

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201900562 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.05.12

(22) Дата подачи заявки
2018.05.09

(51) Int. Cl. C07C 233/90 (2006.01)
A61K 31/16 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(54) БИС-ОКТАГИДРОФЕНАНТРЕНА КАРБОКСАМИДЫ И ИХ БЕЛКОВЫЕ
КОНЬЮГАТЫ

(31) 62/508,327

(32) 2017.05.18

(33) US

(86) PCT/US2018/031910

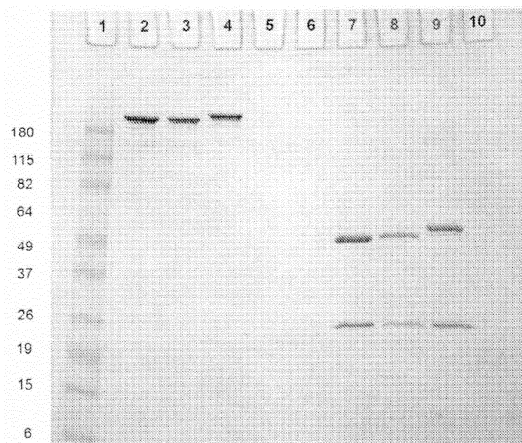
(87) WO 2018/213082 2018.11.22

(71) Заявитель:
РЕГЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Хан Эми, Мерфи Эндрю Дж., Олсон
Вильям (US)

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

(57) В настоящем документе представлены соединения, композиции и способы лечения заболеваний и нарушений, связанных с печеночным рецептором X, включающие бис-октагидрофенантрена карбоксамиды и их белковые конъюгаты (например, конъюгаты антитело-лекарственное средство).



A1

201900562

201900562

A1

БИС-ОКТАГИДРОФЕНАНТРЕНА КАРБОКСАМИДЫ И ИХ БЕЛКОВЫЕ КОНЬЮГАТЫ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННУЮ ЗАЯВКУ

[0001] Для настоящей заявки испрашивается приоритет согласно Разделу 35 Свода законов США § 119 в соответствии с предварительной заявкой США № 62/508,327, поданной 18 мая 2017 года, содержание которой включено в настоящий документ полностью посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ

[0002] В настоящем документе представлены новые бис-октагидрофенантрена карбоксамиды и их белковые конъюгаты, а также способы лечения различных заболеваний, нарушений и состояний, включающие введение бис-октагидрофенантрена карбоксамидов и их белковых конъюгатов.

ИЗВЕСТНЫЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) - антитела, которые присоединяются к биологически активным низкомолекулярным лекарственным средствам, объединяя таким образом направленную специфичность антител с механизмом действия и активностью низкомолекулярных лекарственных средств. Терапевтическая полезность ADC была подтверждена в лечении рака и в настоящее время является основным предметом исследований. ADCETRIS® (бентруксимаб ведотин) и KADCYLA® (адо-трастузумаб эмтанзин) - два ADC, разрешенные для лечения определенных типов рака, и в настоящее время минимум сорок ADC проходят клинические испытания.

[0004] Печеночный рецептор X (LXR) включает LXR α и LXR β , которые являются лиганд-зависимыми транскрипционными факторами, которые контролируют экспрессию генов, задействованных в гомеостазе холестерина, липидов и глюкозы, воспалительных процессах и врожденном иммунитете. LXR α экспрессируется на высоком уровне в тканях печени, кишечника, жировой ткани и дифференцированных макрофагах; а LXR β экспрессируется повсеместно. LXR имеют различные биологические функции, включая (i) стимулирование экспрессии транспортеров холестерина, например, ABCA1 и ABCG1, оба из которых опосредуют выведение холестерина из клеток; и (ii) негативную регуляцию экспрессии макрофагального гена воспаления посредством репрессии активации транскрипционного фактора NF- κ B. LXR также ингибируют атеросклероз, пролиферативные нарушения, нейродегенеративные нарушения и воспаление.

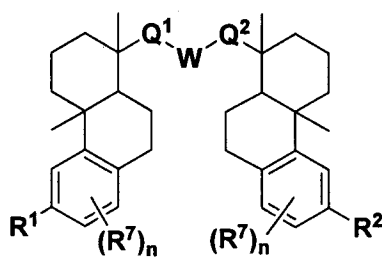
Пролиферативные нарушения включают меланомы, рак легких, плоскоклеточную карциному полости рта и рак простаты. (Pencheva *et al.* 2004; Wu *et al.* 2015; Kaneko *et al.* 2015; Chuu *et al.* 2006) Neurodegenerative disorders include Alzheimer's disease and myelin gene expression. (Terwel *et al.* 2011; Sandoval-Hernandez *et al.* 2016; Meffre *et al.* 2014). Воспаление включает воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, болезнь Крона и артрит. (Anderson *et al.* 2011; Huang *et al.* 2015; Cui *et al.* 2012). Известно, что макрофагальные LXR имеют антиантерогенную активность. Считается, что агонисты LXR способны (i) ингибировать начало и замедлять развитие атеросклероза; (ii) облегчать течение атеросклероза и стабилизировать появившиеся атеросклеротические повреждения; и (iii) уменьшать содержание макрофагов в повреждениях посредством апоптоза.

[0005] Терапевтический потенциал низкомолекулярных модуляторов LXR ограничивается, например, нежелательной модуляцией LXR в клетках, не являющихся мишенью, и/или низкой биодоступностью. Модуляция LXR в клетках, не являющихся мишенью, может привести к нежелательным побочным действиям, а низкая биодоступность может иметь место по множеству причин, включая, помимо прочего, низкую растворимость, которая в еще большей степени ухудшает плохие терапевтические окна для лечения. Разработка ADC, содержащих модуляторы LXR, обеспечила бы направленную модуляцию LXR, что позволило бы избежать побочных действий, вызванных нецелевой модуляцией LXR. Более того, такие ADC обеспечили бы улучшенную модуляцию биологических мишеней, улучшенную биодоступность и улучшенное терапевтическое окно. Таким образом, в настоящее время сохраняется необходимость в эффективном лечении, например, нарушений метаболизма с использованием низкомолекулярных ADC модуляторов LXR.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] В настоящем документе представлены соединения, полезные, например, для лечения нарушений метаболизма, включая, помимо прочего, дислипидемию. Также здесь представлены соединения, полезные, например, для лечения воспаления или нейродегенеративного заболевания. Приведенные здесь соединения соответствуют Формуле I.

[0007] В одном варианте осуществления здесь приведены соединения, соответствующие Формуле I:



(I)

или их фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма, где

в каждом случае Q^1 и Q^2 независимо включает $-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, $-\text{C}(\text{OH})_2-$, $-\text{SO}_2-$, $-\text{SO}-$, $-\text{PO}(\text{OR}^{11})-$, $-\text{PO}(\text{NR}^{11}\text{NR}^{12})-$, $-\text{NR}^{11}-$ или $-\text{N}=\text{}$;

W включает $-\text{CH}_2-$, $-\text{N}(\text{H})-$ или $-\text{O}-$;

R^1 включает $-\text{H}$, $-\text{OR}^6$, $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, алкил или $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)_2$;

R^2 включает $-\text{H}$, $-\text{OH}$, $-\text{OR}^{11}$, галогенид, $-\text{SO}_2\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, $-\text{CONR}^{11}\text{R}^{12}$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-\text{O}-R^5$, где R^1 и R^2 одновременно не означают $-\text{H}$;

R^3 включает $-\text{N}(\text{R}^6)_2$;

R^4 включает $-\text{X}-\text{Y}-\text{Z}$;

X включает группу, состоящую из $-\text{O}-$ и $-\text{N}(\text{H})-$;

Y включает группу, состоящую из алкилена, замещенного алкилена (включая оксо, т.е. $=\text{O}$), гетероалкилена и замещенного гетероалкилена (включая оксо, т.е. $=\text{O}$);

Z включает группу, состоящую из $-\text{OH}$ и $-\text{NH}_2$;

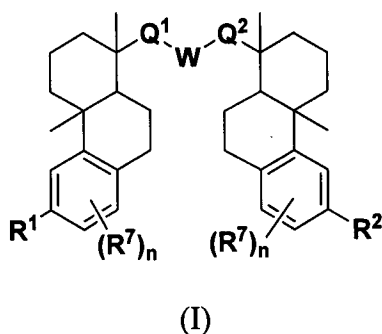
R^5 включает алкил, гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил, где в каждом случае гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил содержит один, два или три гетероатома, выбранных из азота и кислорода, и включает минимум один $-\text{OH}$ или $-\text{CH}_2\text{OH}$ или минимум один первичный или вторичный азот;

каждый R^6 независимо включает в каждом случае $-\text{H}$, аминокислотный остаток, *N*-алкильный аминокислотный остаток, пептид, биоразлагаемый фрагмент или алкил;

в каждом случае R^7 независимо включает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-\text{CN}$, O -глюкозу, O -аминокислотный остаток и $\text{O}-\text{PEG}_n$, где в каждом случае n означает целое число от 0 до 3; и

в каждом случае R^{11} и R^{12} независимо выбираются из $-\text{H}$, алкила и арила.

