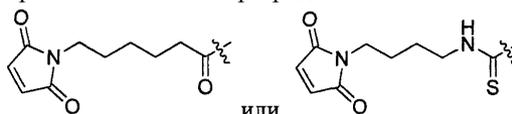


В некоторых реализациях реактивный спейсер представляет собой

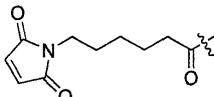


где  $b$  является целым числом от 2 до 8.

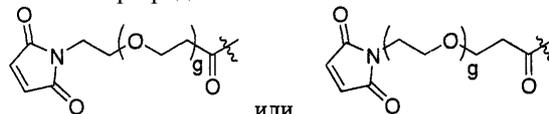
В некоторых реализациях реактивный спейсер представляет собой



В некоторых реализациях спейсер представляет собой

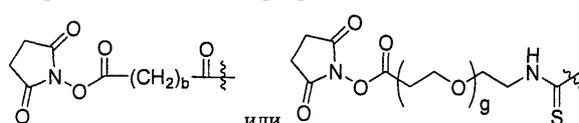


В некоторых реализациях спейсер представляет собой



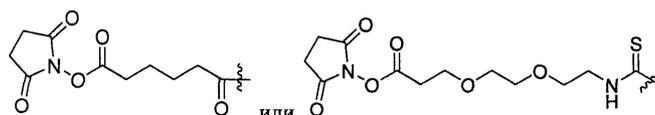
где  $g$  является целым числом от 1 до 24.

В некоторых реализациях реактивный спейсер представляет собой

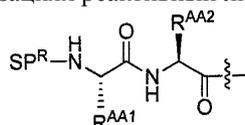


где  $b$  является целым числом от 2 до 8 и  $g$  является целым числом от 2 до 20.

В некоторых реализациях реактивный спейсер представляет собой



В некоторых реализациях  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин, цитруллин-валин, лизин-фенилаланин, фенилаланин-лизин, валин-аспарагин, аспарагин-валин, треонин-аспарагин, аспарагин-треонин, серин-аспарагин, аспарагин-серин, фенилаланин-аспарагин, аспарагин-фенилаланин, лейцин-аспарагин, аспарагин-лейцин, изолейцин-аспарагин, аспарагин-изолейцин, глицин-аспарагин, аспарагин-глицин, глутаминовая кислота-аспарагин, аспарагин-глутаминовая кислота, цитруллин-аспарагин, аспарагин-цитруллин, аланин-аспарагин или аспарагин-аланин. В некоторых реализациях  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин или цитруллин-валин. В некоторых реализациях  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин. В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой

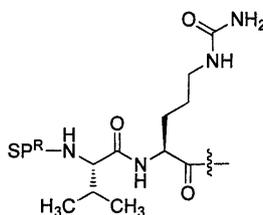


где  $SP^R$  представляет собой реактивный спейсер;

$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

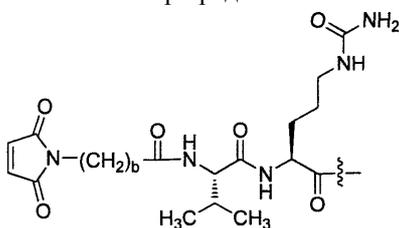
$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



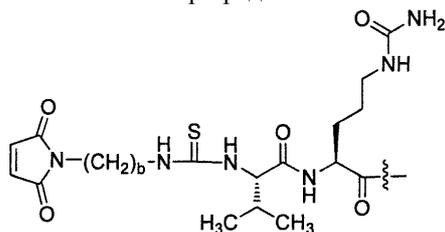
где SP представляет собой реактивный спейсер.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



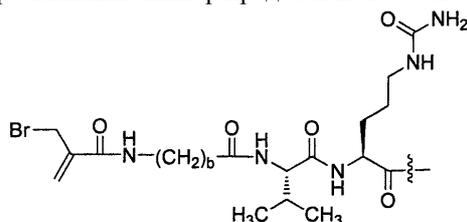
где  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



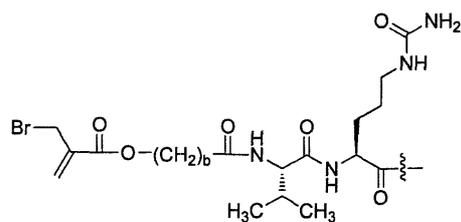
где  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



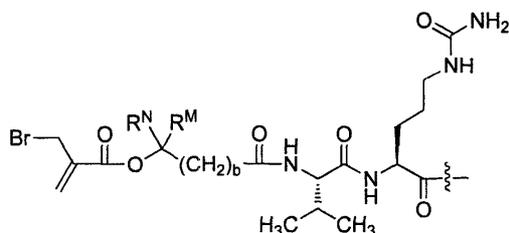
где  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



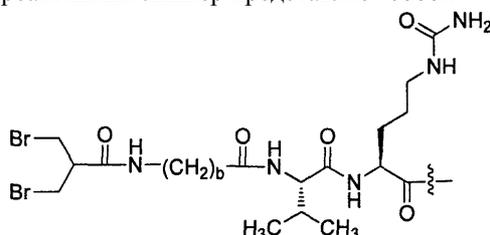
где  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



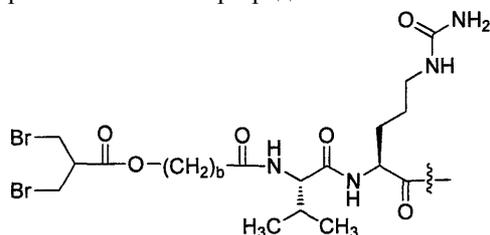
где  $b$  является целым числом от 2 до 8,  $R^N$  представляет собой атом водорода или алкил и  $R^M$  представляет собой алкил.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



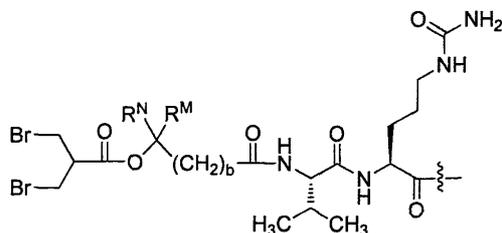
где  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



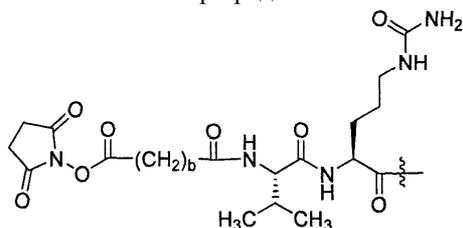
где  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



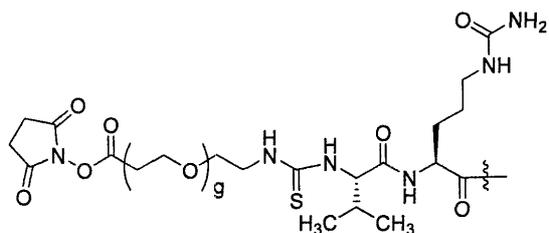
где  $b$  является целым числом от 2 до 8;  $R^N$  представляет собой атом водорода или алкил и  $R^M$  представляет собой алкил.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



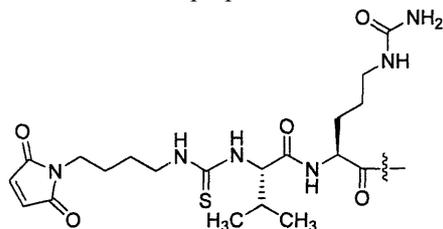
где  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой

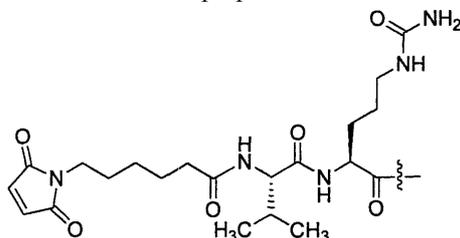


где  $g$  является целым числом от 2 до 8.

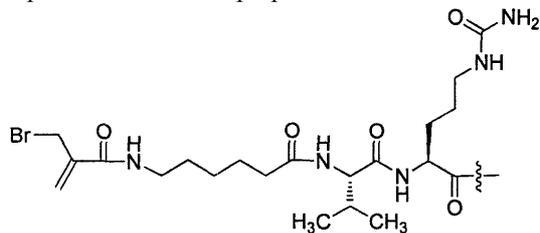
В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



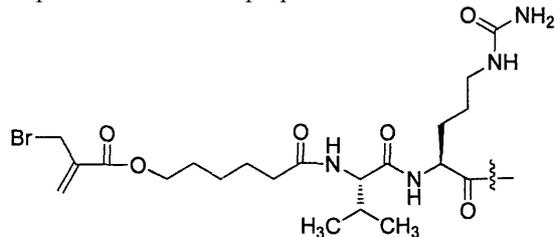
В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



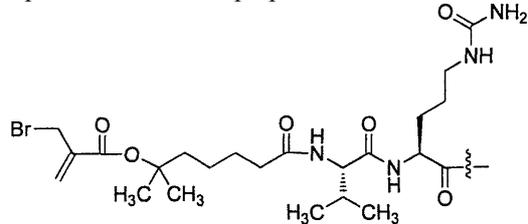
В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



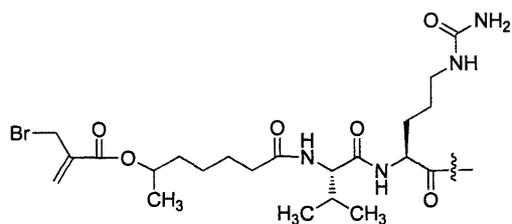
В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



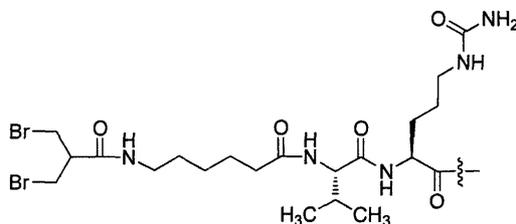
В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



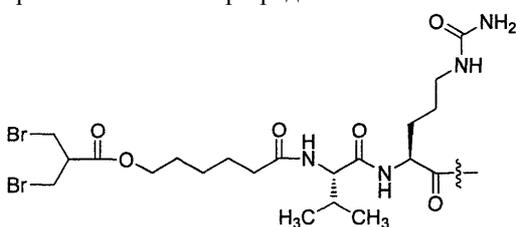
В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



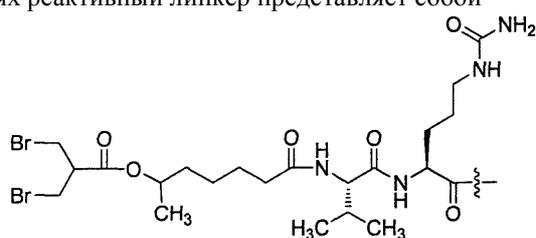
В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



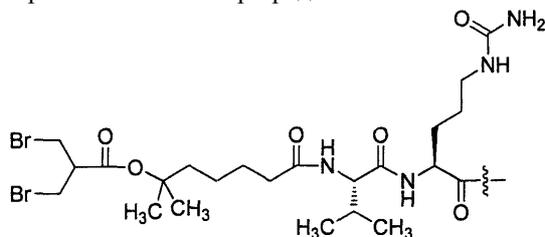
В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



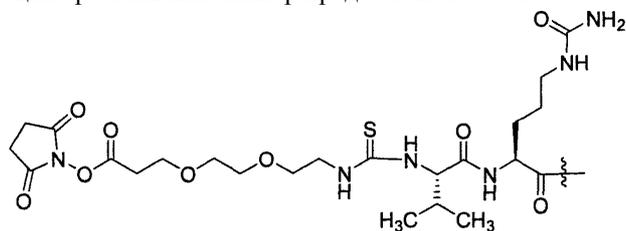
В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



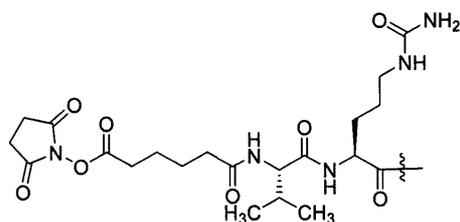
В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой

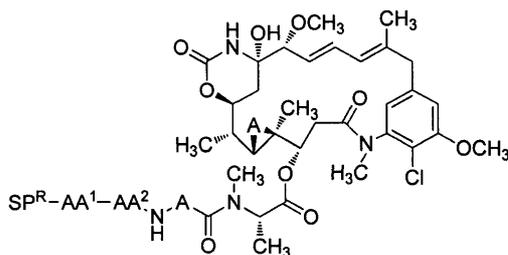


В некоторых реализациях реактивный линкер представляет собой



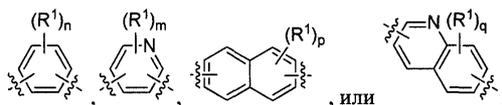
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой

P1A



P1A

где А представляет собой:



где R<sup>1</sup> представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероциклоалкил, гидроксил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где R<sup>A</sup> представляет собой алкил или гетероалкил;

n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

p является целым числом от 0 до 6;

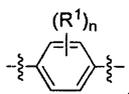
q является целым числом от 0 до 5;

SP<sup>R</sup> представляет собой реактивный спейсер;

AA<sup>1</sup> представляет собой аминокислоту и

AA<sup>2</sup> представляет собой аминокислоту.

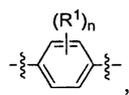
В некоторых реализациях соединение с формулой P1A представляет собой соединение, содержащее А, где А представляет собой



где n принимает значения 0 или 1 и R<sup>1</sup> представляет собой алкокси, гало или галоалкил.

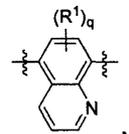
В некоторых примерах R<sup>1</sup> представляет собой метилсульфонил, N-метилформамид, гидроксил или морфолинил.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1A представляет собой соединение, содержащее А, где А представляет собой



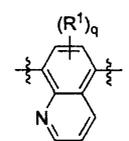
где n принимает значения 0 или 1 и R<sup>1</sup> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкокси, гало или C<sub>1-6</sub>галоалкил.

В некоторых реализациях соединении с формулой P1A представляет собой соединение, содержащее А, где А представляет собой



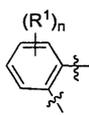
где q является целым числом от 0 до 5 и R<sup>1</sup> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкокси, гало или C<sub>1-6</sub>галоалкил.

В некоторых реализациях соединении с формулой P1A представляет собой соединение, содержащее А, где А представляет собой



где q является целым числом от 0 до 5 и R<sup>1</sup> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкокси, гало, или C<sub>1-6</sub>галоалкил.

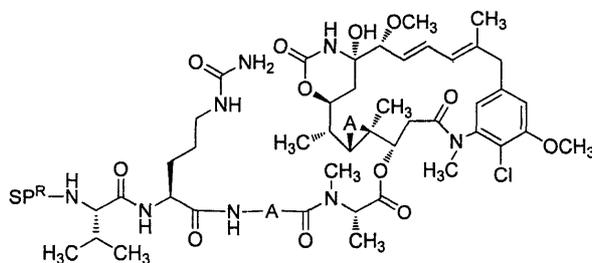
В некоторых реализациях соединении с формулой P1A представляет собой соединение, содержащее А, где А представляет собой



где  $n$  принимает значения 0 или 1 и  $R^1$  представляет собой алкокси, гало или галоалкил.

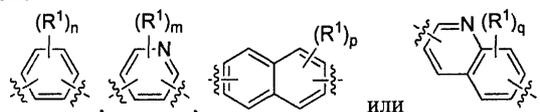
В некоторых примерах  $R^1$  представляет собой метилсульфонил, N-метилформамид, гидроксил или морфолинил.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1B



P1B

где A представляет собой:



где  $R^1$  представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гало, галоалкокси, галоалкил, гетероарил, гетероциклоалкил, гидроксил, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}-OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}-SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}-C(=O)R^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

$n$  является целым числом от 0 до 4;

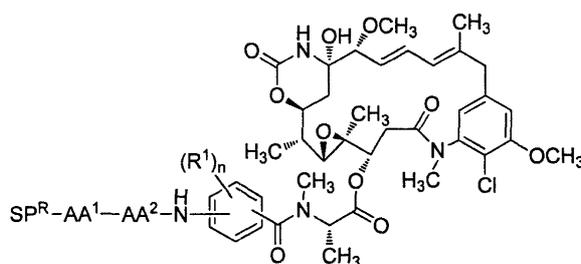
$m$  является целым числом от 0 до 3;

$p$  является целым числом от 0 до 6;

$q$  является целым числом от 0 до 5 и

$SP^R$  представляет собой реактивный спейсер.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1C



P1C

где  $SP^R$  представляет собой реактивный спейсер;

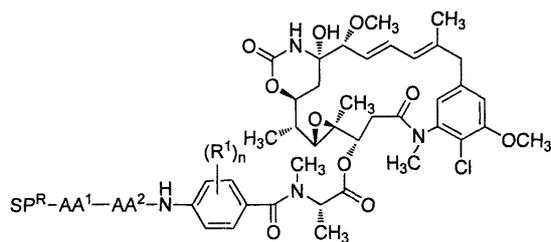
$AA^1$  представляет собой аминокислоту;

$AA^2$  представляет собой аминокислоту;

$R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил, или

$n$  принимает значения 0, 1 или 2.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1D



P1D

где  $SP^R$  представляет собой реактивный спейсер;

$AA^1$  представляет собой аминокислоту;

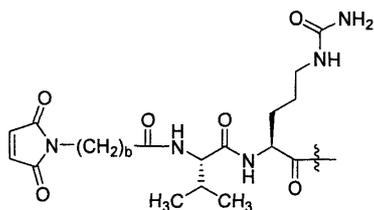
$AA^2$  представляет собой аминокислоту;

$R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и

$n$  принимает значения 0, 1 или 2.

В некоторых реализациях  $n$  равняется 0. В некоторых реализациях  $n$  равняется 1. В некоторых реализациях  $n$  равняется 2. В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1D, где  $R^1$  представляет собой алкокси, гало, или галоалкил. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкокси, гало или  $C_{1-6}$ галоалкил. В некоторых реализациях  $n$  равняется 0. В некоторых реализациях  $n$  равняется 1. В некоторых реализациях  $n$  равняется 2.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1D, где  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкокси, гало или  $C_{1-6}$ галоалкил; или  $SP^R-AA^1-AA^2$  представляет собой



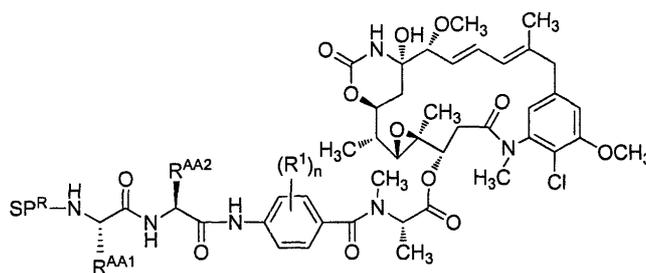
где  $b$  является целым числом от 2 до 8 и



представляет собой связь к связующему агенту.

В некоторых реализациях  $n$  равняется 0. В некоторых реализациях  $n$  равняется 1. В некоторых реализациях  $n$  равняется 2. В некоторых реализациях  $b$  равняется 2. В некоторых реализациях  $b$  равняется 3. В некоторых реализациях  $b$  равняется 4. В некоторых реализациях  $b$  равняется 5. В некоторых реализациях  $b$  равняется 6. В некоторых реализациях  $b$  равняется 7. В некоторых реализациях  $b$  равняется 8.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1E



P1E

где  $SP^R$  представляет собой реактивный спейсер;

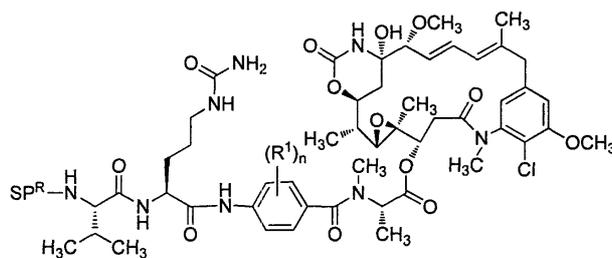
$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку;

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку;

$R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и

$n$  принимает значения 0, 1 или 2.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1F



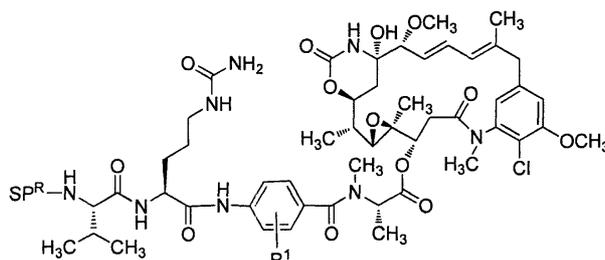
P1F

где  $SP^R$  представляет собой реактивный спейсер;

$R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и

$n$  принимает значения 0, 1 или 2.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1G

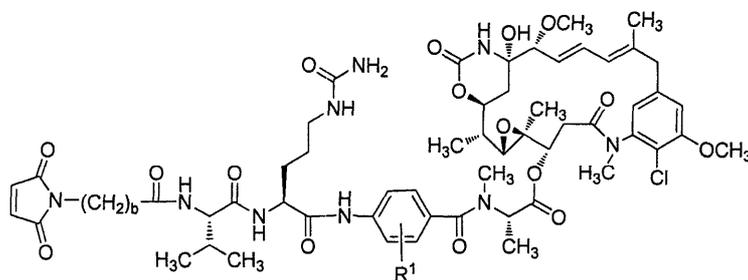


P1G

где  $SP^R$  представляет собой реактивный спейсер и

$R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1H

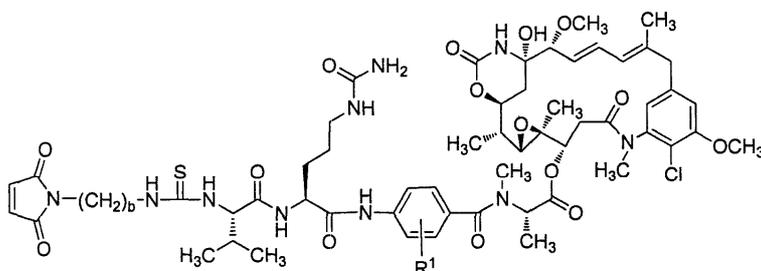


P1H

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и

$b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1I



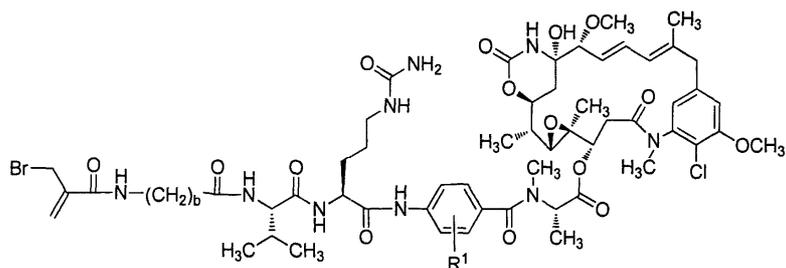
P1I

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и

$b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой

P1J

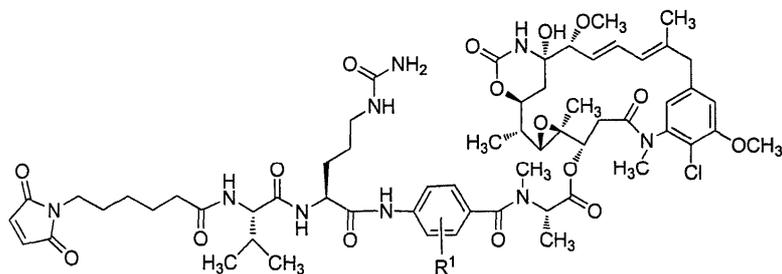


P1J

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и

$b$  является целым числом от 2 до 8.

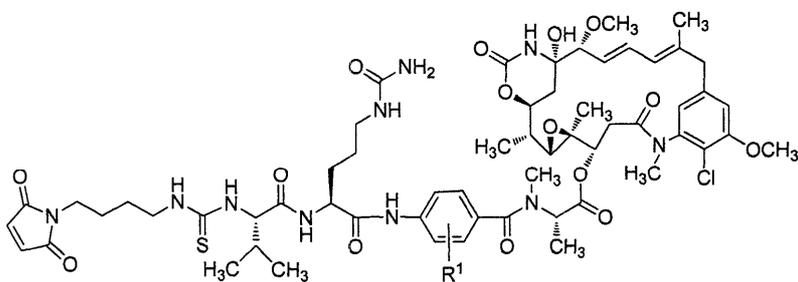
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1K



P1K

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил.

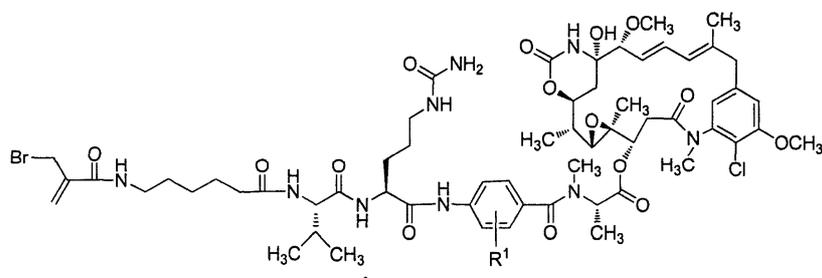
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1L



P1L

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил.

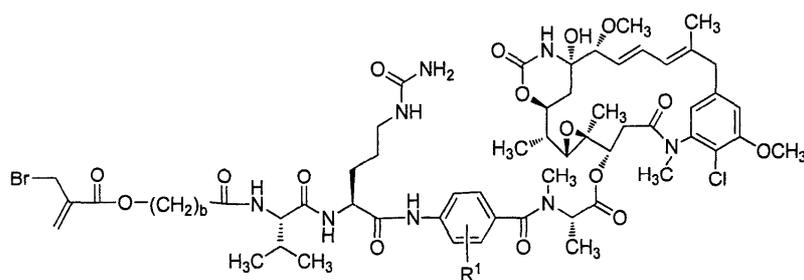
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1M



P1M

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил.

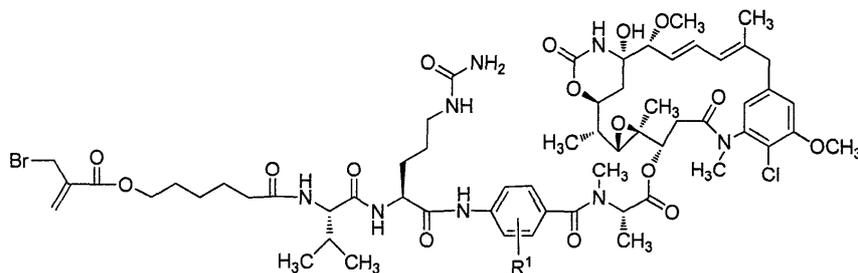
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1N



P1N

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

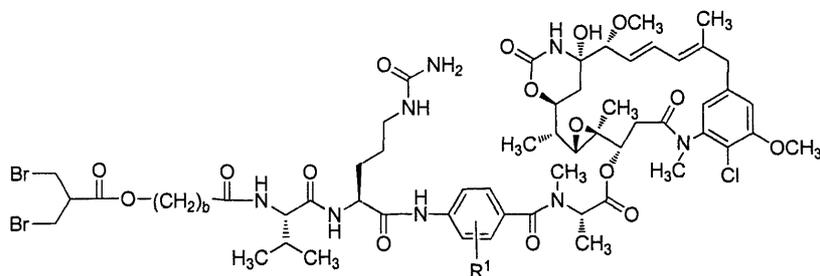
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1O



P1O

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил.

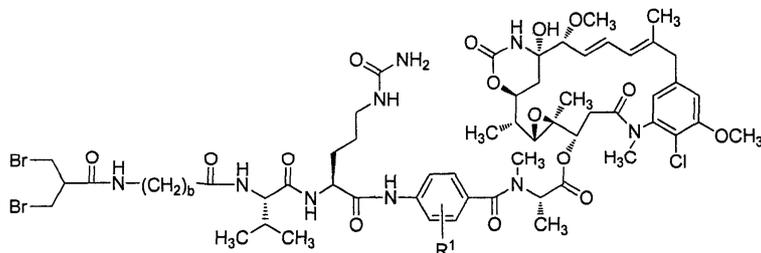
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1P



P1P

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

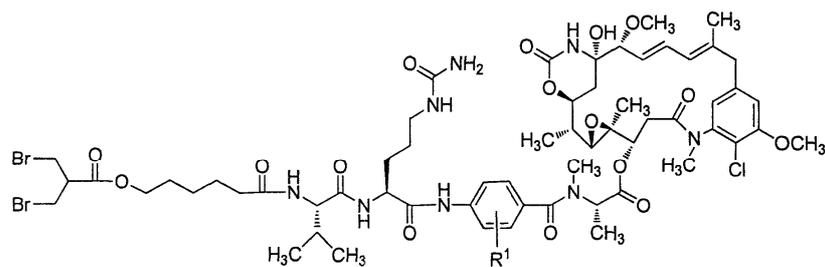
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1Q



P1Q

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

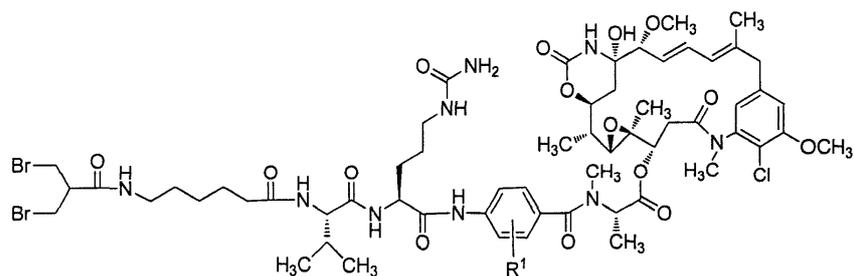
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1R



P1R

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил.

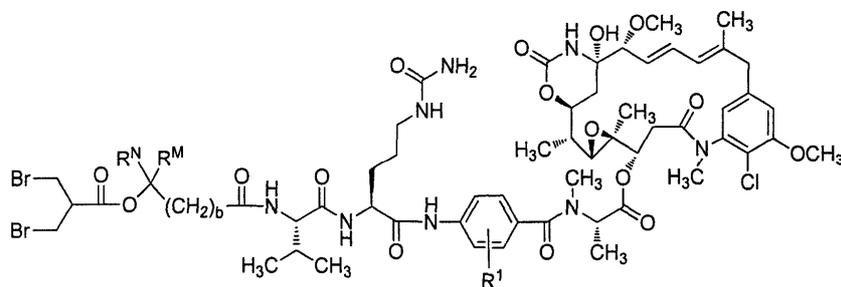
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1S



P1S

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил.

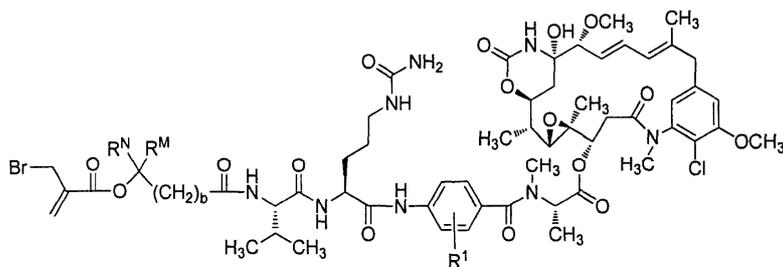
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1T



P1T

где  $R^N$  представляет собой атом водорода или алкил,  $R^M$  представляет собой алкил,  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

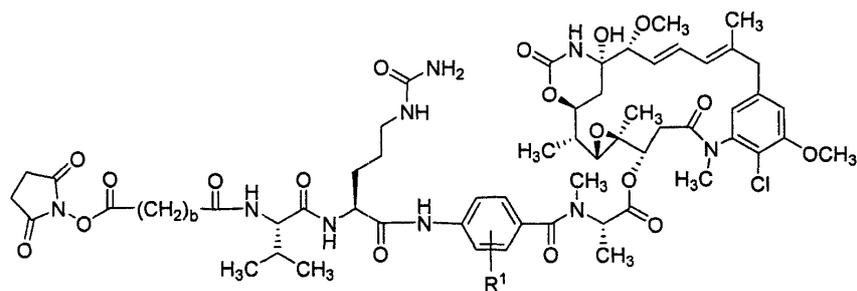
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1U



P1U

где  $R^N$  представляет собой атом водорода или алкил,  $R^M$  представляет собой алкил,  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

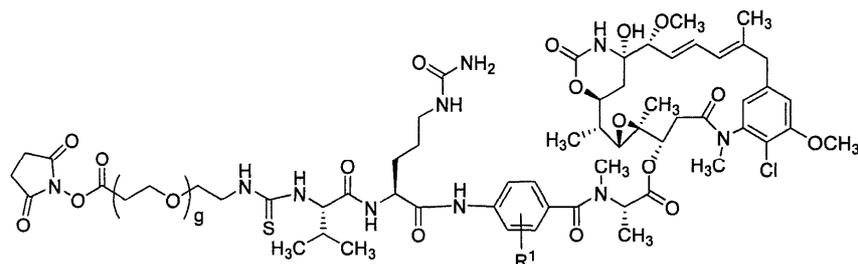
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1V



P1V

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

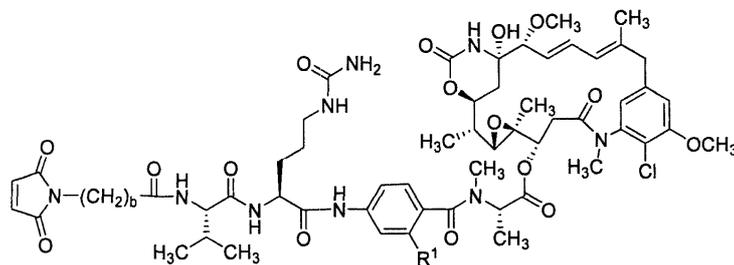
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1W



P1W

где  $R^1$  представляет собой атом водорода, алкил, алкокси, гало, галоалкокси, галоалкил или трифторметил,  $g$  является целым числом от 2 до 20 и  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1X

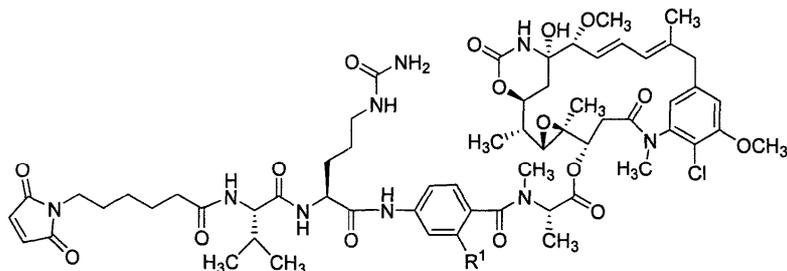


P1X

где  $R^1$  представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, гетероалкил, гало, галоалкил или галоалкокси;  $b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой метил, этил, метокси или этокси. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой 1-метилэтилтиол, фенил, 2-фторфенил, пиридинил, 4-пиридинил, пирролидинил или 1-пирролидинил. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой водород.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1Y



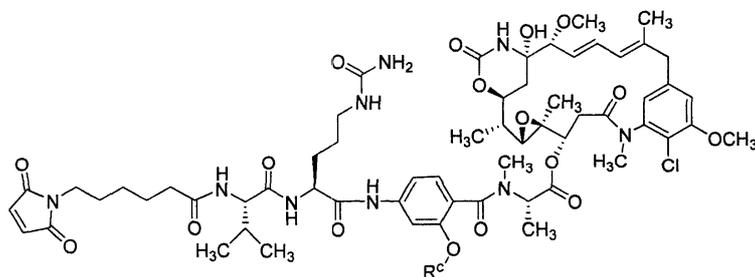
P1Y

где  $R^1$  представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, гетероалкил, гало, галоалкил, галоалкокси.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой метил, этил, метокси или этокси. В некоторых из

этих реализаций  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой 1-метилэтил-тиол, фенил, 2-фторфенил, пиридинил, 4-пиридинил, пирролидинил или 1-пирролидинил. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой водород.

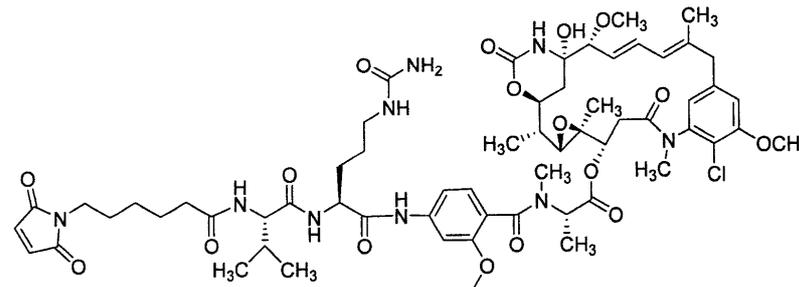
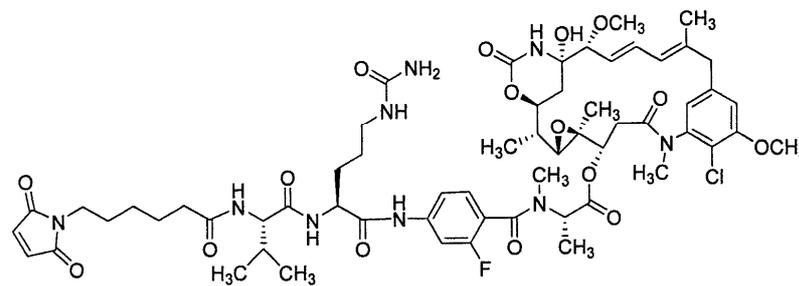
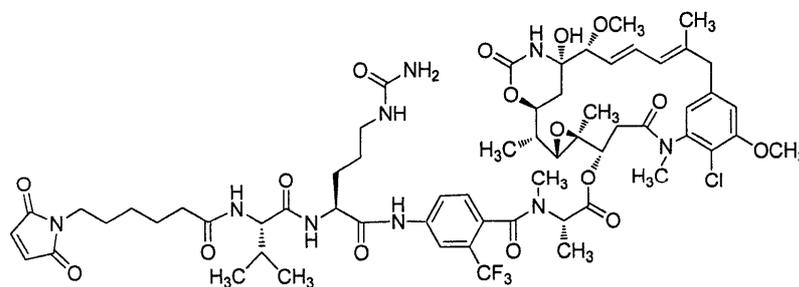
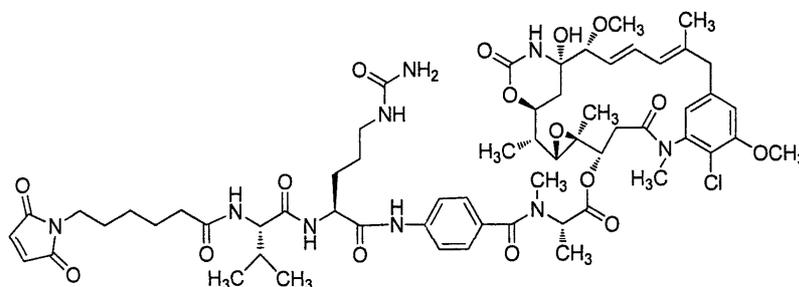
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с формулой P1Z

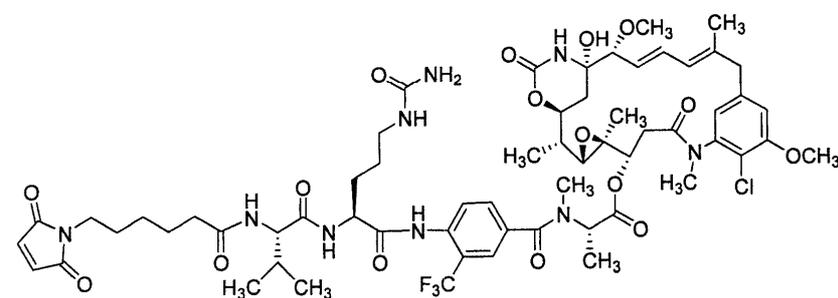
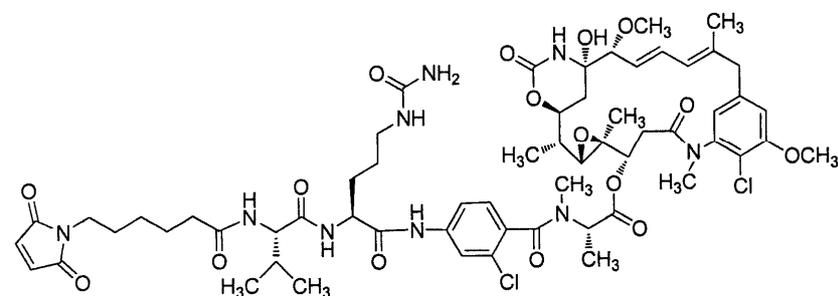
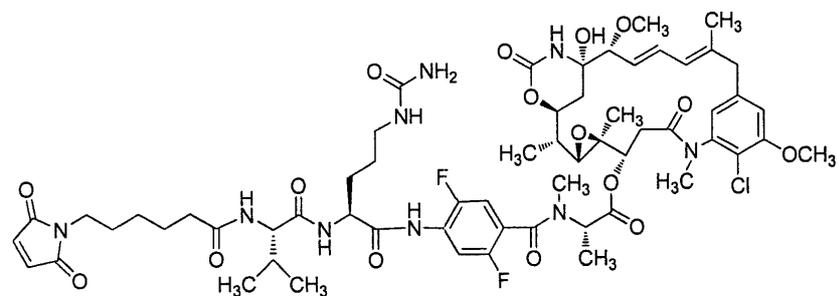
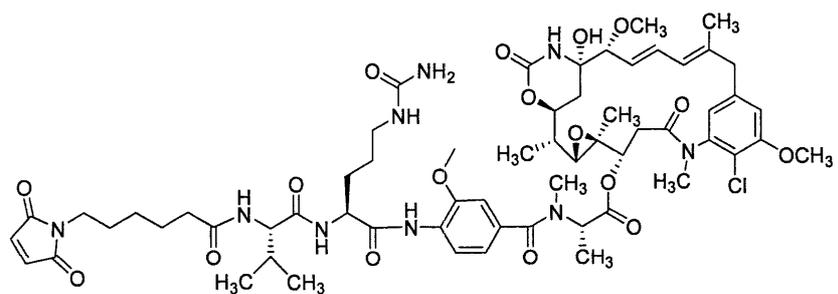


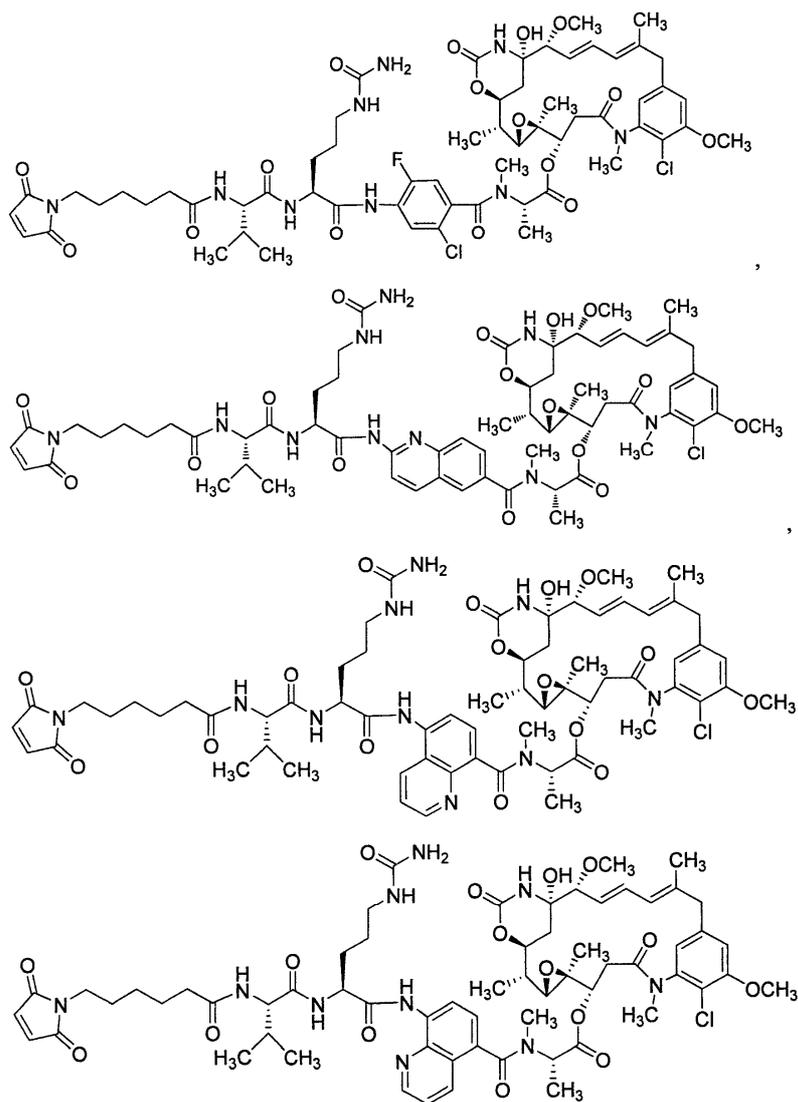
P1Z,

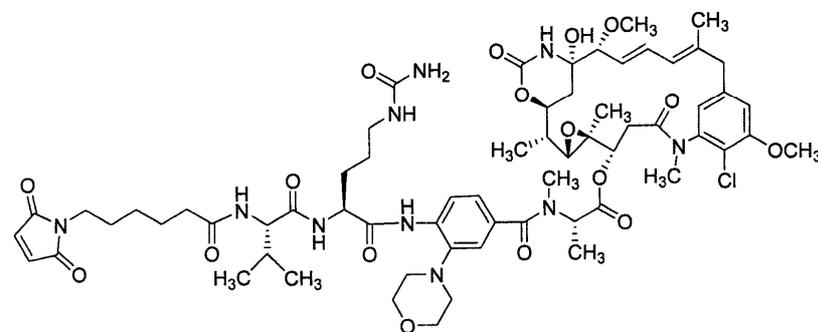
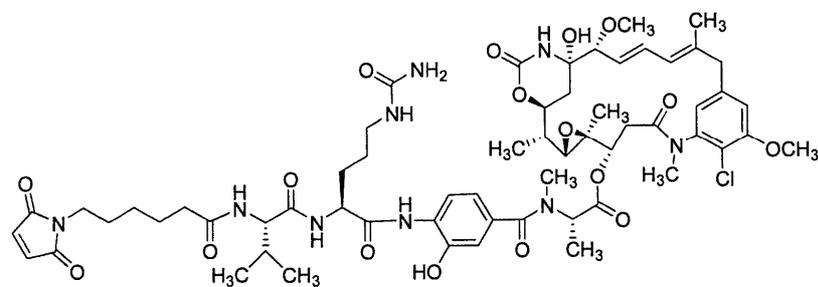
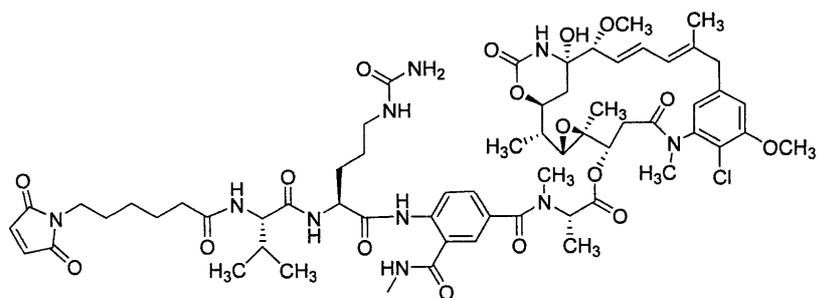
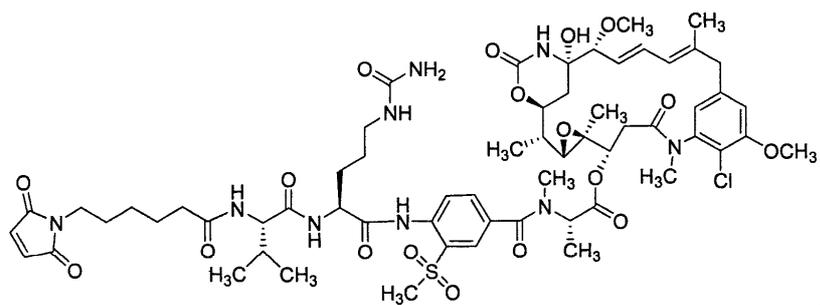
где  $R^c$  выбирается из алкила или галоалкила и где структура алкила или галоалкила линейная, разветвленная или циклическая.

В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с одной из следующих структур:

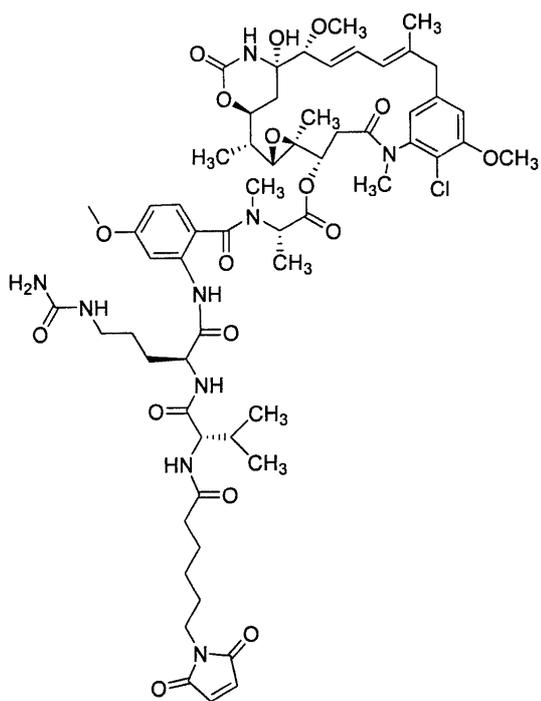
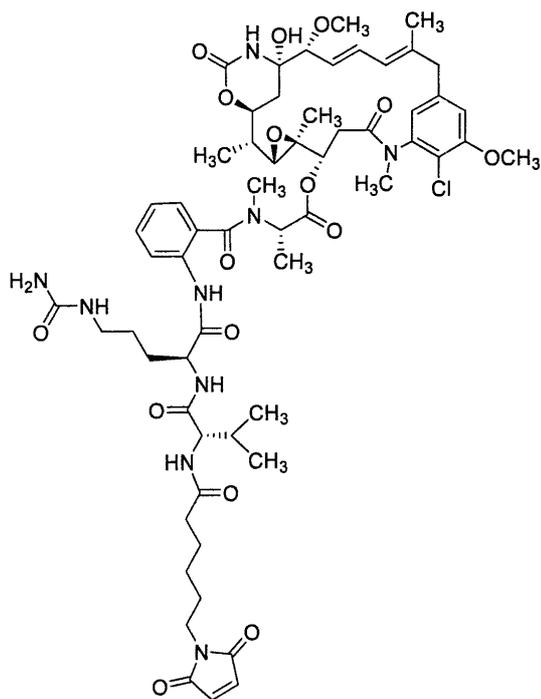


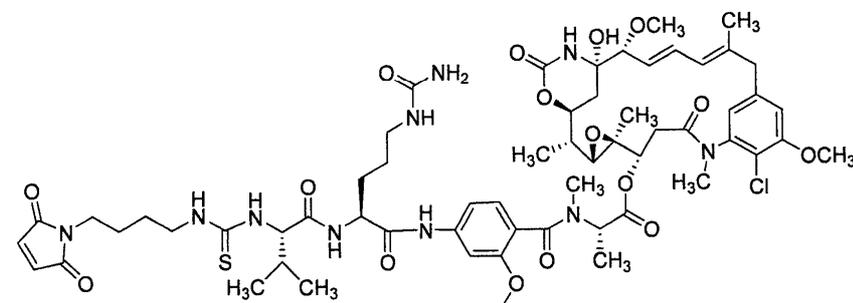
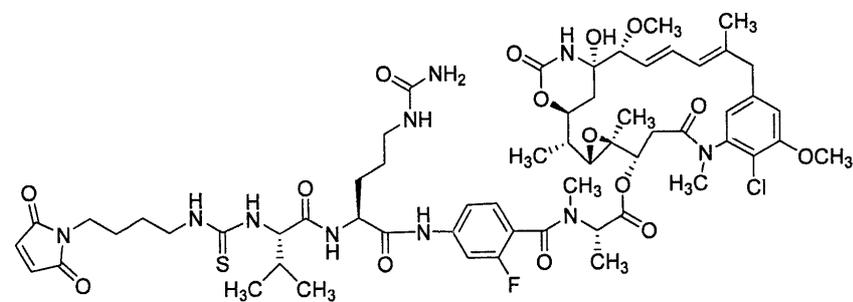
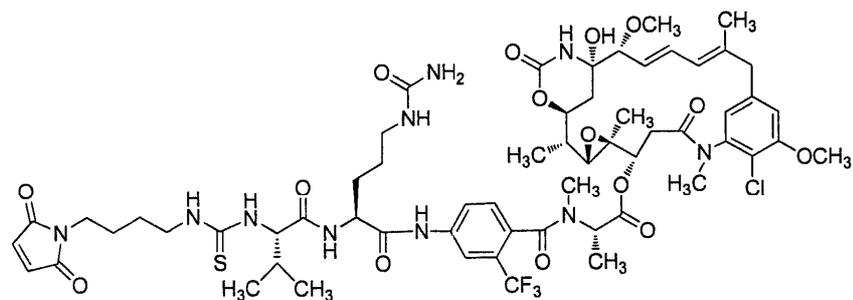
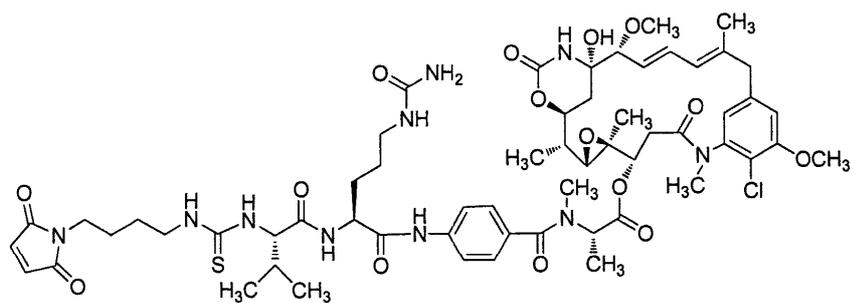


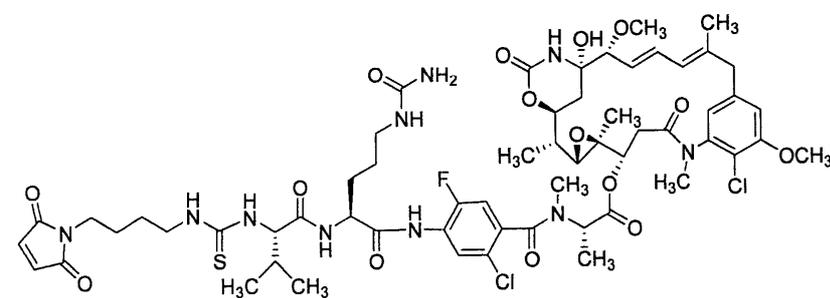
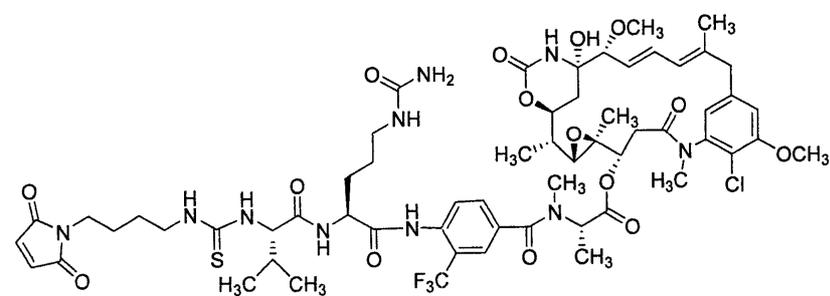
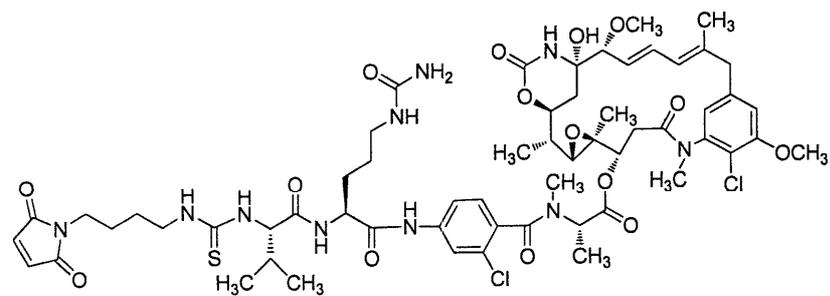
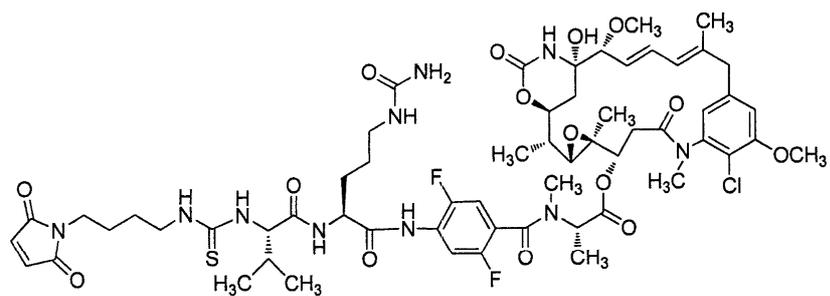


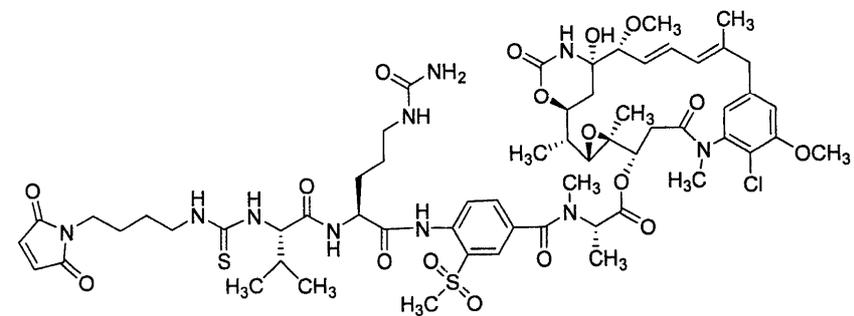
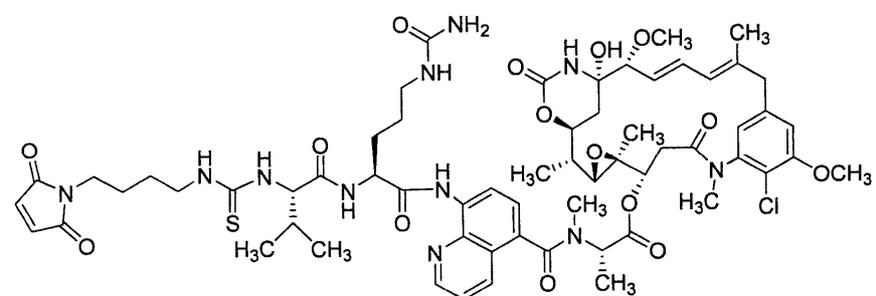
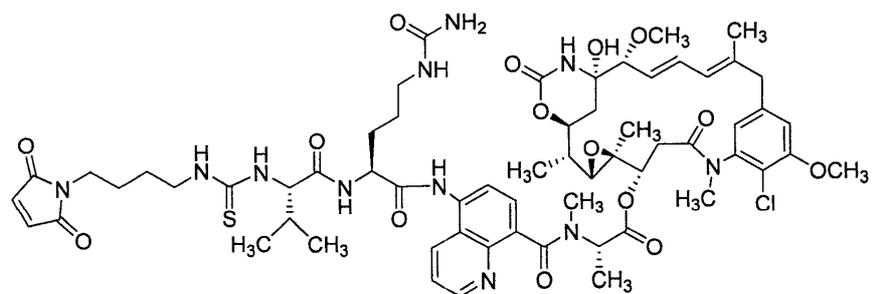
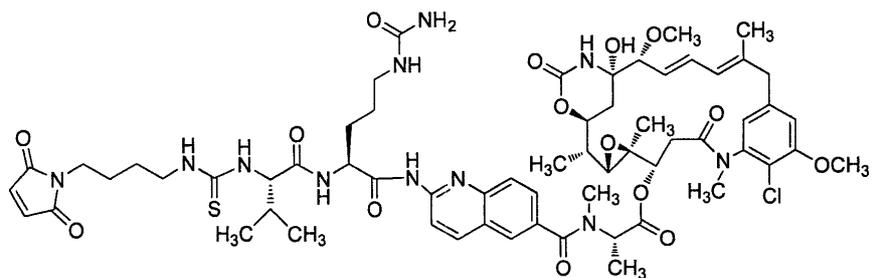


034950

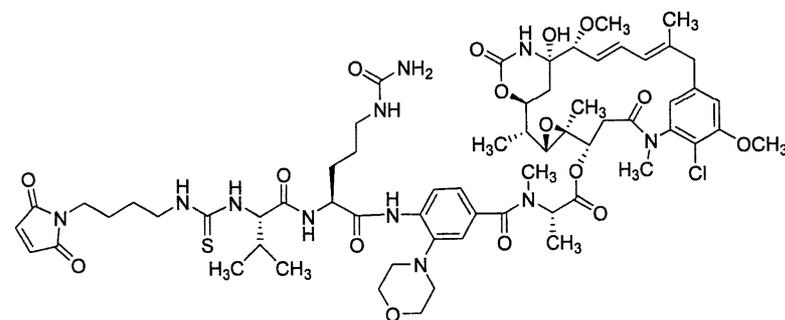
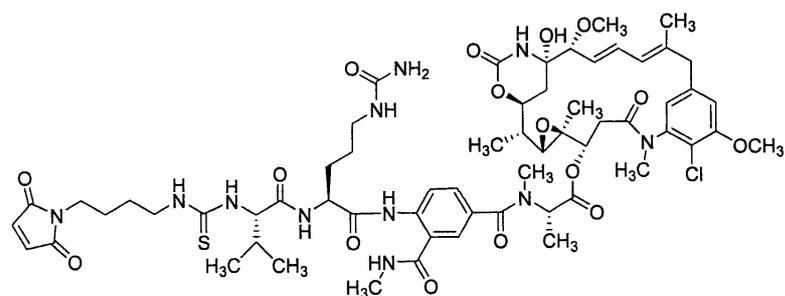
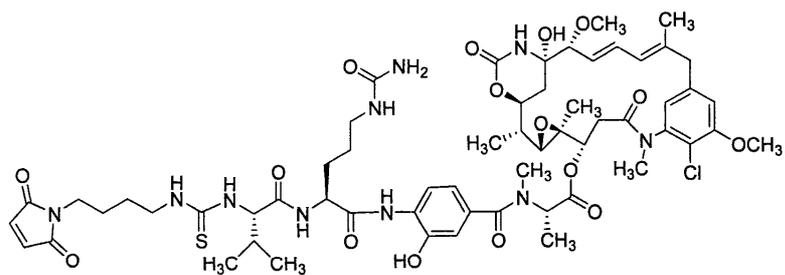




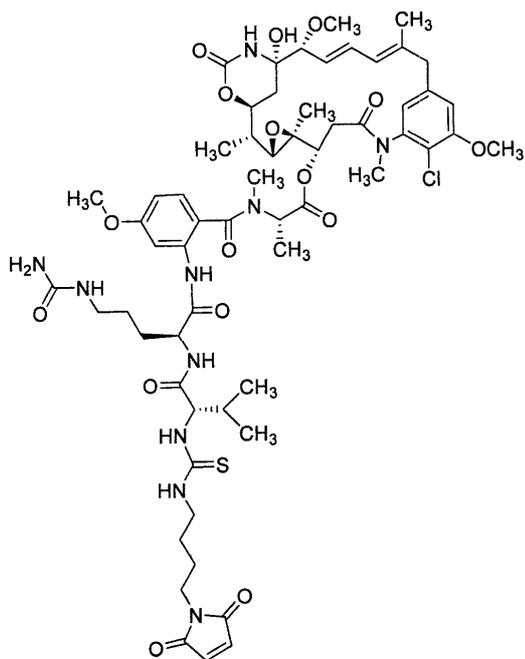
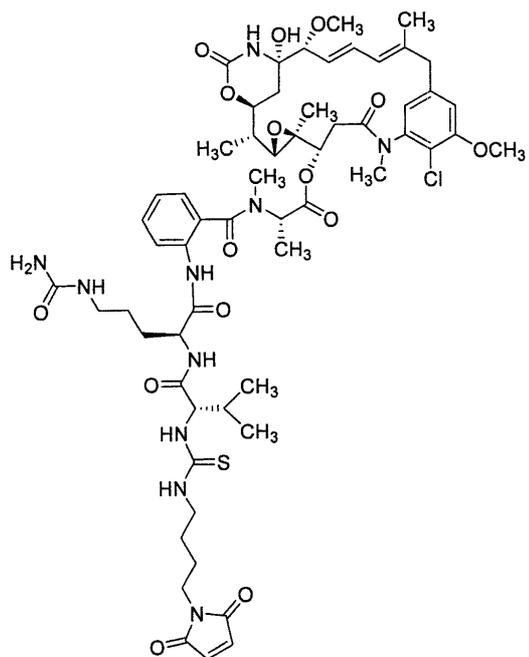


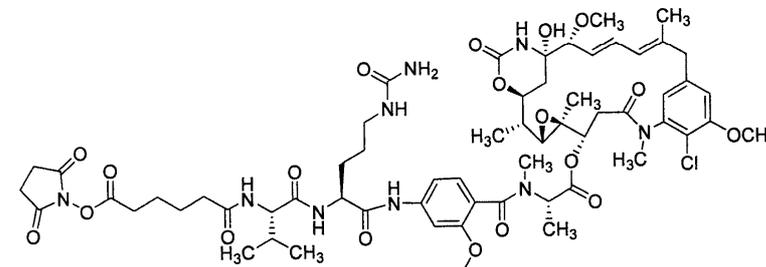
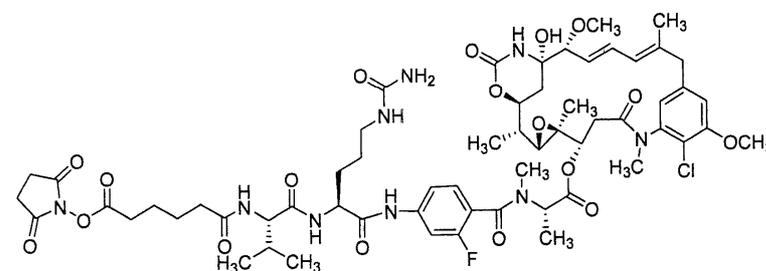
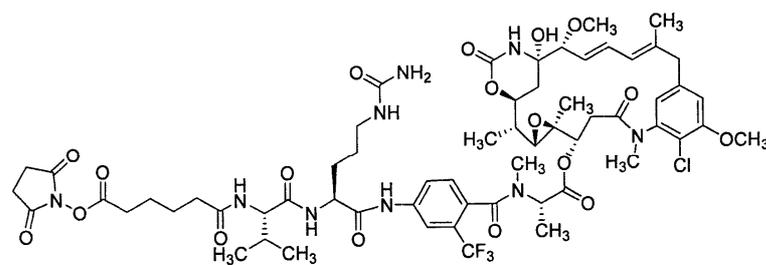
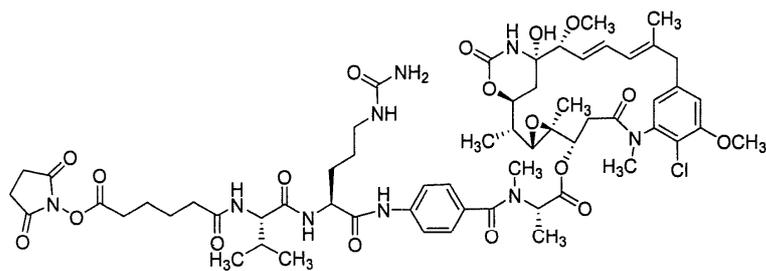


034950

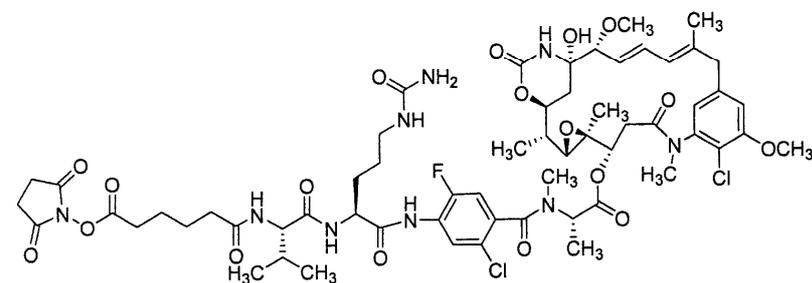
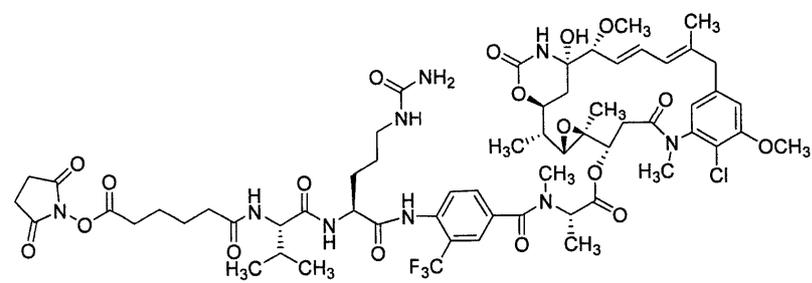
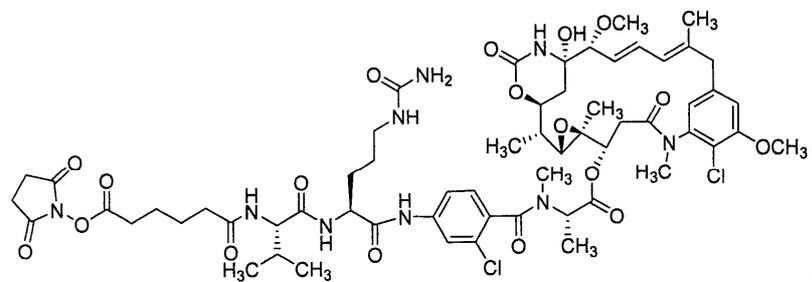
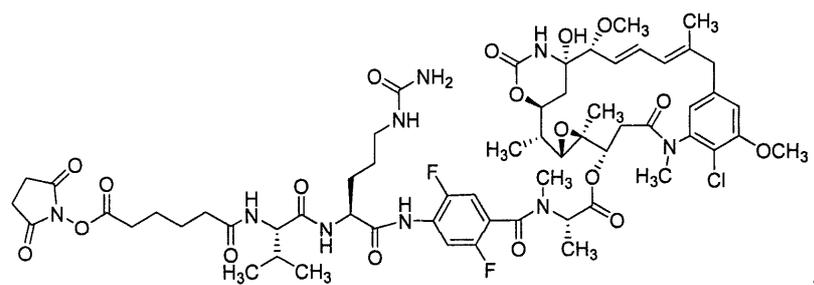


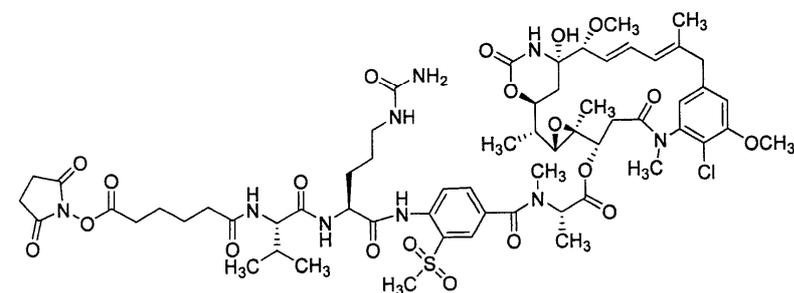
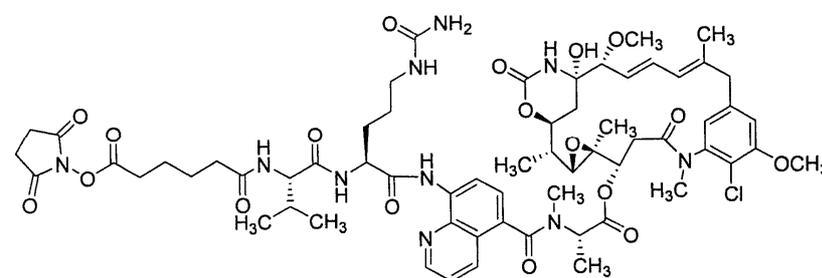
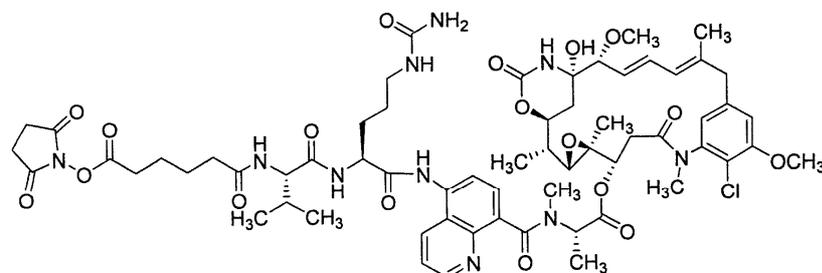
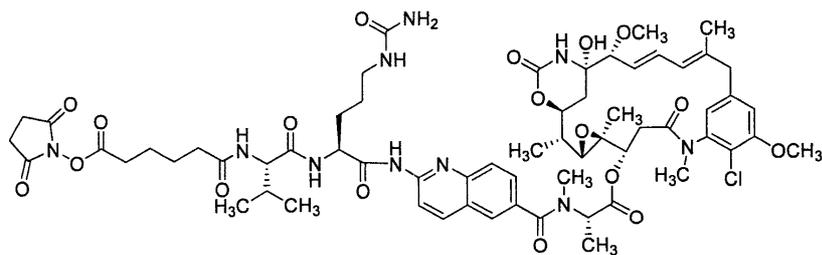
034950



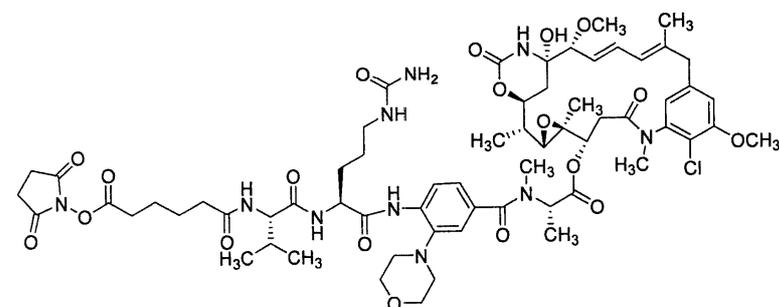
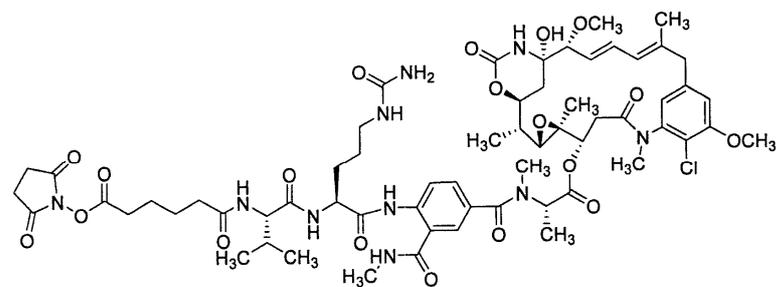
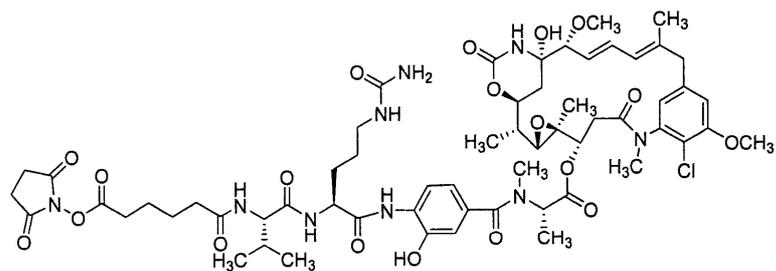


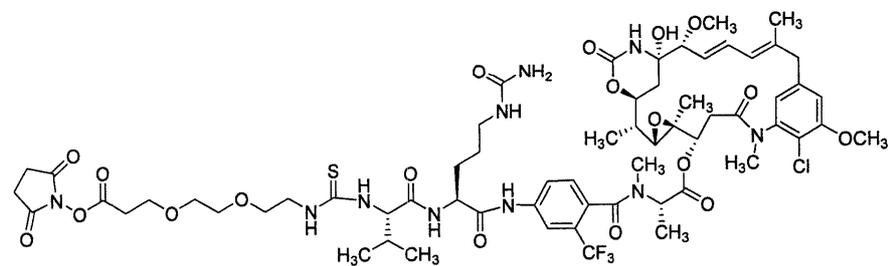
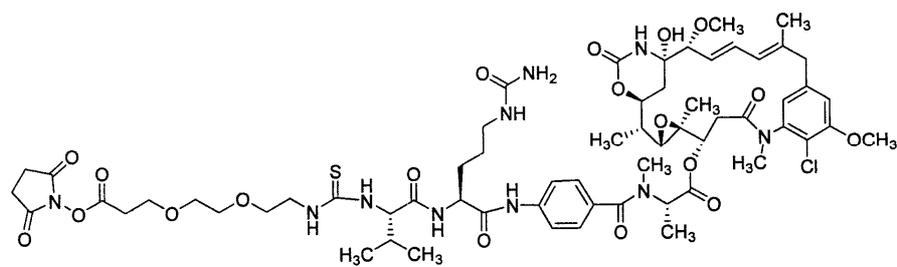
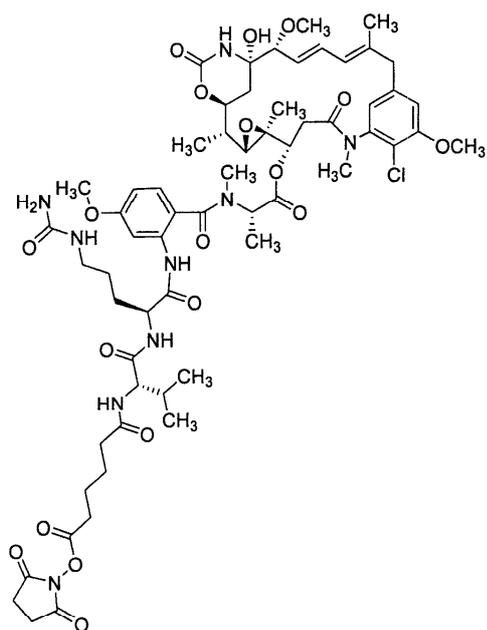
034950

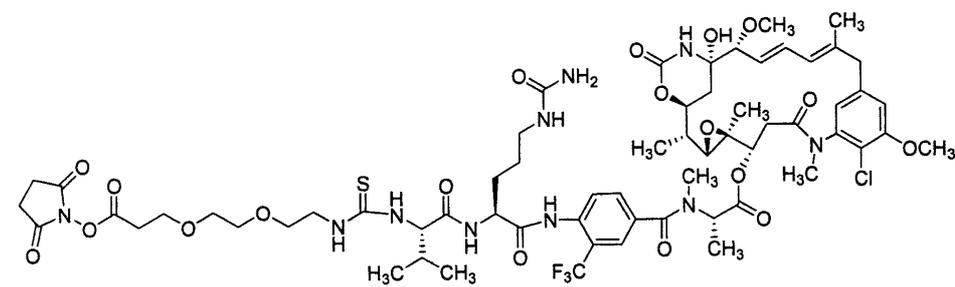
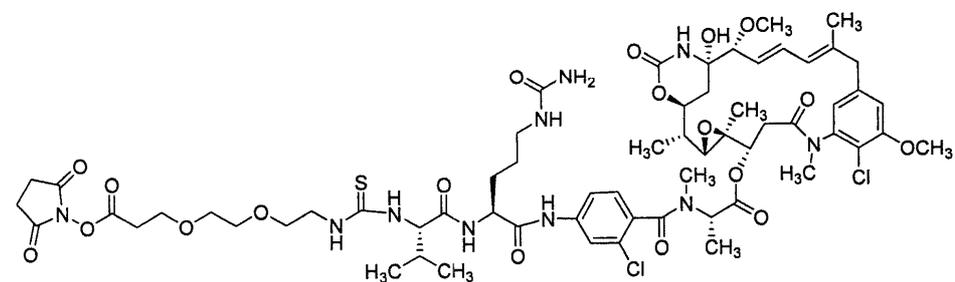
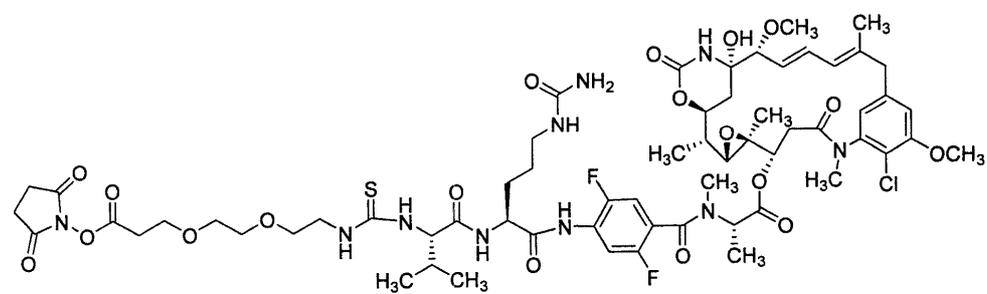
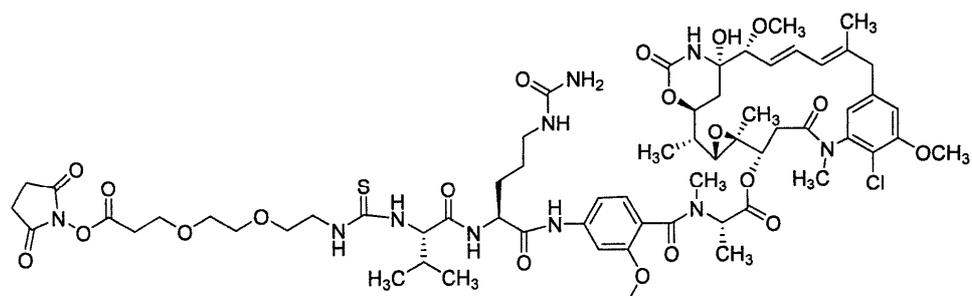
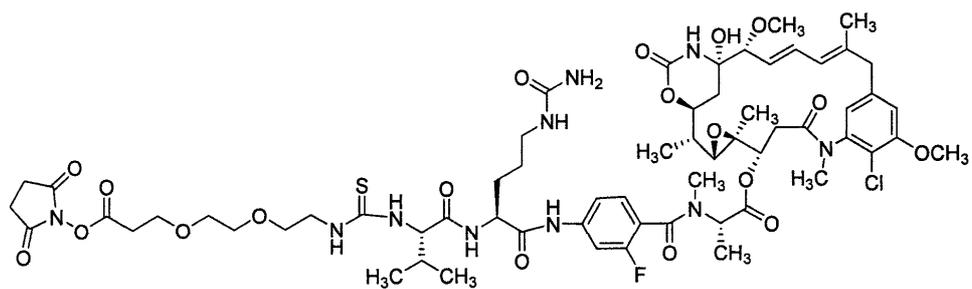


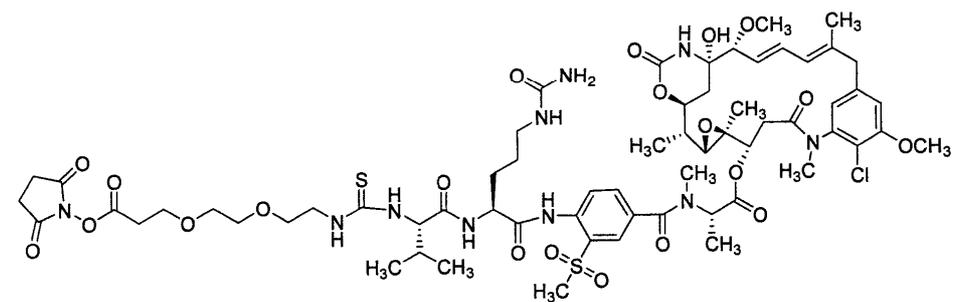
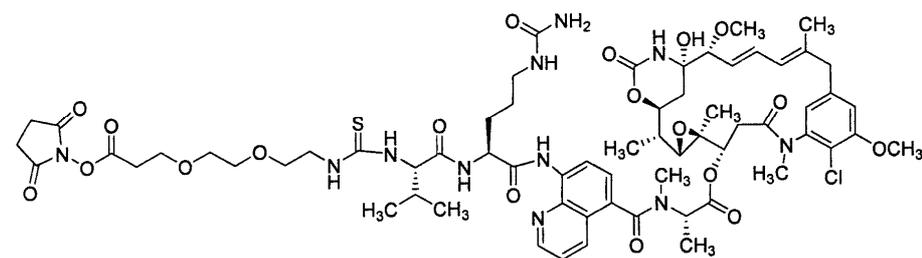
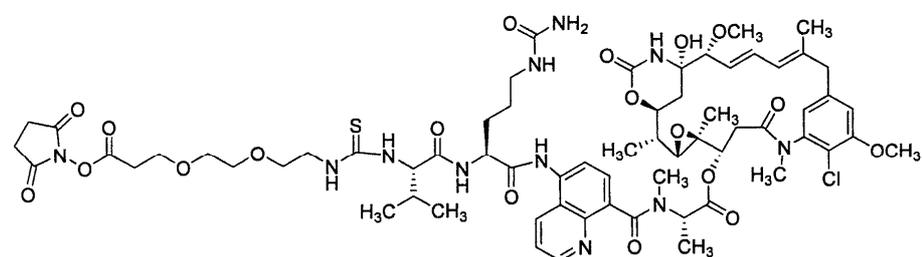
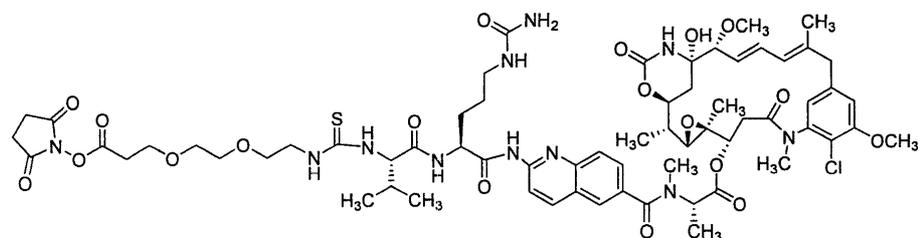
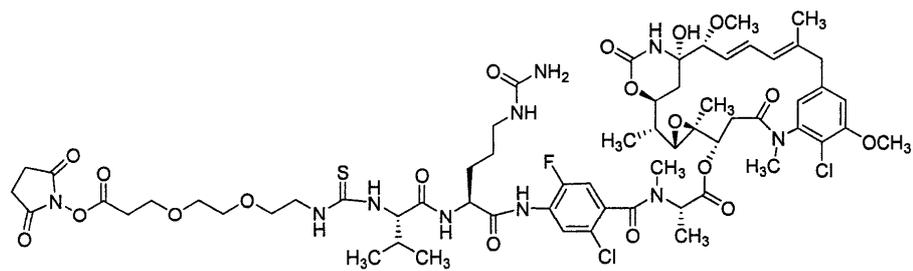


034950

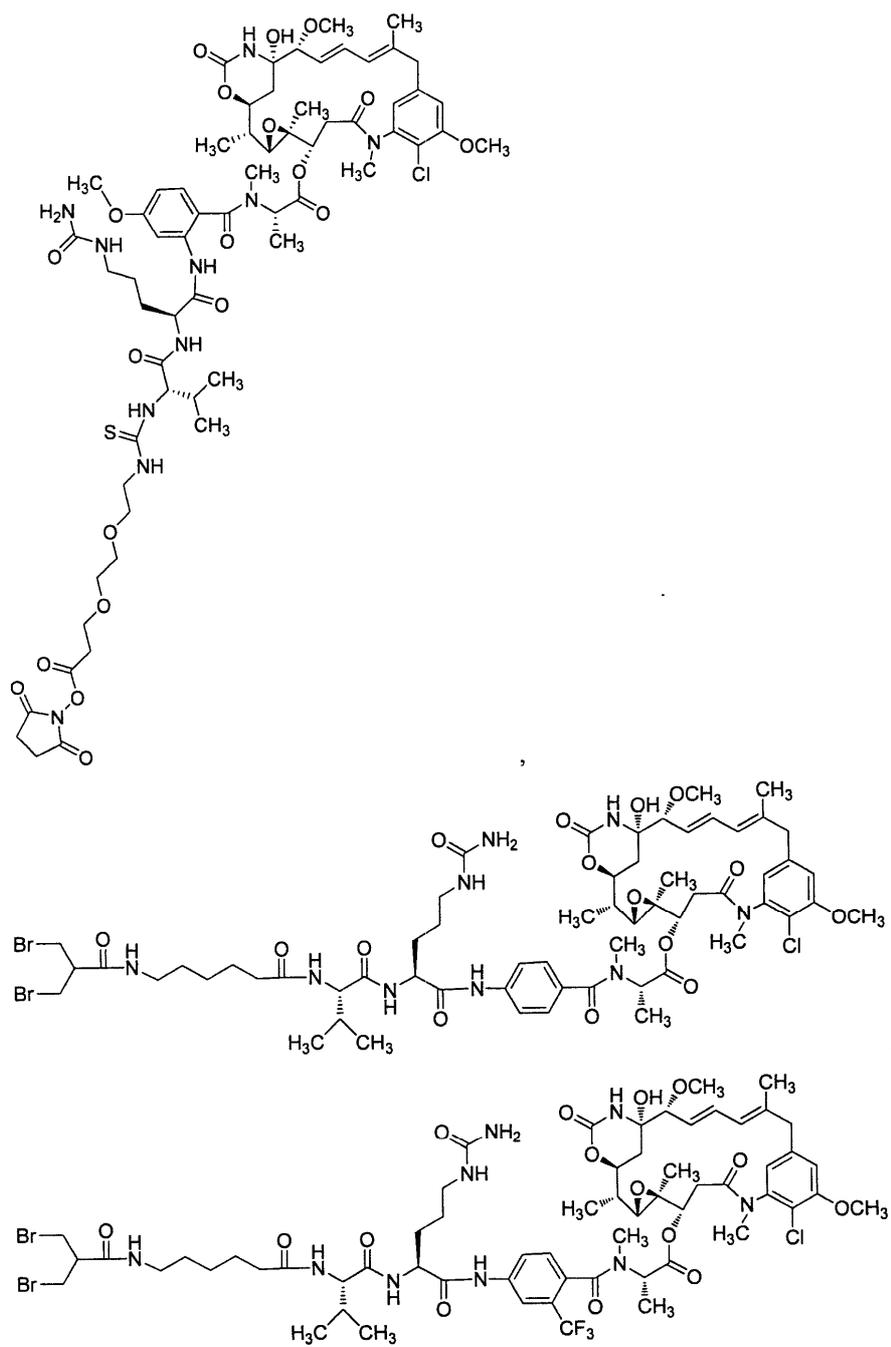




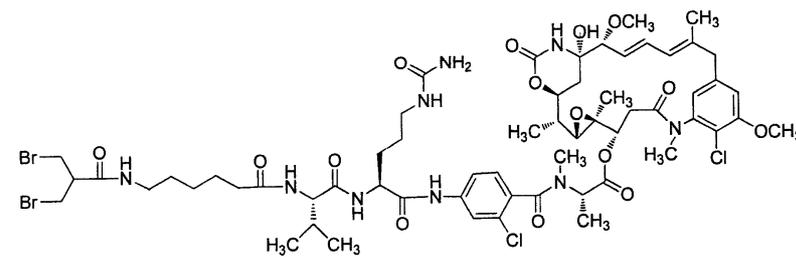
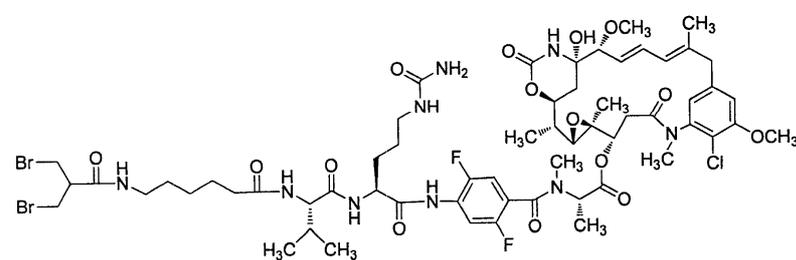
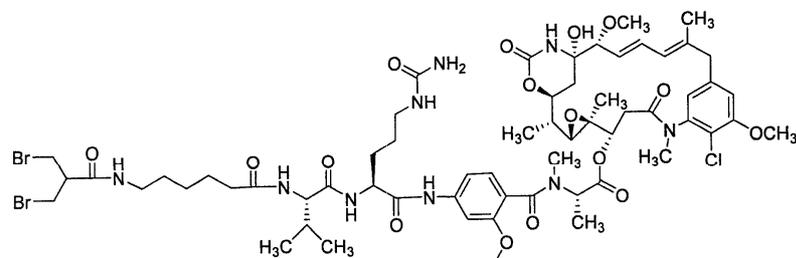
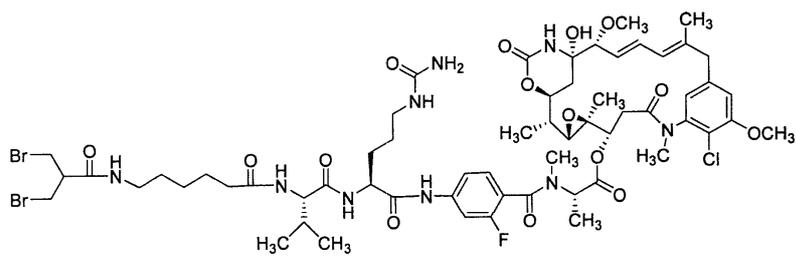


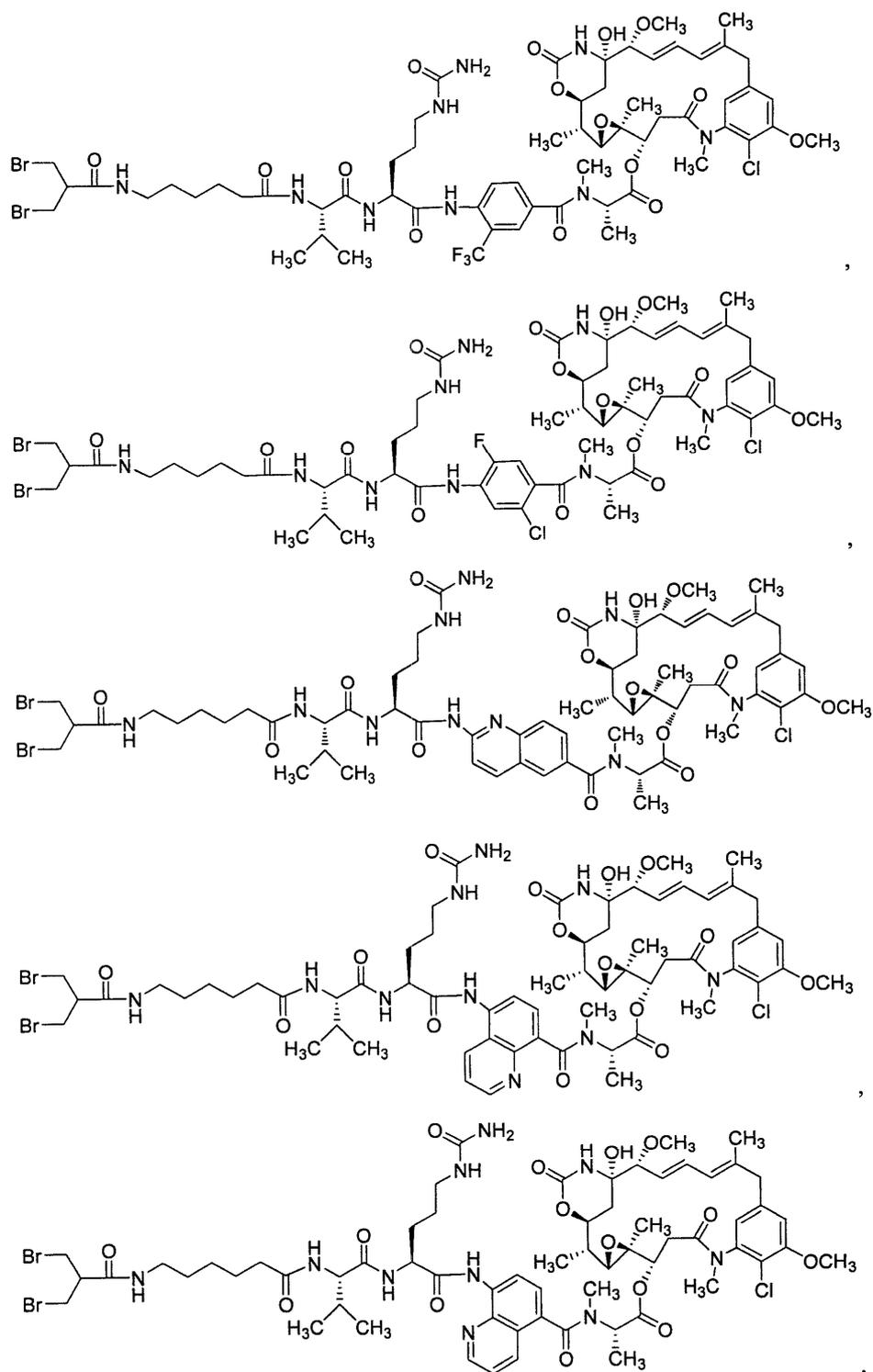


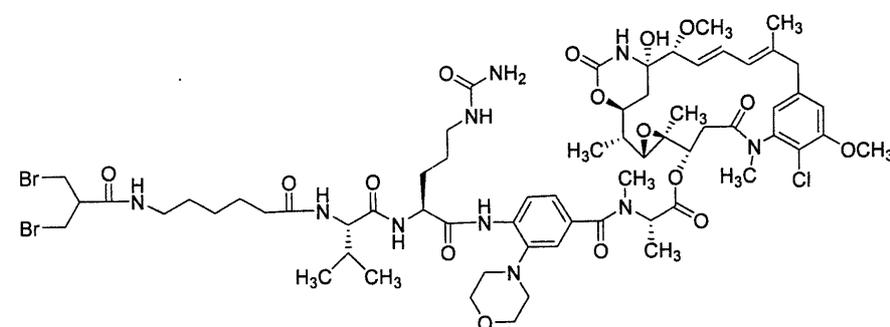
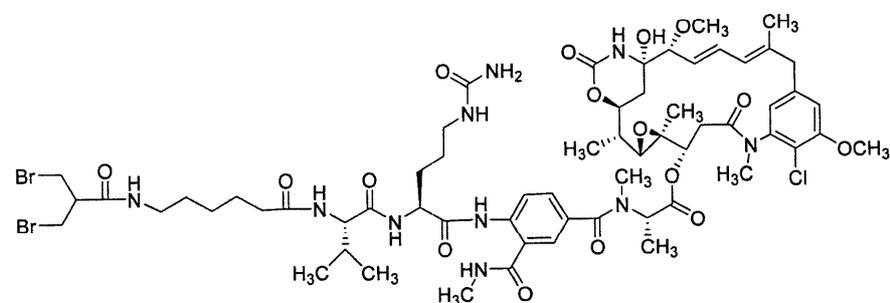
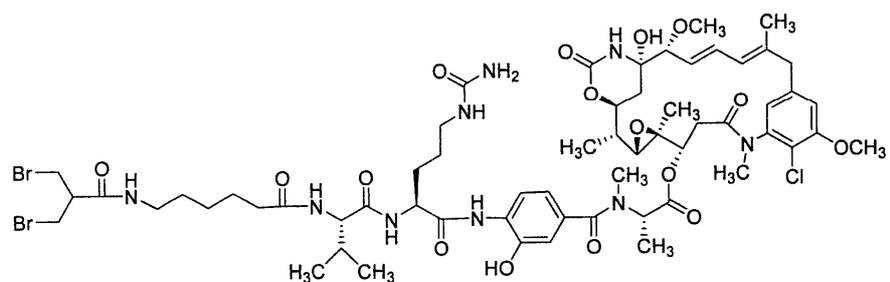
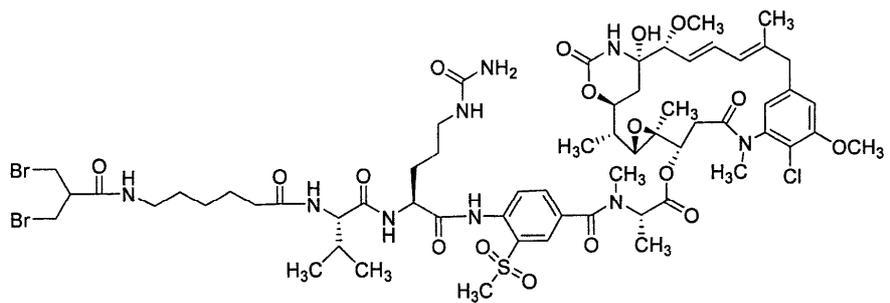