[0008] В одном варианте осуществления здесь приведены соединения, соответствующие Формуле I:



или их фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма, где

в каждом случае Q^1 и Q^2 независимо включает $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$ или $-C(OH)_2-$;

W включает $-CH_2-$, $-N(H)-$ или $-O-$;

R^1 включает $-H$, $-OH$, $-NH_2$, алкил или $-OP(O)(OR^6)_2$;

R^2 включает $-H$, $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$, где R^1 и R^2 одновременно не означают $-H$;

R^3 включает $-N(R^6)_2$;

R^4 включает $-X-Y-Z$;

X включает группу, состоящую из $-O-$ и $-N(H)-$;

Y включает группу, состоящую из алкилена, замещенного алкилена (включая, помимо прочего, замещение оксо (т.е. $=O$)), гетероалкилена и замещенного гетероалкилена (включая, помимо прочего, замещение оксо (т.е. $=O$));

Z включает группу, состоящую из $-OH$ и $-NH_2$;

R^5 включает алкил, гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил, где в каждом случае гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил включает один, два или три гетероатома, выбранных из азота и кислорода, и включает минимум один $-OH$ или $-CH_2OH$ заместитель или минимум один первичный или вторичный азот, например, O -глюкозу;

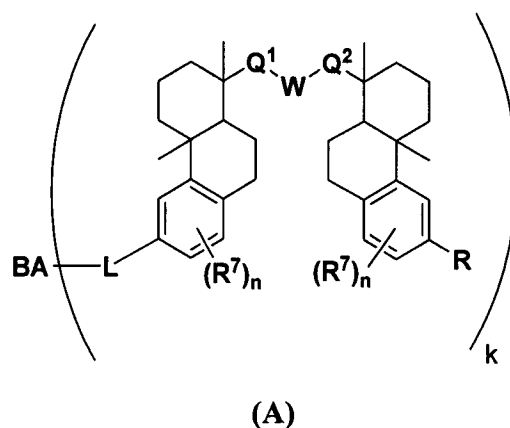
в каждом случае R^6 независимо включает в каждом примере $-H$, аминокислотный остаток, N -алкильный аминокислотный остаток, пептид или алкил; и

в каждом случае R^7 независимо включает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-CN$, O -глюкозу, O -аминокислотный остаток и O -PEG_n, где в каждом случае n является целым числом от 0 до 3.

[0009] В другом варианте осуществления здесь представлена линкер-нагрузка, имеющая соединение, соответствующее выше приведенной Формуле I.

[0010] В другом варианте осуществления здесь представлен конъюгат антитело-лекарственное средство, имеющий соединение Формулы I или выше приведенную линкер-нагрузку, связанную с антителом или с его антигенсвязывающим фрагментом.

[0011] В одном варианте осуществления здесь приведены соединения, соответствующие Формуле A:



или их фармацевтически приемлемая соль или стереоизометрическая форма, где

L означает линкер;

BA означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

в каждом случае Q^1 и Q^2 независимо означает $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$ или $-C(OH)_2-$;

W означает $-CH_2-$, $-N(H)-$ или $-O-$;

R независимо означает $-H$, $-OH$ или $-OP(O)(OR^6)_2$; и

в каждом случае R^6 независимо в каждом примере означает $-H$, аминокислотный остаток, N -алкильный аминокислотный остаток, пептид или алкил; и

в каждом случае R^7 независимо означает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-CN$, O -глюкозу, O -аминокислотный остаток и O -PEG_n, где в каждом случае n является целым числом от 0 до 3.

[0012] В другом варианте осуществления здесь представлена фармацевтическая композиция, включающая описанные здесь соединение, линкер-нагрузку или конъюгат антитело-лекарственное средство и фармацевтически приемлемый наполнитель, носитель или разбавитель.

[0013] В другом варианте осуществления здесь представлен способ лечения дислипидемии, нарушения метаболизма, воспаления или нейрогенеративного заболевания у субъекта, включая введение субъекту эффективного терапевтического количества соединения, линкера-нагрузки или конъюгата антитело-лекарственное средство или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе.

[0014] В другом варианте осуществления здесь представлены способы приготовления соединений, линкер-нагрузок или конъюгатов антитело-лекарственное средство и композиций, описанных в настоящем документе.

КРАТКИЕ ОПИСАНИЯ ИЛЛЮСТРАЦИИ

[0015] На ФИГ. 1, 1a-1i, 2, 3a-3e и 4-10 показаны схемы синтетической химии для бис-октагидрофенантрена карбоксамидов, линкеров-нагрузок на основе циклодекстрина и их белковых конъюгатов.

[0016] На ФИГ. 11 показан окрашенный кумасси гель для электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия анти-Her2 антитела, анти-Her2-PEG₃-N₃ и анти-Her2-LP8.

[0017] На ФИГ. 12 показана гель-проникающая хроматография (ГПХ) анти-Her2 Ab, анти-Her2-PEG₃-N₃ и анти-Her2-LP8.

[0018] На ФИГ. 13 показана Активация генов ABCA1 и ABCG1 агонистами LXR.

[0019] На ФИГ. 14 показаны EC₅₀ значения при использовании четырехпараметрического логистического уравнения на 10-точечной кривой "доза-эффект".

[0020] На ФИГ. 15 приведен график, иллюстрирующий процентную долю дозозависимого выделения холестерина в THP-1 макрофагах для типового конъюгата MSR1 антитело-LXR, его неконъюгированного аналога, конъюгата изотипический контроль-LXR и соответствующей свободной нагрузки.

[0021] На ФИГ. 16 приведен ряд столбчатых диаграмм, иллюстрирующих воздействие типового конъюгата MSR1 антитело-LXR агонист и его неконъюгированного аналога на уровни липидов сыворотки крови в модели атеросклероза у мышей.

[0022] На ФИГ. 17 приведен ряд столбчатых диаграмм, иллюстрирующих воздействие типового конъюгата MSR1 антитело-LXR агонист и его неконъюгированного аналога на площадь поражения и содержание макрофагов (CD68) в модели атеросклероза у мышей.

[0023] На ФИГ. 18 приведен ряд столбчатых диаграмм, иллюстрирующих воздействие типового конъюгата MSR1 антитело-LXR агонист и его неконъюгированного аналога на уровни триглицеридов и холестерина в печени в модели атеросклероза у мышей.

[0024] На ФИГ. 19 приведен ряд столбчатых диаграмм, иллюстрирующих воздействие типового конъюгата MSR1 антитело-LXR агонист и его неконъюгированного аналога на липогенез *de novo* в модели атеросклероза у мышей.

ОПИСАНИЕ ИЛЛЮСТРАТИВНЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0025] В настоящем документе представлены соединения, композиции и способы, полезные для лечения, например, дилипидемии, нарушения метаболизма, воспаления или нейродегенеративного заболевания у субъекта.

Определения

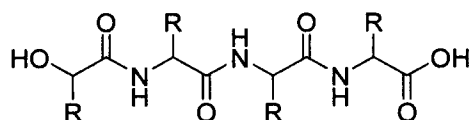
[0026] Следующие термины в настоящем документе, относящиеся к описываемым здесь соединениям, имеют следующие значения, если не указано иное. Если не дано иное определение, все технические и научные термины имеют то значение, которое обычно понимают специалисты в области техники, к которой относится данное изобретение. В случае, если у какого-либо термина, используемого в настоящем документе, есть несколько определений, преимущественное значение имеют данные определения, если не указано иное.

[0027] В контексте настоящего документа “алкил” означает одновалентный и насыщенный углеводородный радикальный фрагмент. Алкил необязательно замещается и может быть линейным, разветвленным или циклическим, *т.е.*, циклоалкилом. Алкил включает, помимо прочего, радикалы, имеющие 1-20 атомов углерода, *т.е.* C₁₋₂₀ алкил; 1-12 атомов углерода, *т.е.* C₁₋₁₂ алкил; 1-8 атомов углерода, *т.е.* C₁₋₈ алкил; 1-6 атомов углерода, *т.е.* C₁₋₆ алкил, и 1-3 атома углерода, *т.е.* C₁₋₃ алкил. Примеры алкилов включают, помимо прочего, метил, этил, *n*-пропил, *i*-пропил, *n*-бутил, *s*-бутил, *t*-бутил, *i*-бутил, пентильный фрагмент, гексильный фрагмент, циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил. Пентильный фрагмент включает, помимо прочего, *n*-пентил и *i*-пентил. Гексильный фрагмент включает, помимо прочего, *n*-гексил.

[0028] В контексте настоящего документа “алкилен” означает двухвалентную

алкильную группу. Если не указано иное, алкилен включает, помимо прочего, 1-20 атомов углерода. Алкиленовая группа необязательно замещает, как описывается в настоящем документе, алкил. В некоторых вариантах осуществления алкилен не замещен.

[0029] В контексте настоящего документа термин “О-аминокислота” или “НО-аминокислота” обозначает аминокислоту, в которой нативная амино группа на N-конце аминокислоты или аминокислотной последовательности была замещена кислородной или гидроксильной группой, соответственно. Например, “О-АААА” или “НО-АААА” обозначает аминокислотную последовательность (АААА), в которой нативная амино группа на N-конце была замещена кислородной или гидроксильной группой,



соответственно (например, , где в каждом случае R означает боковую цепь аминокислоты). Аналогичным образом, термины “О-аминокислотный остаток” или “НО-аминокислотный остаток” означают химический фрагмент в соединении, который остается после химической реакции. Например, “О-аминокислотный остаток” или “НО-аминокислотный остаток” означает амидную связь или пептидную связь О-аминокислоты или НО-аминокислоты с подходящим партнером; где, например, молекула воды вытесняется после амидной или пептидной связи О-аминокислоты или НО-аминокислоты, в результате чего образуется продукт, имеющий включенный туда О-аминокислотный остаток или НО-аминокислотный остаток.

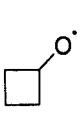
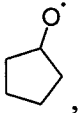
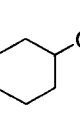
[0030] Обозначение аминокислоты или аминокислотного остатка без указания его стереохимии имеет целью охватить L форму аминокислоты, D форму аминокислоты или ее рацемическую смесь.

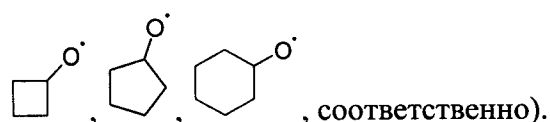
[0031] В контексте настоящего документа “галоалкил” означает алкил, определение которому дано выше, где алкил включает минимум один заместитель, выбранный из галогена, например, фтора (F), хлора (Cl), брома (Br) или йода (I). Примеры галоалкила включают, помимо прочего, $-\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CCl}_2\text{F}$ и $-\text{CCl}_3$.

[0032] В контексте настоящего документа “алкенил” означает одновалентный углеводородный радикальный фрагмент, содержащий минимум два атома углерода и одну или несколько неароматических углерод-углеродных двойных связей. Алкенил необязательно замещается и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкенил включает, помимо прочего, радикалы, имеющие 2-20 атомов углерода, *т.е.* C_{2-20} алкенил; 2-12 атомов углерода, *т.е.* C_{2-12} алкенил; 2-8 атомов углерода, *т.е.* C_{2-8} алкенил; 2-6 атомов углерода, *т.е.* C_{2-6} алкенил и 2-4 атома углерода, *т.е.* C_{2-4} алкенил. Примеры

алкенилов включают, помимо прочего, винил, пропенил, бутенил и циклогексенил.

[0033] В контексте настоящего документа “алкинил” означает одновалентный углеводородный радикальный фрагмент, содержащий минимум два атома углерода и одну или несколько углерод-углеродных тройных связей. Алкинил необязательно замещается и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкинил включает, помимо прочего, радикалы, имеющие 2-20 атомов углерода, *т.е.* C₂₋₂₀ алкинил; 2-12 атомов углерода, *т.е.* C₂₋₁₂ алкинил; 2-8 атомов углерода, *т.е.* C₂₋₈ алкинил; 2-6 атомов углерода, *т.е.* C₂₋₆ алкинил и 2-4 атома углерода, *т.е.* C₂₋₄ алкинил. Примеры алкинилов включают, помимо прочего, этинил, пропинил и бутинил.

[0034] В контексте настоящего документа “алкокси” означает одновалентный и насыщенный углеводородный радикальный фрагмент, где углеводород включает одинарную связь с атомом кислорода и где радикал локализован на атоме кислорода, *например*, CH₃CH₂-O· для этокси. Заместители алкокси присоединяются к соединению, которое они замещают, через этот атом кислорода заместителя алкокси. Алкокси необязательно замещается и может быть линейным, разветвленным или циклическим, *т.е.* циклоалкокси. Алкокси включает, помимо прочего, алкокси, имеющие 1-20 атомов углерода, *т.е.* C₁₋₂₀ алкокси; 1-12 атомов углерода, *т.е.* C₁₋₁₂ алкокси; 1-8 атомов углерода, *т.е.* C₁₋₈ алкокси; 1-6 атомов углерода, *т.е.* C₁₋₆ алкокси и 1-3 атома углерода, *т.е.* C₁₋₃ алкокси. Примеры алкокси включают, помимо прочего, метокси, этокси, *n*-пропокси, *i*-пропокси, *n*-бутокси, *s*-бутокси, *t*-бутокси, *i*-бутокси, пентокси фрагмент и гексокси фрагмент, циклопропокси, циклобутокси, циклопентокси и циклогексокси (*т.е.* , , , , соответственно).

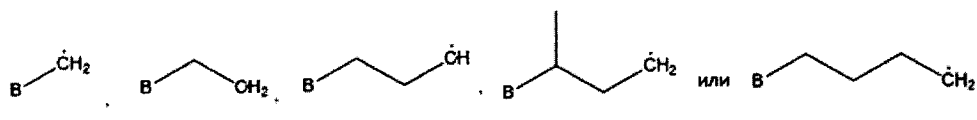


[0035] В контексте настоящего документа “галоалкокси” означает алкокси, определение которому дано выше, где алкокси включает минимум один заместитель, выбранный из галогена, *например*, F, Cl, Br или I.

[0036] В контексте настоящего документа “арил” означает моновалентный радикал ароматического соединения, где атомами кольца являются атомы углерода. Арил необязательно замещается и может быть моноциклическим или полициклическим, *например*, бициклическим или трициклическим. Примеры арила включают, помимо прочего, арилы, имеющие от 6 до 20 атомов углерода в кольце, *т.е.* C₆₋₂₀ арил; от 6 до 15 атомов углерода в кольце, *т.е.* C₆₋₁₅ арил и от 6 до 10 атомов углерода в кольце, *т.е.* C₆₋₁₀ арил. Примеры арила включают, помимо прочего, фенил, нафтил, флуоренил, азуленил,

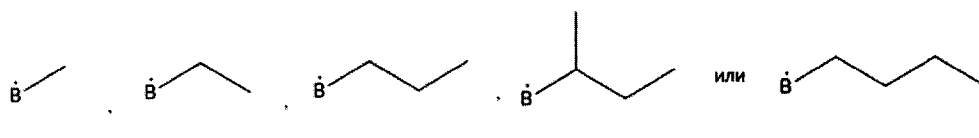
антрил, фенантрил и пиренил.

[0037] В контексте настоящего документа "арилакрил" означает моновалентный фрагмент, являющийся радикалом алкильного соединения, где алкильное соединение замещено ароматическим заместителем, *т.е.* ароматическое соединение включает одинарную связь с алкильной группой, где радикал локализован на алкильной группе. Арилакрильная группа прикрепляется к показанной химической структуре через алкильную группу. Арилакрил может быть представлен структурой, *например*,



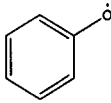
ароматическим фрагментом, *например*, фенилом. Арилакрил необязательно замещается, *т.е.* арильная группа и/или акрильная группа может быть замещена так, как описано в настоящем документе. Примеры арилакрила включают, помимо прочего, бензил.

[0038] В контексте настоящего документа "алкиларил" означает моновалентный фрагмент, который является радикалом арильного соединения, где арильное соединение замещено алкильным заместителем, *т.е.* арильное соединение включает одинарную связь с алкильной группой, где радикал локализован на арильной группе. Алкиларильная группа прикрепляется к показанной химической структуре через арильную группу. Алкиларил может быть представлен структурой, *например*,



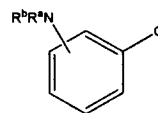
ароматическим фрагментом, *например*, фенилом. Алкиларил необязательно замещается, *т.е.* арильная группа и/или акрильная группа может быть замещена так, как описано в настоящем документе. Примеры алкиларила включают, помимо прочего, толуил.

[0039] В контексте настоящего документа "арилокси" означает моновалентный фрагмент, который является радикалом ароматического соединения, где атомами кольца являются атомы углерода и где кольцо замещено кислородсодержащим радикалом, *т.е.* ароматическое соединение включает одинарную связь с атомом кислорода, где радикал

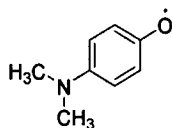
локализован на атоме кислорода, *например*,  для фенокси. Заместители арилокси присоединяются к соединению, которое они замещают, через этот атом кислорода. Арилокси необязательно замещается. Арилокси включает, помимо прочего, радикалы, имеющие от 6 до 20 атомов углерода в кольце, *т.е.* C₆₋₂₀ арилокси; от 6 до 15 атомов

углерода в кольце, *т.е.* C₆₋₁₅ арилокси, и от 6 до 10 атомов углерода в кольце, *т.е.* C₆₋₁₀ арилокси. Примеры арилокси включают, помимо прочего, фенокси, нафтокси и антрокси.