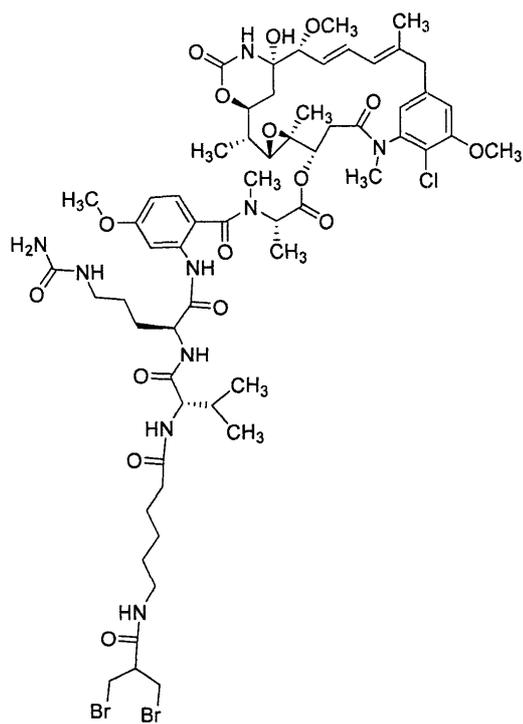
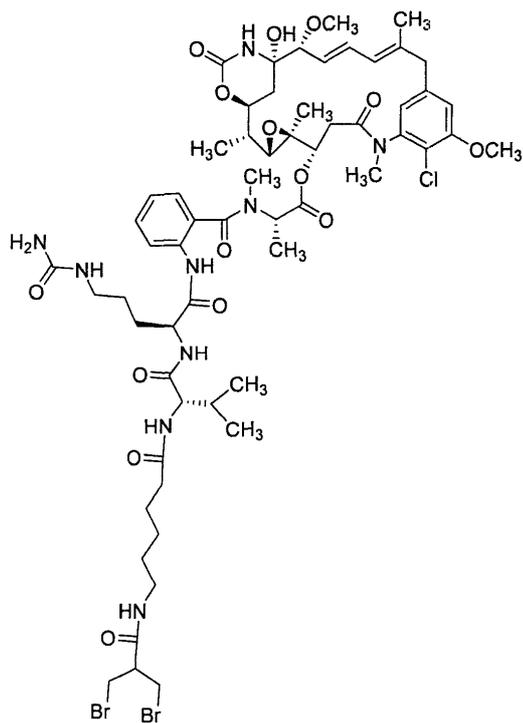
034950

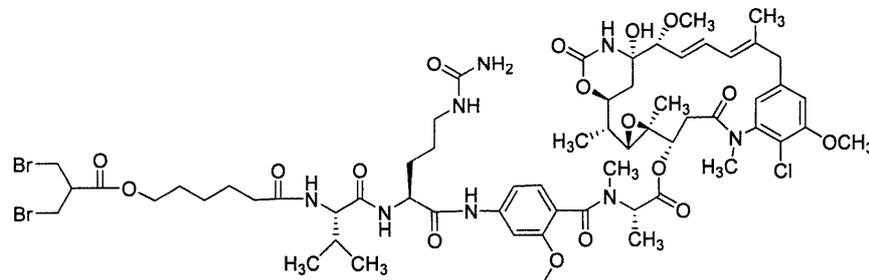
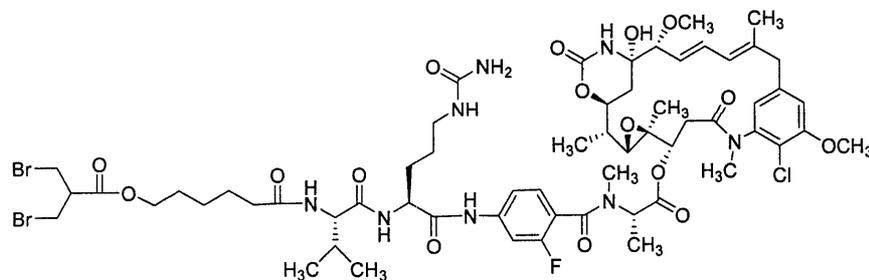
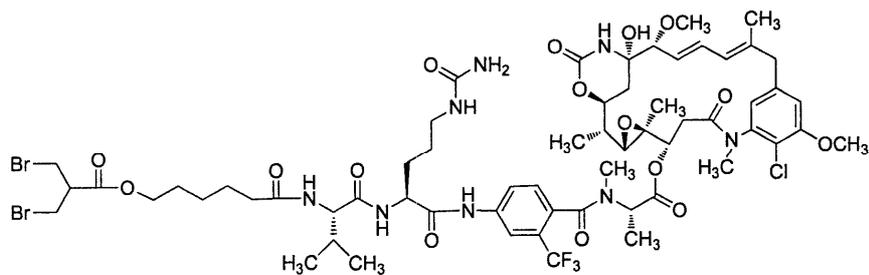
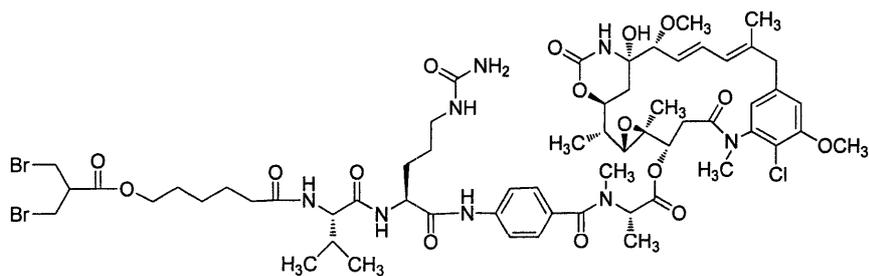




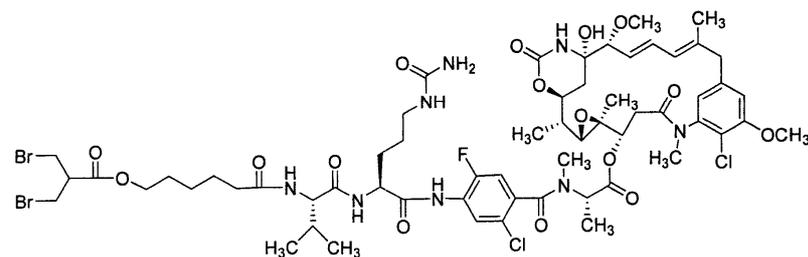
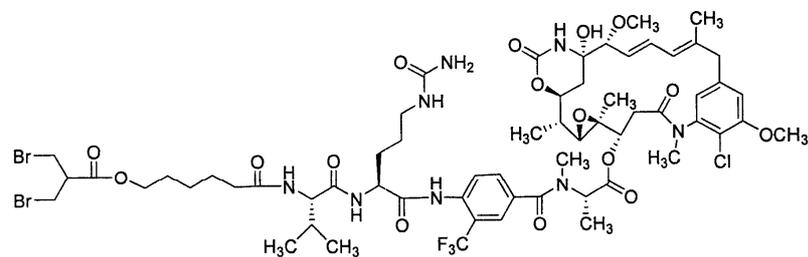
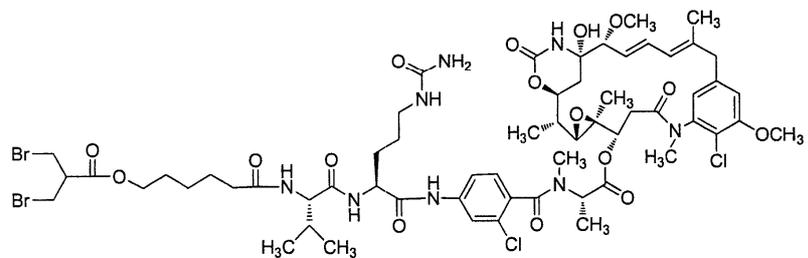
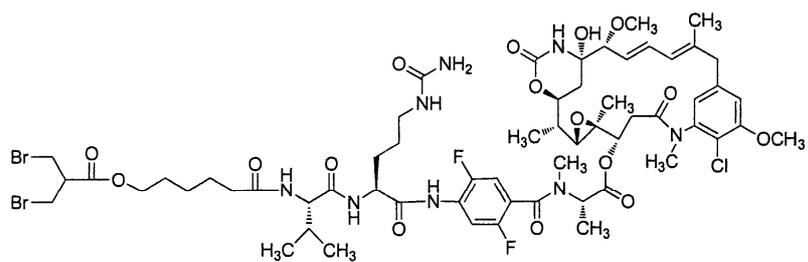


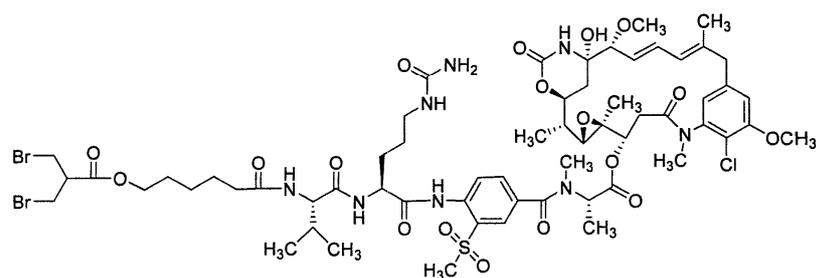
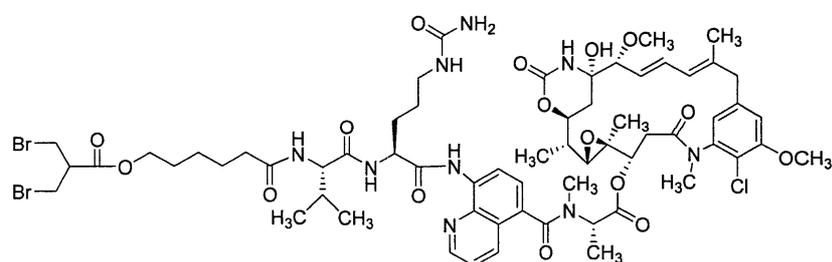
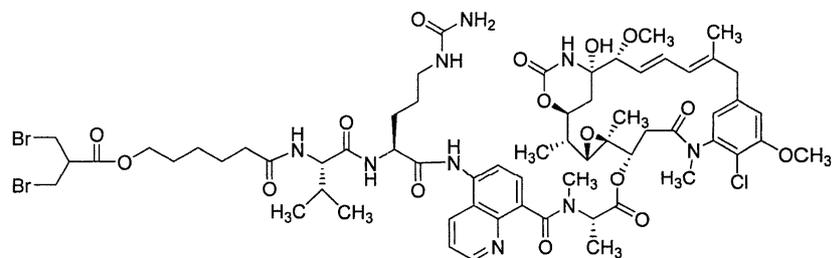
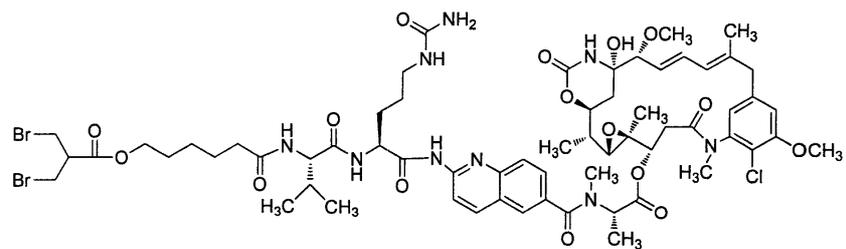
034950



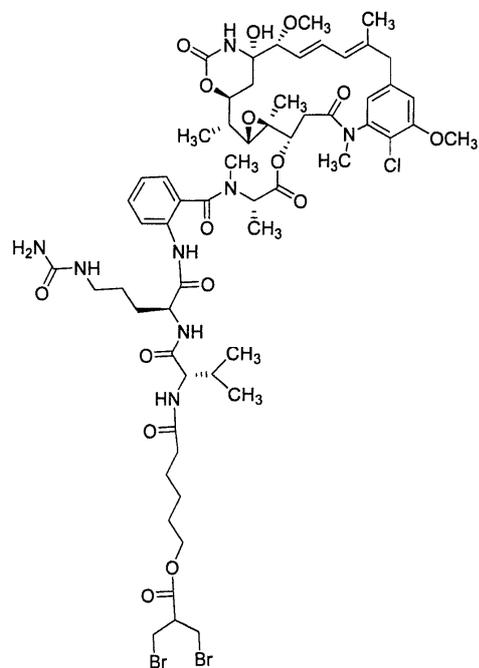
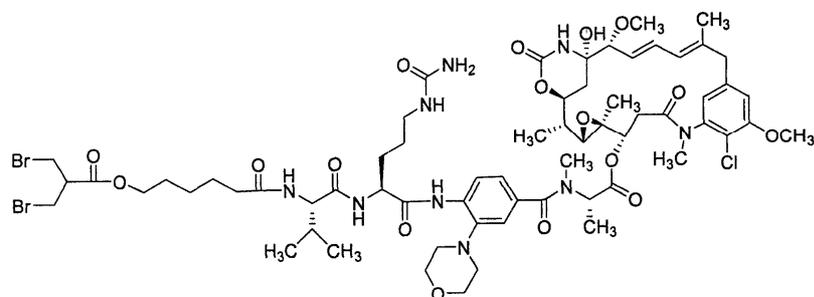
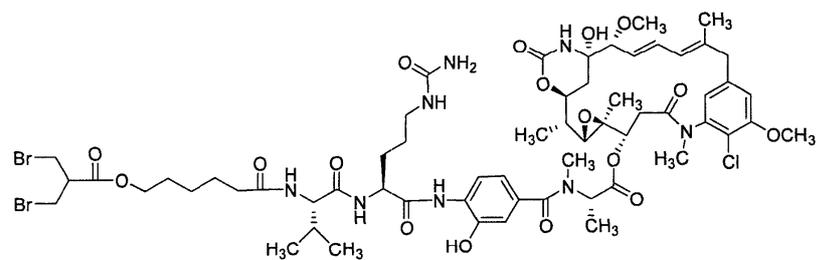
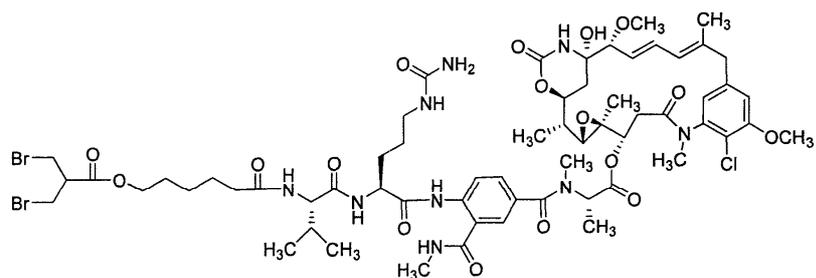


034950

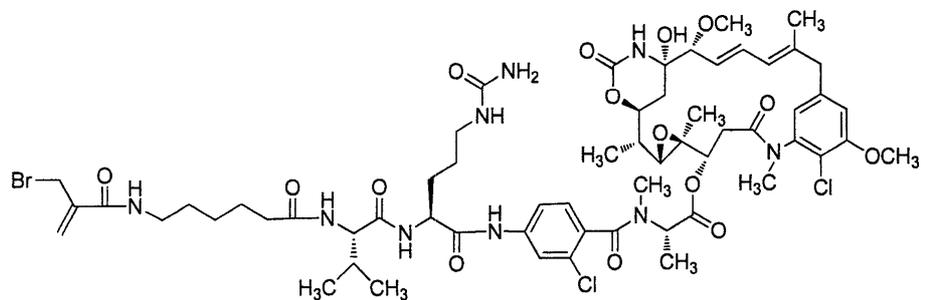
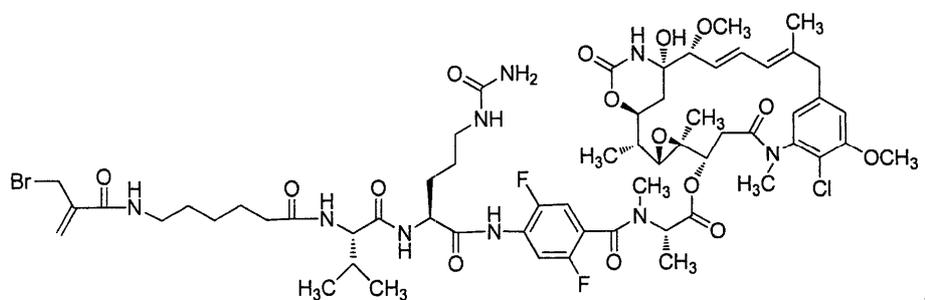
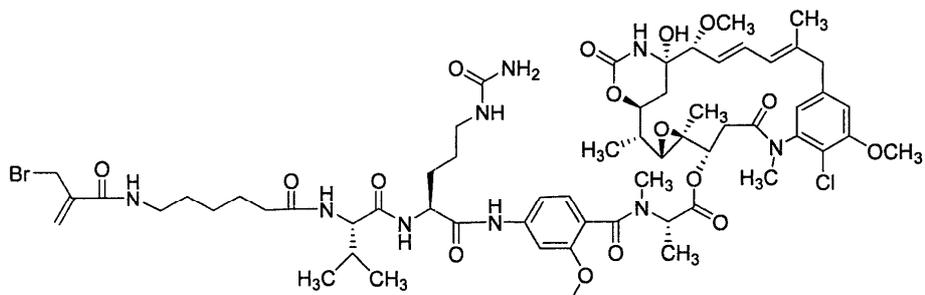
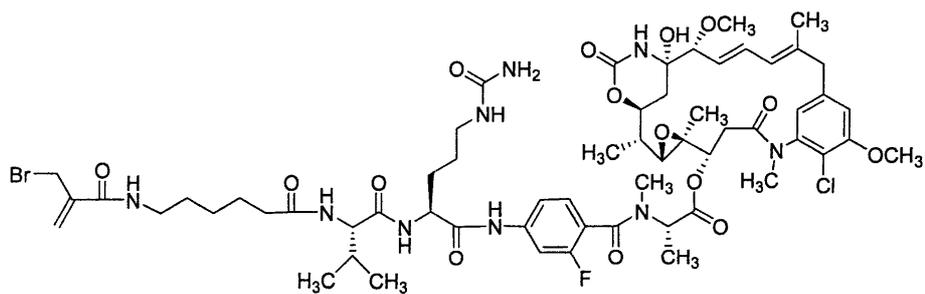


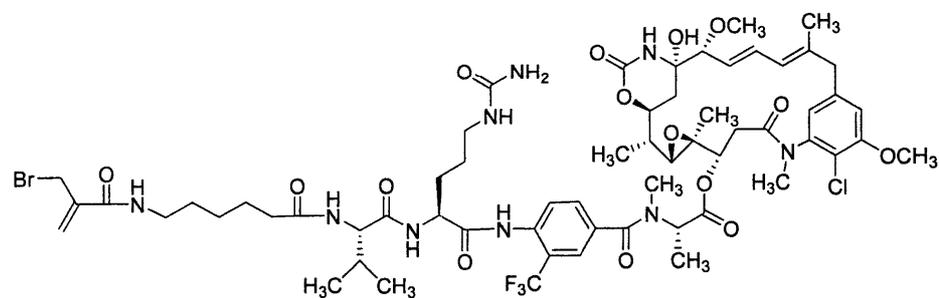
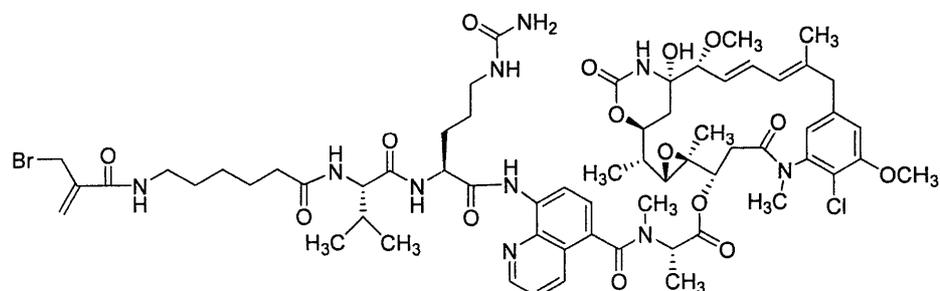
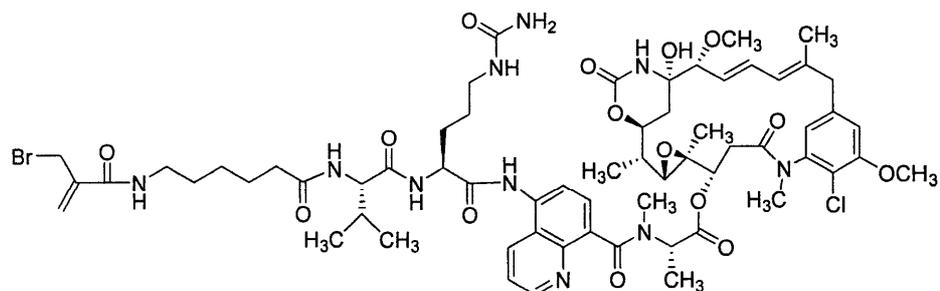
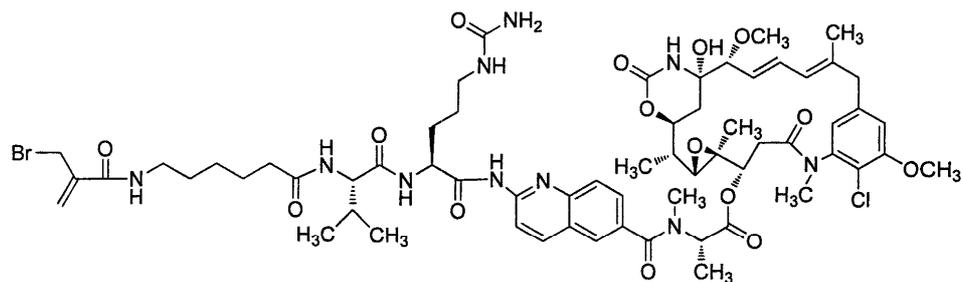


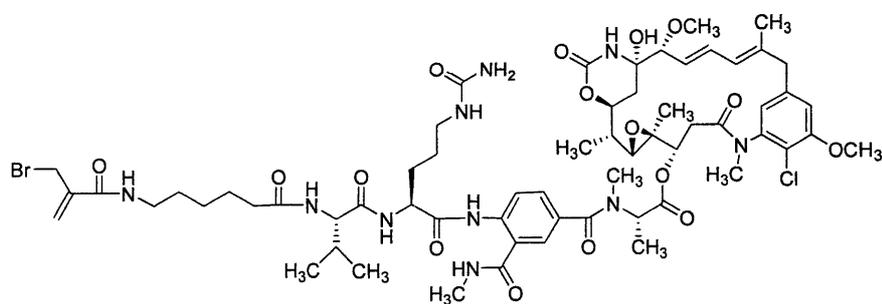
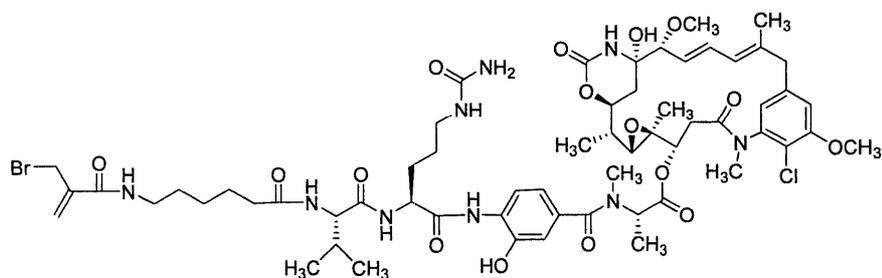
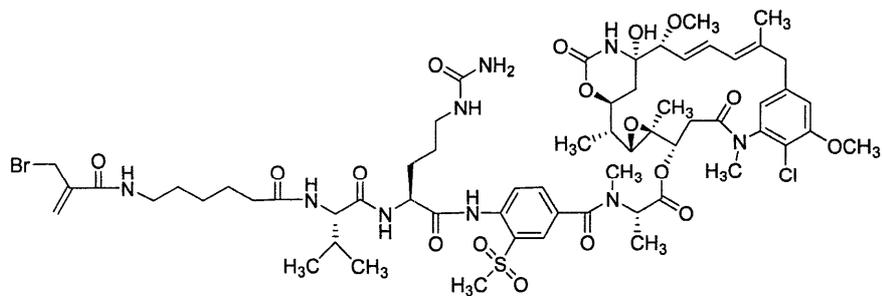
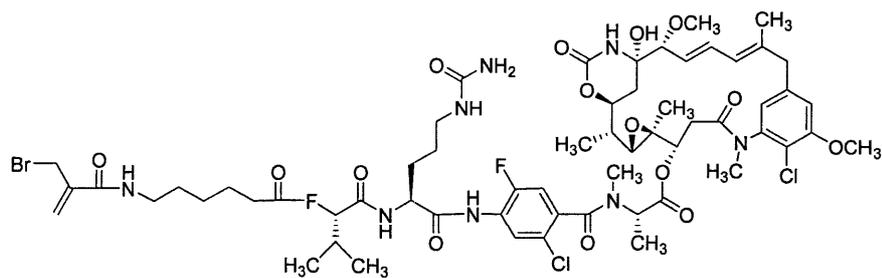
034950



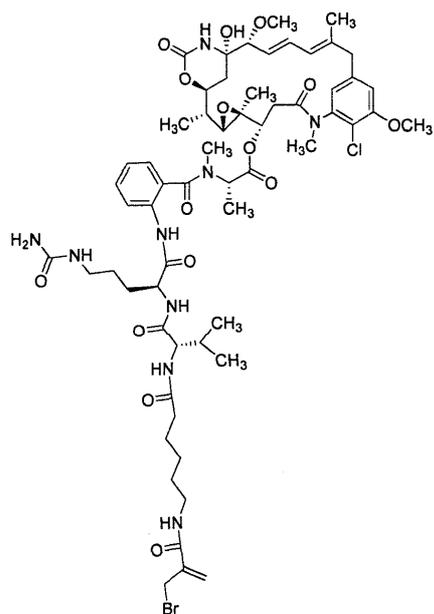
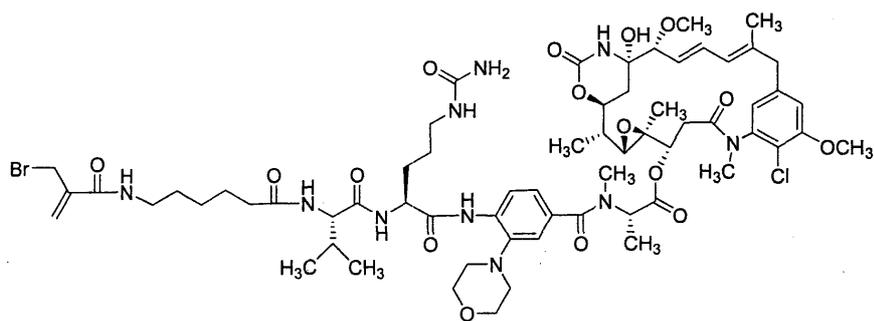


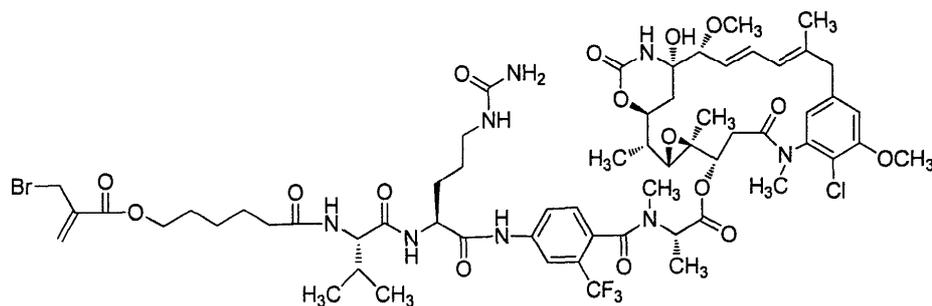
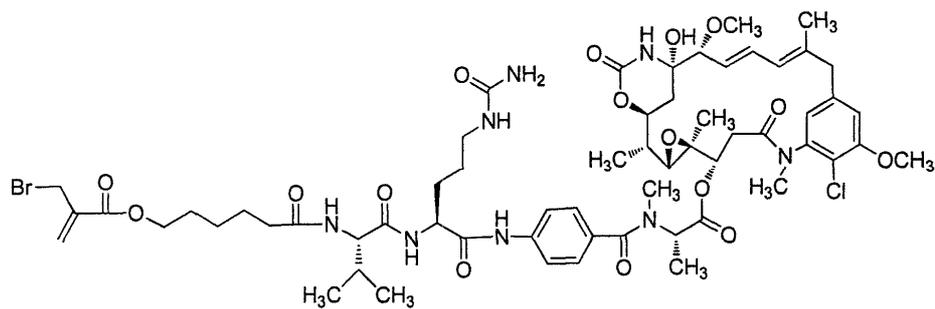
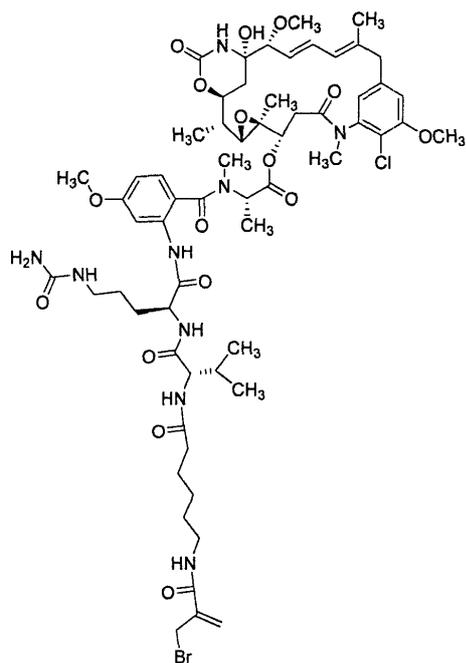


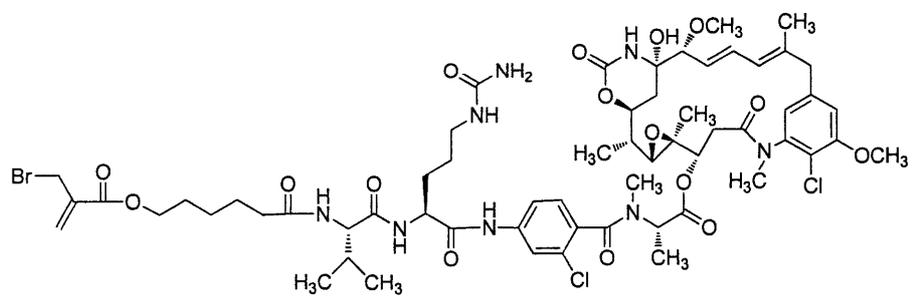
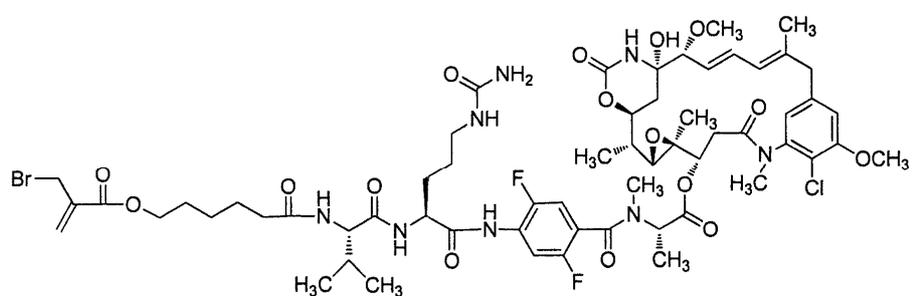
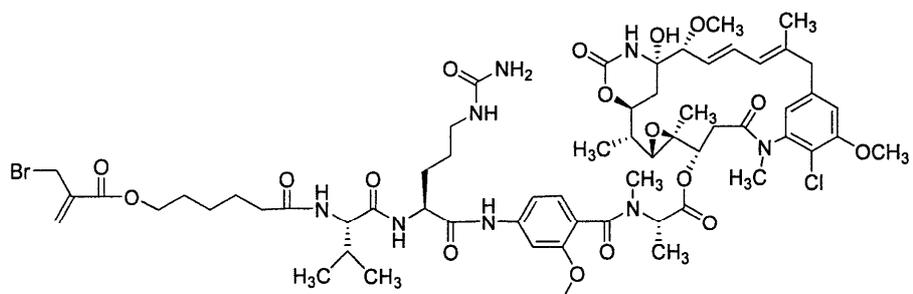
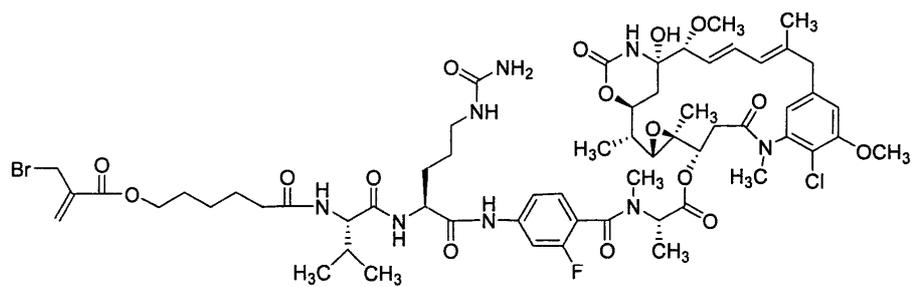


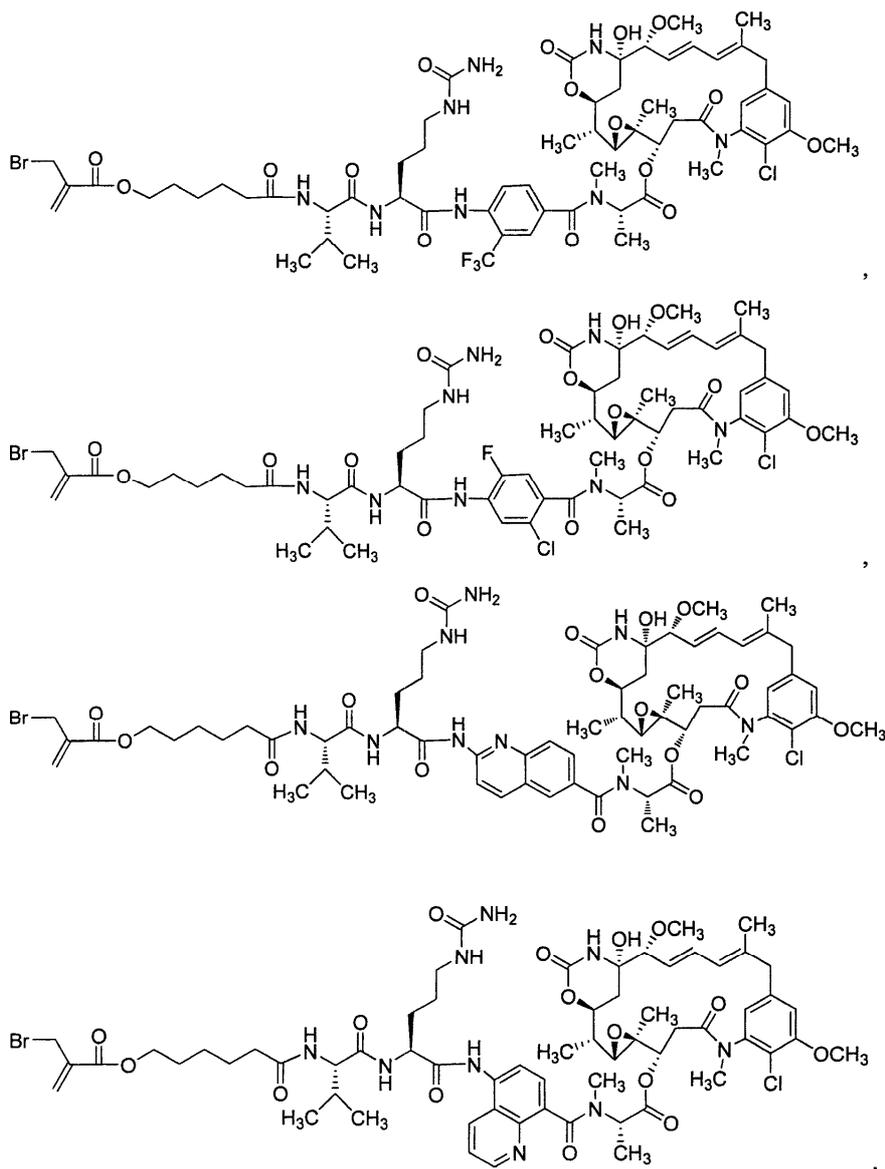


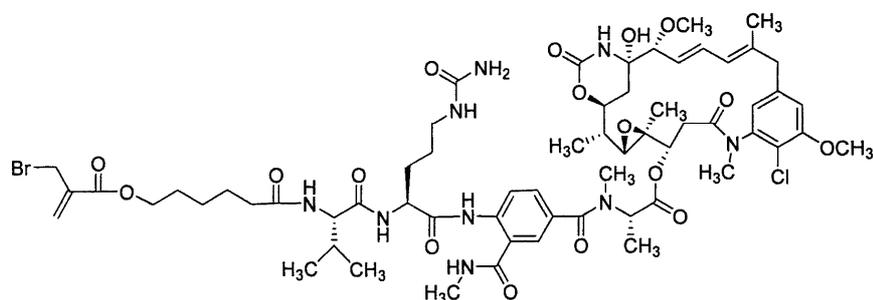
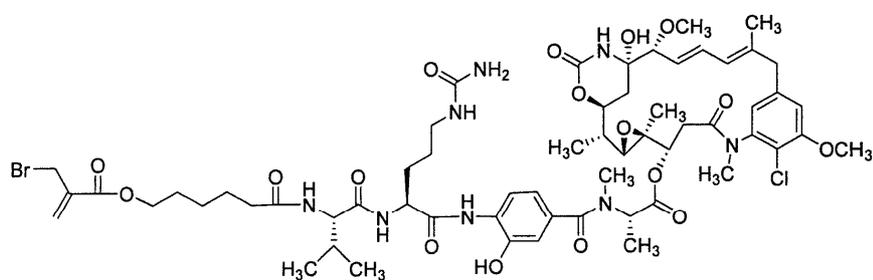
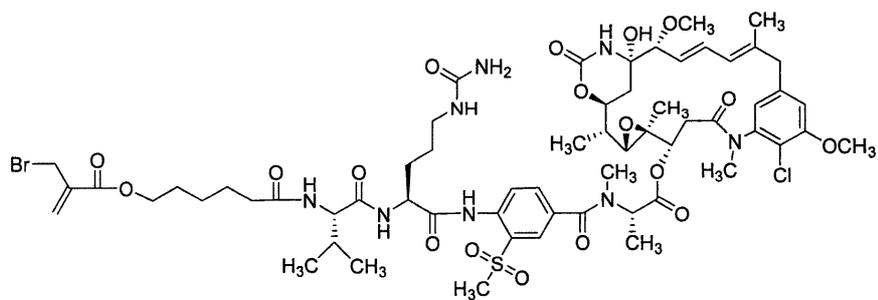
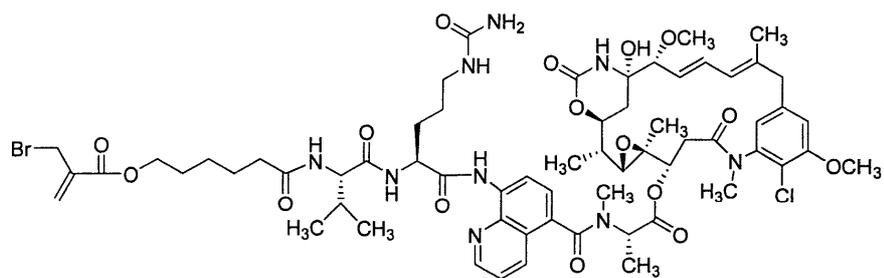
034950



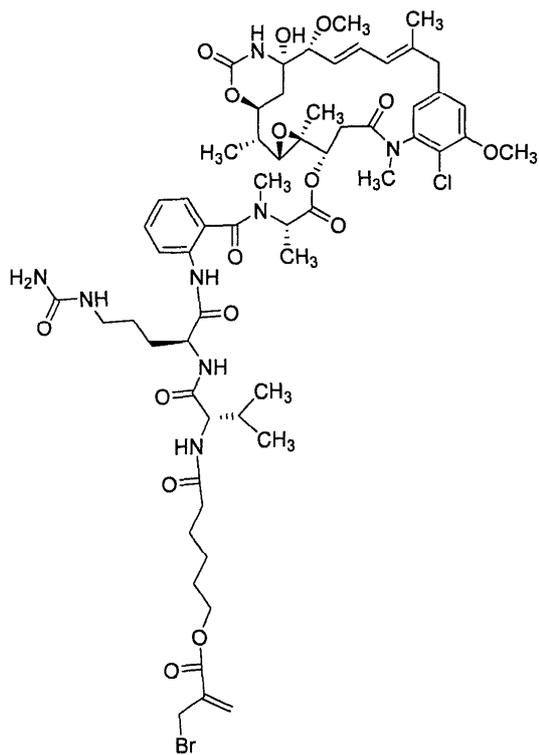
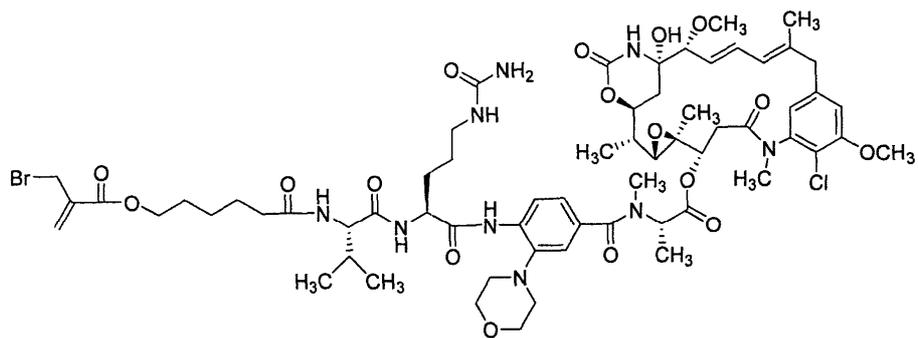




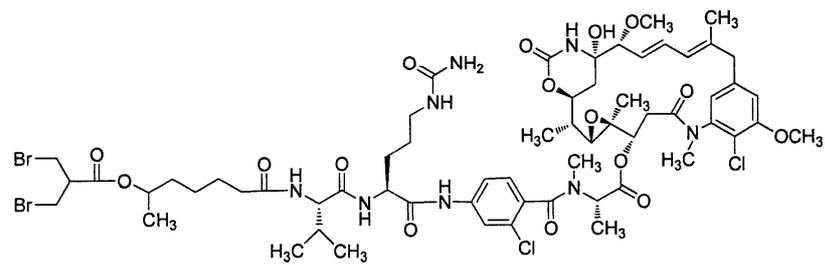
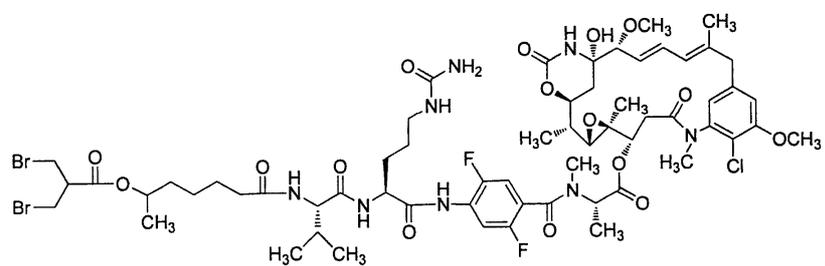
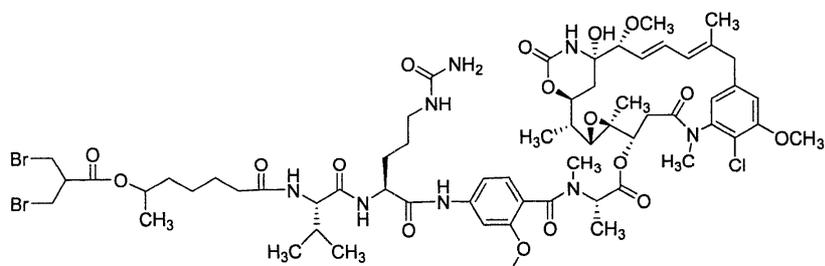
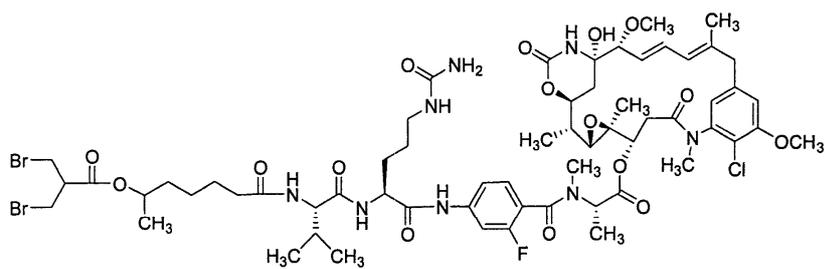


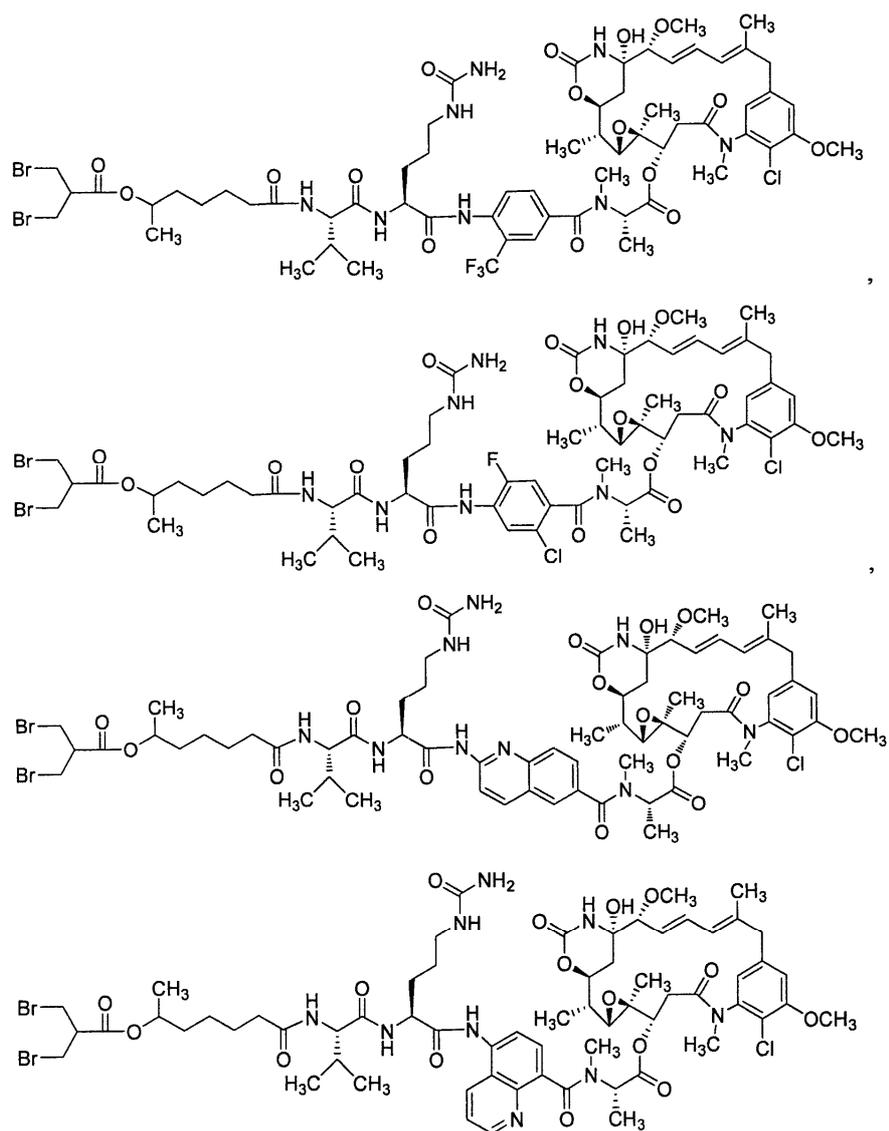


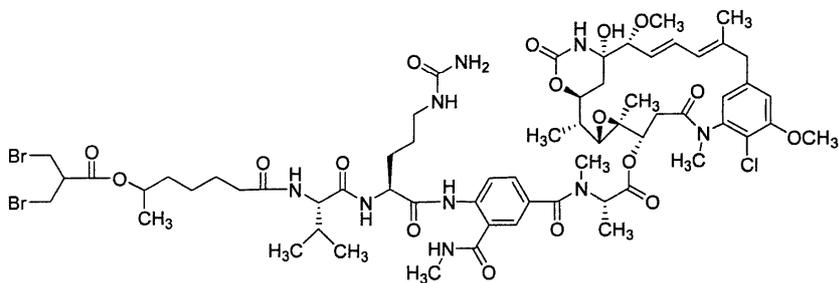
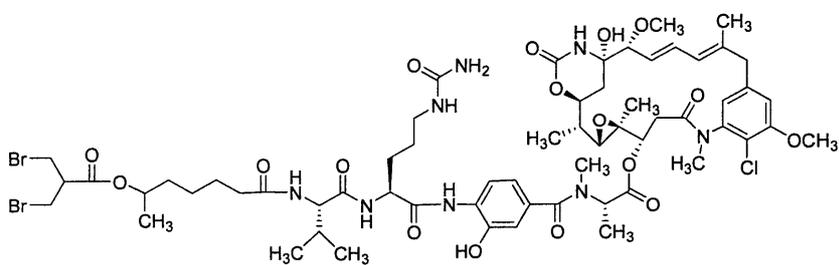
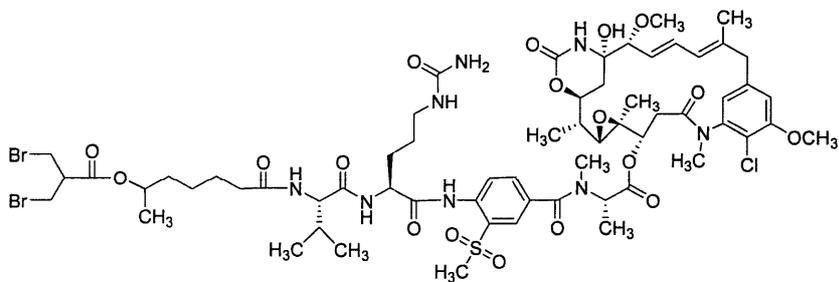
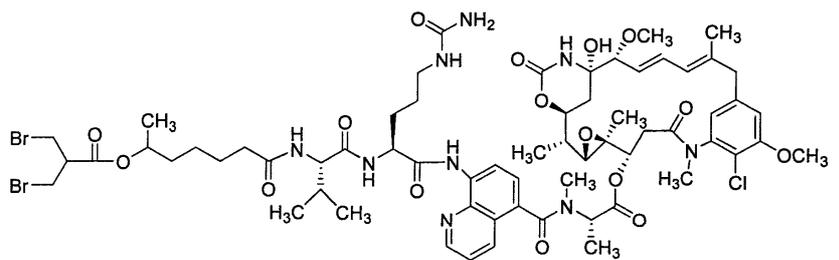
034950



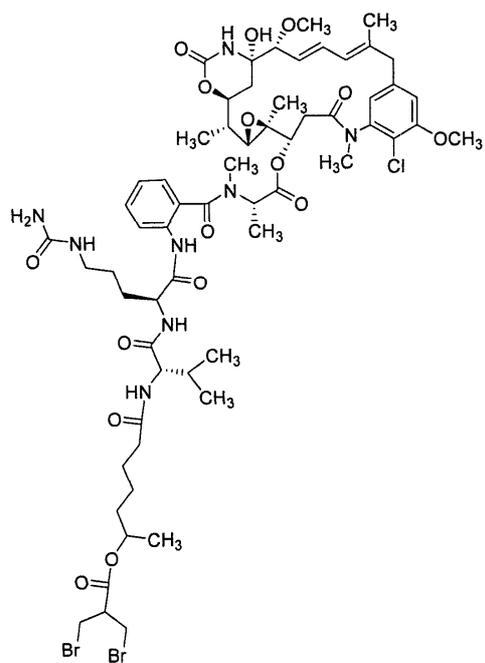
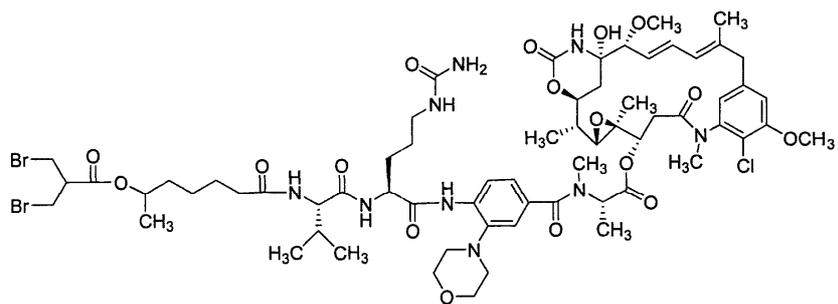


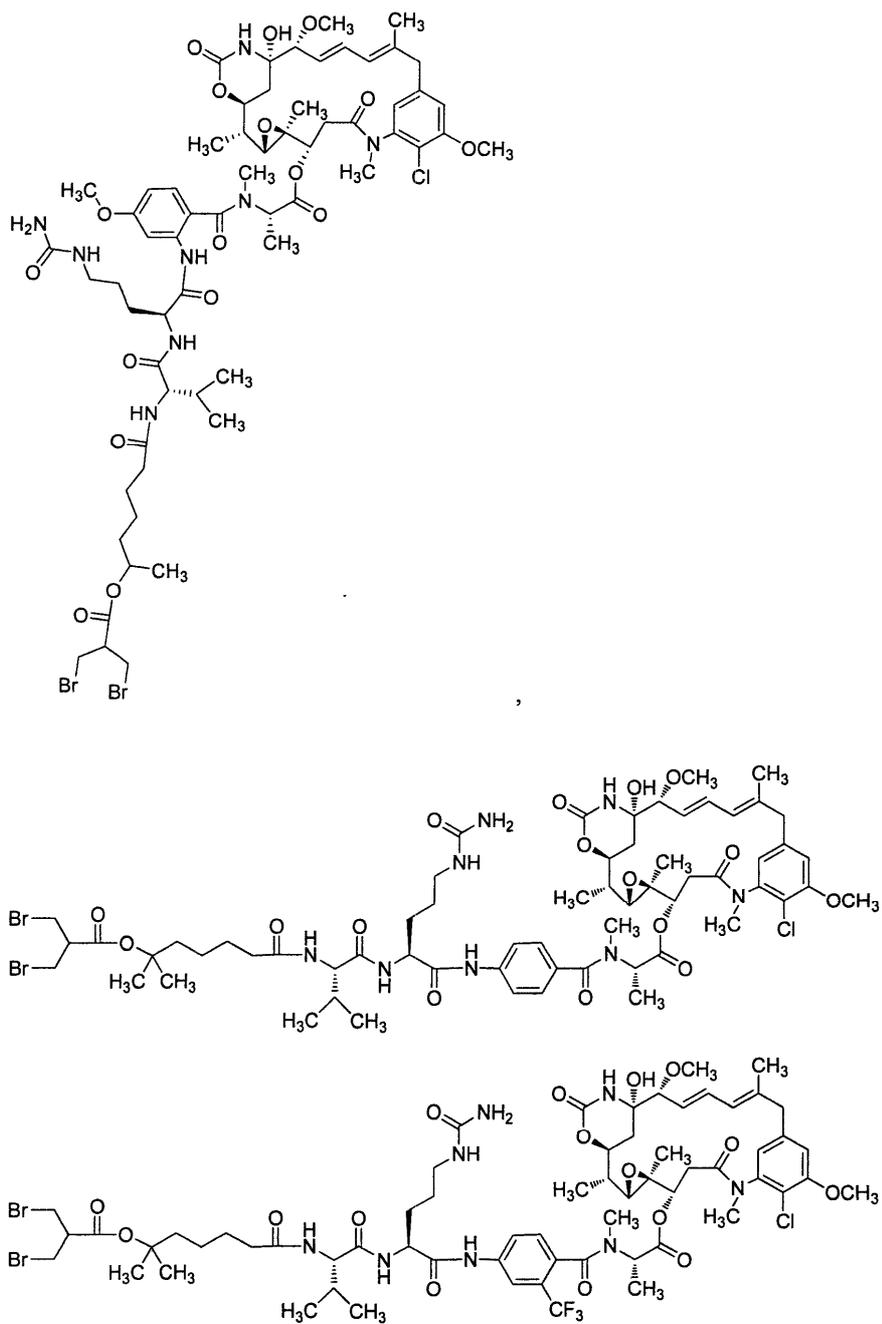


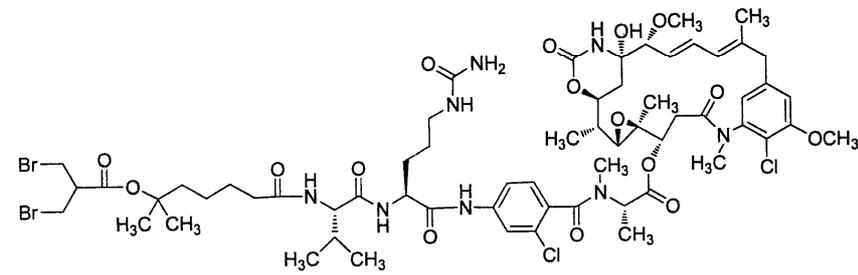
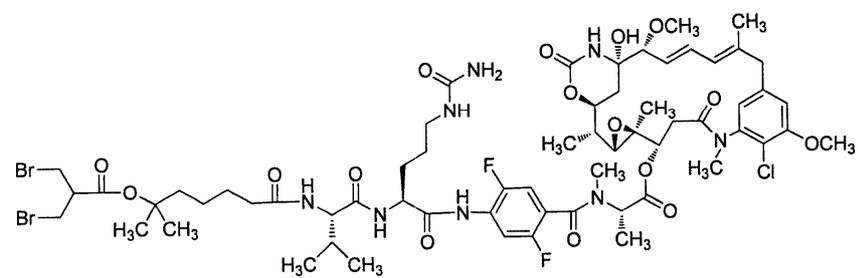
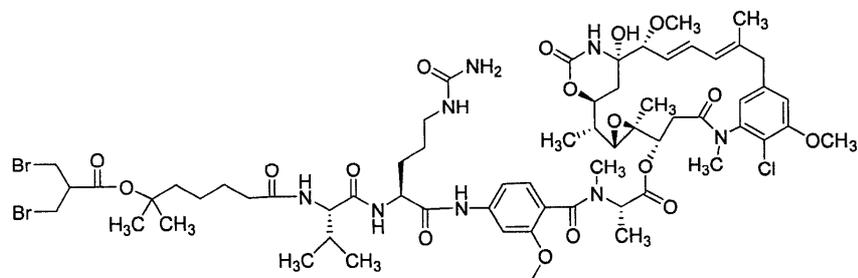
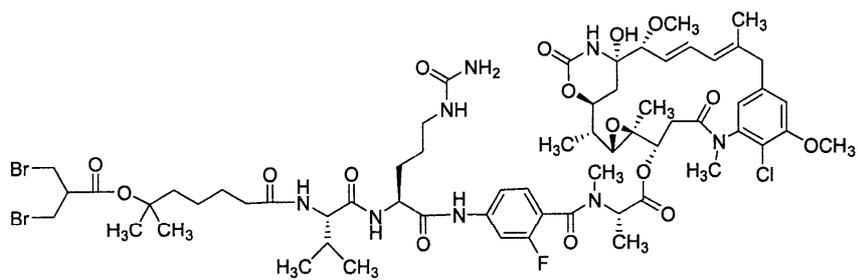


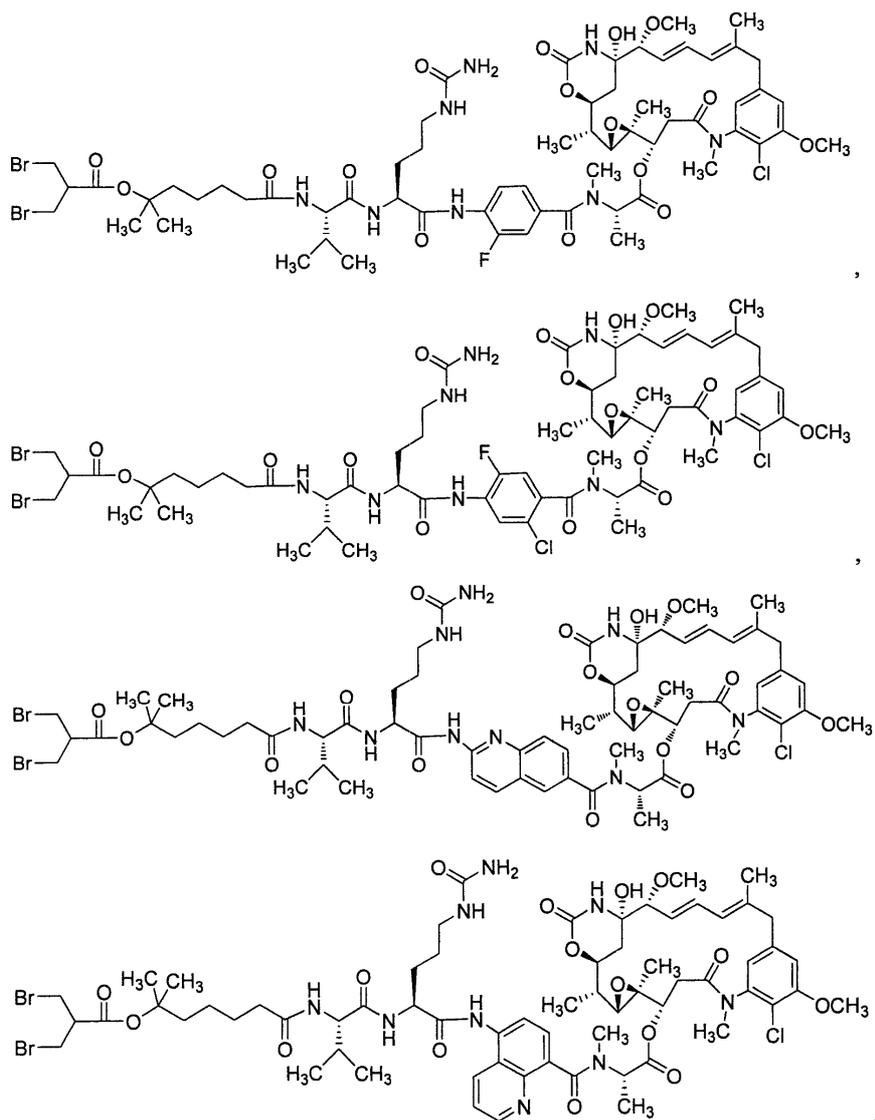


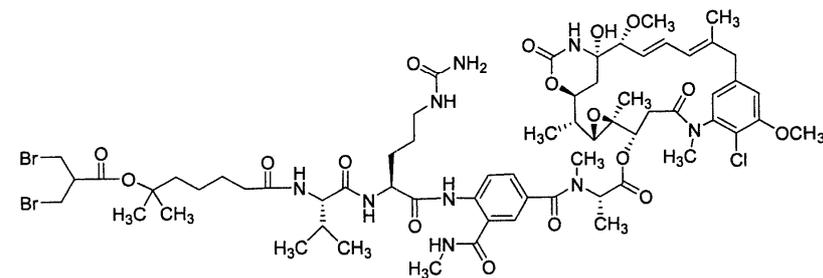
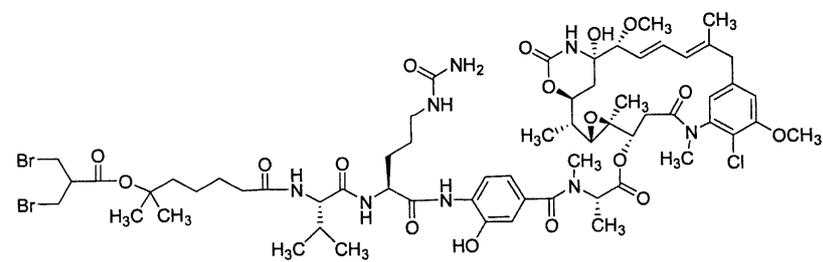
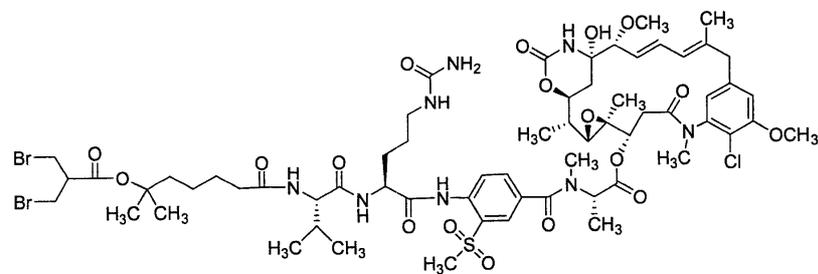
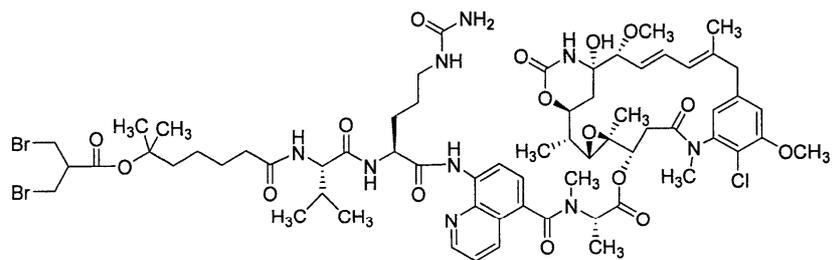
034950



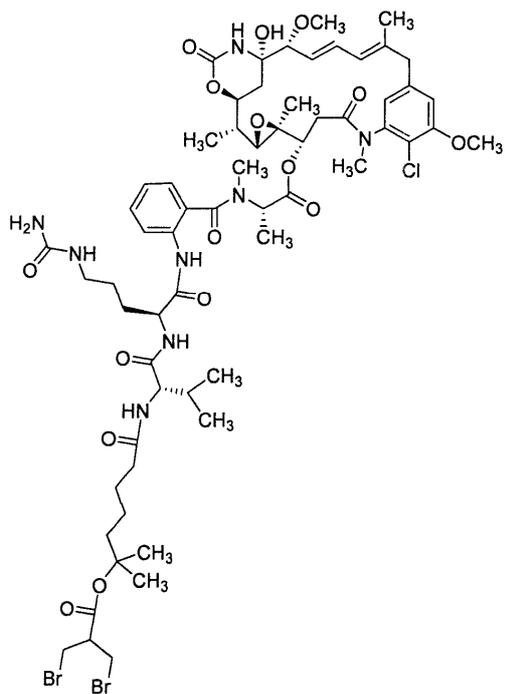
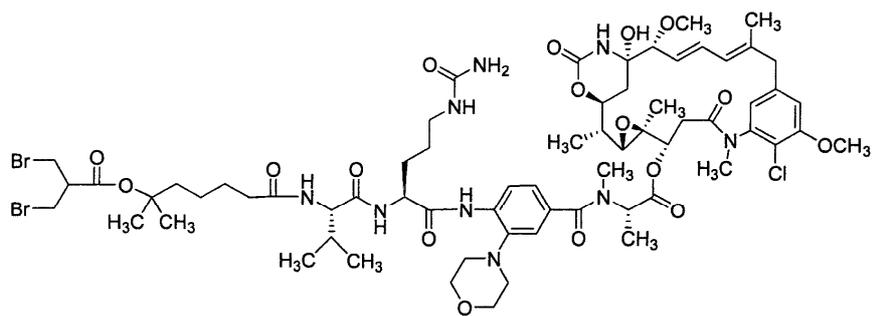


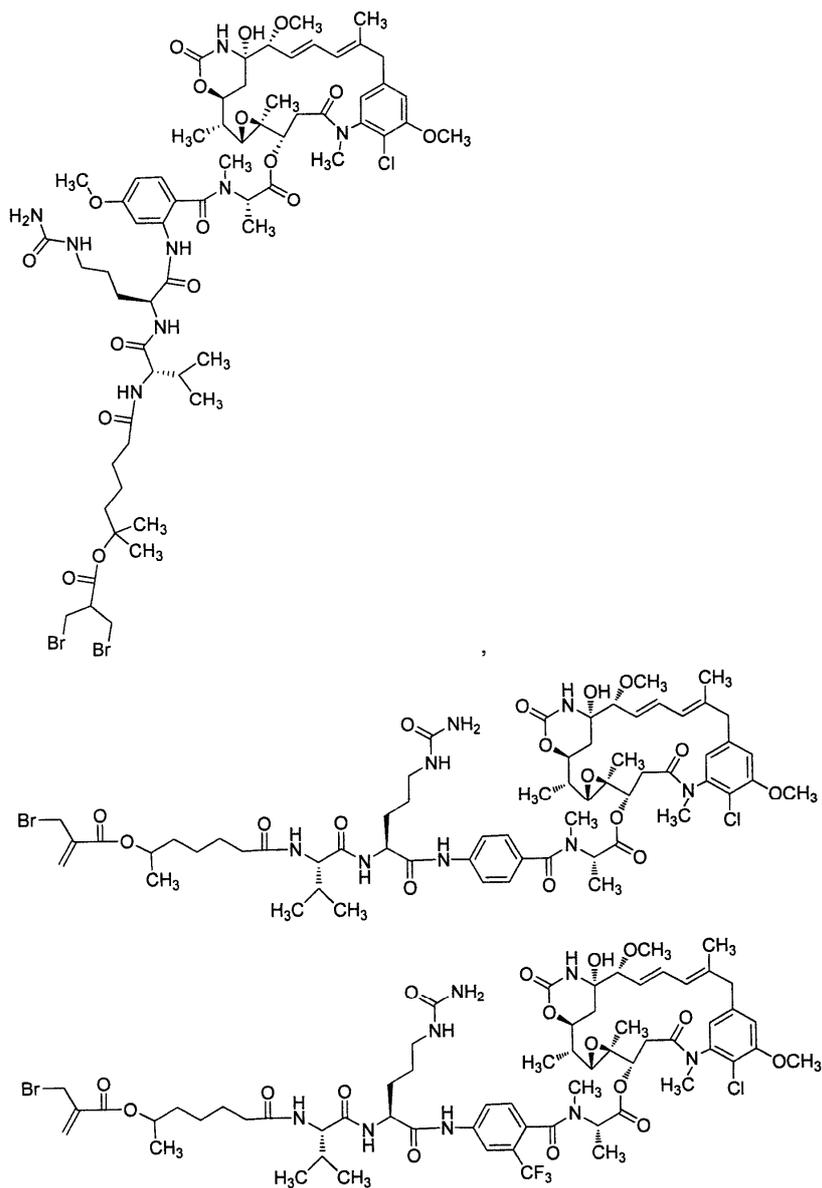


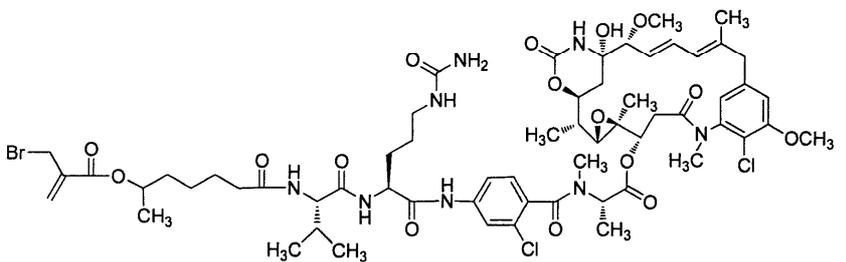
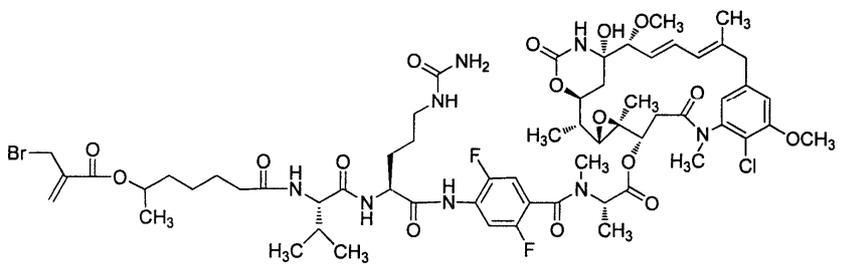
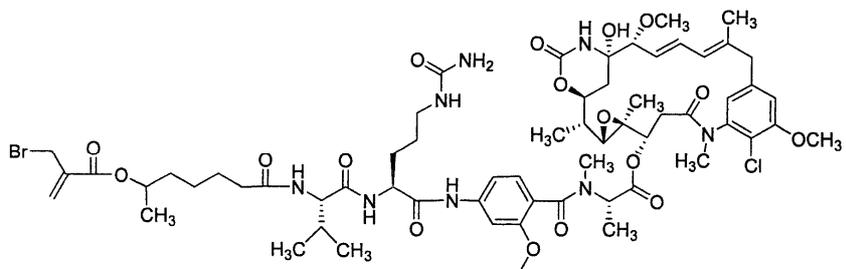
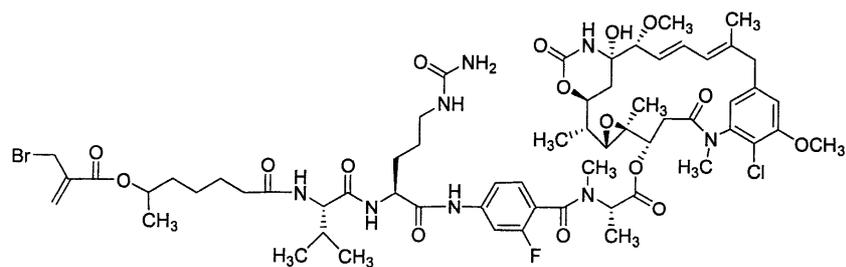


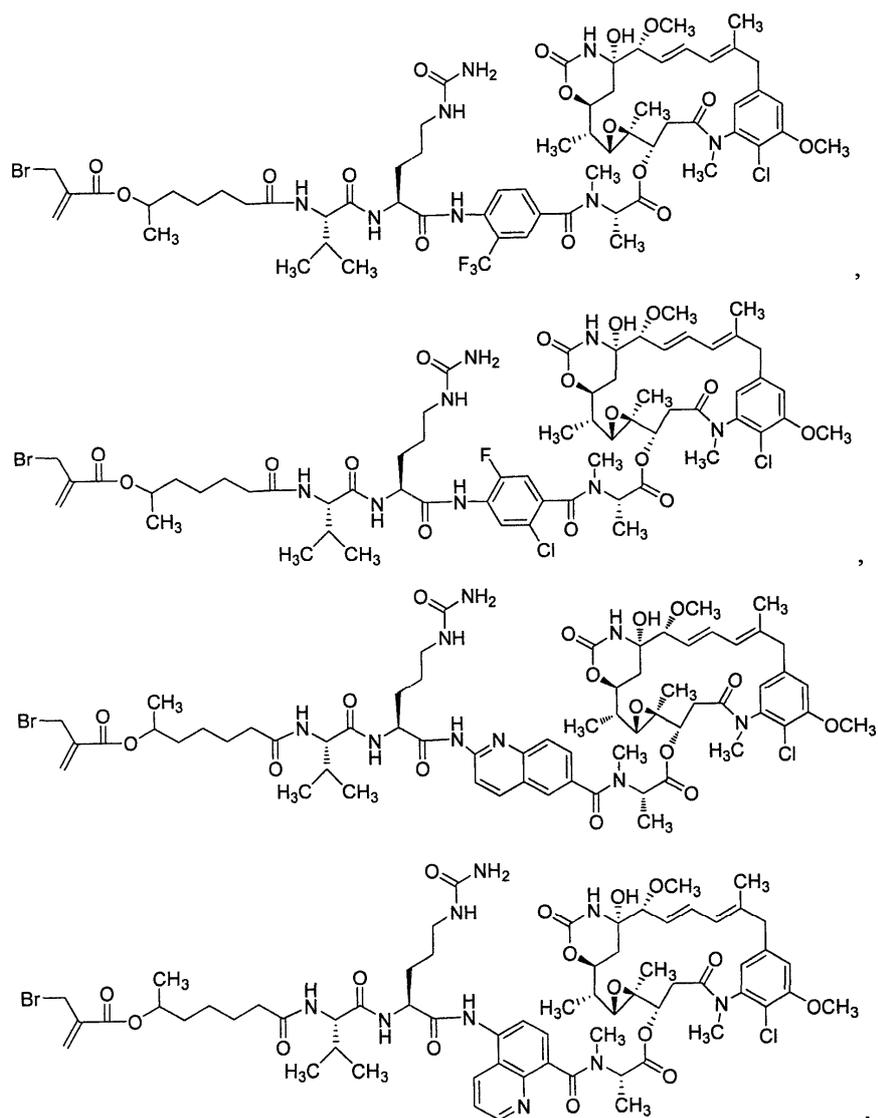


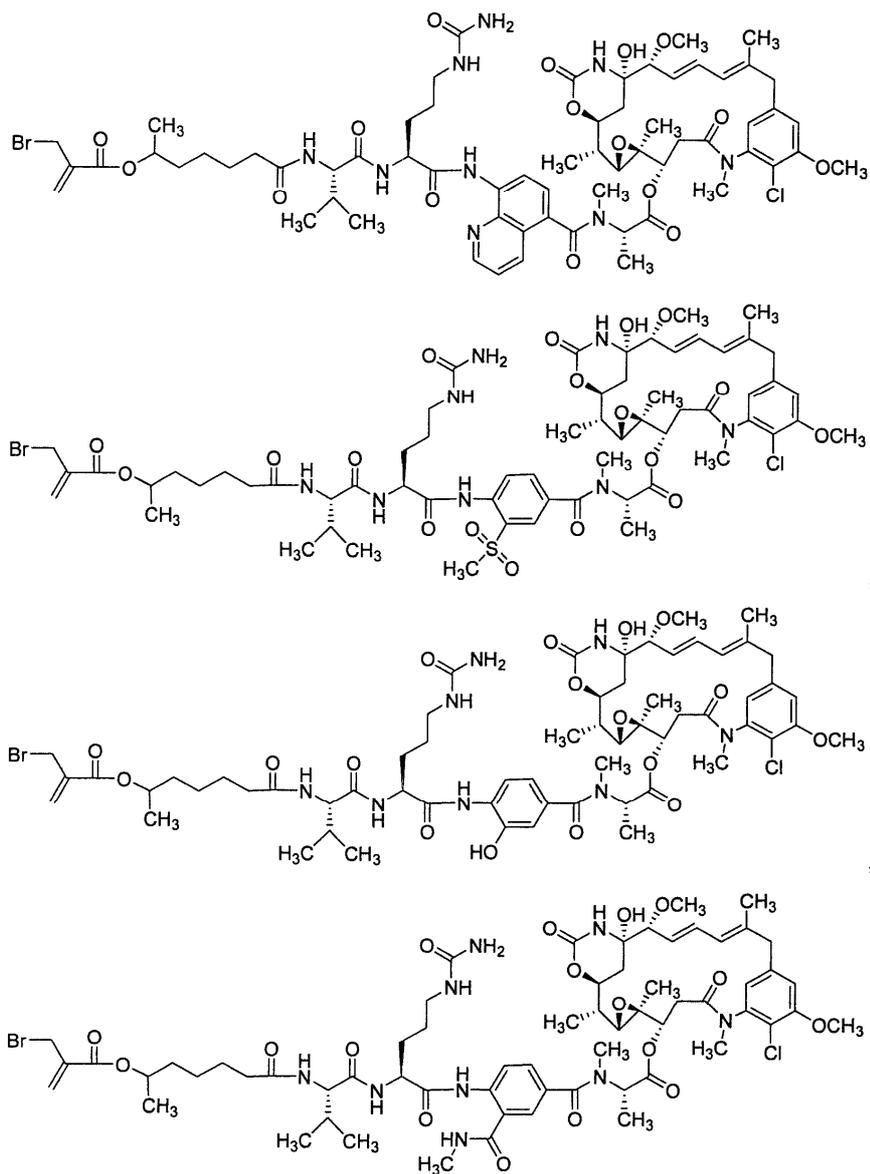
034950



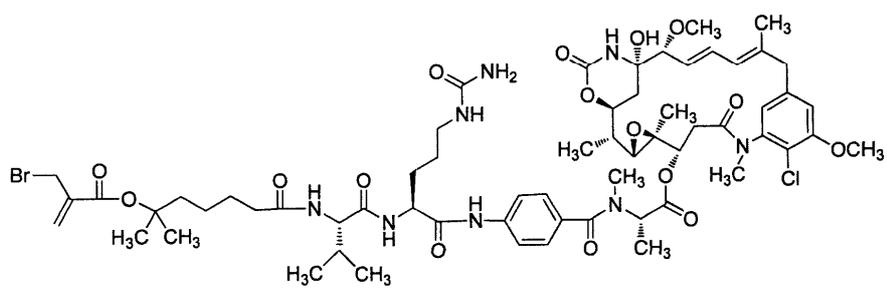
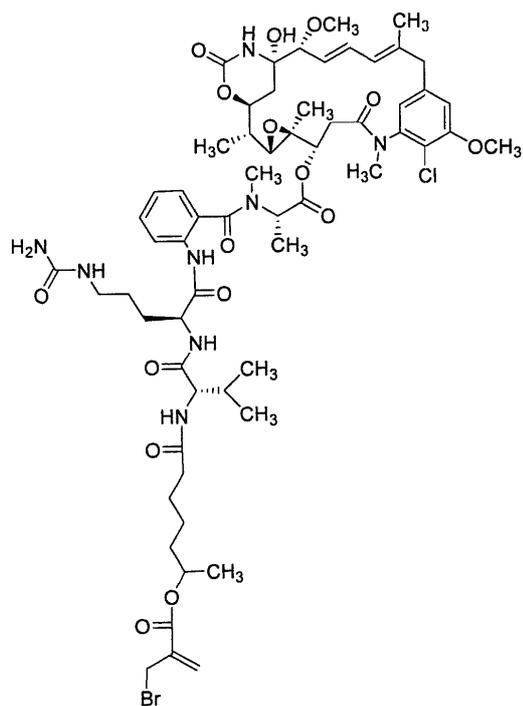
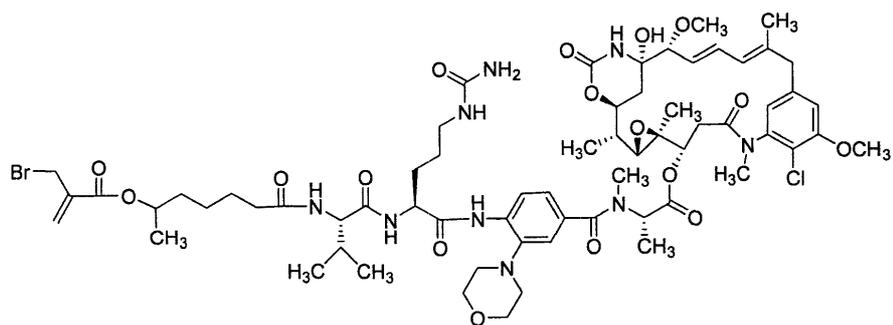


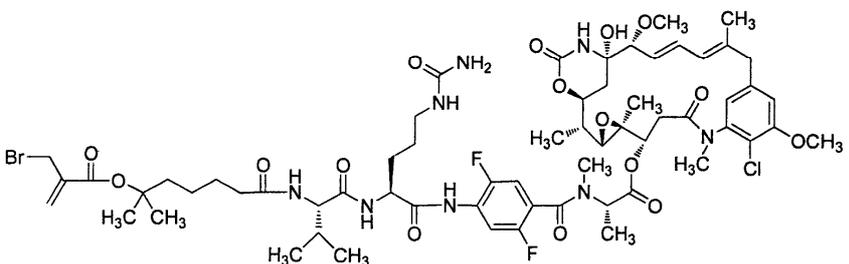
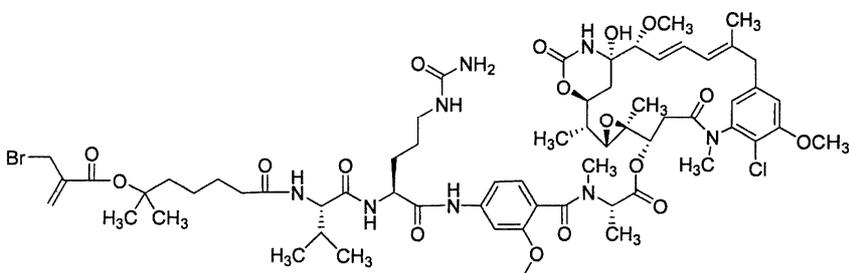
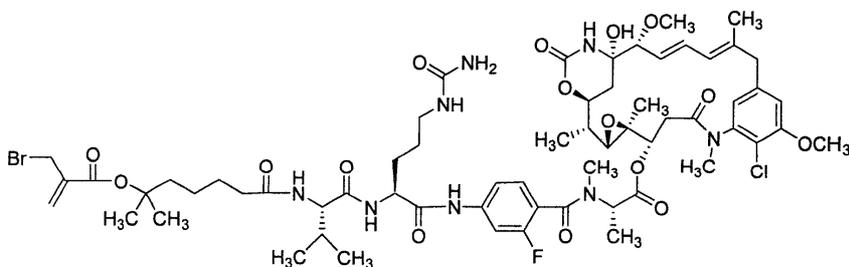
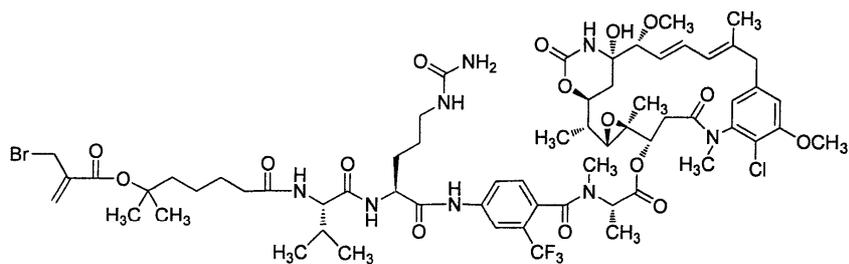


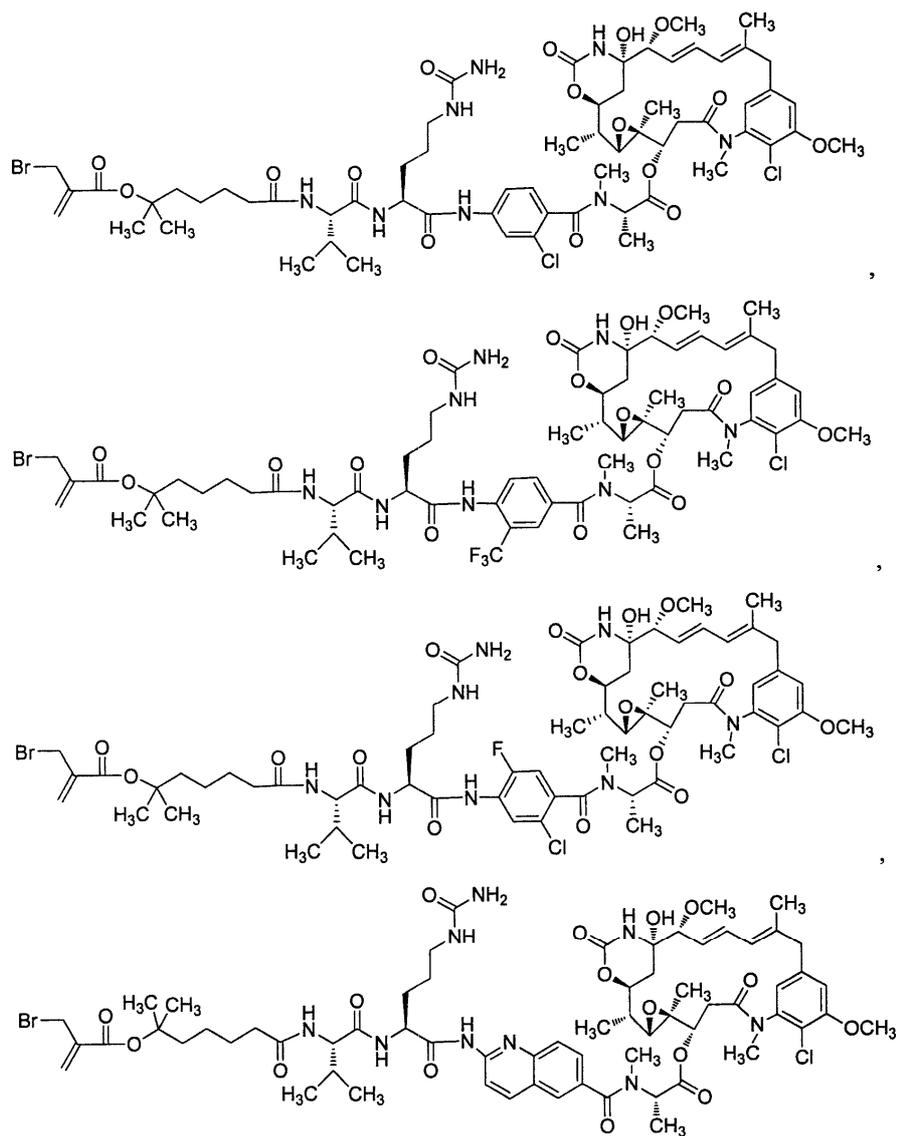


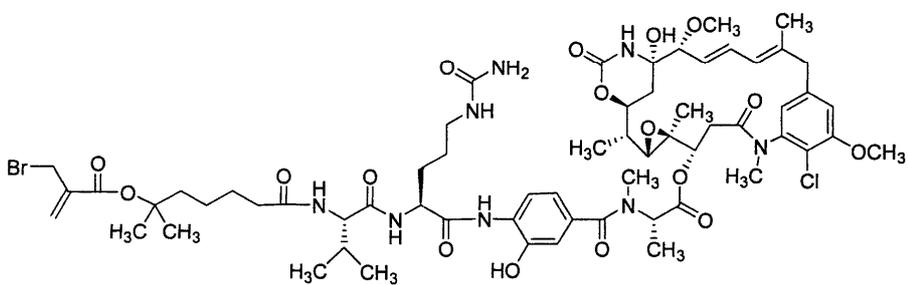
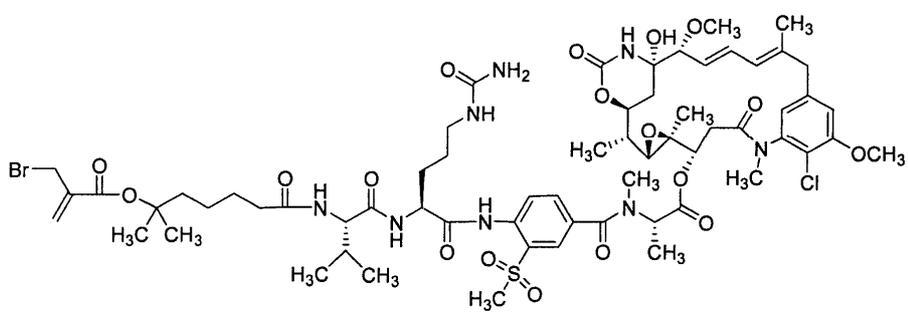
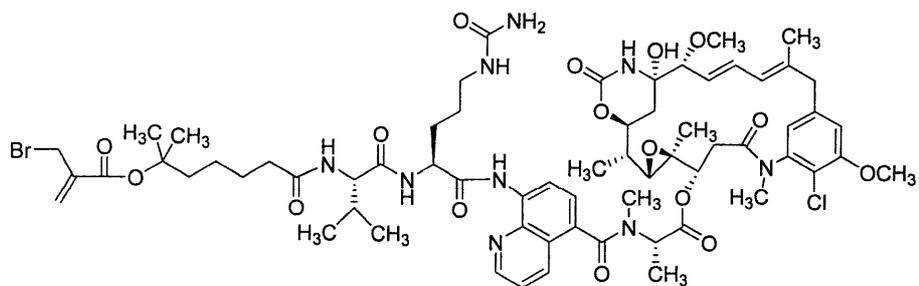
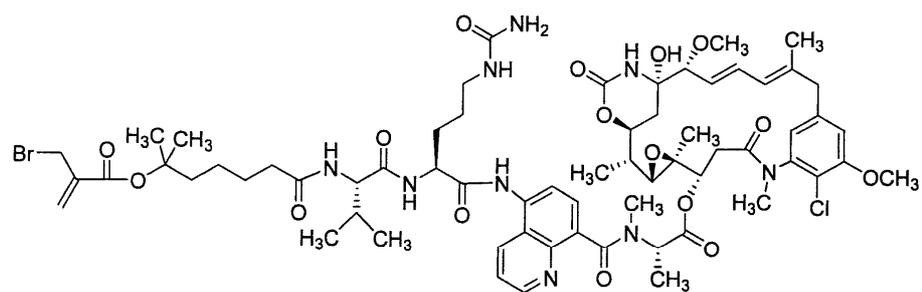


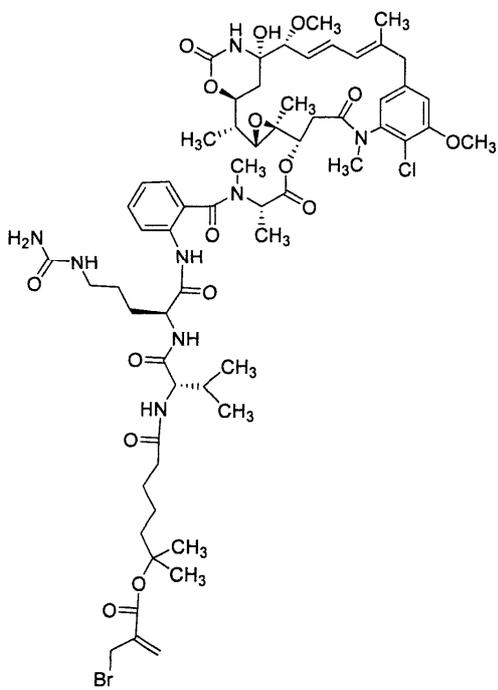
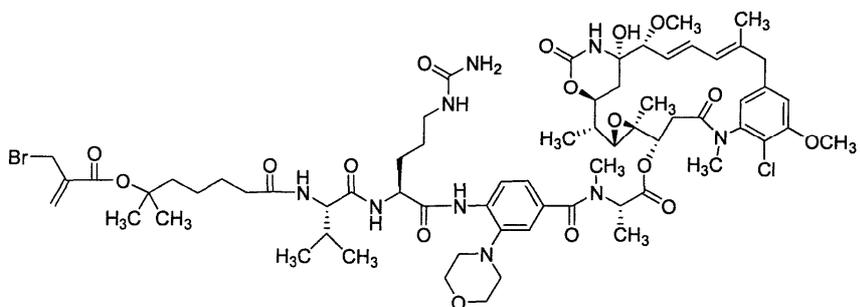
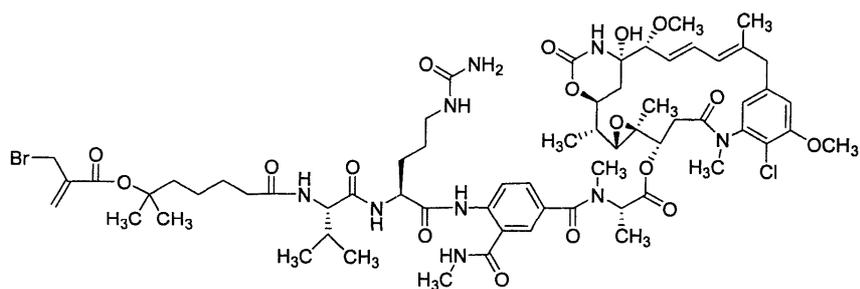
034950



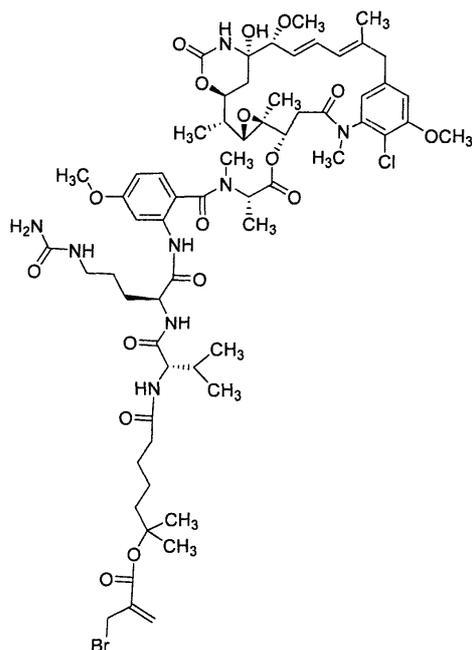




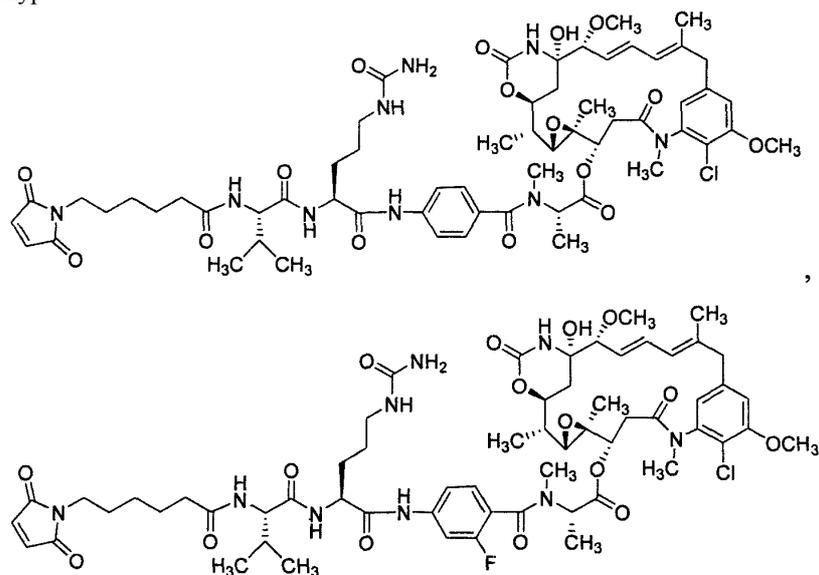


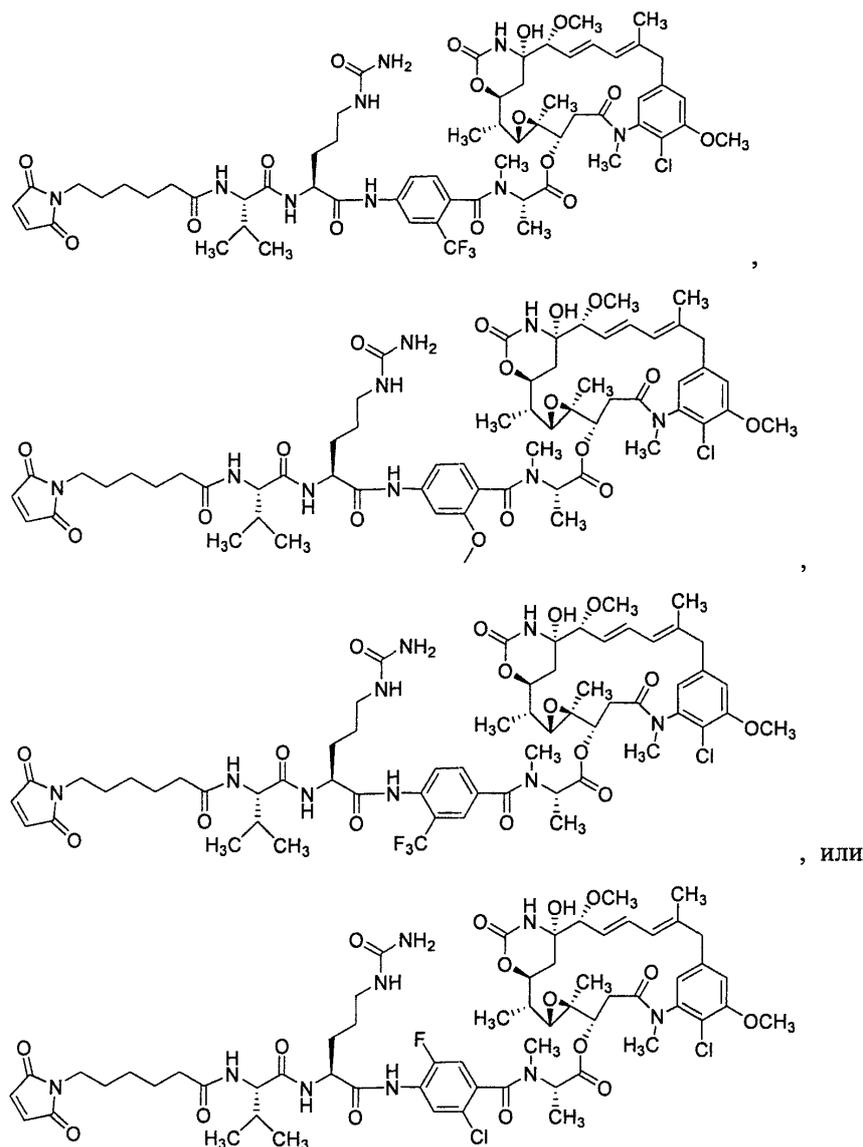


, или



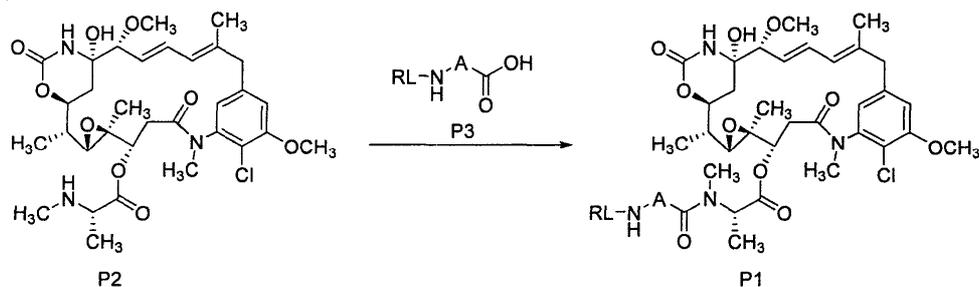
В некоторых реализациях соединение с формулой P1 представляет собой соединение с одной из следующих структур:



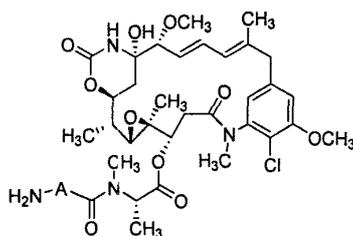


Соединения с формулой P1 могут быть синтезированы реактированием соединений формулы P2 и соединений формулы P3 в условиях синтеза амида. К благоприятным условиям синтеза амида относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, контактирование соединения формулы P2 с основанием в присутствии активирующего агента карбоксильной кислоты. К подходящим активирующим агентам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, EDC, HATU, HBTU, DCC, BOP и EEDQ. К подходящим основаниям относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, DIEA, DBU, трибутиламин и 2,6-лутидин.