[0040] В контексте настоящего документа “R^aR^bN-арилокси” означает моновалентный фрагмент, который является радикалом ароматического соединения, где атомами кольца являются атомы углерода и где кольцо замещено минимум одним R^aR^bN- заместителем и минимум одним кислородсодержащим радикалом, *т.е.* ароматическое соединение включает одинарную связь с R^aR^bN- заместителем и одинарную связь атомом кислорода,



где радикал локализован на атоме кислорода, *например*, R^aR^bN-арилокси заместители присоединяются к соединению, которое они замещают, через этот атом кислорода. R^aR^bN-арилокси необязательно замещается. R^aR^bN-арилокси включает, помимо прочего, арилокси, имеющие от 6 до 20 атомов углерода в кольце, например, C₆₋₂₀ (R^aR^bN)_n-арилокси, от 6 до 15 атомов углерода в кольце, например, C₆₋₁₅ (R^aR^bN)_n-арилокси и от 6 до 10 атомов углерода в кольце, например, C₆₋₁₀ (R^aR^bN)_n-арилокси, где n представляет число R^aR^bN- заместителей. Пример R^aR^bN-арилокси фрагмента включает,



помимо прочего, 4-(диметиламино)-фенокси,

[0041] В контексте настоящего документа “арилен” означает двухвалентный фрагмент ароматического соединения, где атомами кольца являются только атомы углерода. Арилен необязательно замещается и может быть моноциклическим или полициклическим, *например*, бициклическим или трициклическим. Примеры арилена включают, помимо прочего, арилены, имеющие от 6 до 20 атомов углерода в кольце, *т.е.* C₆₋₂₀ арилен; от 6 до 15 атомов углерода в кольце, *т.е.* C₆₋₁₅ арилен и от 6 до 10 атомов углерода в кольце, *т.е.* C₆₋₁₀ арилен.

[0042] В контексте настоящего документа “гетероалкил” означает алкил, в котором один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. В контексте настоящего документа “гетероалкенил” означает алкенил, в котором один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. В контексте настоящего документа “гетероалкинил” означает алкинил, в котором один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. Подходящие гетероатомы включают, помимо прочего, атомы азота, кислорода и серы. Гетероалкил необязательно замещается. Примеры гетероалкила включают, помимо прочего, аминоалкил, сульфонилалкил и сульфинилалкил. Примеры

гетероалкила включают, помимо прочего, метиламино, метилсульфонил и метилсульфинил.

[0043] В контексте настоящего документа “гетероарил” означает моновалентный фрагмент, который является радикалом ароматического соединения, где атомы кольца содержат атомы углерода и минимум один атом кислорода, серы, азота или фосфора. Примеры гетероарила включают, помимо прочего, гетероарилы, имеющие от 5 до 20 атомов кольца; от 5 до 15 атомов кольца и от 5 до 10 атомов кольца. Гетероарил необязательно замещается.

[0044] В контексте настоящего документа “гетероарилен” означает арилен, в котором один или несколько атомов ароматического кольца замещены атомом кислорода, серы, азота или фосфора. Гетероарилен необязательно замещается.

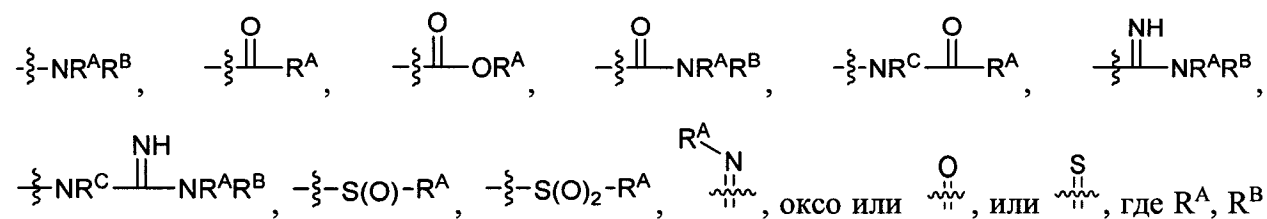
[0045] В контексте настоящего документа “гетероциклоалкил” означает циклоалкил, в котором один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. Подходящие гетероатомы включают, помимо прочего, атомы азота, кислорода и серы. Гетероциклоалкил необязательно замещается. Примеры гетероциклоалкила включают, помимо прочего, морфолинил, пиперидинил, тетрагидропиранил, пирролидинил, имидазолидинил, оксазолидинил, тиазолидинил, диоксоланил, дитиоланил, оксанил или тианил.

[0046] В контексте настоящего документа, “кислота Льюиса” означает молекулу или ион, которые являются акцептором электронной неподеленной пары. Кислоты Льюиса, используемые в описанных здесь способах, отличаются от протонов. Кислоты Льюиса включают, помимо прочего, неметаллические кислоты, металлические кислоты, жесткие кислоты Льюиса и мягкие кислоты Льюиса. Кислоты Льюиса включают, помимо прочего, кислоты Льюиса, содержащие алюминий, бор, железо, олово, титан, магний, медь, сурьму, фосфор, серебро, иттербий, скандий, никель и цинк. Типовые кислоты Льюиса включают, помимо прочего, AlBr_3 , AlCl_3 , BCl_3 , бор трихлорид метил сульфид, BF_3 , бор трифторид метил эфират, бор трифторид метил сульфид, бор трифторид тетрагидрофуран, дициклогексилбора трифторметансульфонат, бромид железа (III), хлорид железа (III), хлорид олова (IV), хлорид титана (IV), изопропоксид титана (IV), $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, CuCl_2 , CuBr_2 , хлорид цинка, галогениды алкилалюминия ($\text{R}_n\text{AlX}_{3-n}$, где R означает гидрокарбил), $\text{Zn}(\text{OTf})_2$, ZnCl_2 , $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, $\text{Sc}(\text{OTf})_3$, MgBr_2 , NiCl_2 , $\text{Sn}(\text{OTf})_2$, $\text{Ni}(\text{OTf})_2$ и $\text{Mg}(\text{OTf})_2$.

[0047] В контексте настоящего документа “N-содержащий гетероциклоалкил”

означает циклоалкил, в котором один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами и где минимум одним гетероатомом является атом азота. Подходящие гетероатомы, в дополнение к азоту, включают, помимо прочего, атомы кислорода и серы. N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещается. Примеры N-содержащего гетероциклоалкила включают, помимо прочего, морфолинил, пиперидинил, пирролидинил, имидазолидинил, оксазолидинил или тиазолидинил.

[0048] В контексте настоящего документа термин “необязательно замещенный”, когда он используется для описания радикального фрагмента, например, необязательно замещенного алкила, означает, что такой фрагмент необязательно присоединен к одному или нескольким заместителям. Примеры таких заместителей включают, помимо прочего, гало, циано, нитро, необязательно замещенный галоалкил, азидо, эпокси, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, $-\xi-OR^A$, $-\xi-SR^A$,



и R^C в каждом случае независимо означают атом водорода, алкил, алкенил, алкинил, арил, алкиларил, арилалкил, гетероалкил, гетероарил или гетероциклоалкил или R^A и R^B вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, в котором кольцо необязательно замещено и в котором один или несколько атомов кольца необязательно замещены гетероатомом. В некоторых вариантах осуществления, когда радикальный фрагмент необязательно замещен необязательно замещенным гетероарилом, необязательно замещенным гетероциклоалкилом или необязательно замещенным насыщенным или ненасыщенным карбоциклическим кольцом, заместители на необязательно замещенном гетероариле, необязательно замещенном гетероциклоалкиле или необязательно замещенном насыщенном или ненасыщенном карбоциклическом кольце, если они замещены, не замещены заместителями, которые далее необязательно замещены дополнительными заместителями. В некоторых вариантах осуществления, когда описанная здесь группа необязательно замещена, заместитель, присоединенный к этой группе, является незамещенным, если не указано иное.

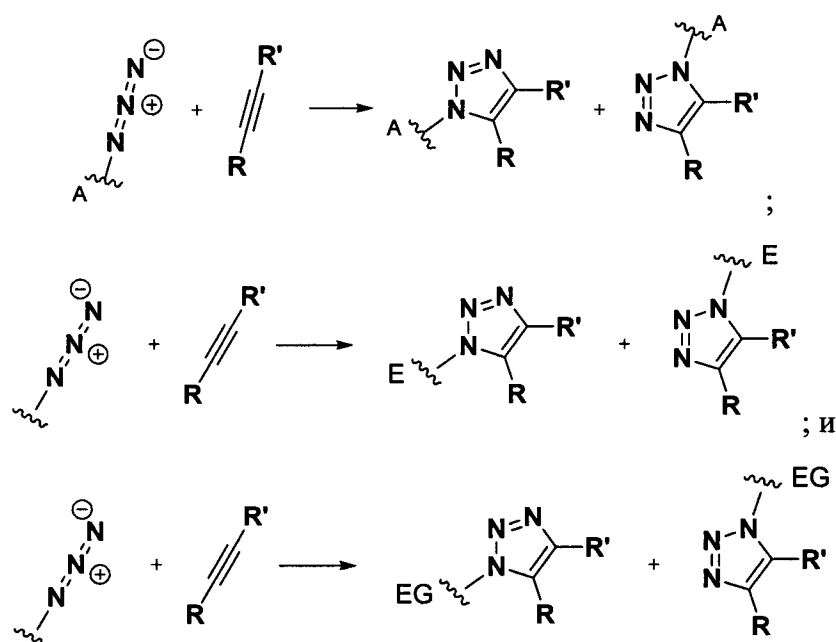
[0049] В контексте настоящего документа “связывающий агент” означает любую молекулу, например, белок, способный связываться со специфичностью с определенным партнером по связыванию, например, антигеном.

[0050] В контексте настоящего документа “линкер” означает двухвалентный, трехвалентный или многовалентный фрагмент, который ковалентно соединяет связывающий агент с одним или несколькими соединениями, описанными в настоящем документе, например, соединениями нагрузки и усиливающими агентами.

[0051] В контексте настоящего документа “условия синтеза амида” означает условия реакции, способствующие образованию амида, *например*, посредством реакции карбоновой кислоты, активированной карбоновой кислоты или ацилгалогенида с амином. В некоторых примерах условия синтеза амида означают условия реакции, способствующие образованию амидной связи между карбоновой кислотой и амином. В некоторых из этих примеров карбоновая кислота сначала преобразуется в активированную карбоновую кислоту, а затем активированная карбоновая кислота вступает в реакцию с амином, в результате чего образуется амид. Подходящие условия, способствующие образованию амида, включают, помимо прочего, использование реагентов для протекания реакции между карбоновой кислотой и амином, включая, помимо прочего, дициклогексилкарбодиимид (DCC), диизопропилкарбодиимид (DIC), (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат (BOP), (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyBOP), (7-азабензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyAOP), бромтрипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyBrOP), O-(бензотриазол-1-yl)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат (HBTU), O-(бензотриазол-1-yl)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторборат (TBTU), 1-[бис(диметиламино)метиле]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний 3-оксида гексафторфосфат (HATU), N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохиолин (EEDQ), N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (EDC), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния гексафторфосфат (CIP), 2-хлор-4,6-диметокси-1,3,5-триазин (CDMT) и карбонилдиимидазол (CDI). В некоторых примерах карбоновая кислота сначала преобразуется в активированный эфир карбоновой кислоты, а после этого активированный эфир карбоновой кислоты подвергают действию амина, в результате чего образуется амидная связь. В определенных вариантах осуществления карбоновую кислоту подвергают воздействию реагента. Реагент активирует карбоновую кислоту депротонированием карбоновой кислоты и последующим образованием комплекса продукта с депротонированной карбоновой кислотой в результате нуклеофильной атаки депротонированной карбоновой кислотой протонированного реагента. Активированные эфиры карбоновой кислоты для определенных карбоновых кислот являются в дальнейшем более восприимчивыми к нуклеофильной атаке амином,

чем карбоновая кислота до ее активации. Это приводит к образованию амидной связи. В этой связи карбоновая кислота описывается как активированная. Типовые реагенты включают DCC и DIC.

[0052] В контексте настоящего документа “региоизомер,” “региоизомеры” или “смесь региоизомеров” означает продукт(ы) 1,3-циклоприсоединений или промотируемых напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC) – также известных как клик-реакции – которые являются производными от подходящих азидов (например, $-N_3$ или PEG- N_3 дериватизированных антител), подвергнутых воздействию подходящих алкинов. В определенных вариантах осуществления, например, региоизомеры и смеси региоизомеров характеризуются продуктами клик-реакции, показанными далее:



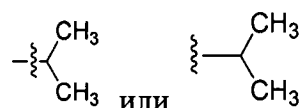
В определенных вариантах осуществления можно использовать больше одного подходящего азида и более одного подходящего алкина в синтетической промежуточной схеме к образованию продукта, где каждая пара азид-алкина может участвовать в одной или нескольких независимых клик-реакциях для получения смеси региоизометрических продуктов клик-реакции. Например, специалисту известно, что первый подходящий азид может независимо вступить в реакцию с первым подходящим алкином, а второй подходящий азид может независимо вступить в реакцию со вторым подходящим алкином, на промежуточном этапе к образованию продукта, в результате чего образуются четыре возможных региоизомера клик-реакции или смесь четырех возможных региоизомеров клик-реакции в образце ADC, описанного в настоящем документе. Также, например, специалисту известно, что первый подходящий азид может независимо вступить в реакцию с первым подходящим алкином, а второй подходящий азид может независимо

вступить в реакцию со вторым подходящим алкином, на промежуточном этапе к образованию продукта, в результате чего образуются четыре возможных региоизомера клик-реакции или смесь четырех возможных региоизомеров клик-реакции в образце линкер-нагрузки (LP), описанной в настоящем документе.

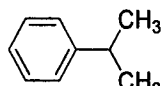
[0053] В контексте настоящего документа термин "остаток" означает химический фрагмент в соединении, который остается после химической реакции. Например, термин "аминокислотный остаток" или "*N*-алкильный аминокислотный остаток" означает продукт амидной связи или пептидной связи аминокислоты или *N*-алкильной аминокислоты с подходящим партнером по связи; например, молекула воды исключается из амидной или пептидной связи аминокислоты или *N*-алкиламиновой кислоты, в результате чего образуется продукт, имеющий включенный в него аминокислотный остаток или *N*-алкильный аминокислотный остаток.

[0054] В контексте настоящего документа "терапевтически эффективное количество" означает количество (например, соединения), которого достаточно, чтобы оказать терапевтическое воздействие на пациента при лечении или контроле заболевания или нарушения или чтобы отсрочить или уменьшить проявление одного или нескольких симптомов, ассоциируемых с этим заболеванием или нарушением.

[0055] Определенные группы, фрагменты, заместители и атомы изображены волнистой линией, которая пересекает связь или связи, чтобы показать атом, через который эти группы, фрагменты, заместители, атомы связаны. Например, фенильная группа, которая замещена пропильной группой, изображенная как:

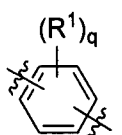
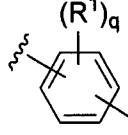


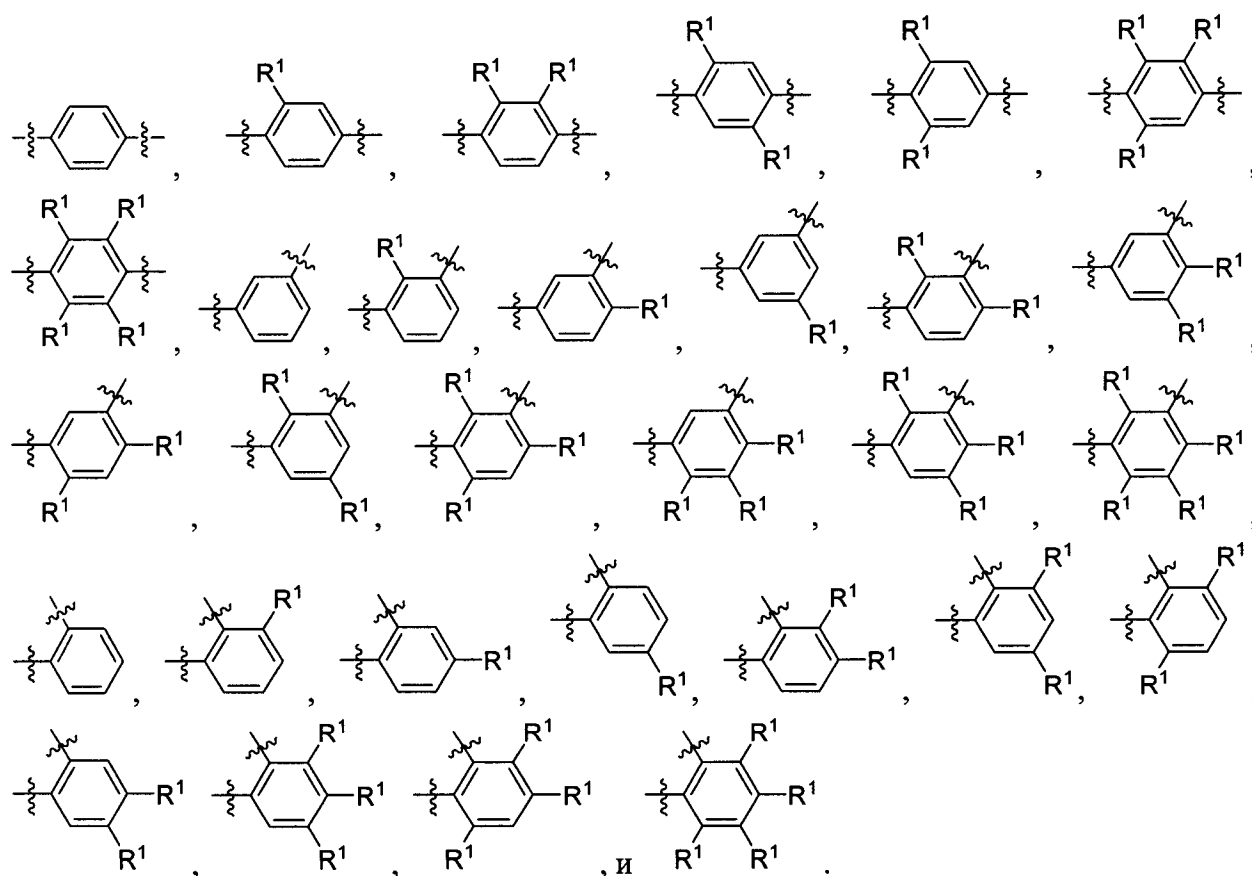
имеет следующую структуру:



В контексте настоящего документа иллюстрации, на которых изображены заместители, присоединенные к циклической группе (например, ароматическому, гетероароматическому, конденсированному кольцу и насыщенному или ненасыщенному циклоалкилу или гетероциклоалкилу) через связь между атомами кольца, означают, если не указано иное, что циклическая группа может быть замещена этим заместителем в любом положении в кольце в циклической группе или на любом кольце в конденсированной кольцевой группе, в соответствии с методами, изложенными здесь

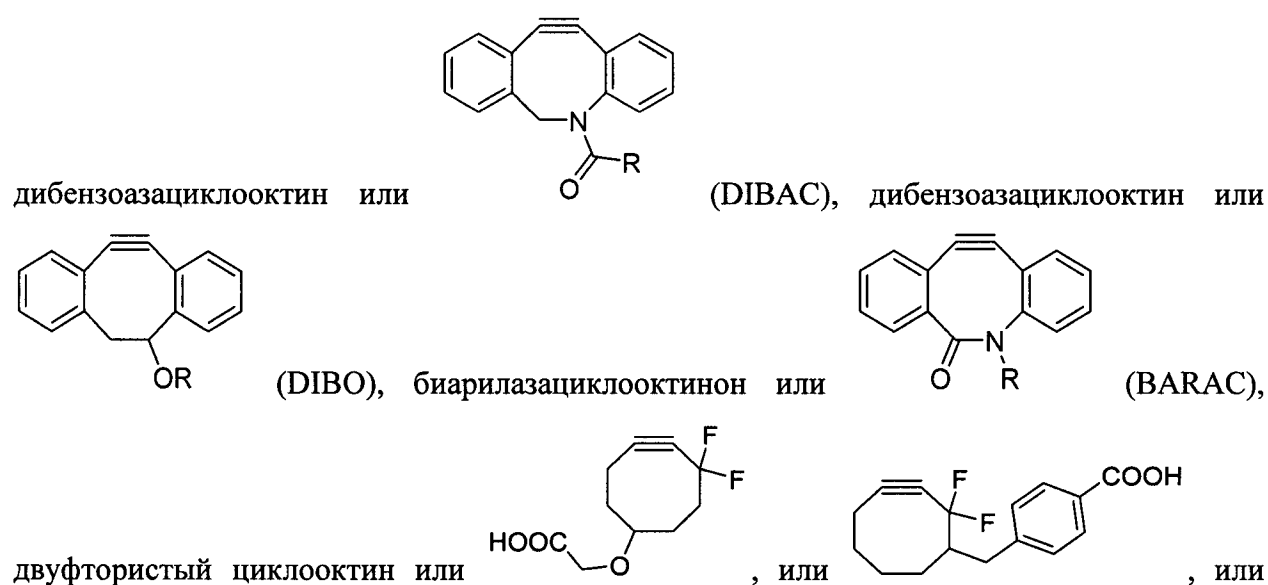
либо известными в области, к которой принадлежит данное изобретение. Например,

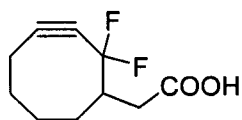
группа,  или , где нижний индекс q является целым числом от 0 до 4 и где положения заместителя R¹ описаны в общем случае, *т.е.* не напрямую присоединены к любой вершине линейной структуры связи, *т.е.* конкретному атому углерода в кольце, включает следующие, неограничивающие примеры групп, в которых заместитель R¹ связан с конкретным атомом углерода в кольце:



[0056] В контексте настоящего документа фраза “реактивный линкер” или сокращение “RL” (“РЛ”) означает моновалентную группу, которая включает реактивную группу и спейсерную группу, изображенные, например, как $RG-SP-\text{}$, где RG означает реактивную группу и SP означает спейсерную группу. Согласно настоящему описанию, реактивный линкер может включать несколько реактивных групп и несколько спейсерных групп. Спейсерная группа - это любой двухвалентный фрагмент, который связывает реактивную группу с другой группой, например, нагрузкой. Реактивные линкеры (RL), вместе с нагрузками, к которым они присоединены, обеспечивают промежуточные компоненты (“линкер-нагрузки”), полезные в качестве синтетических предшественников для

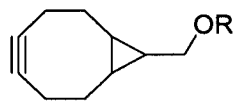
приготовления описанных здесь конъюгатов антител. Реактивный линкер включает реактивную группу (“RG”), которая является функциональной группой или фрагментом, способным вступить в реакцию с реактивной частью другой группы, например, антителом, модифицированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом либо усиливающей группой. Фрагмент, образующийся в результате реакции реактивной группы с антителом, модифицированным антителом либо его антигенсвязывающим фрагментом, вместе с соединяющей группой, включает часть “линкера связывающего агента” (“BL”) описанного здесь конъюгата. В определенных вариантах осуществления “реактивная группа” является функциональной группой или фрагментом (*например*, малеимидом или эфиром *N*-гидроксисукцинимид (NHS)), который вступает в реакцию с цистеиновым или лизиновым остатком антитела или его антиген-связывающего фрагмента. В определенных вариантах осуществления “реактивная группа” является функциональной группой или фрагментом, которые способны вступать в клик-реакцию (*см.*, *например*, клик-реакции, Huisgen *Proc. Chem. Soc.* **1961**, Wang *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2003**, and Agard *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2004**). В некоторых вариантах осуществления указанной клик-реакции реактивной группой является алкин, который способен вступать в реакцию 1,3-циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реактивные группы включают, помимо прочего, напряженные алкины, *например*, алкины, подходящие для промотируемых напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкины, *например*, циклооктины, бензаннелированные алкины и алкины, способные вступать в реакции 1,3-циклоприсоединения с алкинами в отсутствие катализаторов на основе меди. Подходящие алкины также включают, помимо прочего,





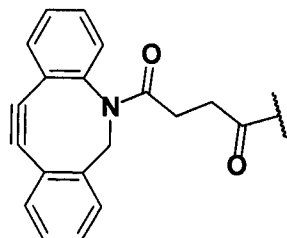
(DIFO), замещенные, *например*, фторированные алкины, аза-

циклоалкины, бицикло[6.1.0]нонин или

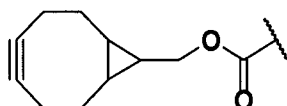


(BCN, где R означает алкил,

алкокси или ацил) и их производные. Особенно полезные алкины включают

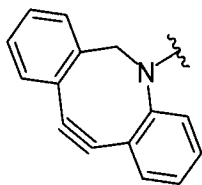


и



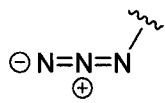
. Линкер-нагрузки, включающие такие реактивные группы, полезны для конъюгирования антител, которые были функционализированы азидогруппами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные азидо-полиэтиленгликольными группами. В определенных вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают, подвергая антитело, имеющее минимум один глутаминовый остаток, *например*, тяжелую цепь Gln295, воздействию соединения, несущего аминогруппу и азидную группу, при присутствии фермента трансглутаминазы.

[0057] В некоторых примерах реактивной группой является алкин,

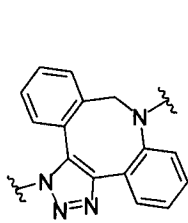


например,

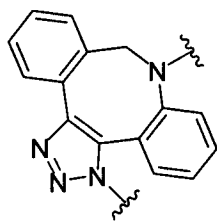
, который может вступать в клик-реакцию с азидом, *например*,



, в результате которой образуется продукт клик-химии, *например*,

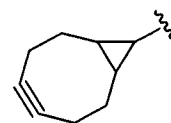


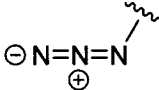
или

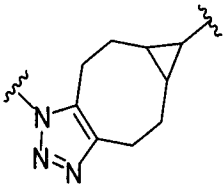


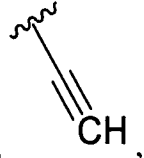
. В некоторых примерах эта группа вступает в реакцию с азидом на модифицированном антителе или его антиген-связывающем фрагменте. В

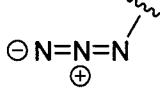
некоторых примерах такой реактивной группой является алкин, *например*,

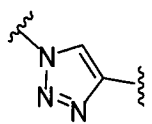
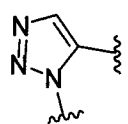


который может вступать в клик-реакцию с азидом, например,  в результате

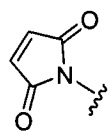
которой образуется продукт клик-химии, например, . В некоторых

примерах этой реактивной группой является алкин, например, , который может

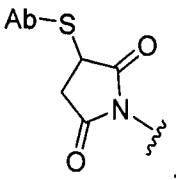
вступать в клик-реакцию с азидом, например, , в результате которой

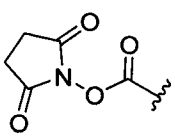
образуется продукт клик-химии, например,  или . В некоторых

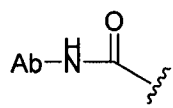
примерах этой реактивной группой является функциональная группа, например,



, которая вступает в реакцию с цистеиновым остатком на антителе или его

антиген-связывающем фрагменте для образования связи с ним, например, , где Ab означает антитело или его антиген-связывающий фрагмент и S означает S атом на цистеиновом остатке, через который функциональная группа связывается с Ab. В некоторых примерах этой реактивной группой является функциональная группа

например, , которая вступает в реакцию с лизиновым остатком на антителе или его антиген-связывающем фрагменте для образования связи с ним, например,



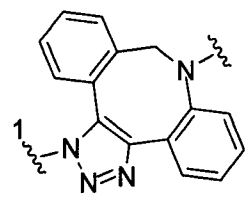
, где Ab означает антитело или его антиген-связывающий фрагмент и NH означает NH атом на остатке боковой цепи лизина, через который функциональная группа связывается с Ab.