Соединения формулы P2 можно синтезировать непосредственно из майтансинола и аланина известными способами (см., например, патент США № 4308269, включенный в список источников настоящей заявки).

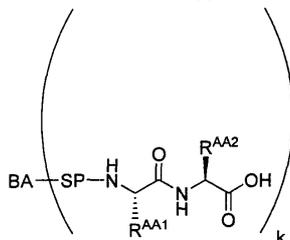


Соединения формулы (I) могут быть синтезированы объединением соединений формулы PP3



PP3

и соединений формулы PP4 в условиях синтеза амида



PP4.

где BA представляет собой связующий агент; и

SP представляет собой спейсер;

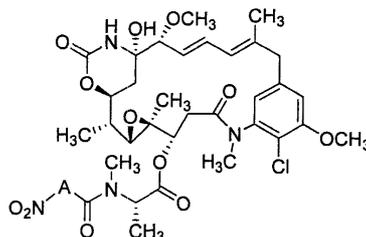
$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку,

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку;

A представляет собой арилен или гетероарилен и

k является целым числом от 1 до 10.

Соединения формулы PP3 могут быть синтезированы контактированием соединений формулы PP5 с подходящим восстановителем



PP5,

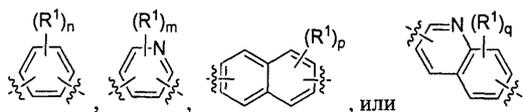
где A представляет собой арилен или гетероарилен.

В некоторых реализациях к подходящим восстановителям относится металл, металлическая фольга, порошковый металл, металлическая амальгама, или металлические наполнители. В определенных реализациях металл выбирается из цинка, железа, алюминия, палладия или никеля Ренея.

Например, в некоторых реализациях используются следующие условия восстановителя. Например, с учетом количества соединения PP5, в некоторых заявляемых способах используется около двадцати (20) эквивалентных частей цинковой пыли и сорок (40) эквивалентных частей уксусной кислоты. В некоторых примерах восстановительная реакция производилась при комнатной температуре на протяжении приблизительно от 1 до 20 ч. В некоторых из этих примеров упомянутая выше уксусная кислота заменена другой подходящей слабой кислотой или протонным донором. К примерам подходящих слабых кислот или протонных доноров относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, муравьиная кислота, pTsOH и  $NH_4Cl$ . В некоторых из этих примеров восстанавливающий металл заменен подходящим восстановителем, выбранным из железа, алюминия, палладия или никеля Ренея. В некоторых из этих примеров к подходящим растворителям относятся включающие 10-50% воды (по объему) в органическом растворителе, допускающем смешивание. К примерам органических растворителей, допускающих смешивание, относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, THF, диоксан и диэтиловый эфир. В некоторых примерах описываемые далее восстановительные реакции производятся при температурах от 0 до 50°C. В некоторых примерах описываемые далее восстановительные реакции производятся на протяжении от 1 до 40 ч.

К подходящим кислотам относится, без ограничения упомянутой, уксусная кислота.

В некоторых реализациях A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкенил, алкинил, арил, алкарил, аралкил, гало, гетероарил, гетероциклоалкил, гидроксил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

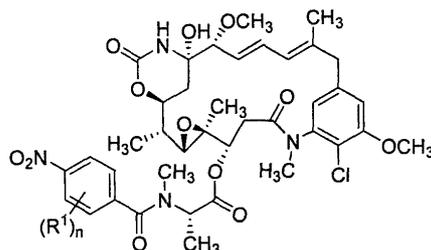
$n$  является целым числом от 0 до 4;

$m$  является целым числом от 0 до 3;

$p$  является целым числом от 0 до 6;

$q$  является целым числом от 0 до 5.

В некоторых реализациях соединение с формулой PP5 представляет собой соединение с формулой PP5A

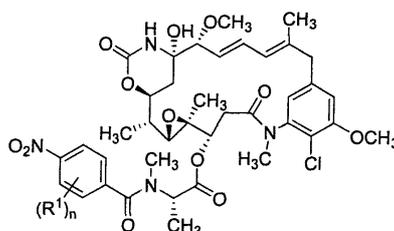


PP5A,

где  $R^1$  и  $n$  определены выше.

В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой алкил, алкокси, гетероалкил, гало, галоалкил или галоалкокси. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой  $\text{C}_{1-6}$ алкил,  $\text{C}_{1-6}$ алкокси,  $\text{C}_{1-6}$ галоалкил,  $\text{C}_{1-6}$ галоалкокси или гало. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой  $\text{C}_{1-6}$ алкил или  $\text{C}_{1-6}$ алкокси. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой алкокси. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой метокси, этокси, пропокси. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $p$  или  $q$  равняются 0, 1 или 2. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $p$  или  $q$  равняются 0 или 1. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $p$  или  $q$  равняются 0.

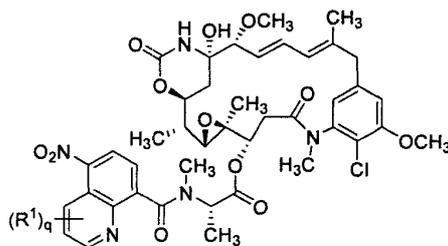
В некоторых реализациях соединение с формулой PP5 представляет собой соединение с формулой PP5A



PP5A,

где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой гало или трифторметил и  $n$  принимает значения 0, 1 или 2.

В некоторых реализациях соединение с формулой PP5 представляет собой соединение с формулой PP5A2



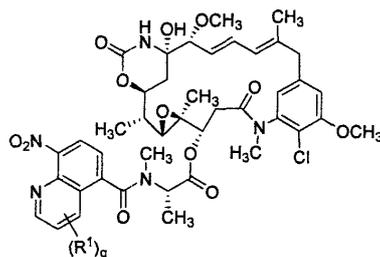
PP5A2,

где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой гало или трифторметил;

$q$  является целым числом от 0 до 5.

В некоторых реализациях соединение с формулой PP5 представляет собой соединение с формулой

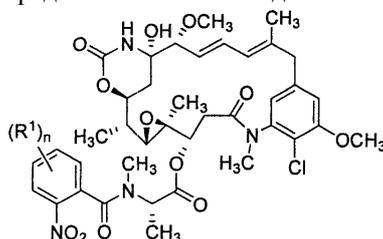
PP5A3



PP5A3,

где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой гало или трифторметил;  $q$  является целым числом от 0 до 5.

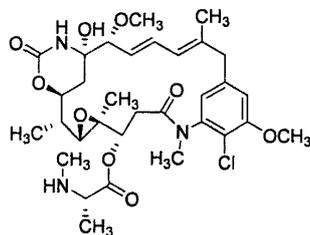
В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой 1-метилэтил-тиол, фенил, 2-фторфенил, пиридинил, 4-пиридинил, пирролидинил или 1-пирролидинил. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой водород. В некоторых реализациях соединение с формулой PP5 представляет собой соединение с формулой PP5A4:



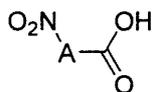
PP5A4,

где  $R^1$  и  $n$  определены выше.

Соединения с формулой PP5 могут быть синтезированы реактированием соединений формулы P2 и соединений формулы PP6 в условиях синтеза амида.



P2,

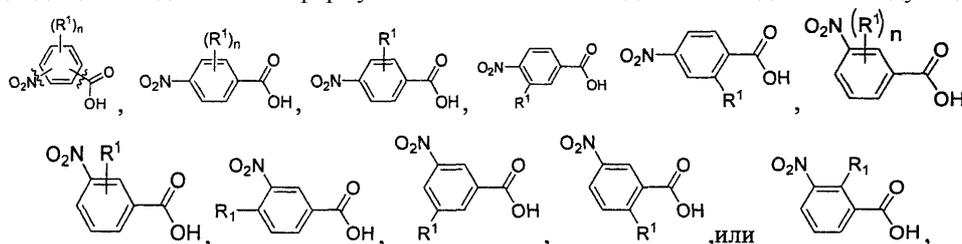


PP6.

К подходящим соединениям с формулой PP6 относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, 3-нитробензойная кислота, 3-хлор-5-нитробензойная кислота, 3-фтор-5-нитробензойная кислота, 3-нитро-1-нафталенкарбоновая кислота, 2-фтор-5-нитробензойная кислота, 3-(диметиламин)-5-нитробензойная кислота, 3-этокси-5-нитробензойная кислота, 2-метокси-5-нитробензойная кислота, 4-метокси-3-нитробензойная кислота, 2,6-дифтор-3-нитробензойная кислота, 2-хлор-6-фтор-3-нитробензойная кислота, 6-хлор-2-фтор-3-нитробензойная кислота, 2-хлор-4-фтор-5-нитробензойная кислота, 4-хлор-2-фтор-5-нитробензойная кислота, 2-этокси-5-нитробензойная кислота, 2-(метиламин)-3-нитробензойная кислота, 6-нитро-8-квинолинкарбоновая кислота, 4-(диметиламин)-3-нитробензойной кислоты гидроксид (1:1), 2-метил-нитробензойная кислота, 3-метил-4-нитробензойная кислота, 4-нитро-1-нафталенкарбоновая кислота, 4-нитро-1-нафталенкарбоновая кислота, 2,6-диметил-4-нитробензойная кислота, 3-фтор-4-нитробензойная кислота, 3-хлор-4-нитробензойная кислота, 3-бром-4-нитробензойная кислота, 3-циано-4-нитробензойная кислота, 3-циклопропил-4-нитробензойная кислота, 3-метокси-4-нитробензойная кислота, 2-метокси-4-нитробензойная кислота, 5-хлор-2-метил-4-нитробензойная кислота, 8-нитро-5-изоквинолинкарбоновая кислота, 5-нитро-8-квинолинкарбоновая кислота, 8-нитро-5-квинолинкарбоновая кислота, 2,5-дифтор-4-нитробензойная кислота, 2-(диметиламин)-4-нитробензойная кислота, 2-хлор-5-фтор-4-нитробензойная кислота, 3-(диметиламин)-4-нитробензойная кислота, 2-[(1-метилэтил)тио]-4-нитробензойная кислота, 4-нитро-3-(трифторметил)бензойная кислота, 4-нитро-2-

(трифторметил)бензойная кислота, 3,5-диметокси-4-нитробензойная кислота, 4-нитро-2-(пропиламин)бензойная кислота, 3-(дифторметокси)-4-нитробензойная кислота, 2-(2-фтор-фенил)-4-нитробензойная кислота, 4-нитро-2-(4-пиридинил)бензойная кислота, 4-нитро-3-(4-пиридинил)бензойная кислота или 4-нитро-2-(1-пирролидинил)бензойная кислота.

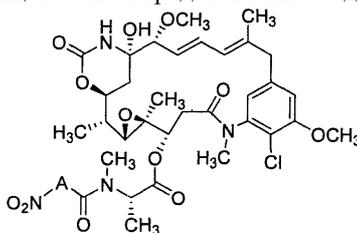
К подходящим соединениям с формулой PP6 относятся соединения с одной из следующих формул:



где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой C<sub>1-6</sub>-алкил, C<sub>1-6</sub>-алкокси, гало, C<sub>1-6</sub>-галоалкил или C<sub>1-6</sub>-галоалкокси, где n принимает значения 0, 1, 2, 3 или 4. В определенных реализациях из этого числа R<sup>1</sup> представляет собой метокси или метил. В некоторых особых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой метокси, фтор, или трифторметил. В определенных реализациях n принимает значения 1 или 2. В некоторых из этих реализаций n равняется 1. В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой фтор, хлор, бром или йод.

В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой 1-метилэтилтиол, фенил, 2-фторфенил, пиридинил, 4-пиридинил, пирролидинил или 1-пирролидинил. В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой трифторметил. В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой метокси. В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой фтор. В некоторых реализациях R<sup>1</sup> представляет собой водород.

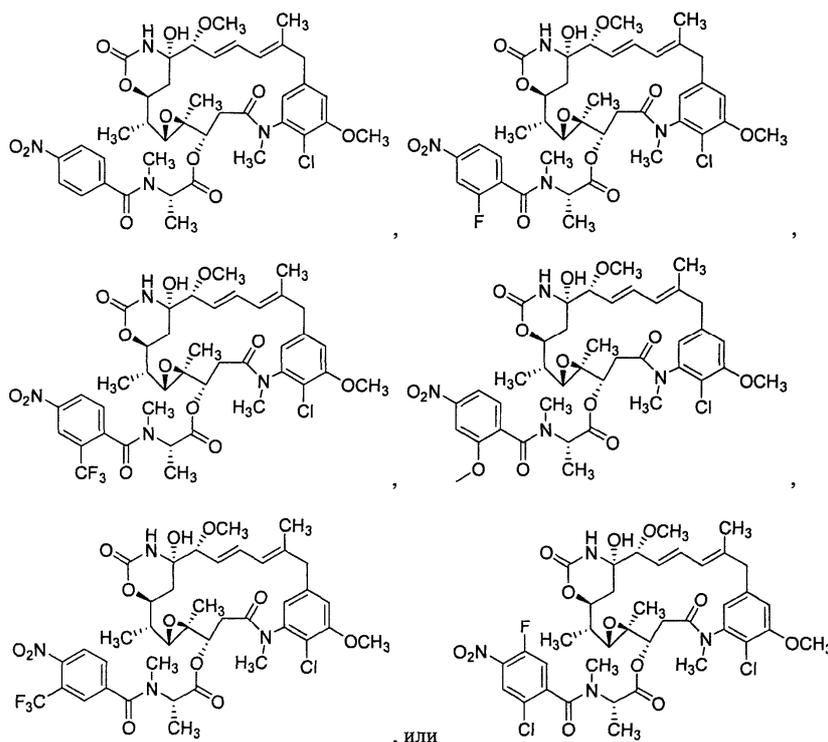
В некоторых реализациях настоящей заявки представлены соединения с формулой PP5



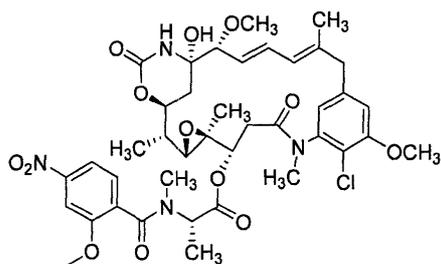
PP5,

где А представляет собой арилен или гетероарилен.

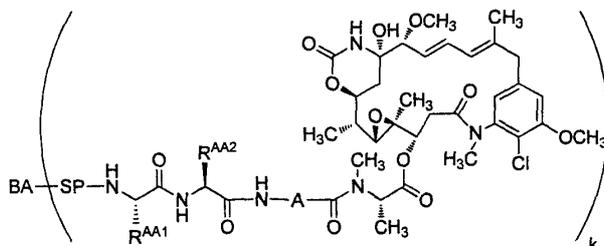
В некоторых реализациях соединение с формулой PP5 представляет собой соединение, выбранное из:



В некоторых реализациях соединение с формулой PP5 представляет собой

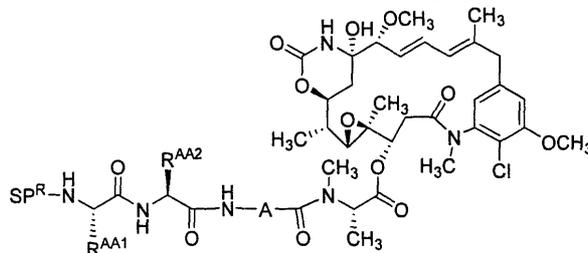


Соединения с формулой III



III;

могут быть синтезированы контактированием соединений формулы PP1



PP1

и связующего агента в условиях конъюгации,

где BA представляет собой связующий агент и

SP представляет собой спейсер;

SP<sup>R</sup> представляет собой реактивный спейсер;

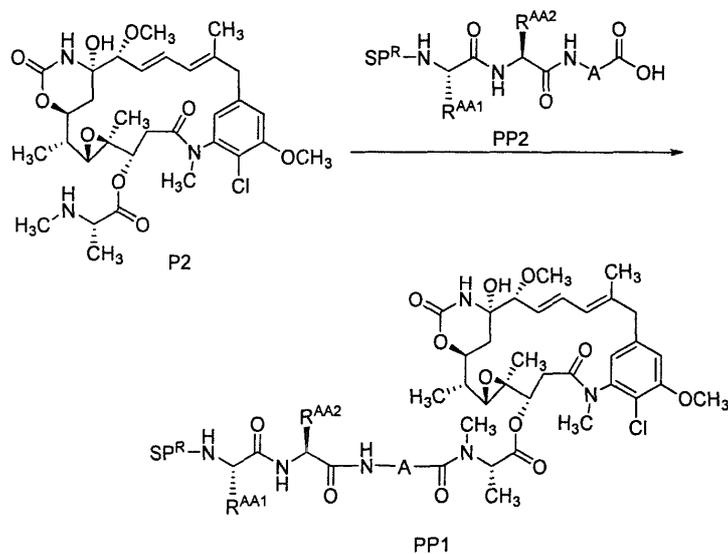
R<sup>AA1</sup> представляет собой аминокислотную боковую цепочку;

R<sup>AA2</sup> представляет собой аминокислотную боковую цепочку;

A представляет собой арилен или гетероарилен и

k является целым числом от 1 до 30.

Соединения с формулой PP1 могут быть приготовлены контактированием соединения формулы PP2 и соединения формулы P2:

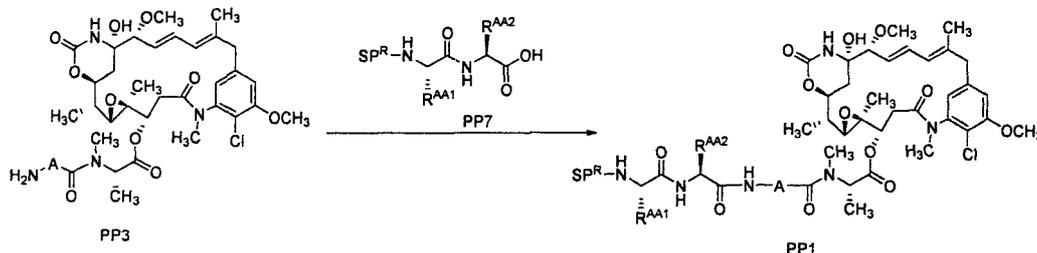


где SP<sup>R</sup> представляет собой реактивный линкер;

R<sup>AA1</sup> представляет собой аминокислотную боковую цепочку;

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и  
 А представляет собой арилен или гетероарилен.

Соединения с формулой PP1 могут быть приготовлены контактированием соединения формулы PP3 с соединением формулы PP7:



где  $SP^R$  представляет собой реактивный линкер;

$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку;

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

А представляет собой арилен или гетероарилен.

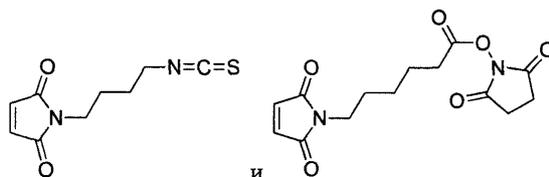
Соединения с формулой PP2 могут быть приготовлены контактированием соединения формулы PP8 с бифункциональным спейсером



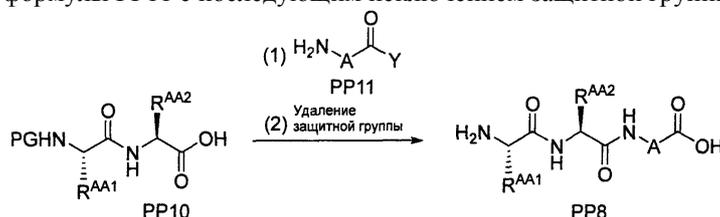
Соединения с формулой PP7 могут быть приготовлены контактированием соединения формулы PP9 с бифункциональным спейсером



Бифункциональные спейсеры представляют собой соединения, реагирующие с соединением формулы PP3 для присоединения молекулярного фрагмента  $SP^R$ , присутствующего в соединениях формулы PP2. К показательным бифункциональным спейсерам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее:



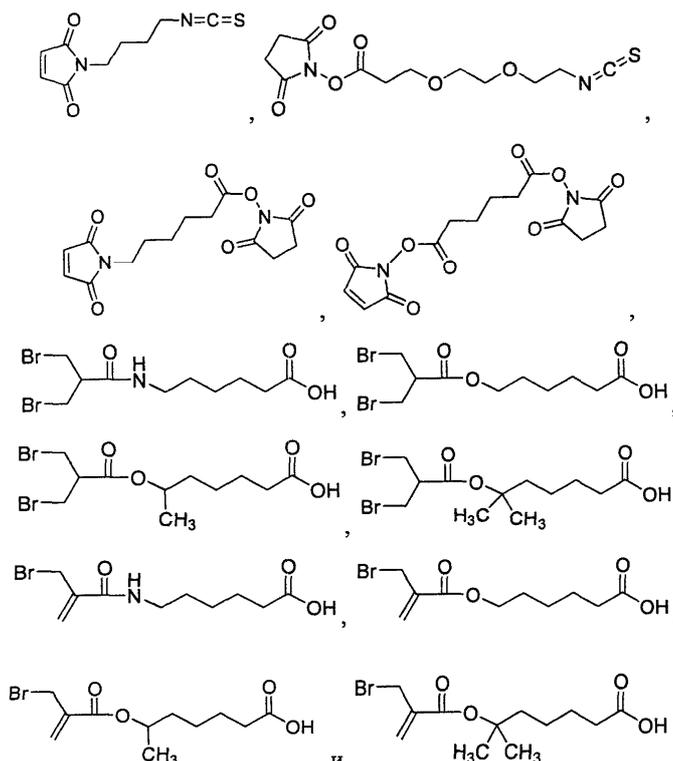
Соединения с формулой PP8 могут быть приготовлены контактированием соединения формулы PP10 с и соединения формулы PP11 с последующим исключением защитной группы:



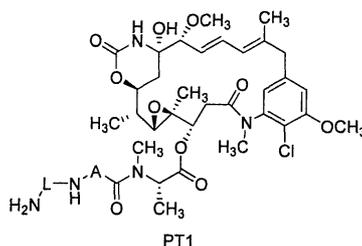
где PG представляет собой аминную защитную группу и Y представляет собой молекулярный фрагмент, покрывающий карбонил, к которому он электрофильно прикреплен.

Соединения с формулой PP10 могут быть приготовлены сочетанием их соответствующих аминокислот посредством стандартных способов сочетания аминокислот, включая, например, активную этерификацию с помощью HATU, BOP/HOBt, или EDC/N-гидроксисукцинимид в присутствии DIEA, DBU или трибутиламина.

Бифункциональные спейсеры представляют собой соединения, реагирующие с соединением формулы PP9 для присоединения молекулярного фрагмента  $SP^R$ , присутствующего в соединениях формулы PP7. К показательным бифункциональным спейсерам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее:

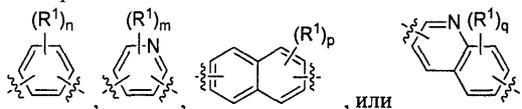


Соединения конъюгата антительного лекарственного препарата формулы (I) могут быть также приготовлены реактивованием подходящего антитела, например, дегликозилированного антитела или негликозилированного антитела и соединения формулы (PT1) в присутствии транскляминазы



где A представляет собой арилен или гетероарилен и L представляет собой линкер.

В некоторых реализациях A представляет собой:



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой гало, галоалкил, галоалкокси, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, алкокси, галоалкокси, арил, алкарил, аралкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

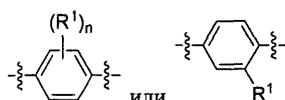
n является целым числом от 0 до 4;

m является целым числом от 0 до 3;

p является целым числом от 0 до 6;

q является целым числом от 0 до 5.

В некоторых реализациях A представляет собой:



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой гало, галоалкил, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкарил, аралкил, гетероарил, гетероалкил, гетероциклоалкил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азидо,

где  $R^A$  представляет собой алкил или гетероалкил;

$n$  является целым числом от 0 до 4;

$m$  является целым числом от 0 до 3;

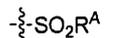
$r$  является целым числом от 0 до 6;

$q$  является целым числом от 0 до 5.

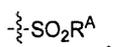
В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой независимо алкил или гало.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой независимо  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ галоалкил или гало. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой гало. В некоторых реализациях  $R^1$  независимо представляет собой фтор, хлор, бром, йод или трифторметил. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0, 1 или 2. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0 или 1. В некоторых реализациях  $n$ ,  $m$ ,  $r$  или  $q$  равняются 0.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой



В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой



где  $R^A$  представляет собой метил.

В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой гидроксил. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой  $N$ -метилформамид. В некоторых реализациях  $R^1$  представляет собой морфолинил. В некоторых реализациях линкер содержит одну или более аминокислоты. К подходящим аминокислотам относятся природные, искусственные, стандартные, нестандартные, протеиногенные, непротеиногенные и  $L$ - или  $D$ - $\alpha$ -аминокислоты. В некоторых реализациях линкер содержит аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, или их производную. В некоторых реализациях линкер содержит валин и цитруллин.

В некоторых реализациях линкер представляет собой



где один  $\overset{\xi}{\underset{\xi}{}}$  представляет собой одну или более связей с полезной частью;

другой  $\overset{\xi}{\underset{\xi}{}}$  представляет собой одну или более связей с  $-NH_2$  соединения РТ1;

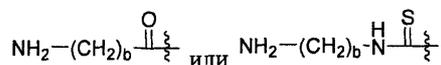
$AA^1$  представляет собой аминокислоту и

$AA^2$  представляет собой аминокислоту.

Линкер может дополнительно содержать дивалентный молекулярный фрагмент, соединяющий молекулярный фрагмент  $AA^1-AA^2$  с  $-NH_2$  из РТ1. К подходящим дивалентным молекулярным фрагментам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, содержащие алкилен или полиэтиленгликоль. Дивалентный молекулярный фрагмент может содержать одну или две реактивные группы для облегчения связи с остатком соединения, или один или более остатков таких реактивных групп.

РТ1 содержит первичный аминоконцевой алкилен или первичный аминоконцевой полиэтиленгликоль. Первичный аминоконцевой молекулярный фрагмент может быть непосредственно связан с дегликозилированным антителом или негликозилированным антителом в присутствии трансглутаминазы.

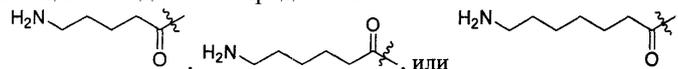
В некоторых реализациях соединение содержит первичный аминоконцевой алкилен. В некоторых реализациях соединение содержит  $NH_2-C_{5-7}$ алкилен. В некоторых реализациях соединение представляет собой:



где  $\overset{\xi}{\underset{\xi}{}}$  представляет собой связь с полезной частью и

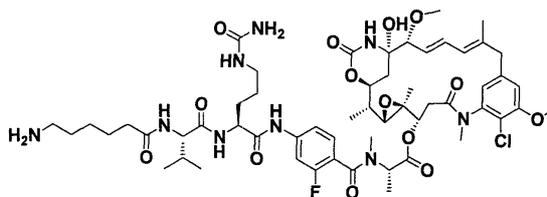
$b$  является целым числом от 2 до 8.

В некоторых реализациях соединение представляет собой:



где  $\overset{\xi}{\underset{\xi}{}}$  представляет собой связь с полезной частью.

В некоторых реализациях соединение РТ1 представляет собой



В некоторых реализациях соединение формулы (I) готовится контактированием связывающего агента с PT1 в присутствии трансглутаминазы в условиях, благоприятных для реакции трансглутаминации. В некоторых реализациях реакция трансглутаминации происходит при pH между примерно 7 и 8 в течение примерно 4 ч. В некоторых примерах pH принимает значения 7,2; 7,3; 7,4; 7,5; 7,6; 7,8 или 8. В некоторых реализациях соединение формулы (I) готовится посредством реакции трансглутаминации, где концентрация соединения формулы (PT1) равняется как минимум 30 молярным эквивалентам (мол.экв.) относительно дегликозилированного антитела или негликозилированного антитела. В некоторых реализациях соединение формулы (I) готовится посредством реакции трансглутаминации, где концентрация соединения формулы (PT1) находится в диапазоне от 30 до 150 мол.экв. относительно дегликозилированного антитела или негликозилированного антитела. В некоторых реализациях соединение формулы (I) готовится посредством реакции трансглутаминации, где концентрация соединения формулы (PT1) находится в диапазоне от 1 до 30 U на 1 мг дегликозилированного антитела или негликозилированного антитела.

В некоторых реализациях дегликозилирование антитела производится пептидом N-глюкозидазы F (PNGaseF) до реакции трансглутаминации. В некоторых реализациях антитело негликозилировано.

Негликозилированное антитело может быть приготовлено мутагенными способами для удаления одной или более аминокислотных последовательностей, что необходимо для гликозилирования антитела. В некоторых реализациях антитело содержит тяжелую цепь с мутацией, замещающей другую аминокислоту на N180. В определенных реализациях негликозилированное антитело содержит один или более N180Q тяжелоцепочечных пептидов.

В некоторых реализациях соединение формулы (I) готовится посредством реакции трансглутаминации, происходящей в одном или более растворителе (растворителях), отобранных из группы, содержащей воду, забуференную воду, физиологический раствор, забуференный физиологический раствор и органику.

В некоторых реализациях соединение формулы (I) готовится посредством реакции трансглутаминации, происходящей в воде, забуференной фосфатом, HEPES, или MOPS.

В некоторых реализациях соединение формулы (I) готовится посредством реакции трансглутаминации, включающей в себя реагирование глютаминил-модифицированного антитела с соединением реактивного спейсера для получения антительного спейсерного конъюгата; и затем реагирование антительного спейсерного конъюгата с соединением реактивной полезной части для образования конъюгата антительной спейсерной полезной части.

В некоторых реализациях заявляемого изобретения глютамин-модифицированное антитело готовится изложенным ниже способом.

В некоторых реализациях заявляемого изобретения лекарственный препарат содержащий глютамин-модифицированное антитело, готовится изложенным ниже способом.

В некоторых реализациях заявляемого изобретения способ лечения состояния объекта, нуждающегося в таком лечении, заключается в приеме объектом фармацевтически приемлемого количества заявляемого антитела или конъюгата антительного лекарственного препарата.

В некоторых реализациях заявляемого изобретения антитело или конъюгат антительного лекарственного препарата, описываемого в настоящем изобретении, используется для лечения.

В некоторых реализациях заявляемого изобретения антитело или конъюгат антительного лекарственного препарата, описываемого в настоящем изобретении, используется для лечения рака.

Е. Способы применения и фармацевтические композиции.

Заявляются способы лечения или профилактики заболеваний, состояний, или расстройств, например, пролиферативных заболеваний, таких, как рак, заключающиеся в приеме терапевтически эффективного количества одного или более заявляемых соединений, например, одного или более соединений с формулой (I) или (II). К заболеваниям, расстройствам и/или состояниям относятся, не ограничиваясь перечисленным далее, связанные с антигенами, перечисленными в настоящем изобретении. В некоторых реализациях антиген представляет собой PSMA, MUC16 или EGFRvIII.

Заявляемые соединения могут использоваться для лечения первичных и/или метастатических опухолей головного мозга и оболочек головного мозга, ротовой части глотки, легочного и бронхиального дерева, желудочно-кишечного тракта, мужских и женских половых путей, мускулатуры, костей, кожи и лимфоидных придатков, соединительной ткани, селезенки, иммунной системы, кроветворных клеток и костного мозга, печени и мочепускающих путей, а также специализированных органов чувств, таких, как глаза. В определенных реализациях заявляемые соединения используются для лечения одного

или более злокачественных онкологических заболеваний: почечно-клеточная карцинома, карцинома поджелудочной железы, рак головы и шеи, рак предстательной железы, злокачественные глиомы, остеосаркома, колоректальный рак, рак желудочно-кишечного тракта (например, рак желудочно-кишечного тракта с MET амплификацией), злокачественная мезотелиома, плазмноклеточная миелома, карцинома яичника, многоклеточный рак легких, немелкоклеточный рак легких, синовиальная саркома, злокачественная опухоль щитовидной железы, рак молочной железы или меланома. В некоторых реализациях рак представляет собой рак молочной железы. Прием заявляемых соединений может осуществляться отдельно или совместно с одним или более лекарственным средством. Прием одного или более дополнительных лекарственных средств может осуществляться непосредственно перед, попеременно с или вскоре после приема заявляемых соединений. В заявляемое изобретение включаются также лекарственные средства, содержащие любое из заявляемых соединений в сочетании с одним или более дополнительным лекарственным средством, и способы лечения, заключающиеся в приеме таких сочетаний пациентом, нуждающимся в лечении.

К подходящим лекарственным средствам относятся, не ограничиваясь перечисленным далее: антагонист EGFR (например, анти-EGFR антитело [например, цетуксимаб или панитумумаб], или маломолекулярный ингибитор EGFR (например, гефитиниб или эрлотиниб)), антагонист другого члена семейства EGFR, такой как Her2/ErbB2, ErbB3 или ErbB4 (например, анти-ErbB2 [например, трастузумаб или T-DM1 {KADCYLA®}], анти-ErbB3 или анти-ErbB4 антитело или маломолекулярный ингибитор активности ErbB2, ErbB3 или ErbB4), антагонист EGFRvIII (например, антитело, специально связывающее EGFRvIII), антагонист cMET (например, анти-cMET антитело), антагонист IGF1R (например, анти-IGF1R антитело), В-раф ингибитор (например, вемурафениб, сорафениб, GDC-0879, PLX-4720), PDGFR- $\alpha$  ингибитор (например, анти-PDGFR- $\alpha$  антитело), PDGFR- $\beta$  ингибитор (например, анти-PDGFR- $\beta$  антитело маломолекулярный киназный ингибитор, такой как, например, иматиниб мезилат или сунитиниб малат), ингибитор лиганда PDGF (например, анти-PDGF-A, -B, -C или -D антитело, аптамер, siRNA и т.д.), VEGF антагонист (например, VEGF-ловушка, такой как афлиберцепт, см., например, патент США 7087411 (также упоминаемый в настоящем изобретении как "VEGF-ингибирующий сплавленный протеин"), анти-VEGF антитело (например, бевацизумаб), маломолекулярный киназный ингибитор рецептора VEGF (например, сунитиниб, сорафениб или пазопаниб)), DLL4 антагонист (например, анти-DLL4 антитело, заявленное в патенте США 2009/0142354, такое, как REGN421), Ang2 антагонист (например, анти-Ang2 антитело, заявленное в патенте США 2011/0027286, такое как H1H685P), FOLH1 антагонист (например, анти-FOLH1 антитело), STEAP1 или STEAP2 антагонист (например, анти-STEAP1 антитело или анти-STEAP2 антитело), Tmprss2 антагонист (например, анти-Tmprss2 антитело), MSLN антагонист (например, анти-MSLN антитело), CA9 антагонист (например, анти-CA9 антитело), антагонист уроплакина (например, антиуроплакин [например, анти-UPK3A] антитело), MUC16 антагонист (например, анти-MUC16 антитело), антагонист Тп антигена (например, анти-Тп антитело), CLEC12A антагонист (например, анти-CLEC12A антитело), TNFRSF17 антагонист (например, анти-TNFRSF17 антитело), LGR5 антагонист (например, анти-LGR5 антитело), моновалентный CD20 антагонист (например, моновалентное анти-CD20 антитело, такое, как ритуксимаб) и т.д. К другим лекарственным средствам, которые могут благоприятно приниматься с заявляемыми соединениями, относятся, например, тамоксифен, ингибиторы ароматического ряда, и цитоксинные ингибиторы, включая маломолекулярные цитокинные ингибиторы и антитела, связанные с цитокинами, такие как IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18 или их соответствующие рецепторы.

К пригодным лекарственным средствам относятся, не ограничиваясь химиотерапевтическими средствами, включая алкинированные средства, такие как тиотепа и циклофосфамид (Cytohan™); алкил сульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамины, триэтиленэмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилендиофосфаорамида и триметиллоломеламин; нитроиприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафтазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамины, мехлорэтамины оксид гидрохлорид, мелфалан, новэмбихин, фенестрин, преднимустин, трофосфамид, урамустин; нитрозомочевинны, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как аклациномизины, актиномицины, атрамицины, азасерин, блеомицины, кактиномицины, калихемицины, карабицины, карминомицины, карзинофилин, хромомицины, дактиномицины, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, микофенольная кислота, ногаламицины, оливомицины, пепломицины, потфиромицины, пуромицины, квеламицины, родорубицины, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, циностаин, зорубицин; анти-метаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидеоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиосталон, мепитиостан, тестолактон; антиадреналы, такие как аминоглутетимид, митотан, трилостан; подкрепитель фолиевой кислоты, такой, как

фрولينевая кислота; ацеглатон; адофосфамид гликозид; аминоклевулиновая кислота; амсакрин; бес-трауцил; бисантрен; эдатрексат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; элфорнитин; эллиптиниум ацетат; этоглоцид; галлия нитрат; гидроксимочевина; лентинан; лонидамин; митоквазон; митоксантрон; мопи-дамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; про-карбазин; PSK™; разоксан; сизофран; спирогерманий; тенуазойная кислота; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоб-роман; гацитозин; арабинозид ("Ара-Cu"); циклофосфамид; тиотепа; таксаны, например, паклитаксел (Таксол™, Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, Нью-Джерси) и доцетаксел (Таксотер™, Aventis Antony, Франция); хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги плати-ны, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин С; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навелбин; новатрон; тенипозид; дауномицин; аминокптерин; кселода; ибандронат; СРТ-11; ингибитор изотопомеразы RFS 2000; дифгорметилорнитин (DMFO); рети-ноевая кислота; эсперамицины; капецитабин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или произ-водные любых из перечисленных выше веществ. Также под это определение подпадают анти-гормональные вещества, регулирующие или подавляющие гормональное действие на опухоли, такие как анти-эстрогены, включая, например, тамоксифен, ралоксифен, ингибирующие ароматазу 4(5)-имидазолы, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY 117018, онапристон, и торемифен (фаре-стон); и анти-андрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; и фар-мацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любых из перечисленных выше веществ.

Прием заявляемых соединений может также осуществляться и/или готовиться в готовой смеси в сочетании с противовирусными препаратами, антибиотиками, анальгетиками, кортикостероидами, стерои-дами, кислородом, антиоксидантами, COX ингибиторами, кардиопротекторами, мателлохелаторами, IFN-гамма и/или NSAID.

В некоторых реализациях заявляемых способов несколько доз заявляемого соединения (или лекар-ственного средства, содержащего сочетание заявляемого соединения и любого упомянутого дополни-тельного лекарственного средства) могут приниматься пациентом в течение заданного промежутка вре-мени. Способы, соответствующие этому аспекту заявляемого изобретения, заключаются в последова-тельном приеме пациентом нескольких доз заявляемого соединения.

В настоящем изобретении фраза "последовательный прием" означает, что каждая доза соединения подлежит приему пациентом в различные моменты времени, например, по разным дням, разделенным предварительно заданным интервалом (например, часы, дни, недели или месяцы).

В настоящем изобретении излагаются способы, заключающиеся в последовательном приеме паци-ентом единичной начальной дозы заявляемого соединения, с последующим приемом одной или более вторичных доз соединения, и с дополнительным последующим приемом одной или более третичных доз соединения.

Термины "начальная доза", "вторичные дозы" и "третичные дозы" относятся к ограниченной по времени последовательности приема заявляемого соединения. Так, "начальная доза" представляет собой дозу, принимаемую в начале схемы лечения (называется также "базовой дозой"); "вторичные дозы" представляют собой дозы, принимаемые после начальной дозы; и "третичные дозы" представляют собой дозы, принимаемые после вторичных доз. Начальные, вторичные и третичные дозы могут содержать одинаковое количество заявляемого соединения, однако в основном они могут отличаться друг от друга частотой приема. В определенных реализациях количество соединения в начальной, вторичной и/или третичной дозах различается (например, регулируется в сторону увеличения или уменьшения по ситуа-ции) на протяжении курса лечения. В определенных реализациях две или более дозы (например, 2, 3, 4 или 5) принимаются в начале схемы лечения как "загрузочные дозы", а последующие дозы принимаются реже (то есть как "поддерживающие дозы").

В определенных показательных реализациях заявляемого изобретения каждая вторичная и/или тре-тичная доза принимается в течение от 1 до 26 (например, 1, 1 1/2, 2, 2 1/2, 3, 3 1/2, 4, 4 1/2, 5, 5 1/2, 6, 6 1/2, 7, 7 1/2, 8, 8 1/2, 9, 9 1/2, 10, 10 1/2, 11, 11 1/2, 12, 12 1/2, 13, 13 1/2, 14, 14 1/2, 15, 15 1/2, 16, 16 1/2, 17, 17 1/2, 18, 18 1/2, 19, 19 1/2, 20, 20 1/2, 21, 21 1/2, 22, 22 1/2, 23, 23 1/2, 24, 24 1/2, 25, 25 1/2, 26, 26 1/2 или более) недель после непосредственно предшествующей дозы. Фраза "непосредственно предшествующая доза" означает в настоящем изобретении, в последовательности нескольких приемов, дозу соединения, принятую пациентом до приема следующей по очереди дозы без смешивания доз.

Способы, соответствующие этому аспекту заявляемого изобретения, могут заключаться в приеме пациентом нескольких вторичных или третичных доз соединения. Например, в некоторых реализациях пациент принимает только одну вторичную дозу. В другой реализации пациент принимает две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичных доз. Аналогично, в определенных реализациях пациент принимает только одну третичную дозу. В других реализациях пациент принимает две или более (на-пример, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) третичных доз. Схема лечения конкретного пациента может реализо-ваться неограниченно по времени или до исчезновения необходимости или эффективности такого лече-ния.

В реализациях с несколькими вторичными дозами частота приема каждой вторичной дозы может совпадать с частотой приема других вторичных доз. Например, пациент может принимать каждую вторичную дозу спустя от 1 до 2 недель или от 1 до 2 месяцев после непосредственно предшествующей дозы. Аналогично, в реализациях с несколькими третичными дозами частота приема каждой третичной дозы может совпадать с частотой приема других третичных доз. Например, пациент может принимать каждую третичную дозу спустя от 2 до 12 недель после непосредственно предшествующей дозы. В некоторых реализациях заявляемого изобретения частота приема пациентом вторичных и/или третичных доз может изменяться в процессе реализации схемы лечения. Частота приема может также регулироваться врачом в процессе реализации схемы лечения в зависимости от потребностей конкретного пациента по результатам клинического наблюдения.

В настоящем изобретении излагаются схемы приема, согласно которым от 2 до 6 загрузочных доз принимаются пациентом с первым значением частоты (например, раз в неделю, раз в каждые две недели, раз в каждые три недели, раз в месяц, раз в каждые два месяца и т.д.), затем пациент гораздо реже принимает две или более поддерживающие дозы. Например, в соответствии с этим аспектом заявляемого изобретения, если загрузочные дозы принимаются пациентом раз в месяц, то поддерживающие дозы могут приниматься пациентом раз в каждые шесть недель, раз в каждые два месяца, раз в каждые три месяца, и т.д.

В заявляемое изобретение включены лекарственные средства, состоящие из заявляемых соединений и/или конъюгатов, например, соединения с формулой (I) и (II), например, лекарственные средства, содержащие заявляемое соединение, его соль, стереоизомер, полиморф, и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или инертный наполнитель. К примерам подходящих носителей, разбавителей и инертных наполнителей относятся, не ограничиваясь перечисленным далее: буферы для поддержания надлежащего значения pH состава (например, лимоннокислые буферы, сукцинатные буферы, ацетатные буферы, фосфатные буферы, лактатные буферы, оксалатные буферы и подобные), протеины носителя (например, альбумин человеческой сыворотки), физиологический раствор, полиолы (например, трегалоза, сахароза, ксилитол, сорбитол и подобные), сурфактанты (поверхностно-активные вещества, ПАВ) (например, полисорбат 20, полисорбат 80, полиоксолат и подобные), противомикробные препараты и антиоксиданты.

#### Ф. Примеры.

Протонный спектр ЯМР был получен с помощью измерительного прибора Varian Inova 300 МГц или Bruker 500 МГц, в то время как масс-спектры были получены посредством измерительных приборов Agilent серий 1100 или 1200 LC/MSD с помощью электрораспылительного источника ионизации и квадрупольного анализатора или ионной ловушки. Полезные части определенных линкеров в ферментных анализах анализировались масс-спектрометром Waters Xevo TQ-S. Все исходные материалы и растворители были приобретены на рынке и использовались без очистки, в отсутствие иных указаний.

#### Пример 1.

Соединение 10 было синтезировано из соединения 1 описанным ниже образом и представлено на фиг. 1.

Майтансин-N-метил-L-аланин-4-аминобензоамидо-Cit-Val-Cap-Mal (10).

#### Этап А.

В колбу с круглым дном был отвешен Вос-L-валин (1,03 г; 4,74 ммоль), N-гидроксисукцинимид (1,22 г; 10,6 ммоль) и EDC (1,60 г; 8,35 ммоль). Реагенты были растворены в сухом DCM (30 мл), колба была герметизирована каучуковой мембраной, продута аргоном, и реагирующие вещества перемешивались при комнатной температуре. Спустя 3 дня остатков Вос-валина не было обнаружено путем TLC (после контрастирования нингидрином), и реагирующая смесь была промыта насыщенным гидратогенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ , водосодержащий слой экстрагирован DCM, комбинированные органические слои промыты минеральным раствором, высушены над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и профильтрованы. Затем фильтрат был испарен и высушен *in vacuo* с получением Вос-L-валин-сукцината в виде белого твердого вещества (1,52 г; 100%).

$^1\text{H}$ -ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4,98 (br d, 1H); 4,58 (dd, 1H); 2,82 (m, 4H); 2,27 (m, 1H); 1,44 (s, 9H); 1,03 (dd, 6H).

Вос-L-валин-L-цитруллин (3).

Вос-L-валин-сукцинат (1), полученный на предыдущем этапе (1,50 г; 4,77 ммоль), был растворен в ацетонитриле ( $\text{MeCN}$ , 15 мл), обработан раствором L-цитруллина (2; 1,07 г; 6,11 ммоль) в воде (9 мл) и насыщенном гидратогенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (6 мл), колба была закрыта вентилируемой мембраной, и реагирующие вещества перемешивались при окружающей температуре. Спустя 18 ч реакция еще не завершилась, и был дополнительно добавлен насыщенный гидратогенный  $\text{NaHCO}_3$  (3 мл) для доведения pH приблизительно до 7, и реагирующая смесь перемешивалась дополнительно в течение 36 ч. Реагирующая смесь была частично сконцентрирована *in vacuo* для удаления  $\text{MeCN}$  и однократно промыта этилацетатом ( $\text{EtOAc}$ ) для удаления неполярных загрязнений. Затем водосодержащий слой был подкислен до pH 3 с помощью 10% (по объему)  $\text{HCl}$ , насыщен  $\text{NaCl}$  и экстрагирован 4 раза посредством 9:1  $\text{EtOAc}$ /изопропанол. Комбинированные органические экстракты были промыты минеральным раство-

ром, высушены над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и профильтрованы. Затем фильтрат был испарен и высушен *in vacuo* с получением соединения, указанного в заголовке этапа, в виде белого твердого вещества (1,56 г; 87%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_6$ , 374,2; обнаружено 375,2 (M+H), 397,2 (M+Na).

Вос-L-валин-L-цитруллин-р-аминобензойная кислота t-бутиловый эфир (5).

Этап В.

Вещество, полученное на предыдущем этапе (3; 152 мг; 0,406 ммоль), трет-бутил-4-аминобензоат (4; 150 мг; 0,776 ммоль) и 1-[бис-(диметиламин)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний 3-оксид гексафторфосфат (HATU, 488 мг; 1,28 ммоль) были отвешены в колбу с круглым дном и растворены в безводном N,N-диметилформамиде (DMF, 3 мл). N,N-диизопропилэтиламин (DIEA; 0,25 мл; 1,44 ммоль) был добавлен к реагирующей смеси, колба была герметизирована каучуковой мембраной, продута аргоном, и реагирующие вещества перемешивались при окружающей температуре. Спустя 18 ч реагирующая смесь была очищена непосредственно на 100 г C18 RediSep Gold колонне с помощью системы ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде; 0,05% уксусной кислоты в обеих частях, более 20 мин). Фракции, содержащие продукт, были сконцентрированы, частично сконцентрированы *in vacuo*, заморожены в сухом льду, и лиофилизированы в течение суток с образованием неочищенного белого твердого вещества (115 мг). Это вещество было растворено в DCM и повторно очищено на 12 г силикагельной RediSep колонне посредством ISCO (градиентное элюирование: 0-10% метанол в DCM дольше 12 мин), и менее подвижные фракции продукта выпарены и высушены *in vacuo* с получением соединения, указанного в заголовке этапа, в виде бледно-желтого твердого вещества (65 мг; 29%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_7$ , 549,3; обнаружено 450,3 (M-Вос+H); 572,3 (M+Na); 1099,5 (2M+H); 1121,5 (2M+Na).

L-валин-L-цитруллин-р-аминобензойная кислота (6).

Этап С.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено по способу Мета и соавторов. (Jett. Lett. 1992, 33, 5441-5444). Вещество, полученное на предыдущем этапе (5; 61 мг; 0,111 ммоль) было растворено в сухом DCM (3 мл) в колбе с круглым дном, и обработано трифторуксусной кислотой (TFA, 110 мкл; 1,44 ммоль) и триэтилсиланом [TES ( $\text{Et}_3\text{SiH}$ ), 50 мкл; 0,313 ммоль]. Колба была герметизирована мембраной, продута аргоном, и реагирующие вещества перемешивались при окружающей температуре в течение 18 ч. Реакция не была завершена посредством LCMS, были добавлены дополнительно TFA (90 мкл) и TES (25 мкл) с перемешиванием в течение еще 6 ч. Реакция все же не была завершена, поэтому колба была запечатана и хранилась при температуре  $-20^\circ\text{C}$  в течение 3 дней. После нагревания до окружающей температуры и перемешивании в течение еще 24 ч реагирующая смесь была сконцентрирована *in vacuo* до получения масла, дважды протитрована диэтиловым эфиром, и высушена в среде глубокого вакуума с получением соединения, указанного в заголовке этапа, в виде грязно-белого твердого вещества (55 мг; 98%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_5$ ; 393,2; обнаружено 394,0 (M+H); 787,2 (2M+H).

$^1\text{H}$ -ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ ) показано в смеси амидных ротамеров:  $\delta$  10,52 (s; 0,5H); 10,46 (s; 0,5H); 8,83 (d; 0,5H); 8,71 (d; 0,5H); 8,06 (br s; 3H); 7,89 (m; 2H); 7,72 (m; 2H); 6,03 (m; 1H); 4,55 (m; 1H); 3,05 (m; 1H); 2,97 (m; 1H); 2,10 (m; 1H); 1,73 (m; 1H); 1,63 (m; 1H); 1,5-1,3 (m; 2H); 0,95 (m; 6H).

6-(Малеимидо-капролил)-L-валин-L-цитруллин-р-аминобензойная кислота (8).

Этап D.

Вещество, полученное на предыдущем этапе (6; 55 мг; 0,108 ммоль) было растворено в воде (3 мл), обработано гидратогенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ , затем раствором 6-малеимидил-капроновой кислоты сукцинатным эфиром (56 мг; 0,182 ммоль) в MeCN (3 мл). Колба была запечатана в среде аргона, и реагирующая смесь перемешивалась при окружающей температуре в течение 22 ч. Реакция была завершена посредством LCMS, так что реагирующая смесь была частично сконцентрирована *in vacuo* и очищена непосредственно на 30 г C18 Aq RediSep Gold колонне посредством ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде; 0,05% уксусной кислоты в обеих частях, более 12 мин). Фракции основного продукта были сконцентрированы, частично сконцентрированы *in vacuo*, заморожены в сухом льду, и лиофилизированы в течение суток с образованием неочищенного бледно-желтого твердого вещества (92 мг). Это вещество было определено посредством LCMS как неочищенное, так что оно было растворено в смеси MeCN/вода и подвергнуто повторной очистке на 100 г C18 Aq Gold колонне посредством ISCO (градиентное элюирование: 0-50% MeCN в воде; 0,05% уксусной кислоты в обеих частях, более 20 мин). Наиболее чистые фракции продукта были сконцентрированы, частично сконцентрированы *in vacuo*, заморожены в сухом льду, и лиофилизированы в течение суток с получением соединения, указанного в заголовке этапа, в виде белого твердого вещества (34 мг; 53%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}_8$ ; 586,3; обнаружено 587,3 (M+H); 609,3 (M+Na).

$^1\text{H}$ -ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ ) показано в смеси амидных ротамеров:  $\delta$  10,26 (s; 0,6H); 10,11 (s; 0,4H); 8,43 (d; 0,4H); 8,13 (d; 0,6H); 7,93-7,70 (m; 4H); 6,99 (m; 2H); 5,97 (m; 1H); 5,41 (m; 2H); 4,38 (m; 1H); 4,21-4,12 (m; 1H); 3,36 (m; 2H); 3,02 (m; 1H); 2,95 (m; 1H); 2,17 (m; 1H); 2,12 (m; 1H); 1,95 (m; 1H); 1,78-1,58 (m; 2H); 1,48 (m; 6H); 1,36 (m; 1H); 1,18 (m; 2H); 0,85 (m; 6H).

Майтансин-N-метил-L-аланин-4-аминбензамид-цитруллин-валин-капролил-6-малеимидил (10).

## Этап Е.

Вещество, полученное на предыдущем этапе (8; 33 мг; 0,056 ммоль), НАТУ (33 мг; 0,087 ммоль), и майтансин-N-метил-L-аланин (9, приготовлено в виде золотистого твердого вещества или майтансинола способами, заявленными в патентной заявке США 2007/0037972 A1, 25 мг; 0,038 ммоль), были отвешены в колбу с круглым дном и растворены в безводном DMF (2 мл), и обработаны DIEA (20 мкл; 0,115 ммоль). Колба была герметизирована каучуковой мембраной, продута аргоном, и реагирующие вещества перемешивались при окружающей температуре в течение 20 ч. Реагирующая смесь была разведена водой (1 мл) и очищена непосредственно на 50 г C18 Aq RediSep Gold колонне посредством ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде; 0,05% уксусной кислоты в обеих частях, более 12 мин). Фракции продукта были скомбинированы, частично сконцентрированы *in vacuo*, заморожены в сухом льду, и лиофилизированы в течение суток с получением соединения, указанного в заголовке этапа, в виде белого твердого вещества (8 мг; 17%). MS (ESI, pos.): вычислено для C<sub>60</sub>H<sub>80</sub>N<sub>9</sub>O<sub>16</sub>Cl; 1217,5; обнаружено 1218,6 (M+H); 1200,7 (M-H<sub>2</sub>O+H); 1240,7 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,25 (s; 1H); 7,68-7,61 (m; 2H); 7,33 (d; 2H); 6,91 (s; 1H); 6,84 (s; 1H); 6,75 (d; 1H); 6,67 (s; 2H); 6,45 (dd; 1H); 6,27 (br s; 1H); 6,21 (d; 1H); 5,74 (dd; 1H); 5,44 (m; 1H); 4,98 (m; 1H); 4,88 (d; 1H); 4,77 (t; 1H); 4,53 (br s; 1H); 4,33-4,25 (m; 2); 4,00 (s; 3H); 3,65 (d; 1H); 3,48 (m; 4H); 3,56 (s; 3H); 3,20 (m; 1H); 3,11 (d; 1H); 3,05 (m; 3H); 2,88 (s; 3H); 2,69 (t; 1H); 2,26-2,19 (m; 3H); 2,10 (m; 2H); 1,94 (m; 1H); 1,70-1,55 (m; 6H); 1,66 (s; 3H); 1,46 (d; 3H); 1,33-1,26 (m; 7H); 0,96 (m; 6H); 0,85 (s; 3H).

## Пример 2.

Соединение 15 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 6.

Майтансин-N-метил-L-аланин(4-амино-2-фтор)бензамидо-Cit-Val-Cap-Mal (15).

Вос-L-валин-L-цитруллин-(4-амино-2-фтор)бензойная кислота t-бутил эфир (12).

## Этап А.

Согласно процедуре Випфа и Геймгартнера (Wipf & Heimgartner) (Helv. Chim. Acta, 1998, 71, 140-154), Вос-L-валин-L-цитруллин (3; 155 мг; 0,414 ммоль) и дициклогексилкарбодиимид (DCC, 95 мг; 0,460 ммоль) были растворены в сухом дихлорметане (DCM, 3 мл), смесь была охлаждена до 0°C, и перемешивалась в течение 5 мин. (+)-камфор-10-сульфоновая кислота (CSA, 15 мг; 0,065 ммоль) и трет-бутил-4-амино-2-фторбензоат (99 мг; 0,469 ммоль) были затем добавлены в сухом состоянии, и окружающая смесь нагревалась естественным путем до окружающей температуры при перемешивании в течение 3 дней. LCMS показал наличие большого нового пика с m/z 566 (ESI, neg.). Реагирующая смесь была разведена DCM и промыта 10% (по объему) HCl, водой и насыщенным NaHCO<sub>3</sub>. Каждый водосодержащий слой был подвергнут однократной экстракции посредством DCM, и комбинированные органические слои были промыты минеральным раствором, высушены над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и профильтрованы. Затем фильтрат был выпарен и высушен *in vacuo* с образованием бледно-золотистого твердого вещества, которое было очищено на 24 г RediSep Gold колонне посредством ISCO (градиентное элюирование: этил ацетат-5:5:1 EtOAc/DCM/метанол более 12 мин). Наиболее чистые фракции продукта были скомбинированы, сконцентрированы *in vacuo*, и высушены в среде глубокого вакуума с получением соединения, указанного в заголовке этапа, в виде белого твердого вещества (95 мг; 40%). MS (ESI, pos.): вычислено для C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>F; 567,3; обнаружено 568,3 (M+H); 590,4 (M+Na).

L-валин-L-цитруллин-(4-амино-2-фтор)бензойная кислота трифторацетатная соль (13).

## Этап В.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (12; 94 мг; 0,166) с использованием этапа С, пример 1, для получения грязно-белого твердого вещества (112 мг). MS (ESI, pos.): вычислено для C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>F; 411,2; обнаружено 412,2 (M+H); 395,2 (M-H<sub>2</sub>O+H).

6-(Малеимидо)капроамидил-L-валин-L-цитруллин-(4-амино-2-фтор)бензойная кислота (14).

## Этап С.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (13; 106 мг; 0,166 ммоль), с использованием этапа D, пример 1, для получения белого твердого вещества (92 мг), чистого всего лишь на 70% по оценке LCMS, однако использованного без дальнейшей очистки. MS (ESI, pos.): вычислено для C<sub>28</sub>H<sub>37</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>F; 604,3; обнаружено 605,2 (M+H); 627,2 (M+Na).

Майтансин-N-метил-L-аланин(4-амино-2-фтор)бензамидо-Cit-Val-Cap-Mal (15).

## Этап D.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (14, 50 мг; 0,077 ммоль) и майтансин-N-метил-L-аланин (9; 50 мг; 0,077 ммоль), с использованием этапа Е, пример 1, для получения белого твердого вещества (18 мг) чистого всего лишь на 55% по оценке LCMS. После двукратной очистки посредством HPLC на колонне Phenomenex Gemini C18 5u, 30×150 мм (20-80%, затем 40-60%, MeCN в воде; 0,1% HOAc обе фазы, дольше 20 мин, 30 мл/мин) было получено соединение, указанное в заголовке этапа, в виде белого твердого вещества (3 мг; 3%). MS (ESI, pos.): вычислено для C<sub>60</sub>H<sub>79</sub>N<sub>9</sub>O<sub>16</sub>ClF; 1235,5; обнаружено 1236,5 (M+H); 1258,5 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,40 (s; 1H); 7,64 (d; 1H; J=12 Гц); 7,42 (s; 1H); 7,14 (t; 1H; J=8 Гц); 6,90 (s; 1H); 6,86 (s; 1H); 6,77 (m; 1H); 6,68 (s; 2H); 6,46 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,25 (br s; 1H); 6,19 (br m;

1H); 5,75 (dd; 1H; J=15 Гц; 9 Гц); 5,48 (br m; 1H); 4,88 (d; 1H; J=12 Гц); 4,76 (m; 1H); 4,29 (t; 1H; J=11 Гц); 4,23 (t; 1H; J=7 Гц); 4,01 (s; 2H); 3,99 (m; 1H); 3,70 (m; 1H); 3,53-3,47 (m; 4H); 3,36 (s; 3H); 3,20 (m; 1H); 3,13 (d; 1H; J=12 Гц); 3,03 (m; 3H); 2,81 (s; 2H); 2,67 (dd; 1H; J=15 Гц; 12 Гц); 2,25 (t; 1H; J=7 Гц); 2,21 (m; 2H); 2,10 (m; 1H); 1,70-1,64 (m; 2H); 1,67 (s; 3H); 1,46-1,41 (m; 6H); 1,33-1,25 (m; 10H); 0,99-0,95 (m; 6H); 0,89-0,80 (m; 1H); 0,85 (s; 3H).

Пример 3.

Соединение 20 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 7.

Майтансин-N-метил-L-аланин(4-амино-2-трифторметил)бензоамидо-Cit-Val-Cap-Mal (20).

Вос-L-валин-L-цитруллин-(4-амино-2-трифторметил)бензойная кислота t-бутил эфир (17).

Этап А.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из Вос-L-валин-L-цитруллин (3; 175 мг; 0,467 ммоль) и трет-бутил-4-амино-2-трифторметилбензоата (150 мг; 0,574 ммоль), по способу Випфа и Геймгартнера (Helv. Chim. Ada, 1998, 71, 140-154) для получения белого твердого вещества (77 мг; 27%). MS (ESI, neg.): вычислено для  $C_{28}H_{42}N_5O_7F_3$ ; 617,3; обнаружено 616,4 (M-H).

1-Валин-1-цитруллин-(4-амино-2-трифторметил)бензойная кислота трифторацетатная соль (18).

Этап В.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (17; 67 мг; 0,108), с использованием этапа С, пример 1, для получения грязно-белого твердого вещества (77 мг). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{19}H_{26}N_5O_5F_3$ ; 461,2; обнаружено 462,3 (M+H); 445,2 (M-H<sub>2</sub>O+H).

6-(Малеимидо)капроамидил-L-валин-L-цитруллин-(4-амино-2-трифторметил)бензойная кислота (19).

Этап С.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (18; 75 мг; 0,108 ммоль), с использованием этапа D, пример 1, для получения белого твердого вещества (47 мг; 66%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{29}H_{37}N_6O_8F_3$ ; 654,3; обнаружено 655,3 (M+H).

Майтансин-N-метил-L-аланин(4-амино-2-трифторметил)бензоамидо-Cit-Val-Cap-Mal (20).

Этап D.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (19; 34 мг; 0,052 ммоль) и майтансин-N-метил-L-аланин (9; 34 мг; 0,052 ммоль), с использованием этапа E, пример 1, для получения белого твердого вещества (11 мг; 16%) после второй очистки ISCO (100 г C18 Aq Gold колонна, 30-70% MeCN в воде; 0,05% HOAc оба, дольше 15 мин, 50 мл/мин). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{61}H_{79}N_9O_{16}ClF_3$ ; 1285,5; обнаружено 1287,4 (M+H); 1268,4 (M-H<sub>2</sub>O+H); 1308,4 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 10,4 (s; 1H); 8,16 (d; 1H; J=7 Гц); 8,13 (s; 1H); 7,80 (d; 1H; J=8 Гц); 7,25 (s; 1H); 7,12 (m; 1H); 6,99 (s; 2H); 6,93 (s; 1H); 6,84 (s; 1H); 6,63-6,55 (m; 2H); 6,01 (s; 1H); 5,95 (m; 1H); 5,58 (dd; 1H; J=15 Гц; 9 Гц); 5,38 (m; 3H); 4,64 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,30 (m; 1H); 4,17-4,08 (m; 2H); 3,96 (s; 2H); 3,93 (m; 1H); 3,53 (d; 1H; J=9 Гц); 3,40 (br m; 1H); 3,36 (m; 1H); 3,27 (s; 3H); 3,25 (m; 1H); 3,04 (s; 3H); 3,03-2,92 (m; 2H); 2,84-2,70 (m; 2H); 2,53 (m; 2H); 2,20-2,09 (m; 3H); 1,94 (m; 1H); 1,70 (m; 1H); 1,64 (s; 3H); 1,60-1,53 (m; 3H); 1,51-1,44 (m; 6H); 1,40 (m; 1H); 1,37-1,32 (m; 3H); 1,30-1,24 (m; 2H); 1,20-1,12 (m; 5H); 0,89 (m; 1H); 0,86 (s; 3H); 0,84-0,80 (m; 6H).

Пример 4.

Соединение 25 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 8.

Майтансин-N-мети-L-аланин(4-амино-2-метокси)бензоамидо-Cit-Val-Cap-Mal (25).

Вос-L-валин-L-цитруллин-(4-амино-2-метокси)бензойная кислота t-бутил эфир (22).

Этап А.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из: Вос-L-валин-L-цитруллин (3; 143 мг; 0,382 ммоль) и трет-бутил-4-амино-2-метоксибензоат (109 мг; 0,488 ммоль), по способу Випфа и Геймгартнера (Helv. Chim. Ada, 1998, 71, 140-154) для получения белого твердого вещества (92 мг; 42%). MS (ESI, neg.): вычислено для  $C_{28}H_{45}N_5O_8$ ; 579,3; обнаружено 580,3 (M-H); 602,3 (M+Na).

L-валин-L-цитруллин-(4-амино-2-метокси)бензойная кислота трифторацетат соль (23).

Этап В.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (22; 90 мг; 0,155), с использованием этапа С, пример 1, для получения бледного твердого вещества (99 мг), дважды титрованного DCM, растворенного в MeCN и THF, профильтрованного, и раствор выпарен in vacuo с получением указанного в заголовке соединения в виде грязно-белого твердого вещества (79 мг; 95%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{19}H_{29}N_5O_6$ ; 423,2; обнаружено 424,2 (M+H); 407,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 446,2 (M+Na).

6-(Малеимидо)капроамидил-L-валин-1-цитруллин-(4-амино-2-метокси)бензойная кислота (24).

Этап С.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (23; 76 мг; 0,141 ммоль), с использованием этапа D, пример 1, для получения белого твердого вещества (50 мг; 57%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{29}H_{40}N_6O_9$ ; 616,3; обнаружено 617,2 (M+H).

Майтансин-N-метил-L-аланин(4-амино-2-метокси)бензоамидо-Cit-Val-Cap-Mal (25).

Этап D.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (24; 49 мг; 0,079 ммоль) и майтансин-N-метил-L-аланин (9; 34 мг; 0,052 ммоль), с использованием этапа E, пример 1, для получения белого твердого вещества (34 мг; 34%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{61}H_{82}N_9O_{17}Cl$ ; 1247,6; обнаружено 1248,5 (M+H); 1230,5 (M-H<sub>2</sub>O+H); 1270,5 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,26 (br s; 1H); 7,49 (br m; 1H); 6,99 (m; 1H); 6,95 (s; 1H); 6,87 (s; 1H); 6,85 (m; 1H); 6,69 (s; 2H); 6,45 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,29 (br s; 1H); 5,73 (dd; 1H; J=16 Гц; 10 Гц); 4,84 (d; 1H; J=12 Гц); 4,70 (br m; 1H); 4,30 (t; 1H; J=12 Гц); 4,01 (s; 3H); 3,74 (br m; 4H); 3,55-3,47 (m; 5H); 3,35 (s; 3H); 3,14 (m; 2H); 3,02 (m; 4H); 2,83 (br s; 3H); 2,71 (s; 3H); 2,65 (m; 1H); 2,60 (t; 1H; J=8 Гц); 2,24-2,18 (m; 3H); 2,09 (m; 1H); 1,77 (пентет; 1H; J=8 Гц); 1,70-1,61 (m; 6H); 1,67 (s; 3H); 1,51-1,40 (m; 6H); 1,30-1,26 (m; 5H); 0,94 (m; 6H); 0,85 (s; 3H).

Пример 5.

Соединение 27 было синтезировано из соединения 26 описанным ниже образом и представлено на фиг. 9.

Майтансин-N-метил-L-аланин-4-аминобензамид (27).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(4-нитро)бензамид.

В сухую колбу с плоским дном были отвешены: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 96 мг; 0,15 ммоль), 4-нитробензойная кислота (26) (42 мг; 0,25 ммоль), и НАТУ (0,12 г; 0,31 ммоль). Реагенты были растворены в безводном DMF (3,0 мл), обработаны DIEA (0,10 мл; 0,57 ммоль), и колба продукта аргоном и герметизирована каучуковой мембраной. Реагирующие вещества перемешивались при окружающей температуре в течение 3 дней, после чего анализ LCMS показал полное преобразование майтан-NMA так, что он был растворен в нескольких мл воды и очищен непосредственно на 100 г C18 Aq Gold колонне (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде; 0,05% уксусной кислоты в обеих частях, более 15 мин). Наиболее чистые фракции продукта были скомбинированы, частично сконцентрированы in vacuo, заморожены в сухом льду, и лиофилизированы в течение суток с получением соединения, указанного в заголовке этапа, в виде желтого твердого вещества (64 мг; 54%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{47}N_4O_{12}Cl$ ; 798,3; обнаружено 798,4 (M+H).

Этап В. Майтан-NMA-(4-амино)бензамид (27).

Вещество предыдущего этапа (63 мг; 0,079 ммоль) и цинковая пыль (<10 мкм, 98+% чистоты, 108 мг; 1,65 ммоль) были растворены/взвешены в смеси THF (4 мл) и воды (1 мл). К смеси была добавлена уксусная кислота (0,80 мл; 3,14 ммоль), колба была герметизирована каучуковой мембраной, продукта аргоном, и реагирующие вещества перемешивались при окружающей температуре в течение 1 ч. LCMS необработанной смеси показал полное преобразование, и реагирующая смесь была профильтрована через целит, промыта MeCN и фильтрат сконцентрирован in vacuo. Необработанное вещество было очищено непосредственно на 50 г C18 Aq Gold колонне (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде; 0,05% уксусной кислоты в обеих частях, более 12 мин). Наиболее чистые фракции продукта были скомбинированы, частично сконцентрированы in vacuo, заморожены в сухом льду, и лиофилизированы в течение суток с получением 46 мг белого твердого вещества, чистого лишь на 88% по результатам анализа LCMS. Это вещество было растворено в смеси 1:1 MeCN/вода (3 мл) и повторно очищено посредством HPLC с помощью колонны Phenomenex Gemini C18 5u, 30×150 мм в двух инъекциях (40-80% и 30-70% MeCN в воде; 0,05% HOAc обе фазы, дольше 20 мин, 30 мл/мин), и наиболее чистая фракция была сконцентрирована, заморожена и лиофилизирована приведенным выше образом с получением соединения, указанного в заголовке этапа, в виде белого твердого вещества (31 мг; 48%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{41}H_{53}N_4O_{12}Cl$ ; 768,3; обнаружено 751,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 769,2 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,24 (d; 2H; J=9 Гц); 6,93 (s; 1H); 6,82 (s; 1H); 6,76 (d; 1H; J=12 Гц); 6,57 (d; 2H; J=9 Гц); 6,45 (dd; 1H; J=16 Гц; 12 Гц); 6,23 (s; 1H); 5,74 (dd; 1H; J=16 Гц; 9 Гц); 5,43 (br m; 1H); 4,87 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,32 (m; 1H); 3,99 (s; 3H); 3,85 (s; 2H); 3,65 (d; 1H; J=13 Гц); 3,51 (d; 1H; J=9 Гц); 3,47 (br s; 1H); 3,36 (s; 3H); 3,10 (d; 1H; J=13 Гц); 3,07 (s; 3H); 3,04 (d; 1H; J=9 Гц); 2,93 (s; 3H); 2,67 (m; 1H); 2,20 (dd; 1H; J=14 Гц; 3 Гц); 1,67 (m; 1H); 1,66 (s; 3H); 1,51-1,47 (m; 2H); 1,44 (d; 3H; J=7 Гц); 1,31 (d; 3H; J=7 Гц); 1,27 (m; 1H); 0,84 (s; 3H).

Пример 6.

Соединение 29 было синтезировано из соединения 28 описанным ниже образом и представлено на фиг. 10.

Майтансин-N-метил-L-аланин(2-фтор-4-амино)бензамид (29).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-фтор-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 40 мг; 0,056 ммоль) и 2-фтор-4-нитробензойная кислота (28) (26 мг; 0,140 ммоль), с использованием этапа А примера 5, для получения светло-желтого твердого вещества (16 мг; 35%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{46}N_4O_{12}ClF$ ; 816,3; обнаружено 817,2 (M+H); 839,2 (M+Na).

Этап В. Майтан-NMA-(2-фтор-4-амино)бензамид (29).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (15 мг; 0,018 ммоль), с использованием этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (8 мг; 50%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{48}N_4O_{10}ClF$ ; 786,3; обнаружено 769,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 787,2 (M+H); 809,3 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,05-6,99 (га; 2H); 6,92 (s; 1H); 6,85 (s; 1H); 6,81 (d; 1H; J=11 Гц); 6,47 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,36-6,29 (m; 2H); 6,22 (s; 1H); 5,73 (dd; 1H; J=16 Гц; 9 Гц); 5,48 (m; 1H); 4,87 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,30 (m; 1H); 4,00 (s; 3H); 3,93 (s; 2H); 3,73 (d; 1H; J=13 Гц); 3,51 (d; 1H; J=9 Гц); 3,41 (br m; 1H); 3,36 (s; 3H); 3,13 (d; 1H; J=12 Гц); 3,04 (s; 3H); 3,02 (m; 1H); 2,83 (s; 3H); 2,66 (dd; 1H; J=15 Гц; 13 Гц); 2,19 (dd; 1H; J=15 Гц; 3 Гц); 1,67 (s; 3H); 1,63 (m; 1H); 1,51-1,45 (m; 2H); 1,43 (d; 3H; J=7 Гц); 1,30 (d; 3H; J=7 Гц); 1,27 (m; 1H); 0,84 (s; 3H).

Пример 7.

Соединение 31 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 11.

Майтансин-N-метил-L-аланин(2-трифторметил-4-амино)бензамид (31).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-трифторметил-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 68 мг; 0,105 ммоль) и 2-трифторметил-4-нитробензойная кислота (30) (37 мг; 0,157 ммоль), с использованием этапа А примера 5, для получения бледно-желтого твердого вещества (82 мг; 90%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{46}N_4O_{12}ClF_3$ ; 866,3; обнаружено 867,1 (M+H); 889,1 (M+Na).

Этап В. Майтан-NMA-(2-трифторметил-4-амино)бензамид (31).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (79 мг; 0,091 ммоль), с использованием этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (29 мг; 35%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{48}N_4O_{10}ClF_3$ ; 836,3; обнаружено 818,8 (M-H<sub>2</sub>O+H); 836,8 (M+H); 858,0 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,00-6,91 (m; 3H); 6,85 (d; 1H; J=3 Гц); 6,75 (br d; 1H; J=18 Гц); 6,63 (d; 1H; J=11 Гц); 6,45 (dd; 1H; J=26 Гц; 19 Гц); 6,23 (s; 1H); 5,73 (dd; 1H; J=26 Гц; 15 Гц); 4,88 (dd; 1H; J=20 Гц; 5 Гц); 4,31 (m; 1H); 4,01 (s; 3H); 3,96 (m; 1H); 3,66 (d; 1H; J=22 Гц); 3,52 (d; 1H; J=15 Гц); 3,37 (s; 3H); 3,14 (s; 3H); 3,11 (m; 1H); 3,03 (d; 1H; J=16 Гц); 2,72 (m; 1H); 2,66 (s; 3H); 2,23 (dd; 1H; J=24 Гц; 5 Гц); 1,66 (s; 3H); 1,51-1,45 (m; 2H); 1,43 (d; 3H; J=12 Гц); 1,31 (d; 3H; J=11 Гц); 1,27 (m; 1H); 0,87 (s; 3H).

Пример 8.

Соединение 33 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 12.

Майтансин-N-метил-L-аланин(2-метокси-4-амино)бензамид (33).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-метокси-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 68 мг; 0,105 ммоль) и 2-метокси-4-нитробензойная кислота (32) (32 мг; 0,162 ммоль), с использованием этапа А примера 5, для получения бледно-желтого твердого вещества (78 мг; 90%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{49}N_4O_{13}Cl$ ; 828,3; обнаружено 811,1 (M-H<sub>2</sub>O+H); 829,2 (M+H); 851,2 (M+Na).

Этап В. Майтан-NMA-(2-метокси-4-амино)бензамид (33).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (75 мг; 0,090 ммоль), с использованием этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (62 мг; 79%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{51}N_4O_{11}Cl$ ; 798,3; обнаружено 781,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 799,2 (M+H); 821,2 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,03 (d; 1H; J=14 Гц); 6,99 (s; 1H); 6,94 (d; 1H; J=12 Гц); 6,86 (s; 1H); 6,81 (d; 1H; J=8 Гц); 6,46 (dd; 1H; J=16 Гц; 11 Гц); 6,24 (s; 1H); 6,17 (s; 1H); 6,11 (d; 1H; J=8 Гц); 5,73 (dd; 1H; J=15 Гц; 9 Гц); 5,54 (m; 1H); 4,81 (m; 1H); 4,31 (t; 1H; J=11 Гц); 4,00 (s; 3H); 3,81 (d; 1H; J=13 Гц); 3,79 (m; 1H); 3,52 (d; 1H; J=9 Гц); 3,36 (s; 3H); 3,12 (d; 1H; J=13 Гц); 3,04 (m; 1H); 3,02 (s; 3H); 2,72 (s; 3H); 2,64 (t; 1H; J=12 Гц); 2,18 (dd; 1H; J=14 Гц; 3 Гц); 1,66 (s; 3H); 1,63 (m; 2H); 1,51-1,45 (m; 2H); 1,41 (d; 3H; J=7 Гц); 1,30 (d; 3H; J=7 Гц); 1,26 (m; 1H); 0,84 (s; 3H).

Пример 9.

Соединение 35 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 13.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-трифторметил-4-амино)бензамид (35).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-трифторметил-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 46 мг; 0,071 ммоль) и 3-трифторметил-4-нитробензойная кислота (34) (25 мг; 0,106 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения светло-желтого твердого вещества (37 мг; 61%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{46}N_4O_{12}ClF_3$ ; 866,3; обнаружено 849,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 867,2 (M+H); 889,2 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-трифторметил-4-амино)бензамид (35).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (36 мг; 0,042 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества

(17 мг; 46%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{48}N_4O_{10}ClF_3$ ; 836,3; обнаружено 819,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 837,2 (M+H); 859,2 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,54 (s; 1H); 7,37 (d; 1H; J=8 Гц); 6,91 (br s; 1H); 6,83 (s; 1H); 6,70 (d; 1H; J=11 Гц); 6,66 (d; 1H; J=8 Гц); 6,45 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,28 (s; 1H); 5,73 (dd; 1H; J=16 Гц; 9 Гц); 5,44 (m; 1H); 4,88 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,40 (s; 2H); 4,30 (t; 1H; J=11 Гц); 3,99 (s; 3H); 3,63 (d; 1H; J=13 Гц); 3,52 (d; 1H; J=9 Гц); 3,36 (s; 3H); 3,12 (d; 1H; J=13 Гц); 3,03 (m; 4H); 2,92 (s; 3H); 2,69 (m; 1H); 2,21 (dd; 1H; J=14 Гц; 3 Гц); 1,65 (m; 4H); 1,52-1,44 (m; 4H); 1,31 (d; 3H; J=6 Гц); 1,26 (m; 2H); 0,85 (s; 3H).

Пример 10.

Соединение 37 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 14.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-хлор-4-амино-5-фтор)бензамид (37).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-хлор-4-нитро-5-фтор)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 46 мг; 0,071 ммоль) и 3-трифторметил-4-нитробензойная кислота (36; 26 мг; 0,118 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения белого твердого вещества (33 мг; 55%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{45}N_4O_{12}Cl_2F$ ; 850,2; обнаружено 833,1 (M-H<sub>2</sub>O+H); 851,1 (M+H); 873,1 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-хлор-4-амино-5-фтор)бензамид (37).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (36 мг; 0,042 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (17 мг; 46%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{47}N_4O_{10}Cl_2F$ ; 820,3; обнаружено 803,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 821,2 (M+H); 843,2 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 6,88 (d; 2H; J=13 Гц); 6,83 (d; 1H; J=11 Гц); 6,77 (d; 1H; J=8 Гц); 6,72 (d; 1H; J=10 Гц); 6,46 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,25 (s; 1H); 5,71 (dd; 1H; J=16 Гц; 10 Гц); 5,52 (m; 1H); 4,85 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,30 (t; 1H; J=11 Гц); 4,01 (s; 3H); 3,92 (s; 2H); 3,73 (d; 1H; J=13 Гц); 3,52 (d; 1H; J=9 Гц); 3,37 (s; 3H); 3,15 (d; 1H; J=13 Гц); 3,10 (s; 3H); 3,03 (d; 1H; J=10 Гц); 2,75 (s; 3H); 2,68 (dd; 1H; J=14 Гц; 12 Гц); 2,22 (dd; 1H; J=15 Гц; 3 Гц); 1,67 (s; 3H); 1,61 (m; 1H); 1,50-1,43 (m; 5H); 1,31 (d; 3H; J=6 Гц); 1,27-1,24 (m; 1H); 0,86 (s; 3H).

Пример 11.

Соединение 39 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 16.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2,5-дифтор-4-амино)бензамид (39).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(2,5-дифтор-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 48 мг; 0,074 ммоль) и 2,5-дифтор-4-нитробензойная кислота (38; 27 мг; 0,133 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, получения желтого твердого вещества (37 мг; 60%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{45}N_4O_{12}ClF_2$ ; 834,3; обнаружено 817,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 835,2 (M+H); 857,2 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(2,5-дифтор-4-амино)бензамид (39).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (36 мг; 0,043 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (22 мг; 59%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{47}N_4O_{10}ClF_2$ ; 804,3; обнаружено 787,3 (M-H<sub>2</sub>O+H); 805,3 (M+H); 827,3 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 6,89-6,84 (m; 3H); 6,77 (d; 1H; J=11 Гц); 6,49-6,41 (m; 2H); 6,24 (s; 1H); 5,72 (dd; 1H; J=16 Гц; 9 Гц); 5,47 (q; 1H; J=7 Гц); 4,87 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,30 (td; 1H; J=12 Гц; 2 Гц); 4,00 (m; 5H); 3,71 (d; 1H; J=13 Гц); 3,52 (d; 1H; J=9 Гц); 3,36 (s; 3H); 3,33 (br s; 1H); 3,13 (d; 1H; J=13 Гц); 3,06 (s; 3H); 3,02 (d; 1H; J=10 Гц); 2,83 (d; 3H; J=2 Гц); 2,66 (dd; 1H; J=15 Гц; 12 Гц); 2,18 (dd; 1H; J=14 Гц; 3 Гц); 1,67 (s; 3H); 1,63 (d; 1H; J=14 Гц); 1,51-1,45 (m; 1H); 1,43 (d; 3H; J=7 Гц); 1,31 (d; 3H; J=6 Гц); 1,27 (m; 1H); 0,84 (s; 3H).

Пример 12.

Соединение 41 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 17.

Майтансин-N-метил-L-аланин(3-фтор-4-амино)бензамид (41).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-фтор-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 47 мг; 0,072 ммоль) и 3-фтор-4-нитробензойная кислота (40) (24 мг; 0,130 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (40 мг; 68%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{46}N_4O_{12}ClF$ ; 816,3; обнаружено 799,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 817,2 (M+H); 839,2 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-фтор-4-амино)бензамид (41).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (39 мг; 0,048 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (24 мг; 60%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{48}N_4O_{10}ClF$ ; 786,3; обнаружено 769,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 787,2 (M+H); 809,2 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,11-7,04 (m; 2H); 6,89 (s; 1H); 6,83 (d; 1H; J=2 Гц); 6,72 (d; 1H; J=11 Гц); 6,68 (t; 1H; J=8 Гц); 6,45 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,25 (s; 1H); 5,72 (dd; 1H; J=15 Гц; 9 Гц); 5,43 (m;

1H); 4,86 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,31 (t; 1H; J=11 Гц); 3,99 (s; 3H); 3,92 (m; 2H); 3,62 (d; 1H; J=13 Гц); 3,51 (d; 1H; J=9 Гц); 3,40 (bs s; 1H); 3,36 (s; 3H); 3,12 (m; 1H); 3,08 (s; 3H); 3,04 (d; 1H; J=10 Гц); 2,92 (s; 3H); 2,68 (t; 1H; J=13 Гц); 2,20 (dd; 1H; J=15 Гц; 3 Гц); 1,66 (s; 3H); 1,63 (m; 1H); 1,49-1,46 (m; 1H); 1,44 (d; 3H; J=7 Гц); 1,31 (d; 3H; J=7 Гц); 1,27 (m; 1H); 0,84 (s; 3H).

Пример 13.

Соединение 43 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 18.

Майтансин-N-метил-L-аланин(3-хлор-4-амино)бензамид (43).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-хлор-4-амино)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 45 мг; 0,069 ммоль) и 3-хлор-4-нитробензойная кислота (42) (26 мг; 0,129 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (36 мг; 62%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{46}N_4O_{12}Cl_2$ ; 832,2; обнаружено 815,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 833,2 (M+H); 855,2 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-хлор-4-амино)бензамид (43).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (35 мг; 0,042 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (24 мг; 67%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{48}N_4O_{10}Cl_2$ ; 802,3; обнаружено 785,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 803,2 (M+H); 825,1 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,35 (s; 1H); 7,17 (d; 1H; J=8 Гц); 6,90 (s; 1H); 6,83 (d; 1H; J=2 Гц); 6,68 (m; 2H); 6,44 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,30 (s; 1H); 5,73 (dd; 1H; J=15 Гц; 9 Гц); 5,42 (m; 1H); 4,87 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,32-4,27 (m; 3H); 3,99 (s; 3H); 3,60 (d; 1H; J=13 Гц); 3,51 (d; 1H; J=10 Гц); 3,44 (bs s; 1H); 3,36 (s; 3H); 3,10 (m; 4H); 3,03 (d; 1H; J=10 Гц); 2,92 (s; 3H); 2,69 (m; 1H); 2,21 (dd; 1H; J=15 Гц; 3 Гц); 1,65 (s; 3H); 1,63 (m; 1H); 1,52-1,45 (m; 1H); 1,43 (d; 3H; J=7 Гц); 1,31 (d; 3H; J=7 Гц); 1,27 (m; 1H); 0,83 (s; 3H).

Пример 14.

Соединение 45 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 19.

Майтансин-N-метил-L-аланин(5-амино-8-карбоксиквинолин)карбоксамид (45).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(5-нитро-8-карбоксиквинолин)карбоксамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 45 мг; 0,069 ммоль) и 5-нитро-8-карбоксиквинолин (44) (24 мг; 0,110 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения бледно-желтого твердого вещества (26 мг; 44%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{42}H_{48}N_5O_{12}Cl$ ; 849,3; обнаружено 832,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 850,2 (M+H); 872,2 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(5-амино-8-карбоксиквинолин)карбоксамид (45).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (25 мг; 0,029 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения бледно-желтого твердого вещества (8 мг; 31%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{42}H_{50}N_5O_{10}Cl$ ; 819,3; обнаружено 802,3 (M-H<sub>2</sub>O+H); 820,3 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,80 (br s; 1H); 8,54 (d; 1H; J=10 Гц); 7,39 (br s; 1H); 7,28 (s; 1H); 7,05-7,00 (br m; 2H); 6,90 (s; 1H); 6,84 (m; 1H); 6,62 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,52 (br m; 1H); 6,22 (s; 2H); 5,98 (s; 1H); 5,62 (br m; 2H); 4,56 (br m; 1H); 4,11 (m; 1H); 3,98 (s; 3H); 3,64 (d; 1H; J=13 Гц); 3,53 (d; 1H; J=9 Гц); 3,27 (s; 3H); 2,92-2,88 (m; 3H); 2,81 (d; 1H; J=10 Гц); 2,42 (br s; 2H); 2,07-2,04 (m; 1H); 1,75 (m; 2H); 1,66 (s; 3H); 1,55-1,45 (m; 3H); 1,42 (d; 3H; J=1 Гц); 1,32 (d; 1H; J=14 Гц); 1,24 (s; 1H); 1,14 (d; 3H; J=7 Гц); 0,84 (s; 3H).

Пример 15.

Соединение 47 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 20.

Майтансин-N-метил-L-аланин(3-бромо-4-амино)бензамид (47).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-бромо-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 49 мг; 0,075 ммоль) и 3-бромо-4-нитробензойная кислота (46) (30 мг; 0,122 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (38 мг; 58%). MS (ESI, pos.): рассчитано для  $C_{39}H_{46}N_4O_{12}BrCl$ ; 876,2/878,2; обнаружено 861,1 (M-H<sub>2</sub>O+H); 879,1 (M+H); 901,1 (M+Na) для наиболее распространенных изотопов.

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-бромо-4-амино)бензамид (47).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (37 мг; 0,042 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (28 мг; 74%). MS (ESI, pos.): рассчитано для  $C_{39}H_{48}N_4O_{10}BrCl$ ; 846,2/848,2; обнаружено 831,1 (M-H<sub>2</sub>O+H); 849,1 (M+H); 871,2 (M+Na) для наиболее распространенных изотопов.

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,51 (s; 1H); 7,20 (d; 1H; J=8 Гц); 6,90 (s; 1H); 6,83 (s; 1H); 6,68 (m; 2H); 6,44 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,33 (s; 1H); 5,74 (dd; 1H; J=15 Гц; 10 Гц); 5,42 (m; 1H); 4,88 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,31 (m; 3H); 3,99 (s; 3H); 3,60 (d; 1H; J=13 Гц); 3,51 (d; 1H; J=9 Гц); 3,46 (br s; 1H); 3,36 (s; 3H); 3,10 (s; 3H); 3,09 (m; 1H); 3,03 (d; 1H; J=10 Гц); 2,70 (t; 1H; J=13 Гц); 2,21 (dd; 1H; J=15 Гц; 3 Гц); 1,65 (s; 3H); 1,51-1,45 (m; 2H); 1,43 (d; 3H; J=7 Гц); 1,30 (d; 3H; J=6 Гц); 1,27 (m; 1H); 0,85 (s; 3H).

## Пример 16.

Соединение 49 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 21.

Майтансин-N-метил-L-аланин(3-метокси-4-амино)бензамид (49).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-метокси-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 49 мг; 0,075 ммоль) и 3-метокси-4-нитробензойная кислота (48) (23 мг; 0,117 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (34 мг; 55%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{49}N_4O_{13}Cl$ ; 828,3; обнаружено 811,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 829,3 (M+H); 851,3 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-метокси-4-амино)бензамид (49).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (33 мг; 0,40 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (25 мг; 74%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{51}N_4O_{11}Cl$ ; 798,3; обнаружено 781,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 799,2 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 6,94 (s; 1H); 6,92 (s; 1H); 6,85 (d; 1H; J=8 Гц); 6,81 (s; 1H); 6,74 (br d; 1H; J=10 Гц); 6,54 (d; 1H; J=10 Гц); 6,44 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,33 (s; 1H); 5,76 (m; 1H); 5,43 (br s; 1H); 4,87 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,31 (t; 1H; J=11 Гц); 3,98 (s; 3H); 3,70 (s; 3H); 3,64 (br d; 1H; J=13 Гц); 3,36 (s; 3H); 3,11-3,02 (m; 5H); 2,94 (s; 3H); 2,68 (m; 1H); 2,20 (dd; 1H; J=14 Гц; 3 Гц); 1,67 (m; 1H); 1,65 (s; 3H); 1,49 (dd; 1H; J=9 Гц; 7 Гц); 1,44 (d; 3H; J=7 Гц); 1,30 (d; 3H; J=7 Гц); 1,27 (m; 1H); 0,85 (s; 3H).

## Пример 17.

Соединение 51 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 22.

Майтансин-N-метил-L-аланин(2-метил-4-амино)бензамид (51).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-метил-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 49 мг; 0,075 ммоль) и 2-метил-4-нитробензойная кислота (50) (24 мг; 0,132 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения бледно-желтого твердого вещества (32 мг; 52%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{49}N_4O_{12}Cl$ ; 812,3; обнаружено 795,3 (M-H<sub>2</sub>O+H); 813,3 (M+H); 835,3 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-метил-4-амино)бензамид (51).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (30 мг; 0,037 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (17 мг; 55%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{51}N_4O_{10}Cl$ ; 782,3; обнаружено 765,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 783,2 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 6,93 (s; 1H); 6,85 (s; 1H); 6,81 (d; 1H; J=8 Гц); 6,77 (d; 1H; J=11 Гц); 6,49 (s; 1H); 6,45 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,34 (d; 1H; J=7 Гц); 6,28 (s; 1H); 5,74 (dd; 1H; J=15 Гц; 9 Гц); 5,38 (m; 1H); 4,90 (m; 1H); 4,32 (t; 1H; J=11 Гц); 4,00 (s; 3H); 3,69 (d; 1H; J=13 Гц); 3,51 (d; 1H; J=9 Гц); 3,36 (s; 3H); 3,15 (m; 1H); 3,12 (s; 3H); 3,01 (d; 1H; J=10 Гц); 2,73 (s; 3H); 2,69 (m; 1H); 2,22 (m; 1H); 2,18 (s; 3H); 1,68 (m; 1H); 1,66 (s; 3H); 1,51 (m; 1H); 1,47 (d; 3H; J=7 Гц); 1,30 (d; 3H; J=6 Гц); 1,28 (m; 1H); 0,87 (s; 3H).

## Пример 18.

Соединение 53 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 23.

Майтансин-N-метил-L-аланин(3-метил-4-амино)бензамид (53).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-метил-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 49 мг; 0,075 ммоль) и 3-метил-4-нитробензойная кислота (52) (26 мг; 0,143 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (34 мг; 56%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{49}N_4O_{12}Cl$ ; 812,3; обнаружено 795,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 813,2 (M+H).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-метил-4-амино)бензамид (53).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (33 мг; 0,041 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (24 мг; 71%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{51}N_4O_{10}Cl$ ; 782,3; обнаружено 765,2 (M-H<sub>2</sub>O+H); 783,2 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,15 (s; 1H); 7,09 (d; 1H; J=8 Гц); 6,94 (s; 1H); 6,82 (s; 1H); 6,72 (br d; 1H; J=10 Гц); 6,54 (d; 1H; J=8 Гц); 6,44 (dd; 1H; J=15 Гц; 12 Гц); 6,33 (s; 1H); 5,75 (dd; 1H; J=14 Гц; 9 Гц); 5,42 (m; 1H); 4,87 (dd; 1H; J=12 Гц; 10 Гц); 4,31 (t; 1H; J=11 Гц); 3,98 (s; 3H); 3,63 (br d; 1H; J=13 Гц); 3,50 (d; 1H; J=9 Гц); 3,36 (s; 3H); 3,10 (m; 1H); 3,07 (s; 3H); 3,03 (d; 1H; J=10 Гц); 2,91 (s; 3H); 2,68 (t; 1H; J=13 Гц); 2,19 (dd; 1H; J=14 Гц; 3 Гц); 2,06 (s; 3H); 1,66 (m; 1H); 1,65 (s; 3H); 1,48 (dd; 1H; J=11 Гц; 7 Гц); 1,43 (d; 3H; J=7 Гц); 1,29 (d; 3H; J=7 Гц); 1,27 (m; 1H); 0,84 (s; 3H).

## Пример 19.

Соединение 55 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 24.

Майтансин-N-метил-L-аланин(8-амино-5-карбоксивинолин)карбоксамид (55).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(8-нитро-5-карбоксиквиолин)карбоксамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 47 мг; 0,072 ммоль) и 8-нитро-5-карбоксиквиолин (54) (35 мг; 0,160 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения бледно-желтого твердого вещества (30 мг; 49%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{42}H_{48}N_5O_{12}Cl$ ; 849,3; обнаружено 832,6 (M-H<sub>2</sub>O+H); 850,7 (M+H).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(8-амино-5-карбоксиквиолин)карбоксамид (55).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (29 мг; 0,034 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения бледно-желтого твердого вещества (18 мг; 60%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{42}H_{50}N_5O_{10}Cl$ ; 819,3; обнаружено 802,0 (M-H<sub>2</sub>O+H); 820,0 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,77 (dd; 1H; J=4 Гц; 2 Гц); 8,18 (d; 1H; J=8 Гц); 7,40 (dd; 1H; J=9 Гц; 4 Гц); 7,23 (m; 1H); 6,99 (s; 1H); 6,87 (s; 1H); 6,73 (d; 1H; J=8 Гц); 6,68 (d; 1H; J=11 Гц); 6,47 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,26 (s; 1H); 5,77 (dd; 1H; J=15 Гц; 9 Гц); 5,32 (br m; 1H); 5,21 (br s; 2H); 4,99 (d; 1H; J=9 Гц); 4,34 (t; 1H; J=11 Гц); 4,01 (s; 3H); 3,78 (br m; 1H); 3,67 (d; 1H; J=13 Гц); 3,51 (d; 1H; J=10 Гц); 3,37 (s; 3H); 3,16 (d; 1H; J=13 Гц); 3,12 (s; 3H); 3,00 (d; 1H; J=10 Гц); 2,79 (s; 3H); 2,73 (m; 1H); 2,24 (dd; 1H; J=14 Гц; 3 Гц); 1,76 (d; 1H; J=14 Гц); 1,68 (s; 3H); 1,61 (d; 3H; J=7 Гц); 1,33 (m; 1H); 1,30 (d; 3H; J=7 Гц); 1,25 (s; 1H); 0,90 (s; 3H).

Пример 20.

Соединение 60 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 25.

Майтансин-N-метил-L-аланин(3-метокси-4-амино)бензамидо-Cit-Val-Cap-Mal(60).

Этап А.

Вос-L-валин-L-цитруллин-(3-метокси-4-амино)бензойная кислота t-бутил эфир (57).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: Вос-L-валин-L-цитруллин (3; 100 мг; 0,267 ммоль) и 4-амино-3-метоксибензойная кислота трет-бутил эфир (56; 61 мг; 0,273 ммоль), с использованием способа этапа А примера 2, для получения белого твердого вещества (74 мг; 48%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{28}H_{45}N_3O_8$ ; 579,3; обнаружено 580,4 (M+H); 602,6 (M+Na).

Этап В. L-валин-L-цитруллин-(3-метокси-4-амино)бензойная кислота (58).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (57; 72 мг; 0,124 ммоль), с использованием способа С примера 1, для получения грязно-белого твердого вещества (68 мг; 100%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{19}H_{29}N_3O_6$ ; 423,2; обнаружено 424,4 (M+H); 847,4 (2M+H).

Этап С. 6-(Малеимидил-капролил)-L-валин-L-цитруллин-(3-метокси-4-амино)бензойная кислота (59).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (58; 67 мг; 0,124 ммоль), с использованием способа D примера 1, для получения белого твердого вещества (45 мг; 59%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{29}H_{40}N_6O_9$ ; 616,3; обнаружено 617,5 (M+H); 639,6 (M+Na).

Этап Д. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-метокси-4-амино)бензамидо-Cit-Val-Cap-Mal (60).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (59; 44 мг; 0,071 ммоль) и майтансин-N-метил-L-аланин (9; 49 мг; 0,075 ммоль), с использованием способа Е примера 1, для получения белого твердого вещества (14 мг; 16%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{61}H_{82}N_9O_{17}Cl$ ; 1247,6; обнаружено 1231,1 (M-H<sub>2</sub>O+H); 1249,1 (M+H); 1271,1 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,48 (s; 1H); 8,24 (d; 1H; J=8 Гц); 7,11 (d; 1H; J=8 Гц); 6,96-6,93 (m; 3H); 6,83 (s; 1H); 6,72-6,68 (m; 3H); 6,45 (dd; 1H; J=16 Гц; 11 Гц); 6,25 (s; 1H); 6,18 (d; 1H; J=9 Гц); 5,77 (dd; 1H; J=15 Гц; 10 Гц); 5,44 (m; 1H); 5,03 (br s; 1H); 4,90 (d; 1H; J=10 Гц); 4,62 (m; 1H); 4,54 (br s; 2H); 4,33-4,28 (m; 2H); 3,99 (s; 3H); 3,75 (s; 3H); 3,61 (d; 1H; J=13 Гц); 3,52-3,48 (m; 3H); 3,36 (s; 3H); 3,24 (m; 2H); 3,11 (d; 1H; J=13 Гц); 3,07 (s; 3H); 3,03 (d; 1H; J=10 Гц); 2,90 (s; 3H); 2,70 (m; 1H); 2,26-2,20 (m; 3H); 2,12 (m; 1H); 2,00 (m; 1H); 1,78 (m; 1H); 1,63-1,57 (m; 6H); 1,46 (d; 2H; J=7 Гц); 1,33-1,25 (m; 6H); 0,95 (m; 6H); 0,86 (s; 3H).

Пример 21.

Соединение 63 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 26.

Майтансин-N-метил-L-манин-(2-фтор-4-амино)бензамидо-Cit-Val-Cap-6-амин (63).

Этап А. Вос-6-аминогексановая кислота сукцинат эфир.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: Вос-6-аминогексановая кислота (64; 502 мг; 2,17 ммоль), с использованием способа этапа А примера 1, для получения белого твердого вещества (712 мг; 99%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{15}H_{24}N_2O_6$ ; 328,2; определено 351,2 (M+Na).

Этап В. Вос-(6-амино-капролил)-L-валин-L-цитруллин (62).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (710 мг; 2,16 ммоль) и L-валин-L-цитруллин TFA соль (970 мг; 2,51 ммоль), с использованием способа D примера 1, для получения бледно-золотистого твердого вещества (720 мг; 69%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{22}H_{41}N_5O_7$ ; 487,3; определено 488,3 (M+H), (M+H).

Этап С. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-фтор-4-амино)бензамидо-Cit-Val-Cap-6-Вос-амин.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (62; 25 мг; 0,051 ммоль) и майтансин-N-метил-L-аланин(2-фтор-4-амино)бензамид (29; 35 мг; 0,041 ммоль), с использованием способа этапа А примера 2, для получения белого твердого вещества (17 мг; 33%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{61}H_{87}N_9O_{16}ClF$ ; 1255,6; обнаружено 1238,5 (M-H<sub>2</sub>O+H); 1256,6 (M+H); 1278,6 (M+Na).

Этап D. Майтансин-N-метил-L-аланин-(2-фтор-4-амино)бензамидо-Cit-Val-Cap-6-амин (63).

Вещество предыдущего этапа (16 мг; 0,013 ммоль) было растворено в ацетонитриле (MeCN, 3 мл) и воде (1 мл), обработано трифторуксусной кислотой (TFA, 1,0 мл, 13,0 ммоль), колба была герметизирована каучуковой мембраной, продута аргоном, и реагирующие вещества перемешивались при окружающей температуре. Спустя 24 ч реагирующая смесь была частично сконцентрирована in vacuo при окружающей температуре, разведена водой (примерно 1 мл), и дважды очищена на C18 Aq RediSep Gold колонне с помощью системы ISCO (20-80% MeCN в воде; 0,1% TFA обе фазы). Наиболее чистые фракции по оценке LCMS скомбинированы, частично сконцентрированы in vacuo при окружающей температуре, заморозены при температуре -78°C, и лиофилизированы для получения соединения, указанного в заголовке этапа, в виде белого твердого вещества (9 мг; 56%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{56}H_{79}N_9O_{14}ClF$ ; 1155,5; обнаружено 1156,6 (M+H); 1178,6 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,72 (d; 1H; J=12 Гц); 8,39 (d; 1H; J=13 Гц); 8,14 (d; 1H; J=10 Гц); 7,84 (dd; 1H; J=21 Гц; 3 Гц); 7,75 (dd; 1H; J=21 Гц; 3 Гц); 7,60 (dd; 1H; J=15 Гц; 3 Гц); 7,33 (dd; 1H; J=14 Гц; 3 Гц); 7,25 (m; 1H); 7,21 (s; 1H); 6,97 (s; 1H); 6,75 (m; 1H); 6,72 (s; 1H); 6,67 (m; 1H); 5,78-5,60 (m; 3H); 4,77 (m; 1H); 4,45 (m; 2H); 4,26 (m; 1H); 4,20 (d; 1H; J=13 Гц); 4,05-4,00 (m; 2H); 4,03 (s; 3H); 3,69 (dd; 1H; J=21 Гц; 5 Гц); 3,64 (d; 1H; J=16 Гц); 3,41 (s; 3H); 3,30-3,26 (m; 2H); 3,23-3,09 (m; 2H); 3,05 (m; 3H); 2,97 (dd; 1H; J=16 Гц; 5 Гц); 2,92 (d; 1H; J=13 Гц); 2,86 (m; 3H); 2,82 (d; 1H; J=13 Гц); 2,75 (m; 1H); 2,36-2,29 (m; 2H); 2,25-2,20 (m; 1H); 2,08-2,02 (m; 2H); 1,76 (s; 3H); 1,73-1,50 (m; 10H); 1,45 (m; 2H); 1,36-1,32 (m; 2H); 1,28 (d; 3H; J=11 Гц); 1,05 (d; 3H; J=11 Гц); 1,03-0,98 (m; 4H); 0,93 (s; 3H).

Пример 22.

Соединение 65 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 27.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-метокси-5-амино)бензамид (65).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-метокси-5-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 50 мг; 0,077 ммоль) и 2-метокси-5-нитробензойная кислота (64) (25 мг; 0,127 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения белого твердого вещества (51 мг; 80%). MS (ESI, pos.); вычислено для  $C_{40}H_{49}ClN_4O_{13}$ ; 829,3; обнаружено 812,0 (M-H<sub>2</sub>O+H); 830,0 (M+H); 852,0 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-метокси-5-амино)бензамид (65).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (50 мг; 0,060 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (19 мг; 40%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{51}ClN_4O_{11}$ ; 798,3; обнаружено 781,3 (M-H<sub>2</sub>O); 799,3 (M+H); 822,3 (M+Na).

Пример 23.

Соединение 67 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 28.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амино-4-метокси)бензамид (67).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-нитро-4-метокси)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9, 50 мг; 0,077 ммоль) и 3-нитро-4-метоксибензойная кислота (66) (25 мг; 0,127 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения белого твердого вещества (46 мг; 72%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{49}ClN_4O_{13}$ ; 829,3; обнаружено 812,0 (M-H<sub>2</sub>O+H); 830,0 (M+H); 852,0 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амино-4-метокси)бензамид (67).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (45 мг; 0,054 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (23 мг; 53%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{51}ClN_4O_{11}$ ; 798,3; обнаружено 781,3 (M-H<sub>2</sub>O); 799,3 (M+H); 822,3 (M+Na).

Пример 24.

Соединение 69 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 29.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амино-5-фтор)бензамид (69).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-нитро-5-фтор)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 50 мг; 0,077 ммоль) и 3-нитро-5-фторбензойная кислота (68) (24 мг; 0,127 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (37 мг; 59%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{46}ClFN_4O_{12}$ ; 816,3; обнаружено 817,2 (M+H).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амино-5-фтор)бензамид (69).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (37 мг; 0,045 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (9,1 мг; 24%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{48}ClFN_4O_{10}$ ; 786,3; обнаружено 769,3 (M-H<sub>2</sub>O); 787,3 (M+H).

Пример 25.

Соединение 71 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 30.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-фтор-5-амино)бензамид (71).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-фтор-5-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 50 мг; 0,077 ммоль) и 2-фтор-5-нитробензойная кислота (70) (24 мг; 0,127 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (37 мг; 59%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{46}ClFN_4O_{12}$ ; 816,3; обнаружено 799,3 (M-H<sub>2</sub>O); 817,2 (M+H).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-фтор-5-амино)бензамид (71).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (37 мг; 0,045 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (2,2 мг; 6%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{48}ClFN_4O_{10}$ ; 786,3; обнаружено 769,3 (M-H<sub>2</sub>O); 787,3 (M+H).

Пример 26.

Соединение 73 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 31.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амино)бензамид (73).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9, 50 мг; 0,077 ммоль) и 3-нитробензойная кислота (72) (21 мг; 0,127 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения белого твердого вещества (34 мг; 56%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{47}ClN_4O_{12}$ ; 798,3; обнаружено 781,2 (M-H<sub>2</sub>O); 799,3 (M+H).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амино)бензамид (73).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (34 мг; 0,043 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (9,3 мг; 27%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{49}ClN_4O_{10}$ ; 768,3; обнаружено 751,2 (M-H<sub>2</sub>O); 769,2 (M+H).

Пример 27.

Соединение 75 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 32.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амино-4-фтор)бензамид (75).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-нитро-4-фтор)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 50 мг; 0,077 ммоль) и 3-нитро-4-фторбензойная кислота (74) (24 мг; 0,127 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения белого твердого вещества (34 мг; 54%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{46}ClFN_4O_{12}$ ; 816,3; обнаружено 799,3 (M-H<sub>2</sub>O); 817,2 (M+H).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-амино-4-фтор)бензамид (75).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (34 мг; 0,042 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (12 мг; 37%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{48}ClFN_4O_{10}$ ; 786,3; обнаружено 769,3 (M-H<sub>2</sub>O); 787,3 (M+H).

Пример 28.

Соединение 77 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 33.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-4-аминобензамид-адипин-NHS (77).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(4-амино)бензамид-адипиновая кислота (76).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: 27 (20 мг; 0,026 ммоль) и адипинового ангидрида (17 мг; 0,133 ммоль) были отвешены в колбу с круглым дном и растворены в пиридине (1,5 мл). Колба была герметизирована каучуковой мембраной, продута азотом, и реагирующие вещества перемешивались при окружающей температуре. Спустя 4 ч реагирующая смесь была очищена непосредственно на 30 г C18 RediSep Gold Aq колонне посредством системы ISCO (градиентное элюирование: 20-90% MeCN в воде; 0,05% уксусной кислоты в обеих частях, более 20 мин). Фракции, содержащие продукт, были сконцентрированы, частично сконцентрированы *in vacuo*, заморожены в сухом льду, и лиофилизированы в течение суток с образованием грязно-белого твердого вещества (16 мг; 67%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{45}H_{57}ClN_4C_{13}$ ; 896,4; обнаружено 879,4 (M-H<sub>2</sub>O); 897,4 (M+H).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(4-амино)бензамид-адипин-NHS (77).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (76; 16 мг; 0,017 ммоль), с использованием способа этапа А примера 1, для получения белого твердого вещества (10 мг; 58%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{49}H_{60}ClN_5O_{15}$ ; 993,5; обнаружено 976,0 (M-H<sub>2</sub>O); 994,0 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,92 (s; 1H); 7,57 (d; 2H; J=8 Гц); 7,36 (d; 2H; J=8 Гц); 6,93 (s; 1H); 6,86

(s; 1H); 6,75 (d; 1H; J=12 Гц); 6,47 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,29 (s; 1H); 5,74 (dd; 1H; J=16 Гц; 9 Гц); 5,47 (m; 1H); 4,90 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,32 (t; 1H; J=11 Гц); 4,02 (s; 4H); 3,63 (d; 1H; J=13 Гц); 3,62 (br s; 1H); 3,53 (d; 1H; J=9 Гц); 3,38 (s; 3H); 3,13 (d; 1H; J=13 Гц); 2 (s; 3H); 2,80 (d; 2H; J=10 Гц); 2,73 (s; 3H); 2,60 (m; 1H); 2,27 (t; 2H; J=10 Гц); 2,11 (br s; 1H); 2,07 (s; 2H); 1,62 (s; 3H); 1,58-1,52 (m; 2H); 1,51-1,46 (m; 2H); 1,34-1,29 (m; 3H); 1,25-1,20 (m; 2H); 1,13 (d; 3H; J=7 Гц); 0,82 (s; 3H).

Пример 29.

Соединение 78 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 34.

Майтансин-N-метил-L-аланин-4-аминобензамид-Сар-Мал (78).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: 27 (15 мг; 0,019 ммоль) и 6-малеимидогексановая кислота (6 мг; 0,029 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения грязно-белого твердого вещества (9,8 мг; 52%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{49}H_{60}ClN_5O_{13}$ ; 962,5; обнаружено 944,8 (M-H<sub>2</sub>O); 962,8 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 10,01 (s; 1H); 7,56 (d; 2H; J=9 Гц); 7,29 (d; 2H; J=9 Гц); 7,21 (s; 1H); 6,99 (s; 2H); 6,91 (s; 1H); 6,83 (s; 1H); 6,62-6,56 (m; 2H); 5,97 (s; 1H); 5,61 (dd; 1H; J=15 Гц; 10 Гц); 5,44 (m; 1H); 4,59 (d; 1H; J=12 Гц); 4,10 (t; 1H; J=12 Гц); 3,94 (s; 3H); 3,51 (d; 1H; J=9 Гц); 3,40-3,36 (m; 2H); 3,26 (s; 3H); 3,23-3,21 (m; 2H); 2,94 (s; 3H); 2,80 (d; 1H; J=10 Гц); 2,73 (s; 3H); 2,64-2,57 (m; 1H); 2,27 (t; 2H; J=10 Гц); 2,11-2,09 (m; 1H); 2,07 (s; 2H); 1,62 (s; 3H); 1,57-1,52 (m; 2H); 1,51-1,46 (m; 2H); 1,34-1,29 (m; 3H); 1,25-1,19 (m; 2H); 1,13 (d; 3H; J=7 Гц); 0,82 (s; 3H).

Пример 30.

Соединение 80 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 35.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-метилсульфонил-4-амино)бензамид (80).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-метилсульфонил-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 40 мг; 0,062 ммоль) и 3-метилсульфонил 4-нитробензойная кислота (79) (25 мг; 0,102 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (37 мг; 69%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{50}H_{49}N_4O_{14}ClS$ ; 876,3; обнаружено 857,6 (M-H<sub>2</sub>O+H); 875,6 (M+H); 897,6 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-метилсульфонил-4-амино)бензамид (80).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (36 мг; 0,041 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (28 мг; 76%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{51}N_4O_{12}ClS$ ; 846,3; обнаружено 829,1 (M-H<sub>2</sub>O+H); 847,1 (M+H); 869,1 (M+Na).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,85 (s; 1H); 7,44 (d; 1H; J=9 Гц); 6,90 (s; 1H); 6,84 (s; 1H); 6,71 (d; 1H; J=9 Гц); 6,66 (d; 1H; J=11 Гц); 6,45 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,23 (s; 1H); 5,72 (dd; 1H; J=15 Гц; 10 Гц); 5,32-5,25 (m; 2H); 4,89 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,31 (t; 1H; J=11 Гц); 3,99 (s; 3H); 3,65 (d; 1H; J=13 Гц); 3,51 (d; 1H; J=9 Гц); 3,36 (s; 3H); 3,14 (d; 1H; J=13 Гц); 3,05 (s; 3H); 3,01 (m; 1H); 2,99 (s; 3H); 2,95 (s; 3H); 2,68 (t; 1H; J=14 Гц); 2,20 (dd; 1H; J=15 Гц; 3 Гц); 1,70 (m; 1H); 1,67 (s; 3H); 1,55 (s; 3H); 1,52 (m; 1H); 1,47 (d; 1H; J=7 Гц); 1,31 (d; 1H; J=7 Гц); 1,28 (m; 1H); 0,85 (s; 3H).

Пример 31.

Соединение 82 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 36.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-гидрокси-4-амино)бензамид (82).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-гидрокси-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 47 мг; 0,072 ммоль) и 3-гидрокси-4-нитробензойная кислота (81) (20 мг; 0,109 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (29 мг; 49%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{47}N_4O_{13}Cl$ ; 814,3; обнаружено 796,8 (M-H<sub>2</sub>O+H); 814,8 (M+H); 836,8 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-гидрокси-4-амино)бензамид (82).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (28 мг; 0,034 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения бледно-желтого твердого вещества (20 мг; 69%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{51}N_4O_{12}ClS$ ; 784,3; обнаружено 767,7 (M-H<sub>2</sub>O+H); 785,7 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,19 (s; 1H); 7,17 (s; 1H); 6,88 (s; 1H); 6,79 (br s; 2H); 6,63-6,56 (m; 3H); 6,47 (m; 1H); 5,93 (s; 1H); 4,93 (s; 2H); 4,57 (d; 1H; J=11 Гц); 4,09 (t; 1H; J=12 Гц); 3,93 (s; 3H); 3,50 (d; 1H; J=9 Гц); 3,26 (s; 3H); 3,18 (br m; 1H); 2,99 (s; 3H); 2,79 (d; 1H; J=10 Гц); 2,76 (s; 3H); 2,06 (dd; 1H; J=14 Гц; 2 Гц); 1,60 (s; 3H); 1,48-1,46 (m; 2H); 1,33-1,27 (m; 4H); 1,13 (d; 3H; J=6 Гц); 0,80 (s; 3H).

Пример 32.

Соединение 84 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 37.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(2-амино)бензамид (84).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-

аланин (9; 30 мг; 0,046 ммоль) и 2-нитробензойная кислота (83) (15 мг; 0,092 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (26 мг; 71%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{47}N_4O_{12}Cl$ ; 798,3; обнаружено 799,3 (M+H); 821,3 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(2-амино)бензамид (84).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (24 мг; 0,038 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (13 мг; 54%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{39}H_{49}N_4O_{10}Cl$ ; 768,3; обнаружено 769,0 (M+H).

$^1H$ -ЯМР (500 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7,16 (m; 1H); 7,08 (d; 1H; J=6 Гц); 6,92 (s; 1H); 6,84 (d; Ш; J=2 Гц); 6,71 (d; 1H; J=8 Гц); 6,63 (t; 1H; J=7 Гц); 6,57 (m; 1H); 6,47 (dd; 1H; J=15 Гц; 11 Гц); 6,27 (s; 1H); 5,76 (m; 1H); 5,20 (br s; 1H); 4,99 (m; 1H); 4,39-4,32 (m; 3H); 4,01 (s; 3H); 3,74 (br s; 1H); 3,59 (d; 1H; J=13 Гц); 3,52 (d; 1H; J=9 Гц); 3,39 (s; 3H); 3,20 (s; 3H); 3,15 (d; 1H; J=12 Гц); 2,99 (d; 1H; J=12 Гц); 2,94 (s; 3H); 2,73 (t; 1H; J=14 Гц); 2,26 (m; 1H); 1,75 (d; 1H; J=12 Гц); 1,69 (s; 3H); 1,55 (d; 3H; J=7 Гц); 1,50 (m; 1H); 1,35-1,30 (m; 4H); 0,90 (s; 3H).

Пример 33.

Соединение 86 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 38.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(4-метокси-2-амино)бензамид (86).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(4-метокси-2-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 30 мг; 0,046 ммоль) и 4-метокси-2-нитробензойная кислота (85) (18 мг; 0,092 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (18 мг; 47%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{49}N_4O_{13}Cl$ ; 828,3; обнаружено 829,4 (M+H); 851,3 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(4-метокси-2-амино)бензамид (86).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (18 мг; 0,022 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (15 мг; 84%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{40}H_{51}N_4O_{11}Cl$ ; 798,3; обнаружено 799,1 (M+H).

$^1H$ -ЯМР (500 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  6,94 (s; 1H); 6,85 (d; 1H; J=2 Гц); 6,79 (dd; 1H; J=9 Гц; 3 Гц); 6,67 (d; 1H; J=9 Гц); 6,65 (m; 1H); 6,60 (d; 1H; J=11 Гц); 6,48 (dd; 1H; J=15 Гц; 12 Гц); 6,27 (s; 1H); 5,76 (m; 1H); 5,22 (br s; 1H); 4,98 (m; 1H); 4,36 (t; 1H; J=11 Гц); 4,01 (s; 3H); 3,93 (br s; 1H); 3,72 (br s; 1H); 3,65 (m; 1H); 3,61 (s; 3H); 3,52 (d; 1H; J=9 Гц); 3,39 (s; 3H); 3,18 (s; 3H); 3,16 (m; 1H); 2,99 (d; 1H; J=10 Гц); 2,94 (s; 3H); 2,72 (t; 1H; J=13 Гц); 2,26 (dd; 1H; J=15 Гц; 3 Гц); 1,74 (d; 1H; J=14 Гц); 1,70 (s; 3H); 1,55 (d; 3H; J=7 Гц); 1,52-1,48 (m; 1H); 1,35-1,30 (m; 4H); 0,90 (s; 3H).

Пример 34.

Соединение 88 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 39.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-морфолино-4-амино)бензамид (88).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-морфолино-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 30 мг; 0,046 ммоль) и 3-морфолино-4-нитробензойная кислота (87) (23 мг; 0,092 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения желтого твердого вещества (28 мг; 70%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{43}H_{54}N_5O_{13}Cl$ ; 883,3; обнаружено 884,5 (M+H); 906,3 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-морфолино-4-амино)бензамид (88).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (28 мг; 0,032 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения грязно-белого твердого вещества (12 мг; 52%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{43}H_{56}N_5O_{11}Cl$ ; 853,4; обнаружено 853,9 (M+H); 875,9 (M+Na).

$^1H$ -ЯМР (500 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7,12 (s; 1H); 7,02 (d; 1H; J=8 Гц); 6,98 (s; 1H); 6,86 (d; 1H; J=2 Гц); 6,81 (d; 1H; J=11 Гц); 6,61 (d; 1H; J=8 Гц); 6,48 (dd; 1H; J=16 Гц; 12 Гц); 6,29 (s; 1H); 5,77 (dd; 1H; J=15 Гц; 9 Гц); 5,48 (m; 1H); 4,89 (dd; 1H; J=12 Гц; 3 Гц); 4,34 (t; 1H; J=12 Гц); 4,19 (br m; 1H); 4,01 (s; 3H); 3,80-3,75 (m; 5H); 3,53 (m; 2H); 3,39 (s; 3H); 3,15 (d; 1H; J=13 Гц); 3,07 (d; 1H; J=10 Гц); 3,03 (s; 3H); 2,96 (s; 3H); 2,73 (m; 5H); 2,22 (dd; 1H; J=14 Гц; 3 Гц); 1,71 (m; 1H); 1,69 (s; 3H); 1,54-1,49 (m; 1H); 1,47 (d; 3H; J=8 Гц); 1,33 (d; 3H; J=7 Гц); 1,30 (m; 1H); 0,88 (s; 3H).

Пример 35.

Соединение 90 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 40.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-(3-ацетамидо-4-амино)бензамид (90).

Этап А. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-ацетамидо-4-нитро)бензамид.

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ: майтансин-N-метил-L-аланин (9; 50 мг; 0,077 ммоль) и 3-ацетамидо-4-нитробензойная кислота (89) (29 мг; 0,129 ммоль), с использованием способа этапа А примера 5, для получения ворсистого желтого твердого вещества (36 мг; 54%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{41}H_{50}N_5O_{13}Cl$ ; 855,3; обнаружено 839,1 (M-H<sub>2</sub>O); 857,1 (M+H); 879,1 (M+Na).

Этап В. Майтансин-N-метил-L-аланин(3-ацетамидо-4-амино)бензамид (90).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (35

мг; 0,042 ммоль), с использованием способа этапа В примера 5, для получения белого твердого вещества (19 мг; 57%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{41}H_{52}N_5O_{11}Cl$ ; 825,3; обнаружено 808,4 (M-H<sub>2</sub>O); 6,4 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,05 (s; 1H); 7,30 (s; 1H); 7,17 (s; 1H); 6,98 (d; 1H; J=9 Гц); 6,91 (s; 1H); 6,79 (s; 1H); 6,58 (m; 3H); 5,97 (s; 1H); 5,64 (br s; 1H); 5,34 (m; 3H); 4,60 (d; 1H; J=12 Гц); 4,10 (t; 1H; J=12 Гц); 3,93 (s; 3H); 3,50 (d; 1H; J=9 Гц); 3,33 (s; 3H); 3,29 (m; 1H); 3,26 (s; 3H); 3,16 (d; 1H; J=12 Гц); 2,97 (s; 3H); 2,79 (m; 4H); 2,07 (d; 1H; J=13 Гц); 1,95 (s; 2H); 1,59 (s; 3H); 1,51-1,42 (m; 2H); 1,29 (m; 3H); 1,13 (d; 3H; J=6 Гц); 0,81 (s; 3H).

Пример 36.

Соединение 100 было синтезировано описанным ниже образом и представлено на фиг. 41.

Майтансин-N-метил-L-аланин-N-аминобензамид-Cit-Val-car-дибромометилакрил (100).

Этап А. 3-Бromo-2-бромометилпропионил хлорид (92).

В 10-мл колбу с круглым дном, оснащенную магнитной мешалкой и штуцером подачи азота, были помещены следующие вещества: 3-бromo-2-бромометилпропионовая кислота (91; 1,0 г; 4,1 ммоль) и тионил хлорид (3,0 мл). Раствор нагревался до возгонки в течение 3 ч и был сконцентрирован до 0,90 г (выход 84%) в виде коричневого масла.

<sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3,85-3,75 (m, 4H); 3,60 (пентет, 1H, J=9 Гц).

Этап В. 6-Аминогексановой кислоты трет-бутиловый эфир (94).

В 50-мл колбу с круглым дном, оснащенную магнитной мешалкой и штуцером подачи азота, были помещены следующие вещества: 6-аминогексановая кислота (93; 2,0 г; 15 ммоль) и тионил хлорид (5,0 мл; 69 ммоль; 4,5 экв.). Раствор перемешивался при температуре равной или ниже 30°C в течение 2 ч и был сконцентрирован *in vacuo* до высыхания. К этому коричневому полутвердому остатку была добавлена суспензия бикарбоната натрия (2,6 г; 30 ммоль; 2,0 экв.) в *t*-BuOH (5,0 мл; 87 ммоль; 5,7 экв.) и полученная суспензия перемешивалась при окружающей температуре еще 2 ч. Бутано был удален *in vacuo* при 40°C. Толстый слой шлама белого цвета был разведен этилацетатом и промыт 4 порциями 1 N NaOH, 3 порциями H<sub>2</sub>O, 1 порцией минерального раствора. Органические слои были высушены над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, профильтрованы и сконцентрированы для получения 2,2 г (выход 77%) в виде бесцветного масла MS (ESI, pos.): вычислено для C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>; 187,3; обнаружено 188,4 (M+H).

<sup>1</sup>H-NMR (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2,68-2,64 (m; 2H); 2,21-2,16 (m; 2H); 1,62-1,52 (m; 2H); 1,48-1,38 (m; 9H); 1,36-1,20 (m; 2H); 1,09 (m; 2H).

Этап С. 6-(3-Бromo-2-бромометилпропиониламино)гексановой кислоты трет-бутиловый эфир (95).

В 50-мл колбу с круглым дном, оснащенную магнитной мешалкой и штуцером подачи азота, были помещены следующие вещества: 6-аминогексановой кислоты трет-бутиловый эфир (94; 0,50 г; 2,7 ммоль) и диметиламинпиридин (0,03 г; 0,27 ммоль; 0,10 экв.) в DCM (5,0 мл). Этот раствор был охлажден до 0°C в ледяной ванне. 3-бromo-2-бромометилпропионил хлорид (92; 0,90 г; 3,4 ммоль; 1,2 экв.) был растворен в DCM (5 мл) и медленно добавлен к реагирующей смеси при 0°C. Перемешивание с медленным нагреванием до окружающей температуры производилось в течение суток. Реагирующая смесь была разведена этил ацетатом, органическая смесь была промыта H<sub>2</sub>O, 5% NaHCO<sub>3</sub> и минеральным раствором. Органические вещества были высушены над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, профильтрованы, сконцентрированы и очищены элюированием на силикагельной колонне с помощью 0-100% этилацетата в гексанах с образованием 0,49 г (выход 42%) прозрачного желтого масла.

<sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 5,92 (br s; 1H); 3,64-3,58 (m; 2H); 3,54-3,48 (m; 2H); 3,36-3,29 (m; 2H); 2,89-2,83 (m; 1H); 2,24-2,20 (m; 2H); 1,65-1,51 (m; 4H); 1,44-1,35 (m; 11H).

Этап D. 6-(3-Бromo-2-бромометилпропиониламино)гексановая кислота (96).

В 50-мл колбу с круглым дном, оснащенную магнитной мешалкой и штуцером подачи азота, были помещены следующие вещества: 6-(3-бromo-2-бромометилпропиониламино)гексановой кислоты трет-бутиловый эфир (95; 0,26 г; 0,62 ммоль) и трифторуксусная кислота (0,70 мл; 9,3 ммоль; 15 экв.) в DCM (10 мл). Раствор перемешивался при окружающей температуре в течение суток, был сконцентрирован для высушивания, растворен в ацетонитриле и H<sub>2</sub>O (по 1,0 мл каждого), заморожен и лиофилизирован для получения 0,22 г (100%) в виде твердого вещества. MS (ESI, pos.): вычислено для C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>; 359,0 обнаружено 358,0; 360,0; 362,0 (M+H); 380,0; 382,0; 384,0 (M+Na); 356,0; 358,0; 360,0 (M-H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 11,97 (s; 1H); 8,20-8,16 (m; 1H); 3,58-3,56 (d; 4H); 3,11-3,04 (m; 2H); 3,02-2,97 (m; 1H); 2,21-2,16 (m; 2H); 1,54-1,37 (m; 4H); 1,33-1,29 (m; 2H).

Этап E. Вос-Val-Cit-4-аминобензойная кислота (97).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из веществ примера 1, этап D (6; 100 мг; 0,254 ммоль) и ди-трет-бутил дикарбоната (61 мг; 0,279 ммоль), которые были отвешены в колбу с круглым дном и обработаны 1 M NaOH (2 мл) в THF (3 мл) и H<sub>2</sub>O (1,5 мл). Колба была герметизирована каучуковой мембраной, продута азотом, и реагирующие вещества перемешивались при окружающей температуре в течение суток, сконцентрированы *in vacuo* и нейтрализованы до pH 7 добавлением по каплям 1 M HCl (2 мл). Водосодержащая фаза реагирующих веществ была обработана этил ацетатом, органический слой высушен над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, профильтрован и сконцентрирован для получения грязно-белого вещества (93 мг; 74%). MS (ESI, pos.): вычислено для C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>; 493,5; обнаружено 394,2 (M+1-Вос);

494,2 (M+H); 516,2 (M+Na).

Этап F. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-4-аминобензамид-Cit-Val-Вос (98).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа Вос-Val-Cit-4-аминобензойная кислота (97; 76 мг; 0,154 ммоль) и майтансин-N-метил-L-аланин (9; 50 мг; 0,077 ммоль) с использованием способа этапа А Примера 5, для получения белого твердого вещества (22 мг; 26%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{55}H_{77}ClN_8O_{15}$ ; 1124,5; обнаружено 1107,2 (M-H<sub>2</sub>O); 1125,3 (M+H); 1147,2 (M+Na).

Этап G. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-4-аминобензамид-Cit-Val (99).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (98; 20 мг; 0,018 ммоль), отвешенного в колбу с круглым дном, растворенного в ACN (3 мл) и H<sub>2</sub>O (1 мл) и обработанного TFA (1 мл). Колба была герметизирована каучуковой мембраной, продута азотом, и реагирующие вещества перемешивались при окружающей температуре. Спустя 48 ч реагирующая смесь была очищена непосредственно на 30 г C18 RediSep Gold Aq колонне посредством системы ISCO (градиентное элюирование: 10-65% MeCN в воде; 0,05% уксусной кислоты в обеих частях, более 20 мин). Фракции, содержащие продукт, были сконцентрированы, частично сконцентрированы in vacuo, заморожены в сухом льду, и лиофилизированы с образованием грязно-белого твердого вещества (8 мг; 46%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{50}H_{69}ClN_8O_{13}$ ; 1024,5; обнаружено 1007,2 (M-H<sub>2</sub>O); 1026,2 (M+H).

Этап H. Майтансин-N-метил-L-аланин-N-4-аминобензамид-Cit-Val-каприл-бис-(BrMe)акриламид (100).

Соединение, указанное в заголовке этапа, было приготовлено из вещества предыдущего этапа (99; 8 мг; 0,008 ммоль) и 6-(3-бromo-2-бромометил-пропиламино)гексановая кислота (96), с использованием способа этапа А примера 5, для получения белого твердого вещества (8 мг; 75%). MS (ESI, pos.): вычислено для  $C_{60}H_{84}Br_2ClN_9O_{15}$ ; 1363,4; обнаружено 1363,1 (M+H).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,32 (s; 1H); 8,72 (m; 1H); 8,37 (m; 1H); 7,65 (m; 2H); 7,45 (m; 1H); 7,34 (m; 1H); 7,32 (m; 2H); 7,22-7,18 (m; 2H); 6,89-6,84 (m; 2H); 6,70-6,60 (m; 2H); 6,44 (m; 1H); 6,32 (br s; 1H); 6,12 (s; 1H); 5,76-5,71 (m; 1H); 5,65 (s; 1H); 5,37-5,29 (m; 3H); 4,86-4,70 (m; 3H); 4,52 (br s; 1H); 4,31-4,25 (m; 1H); 4,12 (m; 1H); 3,99 (s; 3H); 3,65-3,58 (m; 1H); 3,51 (m; 1H); 3,34-3,21 (m; 8H); 3,13-3,02 (m; 5H); 2,88 (s; 3H); 2,68 (m; 1H); 2,28-2,17 (m; 3H); 2,11-1,83 (m; 2H); 1,80-1,70 (m; 2H); 1,66 (s; 3H); 1,57-1,49 (m; 4H); 1,47-1,43 (m; 3H); 1,30-1,26 (m; 7H); 1,00-0,91 (m; 6H); 0,85 (s; 3H).

Пример 37.

Приготовление и характеристика конъюгата.

Пять антител были конъюгированы в заявляемые соединения с линкер-полезной частью посредством изложенной ниже процедуры. В этих экспериментах использовались четыре следующих целевых антитела: (1) антитело PSMA с тяжелыми и легкими цепочечными переменными доменами клона АВ-PG1-XG1-006, представленное в WO 2007002222 A2, (2) анти-MUC16 антитело с переменными участками, полученное из клона 3A5 по описанию в источнике WO2007001851, и (3) два антитела PRLR тяжелыми и легкими цепочечными переменными доменами клона H1H6765P и H1H6958N2, представленные в WO2015026907A1. Все моноклональные антитела были выражены в клетках CHO и очищены протеином А. Также использовалось не связывающее изотопное регулирование, полученное из антигена, не имеющего отношения к онкологии.

Пример 38.

Способ конъюгации соединения 10.

Способ конъюгации малеимидов.

Антитело (1-10 мг/мл) в 50ммоль HEPES, 150 mM NaCl; pH 7,5 было обработано 1 ммоль дитиотреитола при 37°C в течение 30 мин. После гельной фильтрации (G-25; pH 4,5 ацетат натрия), к восстановленному антителу были добавлены производная малеимида линкерной полезной части 10, 15, 20, 25, 60 и 78 (1,2 экв./SH группа) в DMSO (10 мг/мл) и смесь доведена до pH 7,0 с помощью 1 M HEPES (pH 7,4). Спустя 1 ч реагирующая смесь была резко охлаждена избытком N-этил малеимида. Конъюгаты были очищены эксклюзионной хроматографией и стерильно профильтрованы. Пропорции концентраций протеина и полезной части к антителу определялись посредством УФ спектрального анализа. Посредством эксклюзионной HPLC было установлено, что >95% всех использованных конъюгатов были мономерными, и посредством RP-HPLC было установлено наличие <0,5% неконъюгированной полезной части. Значения нагруженности линкерной полезной части всех конъюгированных антител были проанализированы УФ-способом по методике Гамблетта (Hamblett) и соавторов, источник: Cancer Res 2004 10 7063. В табл. 1 приводятся значения выхода и пропорций полезной части к антителу.

Пример 39.

Способ конъюгации для активных эфиров.

Антитела (1-10 мг/мл) в 50 ммоль HEPES, 150 ммоль NaCl; pH 8,0 и 15% (по объему) DMA подвергались конъюгации с 6-кратным избытком соединения 77 в течение 1-2 ч при окружающей температуре. Конъюгаты были очищены эксклюзионной хроматографией и стерильно профильтрованы. Концентрации протеина и линкерной полезной части были определены УФ спектральным анализом. Посредством экс-

клюдсионной HPLC было установлено, что >95% всех использованных конъюгатов были мономерными, и посредством RP-HPLC было установлено наличие <0,5% неконъюгированной полезной части. В табл. 1 представлены значения выхода на основе протеина. Значения нагруженности линкерной полезной части всех конъюгированных антител были проанализированы УФ-способом по методике Гамблетта и соавторов, источник: Cancer Res 2004 10 7063. В табл. 1 приводятся значения выхода и пропорций полезной части к антителу.

Таблица 1

Соединение	$\epsilon_{252}$ нм ( $\text{см}^{-1} \text{M}^{-1}$ )	$\epsilon_{280}$ нм ( $\text{см}^{-1} \text{M}^{-1}$ )
10	45990	20600
15	68900	26500
20	65000	33000
25	64550	25550
60	32000	8600
63	53500	22300
77	44500	17166
78	47600	15600
Антитело	$\epsilon_{252}$ нм ( $\text{см}^{-1} \text{M}^{-1}$ )	$\epsilon_{280}$ нм ( $\text{см}^{-1} \text{M}^{-1}$ )
PSMA	77652	224320
MUC16	85888	247360
PRLR	80673	220420
PRLR-Q	82000	195400
Изотипический контрольный образец	75113	218360
Изотипический контрольный образец-Q	68741	203757
Конъюгат антитела	Полезная часть: Антитело (UV)	Выход %
PSMA-10	2,4	70
MUC16-10	1,5	50
Изотипический контрольный образец-10	2,4	75
PSMA-25	2,5	65
MUC16-25	2,0	40
Изотипический контрольный образец-25	2,5	65
PSMA-60	3,9	60
MUC16-60	1,5	40
PRLR-60	3,8	70
Изотипический контрольный образец-60	3,1	70
PRLR-Q-63	2,9 (3,3 ESI-MS)	60
Изотипический контрольный образец-	3,2 (3,1 ESI-MS)	60

Q-63		
PSMA-77	4,0	55
MUC16-77	2,8	40
PRLR-77	4,3	70
<b>Изотипический контрольный образец- 77</b>	3,9	65
PSMA-78	Не применяется	Не применяется
MUC16-78	2,0	40
PRLR-78	2,8	50
<b>Изотипический контрольный образец- 78</b>	4,0	70

Пример 40.

In vitro бесклеточное ферментативное исследование линкерной полезной части.

Инкубация катеписина В.

Процедура бесклеточного ферментативного исследования in vitro применялась Дубовчиком (Dubowchik) и соавторами. Источник: Bioconjugate Chem. 2002, 13, 855 Линкерная полезная часть 10 была окончательно отрегулирована на 100 мг/мл в буфере ацетата натрия 25 мМ, 1 мМ EDTA при pH 5,0 и предварительно инкубирована при 37°C. Катеписин В (сигма № С8571) был активирован при комнатной температуре на 15 мин с 1 экв. 30 ммоль DTT, 15 ммоль EDTA до 2 экв. потенциала катеписина В. Раствор активированного катеписина В был добавлен к раствору субстрата в молярной пропорции 1:20 (к контрольному образцу вместо активированного катеписина В была добавлена очищенная H<sub>2</sub>O). Образцы подверглись инкубации при 37°C в течение суток, и полученные образцы исследовались с помощью LC-MS посредством Q1 Scan.

Исследование LC-MS.

Образцы обрабатывались на центрифуге в течение нескольких минут при ускорении 12000 g. Снятый супернатант был проанализирован жидкостной хроматографией-масс-спектрометрией (Thermo Quantiva) комбинированной инфузией с расходом 0,3 мл/мин в мобильной фазы В:А в пропорции 30:70 (мобильная фаза А: 0,1% FA в H<sub>2</sub>O; мобильная фаза В: 0.1% FA в ацетонитриле) при расходе 20 мкл/мин из супернатанта. MS1 был настроен на соответствующий диапазон для обнаружения молекулярного иона либо линкерной полезной части, либо полезной части. Супернатант содержал прогнозируемую полезную часть, р-амино-бензамид майтанзиноид (27), массой 791,27 М+Na (расчетная моноизотопная масса для C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>10</sub>, 768.31) и контрольные образцы без катеписина В 10 с массой 1240.50 М+Na (расчетная моноизотопная масса для C<sub>60</sub>H<sub>80</sub>ClN<sub>9</sub>O<sub>16</sub>, 1217.54). В контрольных образцах не был обнаружен прогнозируемый молекулярный ион полезной части.

Результаты этого примера отчасти важны, поскольку катеписиновый В протеолиз 10 должен происходить только после интернализации ADC в клетке, где имеется энзим. Побочные эффекты следует уменьшить, поскольку антитело выдает цитотоксическую полезную часть непосредственно на целевые клетки.

Пример 41.

Цитотоксическое исследование in vitro.

В этом примере была исследована in vitro способность различных конъюгатов антительного лекарственного препарата или связанных с ними полезных частей уничтожать антиген-выражающие опухолевые клетки.

Клетки Ovar3 (Muc16+) или C4-2 (PSMA+) были посеяны на 96-луночных планках с плотностью 3000 (C42) клеток на лунку в полной питательной среде, рост продолжался в течение суток. Для построения графиков жизнеспособности клетки к клеткам добавлялись последовательно разведенные конъюгаты или полезные части с окончательной концентрацией в диапазоне от 300 нМ до 5 рМ с последующей инкубацией в течение 3 дней. Для измерения жизнеспособности клетки были инкубированы ССК8 (Dojindo) в последние 1-3 ч и поглощение на длине волны 450 нм (OD<sub>450</sub>) было определено по измерительному прибору Victor (Perkin Elmer). Фоновые уровни OD<sub>450</sub>, определенные по обработанным дигитонином (40 нМ) клеткам, были вычтены из всех лунок, и жизнеспособность выражена в процентах необработанных контрольных образцов. Значения IC<sub>50</sub> были определены из логического выражения с четырьмя параметрами по 10-точечному графику реагирования (GraphPad Prism). Все графики конъюгатов и значения IC<sub>50</sub> были откорректированы с учетом эквивалентов полезных частей.

В клетках C4-2 (график рака простаты), исходно выраженный PSMA на 271, изгибается над связью изотипического контрольного образца; майтанзиноидные конъюгаты PSMA-10 и PSMA-25 имеют значения IC<sub>50</sub>, равные соответственно 0,11 и 0,59 нМ (фиг. 2-5). Полезные части 27 и 33 по отдельности имеют

значения  $IC_{50}$ , равные соответственно 0,20 и 0,55 нМ. Оголенное антитело PSMA и изотопический контрольный образец были лишены какой-либо антипролиферативной активности в исследуемых концентрациях.

Клетки Ovar3 (график карциномы яичника), исходно выраженный MUC16 на 320, изгибается над связью изотипического контрольного образца; майтанзиноидные конъюгаты MUC16-10 и MUC16-25 имеют значения  $IC_{50}$ , равные соответственно 0,74 и 0,63 пМ (фиг. 2-5). Полезные части 27 и 33 по отдельности имеют значения  $IC_{50}$ , равные соответственно 0,06 и 0,11 нМ. Оголенное антитело MUC16 и изотопический контрольный образец были лишены какой-либо антипролиферативной активности в исследуемых концентрациях.

В табл. 2 приводится антипролиферативная способность полезных частей только в клетках Ovar3 (Muc16+) или C4-2 (PSMA+). Все соединения взаимодействуют на суб-наномерном уровне с соединениями 35 и 37 на или вблизи однопозиционного пикомоляра  $IC_{50}$ .

Таблица 2

Соединения	C4-2		Ovar3	
	IC50 (нМ)	% уничтожения	IC50 (нМ)	% уничтожения
29	0,27	83	0,13	93
33	0,45	86	0,20	93
31	0,10	82	0,04	93
27	0,20	84	0,09	92
35	0,004	84	<0,01	93
37	0,01	86	<0,01	94

Пример 42.

Представление антитела.

Тип исследования/эксперимента. Клонирование, выражение и очистка антител, модифицированных для содержания сайт-специфичных конъюгационных мотивов.

В этом примере демонстрируется формирование антител с аминокислотными последовательностями, позволяющими сайт-специфичную конъюгацию посредством трансглутаминазных реакций.

Для формирования антител был произведен мутагенез на плазмидном кодировании доменов CH1, CH2 и CH3 человеческого IgG1 (аминокислоты с 1 по 330 каталога UniprotKB № P01857) для генерирования мутации с N по Q на позиции 180 с помощью комплекта мутагенеза QuikChange Lightning Multi Site-Directed (Agilent, № 210516). Были выбраны два тяжелых фрагмента (VH) изменяемого региона антитела, один - кодирующий VH античеловеческого PRLR антитела, H1H6958N2 (заявка на международный патент WO 2015026907 A1), другой - кодирующий VH антитело изотопического контроля, распознающий экзогенный антиген. Были разработаны праймеры (idtdna.com) для усиления регионов VH этих двух антител с использованием полимеразы Кара HiFi DNA (Кара Biosciences; № KK2102). В процессе усиления PCR плазмид-содержащая человеческая IgG1 N180Q мутация подверглась переработке посредством энзима LguI (Fermentas, № FD1934) при 37°C в течение 30 мин. После завершения усиления переработанный человеческий плазмид IgG1 и оба продукта PCR были выпущены на 1% агарозный гель, содержащий безопасное контрастное вещество SYBR (Life Technologies, № S33102). Полосы подходящего размера были найдены и вырезаны из геля чистым бритвенным лезвием. Все вырезанные продукты были очищены с использованием комплекта Gel Extraction (Qiagen, № 28704). Затем была произведена инфузионная реакция клонирования (Clontech, № 638911) в пропорции 3:1 переработанного человеческого IgG1 вектора относительно продукта VH PCR, после чего было произведено инкубирование в течение 15 мин при 50°C. После инкубирования каждая реакция была преобразована в компетентные клетки типа "Mix and Go" (Zymo, № T3007), инкубирована на льду в течение 5 мин, и компетентные клетки помещены на плашки LB + карбенициллин (Teknova, VWR, № 101320-126), которые подверглись инкубированию в течение суток при 37°C.

На следующий день отдельные колонии были высеваны с платки в питательную среду LB, содержащую 100 мкг/мл карбенициллина и выращены в течение суток с потряхиванием в настольном инкубаторе при 37°C. Затем ячейки были гранулированы на центрифуге и мини-препарированы на работе Hamilton Starlet с использованием комплекта мини-препарирования плазмиды PureLink HiPure (Thermo Fisher,

№ K210003). Очищенная ДНК была секвенирована, и результаты проанализированы с помощью прикладной программы Sequencher (GeneCodes). Из каждой реакции лигирования был отобран клон для повторного преобразования в компетентные клетки типа "Mix and Go", инкубирован на льду в течение 5 мин, и компетентные клетки помещены на плашки LB, содержащие карбенициллин, которые подверглись инкубированию в течение суток при 37°C.

На следующий день с каждой плашки была отобрана единственная колония, пророщенная в течение от 3 до 4 ч в питательной среде LB, содержащей 100 мкг/мл карбенициллина. Затем образец был разведен в питательной среде LB, содержащей 100 мкг/мл карбенициллина и перемещен в вибрационный инкубатор с температурой 37°C на сутки. После чего максимально препарированный экстракт ДНК был приведен в действие на обоих плазмидах, и были секвенированы открытые рамки считывания полной ДНК. После подтверждения секвенирования, ДНК с тяжелой цепочкой вместе с ранее клонированной ДНК с присоединенной легкой цепочкой были устойчиво трансфектированы в линию клетки CHO для приготовления каждого антитела.

H1H6958N2 (заявка на международный патент WO 2015026907 A1), содержащее мутацию N180Q Fc, называется PRLR-Q, и антитело изотопического контроля, распознающее экзогенный антиген, также содержащее мутацию N180Q Fc, называется изотопический контроль-Q.

Пример 43.

Конъюгация бактериальной транскляминазы.

PRLR-Q (MW 145438 Da) и антитела изотопического контроля-Q (MW 144602 Da) были конъюгированы на 1-10 мг/мл в PBS pH 7.4. Линкерная полезная нагрузка 63 была добавлена в 10 в 25-кратном молярном избытке относительно антитела и энзимная реакция была начата добавкой 1-5 единиц бактериальной транскляминазы (Zedira, T1001) на 1 мг антитела; затем последовало инкубирование с встряхиванием при 37°C в течение 4-16 ч. Конъюгаты были очищены эксклюзионной хроматографией и стерильно профильтрованы. Концентрации протеина и линкерной полезной части были определены УФ спектральным анализом. Посредством эксклюзионной HPLC было установлено, что >95% всех использованных конъюгатов были мономерными. В табл. 1 представлены значения выхода на основе протеина. Значения нагруженности линкерной полезной части всех конъюгированных антител были проанализированы УФ-способом по методике Гамблетта и соавторов, источник: Cancer Res 2004 10 7063. Помимо этого, нагруженность линкерной полезной части конъюгатов была проанализирована посредством ESI-MS с помощью масс-спектрометрии Waters Synapt G2-Si QTOF совместно с Acquity UPLC. Хроматографическое разделение было произведено на колонне C4 (Waters protein BEH C4, 50×1 мм, 1,7 мкм) при 25-минутном градиенте (пропорция минута:проценты мобильной фазы B; 0:20%; 1:20%; 18:40%; 18,1:90; 20:95%; 20,8:95%; 20,9:20%; 25:20%). Мобильная фаза A представляла собой 0,1% водный раствор муравьиной кислоты, и мобильная фаза B представляла собой 0,1% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Расход был задан равным 100 мкл/мин. Детектор сканирования TOF был настроен от m/z 700-5000 на 25 мин с перечисленными далее параметрами (капиллярное напряжение 3,2 кВ; конус пробы 150; смещение источника на 80; температуры источника 120°C; температура десольвации 500°C; энергия столкновения ловушки 30; энергия передачи энергии столкновения - ВЫКЛ; регулирование газа - ВЫКЛ; разрешающий квадруполь: LM разрешающая способность на 4,7). Комбинированные спектры были подвергнуты деконволюции функцией MaxEnt в прикладной программе MassLynx. Полученные ионы при взвешивании в соответствии с интенсивностью соответствовали нагрузкам, приведенным в табл. 3. Фактический спектр по масс-спектрометру показан на фиг. 42 и 43.

Таблица 3

Сводные взвешенные по интенсивности средние нагрузки линкерной полезной части в PRLR-Q и конъюгатов изотипического контрольного образца-Q для соединения 63

PRLR-Q-63				Изотипический контрольный образец-Q-63			
Молекулярный вес молекулярного иона (Da)	В соответствии с нагрузкой линкерной полезной части	Относительная интенсивность	Средневзвешенная по интенсивности нагрузка	Молекулярный вес молекулярного иона (Da)	В соответствии с нагрузкой линкерной полезной части	Относительная интенсивность	Средневзвешенная по интенсивности нагрузка
146864	2	1424490	3,3	146575	1	1648307	3,1
148010	3	4716164		147719	2	9007543	
149151	4	4658294		148868	3	20406614	
				150008	4	18048784	

Пример 44.

Константы равновесной диссоциации (значения  $K_D$ ) для человеческого PRLR, связывающиеся с очищенными анти-PRLR антителами, каждое из которых является немодифицированным H1H6958N2, PRLR-Q и PRLR-Q-63, определялись биосенсорами поверхностного плазмонного резонанса с помощью измерительного прибора Biacore 3000. Поверхность датчика Biacore сначала была дериватизирована

амином вместе с моноклональным мышинным античеловеческим Fc антителом (GE, # BR-1008-39) для захвата анти-PRLR моноклональных антител. Исследования всех связей производились в 0,01 М HEPES pH 7,4; 0,15 М NaCl; 3 мМ EDTA и 0,05% (по объему) Surfactant Tween-20 (HBS-ET подвижный буфер) при 25°C и при 37°C. Различные концентрации человеческого PRLR внеклеточного домена, выраженного посредством С-концевой мик-мик-гестагистидиновой метки (hPRLR-ММН; SEQ ID NO: 401 по описанию заявки на патент WO 2015026907 А1), в HBS-ET подвижном буфере (в диапазоне от 40 до 3,33 нМ) впрыскивались поверх анти-PRLR антителной захваченной поверхности в течение 4 мин при расходе 50 мкл/мин и их диссоциация в подвижном буфере HBS-ET контролировалась в течение 8 мин. Константа кинетической скорости ассоциации ( $k_a$ ) и константа скорости диссоциации ( $k_d$ ) определялась совмещением сенсограмм реального времени с 1:1 моделью связи с помощью прикладной программы совмещения графиков Scrubber 2.0с. Константы равновесной диссоциации связи ( $K_D$ ) и диссоциативные периоды полужизни ( $t_{1/2}$ ) вычислялись по константам кинетической скорости следующим образом:

$$K_D (M) = \frac{k_d}{k_a}, \text{ и } t_{1/2} (\text{мин}) = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$$

Кинетические параметры связи для hPRLR-ММН, связанного с различными анти-PRLR антителами при 25°C приводятся в табл. 4. При 25°C, hPRLR-ММН связь с исходным антителом H1H6958N2 с значением  $K_D$ , равным 1,09 нМ. Человеческая связь PRLR-ММН с PRLR-Q со значением  $K_D$ , равным 850 пМ, и с PRLR-Q-63 со значением  $K_D$ , равным 1,50 нМ.

Таблица 4

Параметры кинетической энергии связи анти-PRLR антител, связанных с hPRLR-ММН при 25°C

Антитело	mAb Уровень захвата (RU)	100nM hPRLR- ММН связь (RU)	$k_a$ (1/Мс)	$k_d$ (1/с)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (мин)
<b>H1H6958N2</b>	141,3±0,8	38	4,17E+05	4,54E-04	1,09E-09	25
<b>PRLR-Q</b>	148,5±0,6	46	4,48E+05	3,79E-04	8,50E-10	30
<b>PRLR-Q-63</b>	153,7±0,7	45	3,80E+05	5,69E-04	1,50E-09	20

Пример 45.

В данном примере приводится цитотоксическое исследование заявляемых конъюгатов. Для оценки способности анти-PRLR антител, конъюгированных с 63, 60, 77 и 78, уничтожать PRLR выраженную линию клеток, было проведено *in vitro* цитотоксическое исследование с использованием T47D линии протоковой карциномы (ATCC, № HTB-133), ранее определенное для выражения >27000 копий человеческого PRLR на своей клеточной поверхности.

В целях исследования клетки T47D были высеваны на 96-луночных плашках с плотностью 2000 клеток на лунку в среде, содержащей DMEM, дополненной 10% FBS, NEAA, и пенициллин/стрептомицином (полная питательная среда). Рост клеток продолжался в течение суток при 37°C в 5% CO<sub>2</sub>. Для построения графиков жизнеспособности клетки на следующий день к клеткам были добавлены конъюгаты антительного лекарственного препарата, неконъюгированные антитела или свободные полезные части в окончательных последовательных разведениях в диапазоне от 100 до 0,01 нМ в полной питательной среде, затем в течение 5 дополнительных дней производилось инкубирование. Активность люциферазы была обнаружена после добавления реагента CellTiter-Glo™ (Promega, G7571) в каждую лунку, в которой присутствовали реагенты для разрушения оставшихся жизнеспособных клеток для освобождения их ATP, ATPase ингибиторов с целью предотвращения разрушения ATP, а также люциферин и люцифераза для катализа люминесцентной реакции. Жизнеспособные клетки перед добавкой CellTiter-Glo будут единственным источником ATP, поскольку мертвые клетки в культуре не будут синтезировать ATP, и любой из их освобожденного ATP будет разрушен эндогенными ATPase. Относительные единицы люминесценции (RLU) измерялись посредством люциметра Victor (PerkinElmer), и результаты определялись из логического выражения с четырьмя параметрами по 10-точечному графику реагирования (GraphPad Prism). Все измеренные значения и расчетные значения IC<sub>50</sub> корректировались с учетом эквивалентов полезной части. Все значения IC<sub>50</sub> выражены в концентрациях нМ, и процент уничтожения приводится для наивысшей тестируемой концентрации. Результаты показаны на фиг. 45-48.

Как показано на фиг. 44, анти-PRLR антитело, сайт-специфично конъюгированное с 63 (PRLR-Q-63), продемонстрировало цитотоксичность клеток T47D с IC<sub>50</sub>, равным 1,1 нМ, и максимальным процентом уничтожения 55%. Свободная часть 29 продемонстрировала цитотоксичность клеток T47D с IC<sub>50</sub>, равным 0,07нМ, и максимальным процентом уничтожения 67%. Антитело изотипического контрольного образца, конъюгированное с 63 (изотипический контрольный образец, -Q-63) не продемонстрировало какого-либо уничтожения клеток T47D, и неконъюгированное анти-PRLR антитело (PRLR-Q) не продемонстрировало какого-либо уничтожения клеток T47D.

Как показано на фиг. 45, анти-PRLR антитело, конъюгированное с 60 (PRLR-60), продемонстрировало цитотоксичность клеток T47D с IC<sub>50</sub>, равным 0,6 нМ, и максимальным процентом уничтожения 60%. Свободная часть 49 продемонстрировала цитотоксичность клеток T47D с IC<sub>50</sub>, равным 0,03 пМ, и

максимальным процентом уничтожения 69%. Антитело изотипического контрольного образца, конъюгированное с 60 (изотипический контрольный образец-60) не продемонстрировало какого-либо уничтожения клеток T47D, и неконъюгированное анти-PRLR антитело (PRLR) не продемонстрировало какого-либо уничтожения клеток T47D.

Как показано на фиг. 46, анти-PRLR антитело, конъюгированное с 77 (PRLR-77), продемонстрировало цитотоксичность клеток T47D с IC<sub>50</sub>, равным 0,4 нМ, и максимальным процентом уничтожения 69%. Свободная полезная часть 27 продемонстрировала цитотоксичность клеток T47D с IC<sub>50</sub>, равным 0,1 нМ, и максимальным процентом уничтожения 67%. Антитело изотипического контрольного образца, конъюгированное с 77 (изотипический контрольный образец-77) не продемонстрировало какого-либо уничтожения клеток T47D, и неконъюгированное анти-PRLR антитело (PRLR) не продемонстрировало какого-либо уничтожения клеток T47D.

Как показано на фиг. 47, анти-PRLR антитело, конъюгированное с 78 (PRLR-78), продемонстрировало цитотоксичность клеток T47D с IC<sub>50</sub>, равным 0,9 нМ, и максимальным процентом уничтожения 61%. Свободная часть 27 продемонстрировала цитотоксичность клеток T47D с IC<sub>50</sub>, равным 0,1 нМ, и максимальным процентом уничтожения 67%. Антитело изотипического контрольного образца, конъюгированное с 78 (изотипический контрольный образец-78) не продемонстрировало какого-либо уничтожения клеток T47D, и неконъюгированное анти-PRLR антитело (PRLR) не продемонстрировало какого-либо уничтожения клеток T47D.

В табл. 5 представлена антипролиферативная способность полезных частей только в Ovar3 (Muc16+), C4-2 (PSMA+) и T47D (PRLR+) клетках.

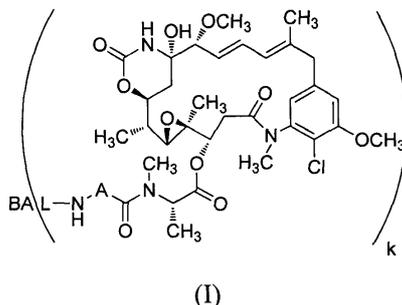
Таблица 5

Соединение №	C4-2		Ovar3		T47D	
	IC50 (нМ)	% уничтожения	IC50 (нМ)	% уничтожения	IC50 (нМ)	% уничтожения
29	0,27	83	0,13	93	0,07	67
33	0,45	86	0,20	93		
31	0,10	82	0,04	93		
27	0,20	84	0,09	92		
35	0,004	84	<0,01	93		
37	0,01	86	<0,01	94		
39					0,02	70
41					0,03	72
43					0,01	71
45					0,73	72
47					0,01	72
49					0,06	70
51					0,49	72
53					0,2	72
55					0,18	75
65					1,13	72
67					0,19	71
69					0,39	73
71					0,73	68
73					0,57	73
75						
86	0,73	90				
84	0,07	88				
90	100	86				
80	1,3	91				
88	0,05	89				
82	19,95	93				

Приведенные выше реализации и примеры предназначены исключительно для иллюстрации и не имеют ограничительного характера. Специалист сможет выявить или убедиться в достоверности множества эквивалентов конкретных соединений, материалов и процедур посредством обычных экспериментов. Все подобные эквиваленты считаются подпадающими под область заявляемого изобретения и охватываются приведенными ниже пунктами формулы изобретения.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение с формулой (I)



или фармацевтически приемлемая соль,

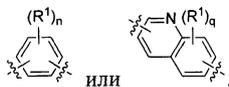
где А представляет собой арилен или гетероарилен;

L представляет собой линкер;

ВА представляет собой антигено или его антигенсвязывающий фрагмент и

k является целым числом от 1 до 30.

2. Соединение по п.1, где А представляет собой



где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкокси, гало, галоалкил, ге-

тероарил, гетероциклоалкил, гидроксил,  $-\xi-OR^A$ ,  $-\xi-SO_2R^A$  или  $-\xi-C(=O)R^A$ ,

где R<sup>A</sup> представляет собой алкил;

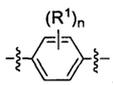
n является целым числом от 0 до 4;

q является целым числом от 0 до 5.

3. Способ по п.1 или 2, где А представляет собой



4. Соединение по любому из пп.1-3, где А представляет собой



где n принимает значения 0, 1 или 2.

5. Соединение по любому из пп.1-4, где n равняется 0.

6. Соединение по любому из пп.1-4, где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой алкокси или гало.

7. Соединение по любому из пп.1-6, где L представляет собой



где SP представляет собой спейсер;

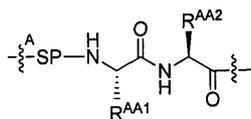
$-\xi-\overset{A}{\text{---}}-\xi-$  представляет собой одну или более связей к антигену или его антигенсвязывающему фрагменту;

AA<sup>1</sup> представляет собой аминокислотный остаток и

AA<sup>2</sup> представляет собой аминокислотный остаток.

8. Соединение по п.7, где AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup> представляет собой валин-цитруллин, цитруллин-валин, лизин-фенилаланин, фенилаланин-лизин, валин-аспарагин, аспарагин-валин, треонин-аспарагин, аспарагин-треонин, серин-аспарагин, аспарагин-серин, фенилаланин-аспарагин, аспарагин-фенилаланин, лейцин-аспарагин, аспарагин-лейцин, изолейцин-аспарагин, аспарагин-изолейцин, глицин-аспарагин, аспарагин-глицин, глутаминовая кислота-аспарагин, аспарагин-глутаминовая кислота, цитруллин-аспарагин, аспарагин-цитруллин, аланин-аспарагин или аспарагин-аланиновые остатки.

9. Соединение по любому из пп.1-6, где L представляет собой



где SP представляет собой спейсер;

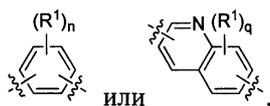
$\left[ \begin{array}{c} A \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \end{array} \right]$  представляет собой одну или более связей к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту;

$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку.

10. Соединение по п. 1, где

A представляет собой



где  $R^1$ , независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкокси, гало, галоалкил, ге-

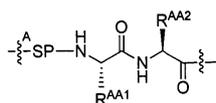
тероарил, гетероциклоалкил,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$  или  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ ,

где  $R^A$  представляет собой алкил;

n является целым числом от 0 до 4;

q является целым числом от 0 до 5; и

L представляет собой



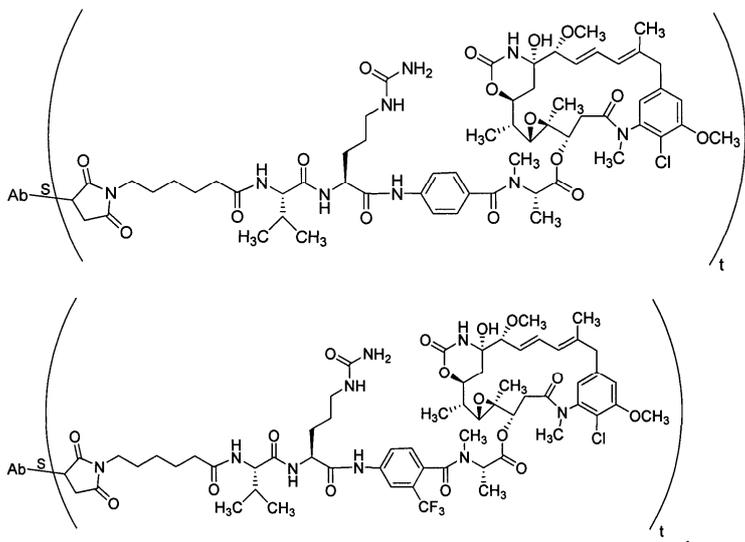
где SP представляет собой спейсер;

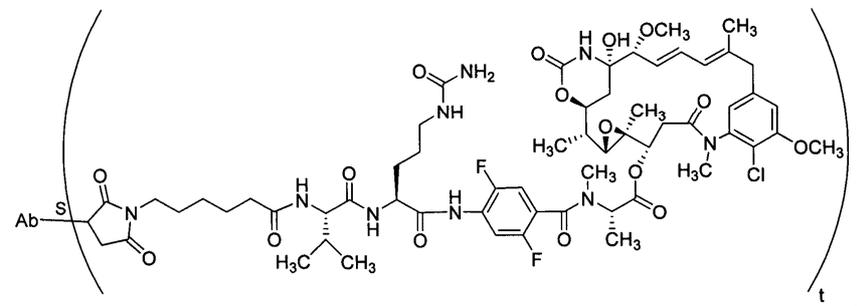
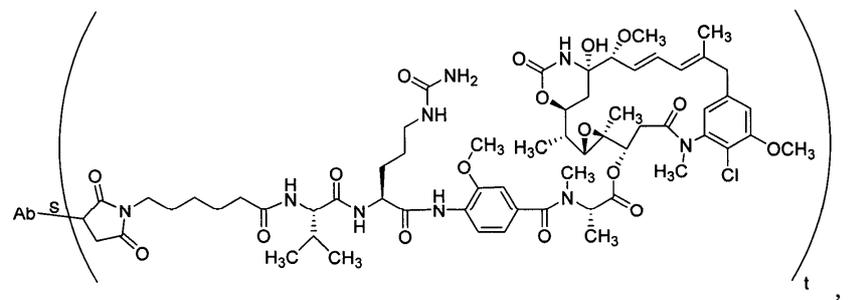
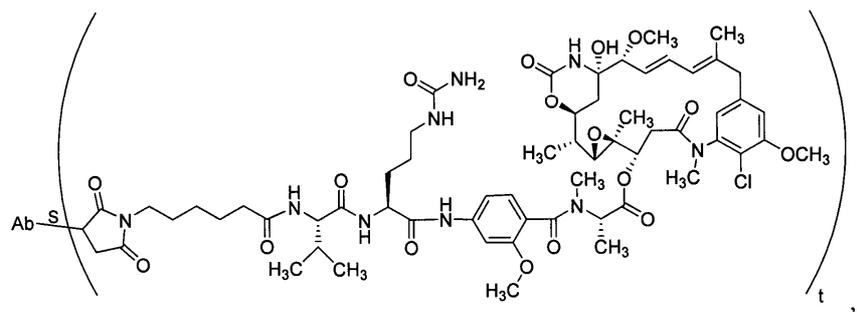
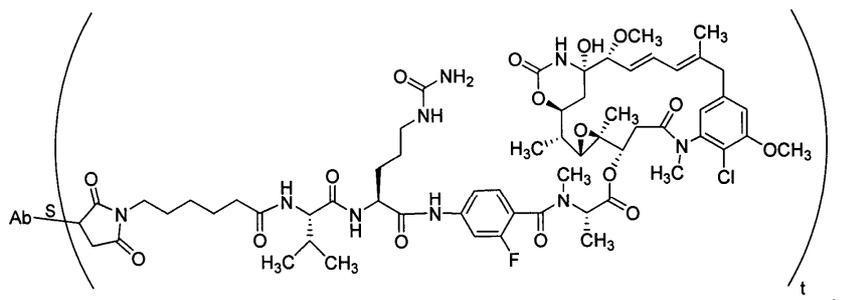
$\left[ \begin{array}{c} A \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \end{array} \right]$  представляет собой одну или более связей к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту;

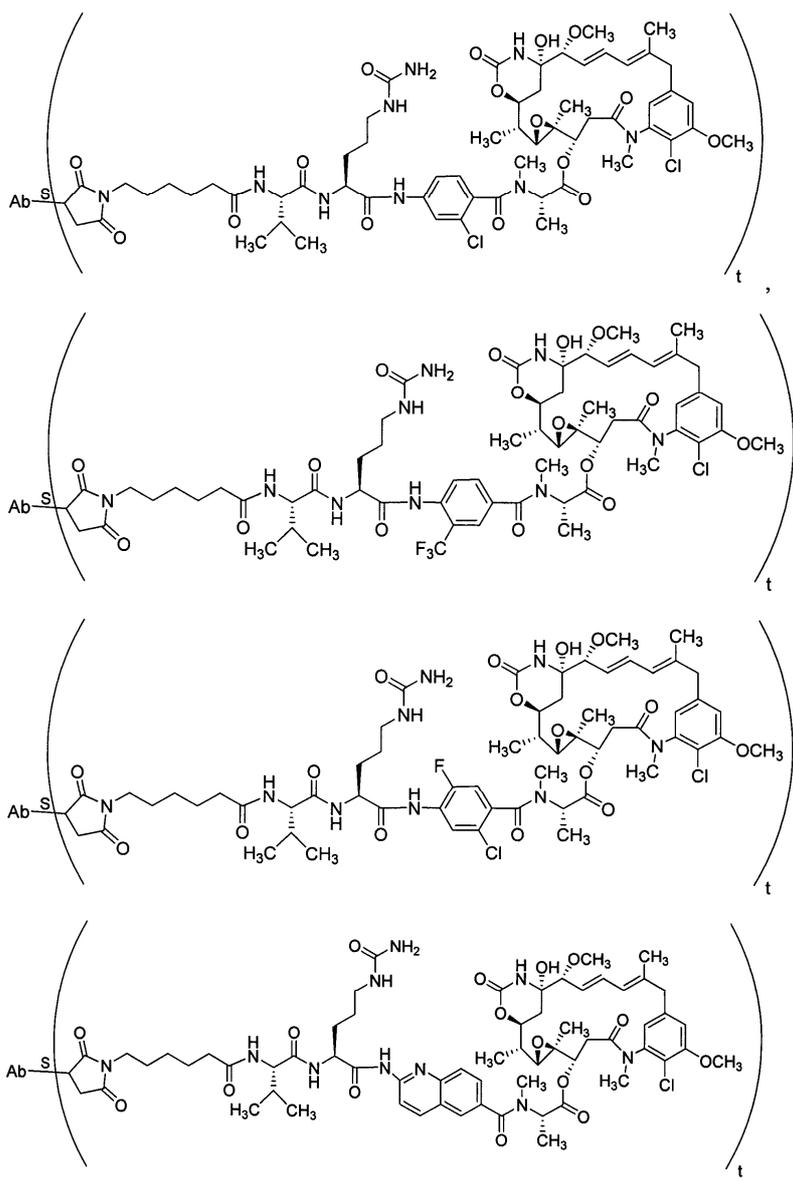
$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

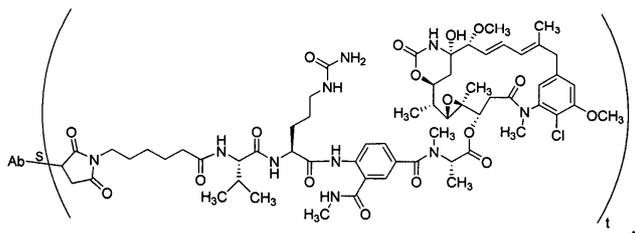
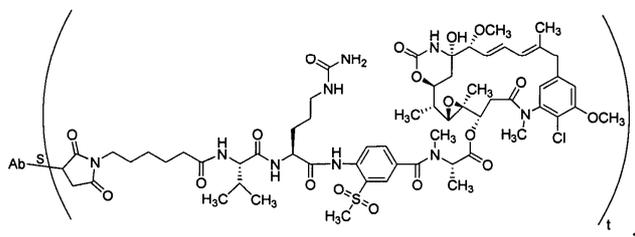
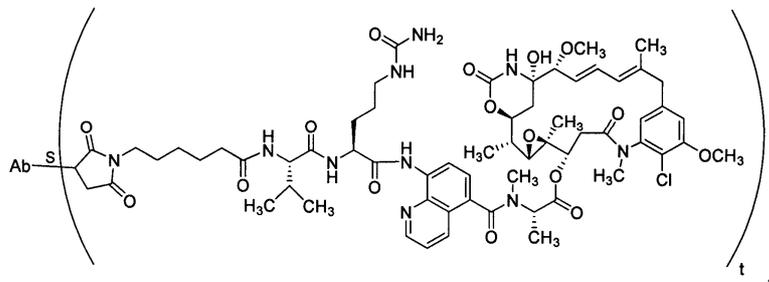
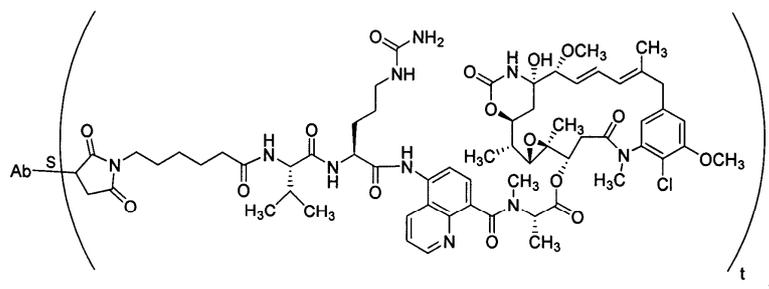
$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку.

11. Соединение по п. 1, где соединение представляет собой:

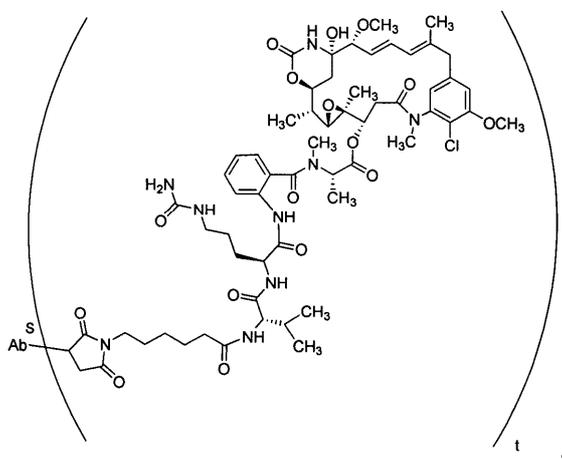
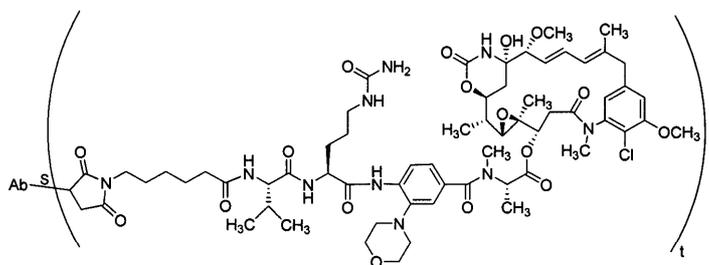
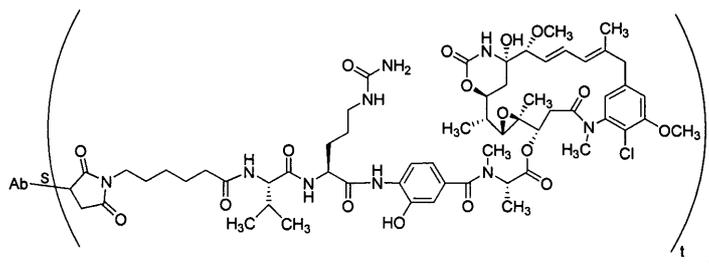




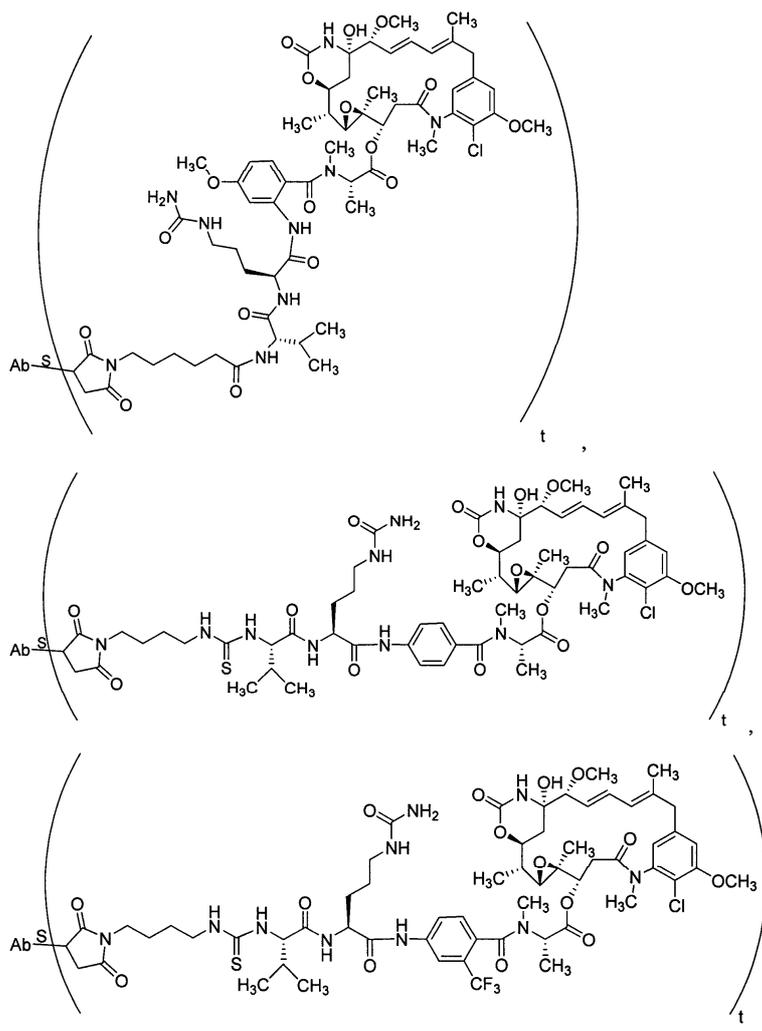


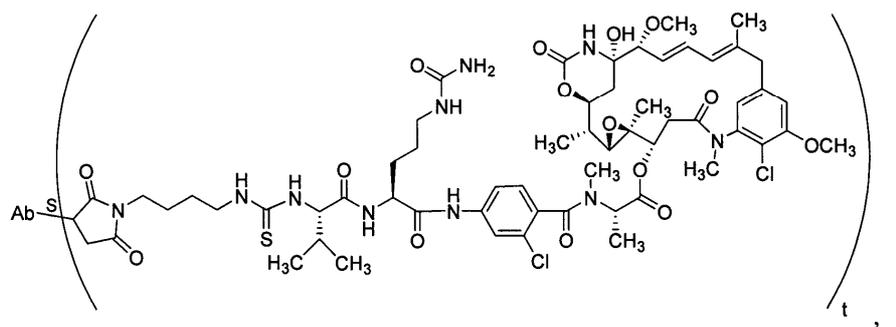
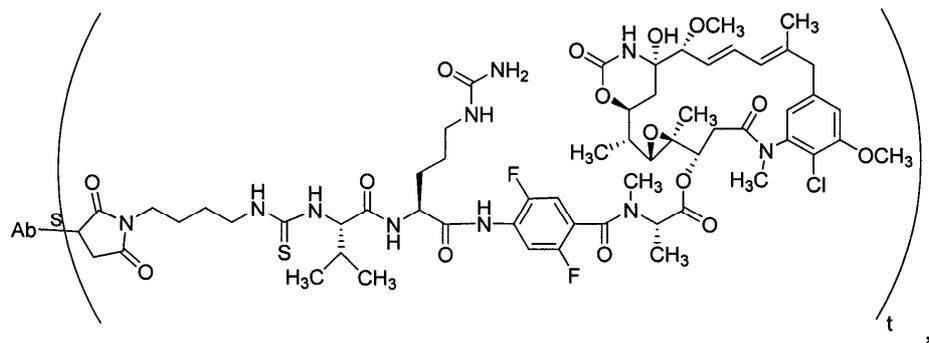
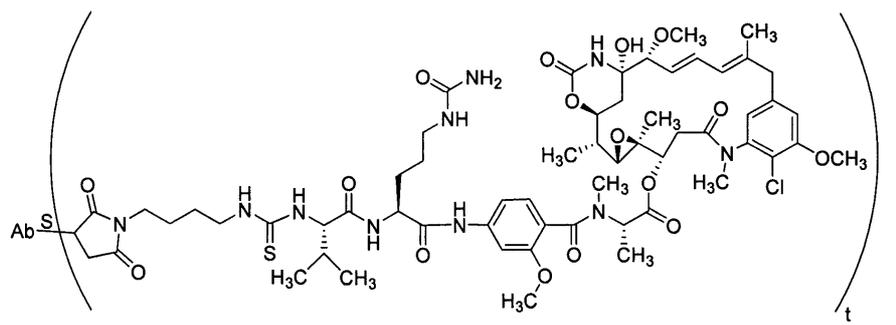
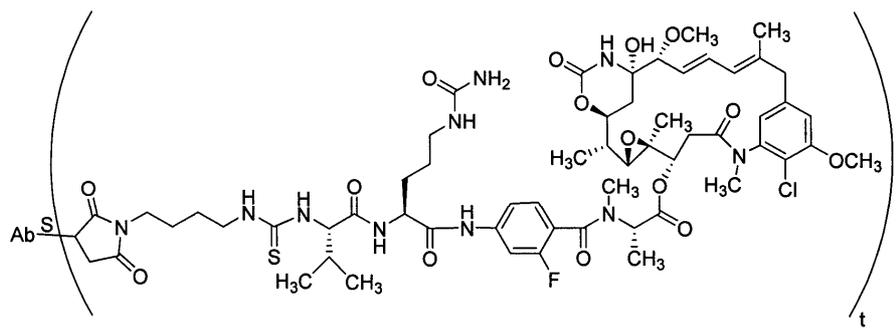


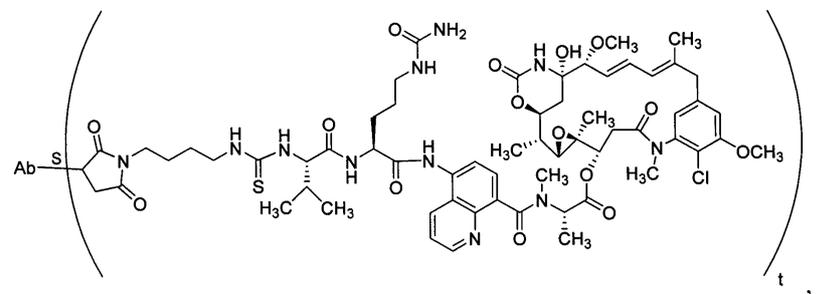
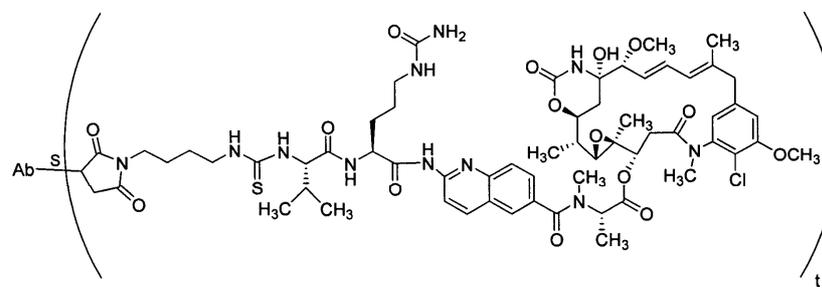
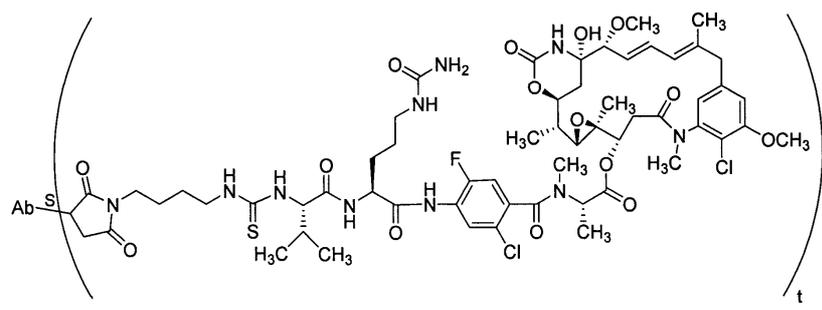
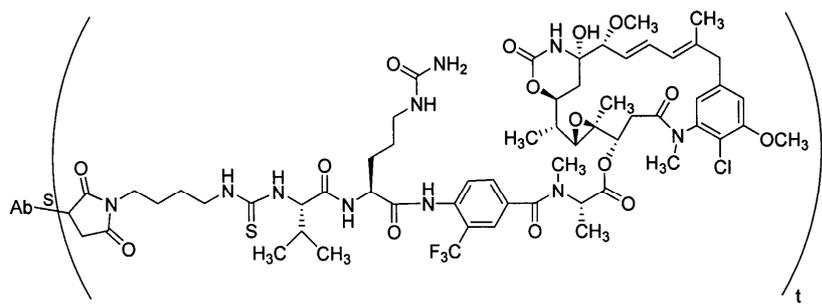
034950

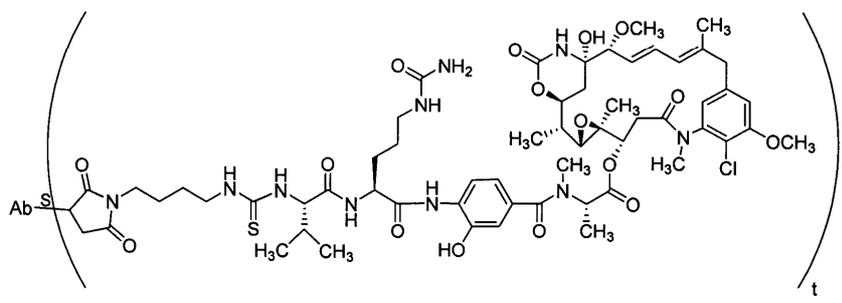
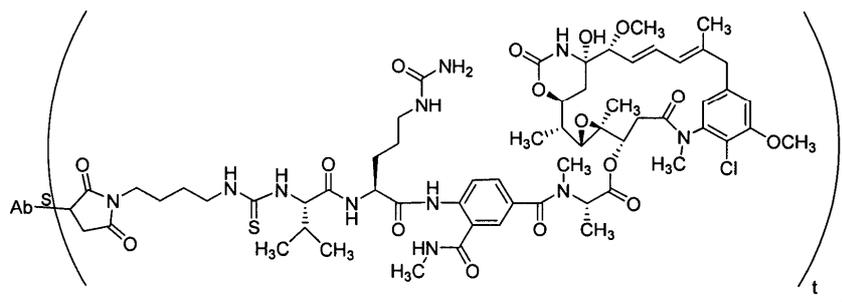
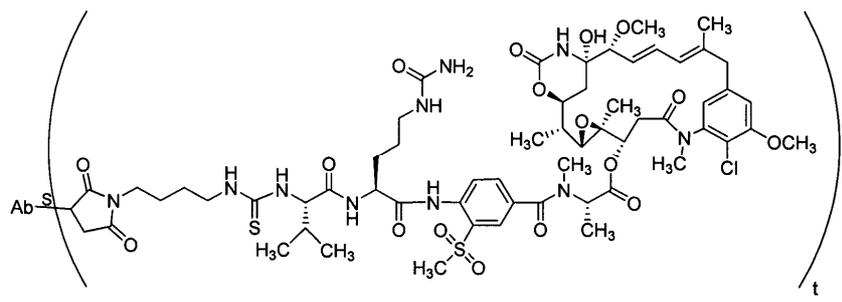
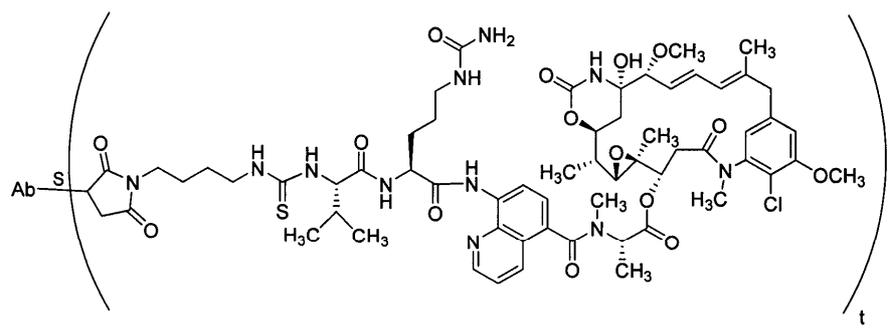


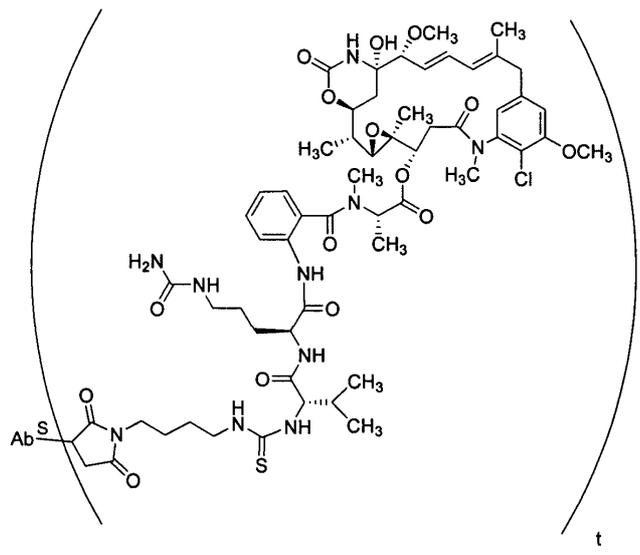
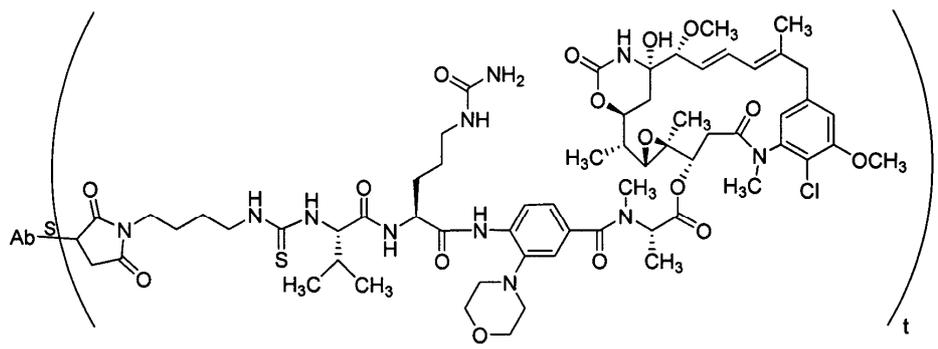
034950