[0058] В контексте настоящего документа фраза “биоразлагаемый фрагмент” означает фрагмент, который разлагается *in vivo* на нетоксичные, биосовместимые компоненты, которые могут быть выведены из организма обычными биологическими процессами. В некоторых вариантах осуществления биоразлагаемый фрагмент полностью или в значительной степени разлагается *in vivo* в течение около 90 дней или менее, около 60 дней или менее или около 30 дней или менее, при этом степень разложения зависит от процентной потери массы биоразлагаемого фрагмента и полное разложение соответствует 100% потере массы. Типовые биоразлагаемые соединения включают, помимо прочего, алифатические полиэфиры, такие как поли(ε-капролактон) (PCL), поли(3-гидроксibuтират) (PHB), поли(гликолиевая кислота) (PGA), поли(молочная кислота) (PLA) и ее сополимеры с гликолиевой кислотой (т.е. поли(D,L-лактид-когликолид) (PLGA) (публикации Vert M, Schwach G, Engel R and Coudane J (1998) J Control Release 53(1-3):85-92; Jain R A (2000) Biomaterials 21(23):2475-2490; Uhrich K E, Cannizzaro S M, Langer R S and Shakesheff K M (1999) Chemical Reviews 99(11):3181-3198; и Park T G (1995) Biomaterials 16(15):1123-1130, каждая из которых включена в настоящий документ полностью посредством ссылки).

[0059] В контексте настоящего документа фразы “эффективное количество”, “физиологически эффективное количество” или “профилактически эффективное количество” означают такое количество соединения, которое является достаточным для осуществления лечения при его введении субъекту, нуждающемуся в таком лечении. “Физиологически эффективное количество” активного вещества означает эффективное количество активных веществ, которые оказывают значительное, внешне наблюдаемое воздействие на пациента. Таким образом, физиологически эффективное количество влияет на одну или несколько характеристик (например, фенотип) пациента без необходимости в использовании специального оборудования для определения эффекта. Например, физиологически эффективное количество описанного здесь соединения имеет значительное, внешне наблюдаемое воздействие на поведение пациента, уменьшая выраженность одного или нескольких симптомов состояния, лечение которого проводится. Соответственно, можно определить, было ли введено эффективное количество активного вещества, наблюдая за пациентом и наблюдая, произошли ли в состоянии пациента изменения благодаря активному веществу.

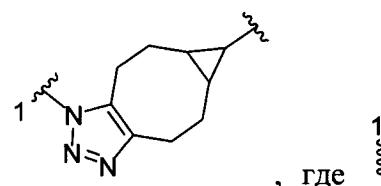
[0060] В контексте настоящего документа фраза “линкер связывающего агента” или “BL” означает любую двухвалентную, трехвалентную или мультивалентную группу или фрагмент, который связывает или соединяет связывающий агент (например, антитело или

его антиген-связывающий фрагмент) с соединением-нагрузкой, описанным в настоящем документе (*например*, бис-октагидрофенантрена карбоксамиды) и, необязательно, с одним или несколькими соединениями боковой цепи. В общем случае, подходящие линкеры связывающих агентов для конъюгатов антител, описанных в настоящем документе - это линкеры, которые достаточно стабильны для применения периода полужизни в кровотоке антитела и в то же время способны высвободить свою нагрузку после антиген-опосредованной интернализации конъюгата. Линкеры могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми. Расщепляемые линкеры - это линкеры, которые расщепляются посредством внутриклеточного метаболизма после интернализации, *например*, расщепления посредством гидролиза, восстановления или ферментной реакции. Нерасщепляемые линкеры - это линкеры, которые высвобождают присоединенную нагрузку посредством лизосомной деградации антитела после интернализации. Подходящие линкеры включают, помимо прочего, кислото-лабильные линкеры, гидролиз-лабильные линкеры, линкеры, расщепляемые под воздействием ферментов, восстановительно-лабильные линкеры, само-расщепляющиеся линкеры и нерасщепляемые линкеры. Подходящие линкеры также включают, помимо прочего, линкеры, которые являются пептидами, глюкуронидами, сукцинимид-тиоэфирами, полиэтиленгликольными (PEG) соединениями, гидразонами, мал-капроиловыми соединениями, дипептидными соединениями, валин-цитрулиновыми соединениями и пара-амино-бензиловыми (PAB) соединениями или содержат такие соединения. В некоторых вариантах осуществления линкер связывающего агента (BL) включает фрагмент, который образуется посредством реакции реактивной группы (RG) реактивного линкера (RL) и реактивной части связывающего агента, *например*, антитела, модифицированного антитела или его антиген-связывающего фрагмента.



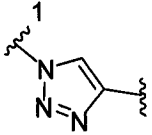
[0061] В некоторых примерах BL включает следующий фрагмент:

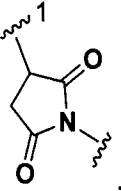
или триазиолила региоизомер, где  означает связь со связывающим агентом. В

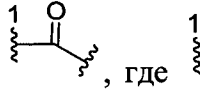


некоторых примерах BL включает следующий фрагмент:

означает связь со связывающим агентом. В некоторых примерах BL включает

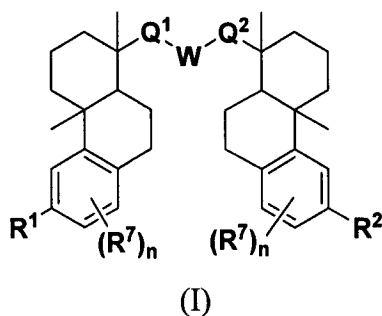
следующий фрагмент: , или триазиолила региоизомер, где  означает связь со связывающим агентом. В некоторых примерах BL включает следующий фрагмент:

, где  означает связь с цистеином антитела или его антиген-связывающего

фрагмента. В некоторых примерах BL включает следующий фрагмент: , где  означает связь с лизином антитела или его антиген-связывающего фрагмента.

Соединения и нагрузки

[0062] В некоторых примерах в настоящем документе приводится соединение, имеющее структуру Формулы (I):



или фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма, где

в каждом случае Q^1 и Q^2 независимо означает $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$ или $-C(OH)_2-$;

W означает $-CH_2-$, $-N(H)-$ или $-O-$;

R^1 означает $-H$, $-OH$, $-NH_2$, алкил или $-OP(O)(OR^6)_2$;

R^2 означает $-H$, $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-OR^5$, где R^1 и R^2 одновременно не означают $-H$;

R^3 означает $-N(R^6)_2$;

R^4 означает $-X-Y-Z$;

X выбирается из группы, состоящей из $-O-$ и $-N(H)-$;

Y выбирается из группы, состоящей из алкилена, замещенного алкилена (включая,

помимо прочего, оксо замещение, т.е. =O), гетероалкилена и замещенного гетероалкилена (включая, помимо прочего, оксо замещение (т.е. =O));

Z выбирается из группы, состоящей из –OH и –NH₂;

R⁵ означает алкил, гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил, где в каждом случае гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил включает один, два или три гетероатома, выбранных из азота и кислорода, и включает минимум один –OH или –CH₂OH заместитель или минимум один первичный или вторичный азот, например, O-глюкозу;

в каждом случае **R⁶** в каждом примере означает –H, аминокислотный остаток, *N*-алкильный аминокислотный остаток, пептид или алкил; и

в каждом случае **R⁷** независимо означает гало, C₁₋₆ алкил, C₁₋₆алкокси, –CN, O-глюкозу, O-аминокислотный остаток и O-PEG_n, где в каждом случае *n* является целым числом от 0 до 3.

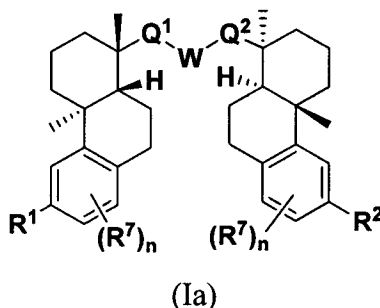
[0063] В Формуле I, в некоторых вариантах осуществления, **R⁵** означает гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил. Полезные гетероциклоалкильные группы включают тетрагидропиранил, глюкозидил и пиперазинил. Эти группы могут быть замещенными или незамещенными. В некоторых вариантах осуществления они являются незамещенными. В определенных вариантах осуществления они являются замещенными. Типовые заместители включают минимум один гидроксил, минимум один первичный азот или минимум один вторичный азот.