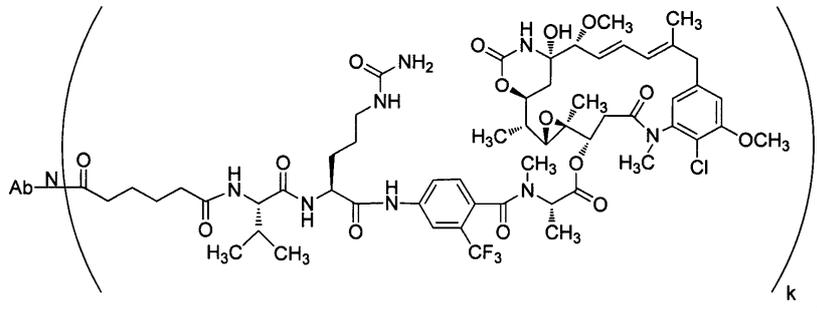
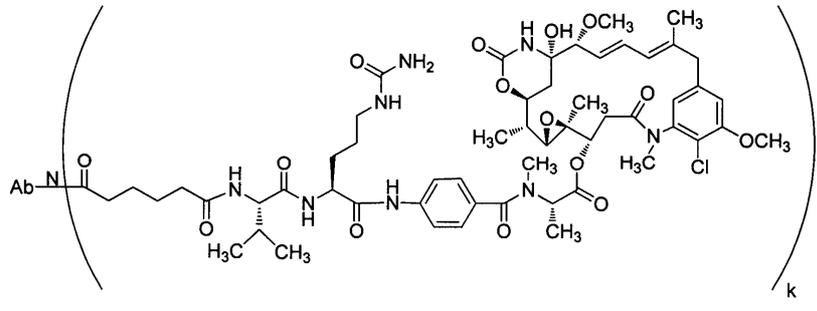
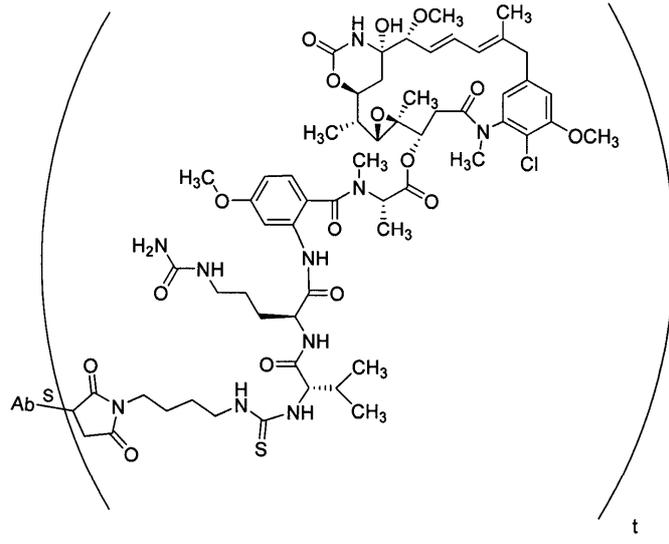


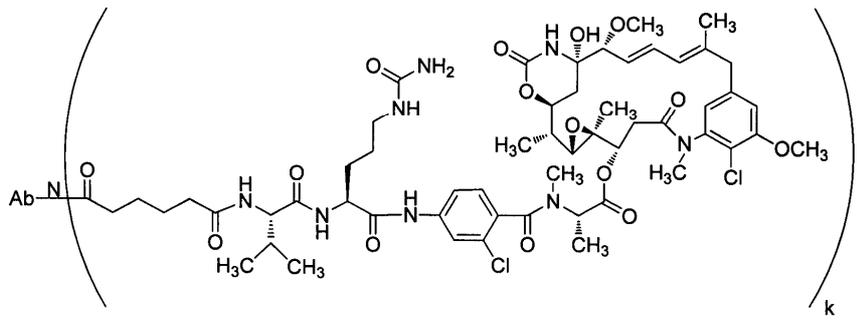
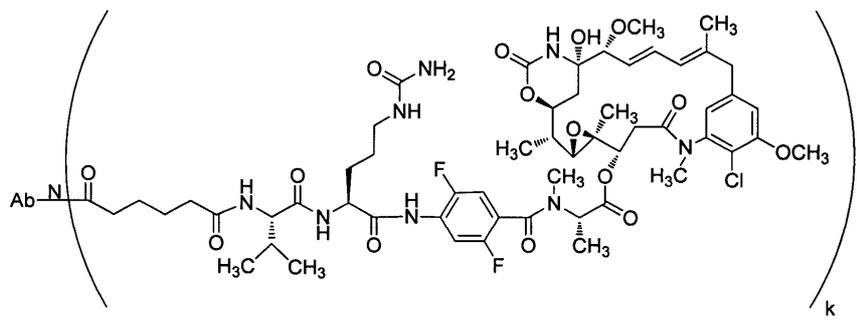
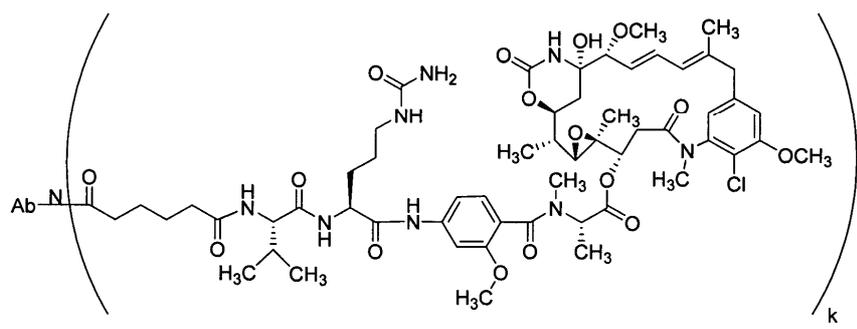
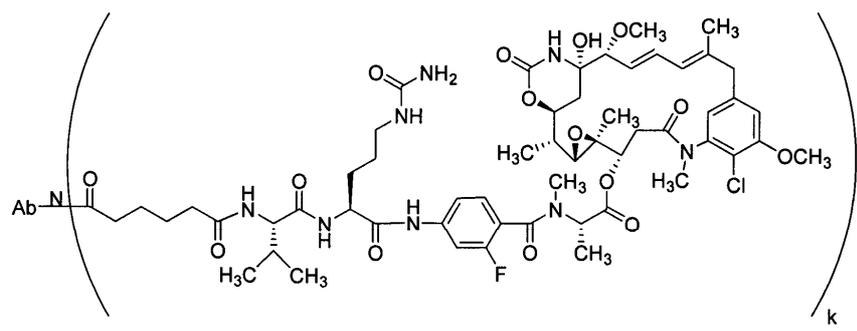


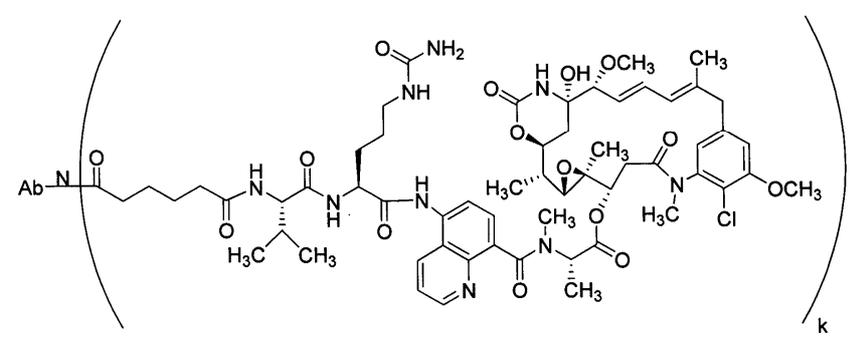
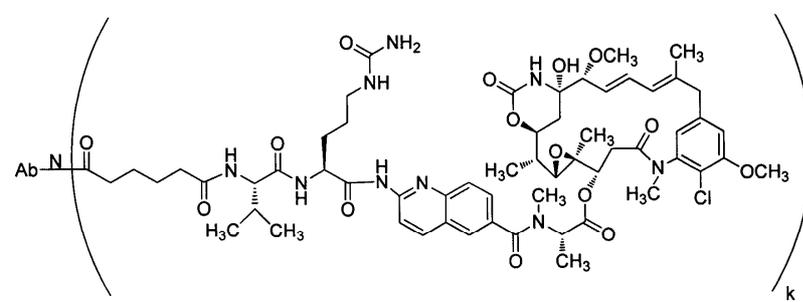
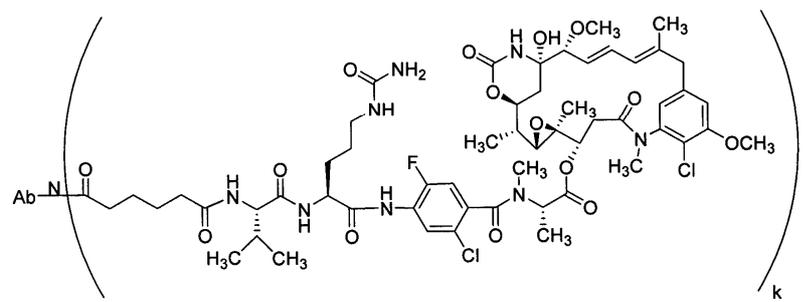
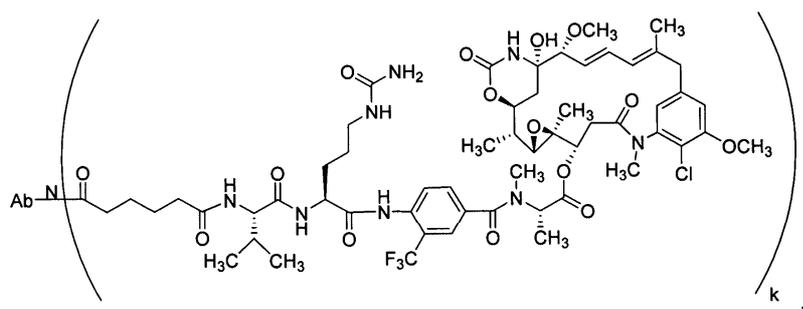


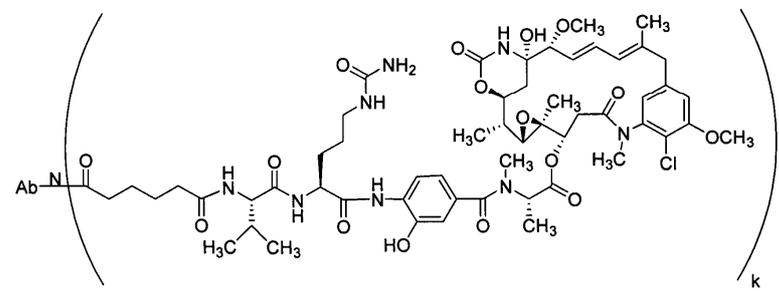
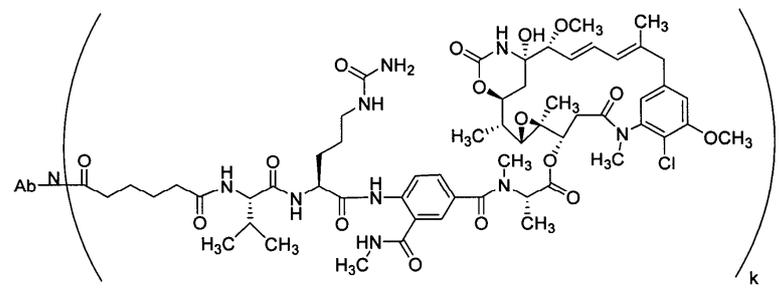
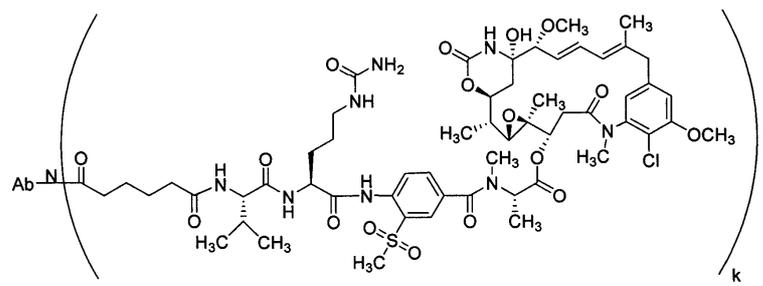
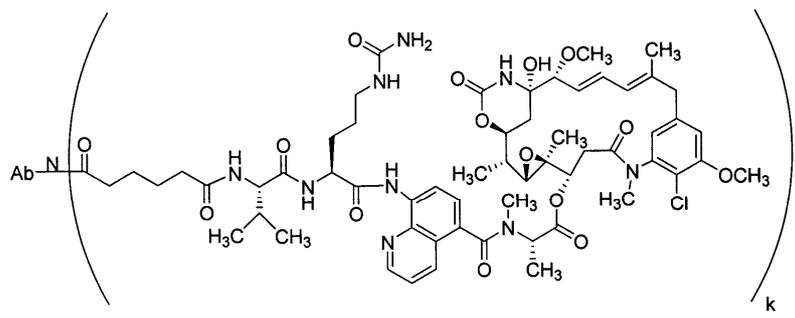




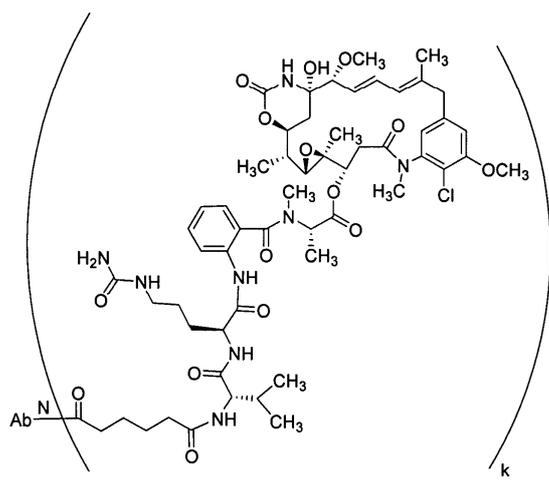
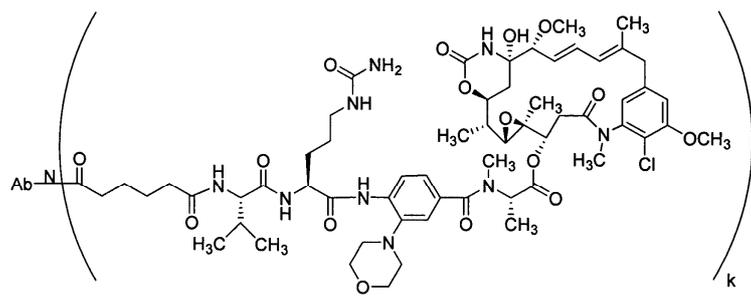


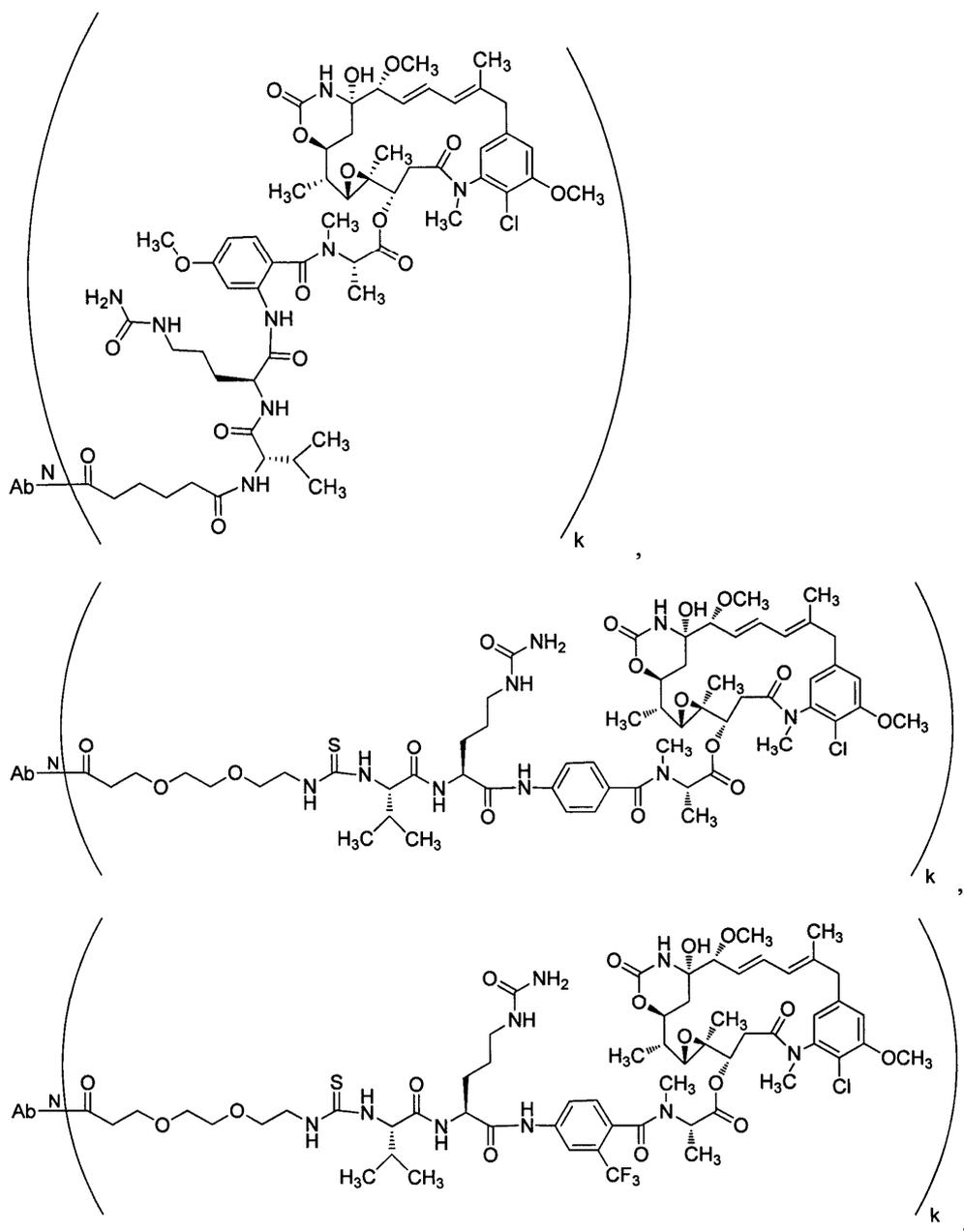


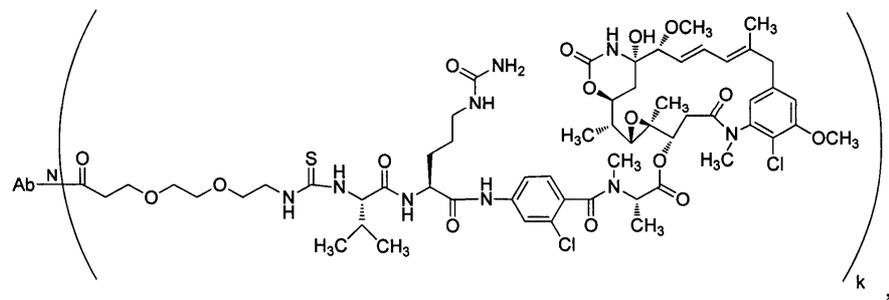
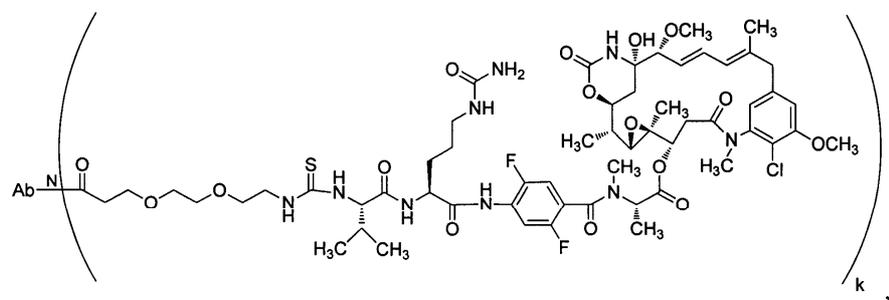
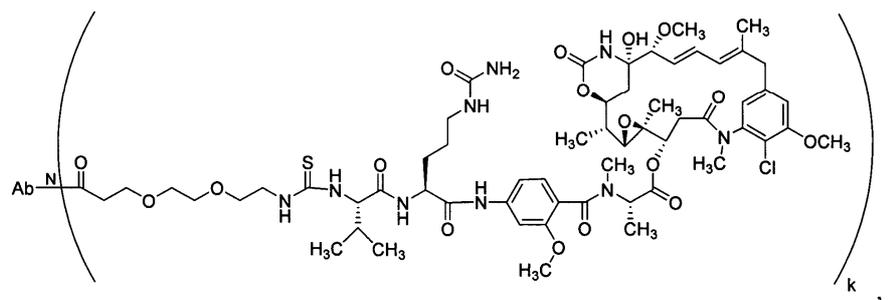
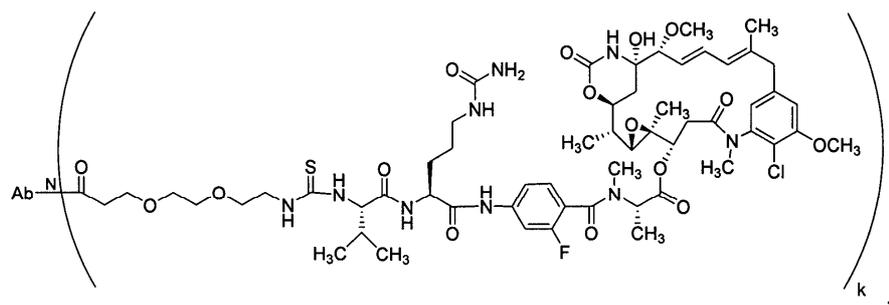


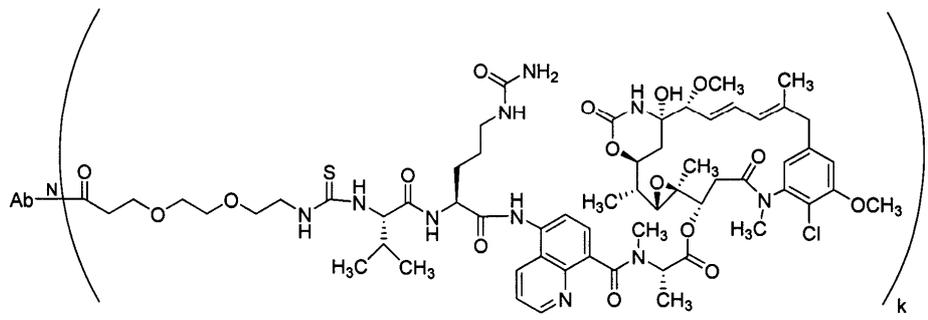
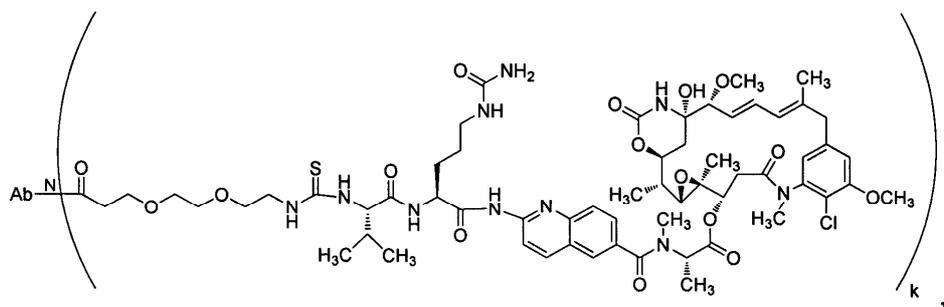
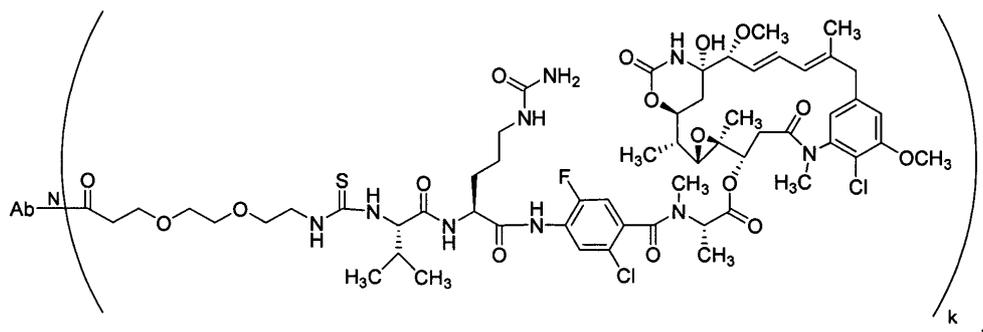
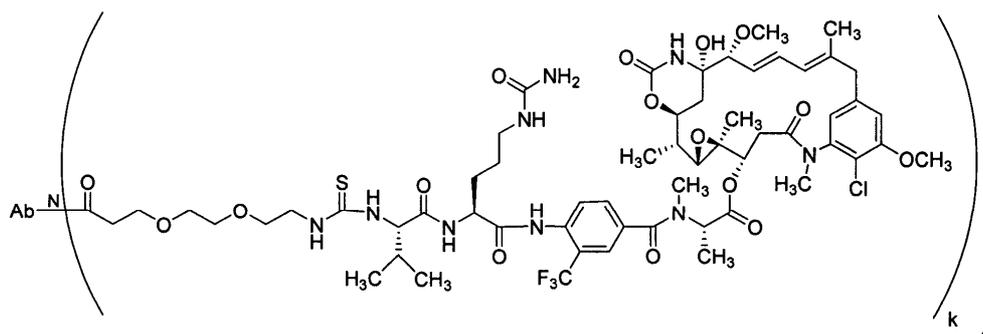


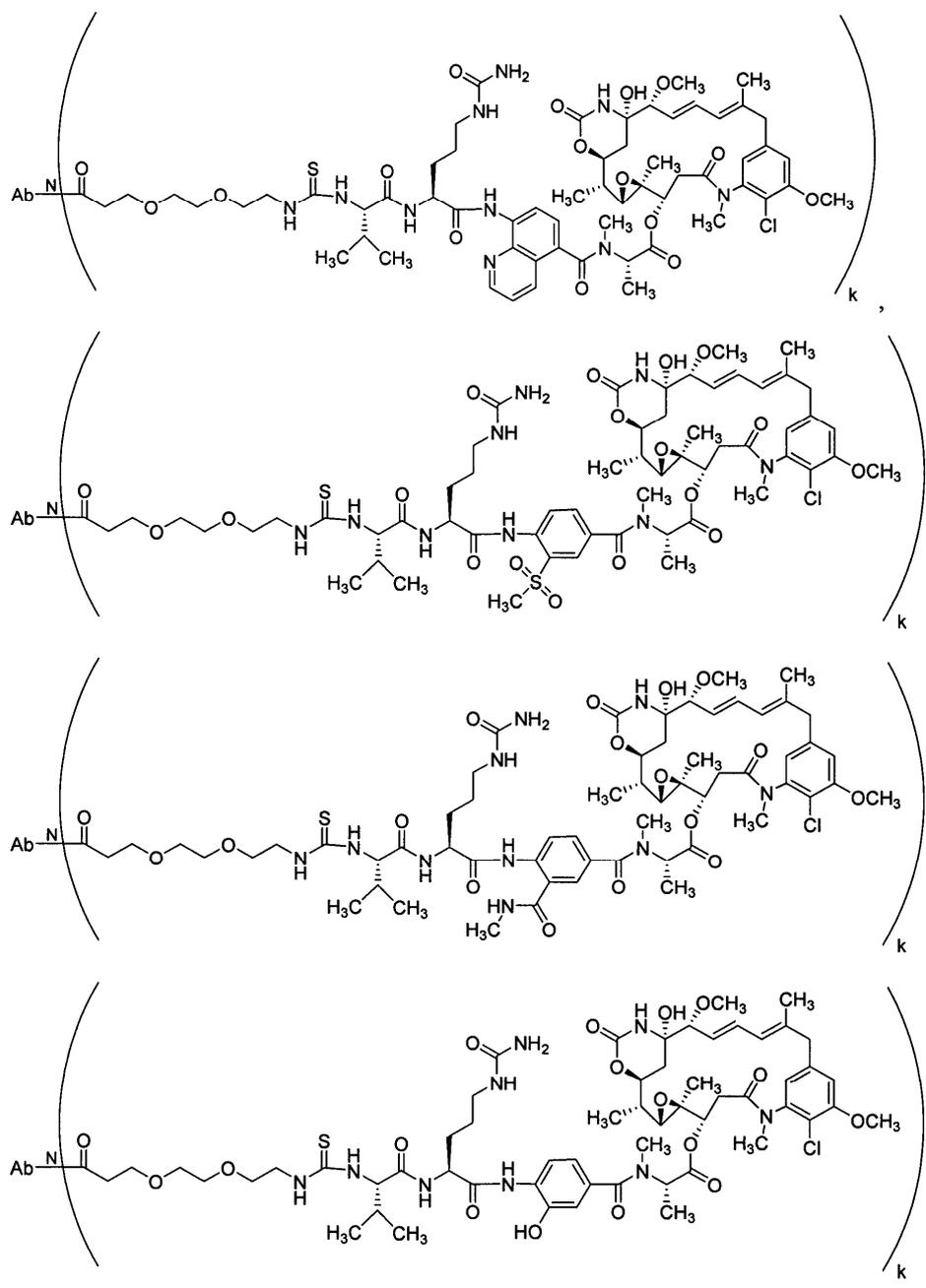
034950

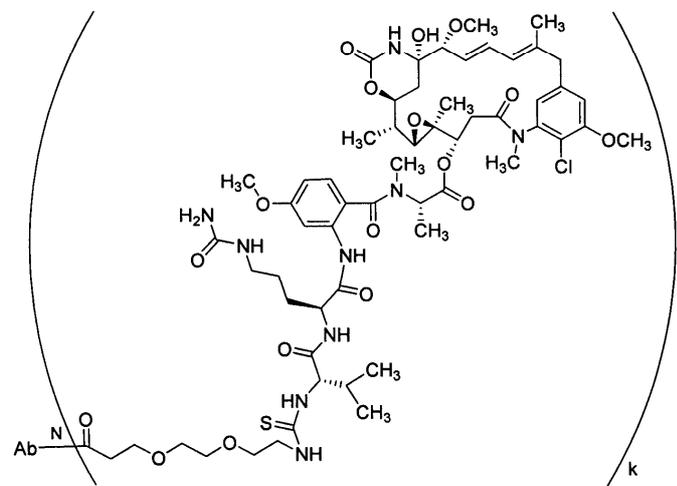
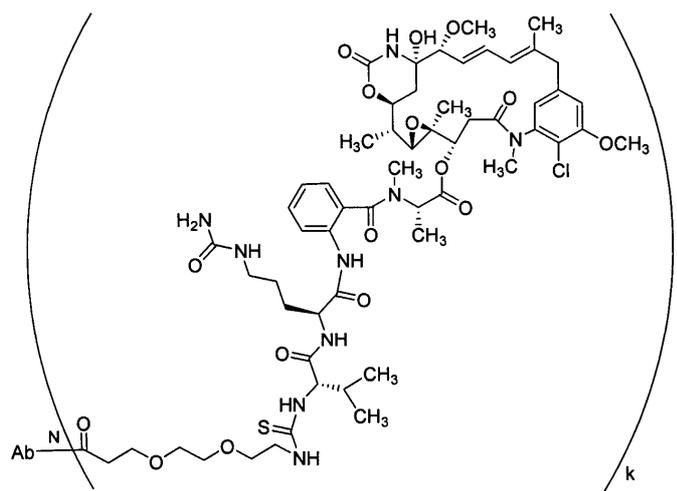
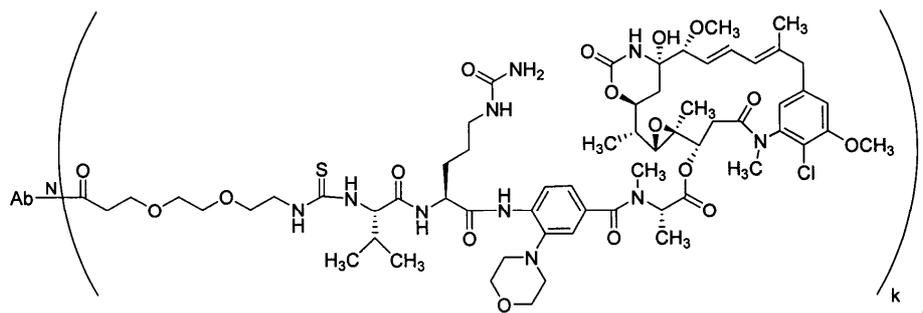


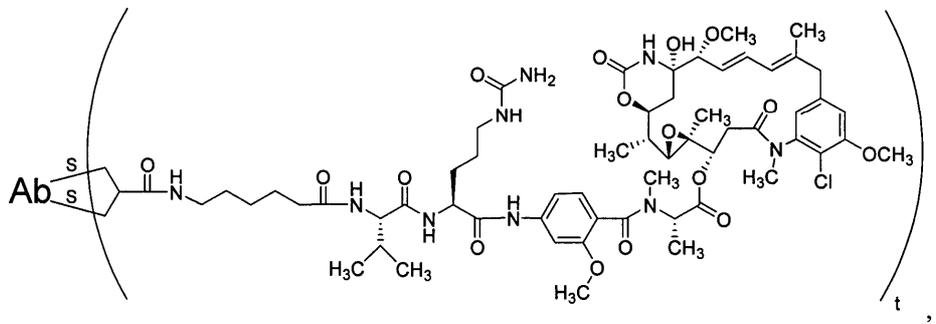
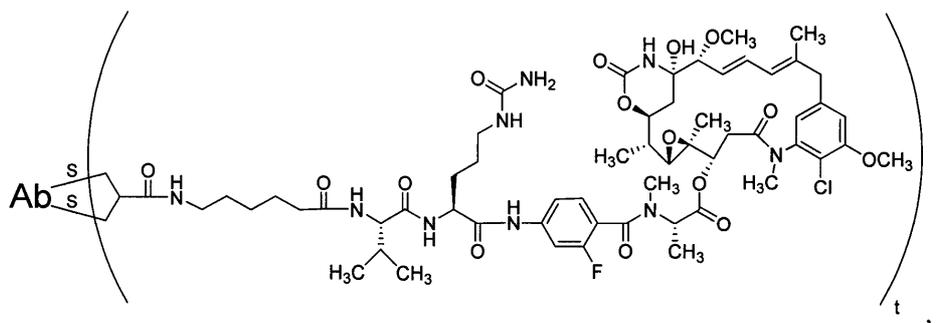
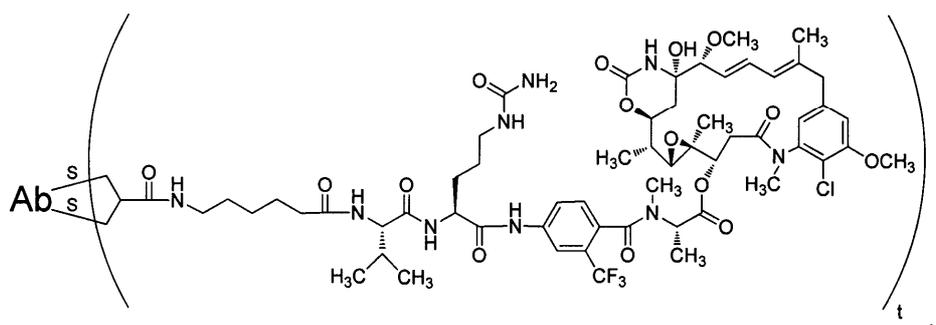
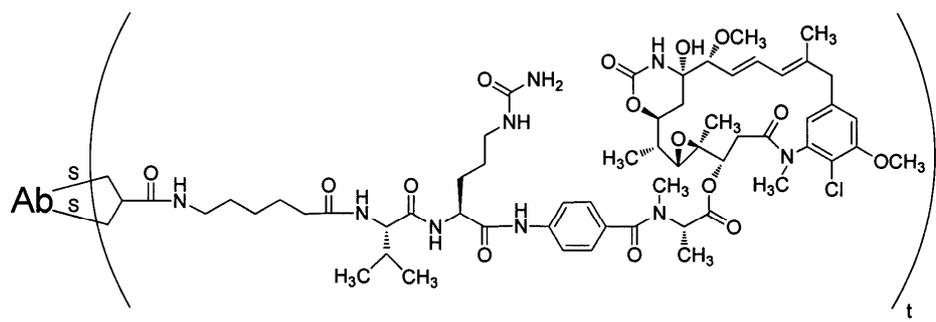


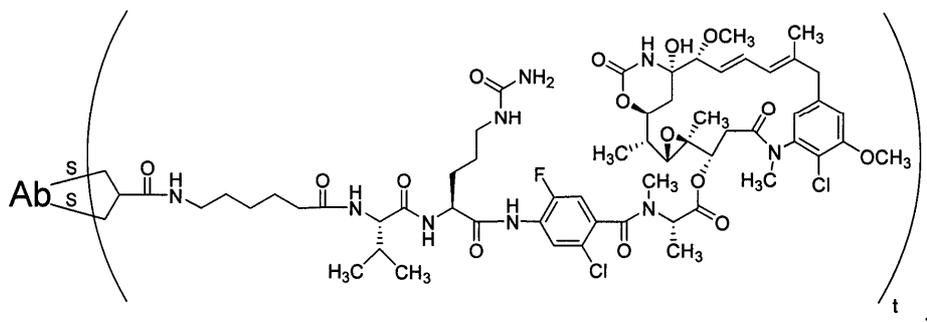
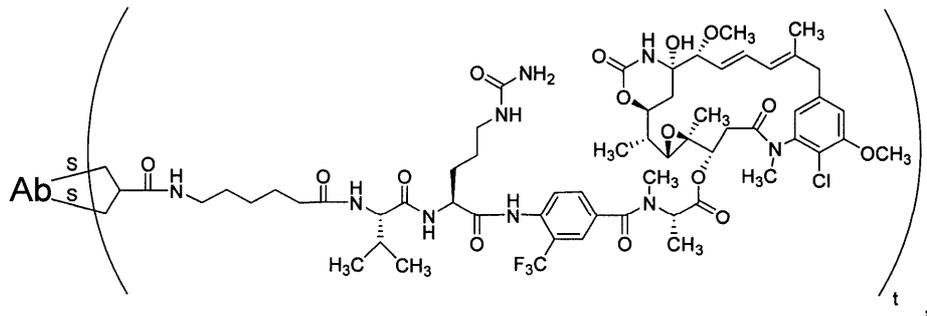
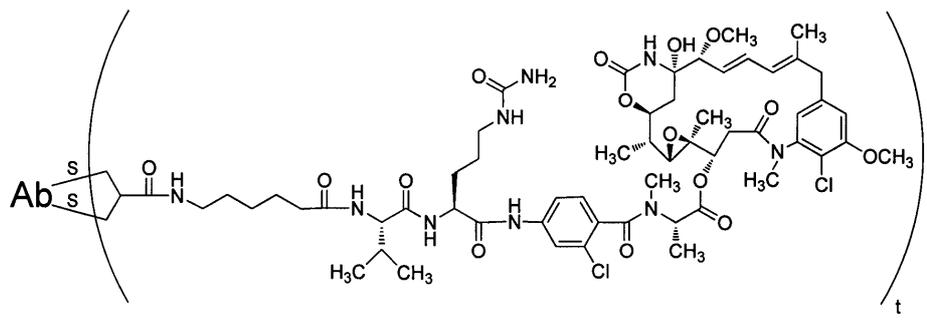
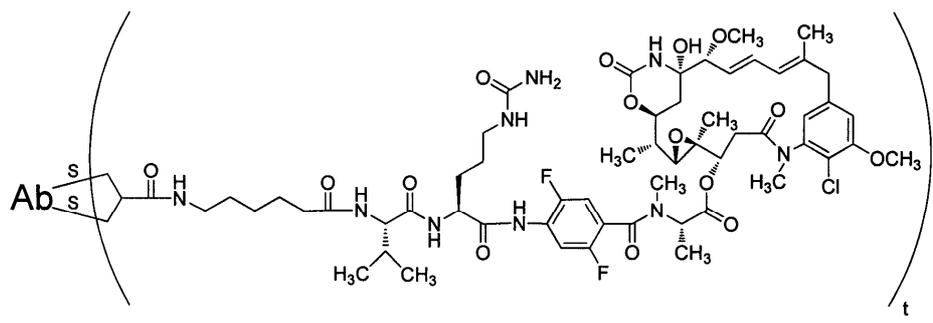


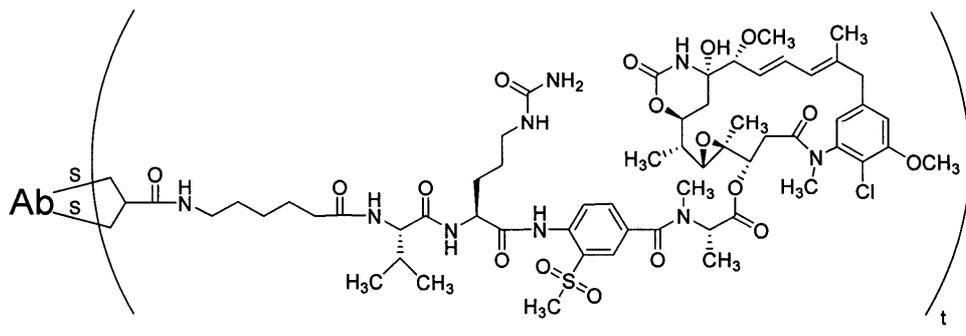
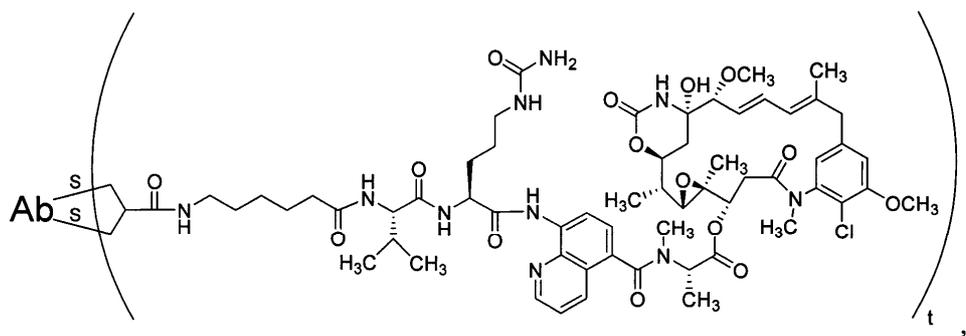
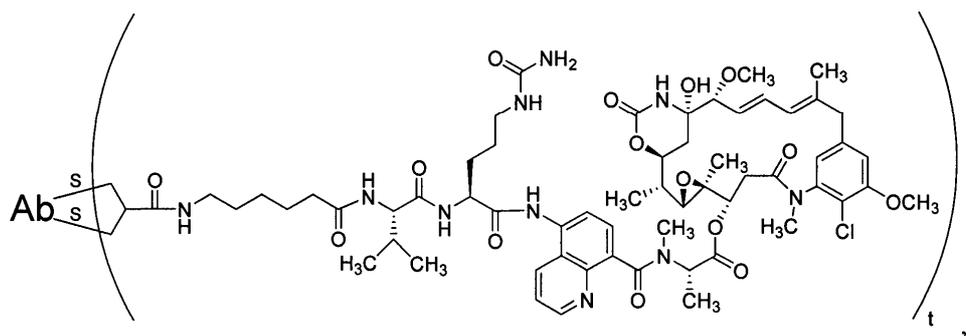
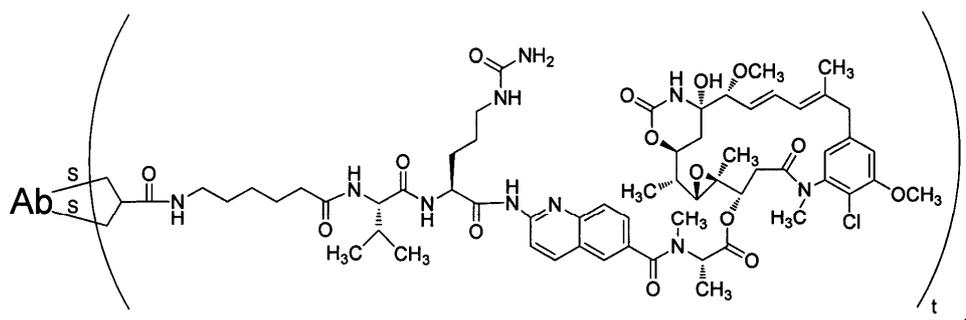


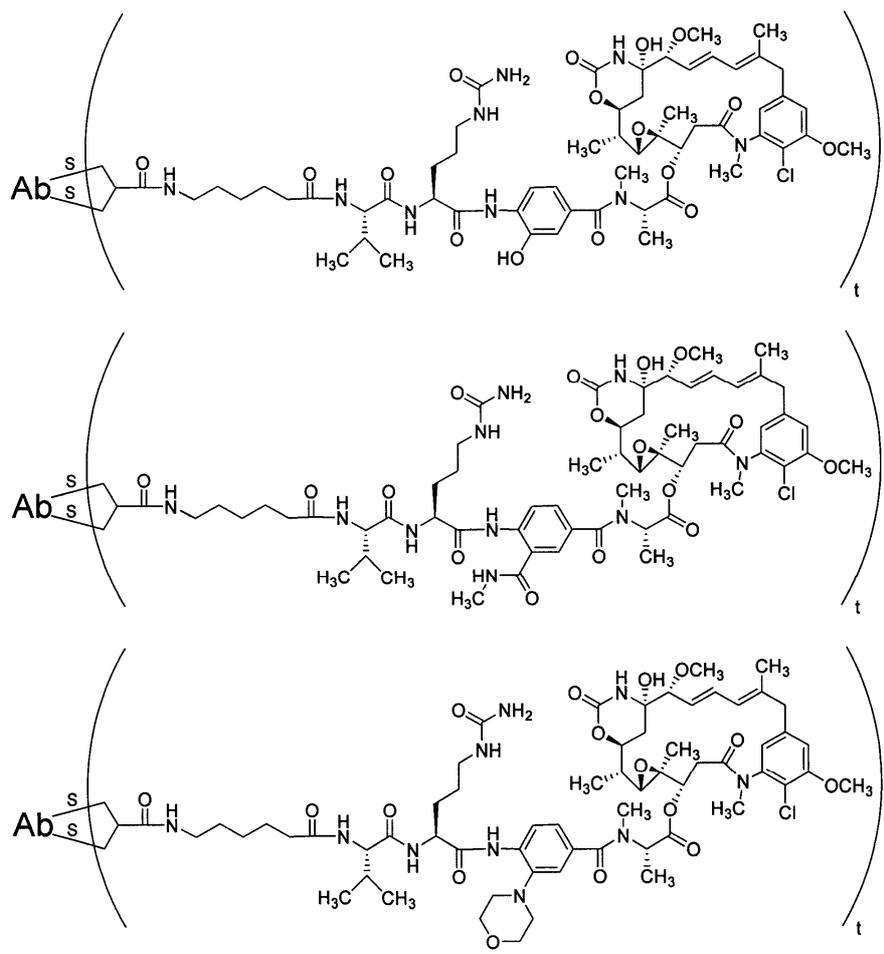




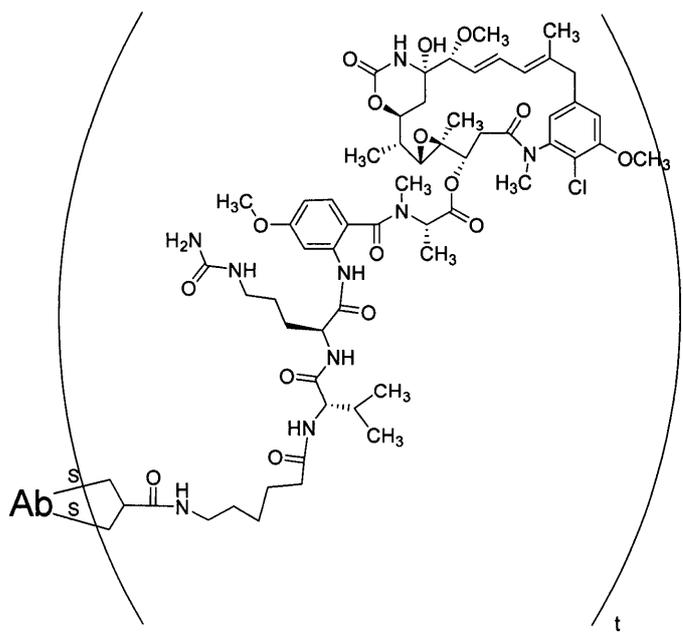
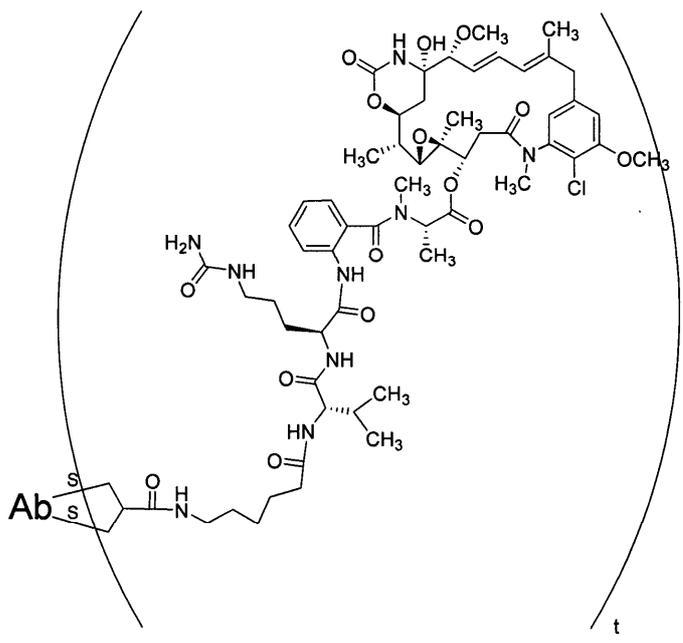


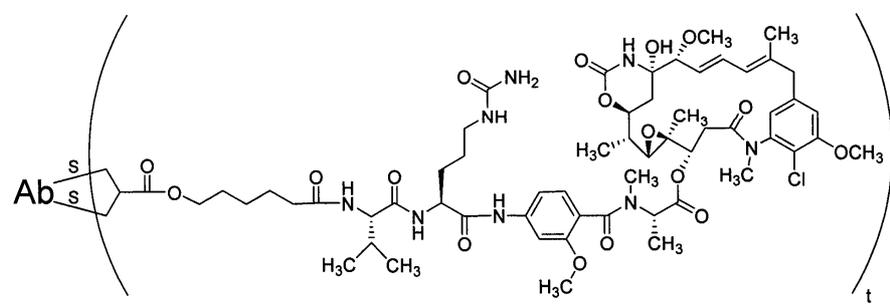
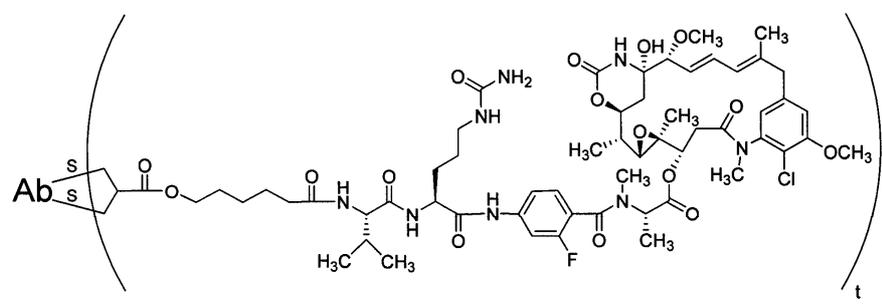
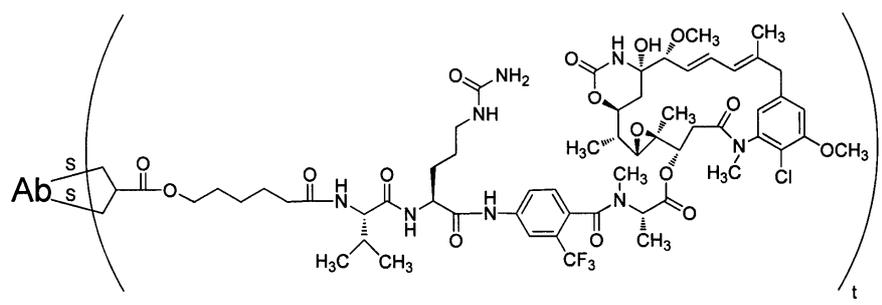
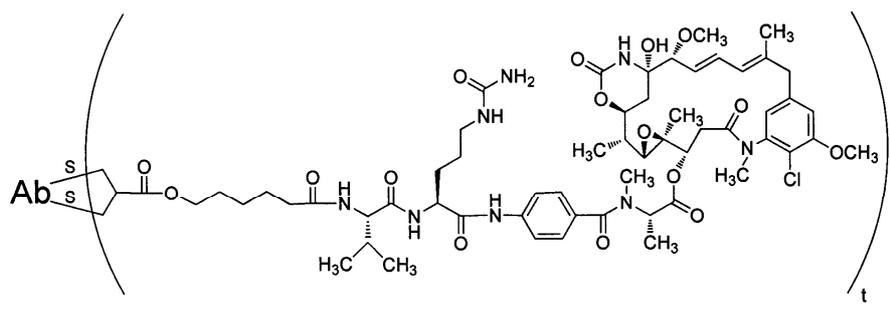


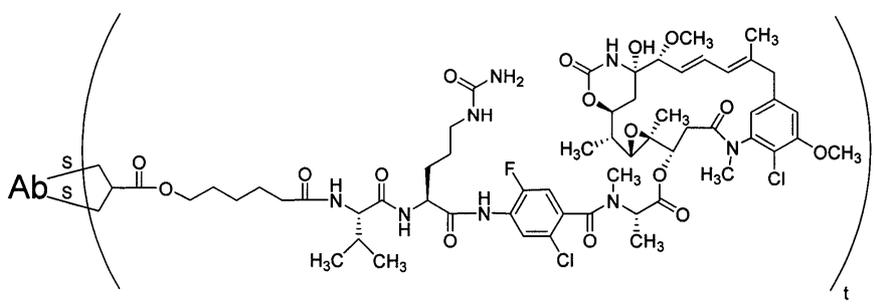
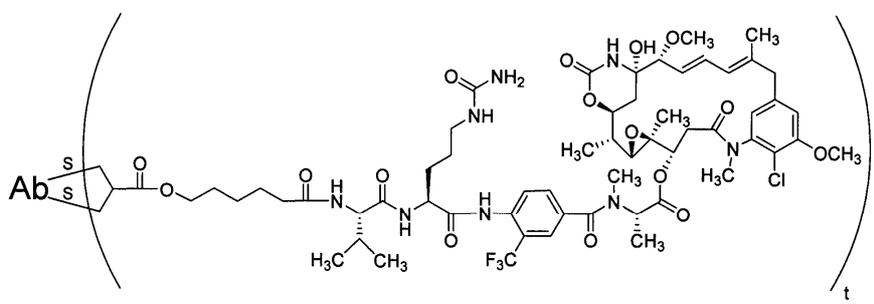
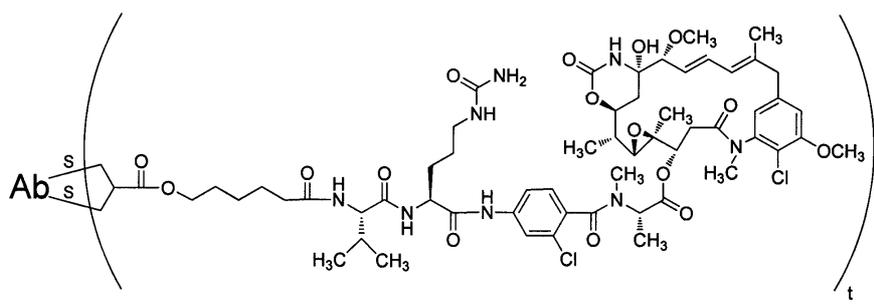
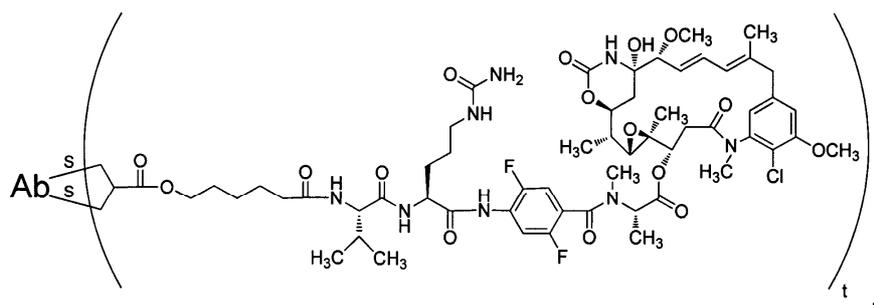


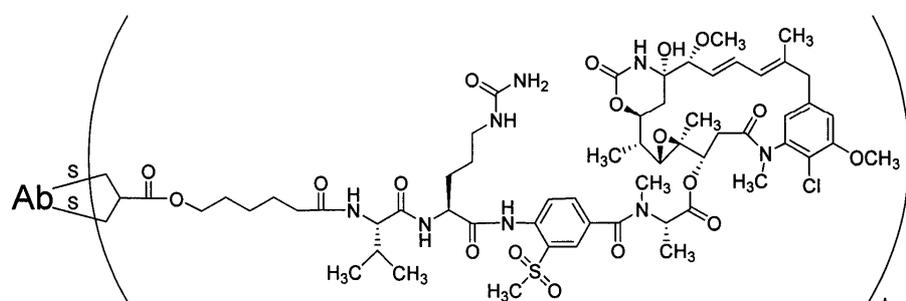
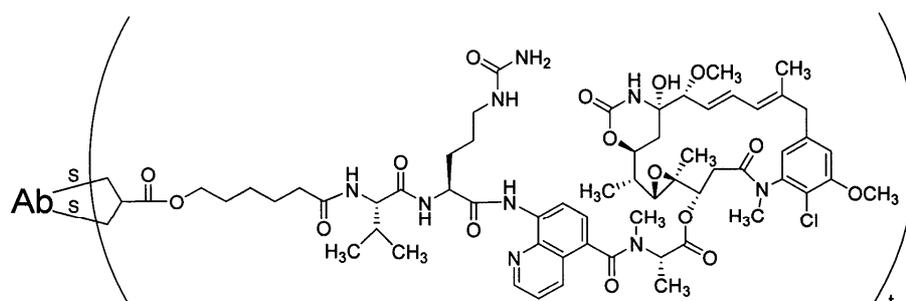
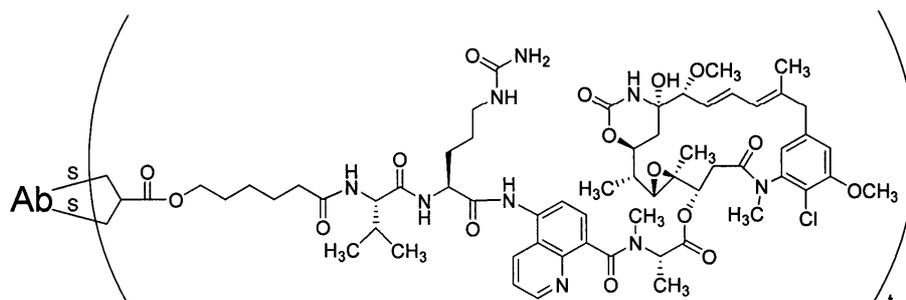
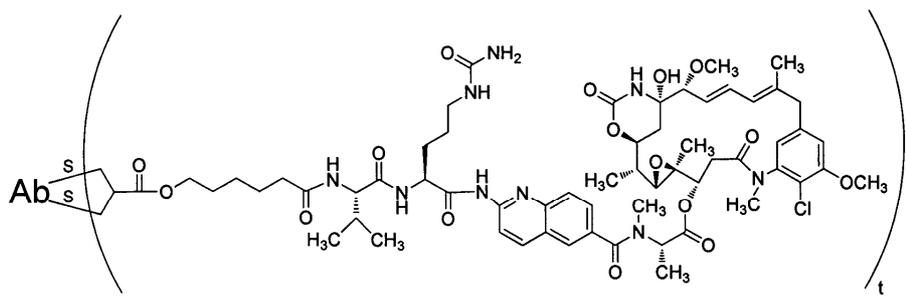


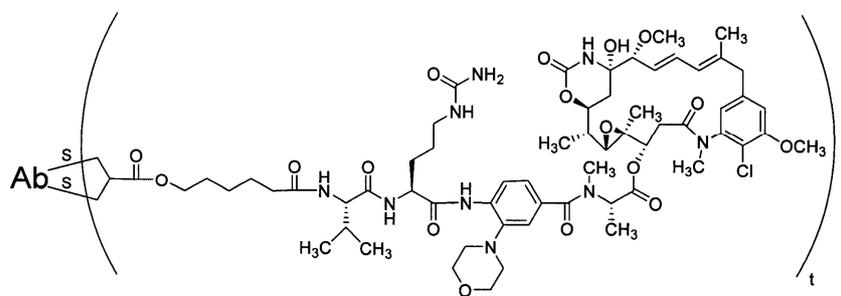
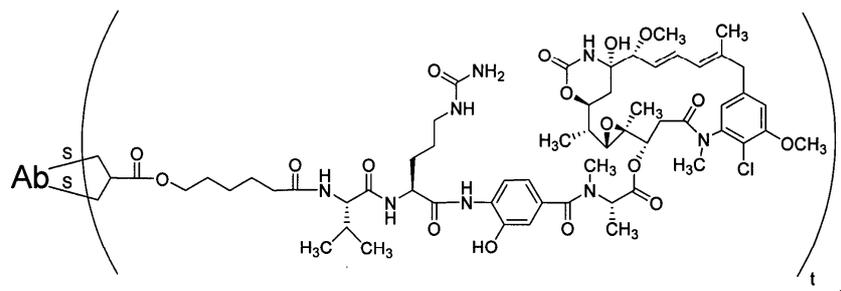
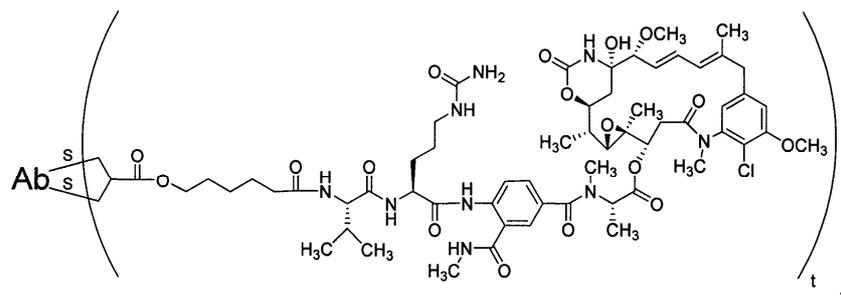
034950

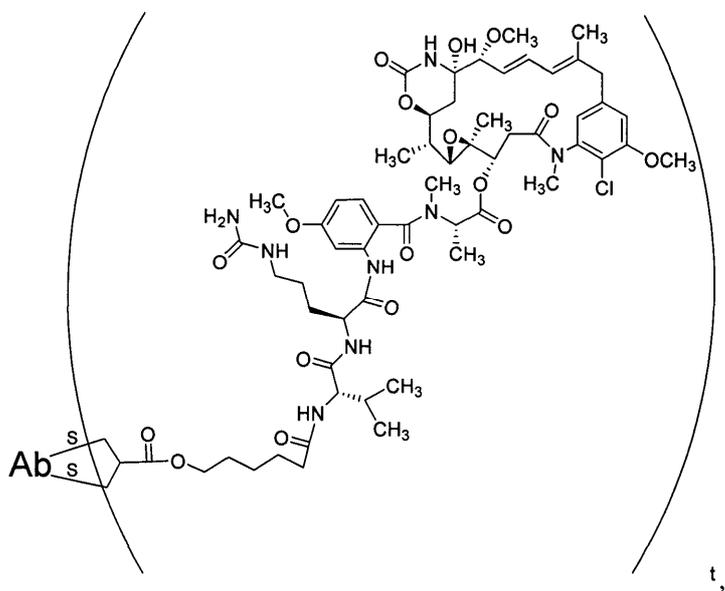
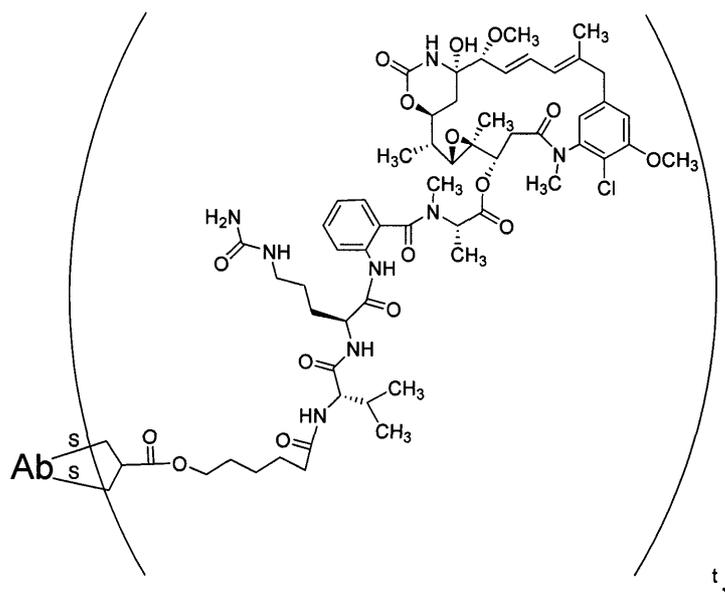


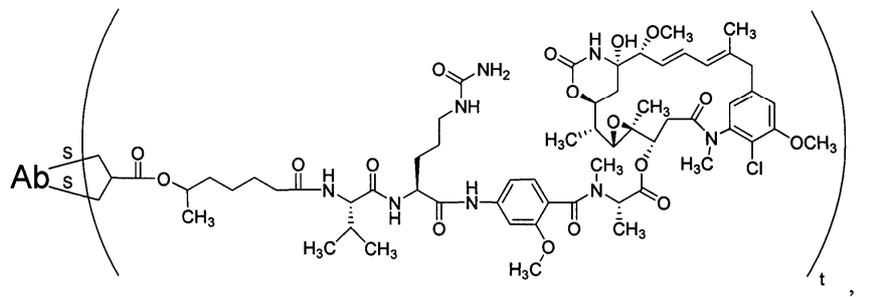
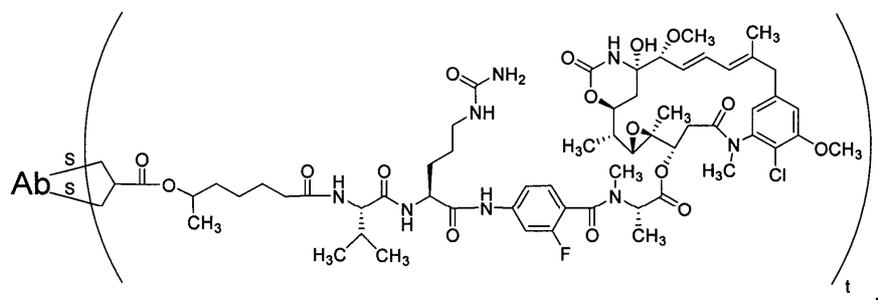
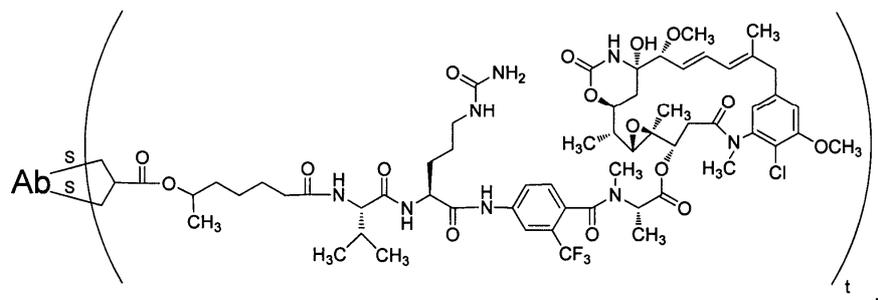
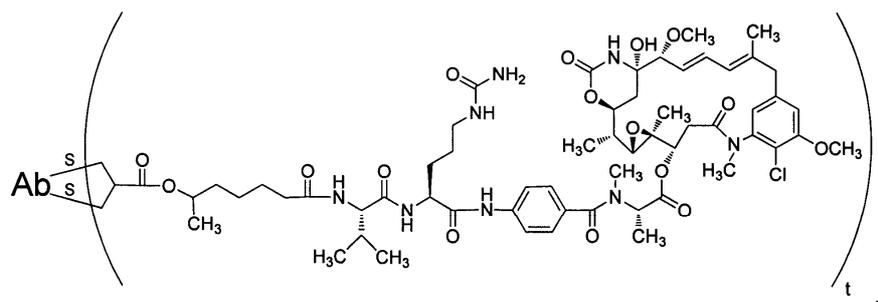


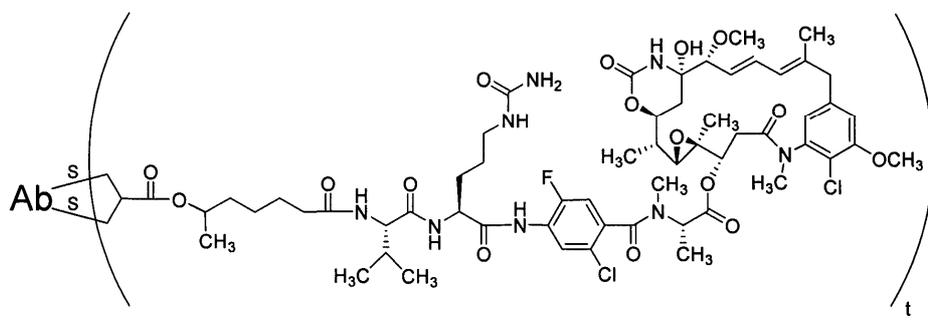
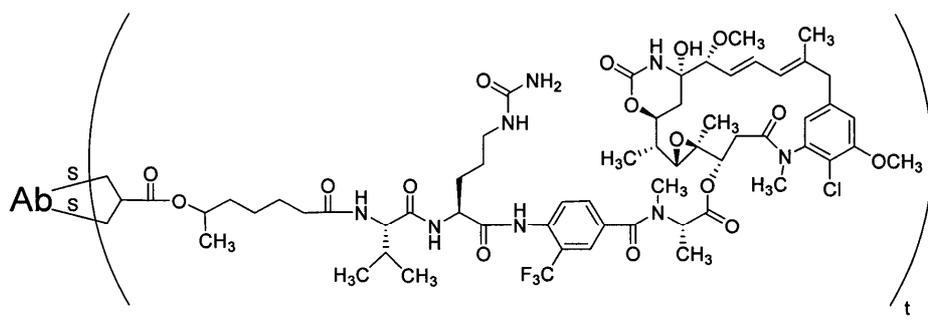
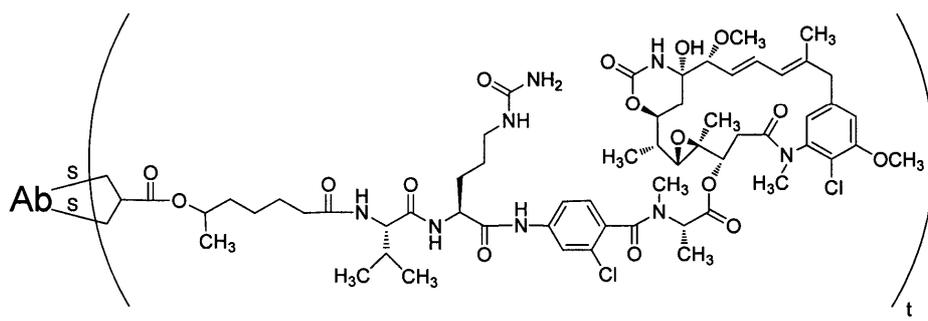
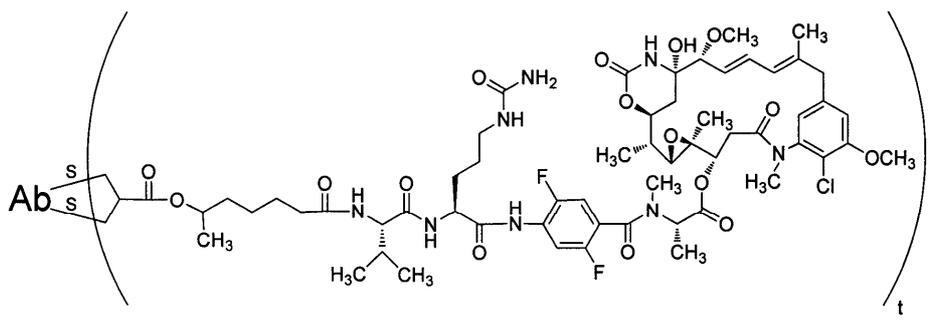


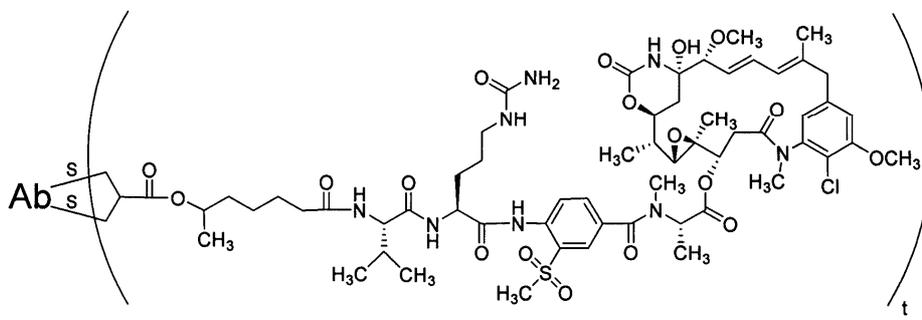
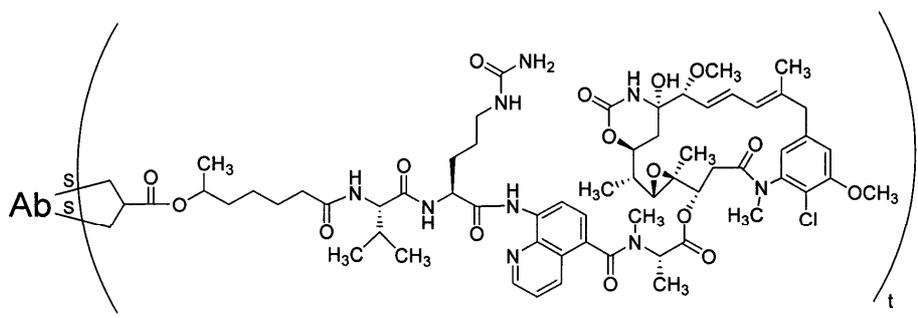
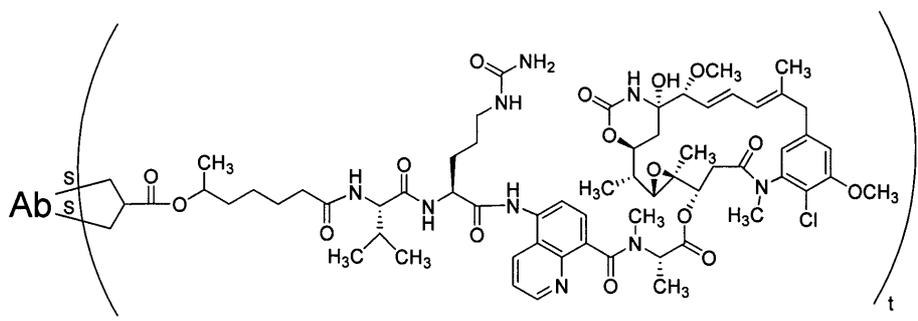
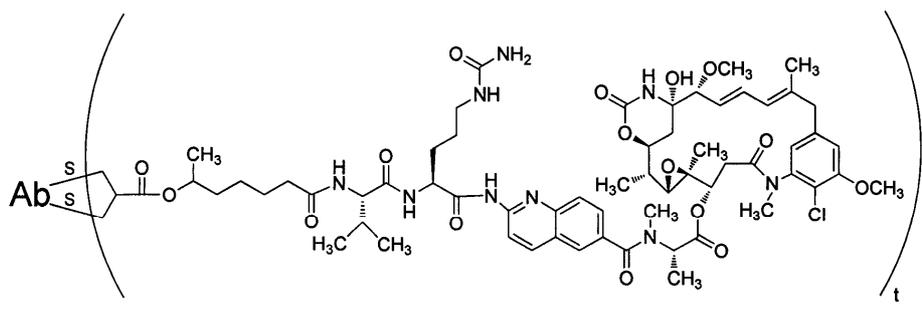


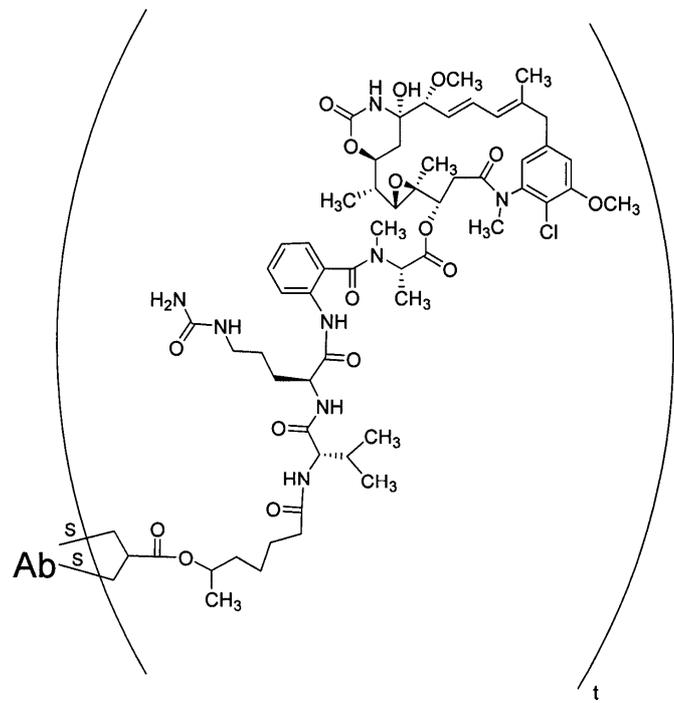
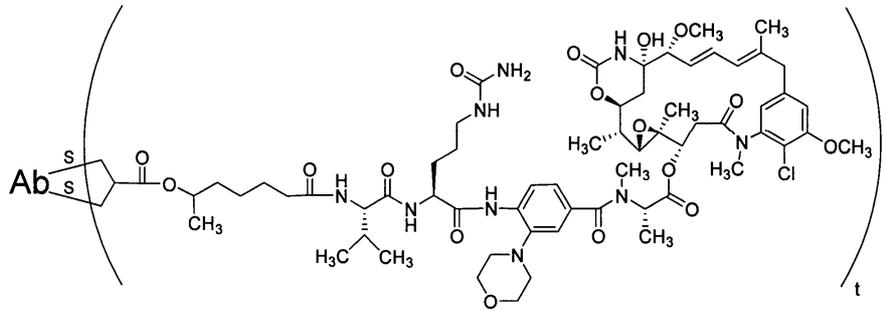
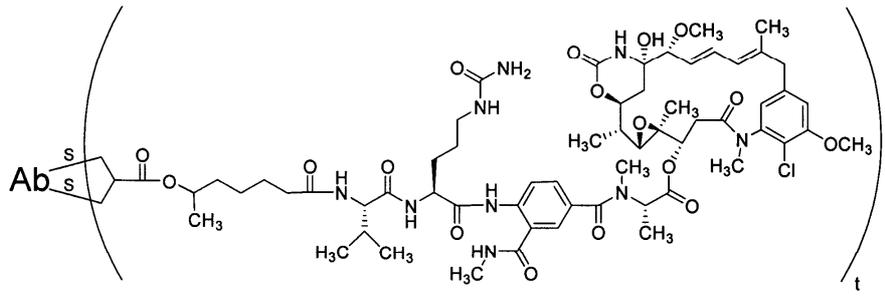
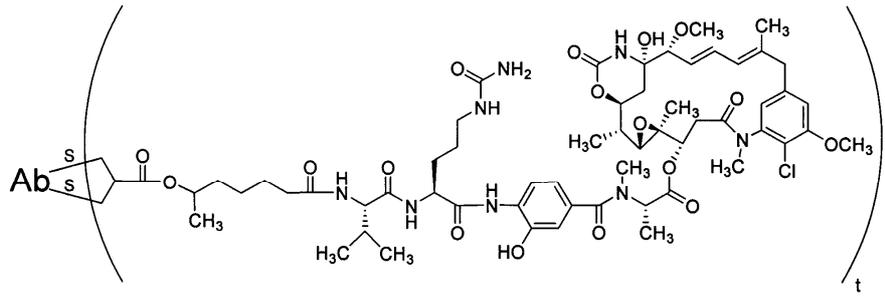


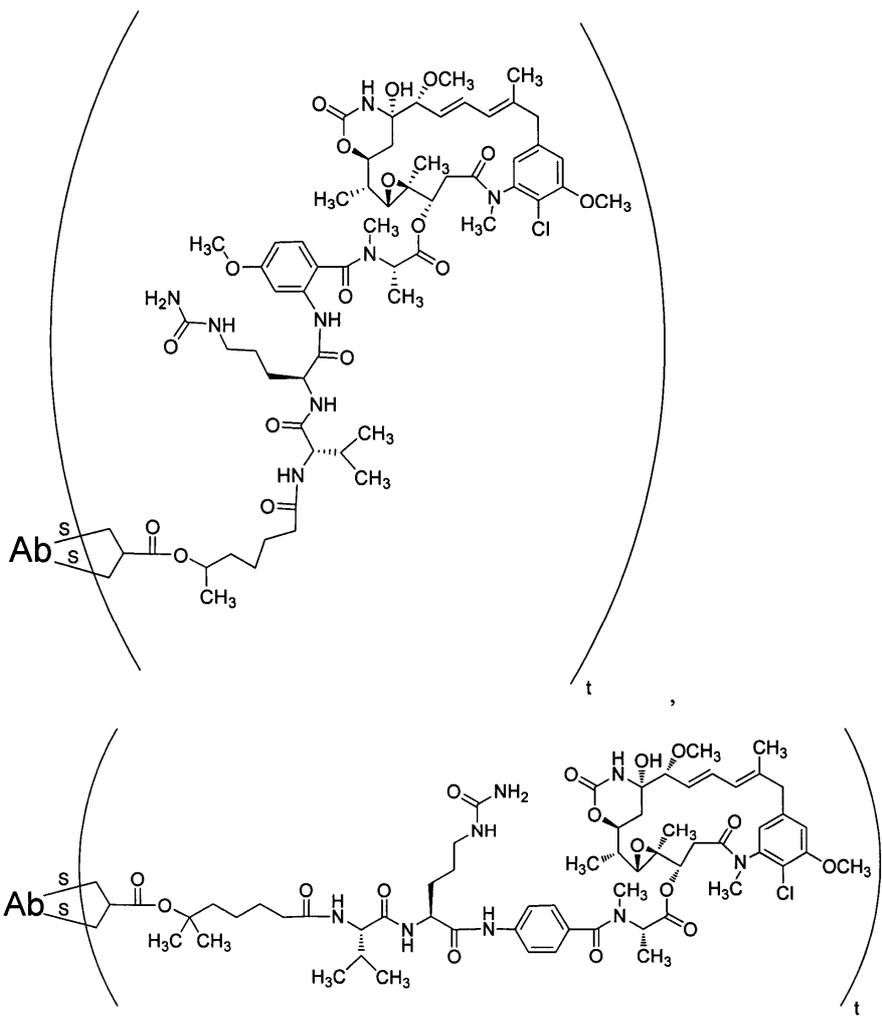


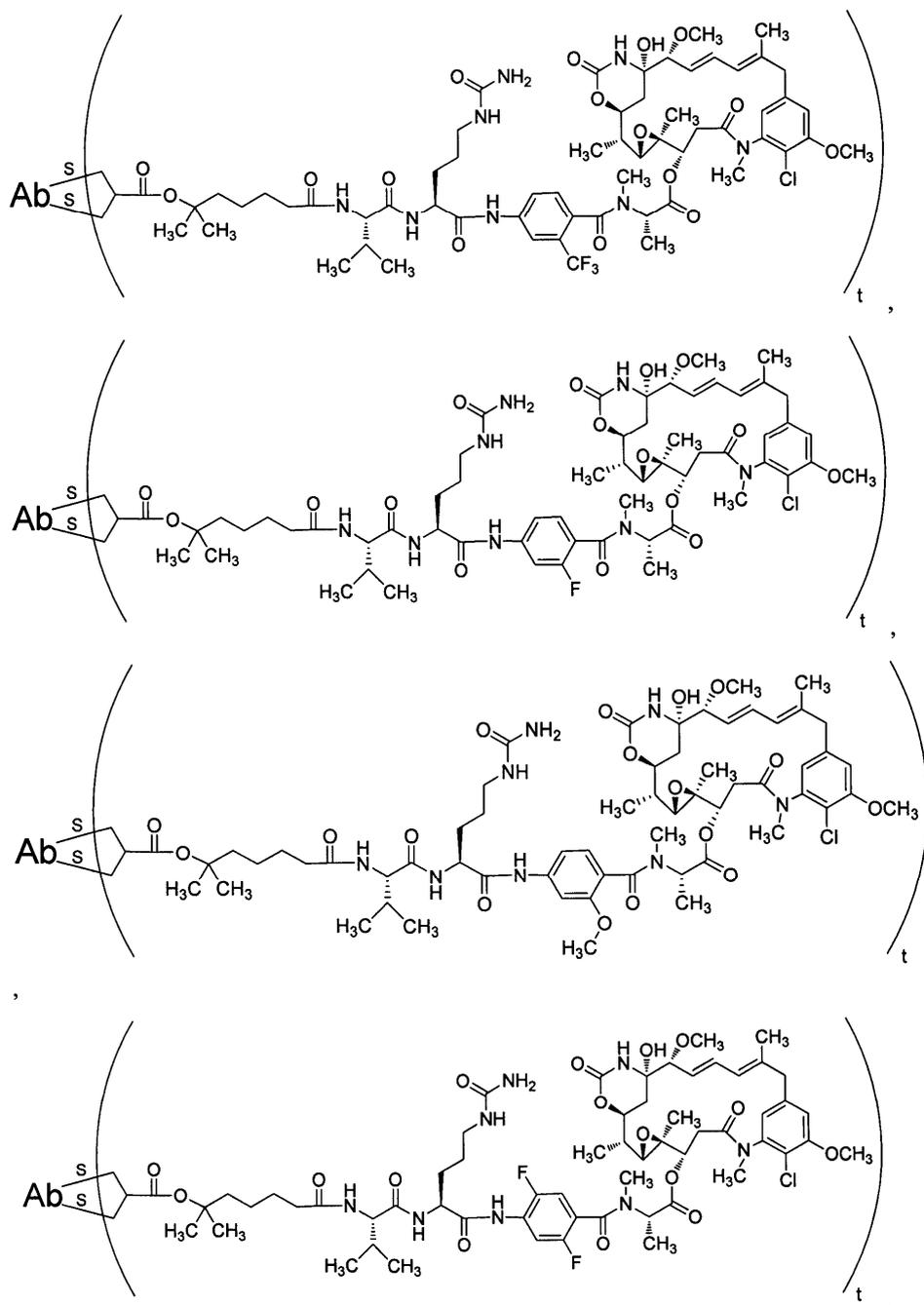


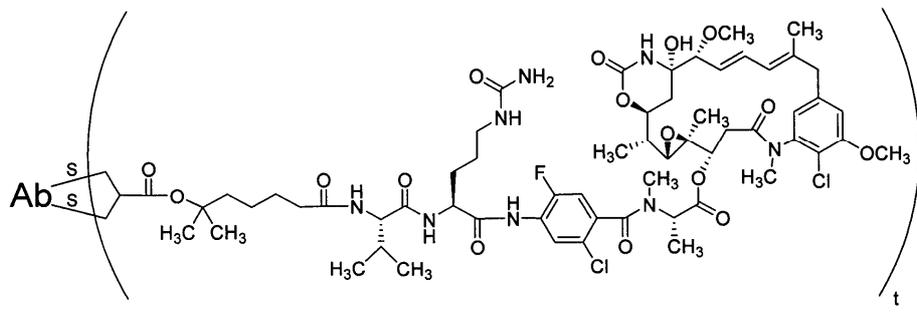
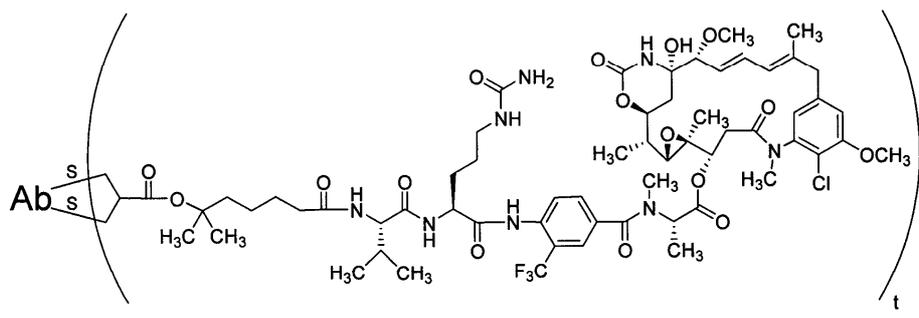
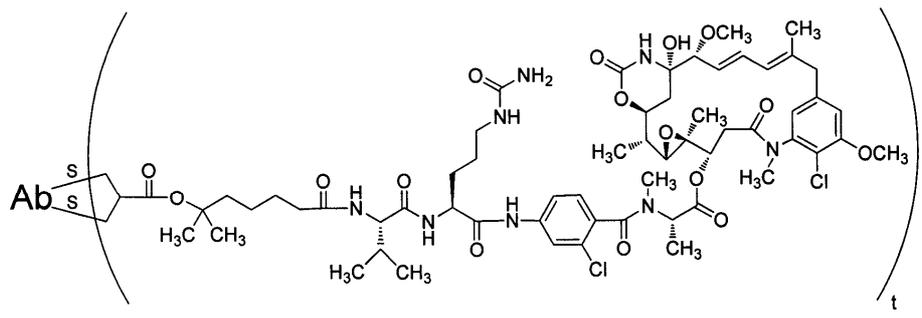


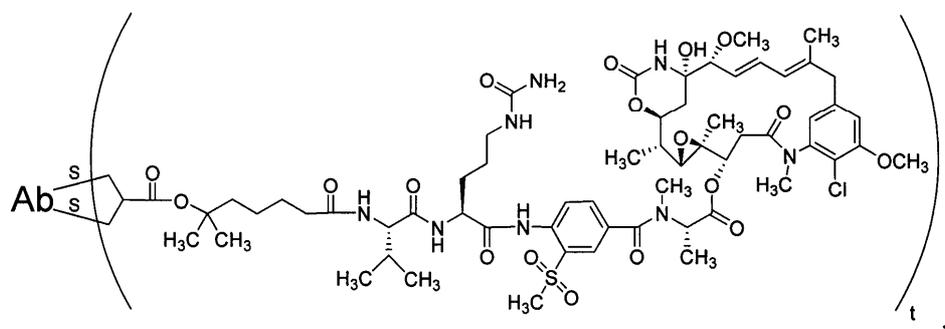
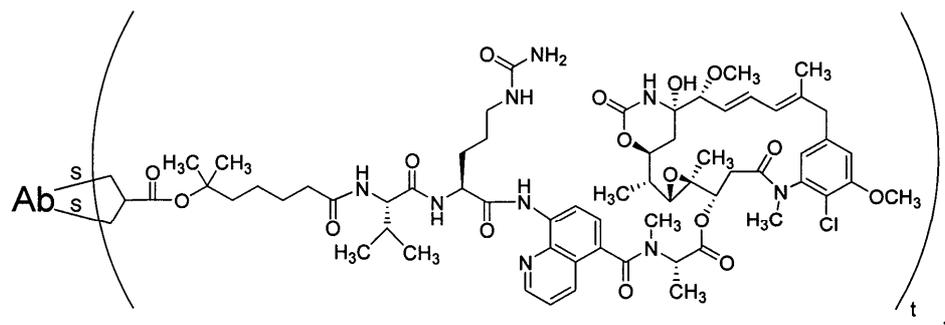
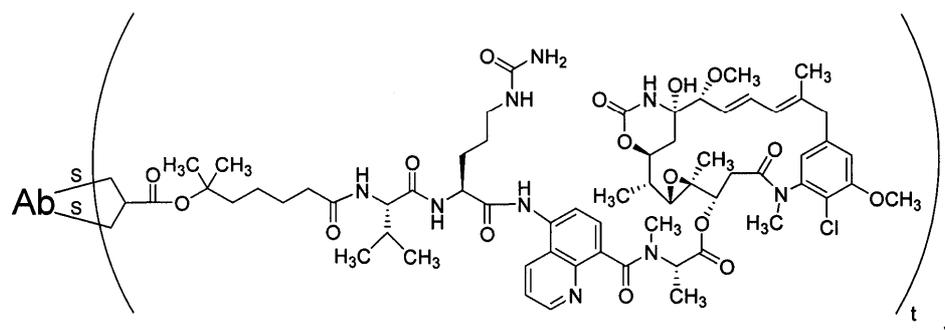
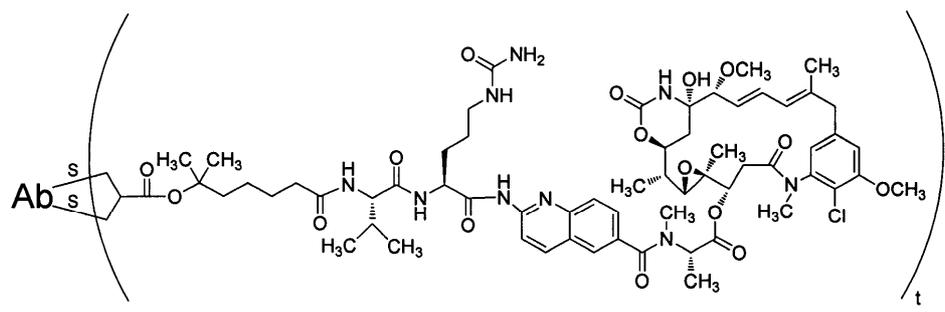


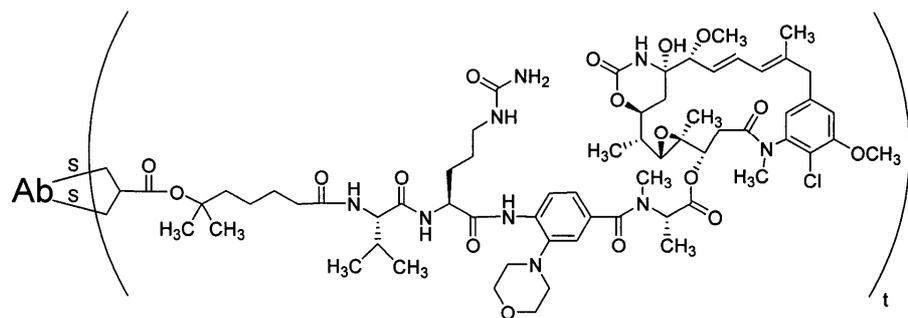
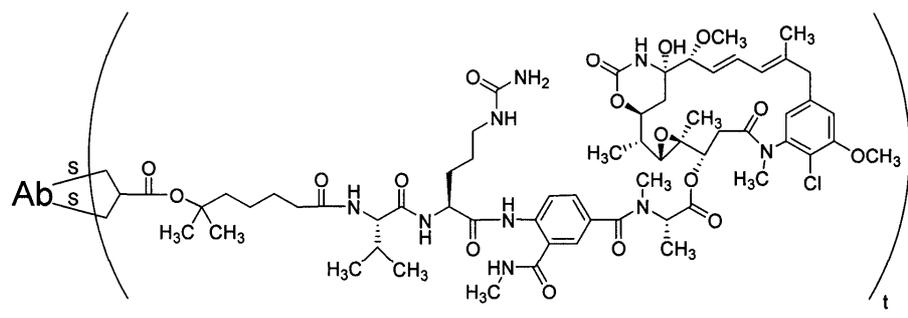
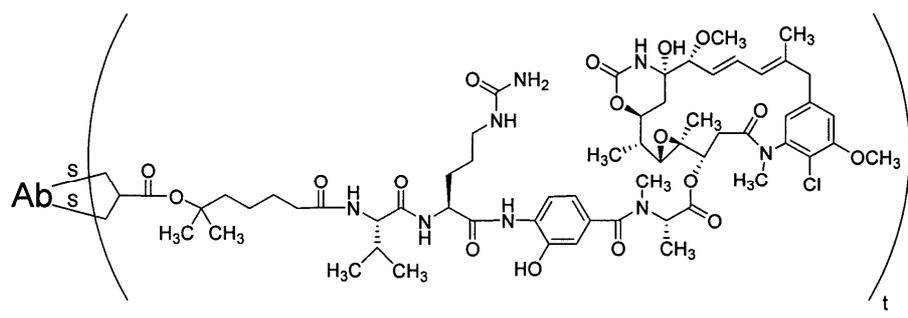




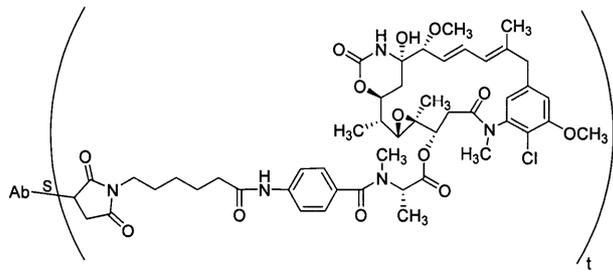
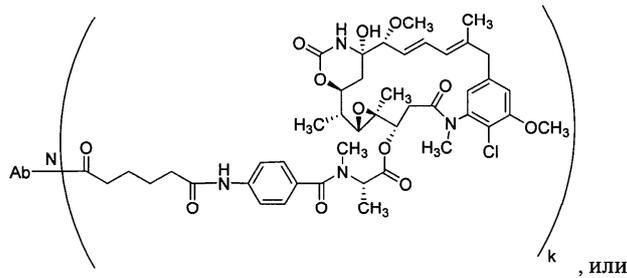
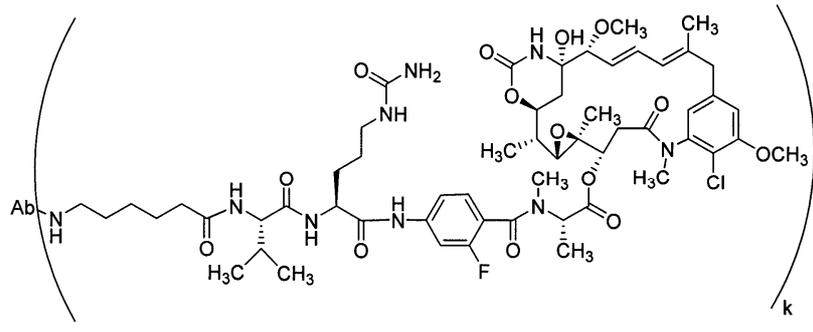












где Ab представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент;

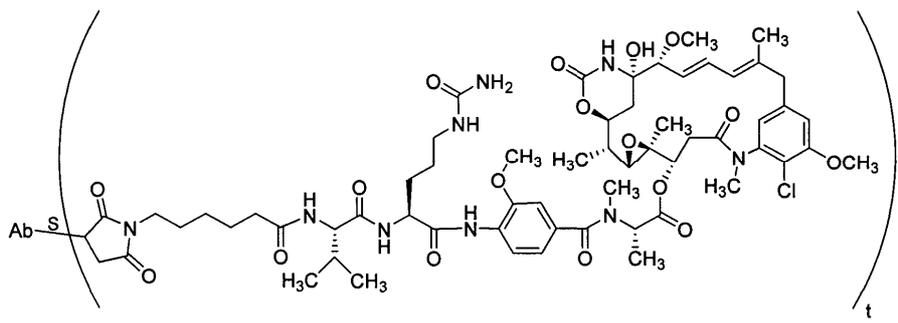
S представляет собой связь к остатку цистеина антитела или его антигенсвязывающего фрагмента;

N представляет собой связь к остатку лизина антитела или его антигенсвязывающего фрагмента;

k является целым числом от 1 до 30 и

t является целым числом от 1 до 8.

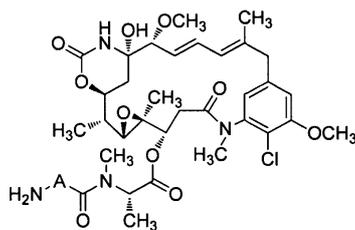
12. Соединение по п.11, где соединение представляет собой



13. Соединение по любому из пп.1-8, 11 или 12, где t равняется 1.

14. Соединение по любому из пп.1-8 или 11-13, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой анти-MUC16 антитело, анти-PRLR антитело или анти-PSMA антитело.

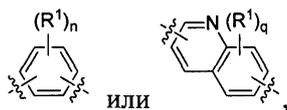
15. Соединение с формулой (II)



(II)

или его фармацевтически приемлемая соль,  
где А представляет собой арилен или гетероарилен.

16. Соединение по п.15, где А представляет собой:



где R<sup>1</sup>, независимо при каждом появлении, представляет собой алкил, алкокси, гало, галоалкил, ге-

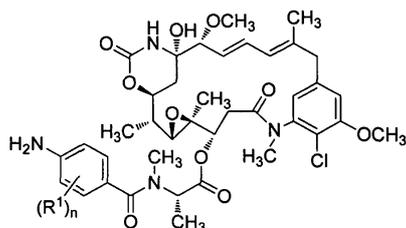
тероарил, гетероциклоалкил,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$  или  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ ,

где R<sup>A</sup> представляет собой алкил;

p является целым числом от 0 до 4;

q является целым числом от 0 до 5.

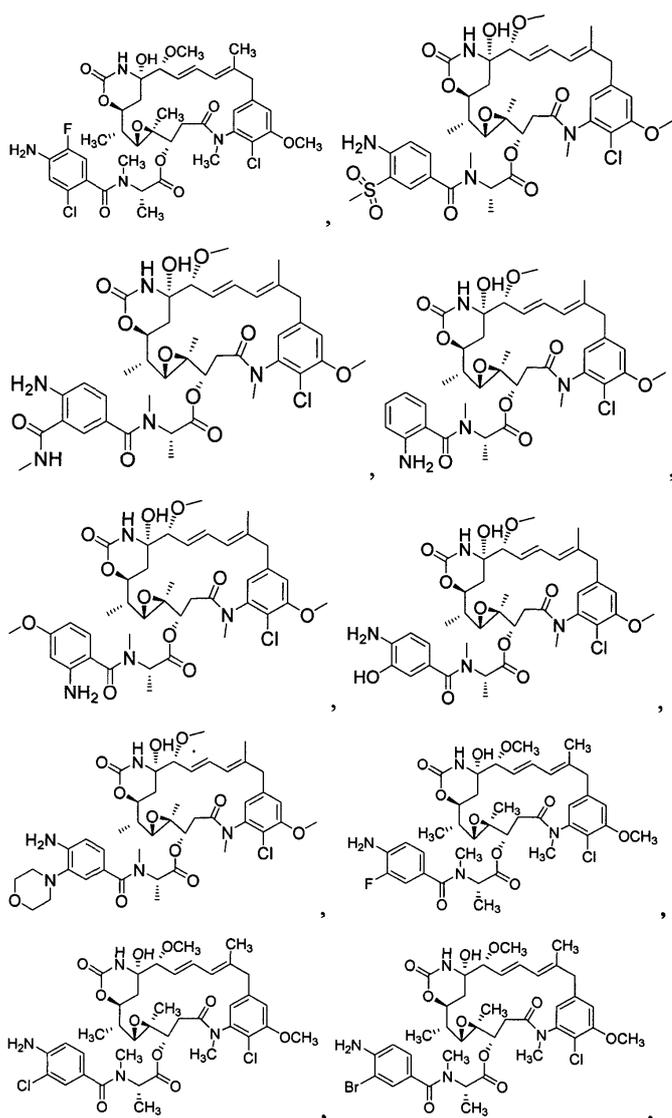
17. Соединение по п.16, где соединение представляет собой соединение с формулой (IIA)



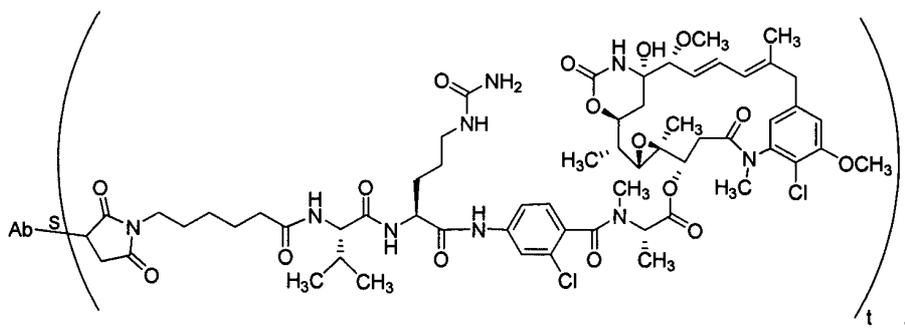
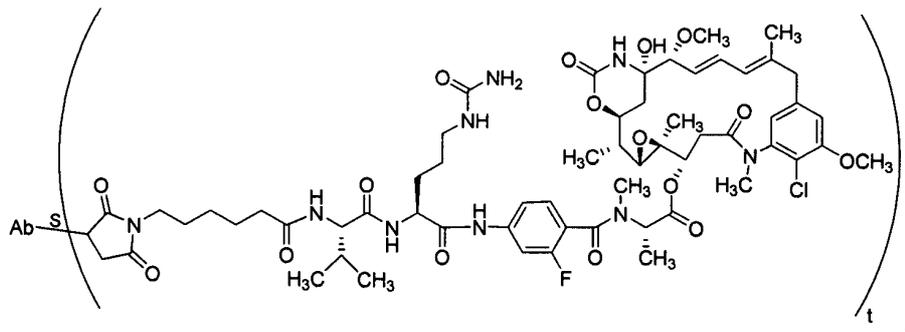
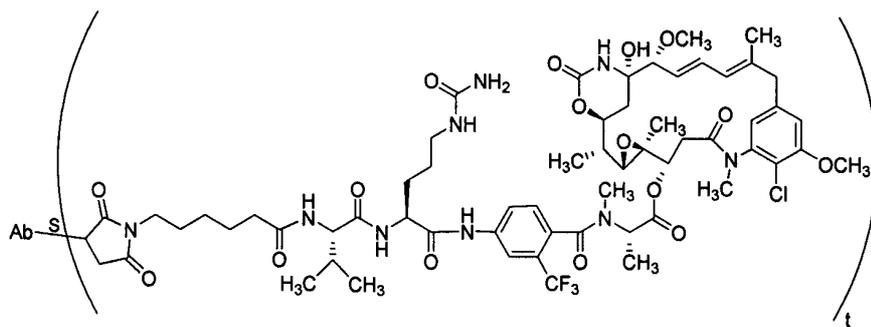
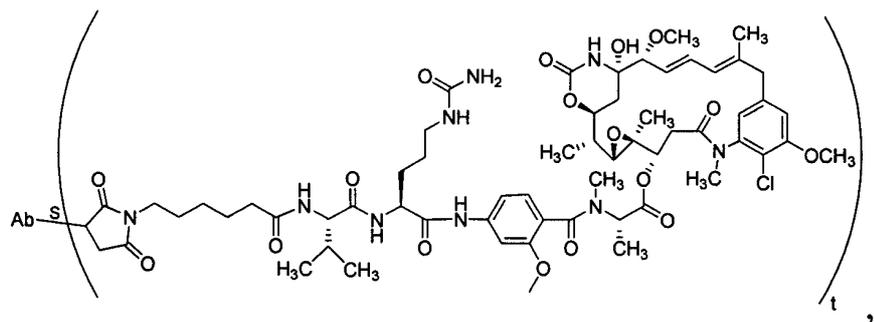
(IIA).

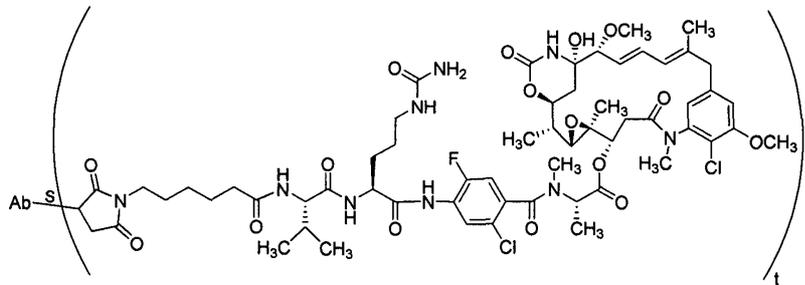
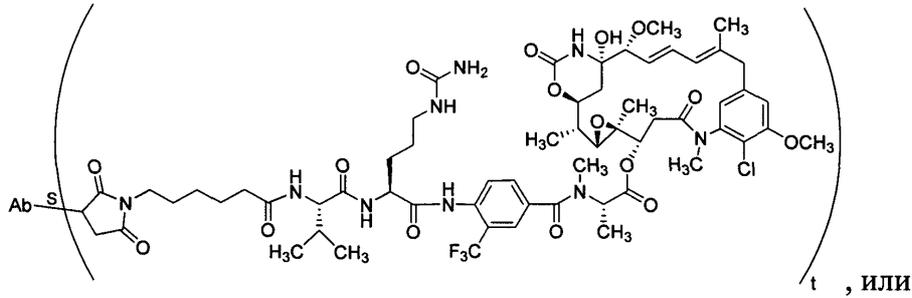
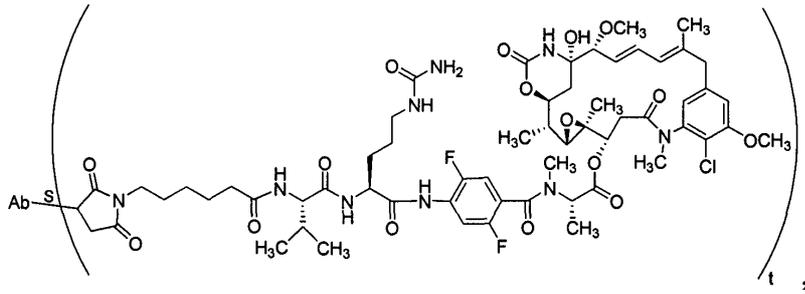
18. Соединение по п.15, где соединение представляет собой:







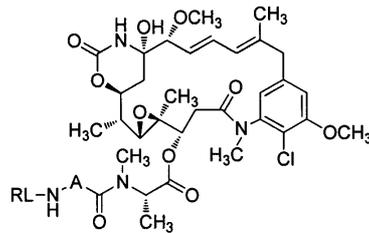




20. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-13 или 14-19 и фармацевтически приемлемый инертный наполнитель, для лечения пролиферативного расстройства.

21. Способ лечения пролиферативного расстройства, заключающийся в приеме пациентом с таким расстройством терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-13 или 14-19.

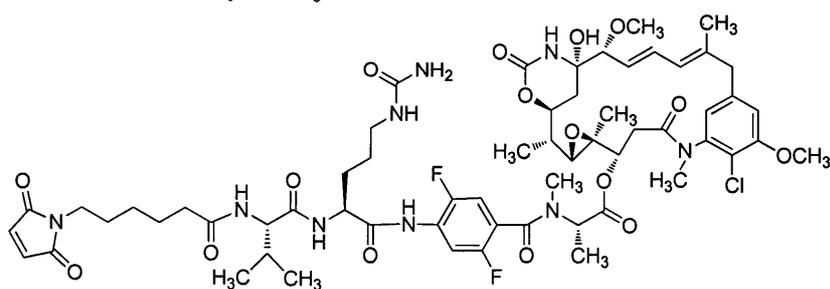
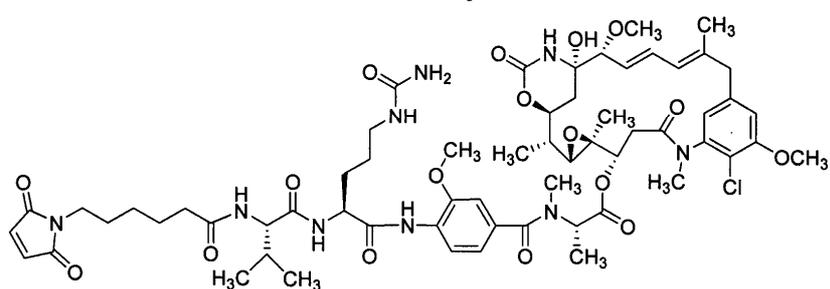
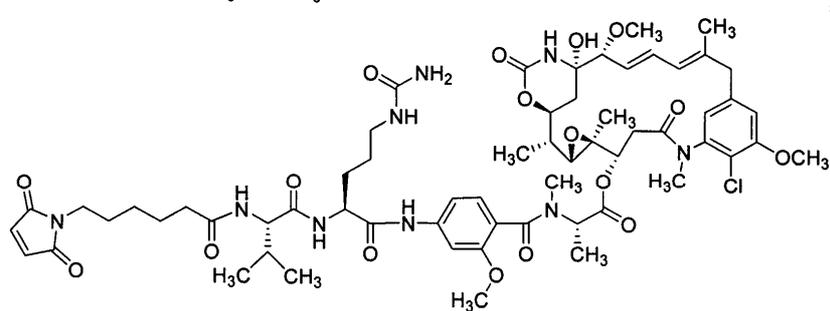
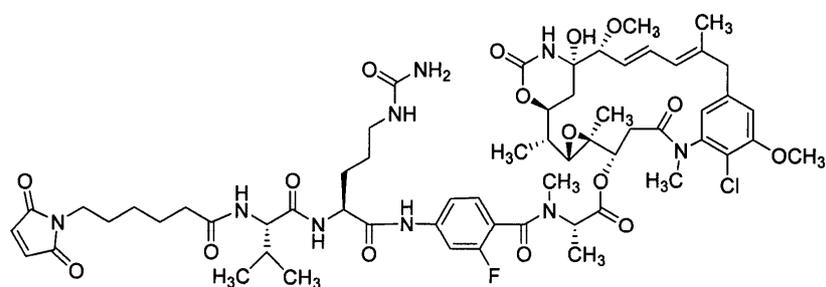
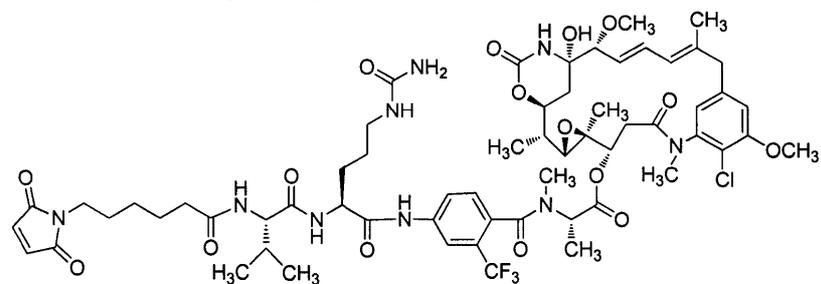
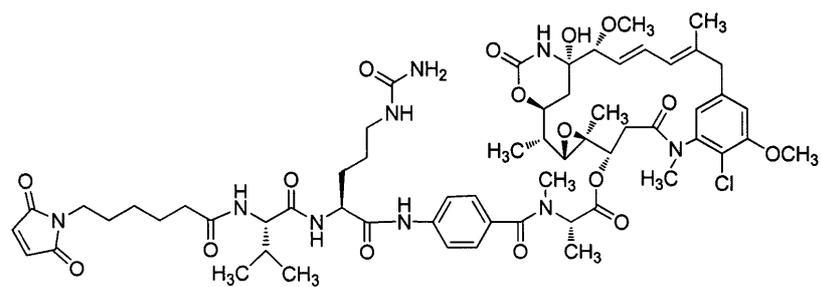
22. Соединение с формулой P1

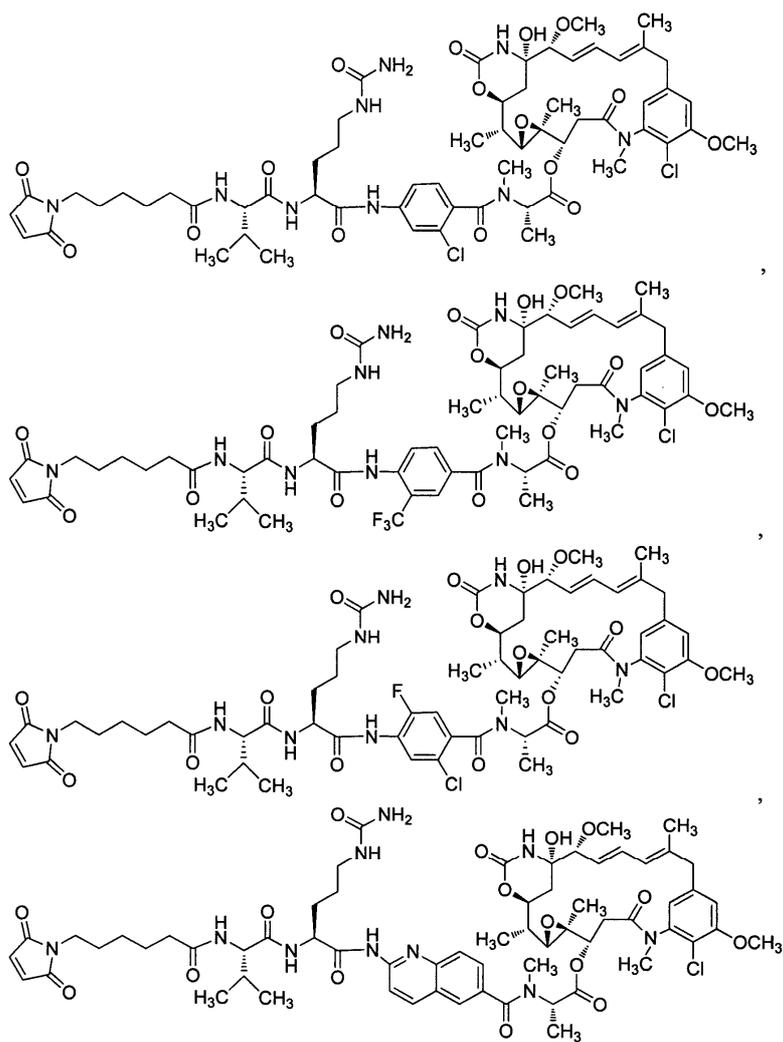


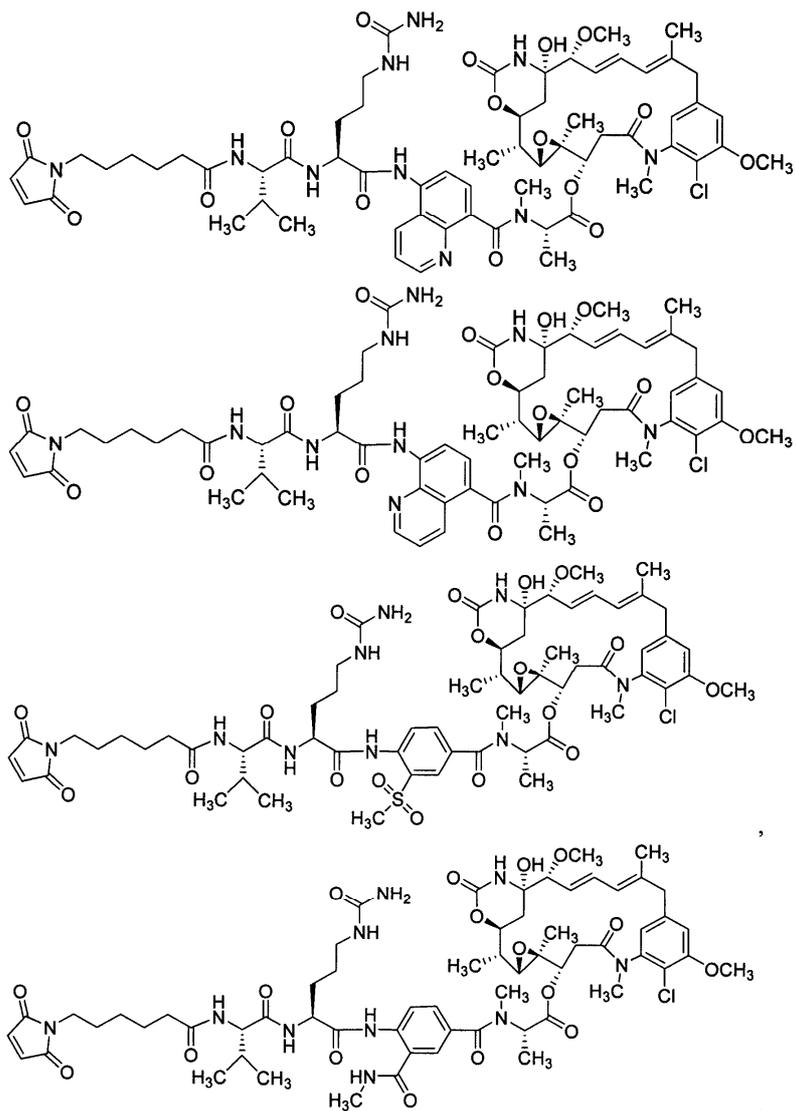
P1

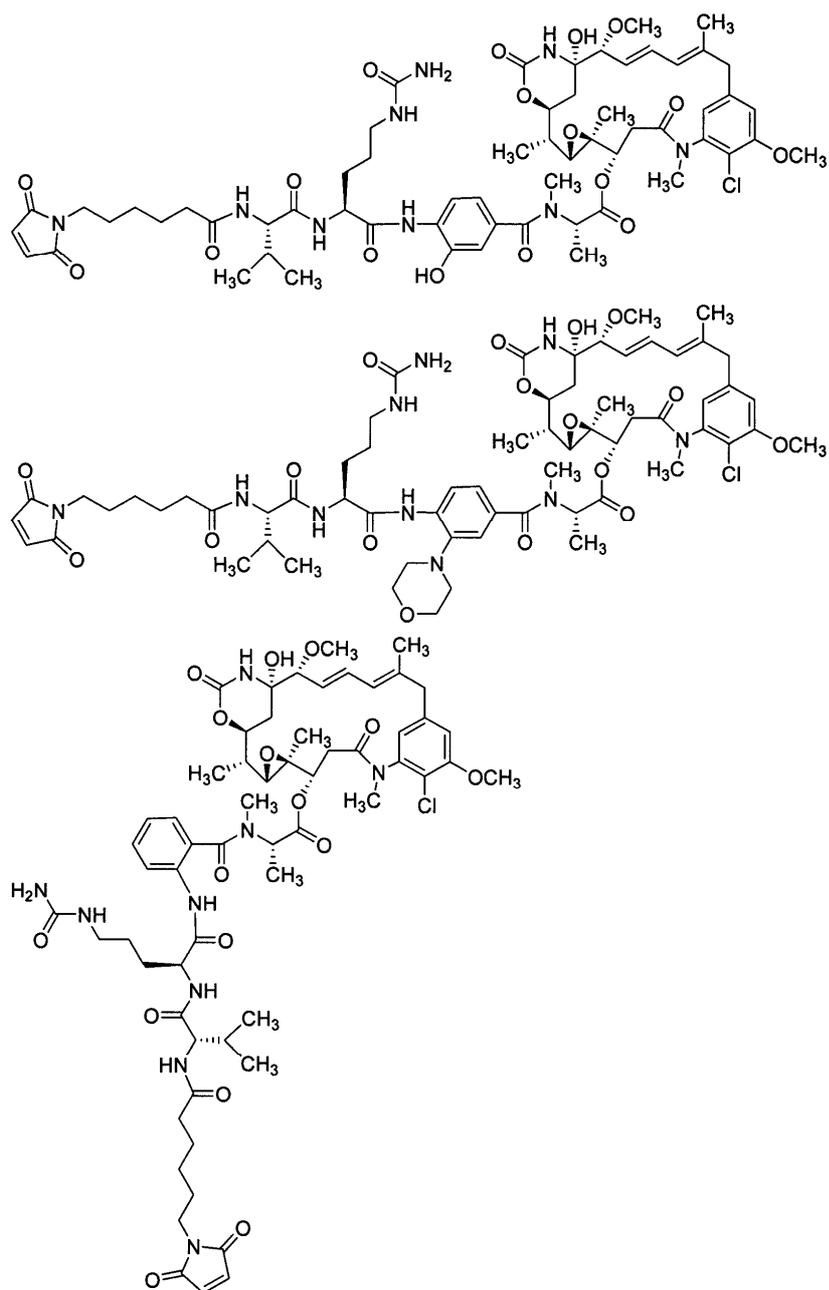
где A представляет собой арилен или гетероарилен и RL представляет собой реактивный линкер.

23. Соединение по п.22, где соединение представляет собой:





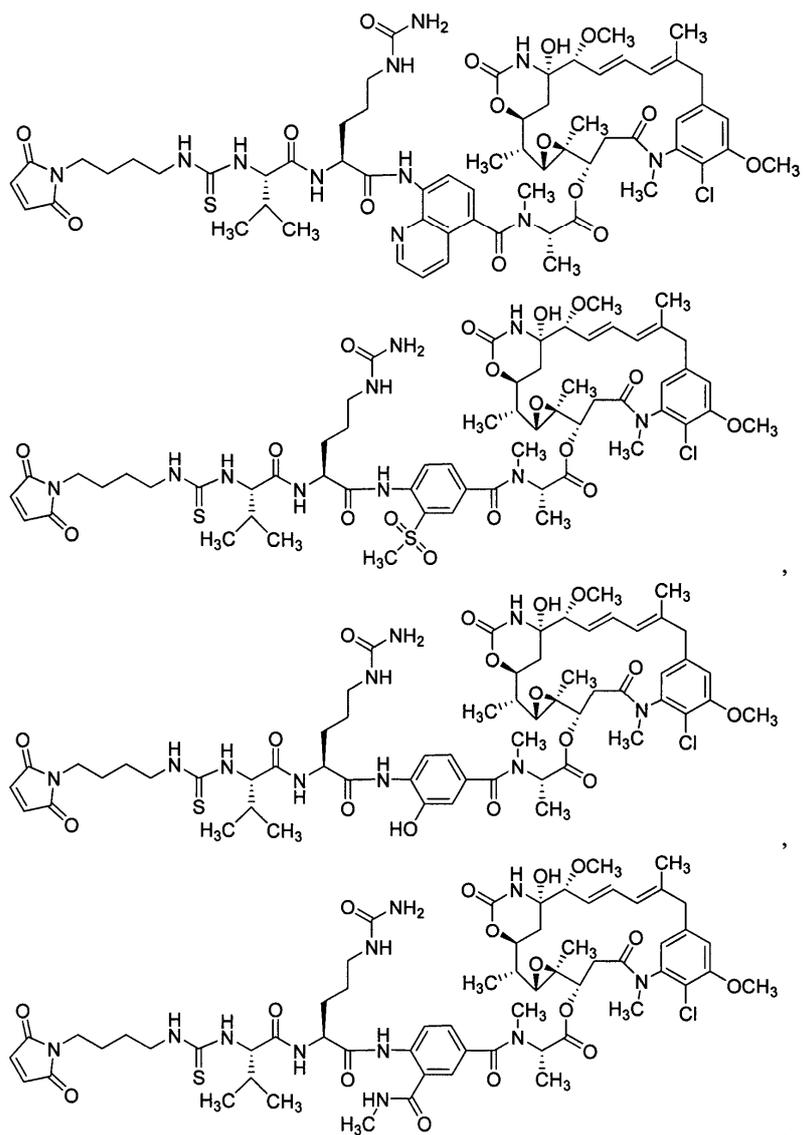




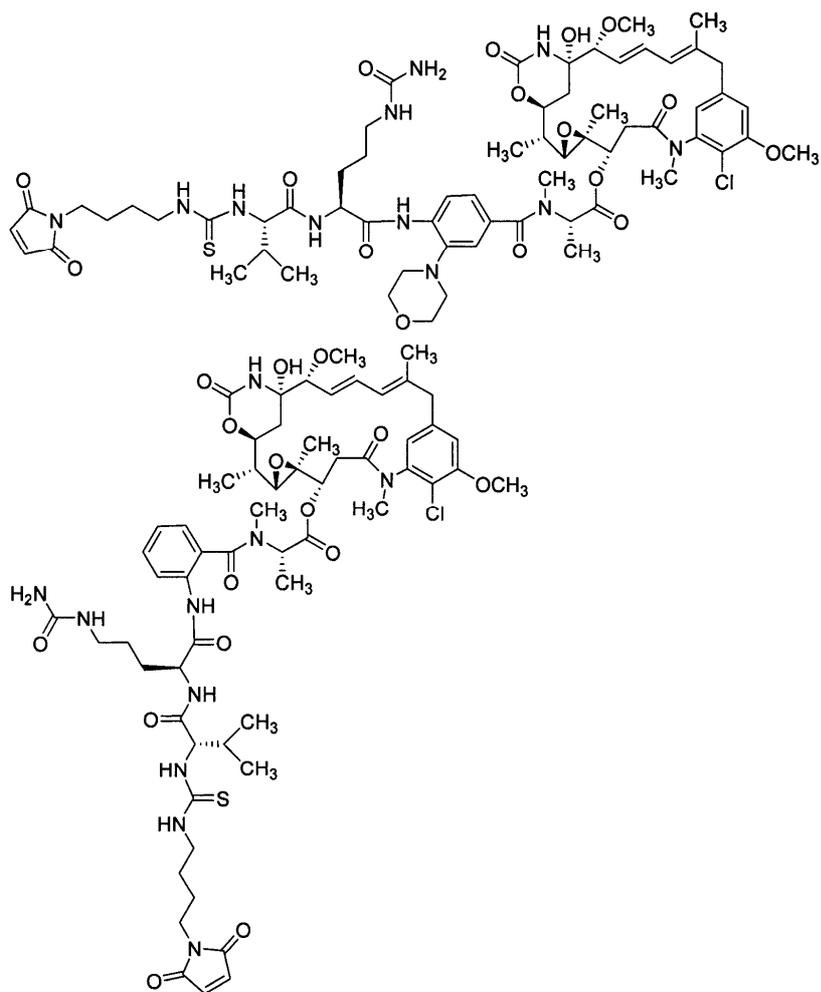


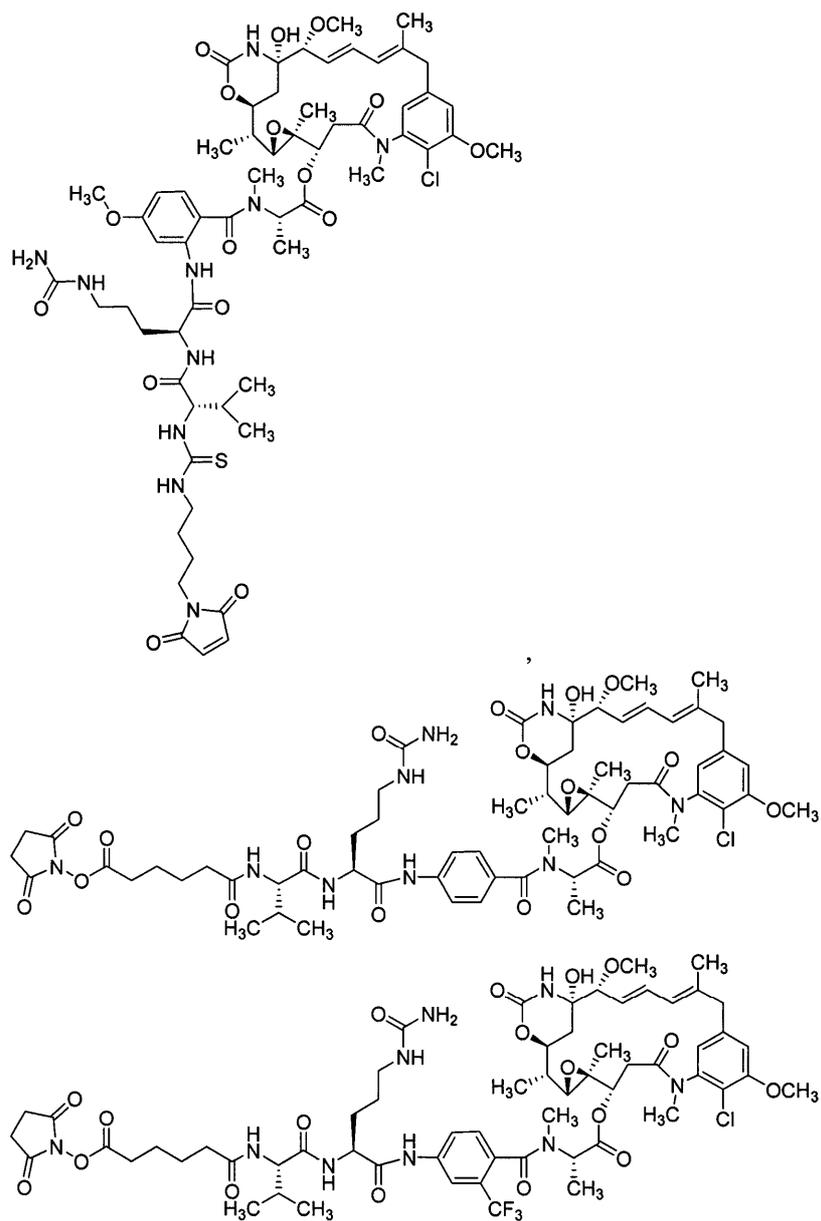


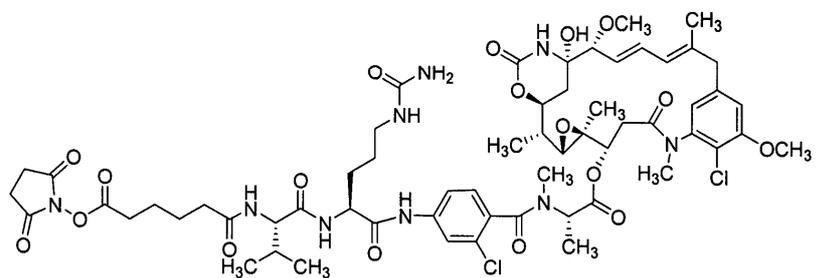
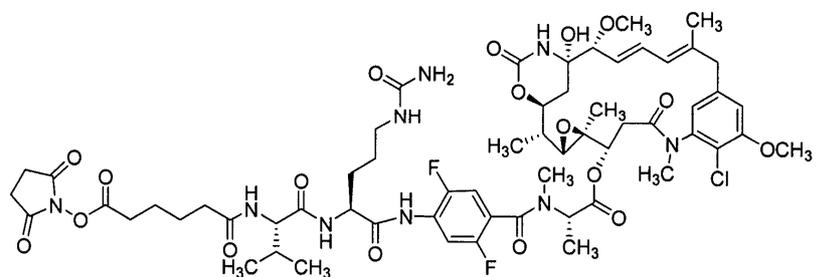
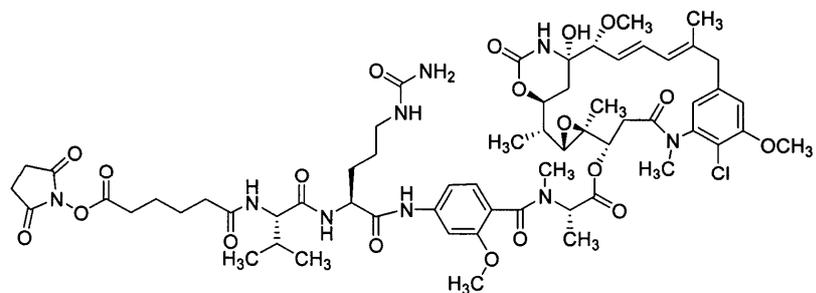
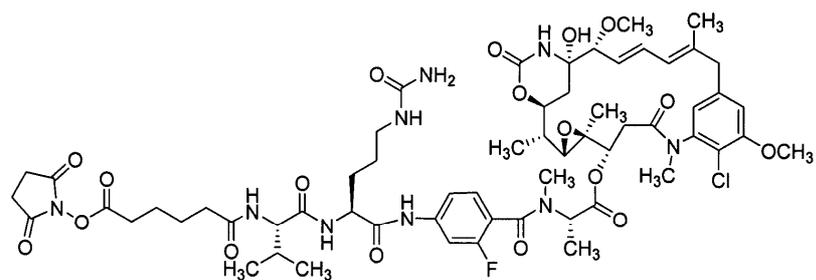


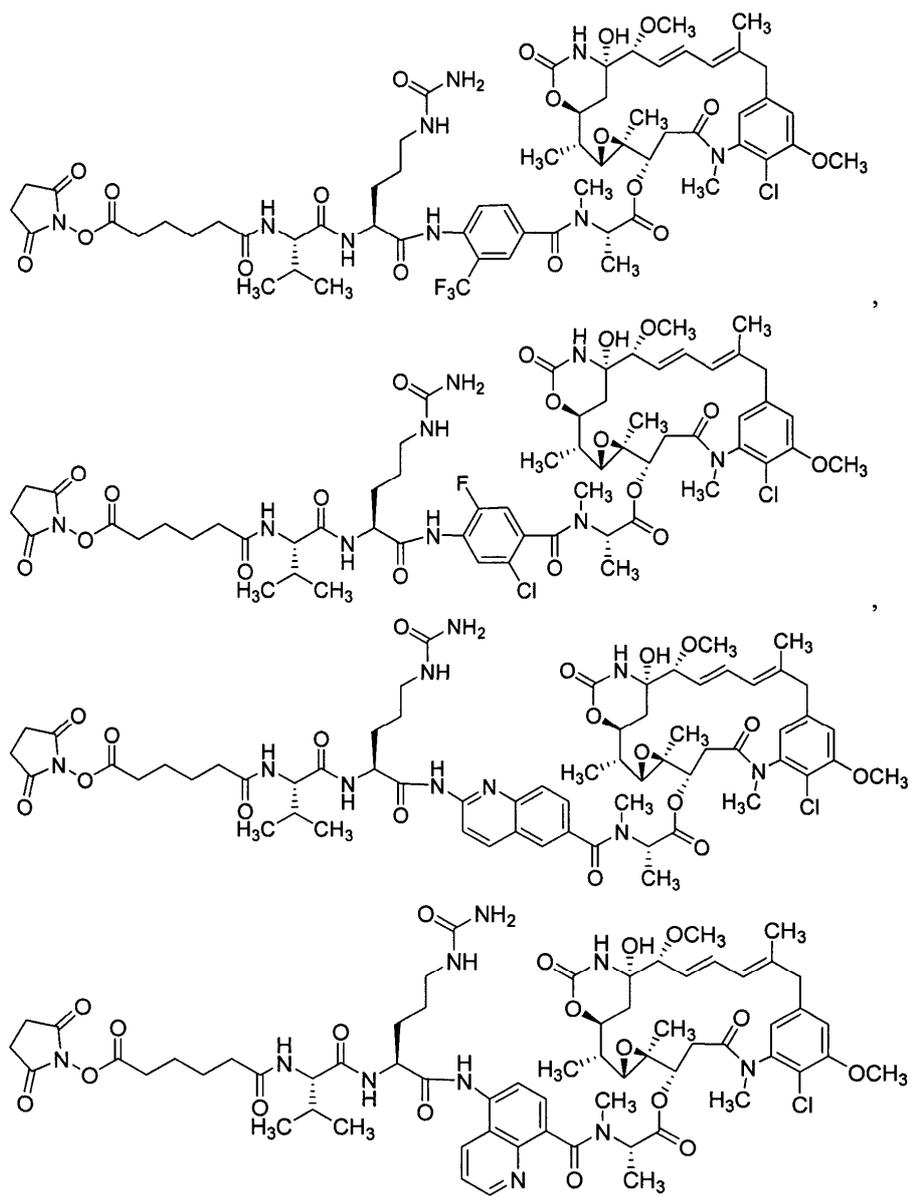


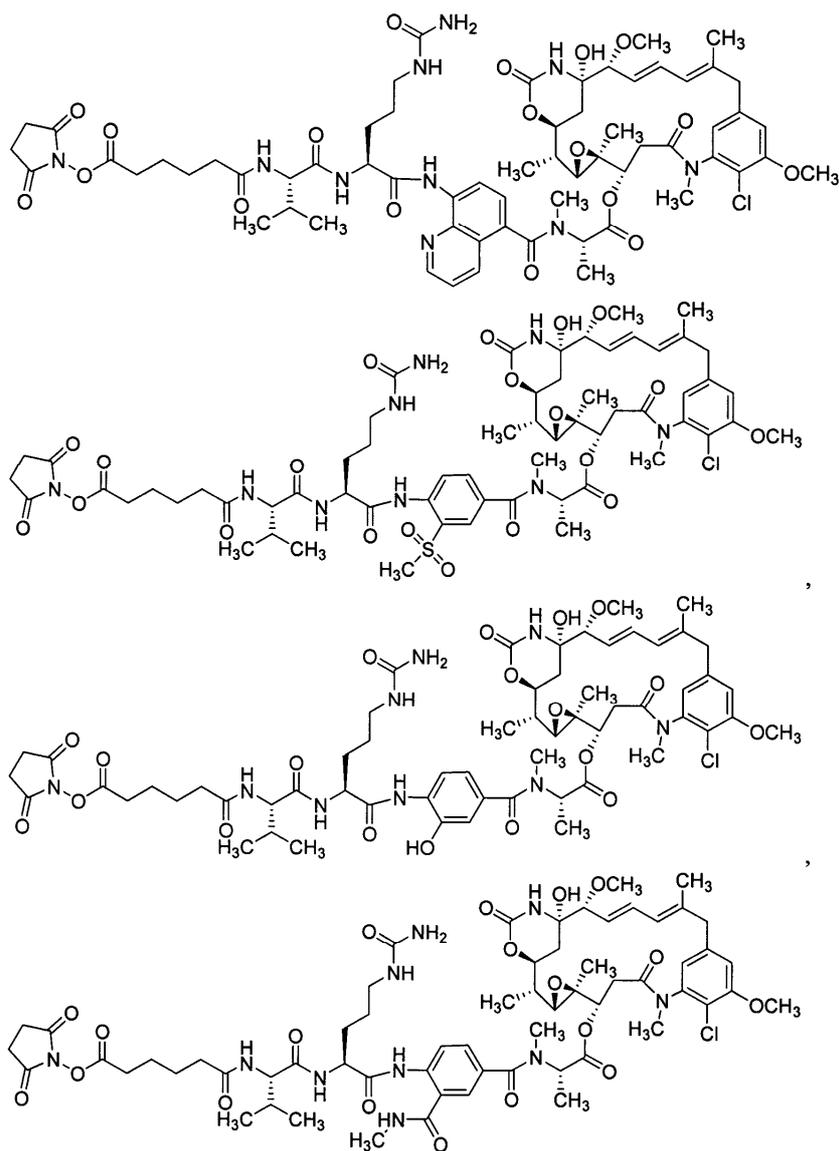
034950

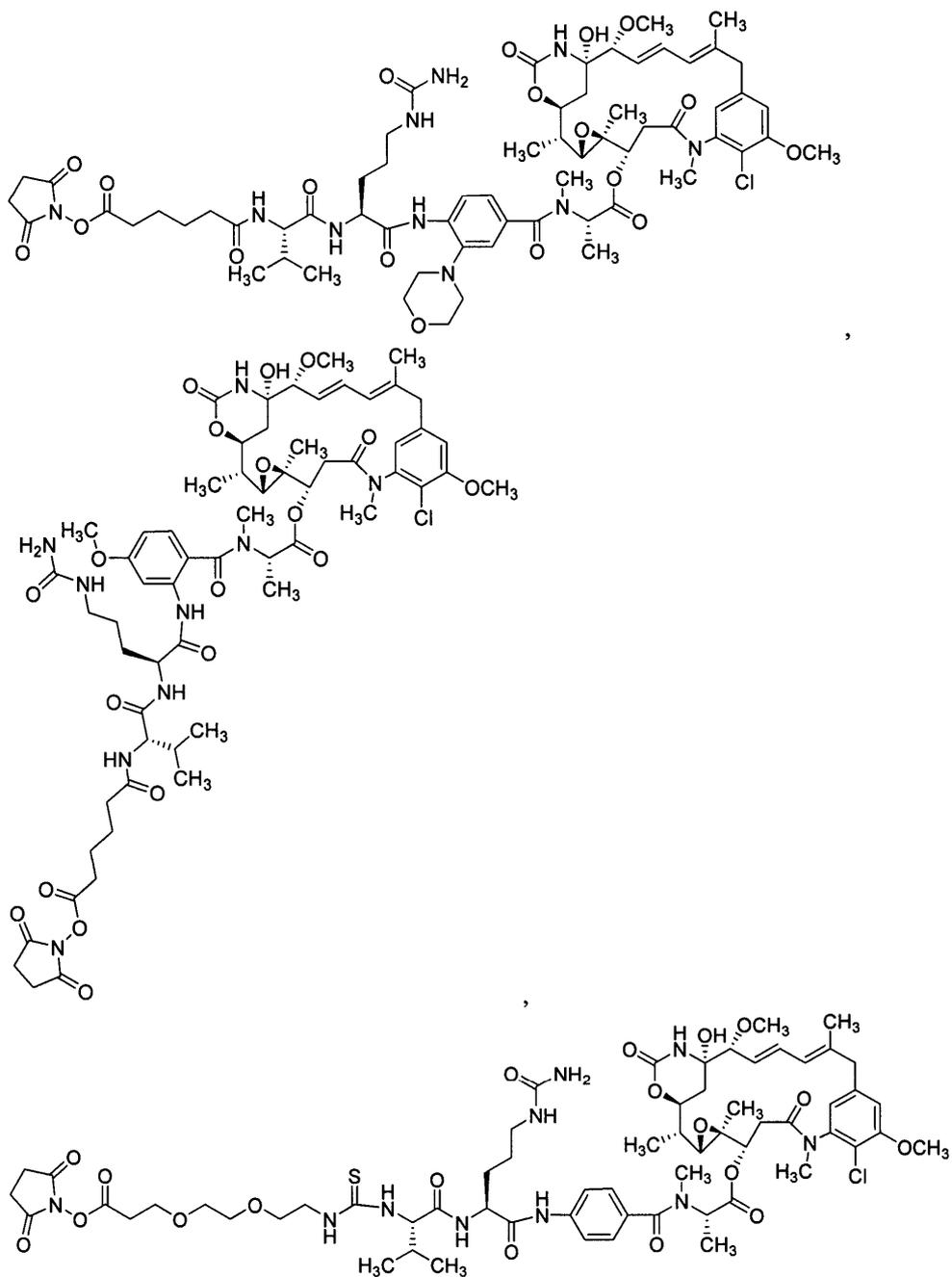


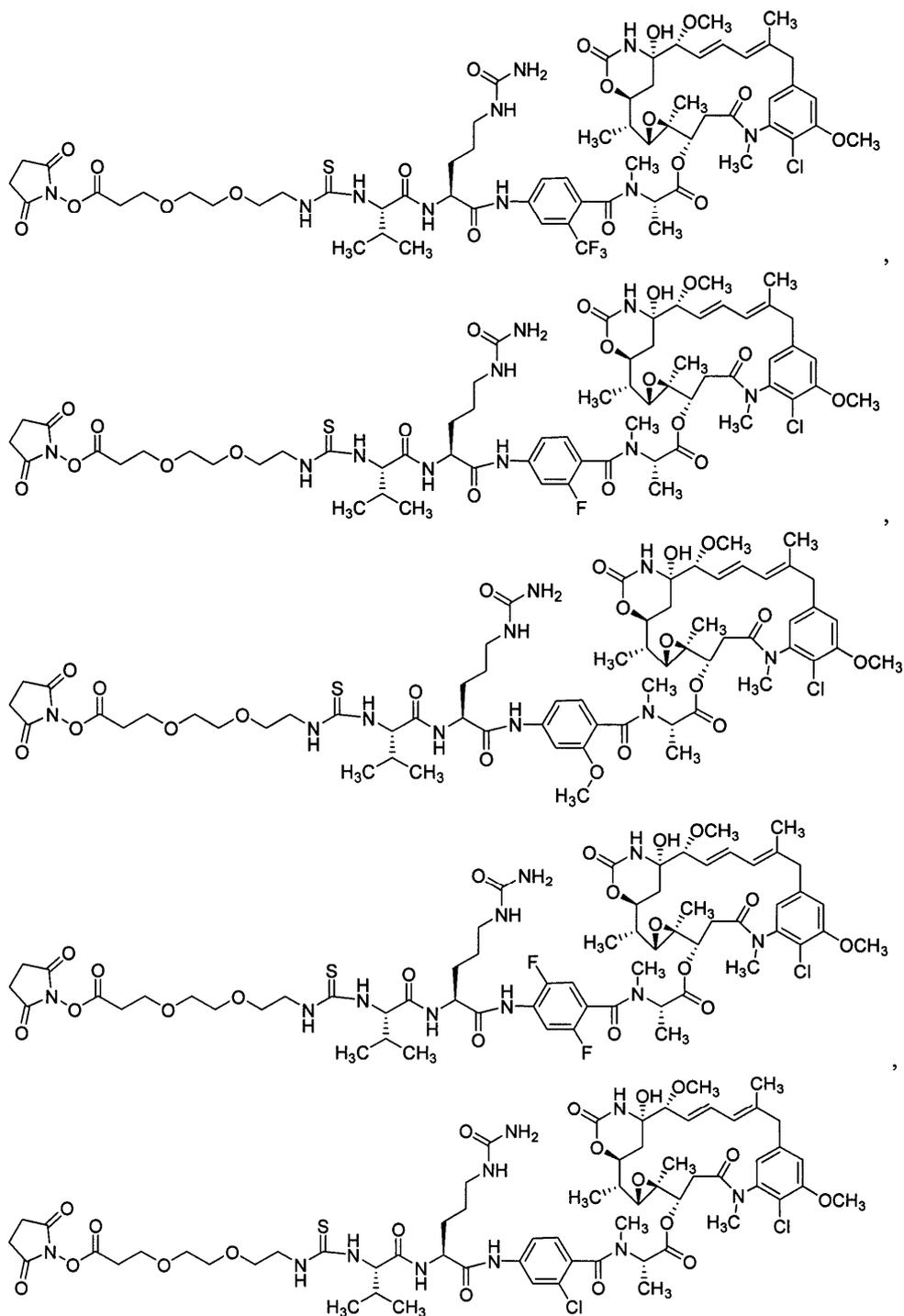


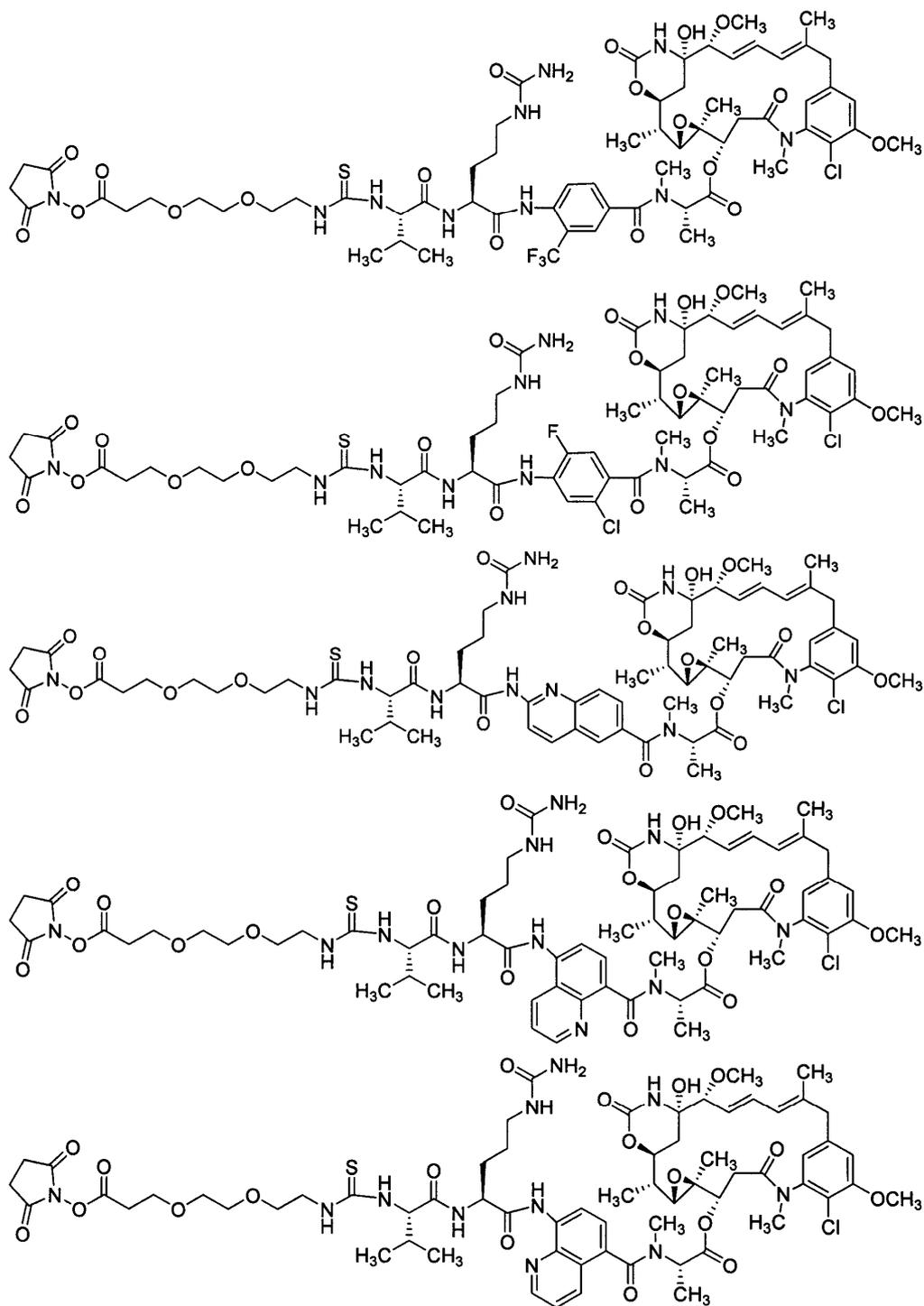






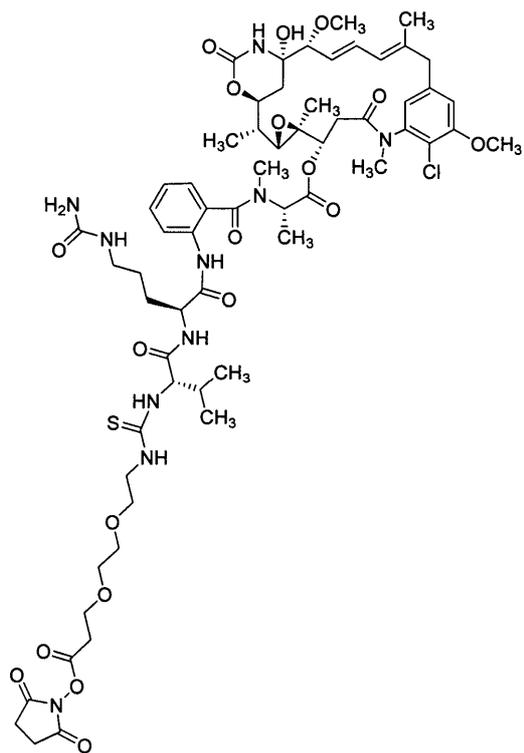




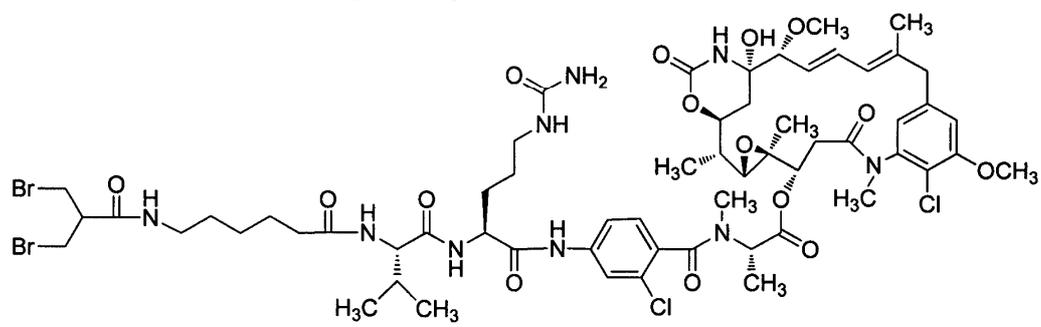
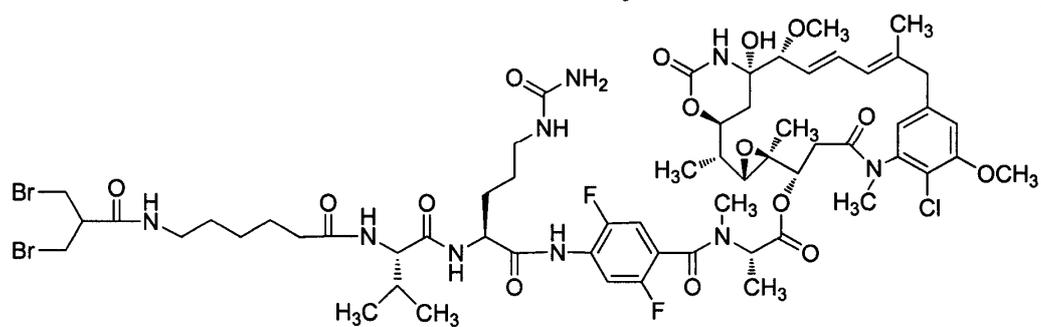
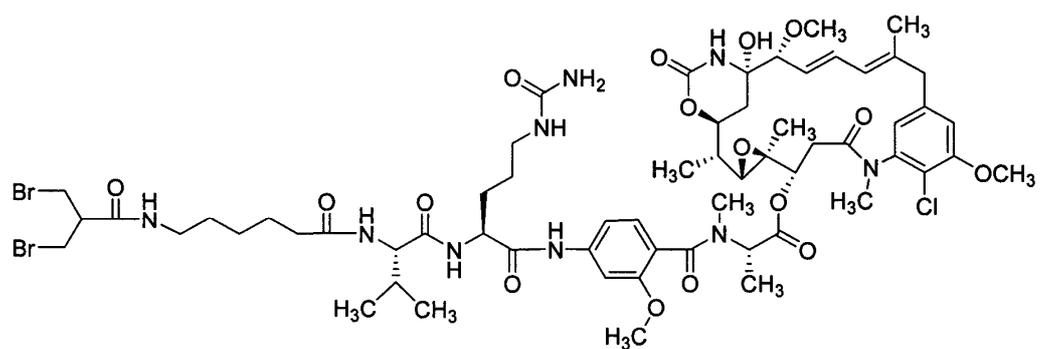
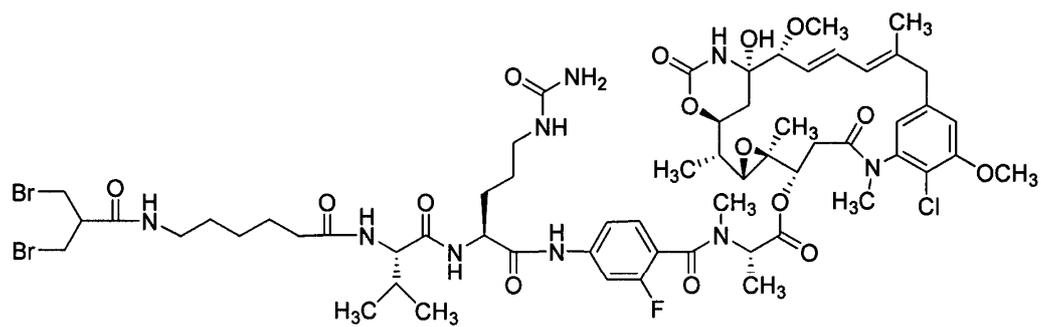


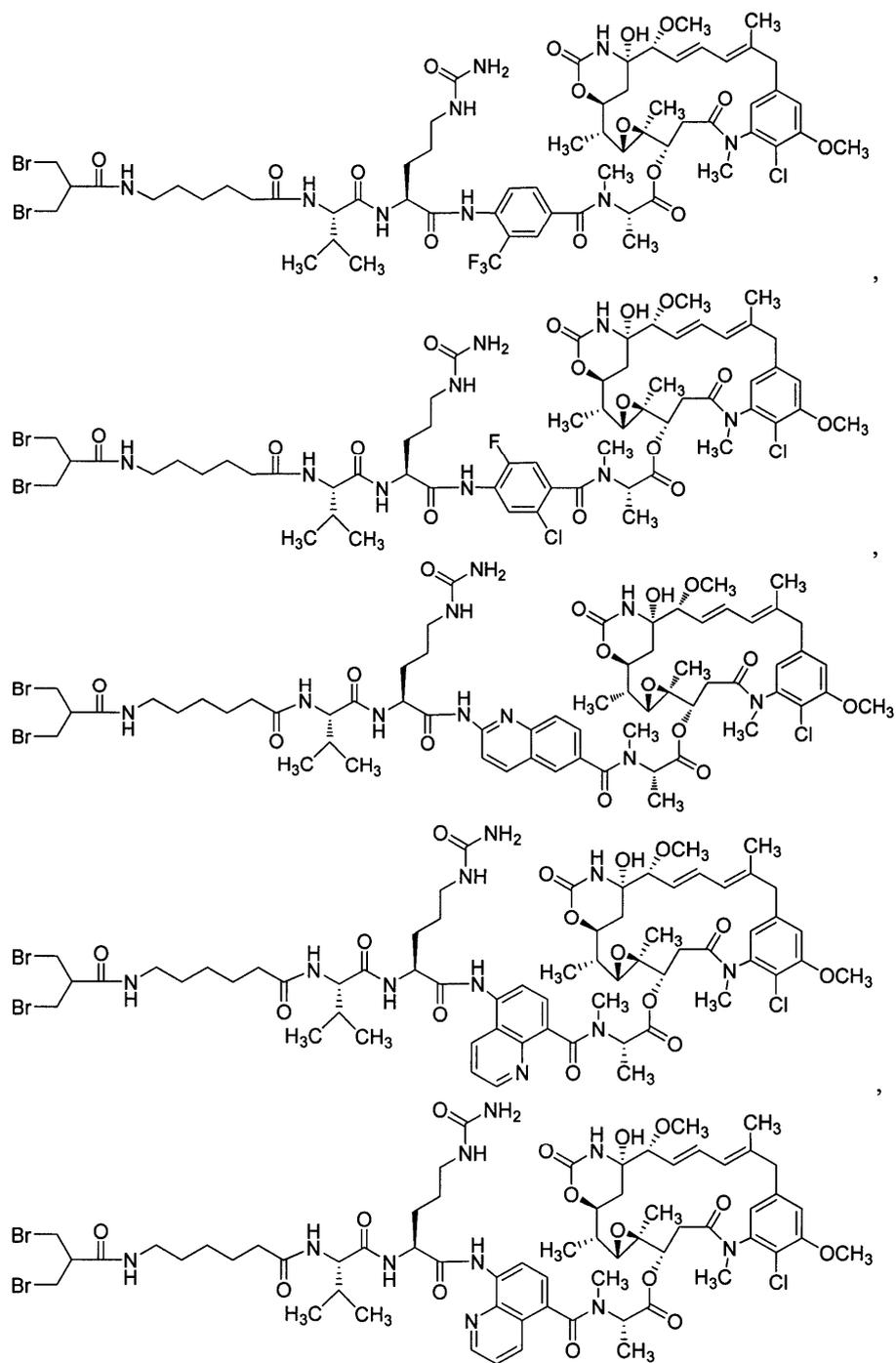


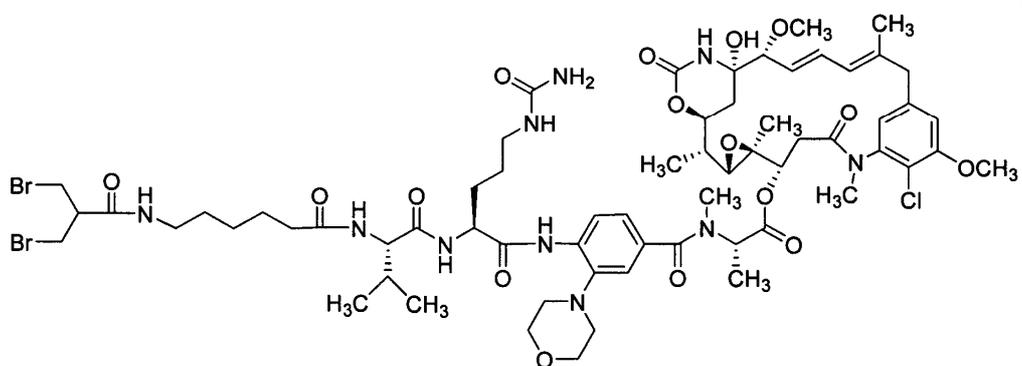
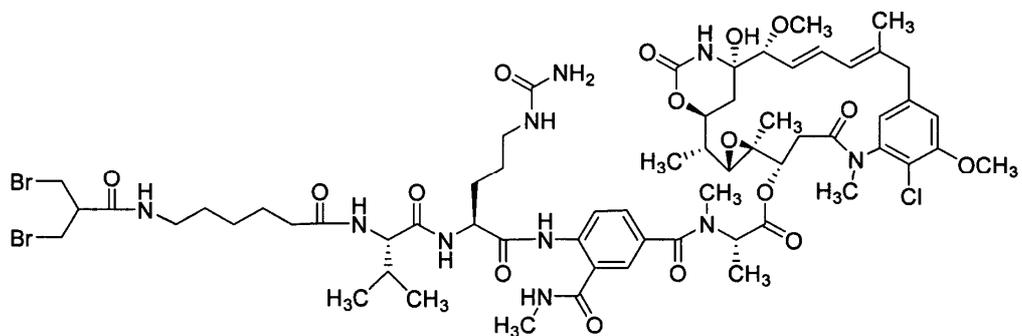
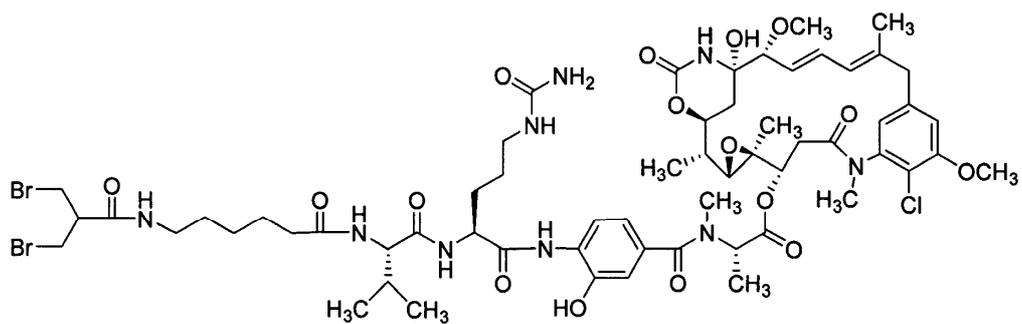
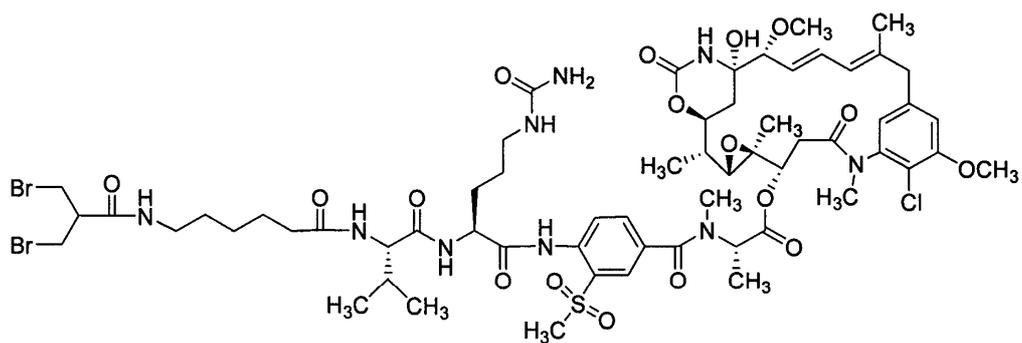
034950



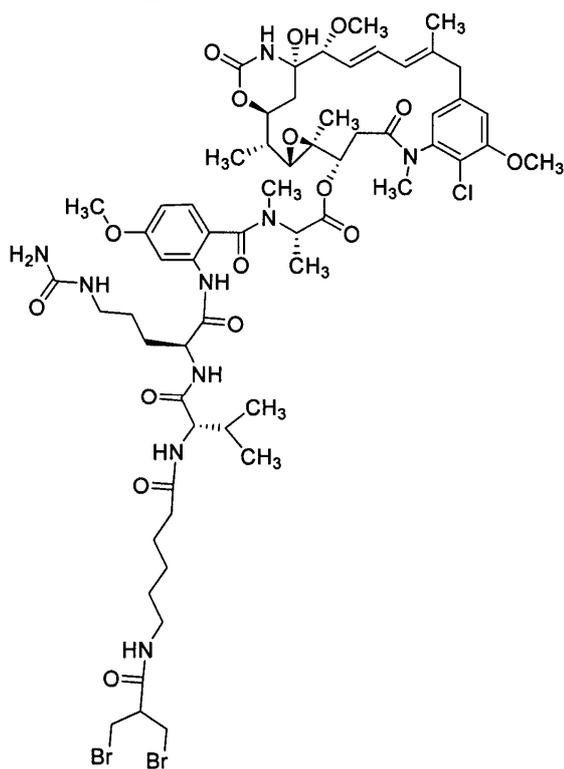
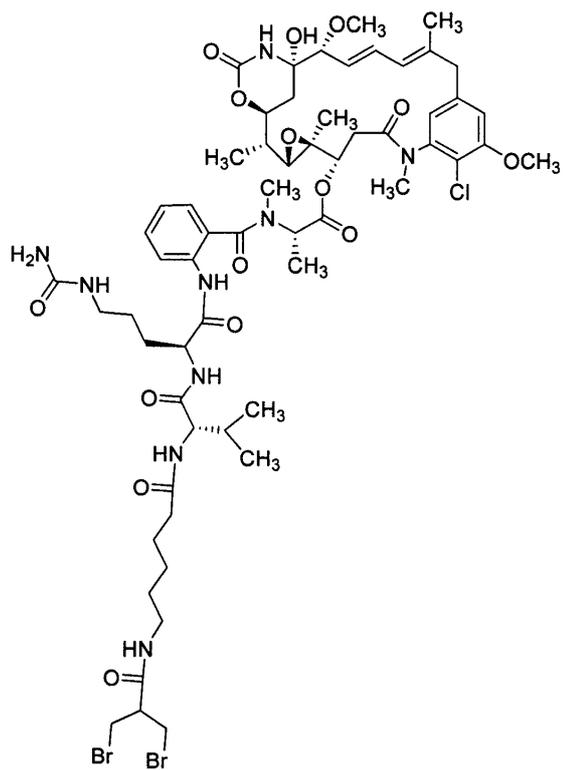


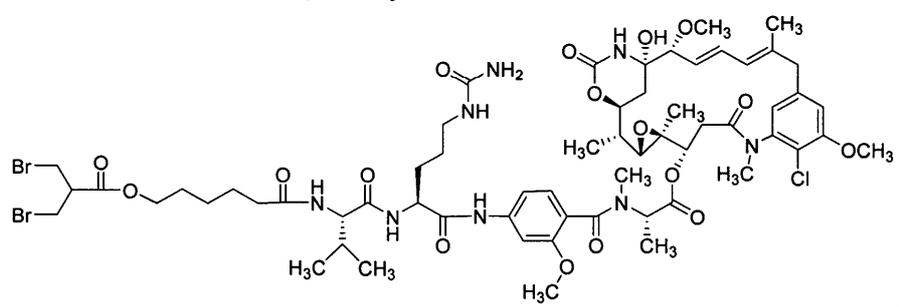
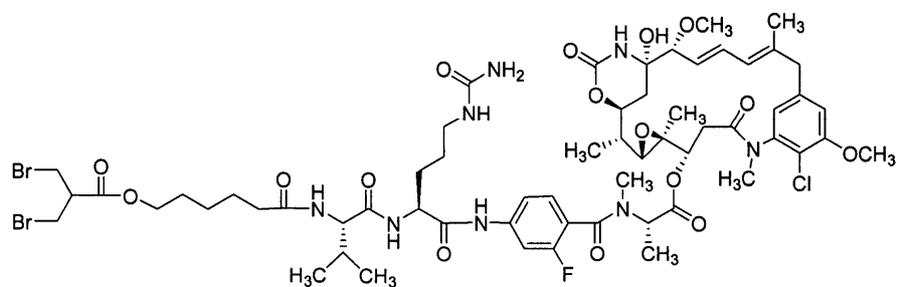
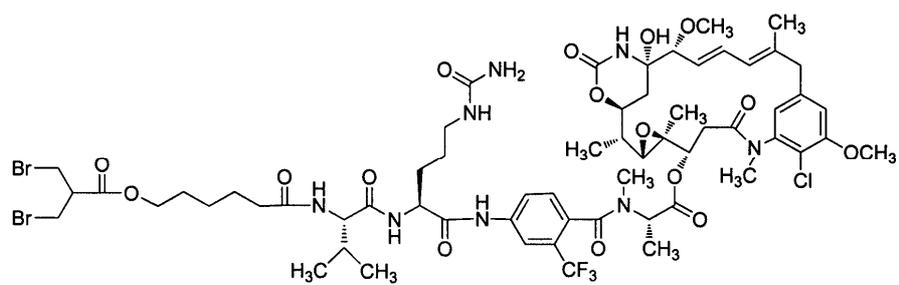
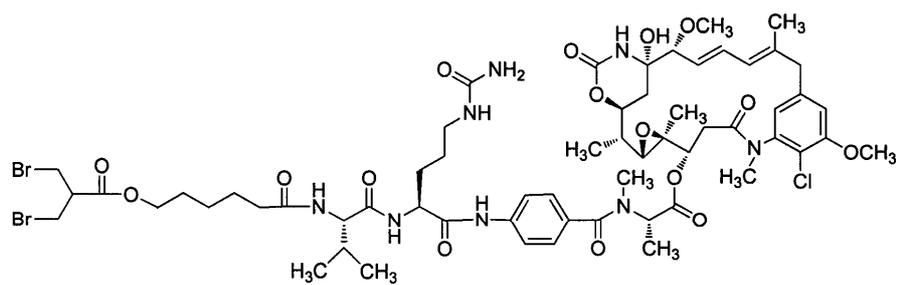


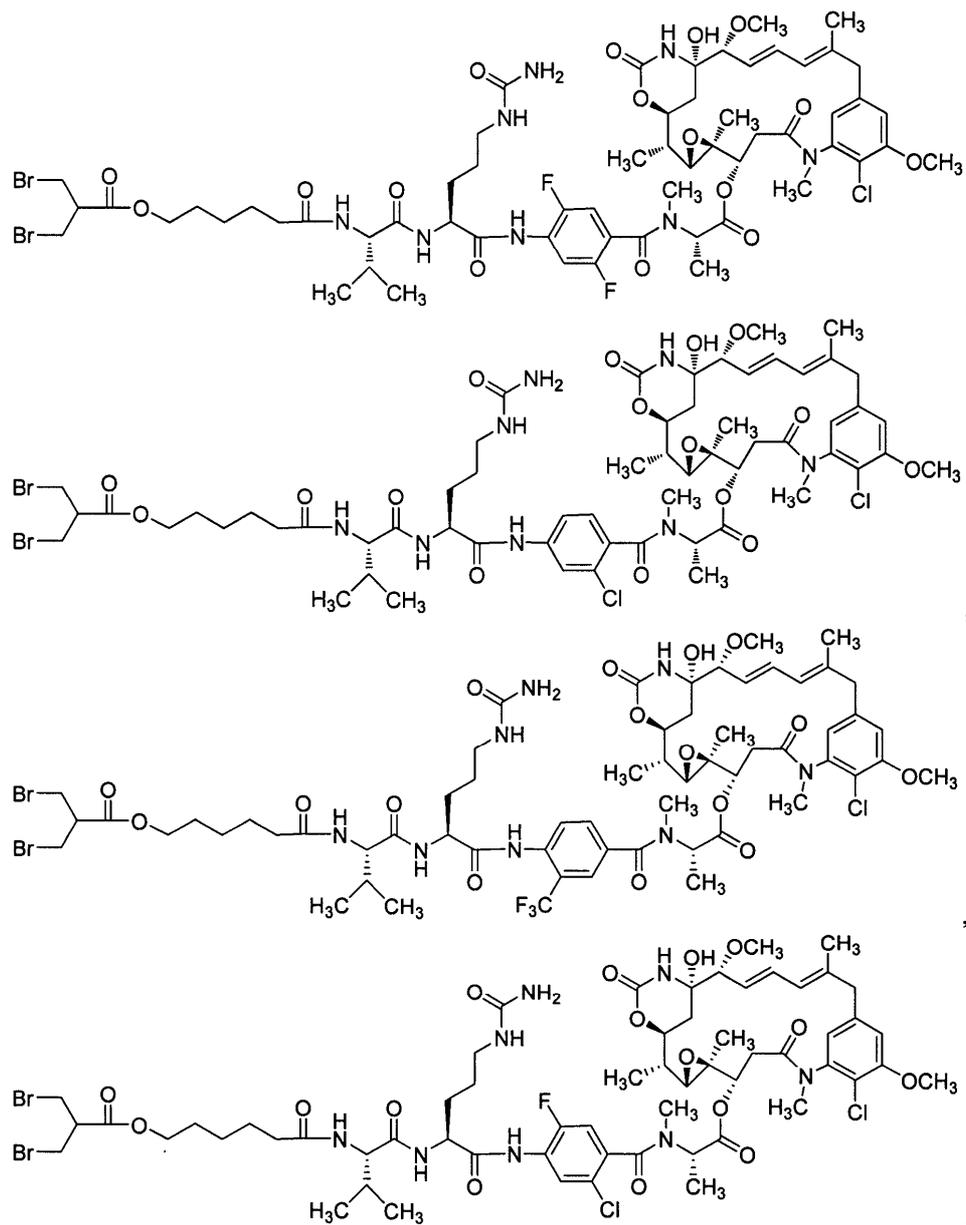


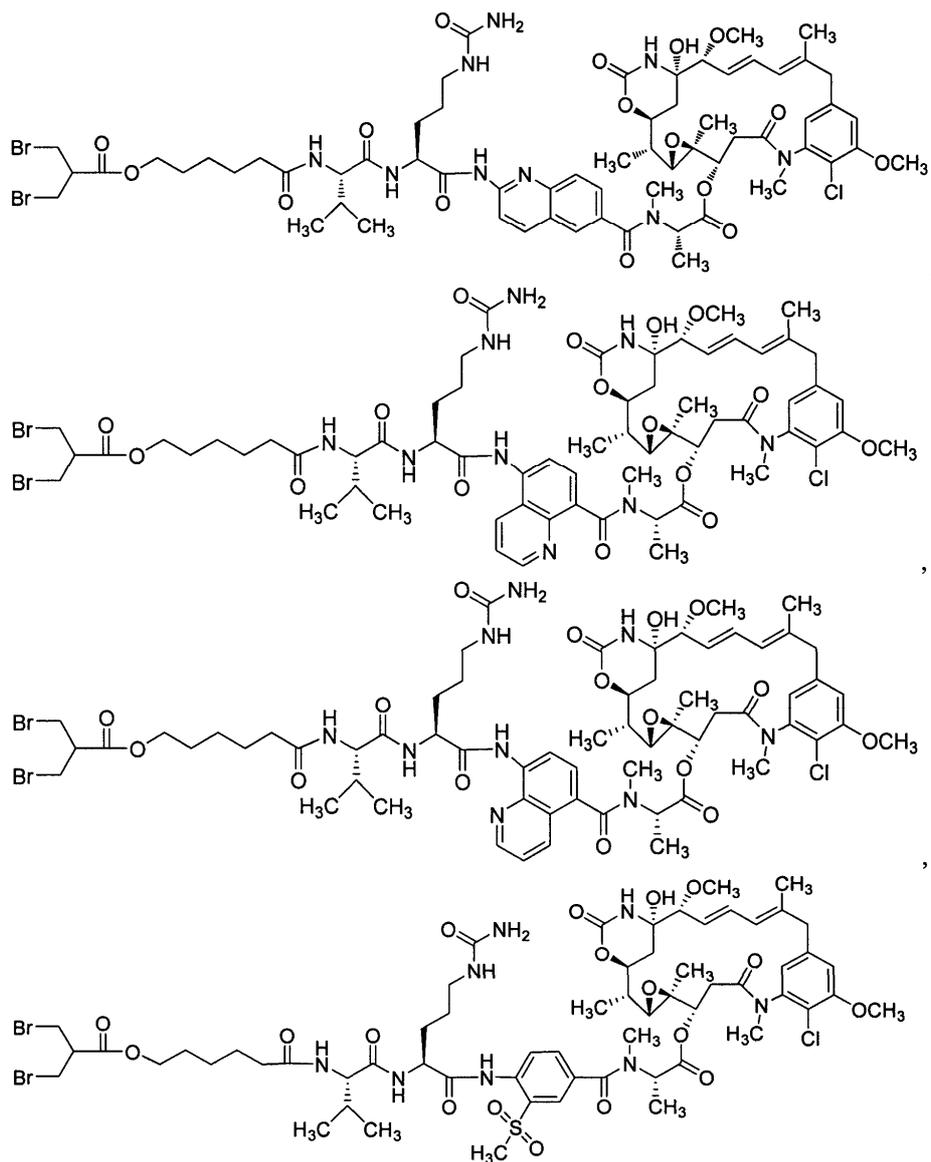


034950

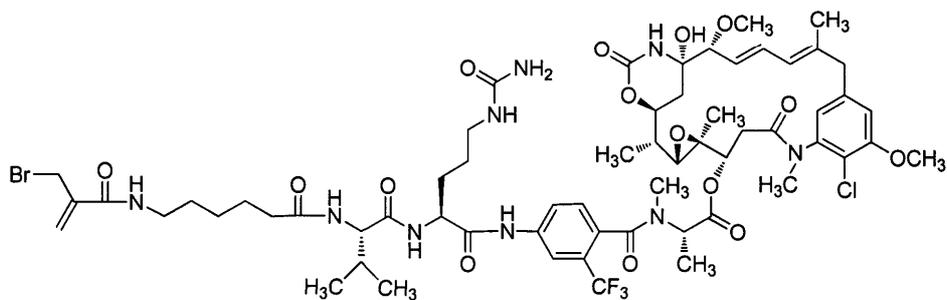
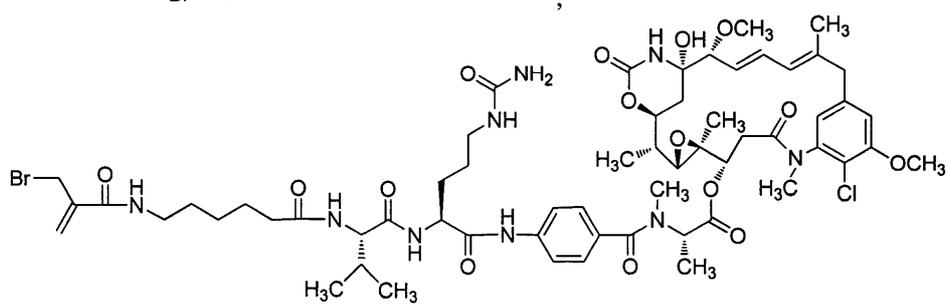
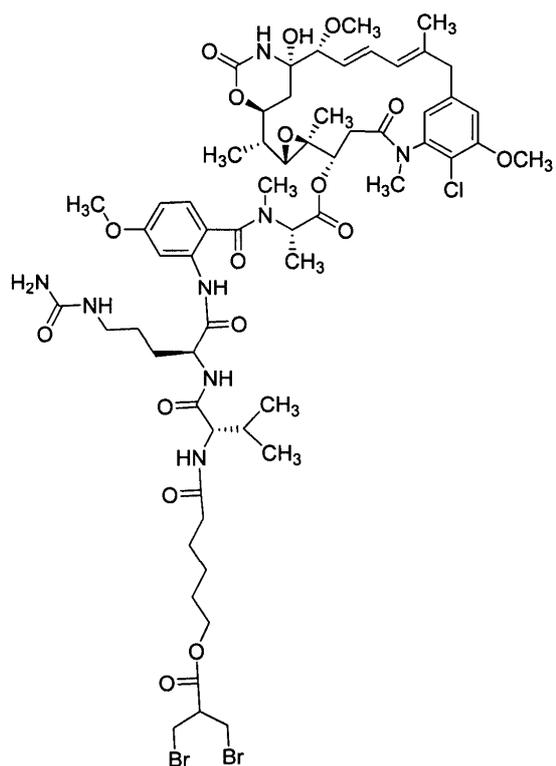


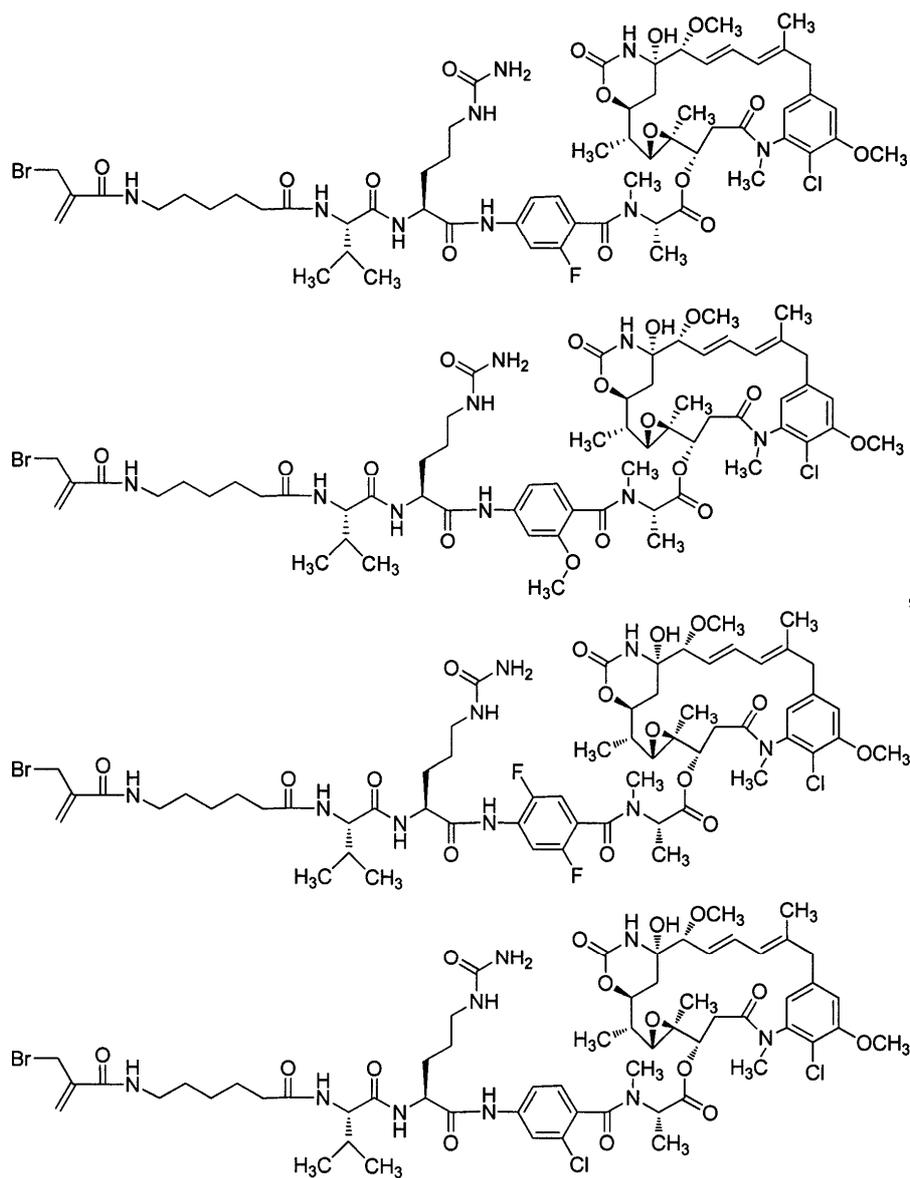


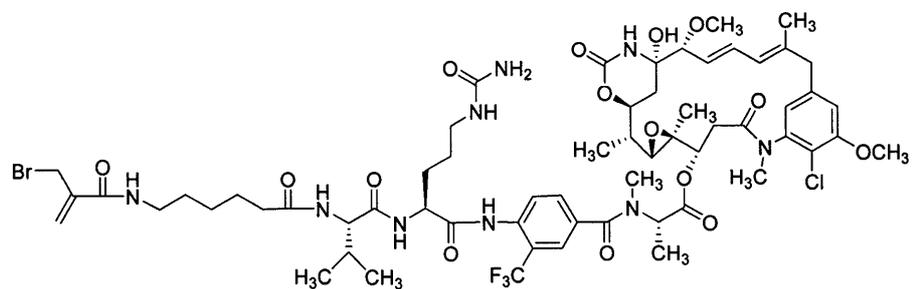
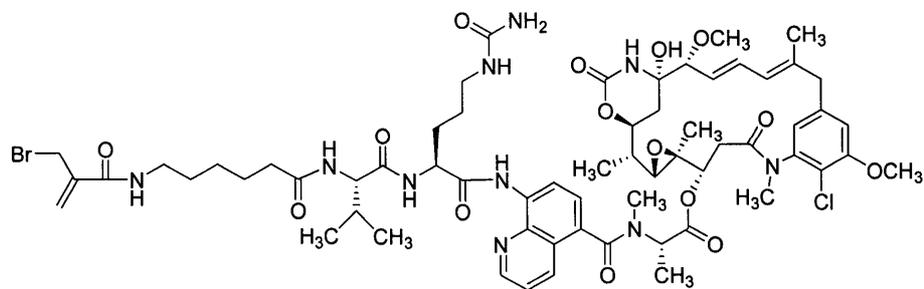
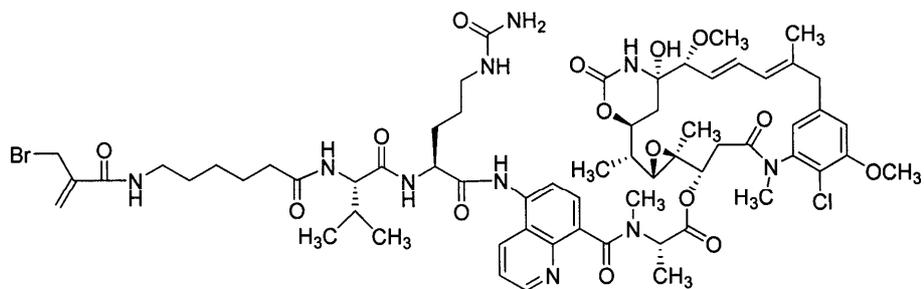
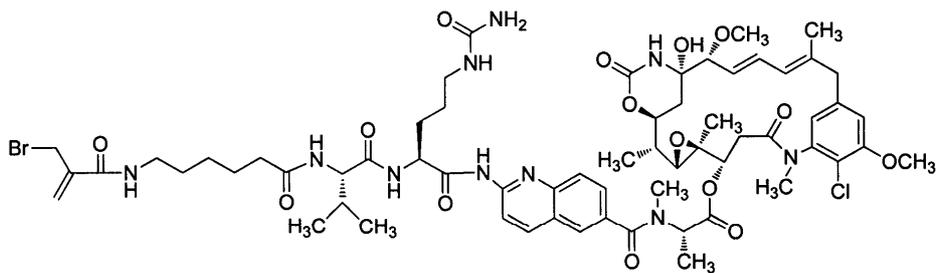


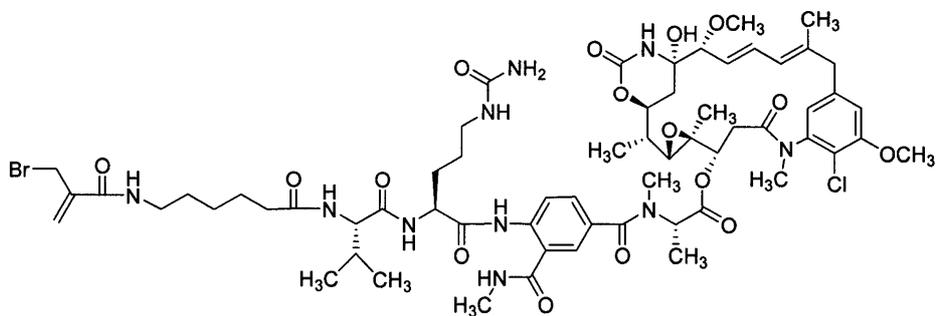
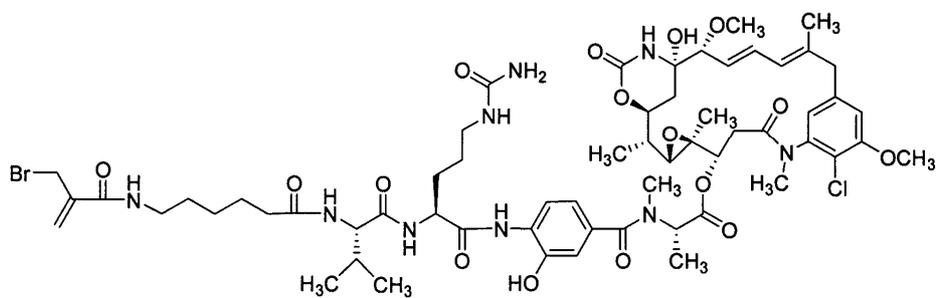
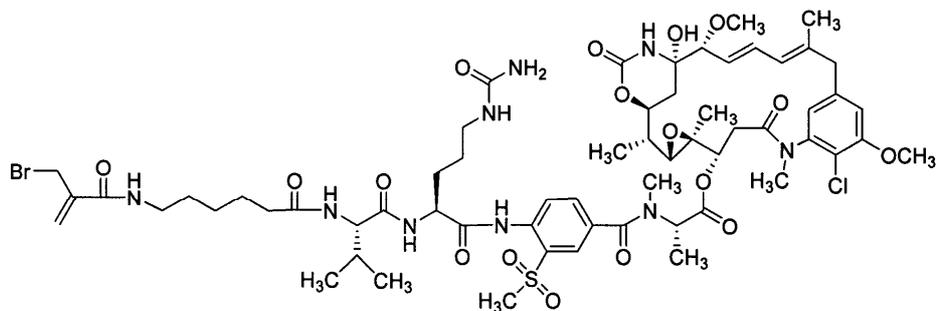
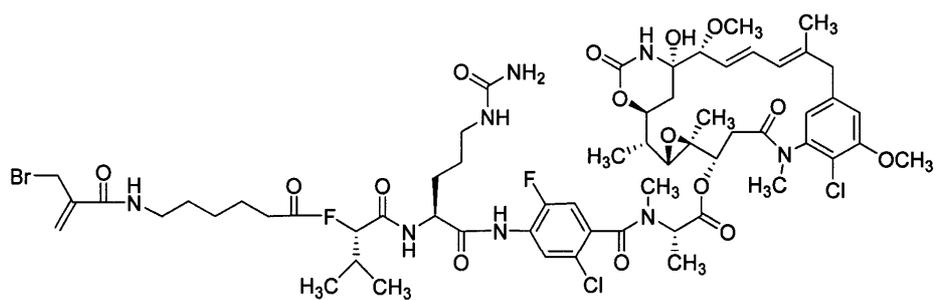




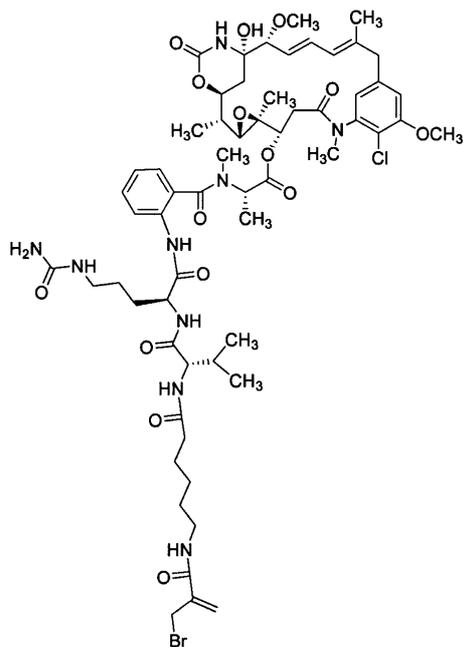
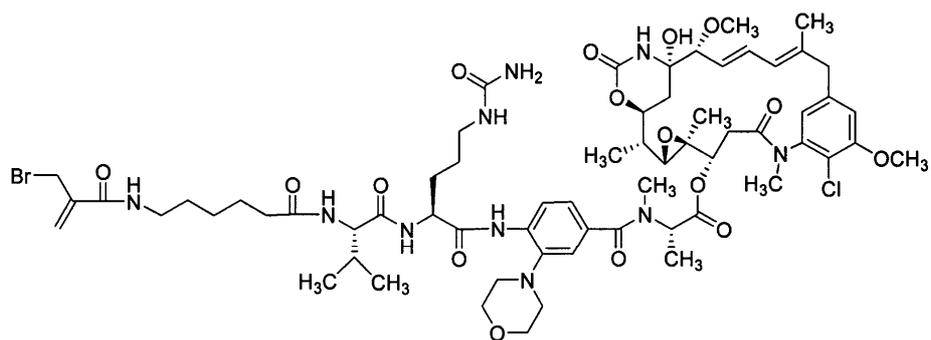


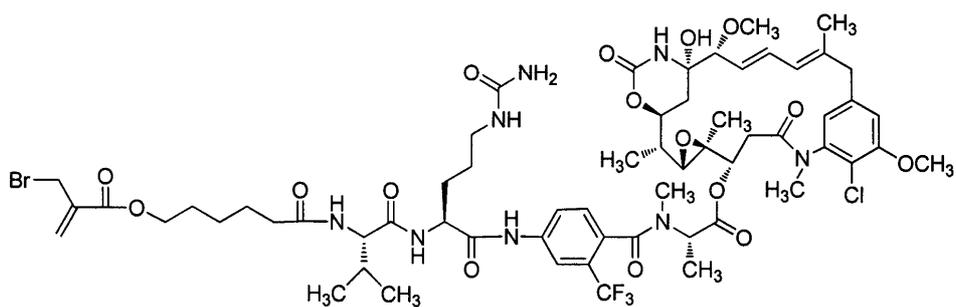
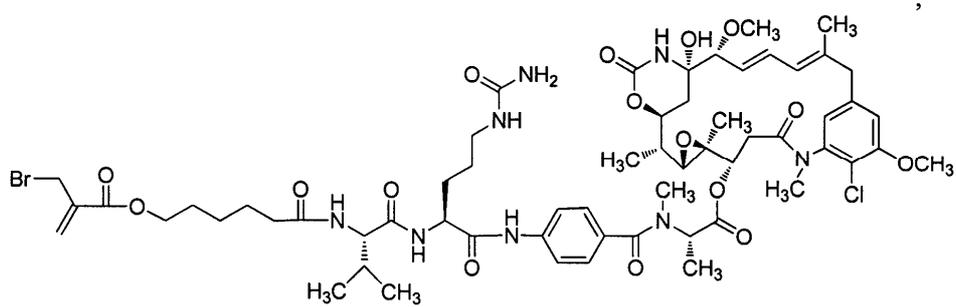
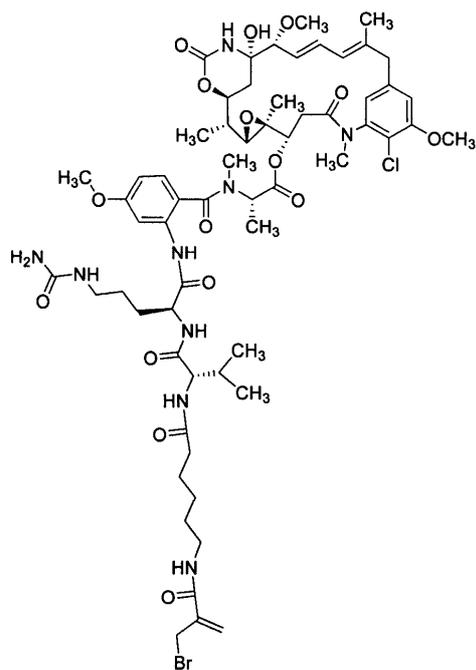


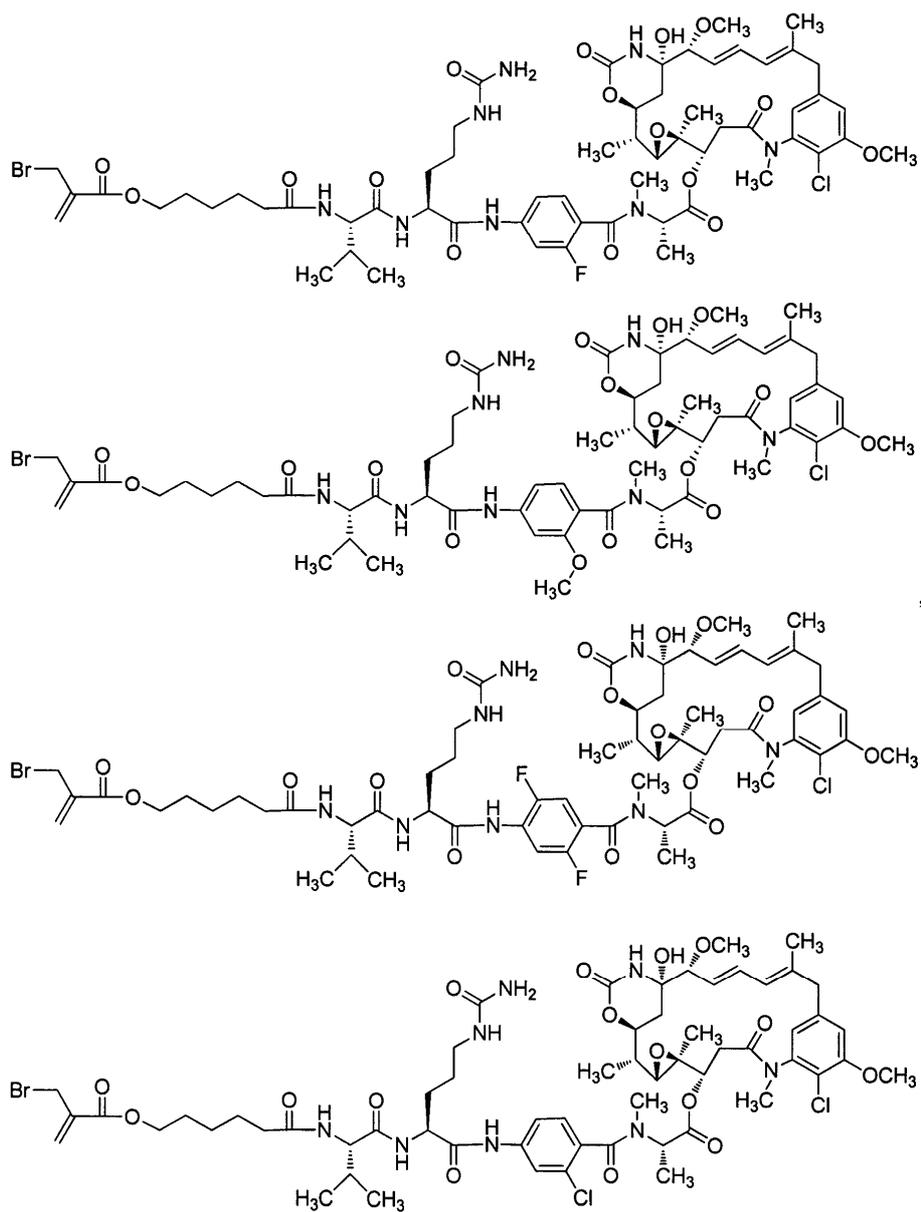


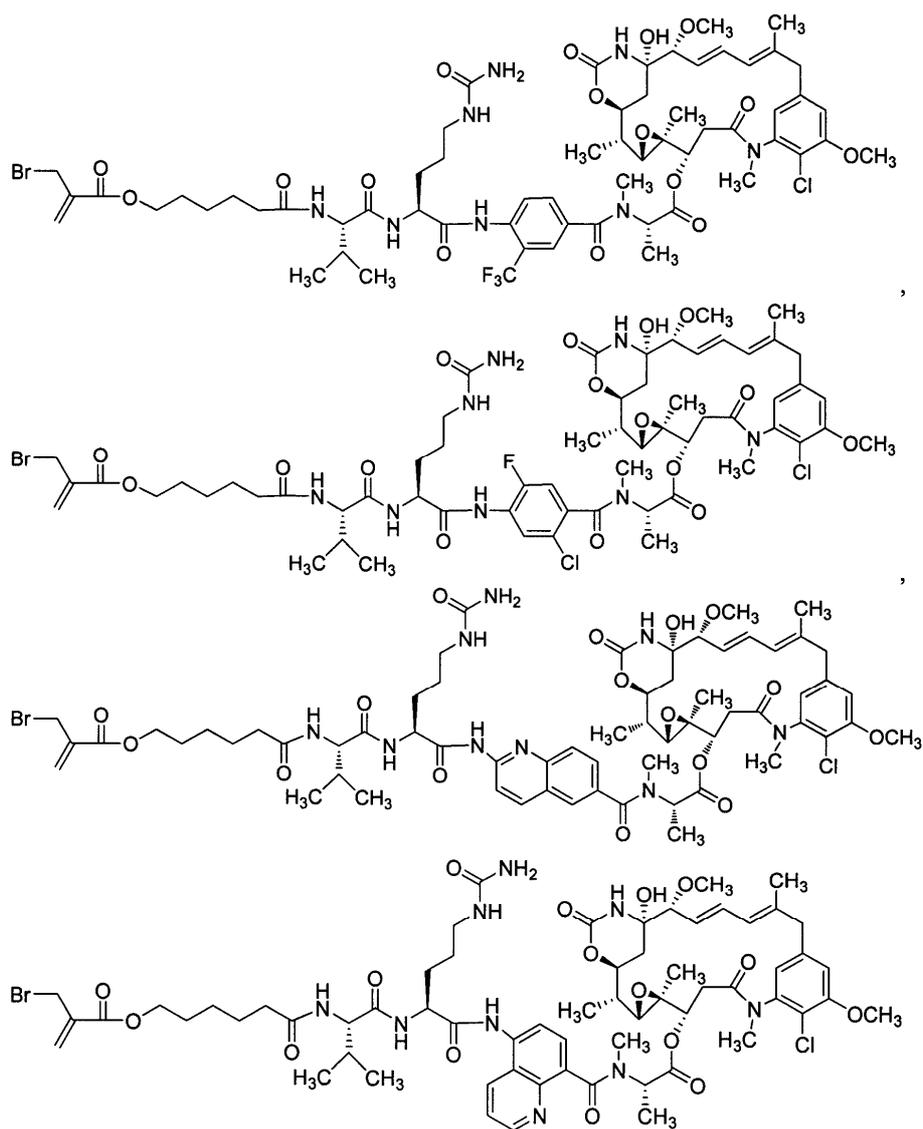


034950

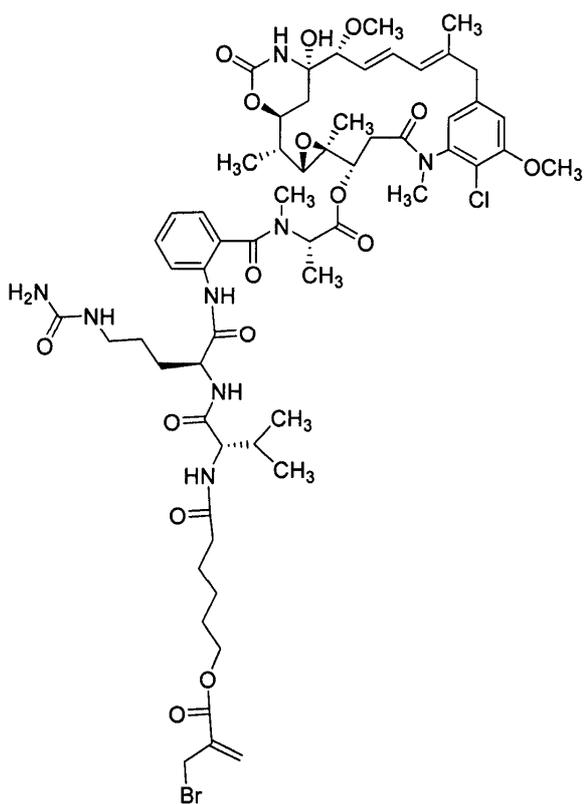
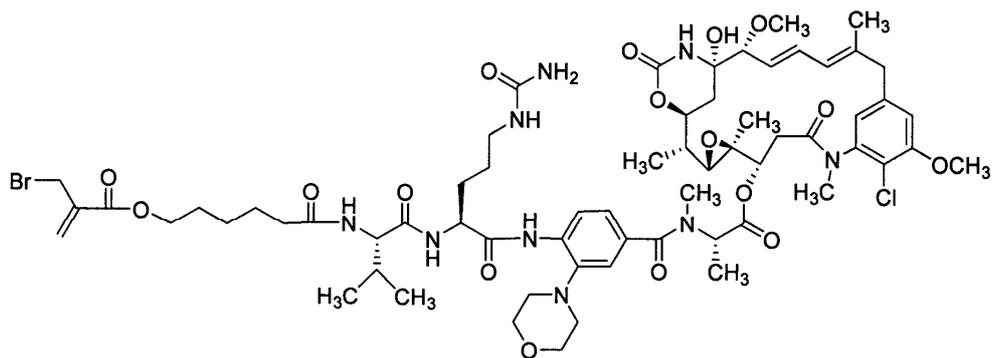






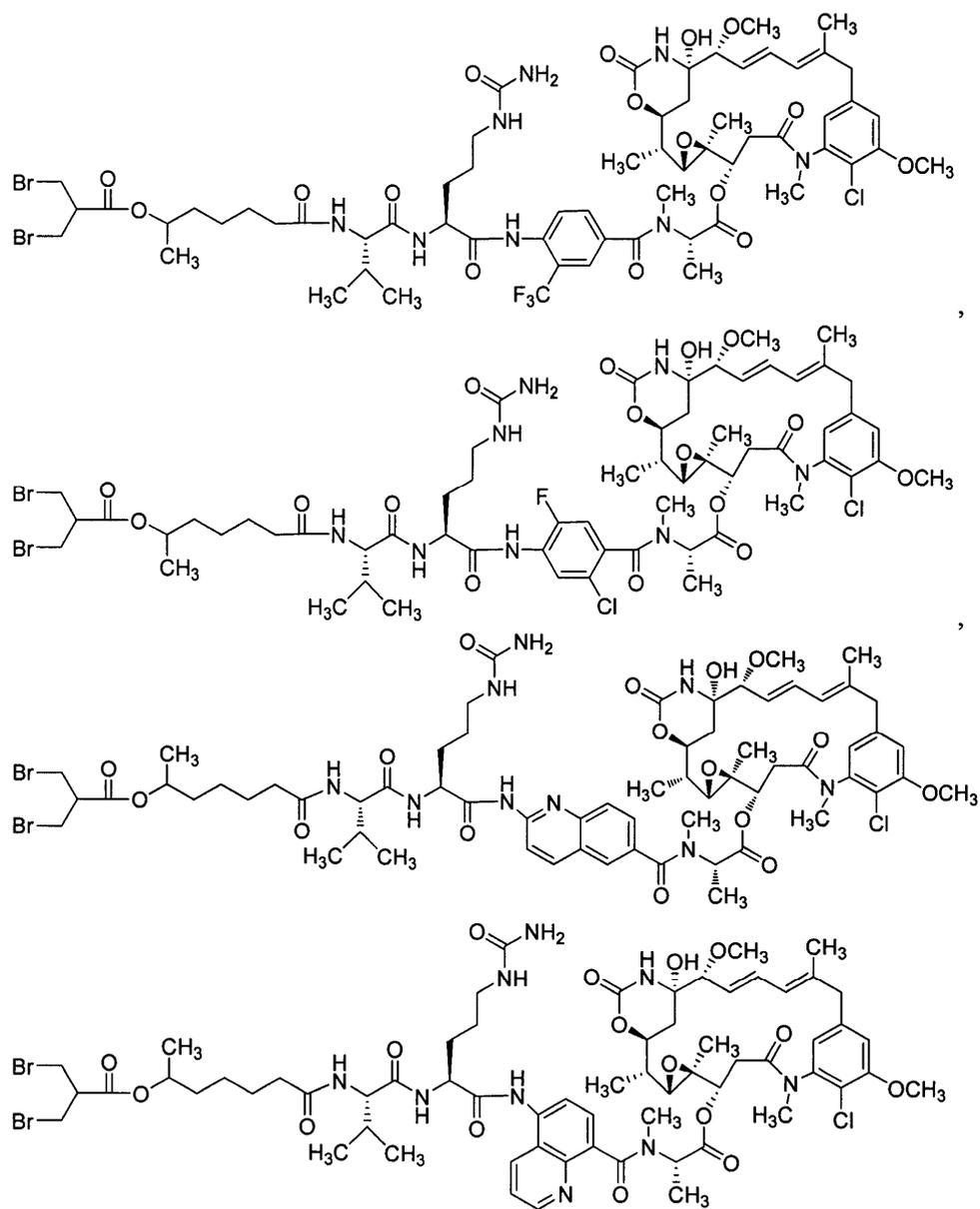


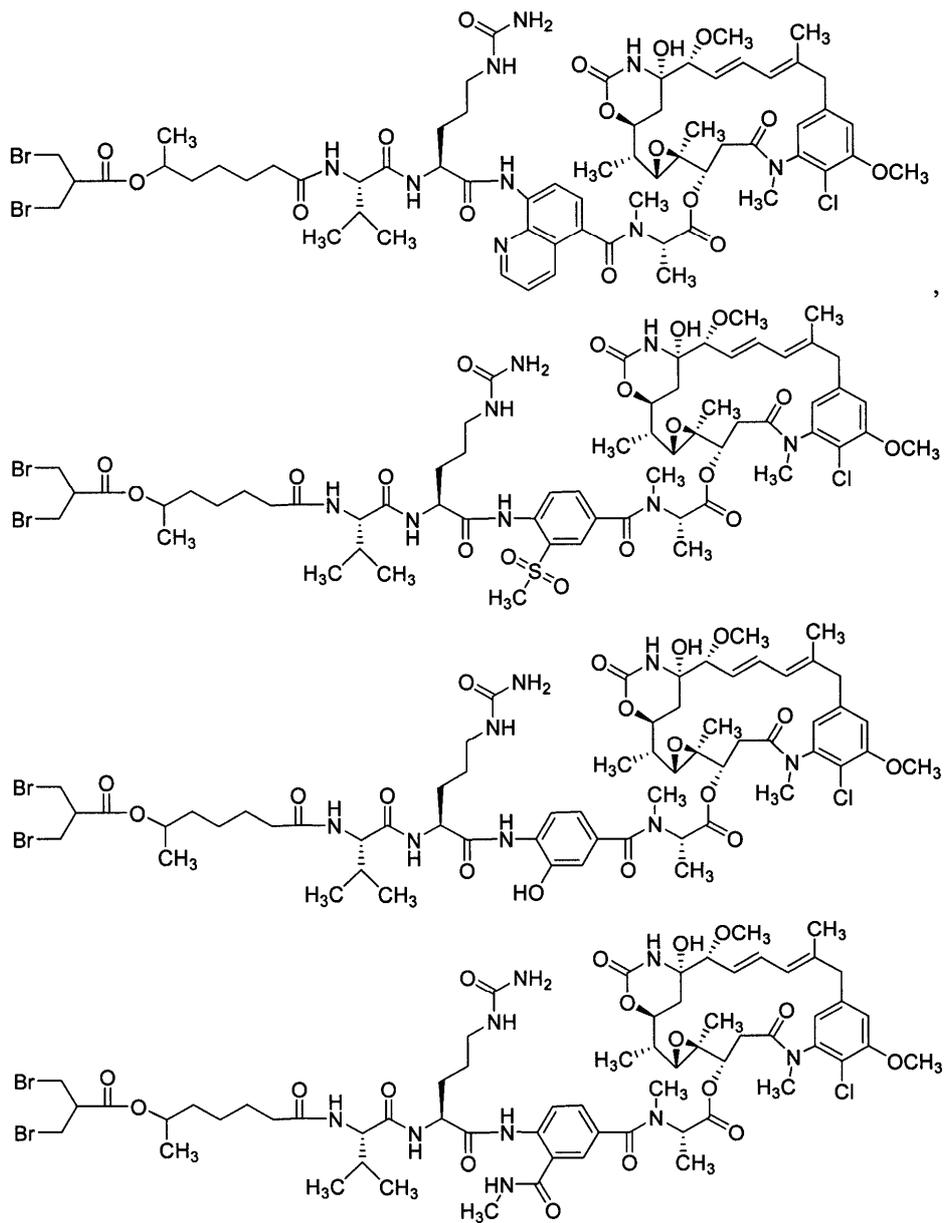




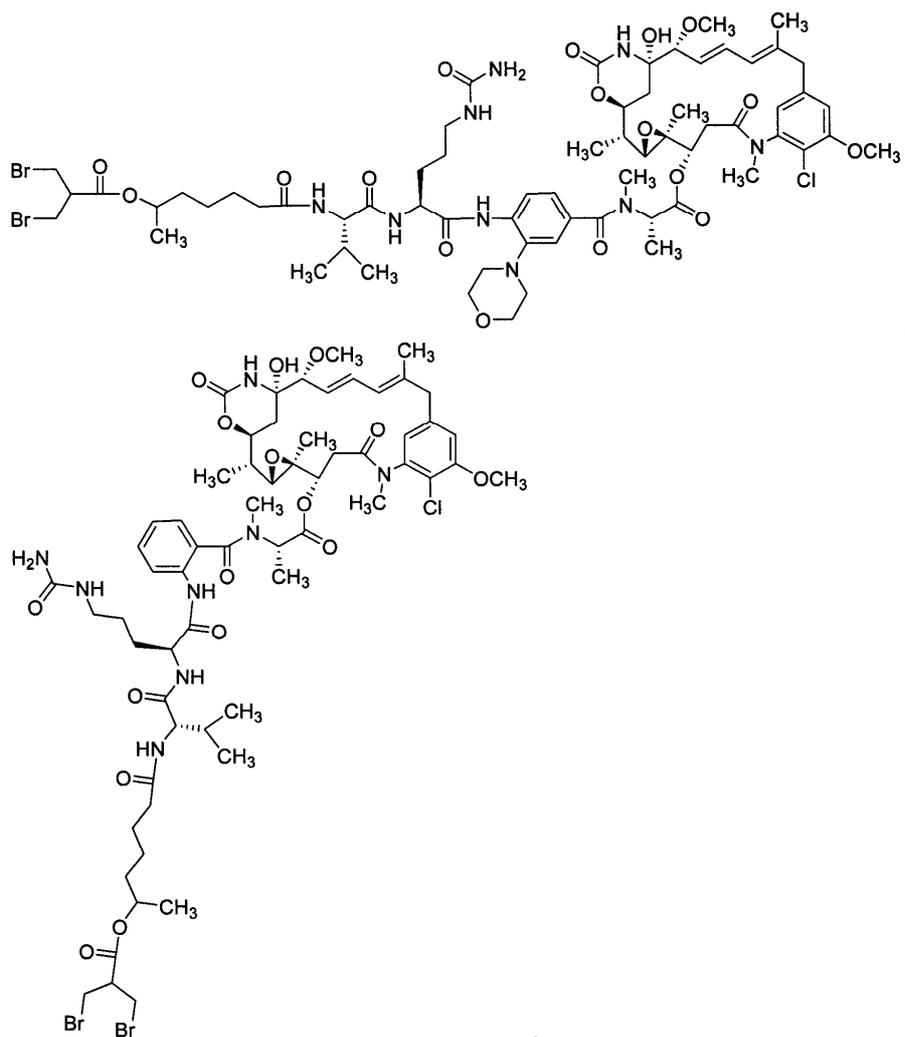


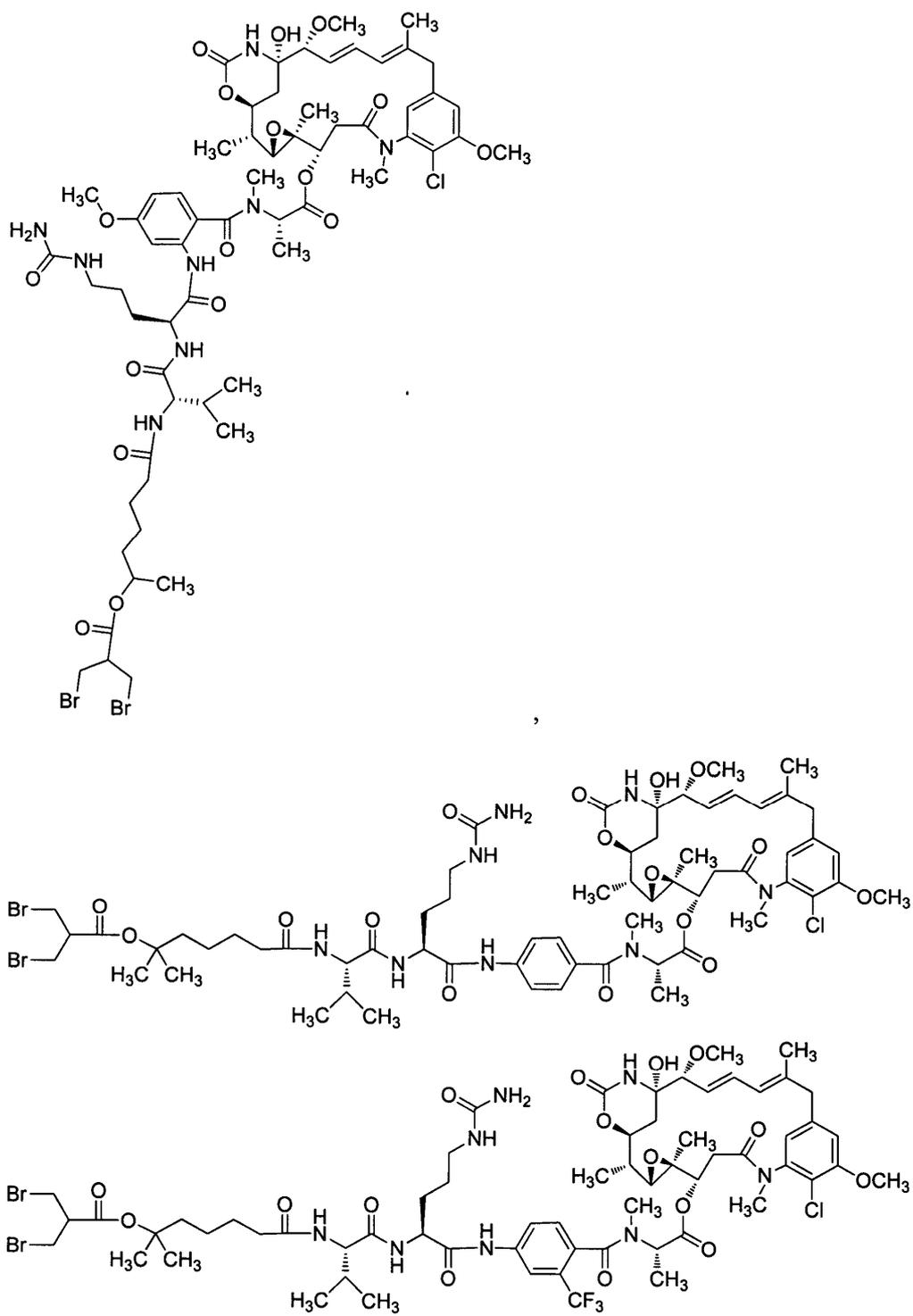


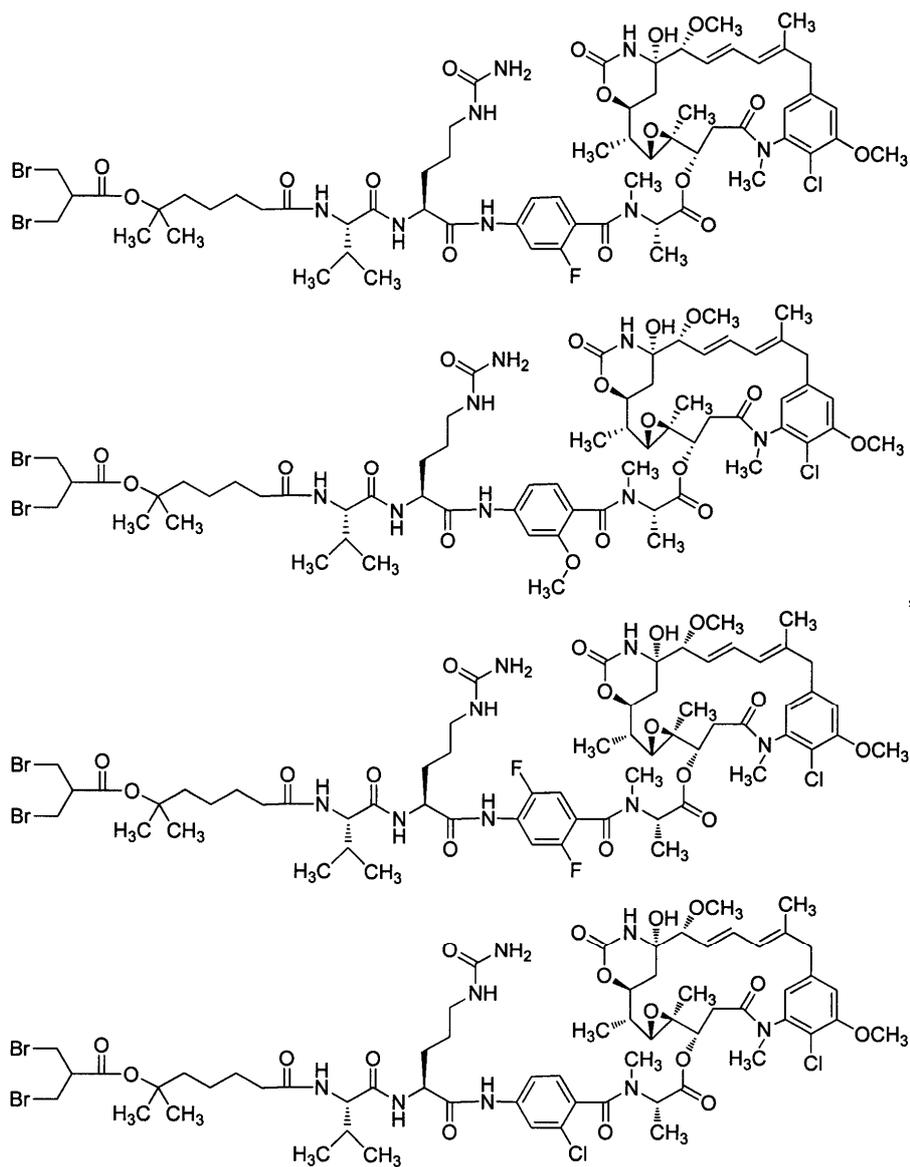


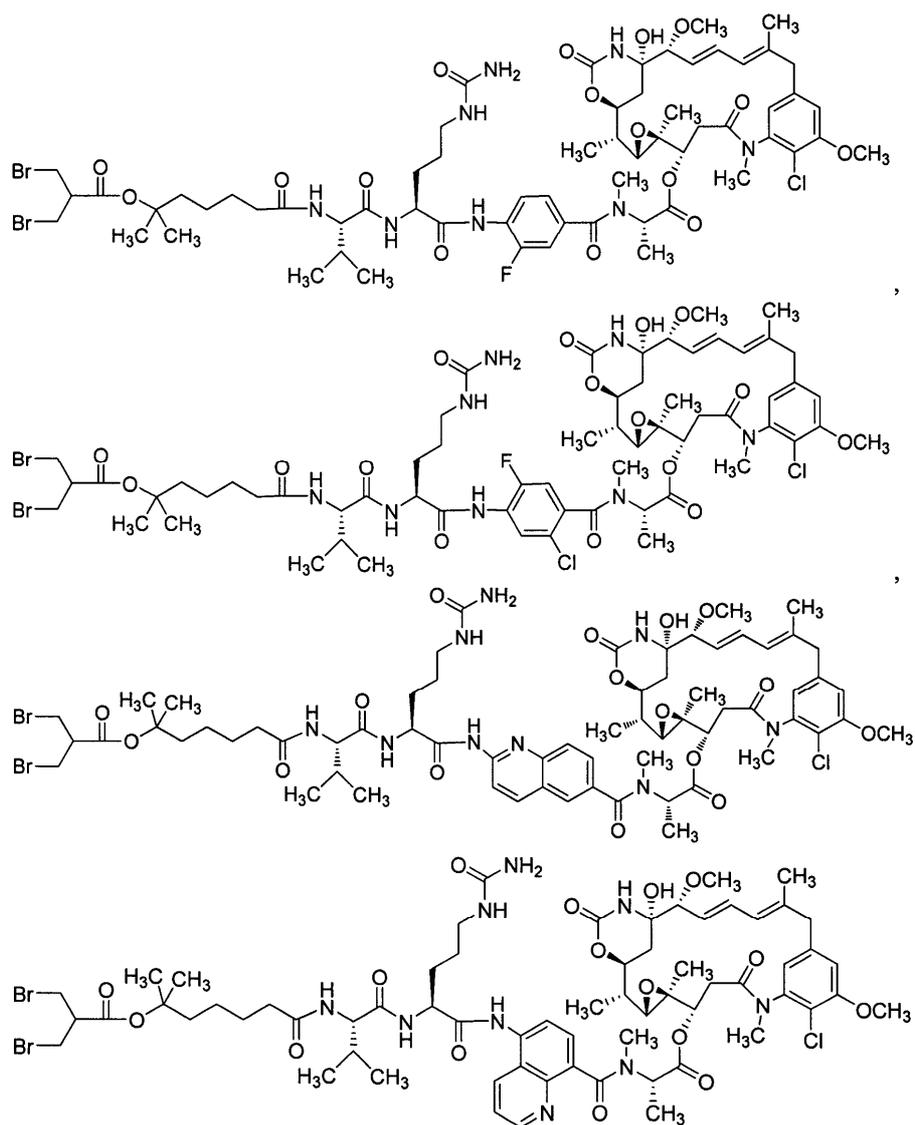


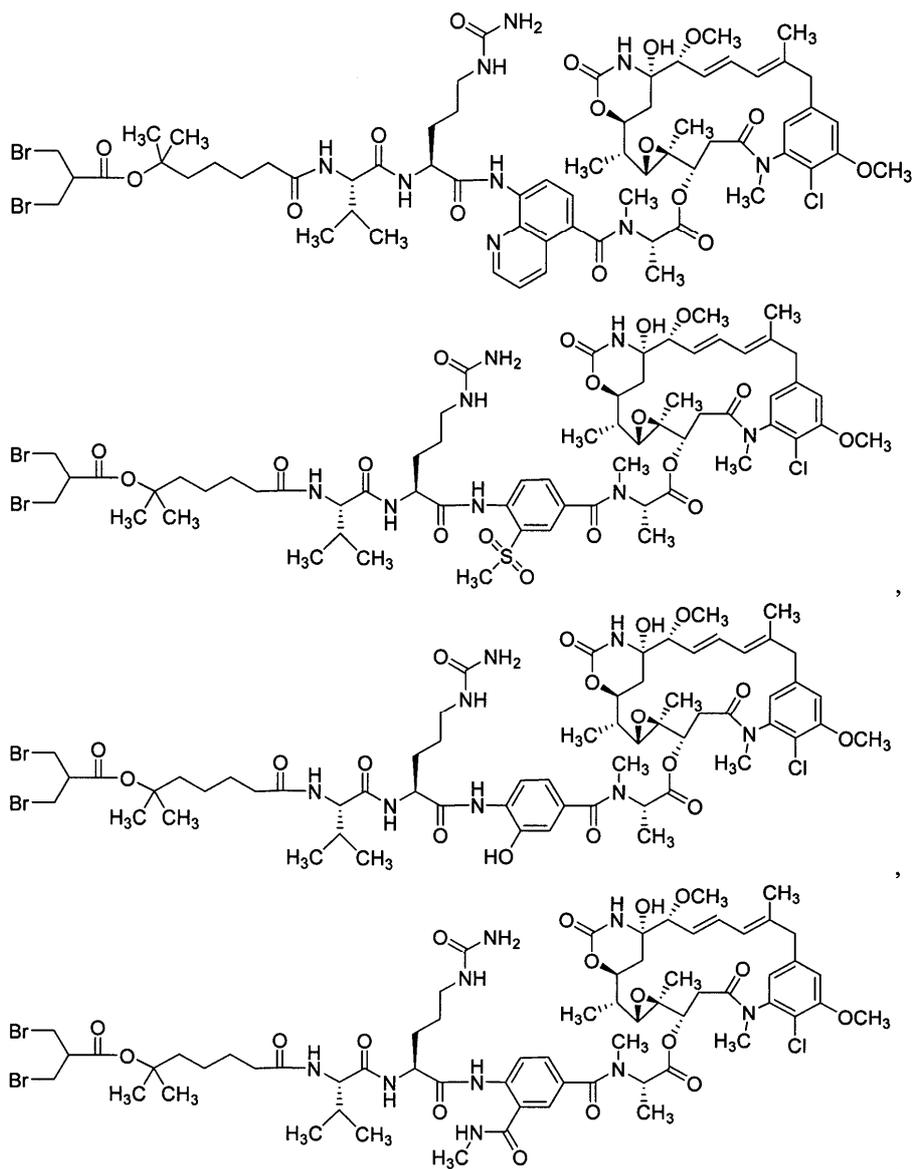
034950



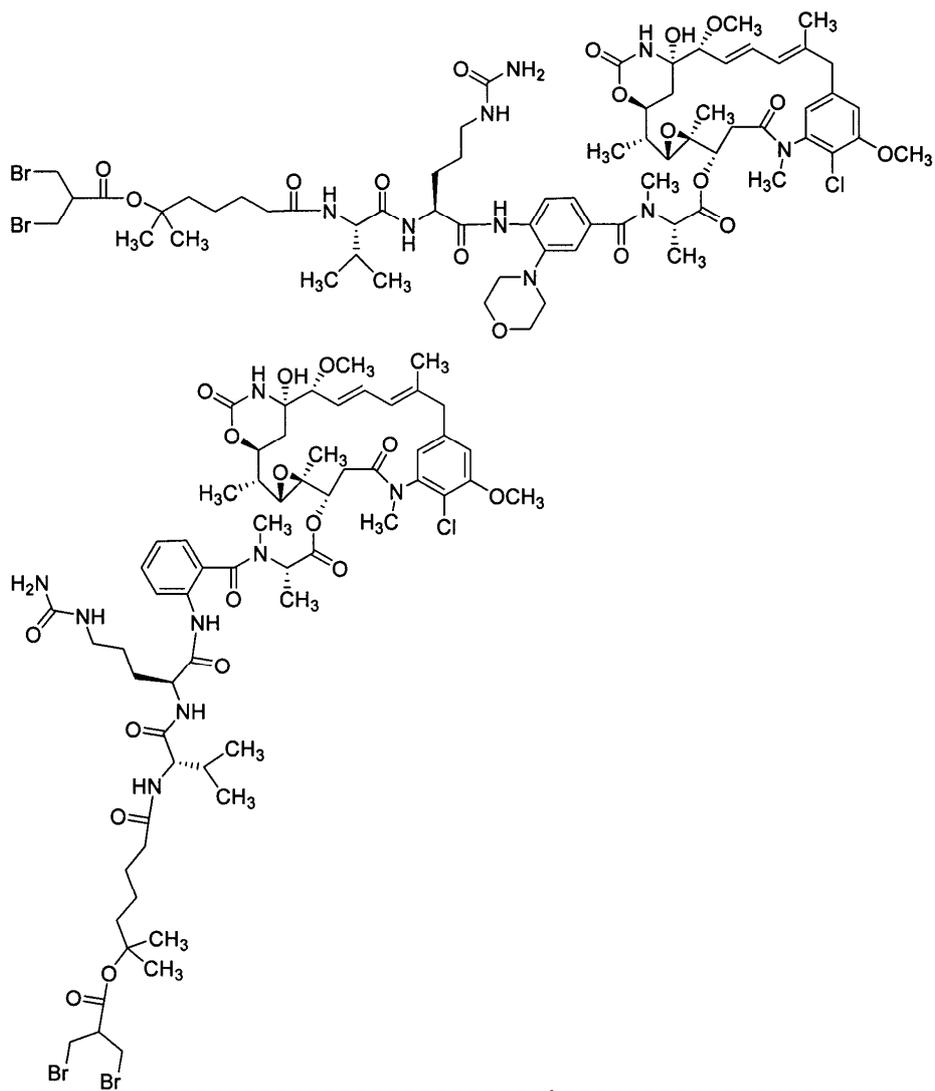


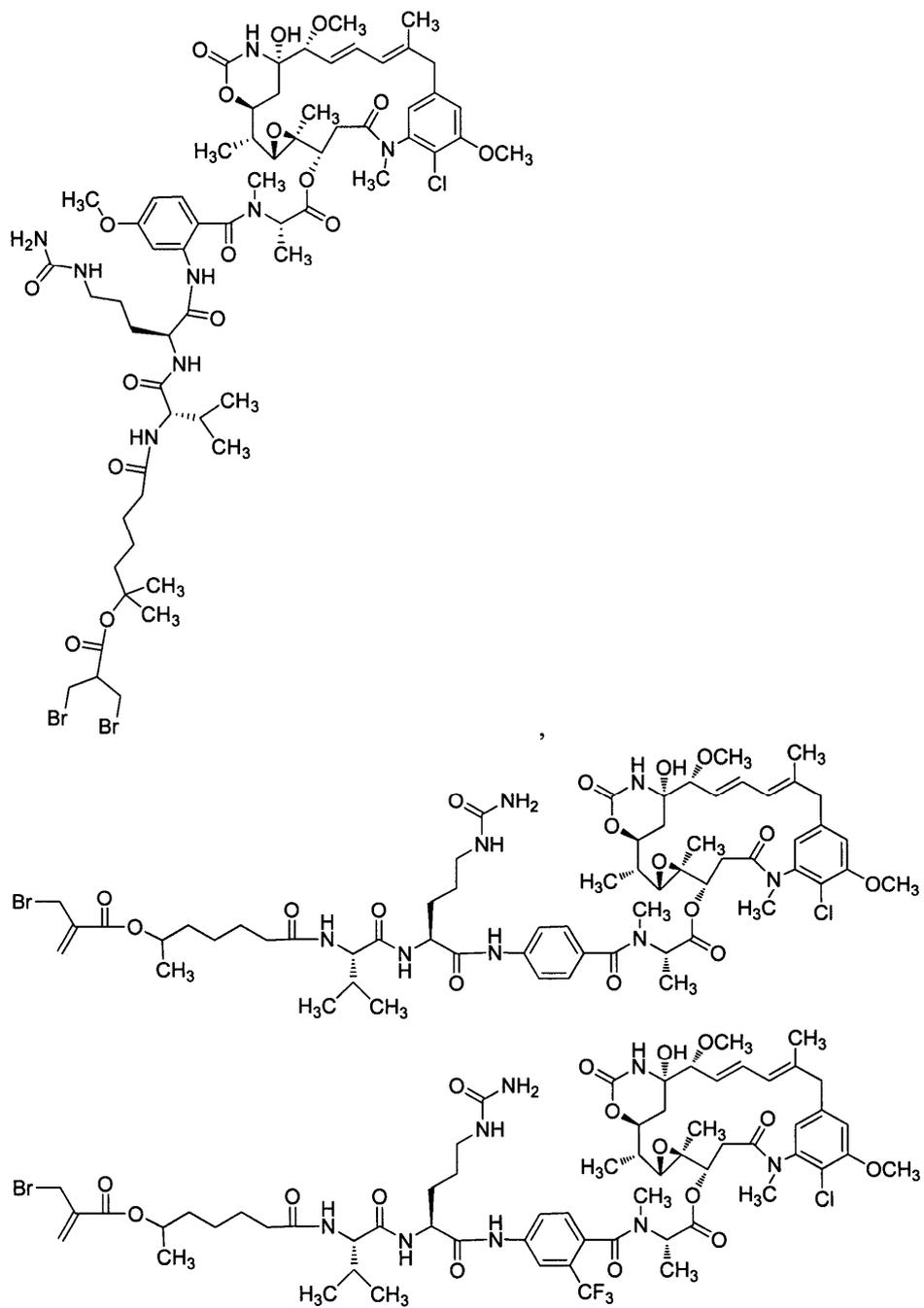


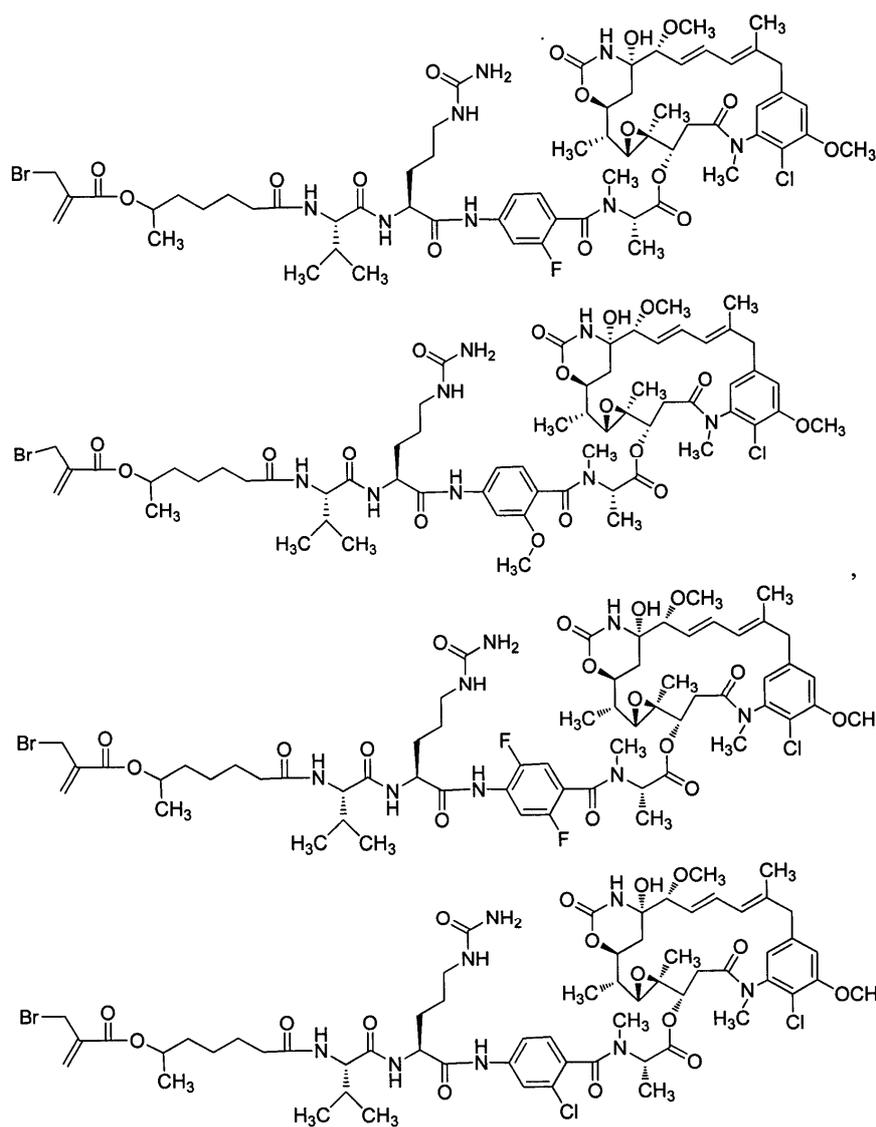


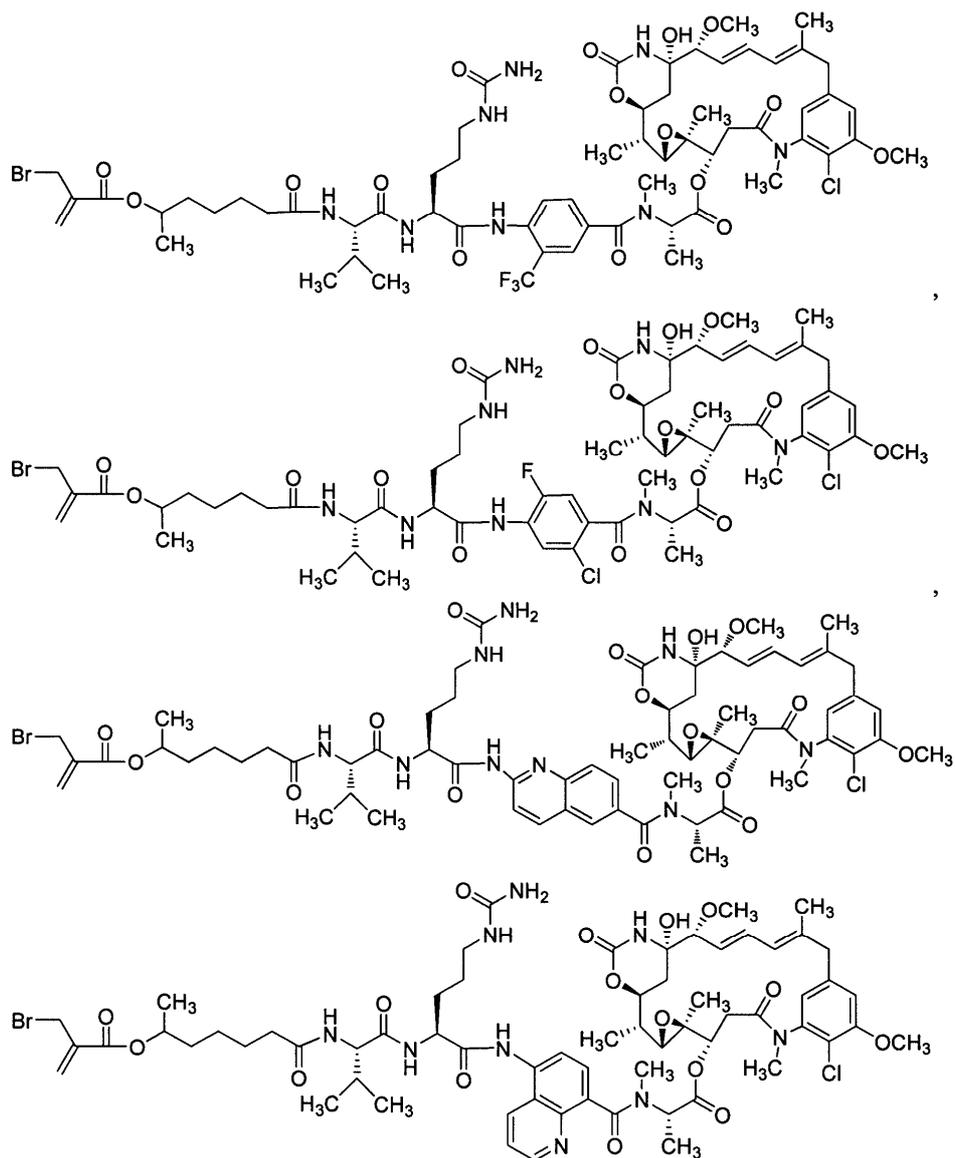


034950

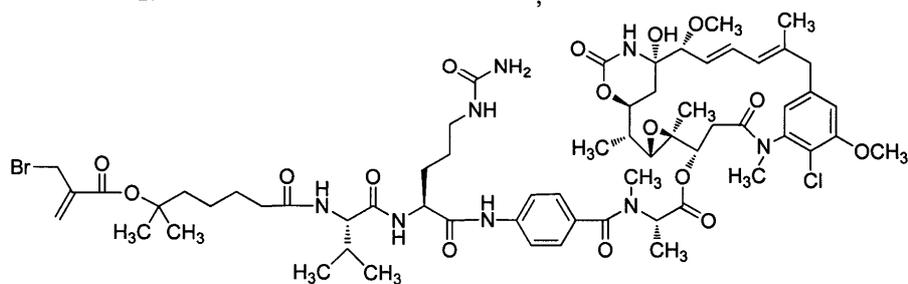
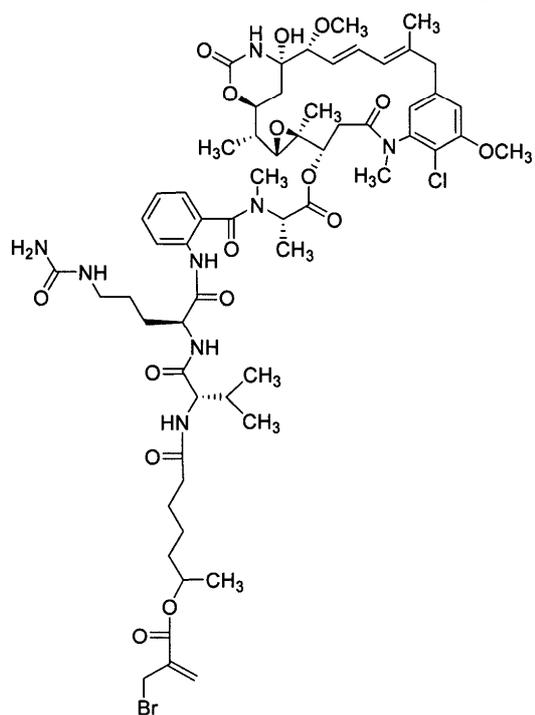
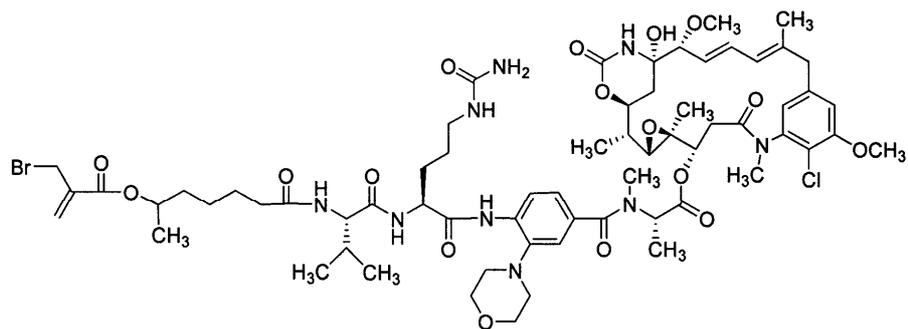


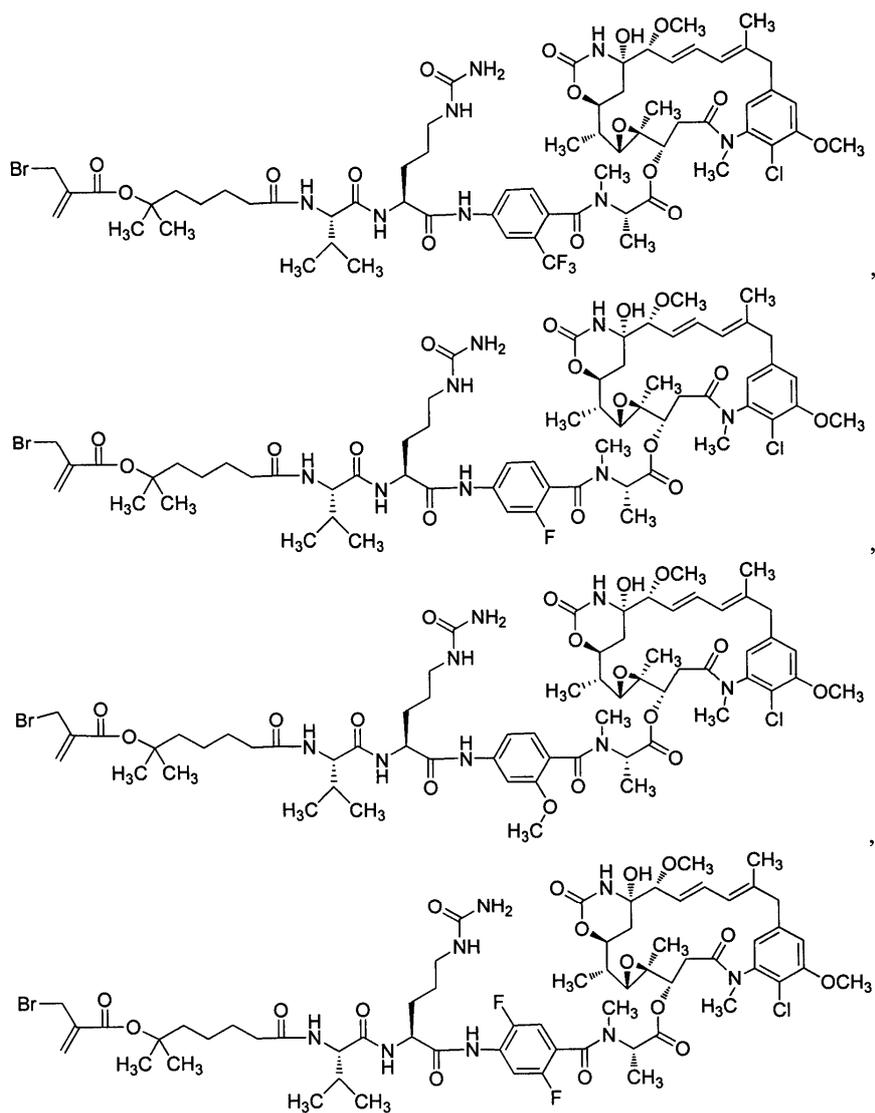


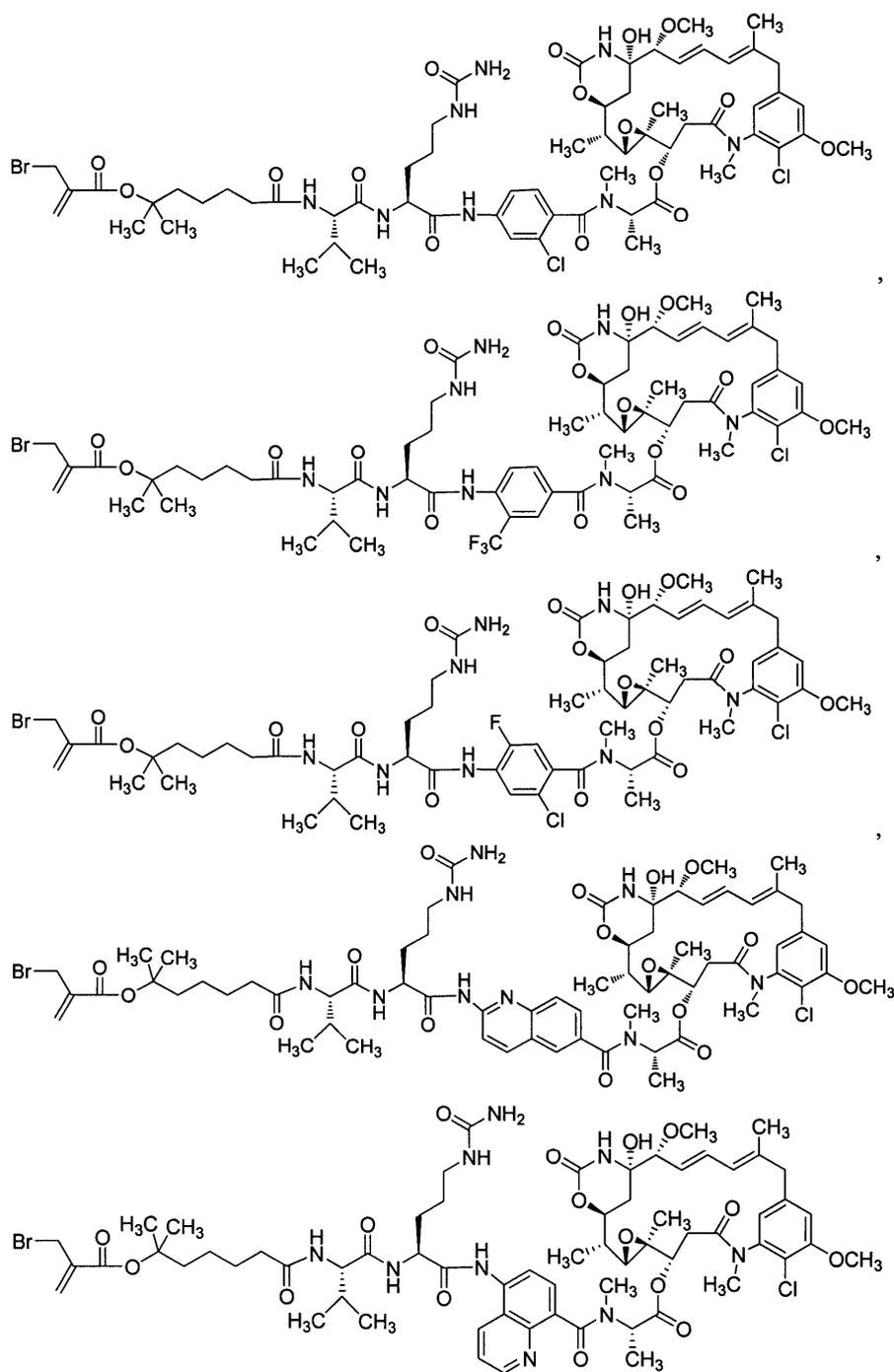




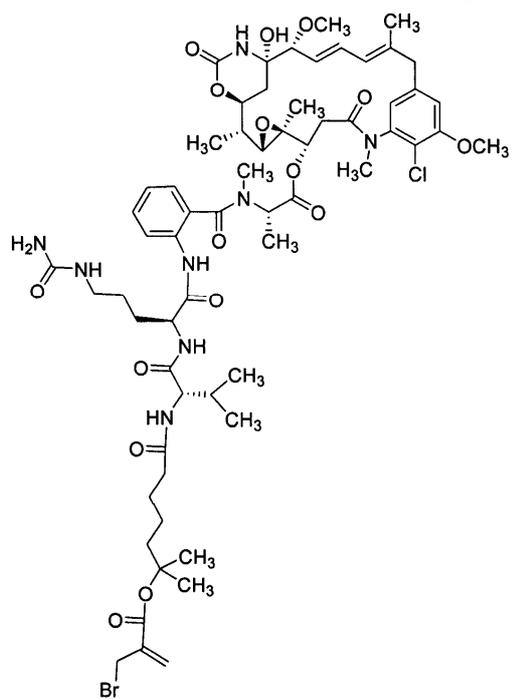
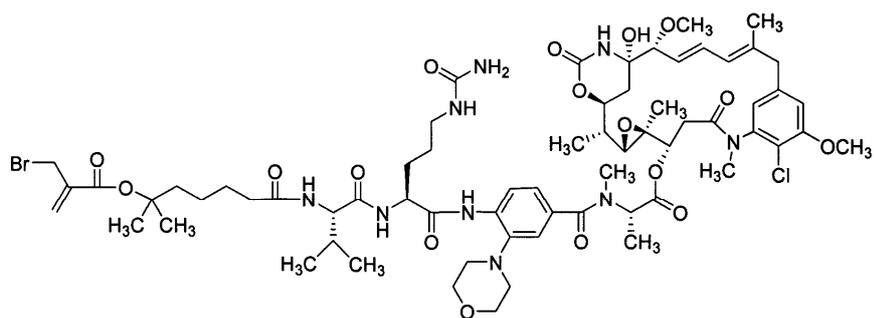




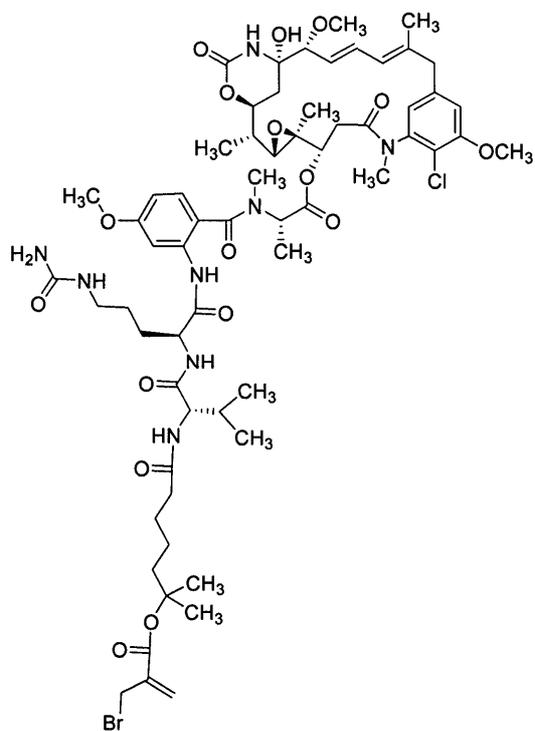




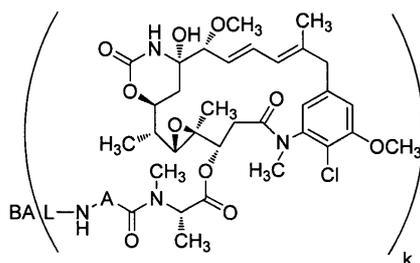




, или

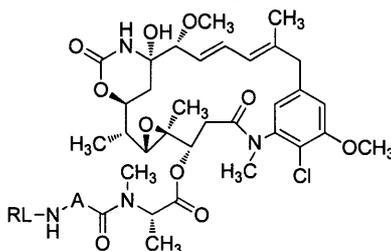


24. Способ получения соединения с формулой (I)



(I)

закрывающийся в контактировании соединения с формулой P1



P1

и антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в условиях конъюгации,

где A представляет собой арилен или гетероарилен;

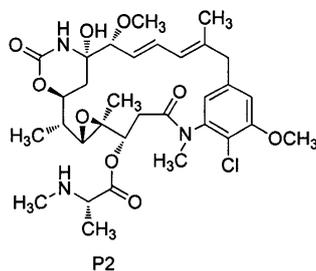
L представляет собой линкер;

BA представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент;

k является целым числом от 1 до 10 и

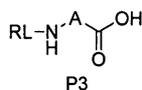
RL представляет собой реактивный линкер.

25. Способ по п.24, где соединение с формулой P1 приготавливается контактированием соединения с формулой P2



P2

и соединения с формулой P3



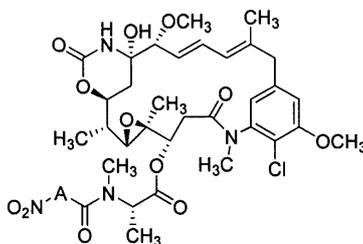
P3

в условиях синтеза амида,

где RL представляет собой реактивный линкер и

A представляет собой арилен или гетероарилен.

26. Соединение с формулой PP5



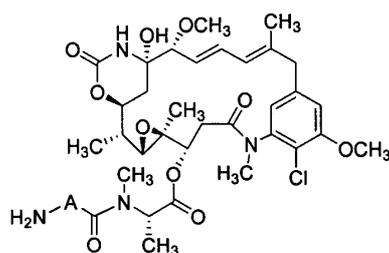
PP5

или его соль,

где A представляет собой арилен или гетероарилен.

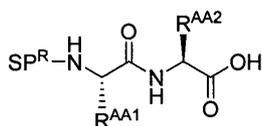
27. Способ по п.24, где соединение с формулой P1 приготавливается контактированием соединения с формулой PP3

034950



PP3

и соединения с формулой PP7



PP7

в условиях синтеза амида,

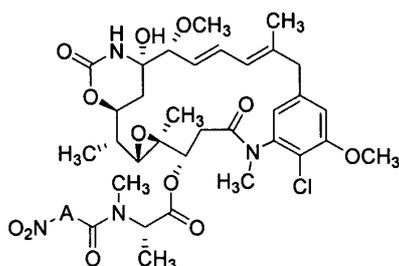
где  $SP^R$  представляет собой реактивный линкер;

$R^{AA1}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку;

$R^{AA2}$  представляет собой аминокислотную боковую цепочку и

A представляет собой арилен или гетероарилен.

28. Способ по п.27, где соединение с формулой PP3 получено через контактирование соединения с формулой PP5 с восстанавливающим агентом

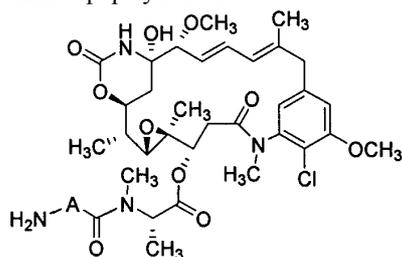


PP5

PP5.

29. Способ по п.28, где восстанавливающий агент представляет собой цинковую пыль.

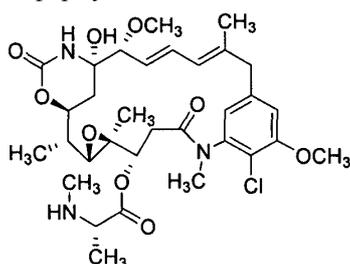
30. Способ получения соединения с формулой PP3



PP3

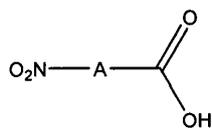
включающий:

(a) контактирование соединения с формулой P2



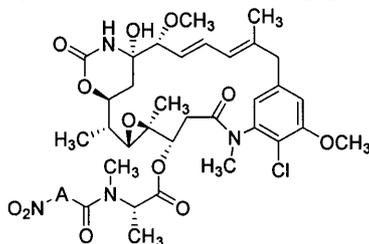
P2

и соединения с формулой PP6



PP6

в условиях синтеза амида для образования соединения с формулой PP5



PP5

где A представляет собой арилен или гетероарилен; и

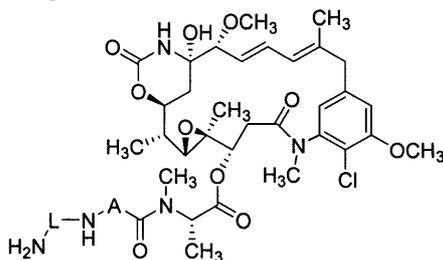
(b) восстановление соединения с формулой PP5 контактированием соединения с формулой PP5 и восстанавливающего агента для образования соединения с формулой PP3.

31. Способ по п.30, где восстанавливающий агент представляет собой цинк.

32. Способ по п.31, где цинк представлен в форме цинковой пыли.

33. Способ получения соединения конъюгата антительного лекарственного препарата с формулой (I), включающий:

(a) реагирование дегликозилированного антитела или негликозилированного антитела с соединением с формулой (PT1) в присутствии трансклутаминазы



PT1

где A представляет собой арилен или гетероарилен и

L представляет собой линкер.

34. Способ по п.33, где этап (a) осуществляется при значении pH примерно от 7,0 до примерно 8,0 в течение как минимум 4 ч.

35. Способ по п.33, где соединение с формулой (PT1) этапа (a) присутствует в концентрации как минимум 5 мол.экв. по сравнению с дегликозилированным антителом или агликозилированным антителом.

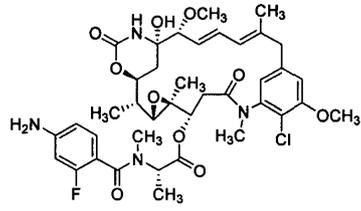
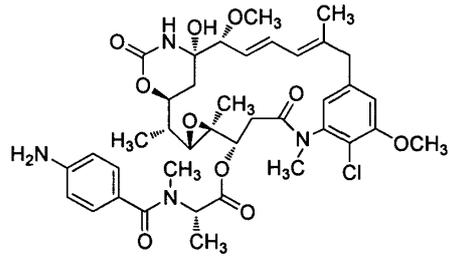
36. Способ по п.33, где трансклутаминаза этапа (a) присутствует в количестве от 1 до 30 U на 1 мг дегликозилированного антитела или негликозилированного антитела.

37. Способ по п.33, где антитело дегликозилировано пептидом N-гликозидазы F (PNGaseF) до этапа (a).

38. Способ по п.33, где антитело негликозилировано.

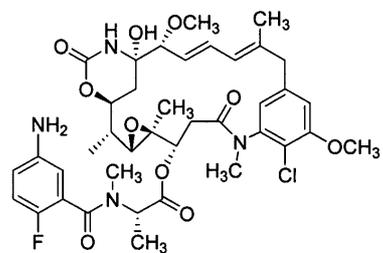
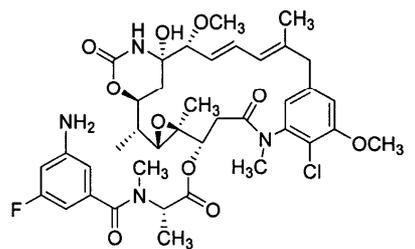
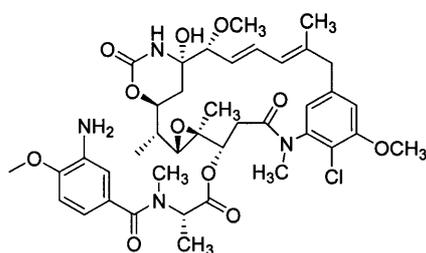
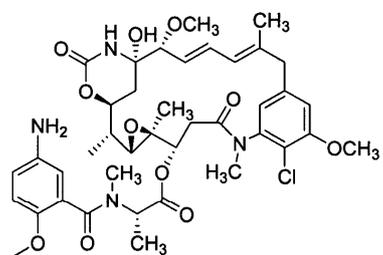
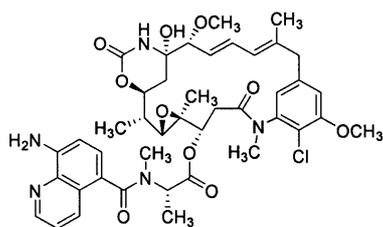
39. Соединение по п.15, где соединение выбирается из:

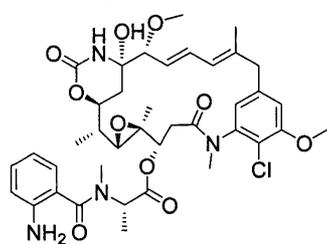
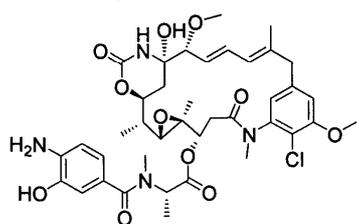
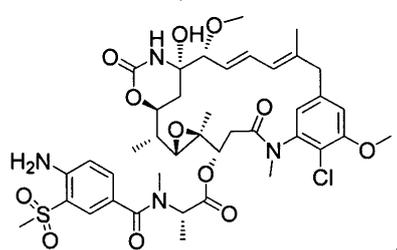
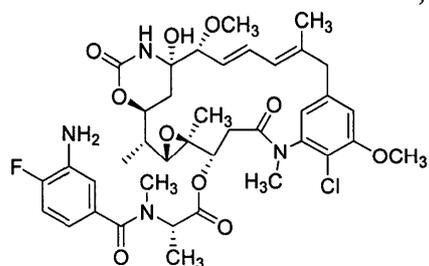
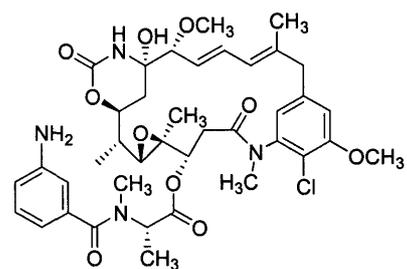
034950

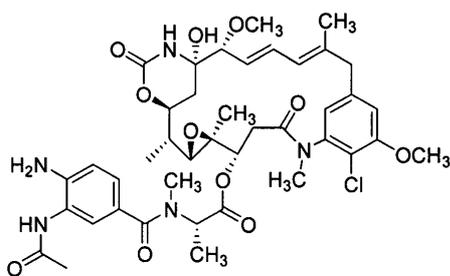
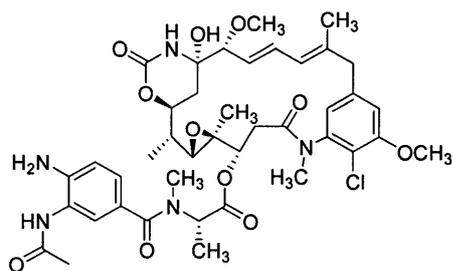
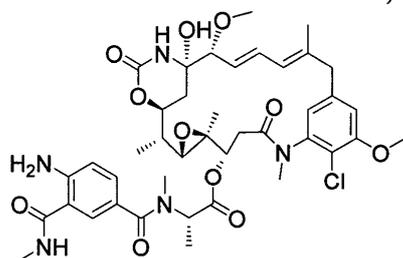
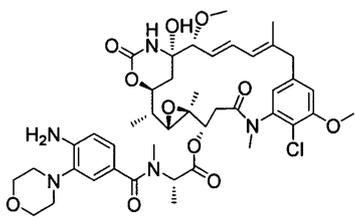
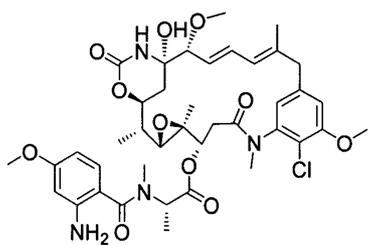




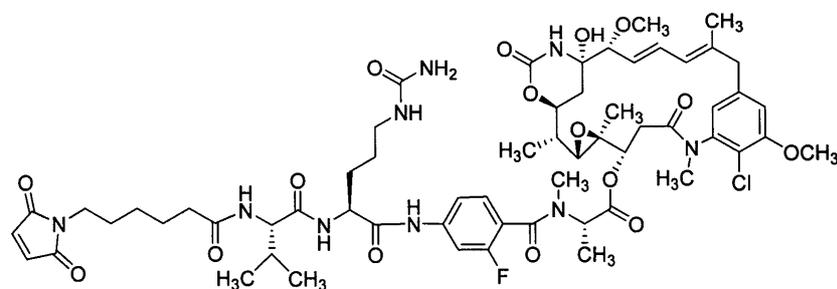
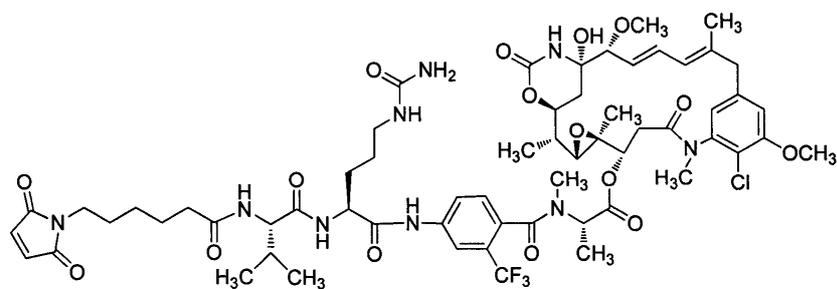
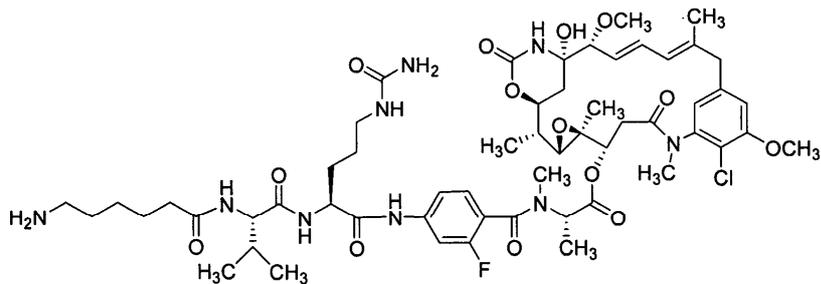
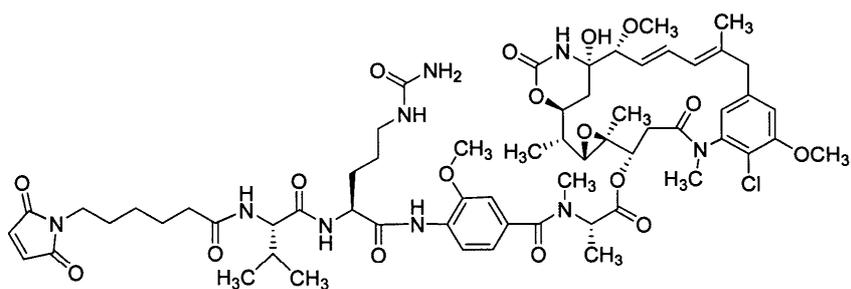


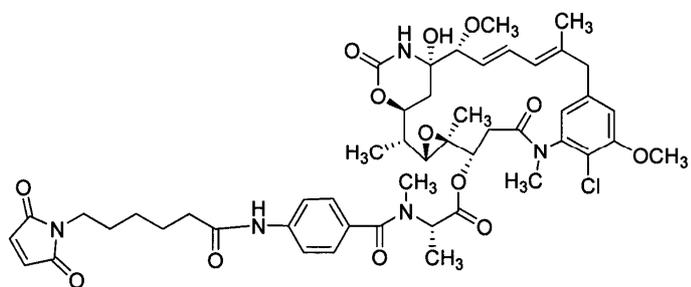
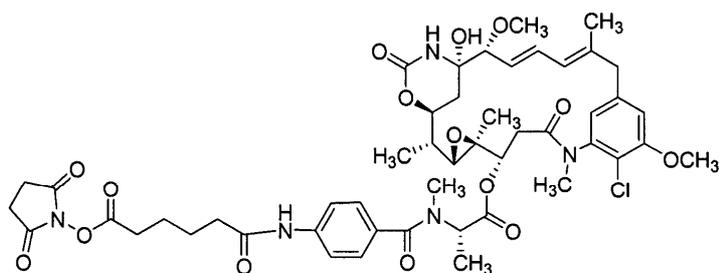
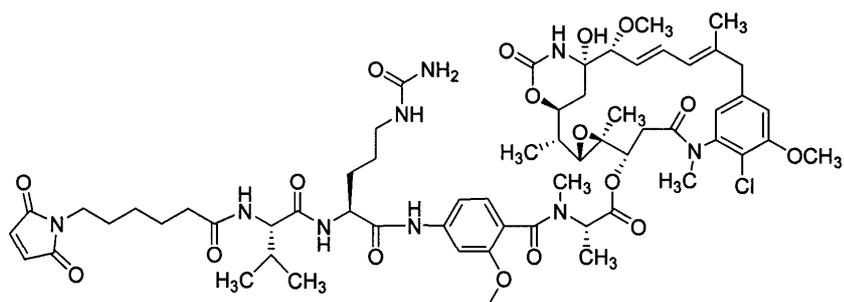




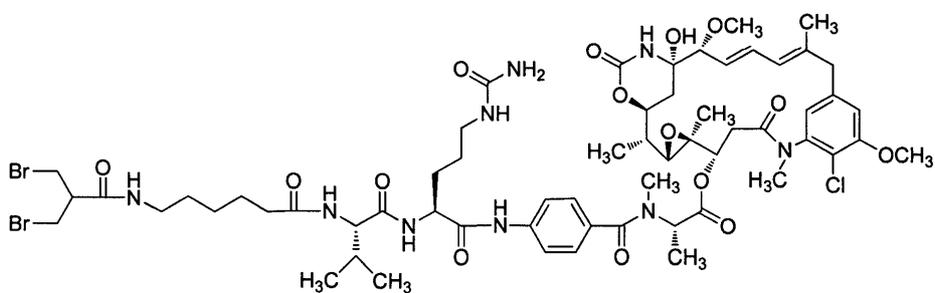


40. Соединение по п.22, где соединение выбирается из:

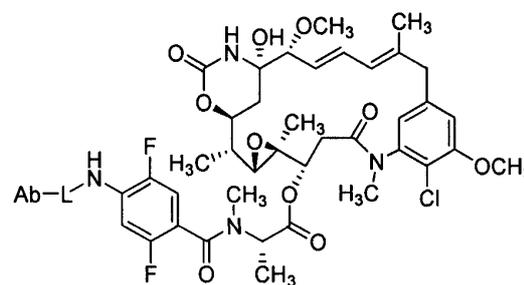
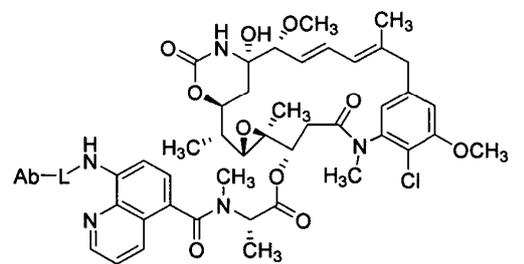
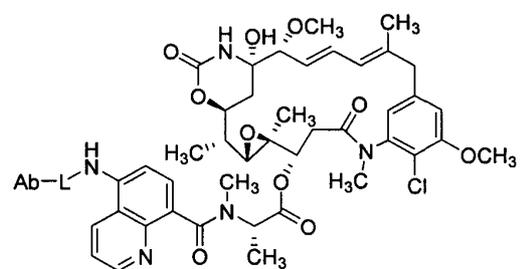
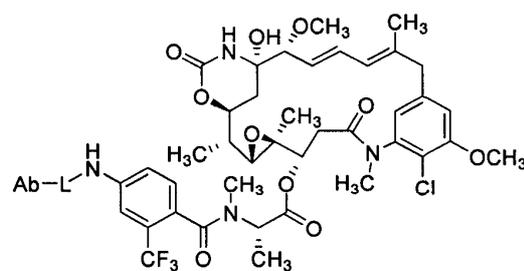
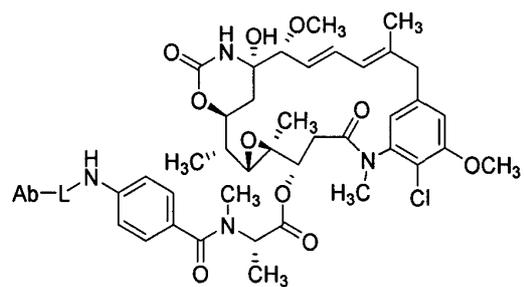


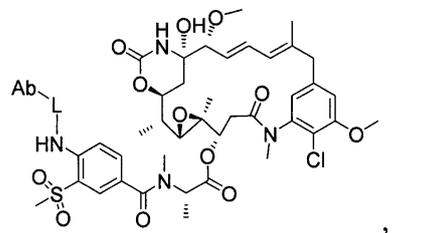
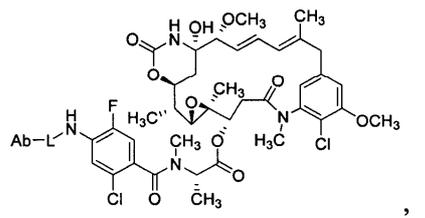
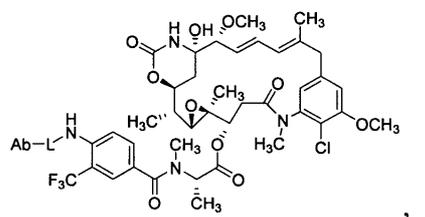
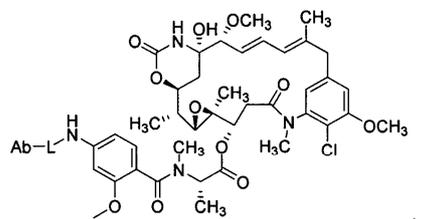
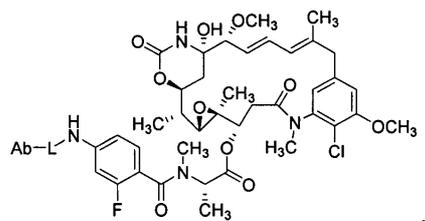


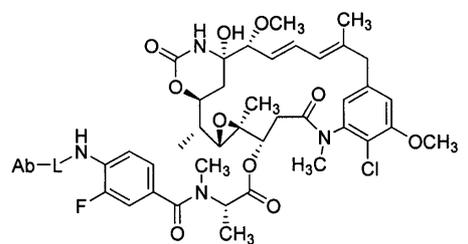
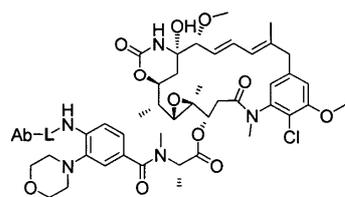
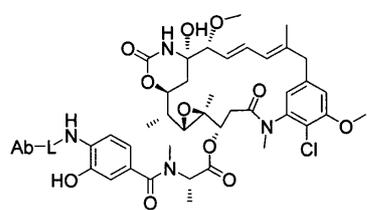
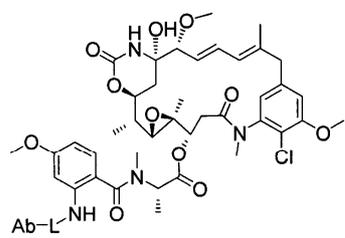
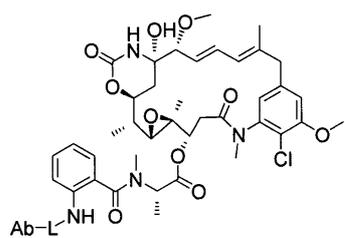
, или



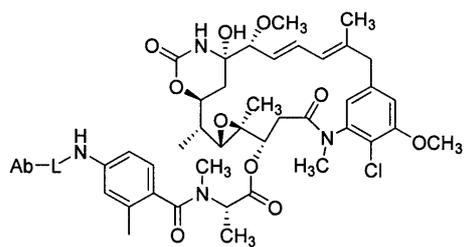
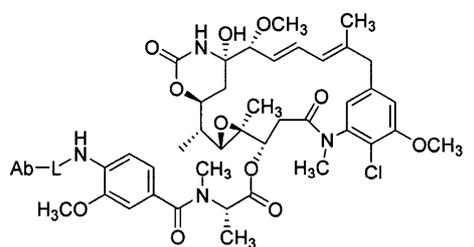
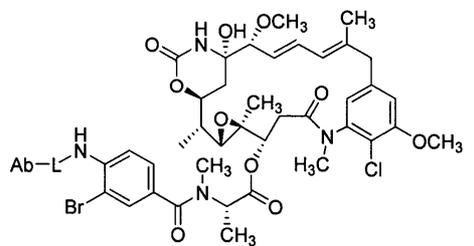
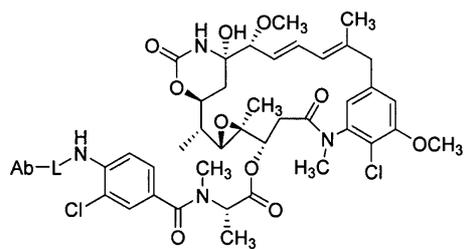
41. Соединение по п.1, где соединение выбирается из:



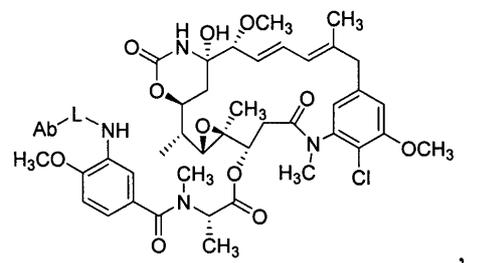
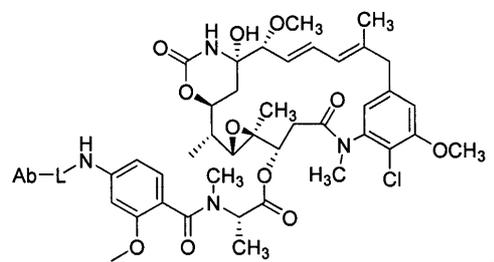
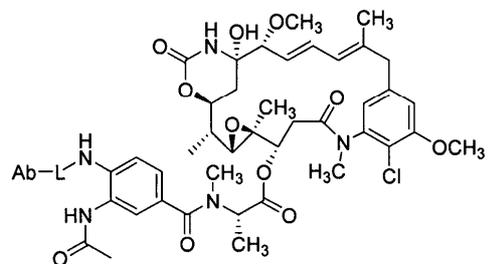
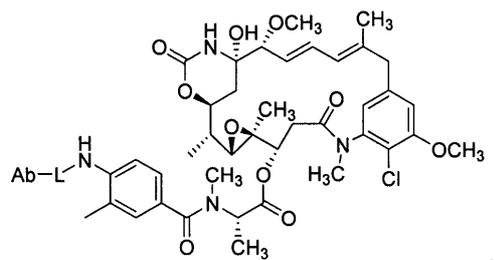


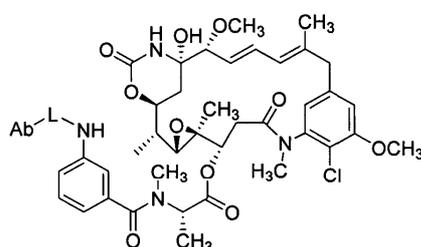
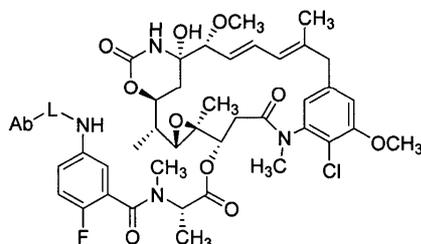
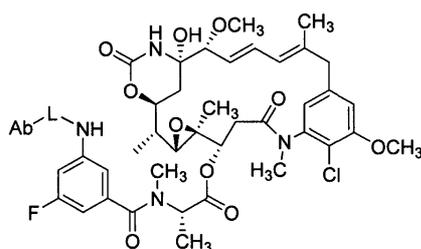


034950

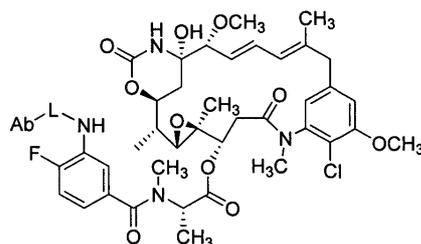


034950





, ИЛИ



42. Способ лечения пролиферативного расстройства, включающий введение пациенту с таким расстройством терапевтически эффективного количества композиции по п.20.

43. Соединение по формуле (I) по п.1, где ВА представляет собой анти-PSMA, анти-MUC16, анти-EGFRvIII или анти-STEAP-2 антитело.

44. Соединение по пп.1, 20, 21 или 23, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывают антиген опухоли.

45. Фармацевтическая композиция по п.20, где пролиферативным расстройством является раковое заболевание.

46. Фармацевтическая композиция по п.45, где раковым заболеванием является раковое заболевание, экспрессирующее PSMA, PRLR или MUC16.

47. Фармацевтическая композиция по п.45, где раковым заболеванием является рак яичников, рак предстательной железы или рак молочной железы.

48. Способ по п.21, где пролиферативным расстройством является раковое заболевание.

49. Способ по п.48, где раковым заболеванием является раковое заболевание, экспрессирующее PSMA, PRLR или MUC16.

50. Способ по п.48, где раковым заболеванием является рак яичников, рак предстательной железы или рак молочной железы.

51. Способ по п.42, где пролиферативным расстройством является раковое заболевание.

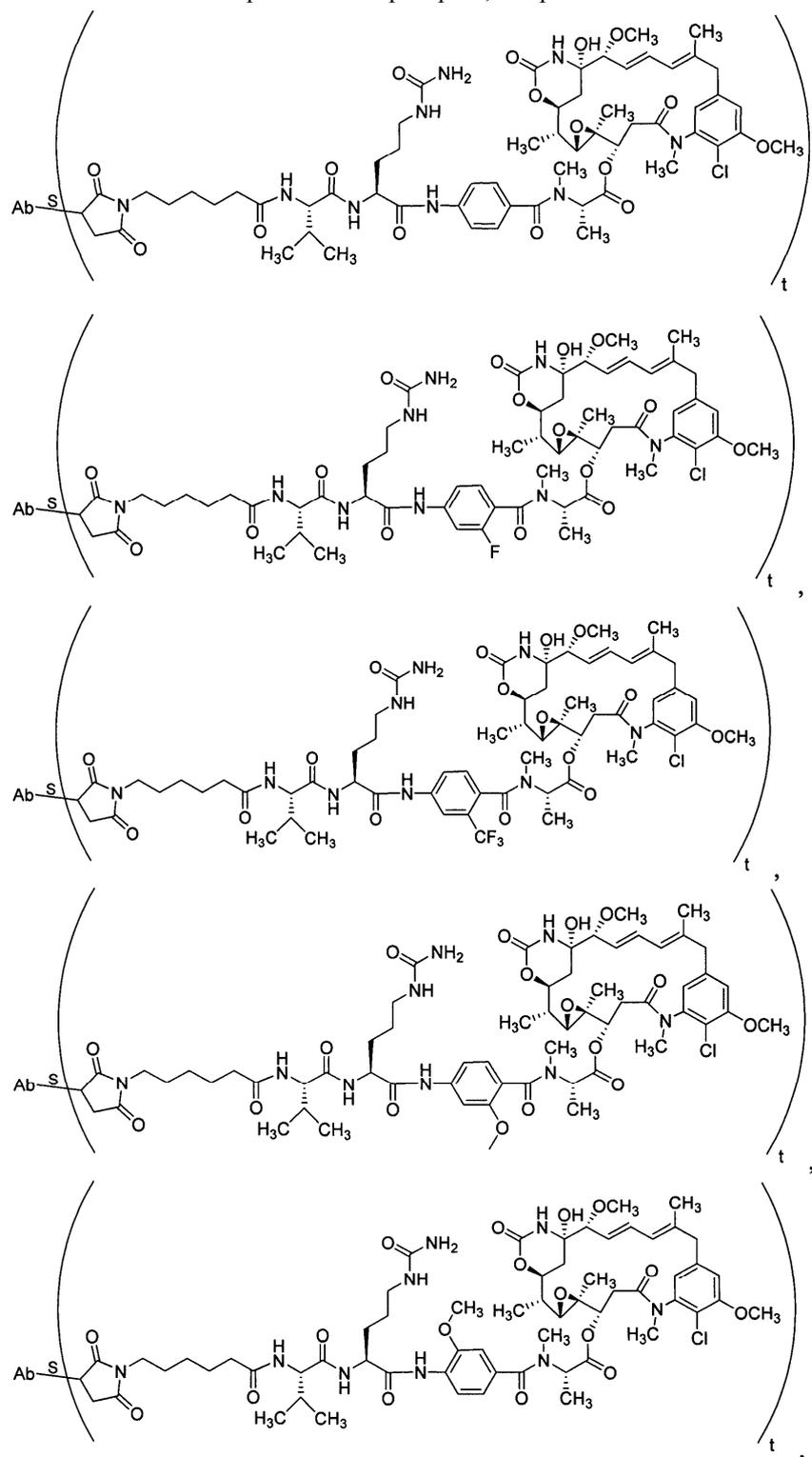
52. Способ по п.51, где раковым заболеванием является раковое заболевание, экспрессирующее PSMA, PRLR или MUC16.

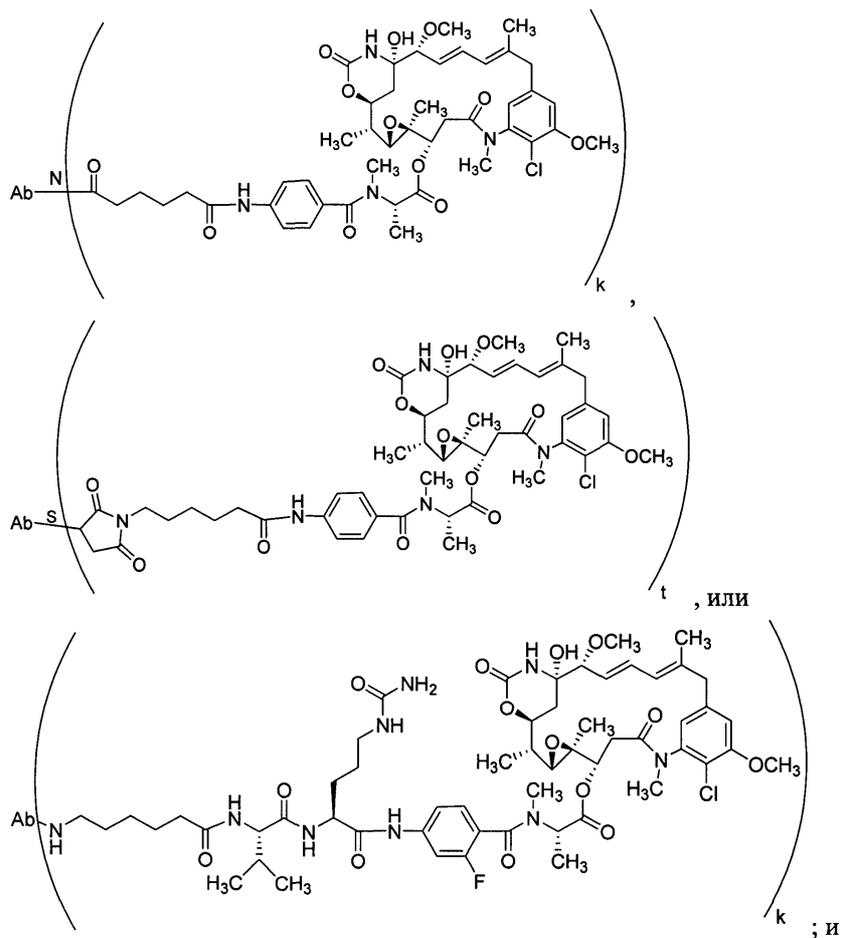
53. Способ по п.51, где раковым заболеванием является рак яичников, рак предстательной железы или рак молочной железы.

54. Соединение по любому из пп.1, 2, 8, 10-13, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент выбираются из группы, включающей анти-EGFR антитело, анти-ErbB2 антитело, анти-ErbB3 антитело, анти-ErbB4 антитело, антитело, которое, в частности, связывает EGFRvIII, анти-cMET антитело, анти-IGF1R антитело, анти-PDGFR- $\alpha$  антитело, анти-PDGFR- $\beta$  антитело, анти-PDGF-A, анти-PDGF-B, анти-

PDGF-C, анти-PDGF-D антитело, анти-VEGF антитело, анти-DLL4 антитело, анти-Ang2 антитело, анти-FOLH1 антитело, анти-STEAP1 антитело, анти-STEAP2 антитело, анти-TMPRSS2 антитело, анти-MSLN антитело, анти-CA9 антитело, антиуроплакин или анти-UPK3A антитело, анти-MUC16 антитело, анти-Tn антитело, анти-CLEC12A антитело, анти-TNFRSF17 антитело, анти-LGR5 антитело, моновалентное анти-CD20 антитело, анти-PRLR антитело, анти-PSMA антитело, и антитела, которые связывают с цитокинами, включающими IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, или их соответствующими рецепторами.

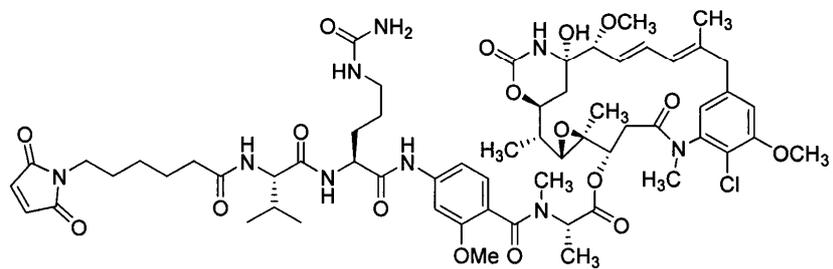
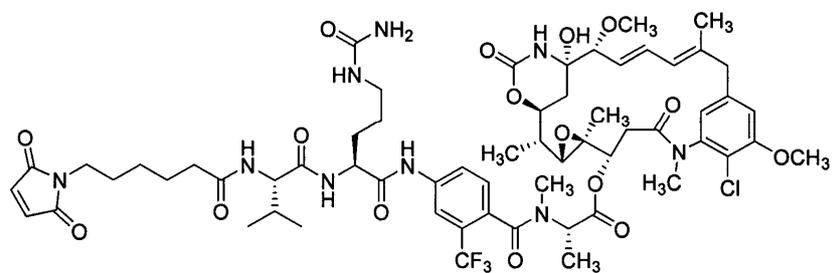
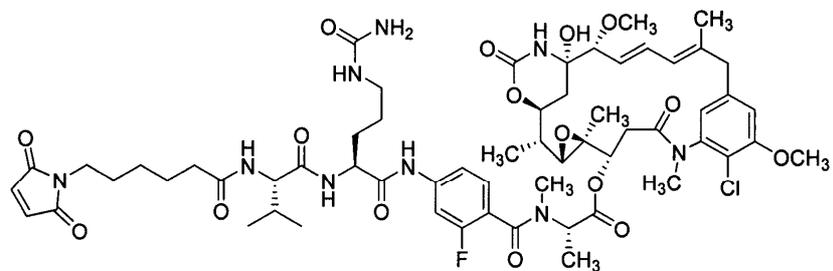
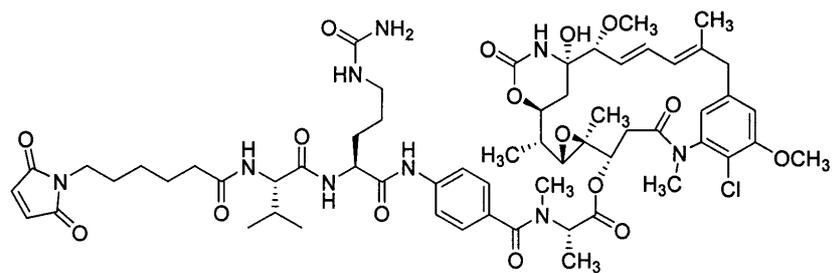
55. Конъюгат антительного лекарственного препарата, выбранный из:

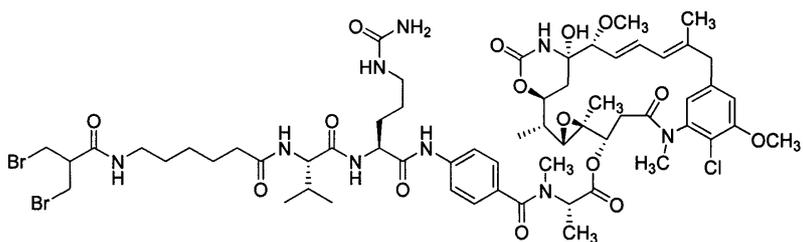
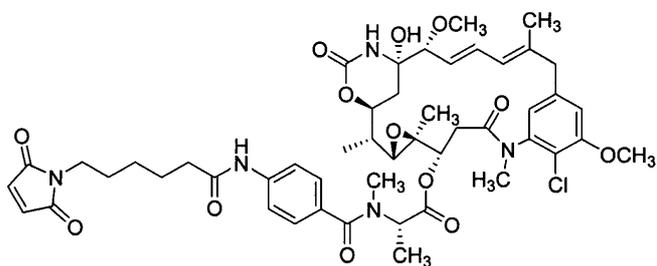
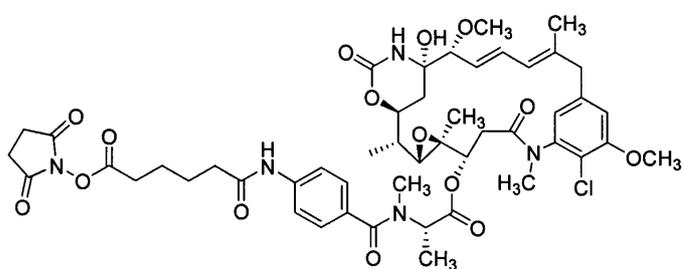
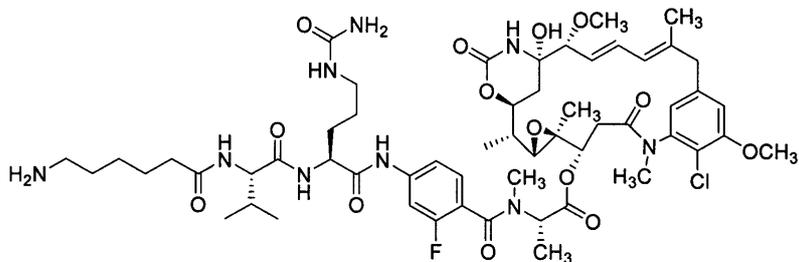
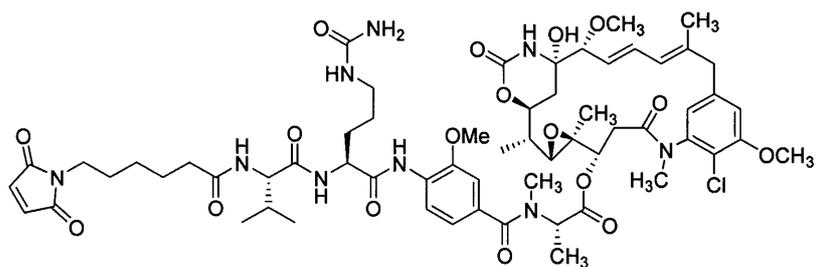




t представляет собой целое число от 1 до 8.

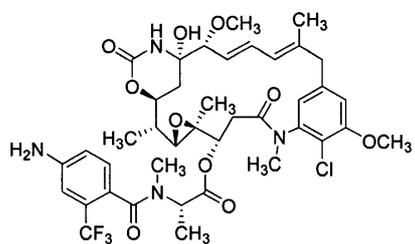
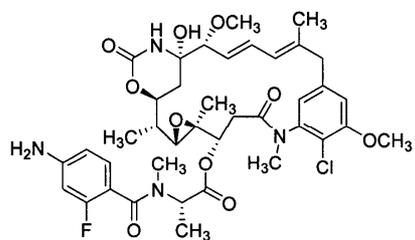
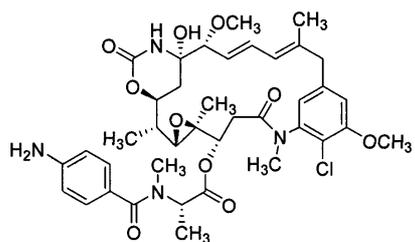
56. Соединение по п.22, где соединение по формуле P1 выбирается из группы, состоящей из:



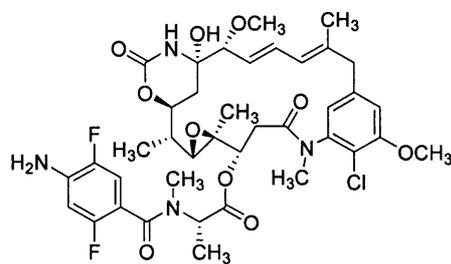
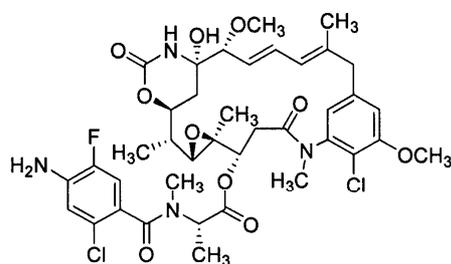
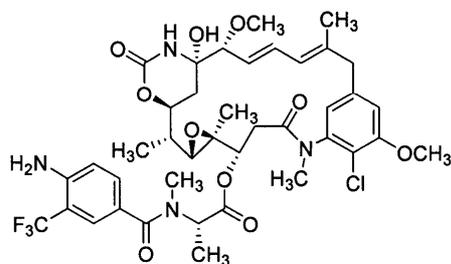
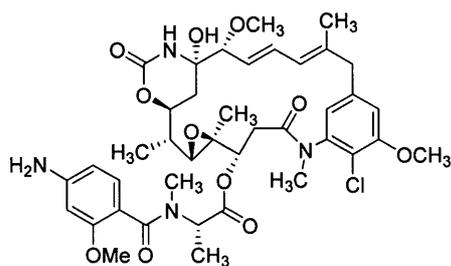


57. Соединение по п.15, где соединение по формуле (II) выбирается из группы, состоящей из:

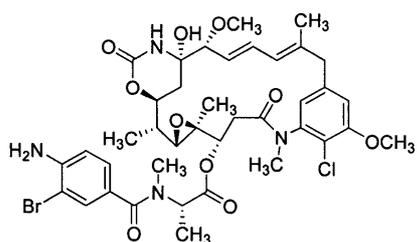
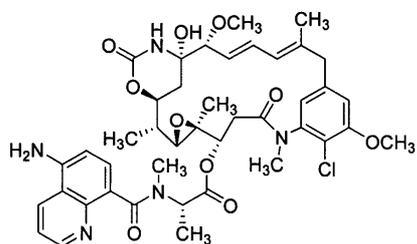
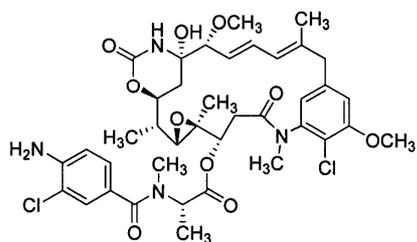
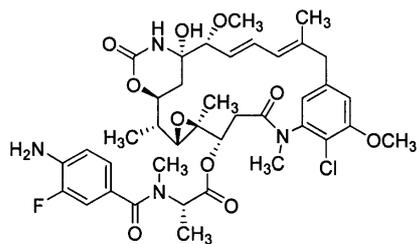
034950



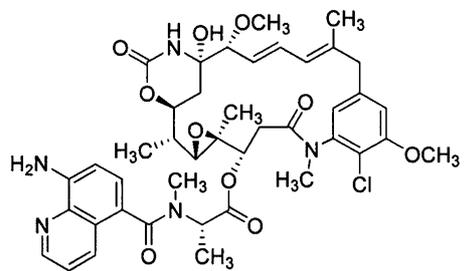
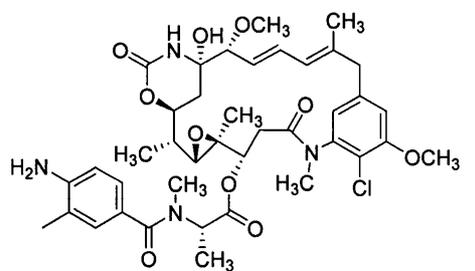
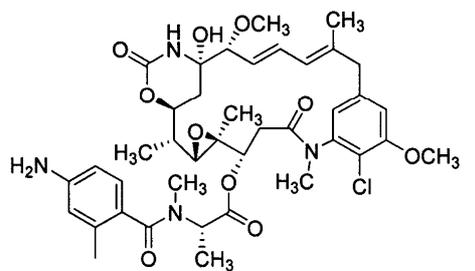
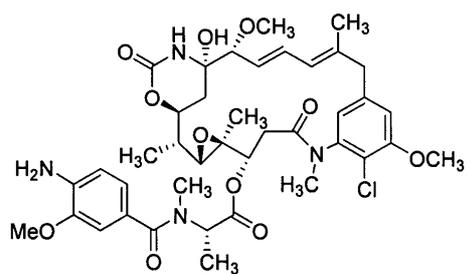
034950



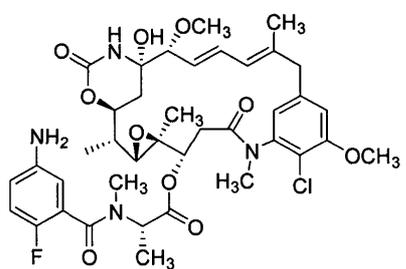
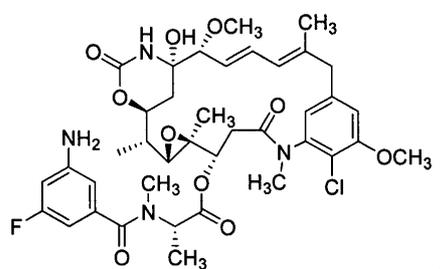
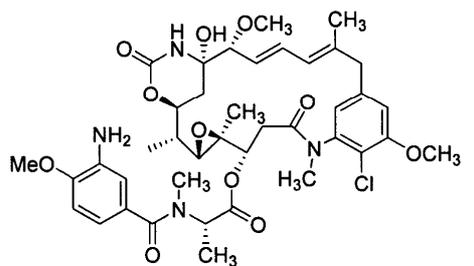
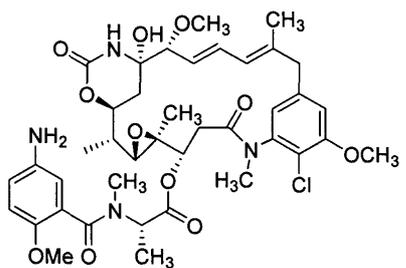
034950



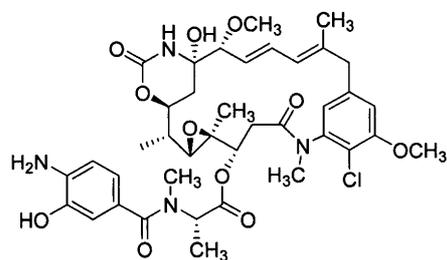
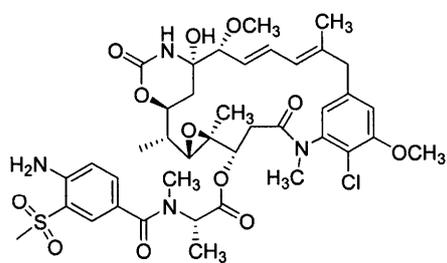
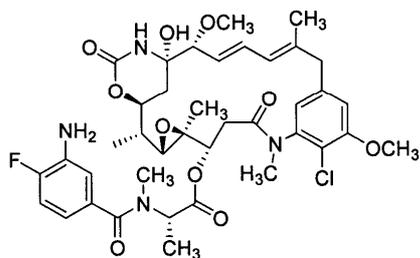
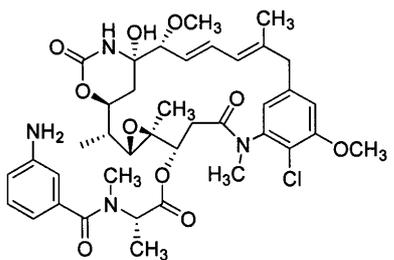
034950

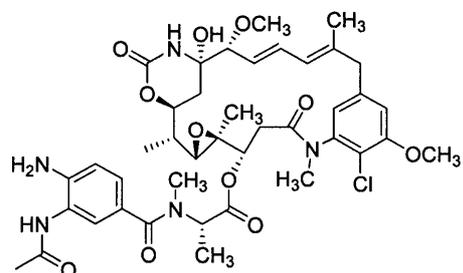
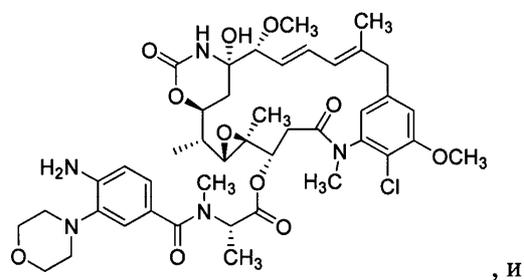
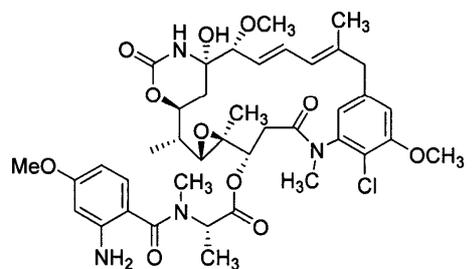
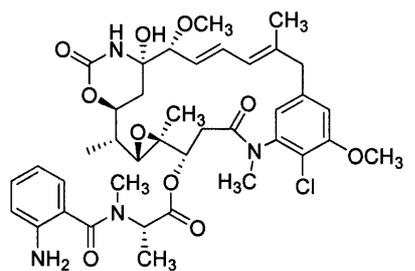


034950



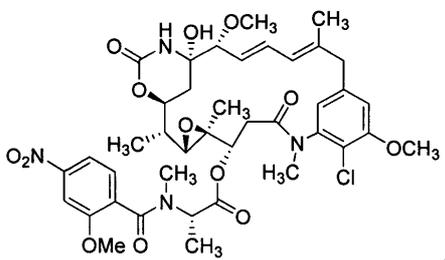
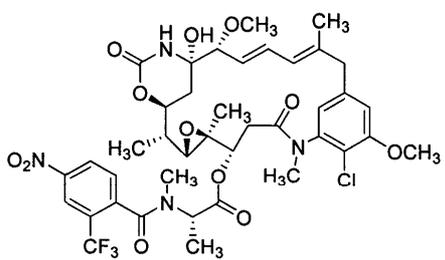
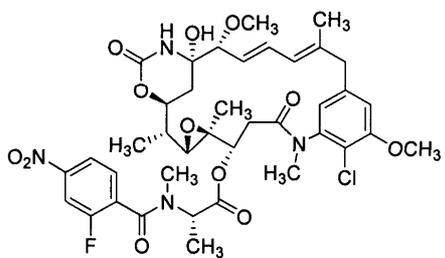
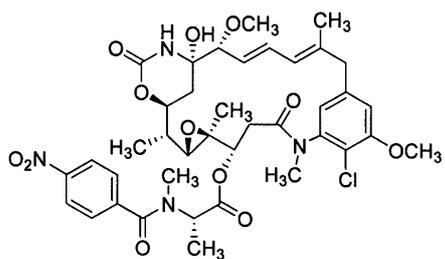
034950



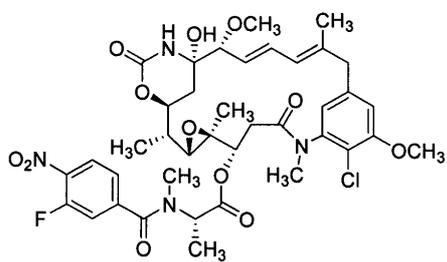
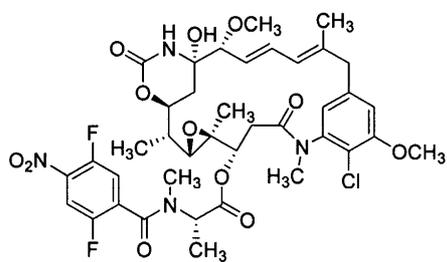
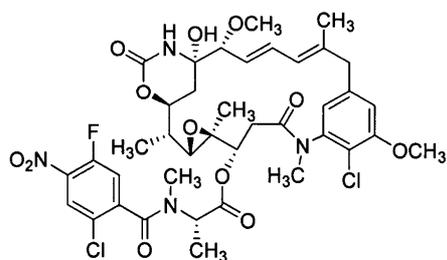
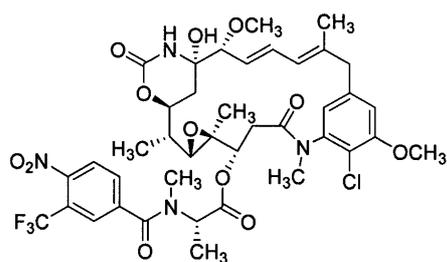


58. Соединение по п.26, где соединение выбирается из группы, состоящей из:

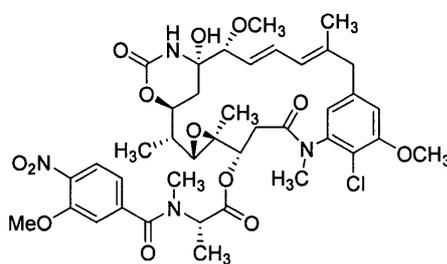
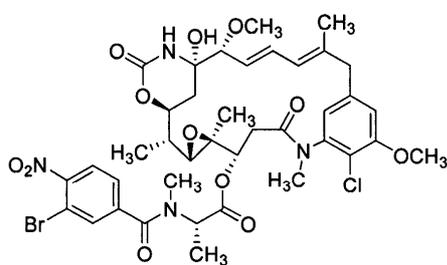
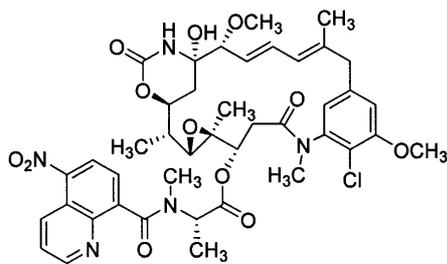
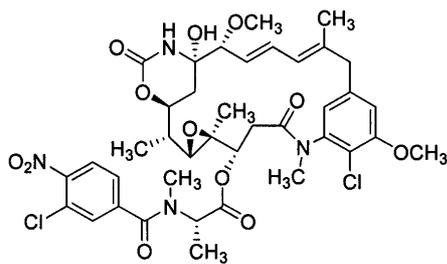
034950



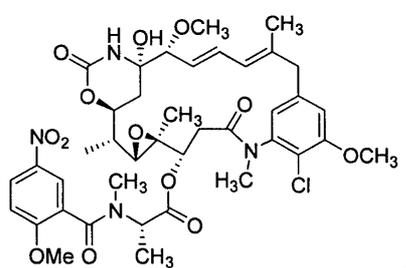
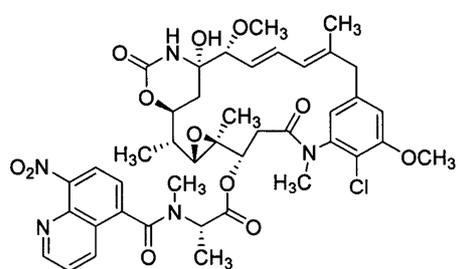
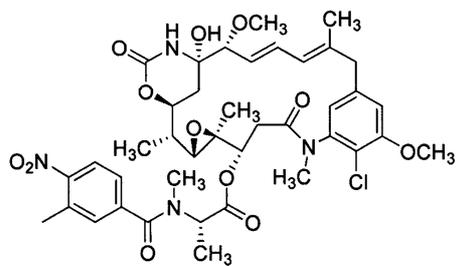
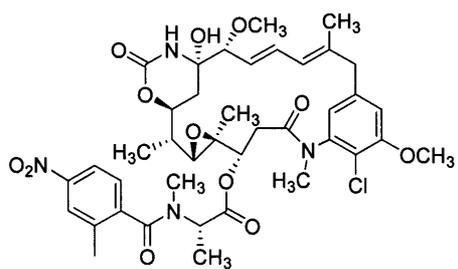
034950



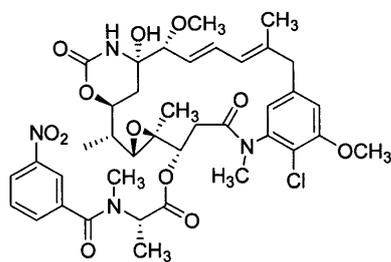
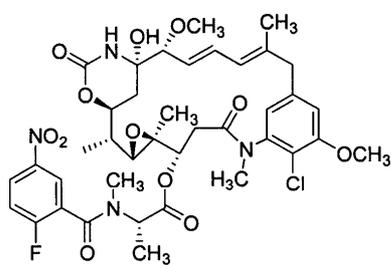
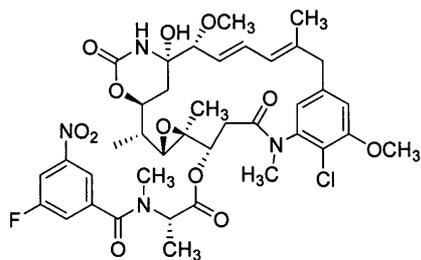
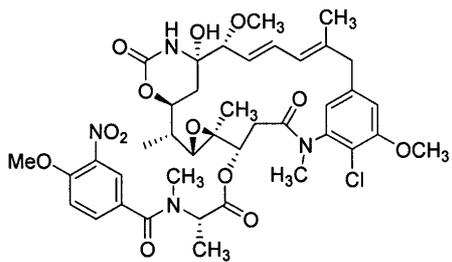
034950



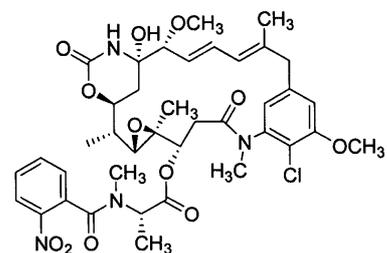
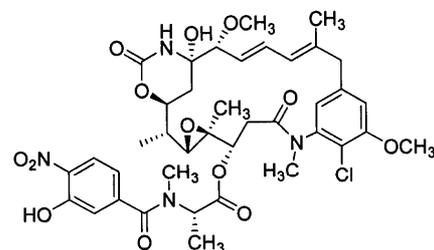
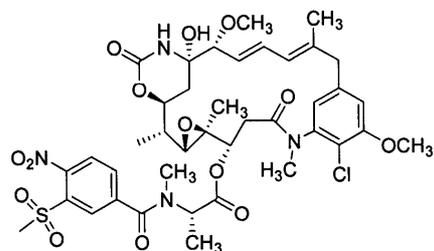
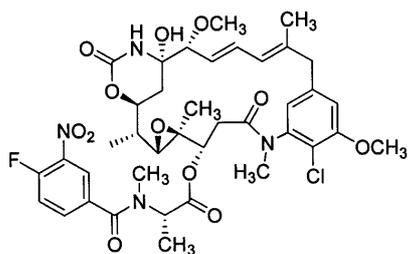
034950

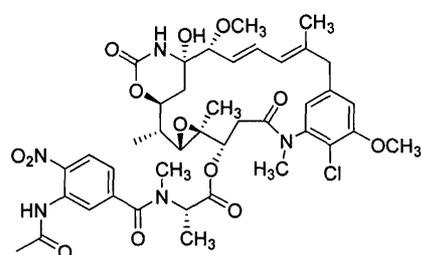
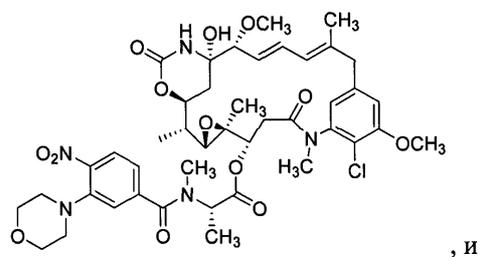
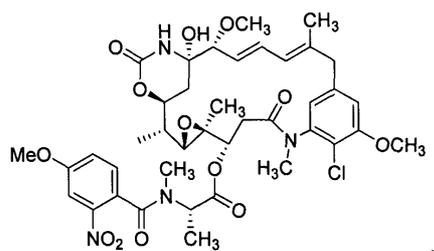


034950

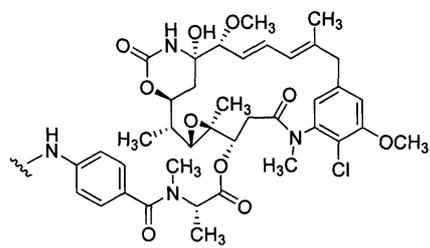


034950

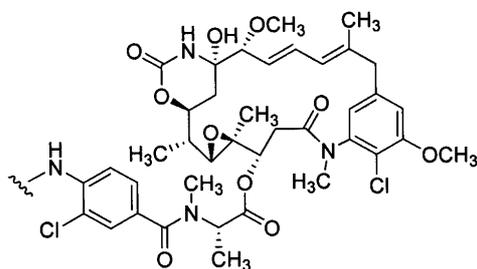
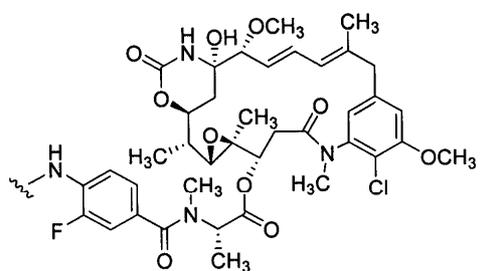
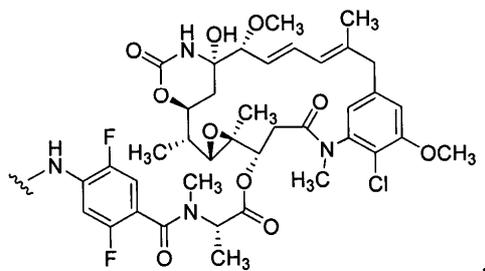
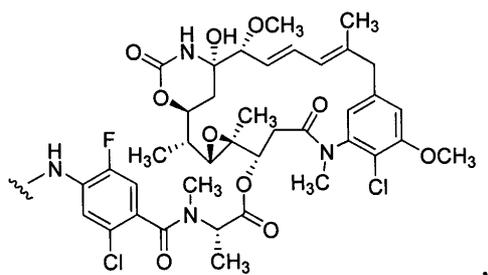


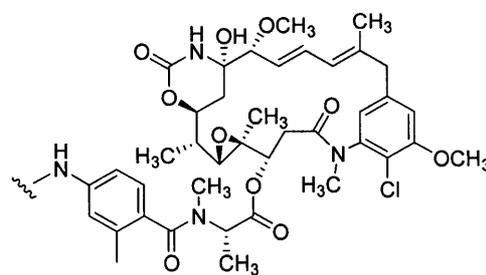
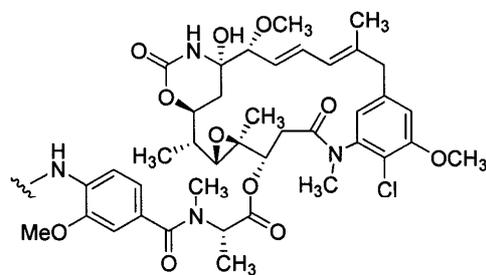
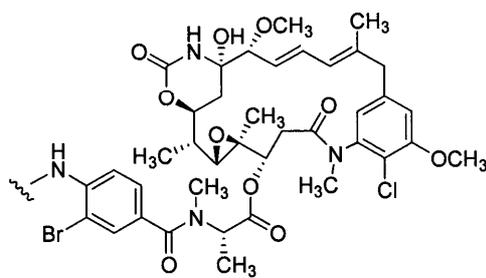
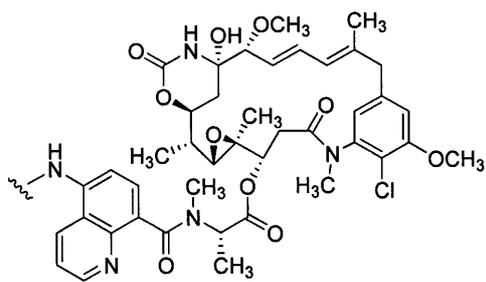


59. Конъюгат антительного лекарственного препарата, содержащий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированный с полезной нагрузкой через линкер, где полезная нагрузка выбирается из группы, состоящей из:

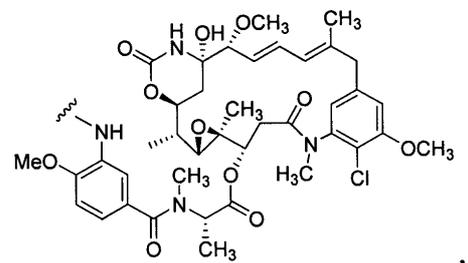
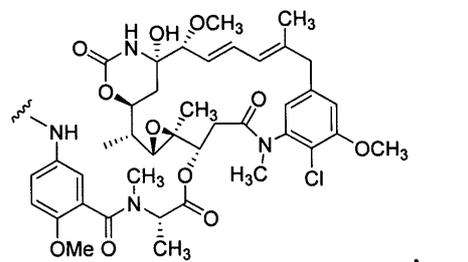
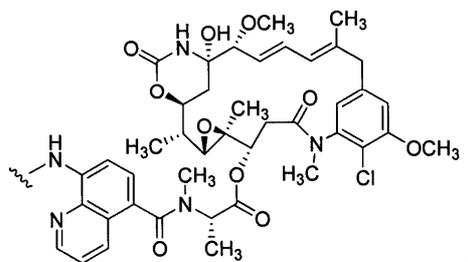
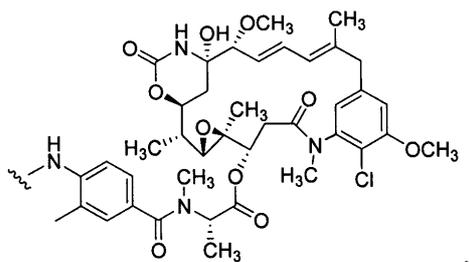




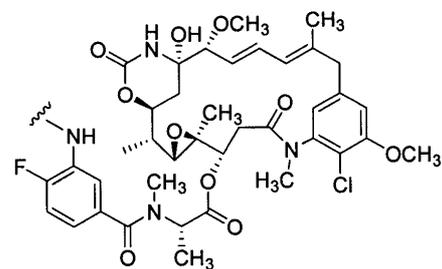
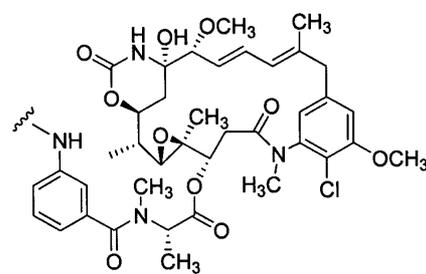
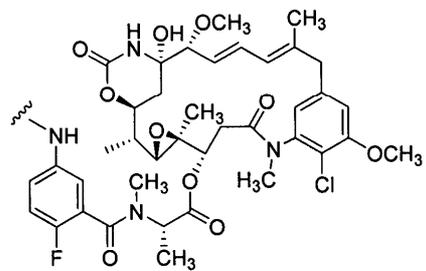
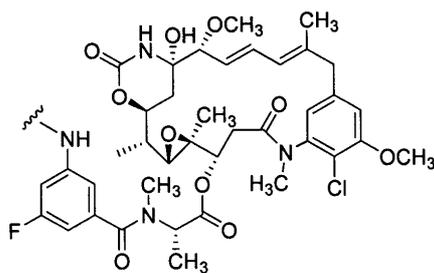


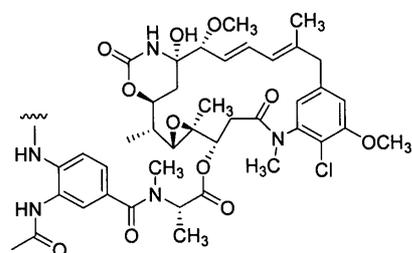
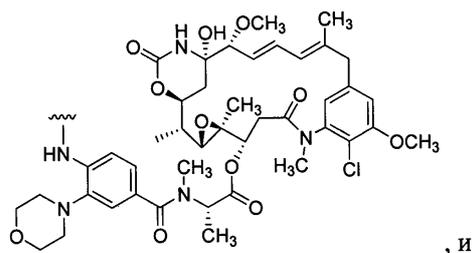
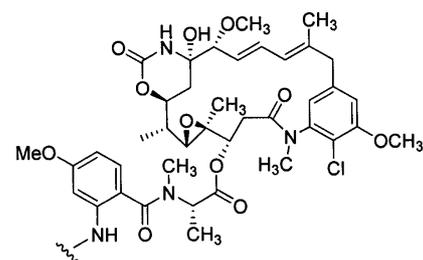
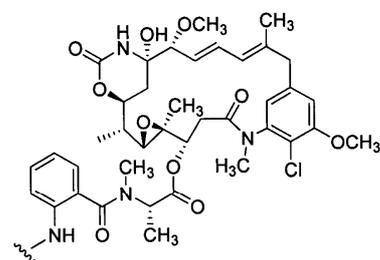
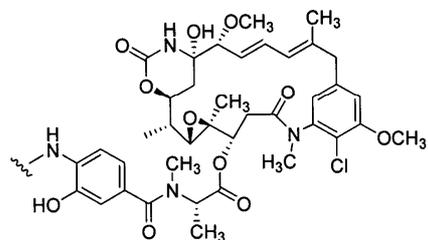
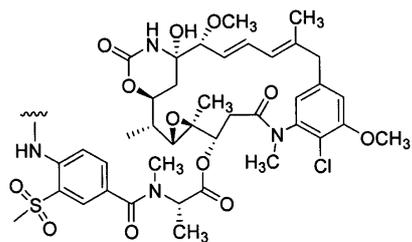


034950



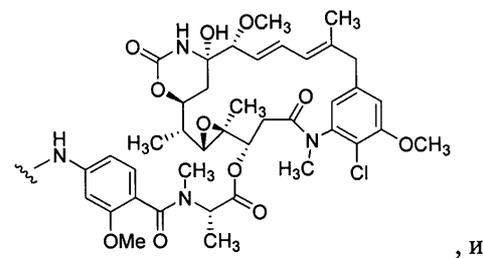
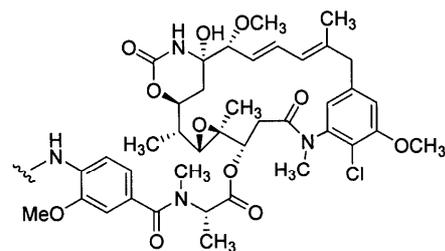
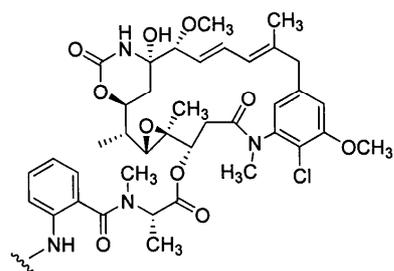
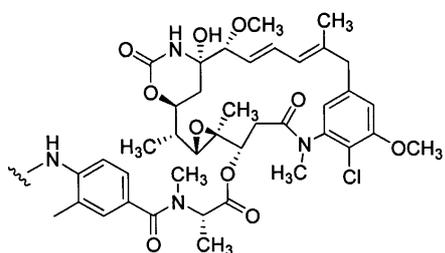
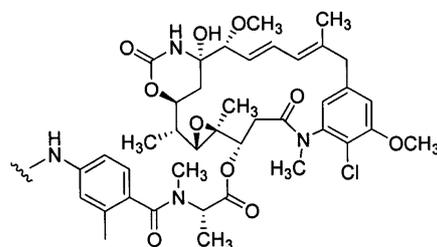
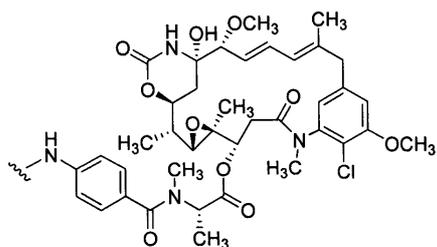
034950

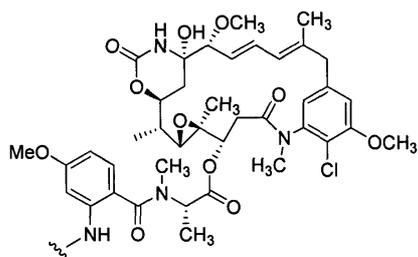




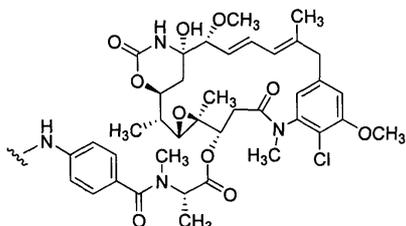
60. Конъюгат антитела по п.58, где полезная нагрузка выбирается из группы, состоящей из:

034950

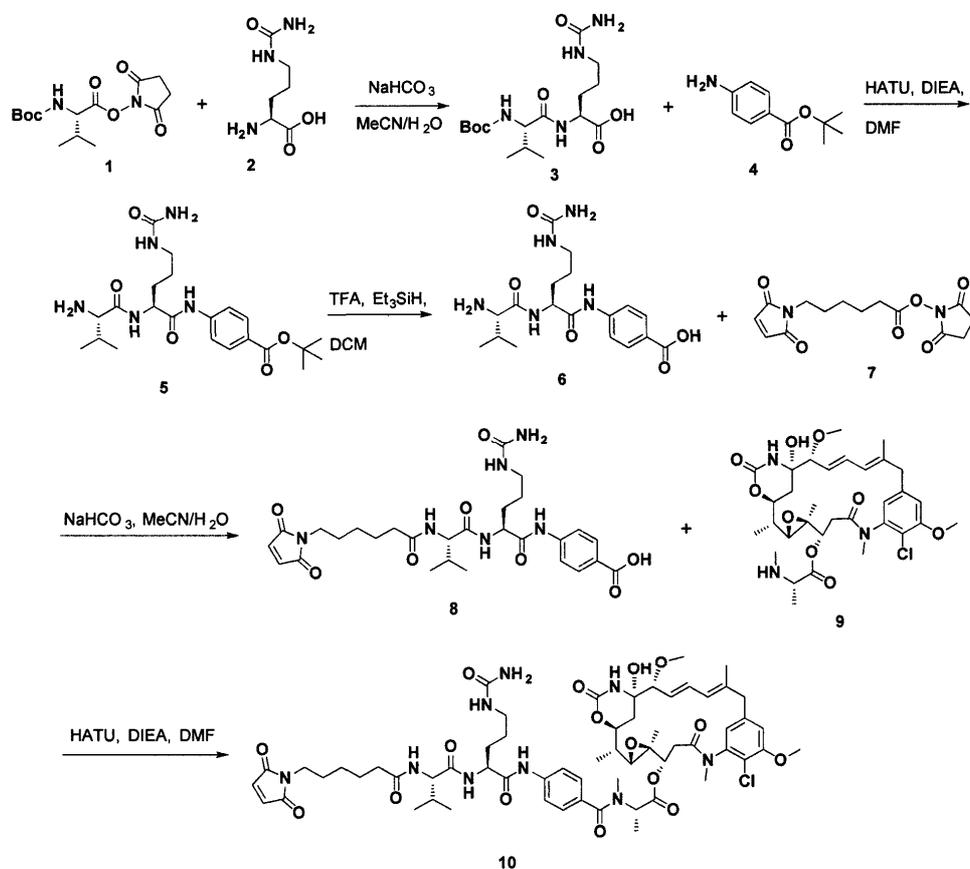
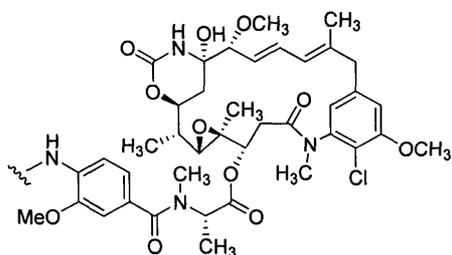




61. Конъюгат антитела по п.60, где полезная нагрузка представляет собой

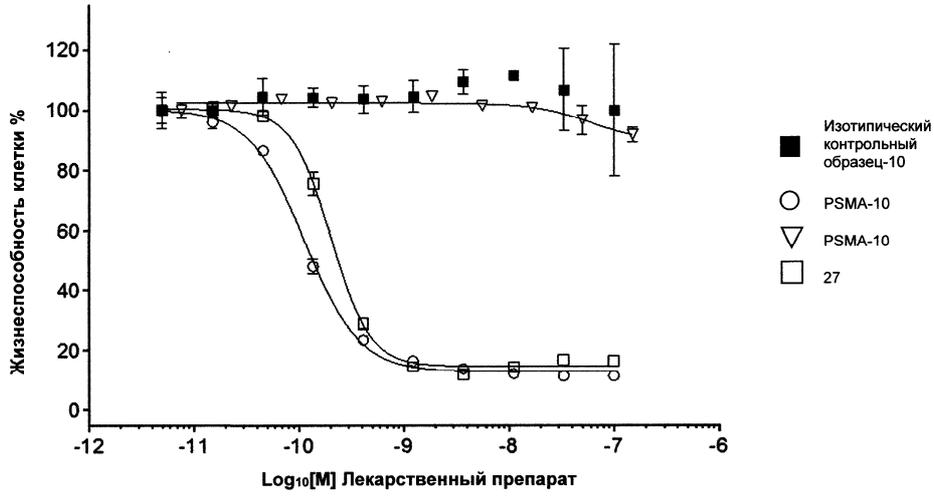


62. Конъюгат антитела по п.60, где полезная нагрузка представляет собой



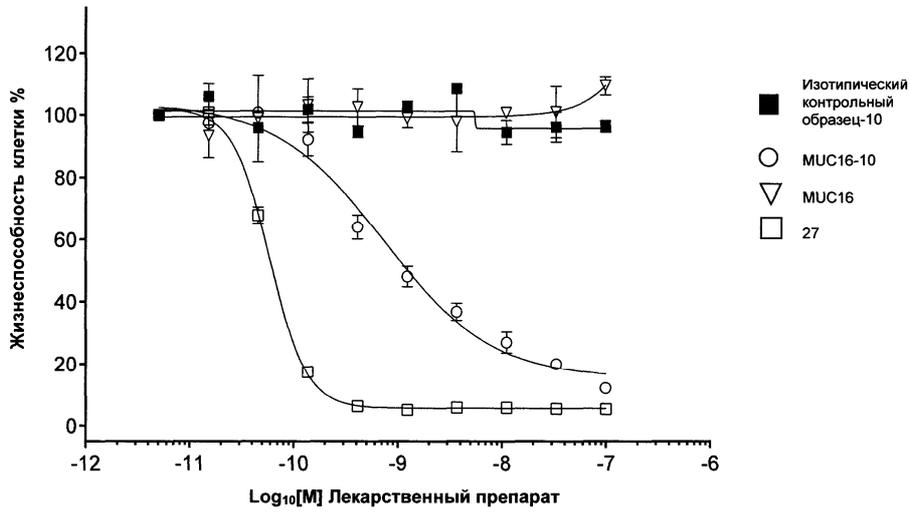
Фиг. 1

034950



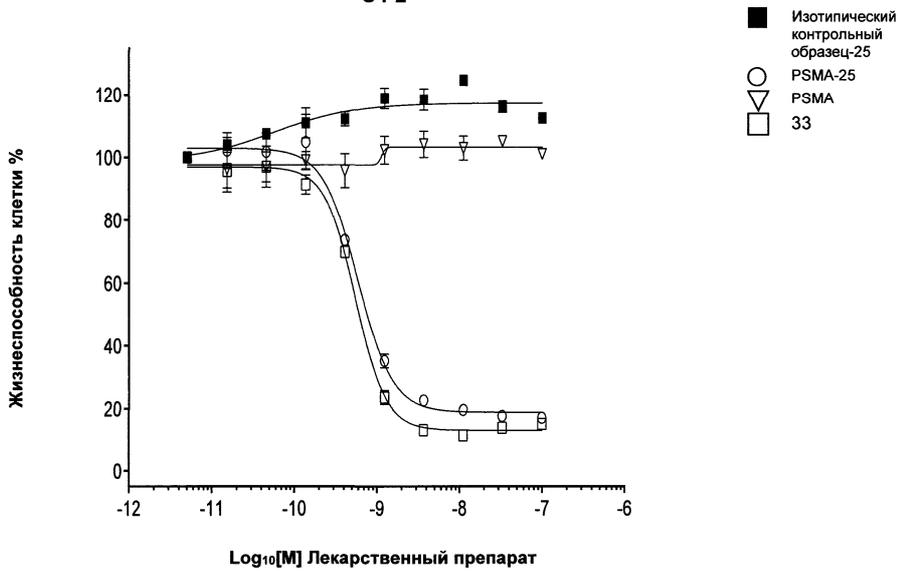
Фиг. 2

Ovcар3

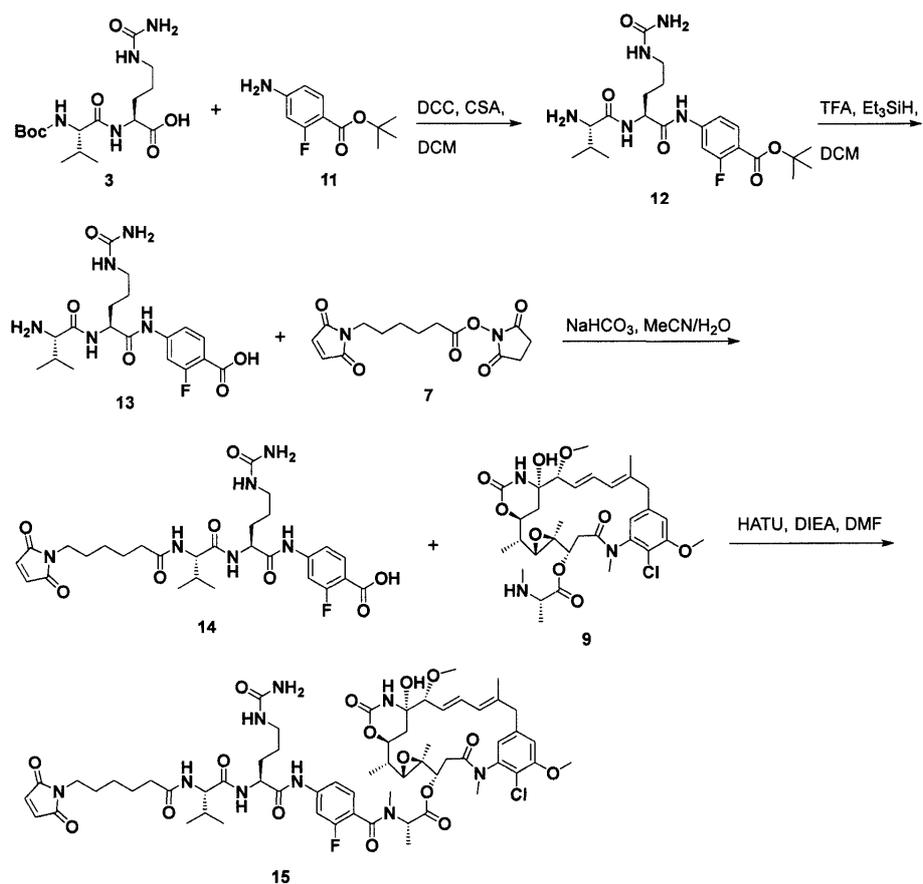
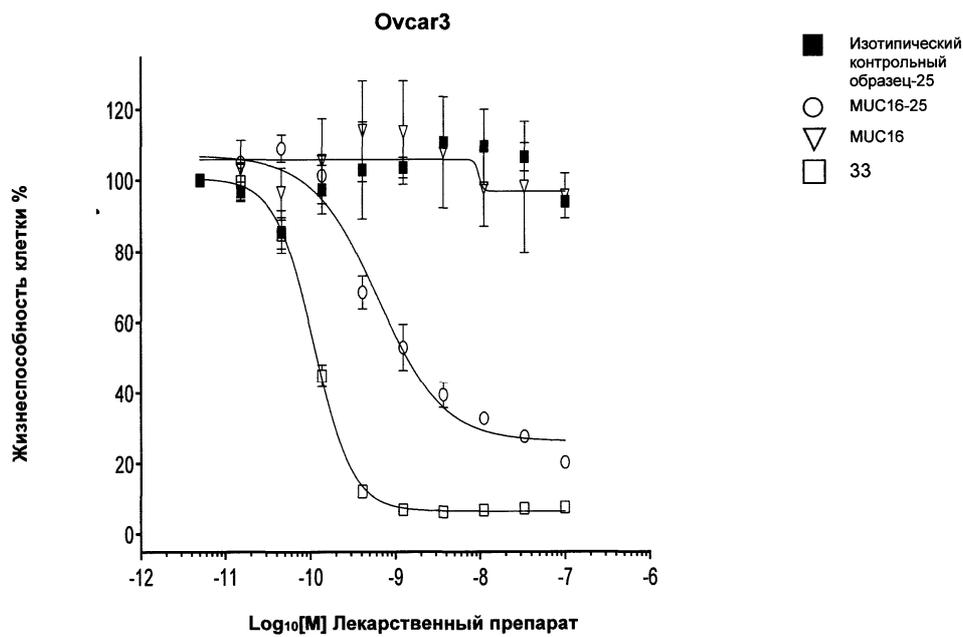


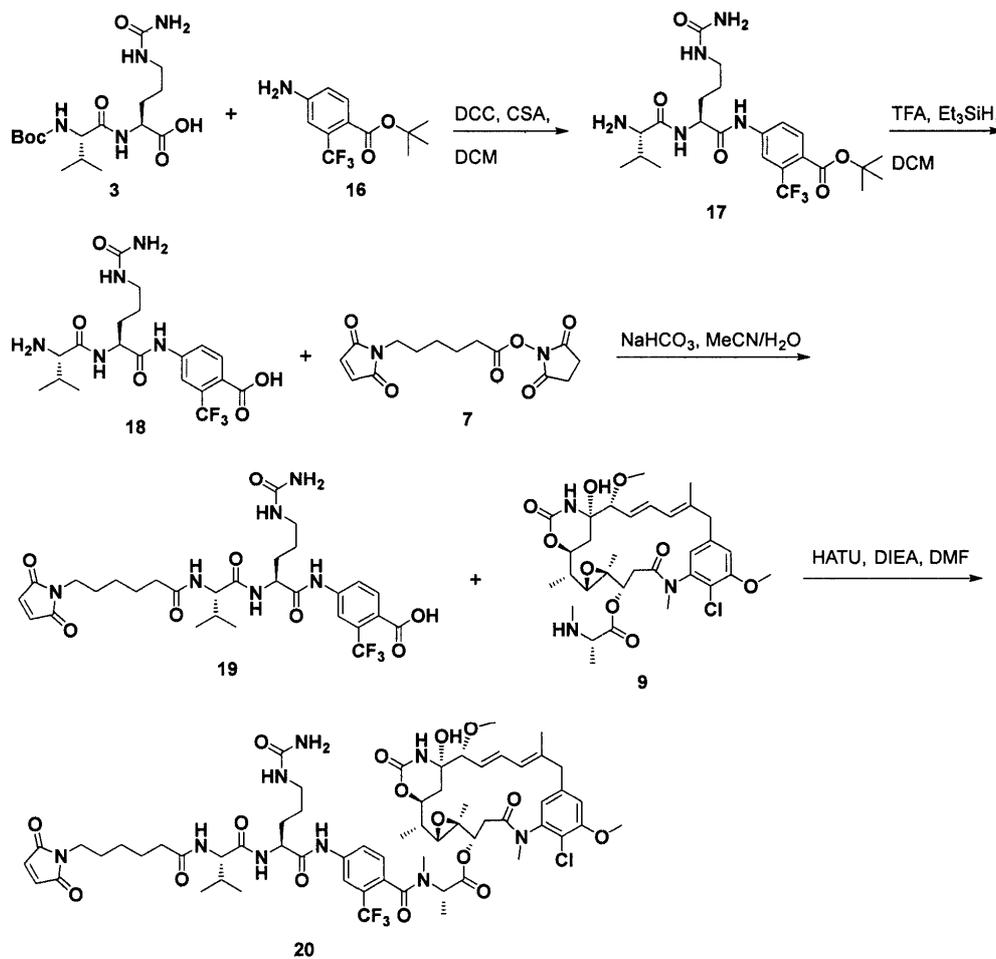
Фиг. 3

C4-2

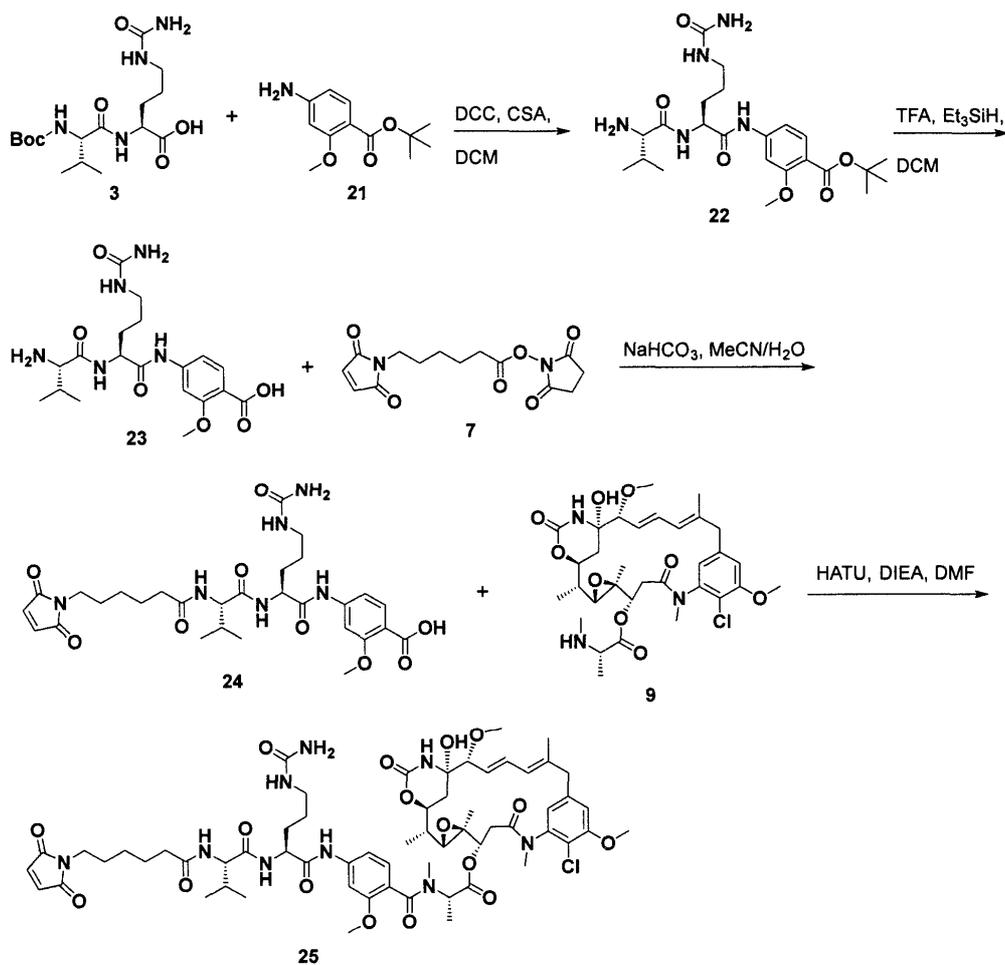


Фиг. 4

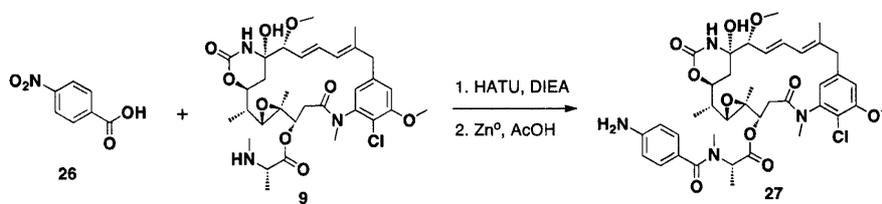




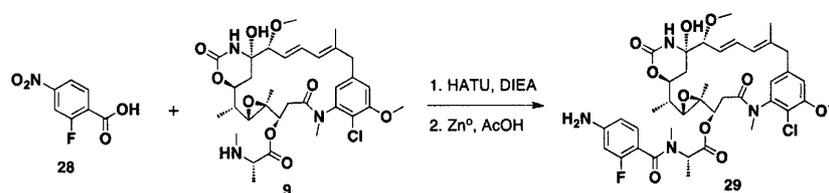
Фиг. 7



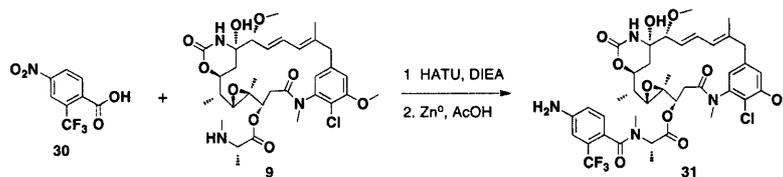
Фиг. 8



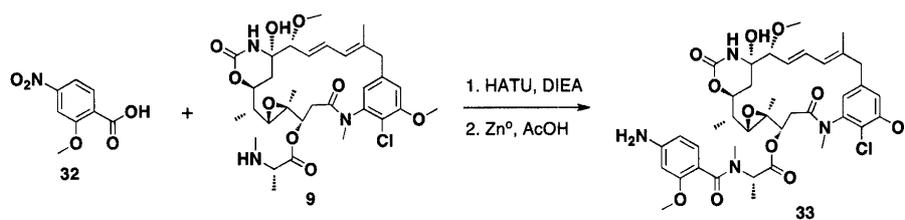
Фиг. 9



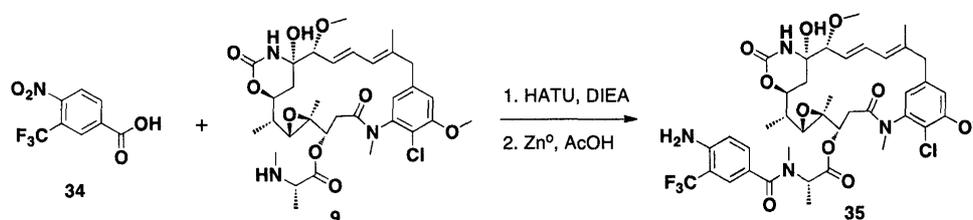
Фиг. 10



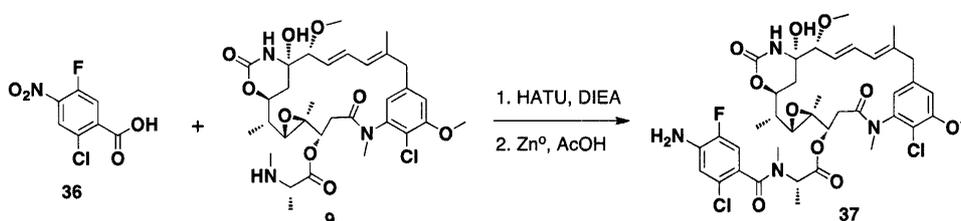
Фиг. 11



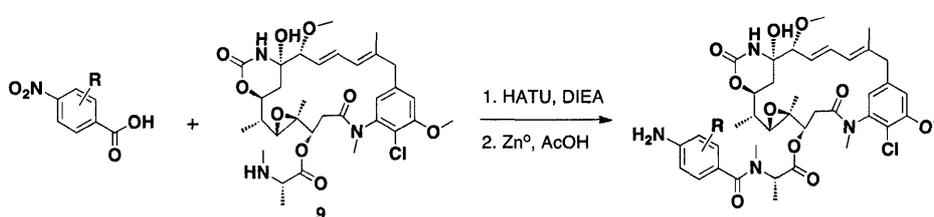
Фиг. 12



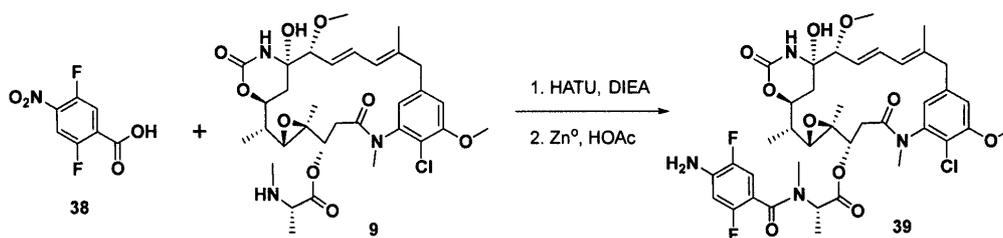
Фиг. 13



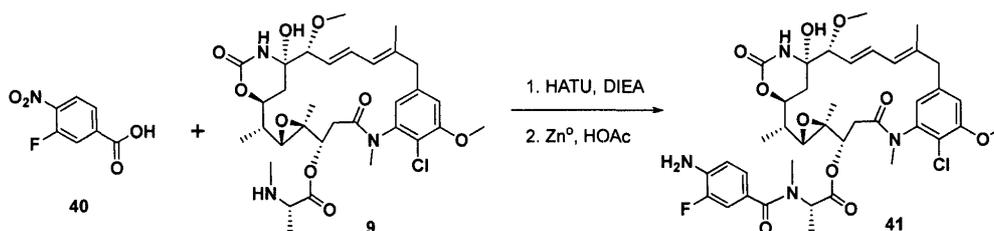
Фиг. 14



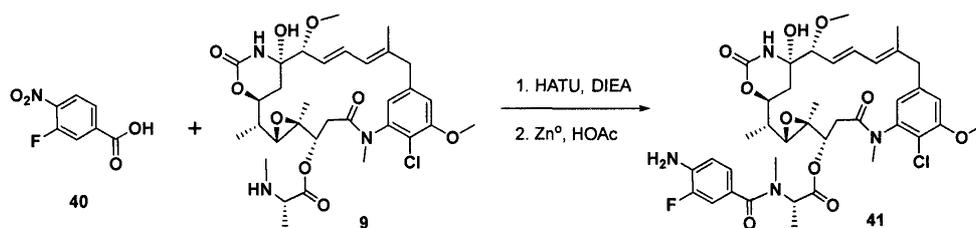
Фиг. 15



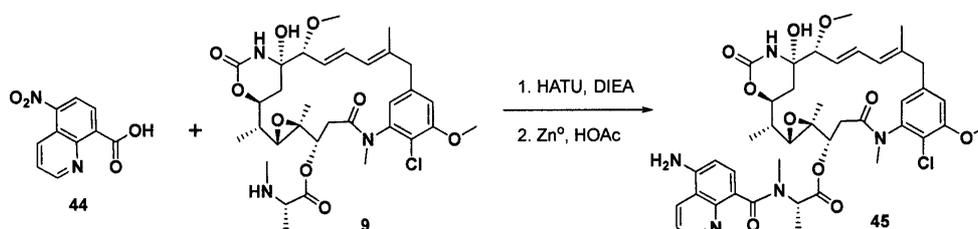
Фиг. 16



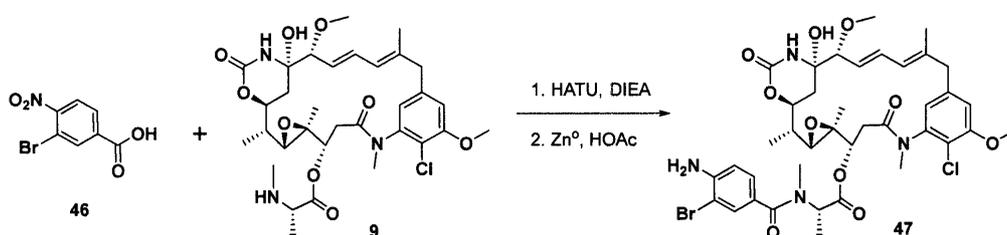
Фиг. 17



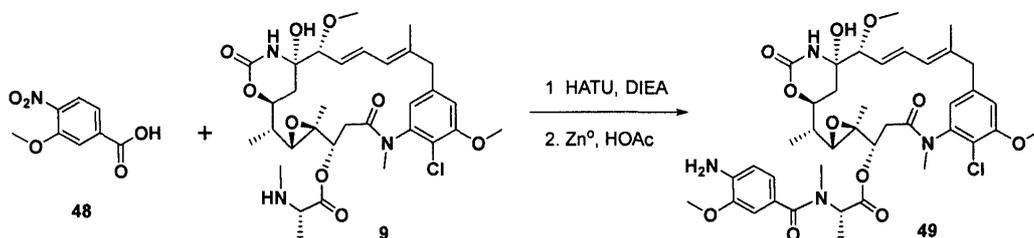
Фиг. 18



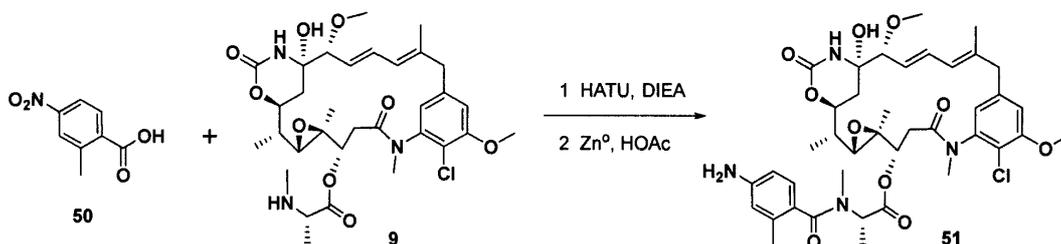
Фиг. 19



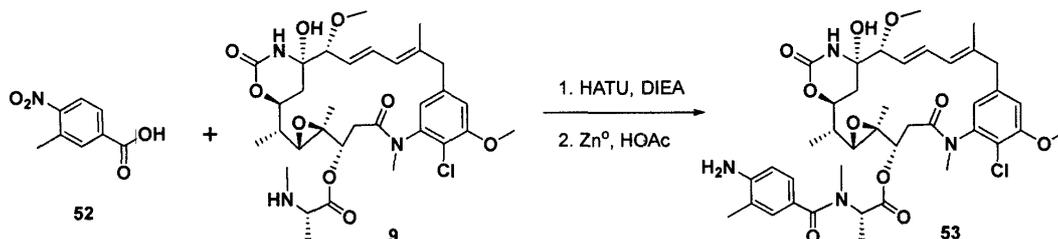
Фиг. 20



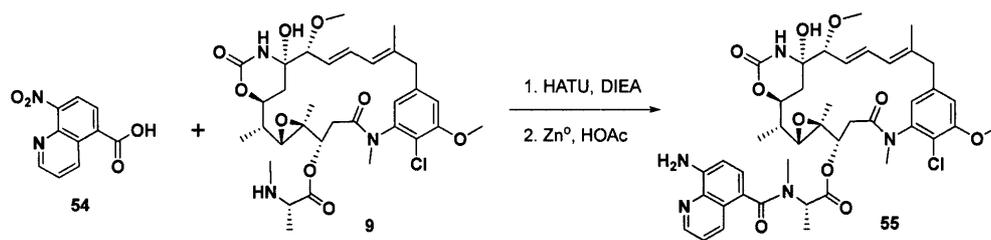
Фиг. 21



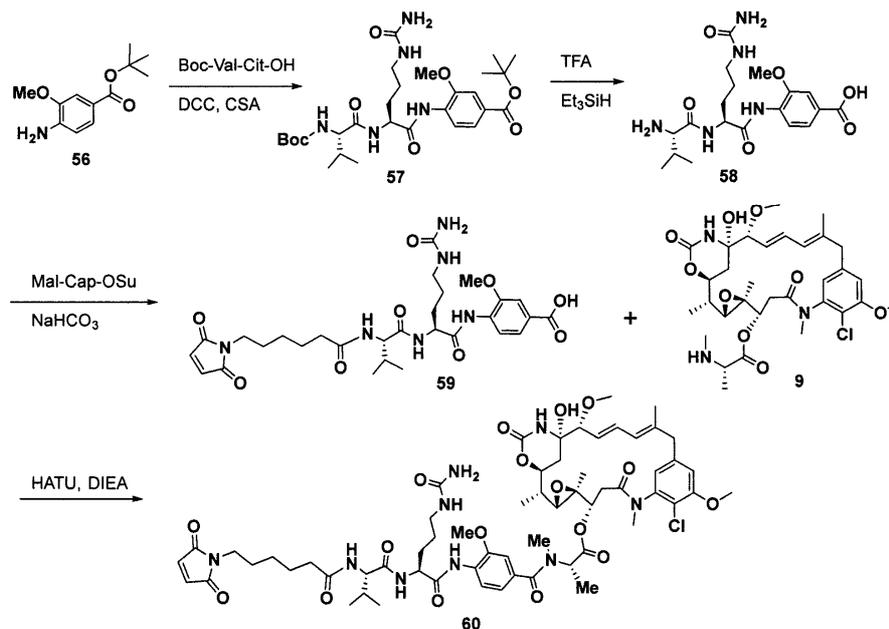
Фиг. 22



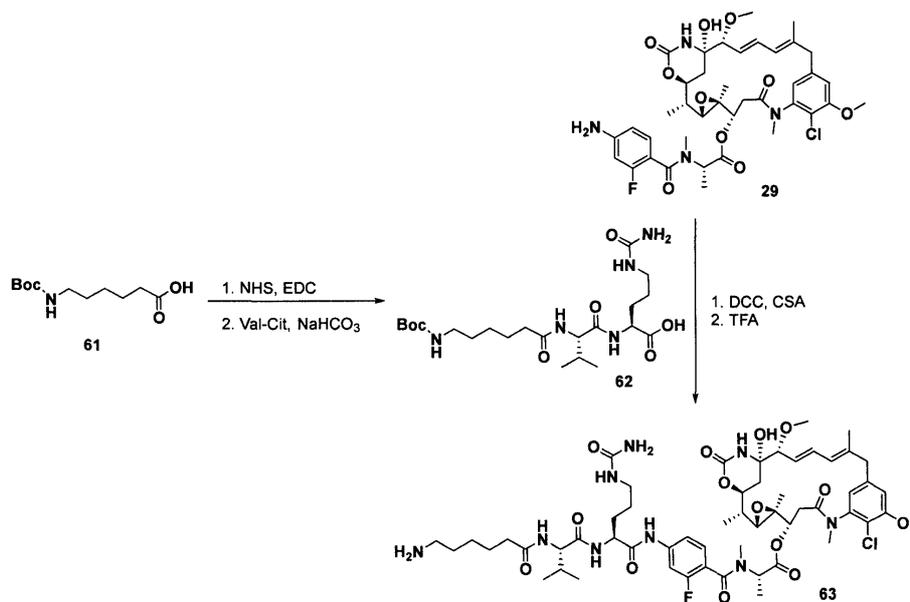
Фиг. 23



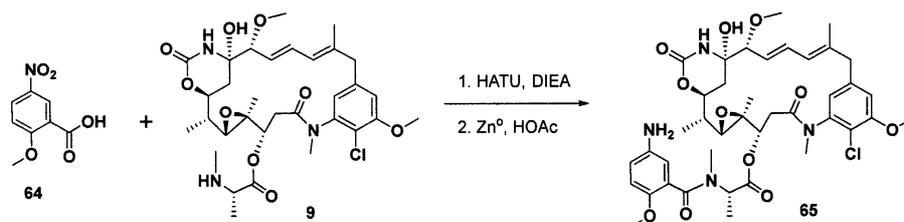
Фиг. 24



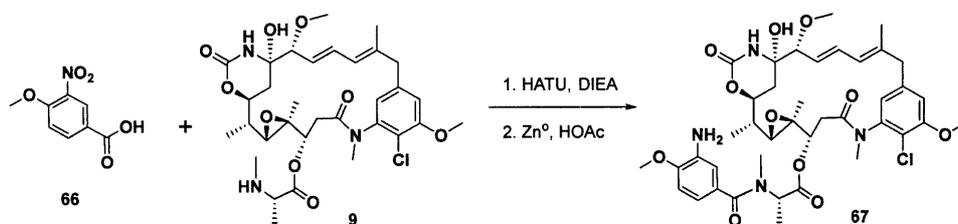
Фиг. 25



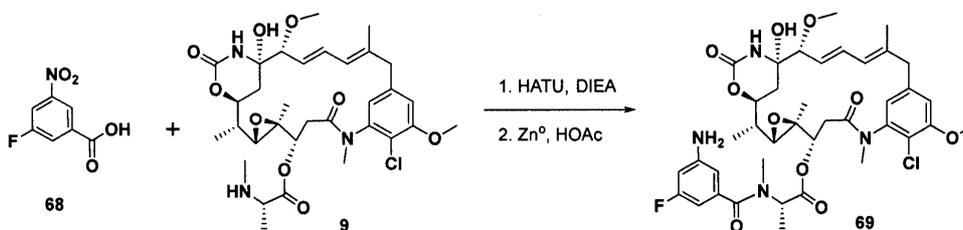
Фиг. 26



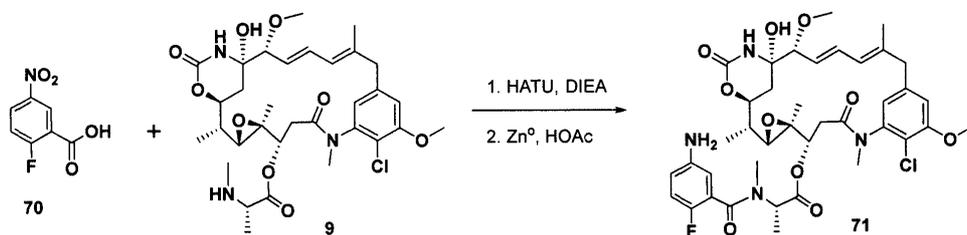
Фиг. 27



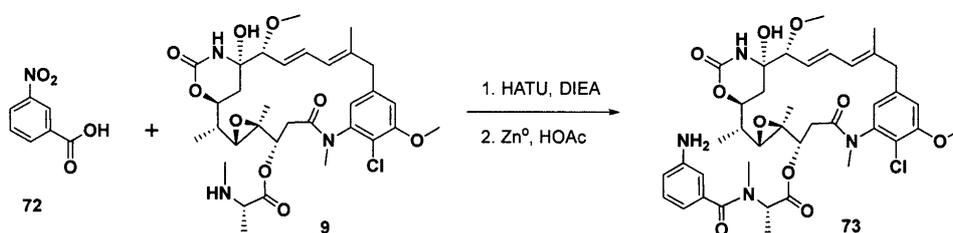
Фиг. 28



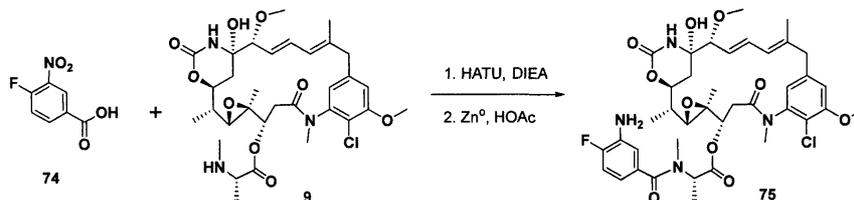
Фиг. 29



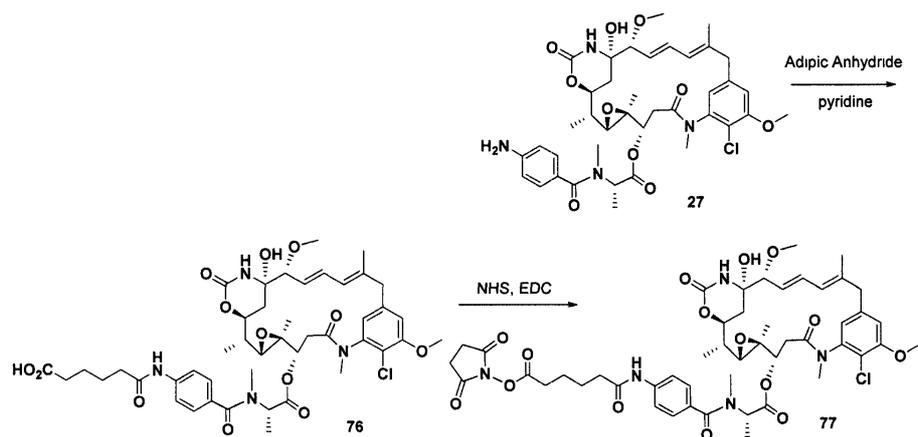
Фиг. 30



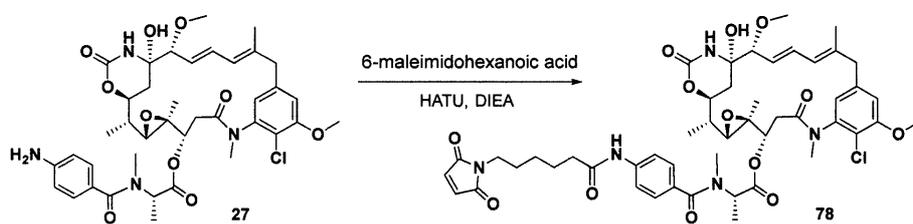
Фиг. 31



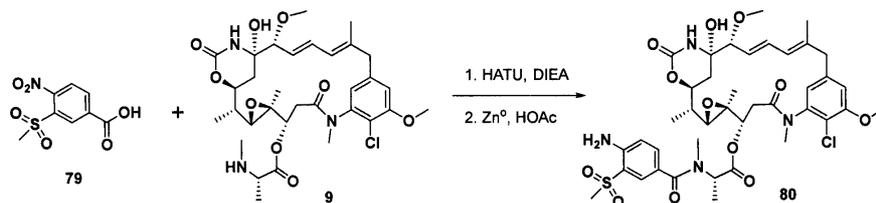
Фиг. 32



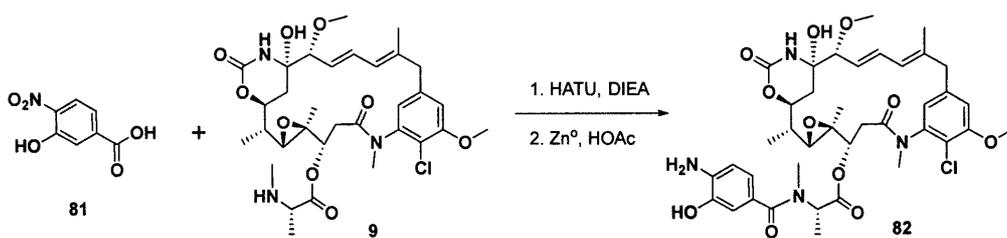
Фиг. 33



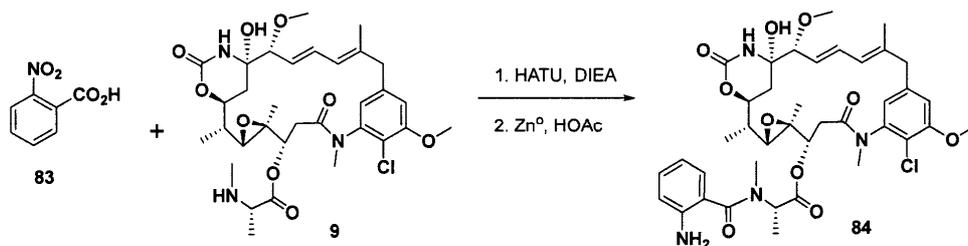
Фиг. 34



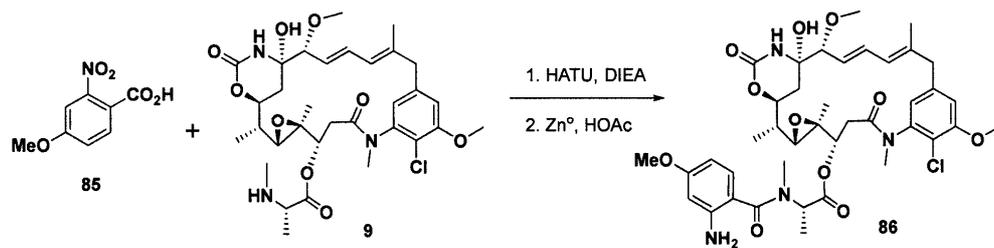
Фиг. 35



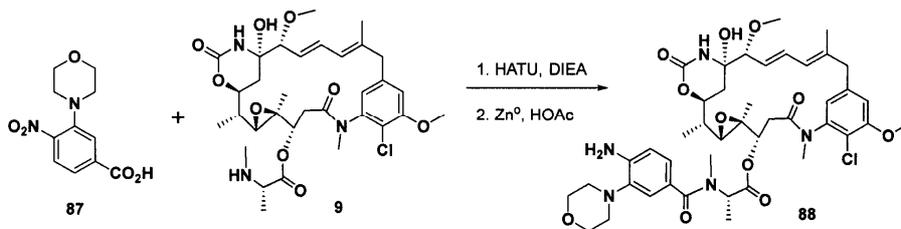
Фиг. 36



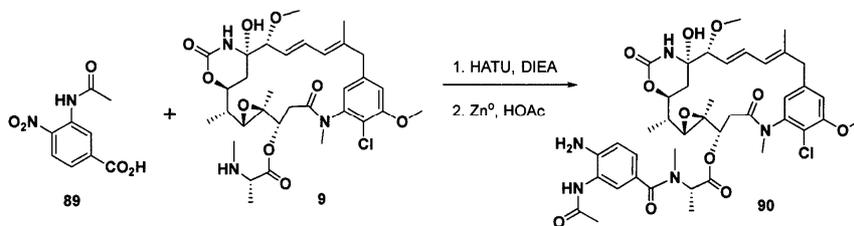
Фиг. 37



Фиг. 38

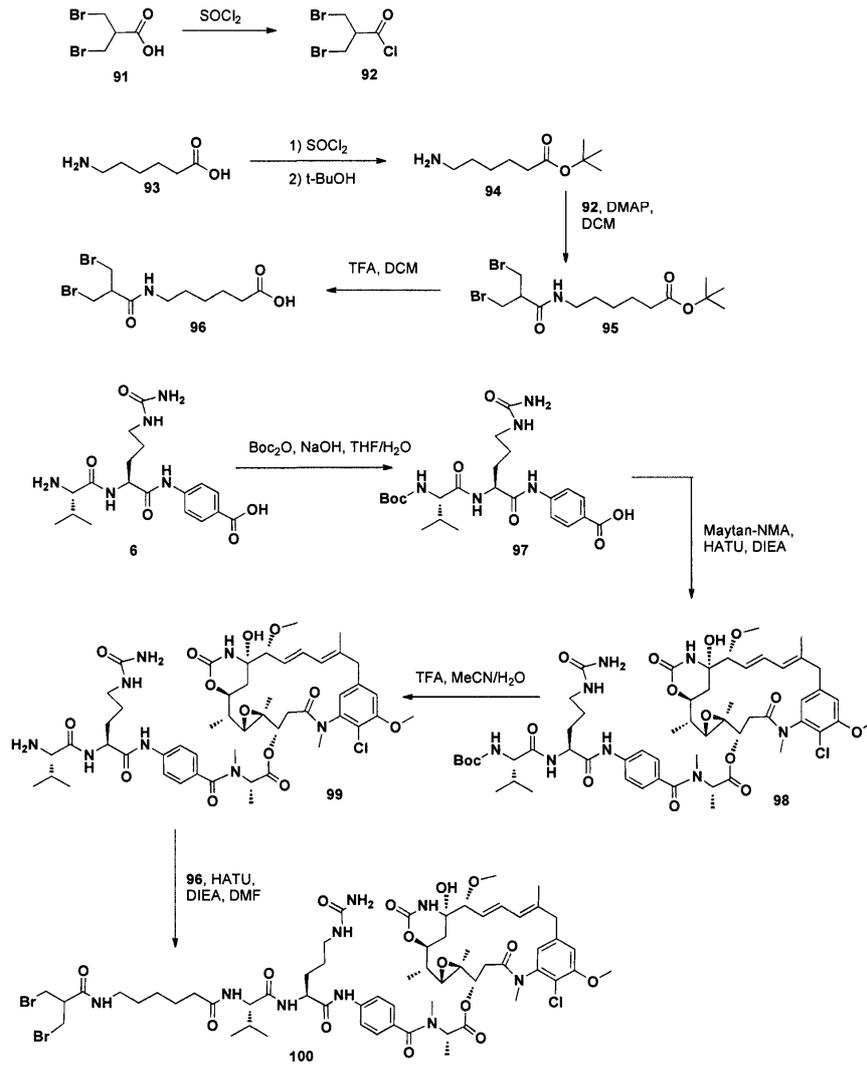


Фиг. 39

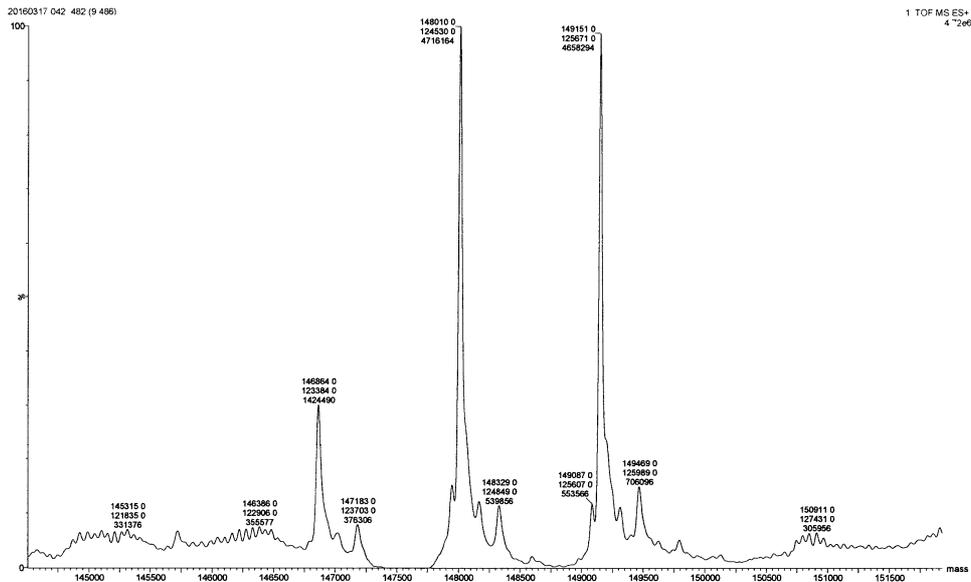


Фиг. 40

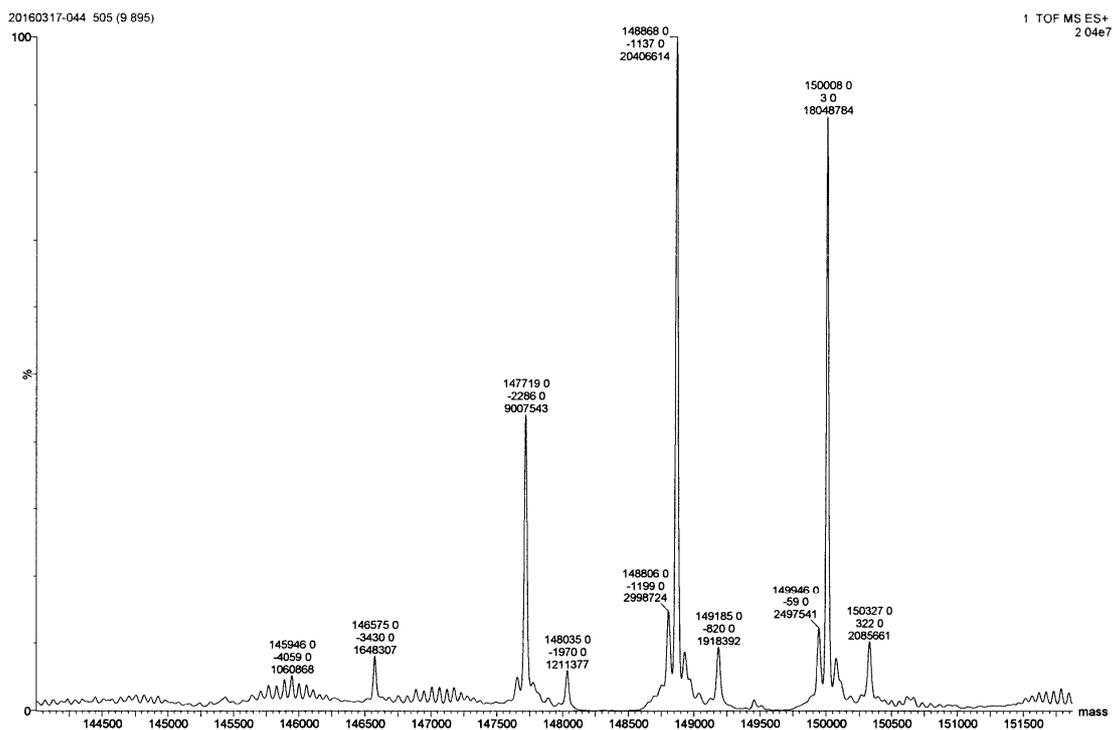
034950



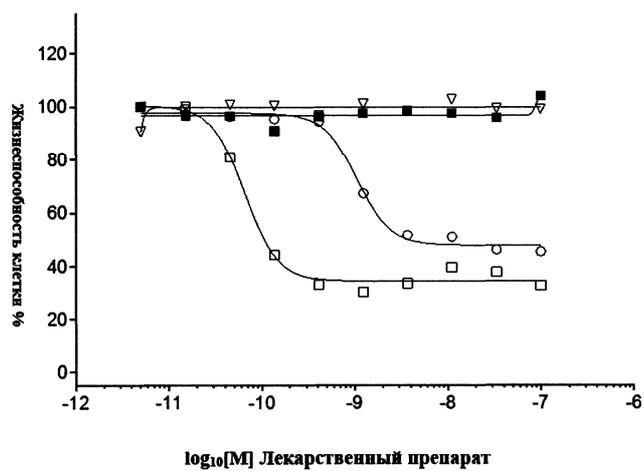
Фиг. 41



Фиг. 42

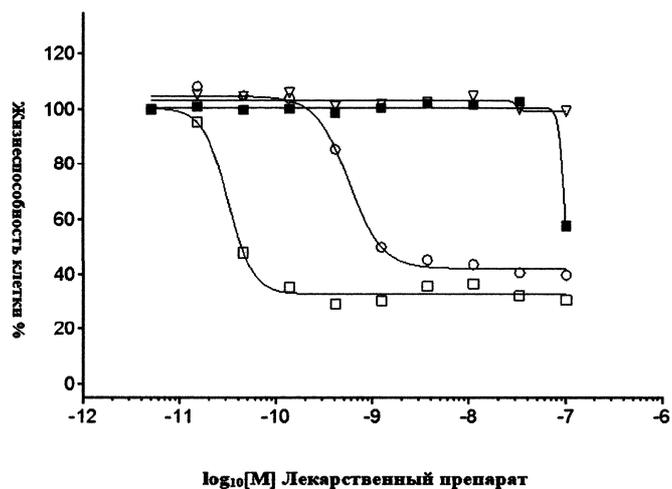


Фиг. 43



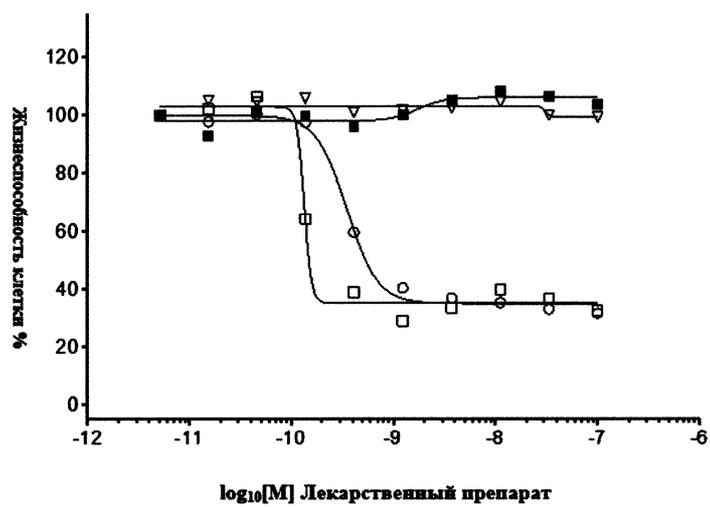
- Изотипический контрольный образец-Q-63  
 ○ PRLR-Q-63  
 ▽ PRLR-Q  
 □ 29

Фиг. 44



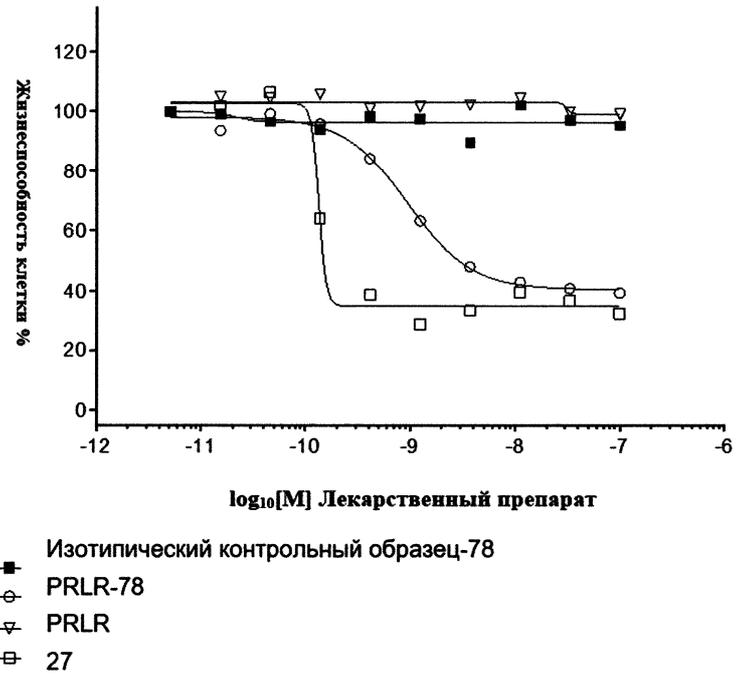
- Изотипический контрольный образец-60
- PRLR-60
- △ PRLR
- ◆ 49

Фиг. 45



- Изотипический контрольный образец-77
- PRLR-77
- △ PRLR
- ◆ 27

Фиг. 46



Фиг. 47