[0064] В определенных вариантах осуществления Формулы I, **R⁶** независимо означает в каждом случае аминокислотный остаток, *N*-алкильный аминокислотный остаток или пептид. Специалистам в данной области понятно, что аминокислотный остаток может быть ахиральным или хиральным, например, быть L-аминокислотой или D-аминокислотой. Аминокислоты, в общем случае, включают боковую цепь аминокислоты. Эта боковая цепь может быть боковой цепью любой аминокислоты, известной специалистам в данной области. В определенных вариантах осуществления эта боковая цепь является боковой цепью гистидина, аланина, изолейцина, аргинина, лейцина, аспарагина, лизина, аспарагиновой кислоты, метионина, цистеина, фенилаланина, глутаминовой кислоты, треонина, глутамина, триптофана, валина, орнитина, селеноцистеина, серина, глицина, гомоглицина (например, β-гомоглицина) или тирозина. Специалистам в данной области понятно, что пептид может быть ахиральным или хиральным, например, может включать рацемические DL-аминокислоты или

нерацемические D- или L-аминокислоты или их диастереомерические смеси. Боковые цепи пептидов соответствуют описаниям в контексте аминокислот, см. выше. Специалистам в данной области будет понятно, что остаток *N*-алкильной аминокислоты включает алкильный заместитель, определение которому дано в настоящем документе, в концевой амино группе аминокислотного остатка или концевой аминогруппе пептида. Примеры включают *N*-метильные аминокислоты и *N*-этильные аминокислоты.

[0065] В Формуле I, в определенных вариантах осуществления, в каждом случае R^7 означает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-CN$, O-глюкозу, O-аминокислотный остаток или $O-PEG_n$, где в каждом случае n является целым числом от 0 до 3. В определенных вариантах осуществления O-аминокислотный остаток включает HO-аминокислотный остаток, определение которому дано выше. В одном варианте осуществления $O-PEG_n$ означает соединение, где $n = 0$. В другом варианте осуществления $O-PEG_n$ означает соединение, где $n=1$. В другом варианте осуществления $O-PEG_n$ означает соединение, где $n=2$. В другом варианте осуществления $O-PEG_n$ означает соединение, где $n=3$.

[0066] В некоторых примерах здесь приводится соединение, имеющее структуру Формулы (Ia):



или фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма, где

в каждом случае Q^1 и Q^2 независимо означает $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$ или $-C(OH)_2-$;

W означает $-CH_2-$, $-N(H)-$ или $-O-$;

R^1 означает $-H$, $-OH$, $-NH_2$, алкил или $-OP(O)(OR^6)(OH)-OP(O)(OR^6)_2$;

R^2 означает $-H$, $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$, где R^1 и R^2 одновременно не означают $-H$;

R^3 означает $-N(R^6)_2$;

R^4 означает $-X-Y-Z$;

X выбирается из группы, состоящей из $-O-$ и $-N(H)-$;

Y выбирается из группы, состоящей из алкилена, замещенного алкилена (включая, помимо прочего, оксо замещение, т.е. $=O$), гетероалкилена и замещенного гетероалкилена (включая, помимо прочего, оксо замещение т.е. $=O$));

Z выбирается из группы, состоящей из $-OH$ и $-NH_2$;

R⁵ означает алкил, гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил, где в каждом случае гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил включает один, два или три гетероатома, выбранных из азота и кислорода, и включает минимум один $-OH$ и $-CH_2$ заместитель или минимум один первичный или вторичный азот, например, О-глюкозу;

в каждом случае **R⁶** в каждом примере означает $-H$, аминокислотный остаток, *N*-алкильный аминокислотный остаток, пептид или алкил; и

в каждом случае **R⁷** независимо означает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-CN$, О-глюкозу, О-аминокислотный остаток и $O-PEG_n$, где в каждом случае *n* является целым числом от 0 до 3.

[0067] В Формуле Ia в некоторых вариантах осуществления **R⁵** означает гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил. Полезные гетероциклоалкильные группы включают тетрагидропиранил, глюкозидил и пиперазинил. Эти группы могут быть замещенными или незамещенными. В некоторых вариантах осуществления они являются незамещенными. В определенных вариантах осуществления они являются замещенными. Типовые заместители включают минимум один гидроксил, минимум один первичный азот или минимум один вторичный азот.

[0068] В определенных вариантах осуществления Формулы Ia **R⁶** независимо означает в каждом случае аминокислотный остаток, *N*-алкильный аминокислотный остаток или пептид. Специалистам в данной области понятно, что аминокислотный остаток может быть ахиральным или хиральным, например, быть *L*-аминокислотой или *D*-аминокислотой. Аминокислоты, в общем случае, включают боковую цепь аминокислоты. Эта боковая цепь может быть боковой цепью любой аминокислоты, известной специалистам в данной области. В определенных вариантах осуществления эта боковая цепь является боковой цепью гистидина, аланина, изолейцина, аргинина, лейцина, аспарагина, лизина, аспарагиновой кислоты, метионина, цистеина, фенилаланина, глутаминовой кислоты, треонина, глутамина, триптофана, валина, орнитина, селеноцистеина, серина, глицина, гомоглицина (например, β -гомоглицина) или

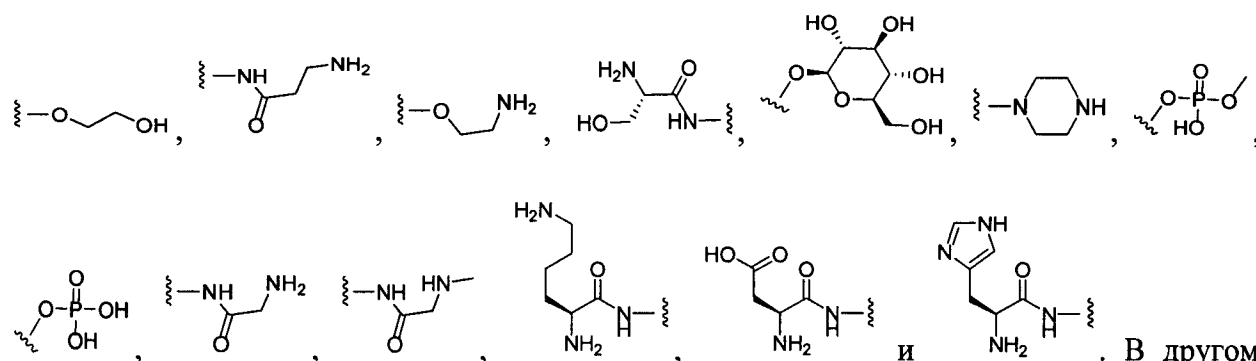
тирозина. Специалистам в данной области понятно, что пептид может быть ахиральным или хиральным, например, может включать рацемические DL-аминокислоты или нерацемические D- или L-аминокислоты или их диастереомерические смеси. Боковые цепи пептидов соответствуют описаниям в контексте аминокислот, см. выше. Специалистам в данной области понятно, что остаток *N*-алкильной аминокислоты включает алкильный заместитель, определение которому дано в настоящем документе, в концевой амино группе аминокислотного остатка или концевой аминогруппе пептида.

[0069] В Формуле Ia в определенных вариантах осуществления R^7 означает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-CN$, O-глюкозу, O-аминокислотный остаток или $O-PEG_n$, где в каждом случае n является целым числом от 0 до 3. В определенных вариантах осуществления O-аминокислотный остаток включает HO-аминокислотный остаток, определение которому дано выше. В одном варианте осуществления $O-PEG_n$ означает соединение, где $n=0$. В другом варианте осуществления $O-PEG_n$ означает соединение, где $n=1$. В другом варианте осуществления $O-PEG_n$ означает соединение, где $n=2$. В еще одном варианте осуществления $O-PEG_n$ означает соединение, где $n=3$.

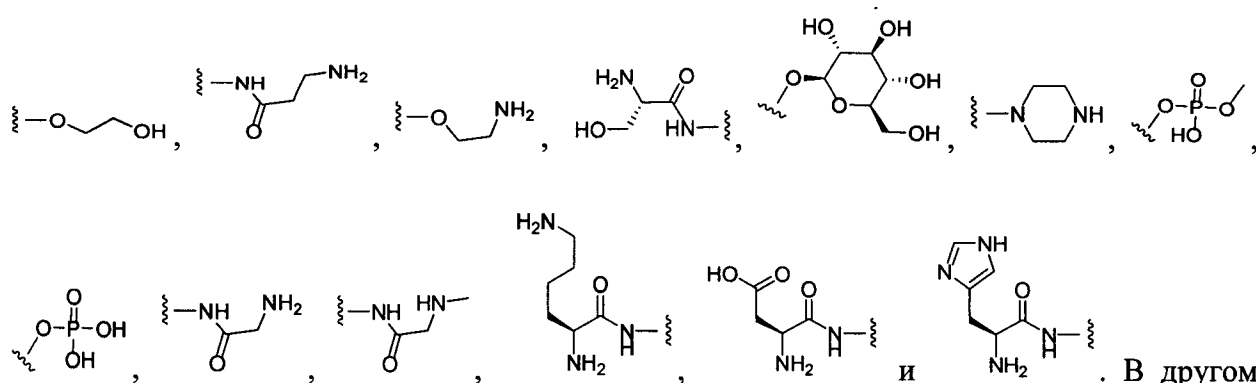
[0070] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia, Q^1 означает $-CH_2-$ и Q^2 означает $-C(O)-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$ и Q^2 означает $-C(O)-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$ и Q^2 означает $-CH_2-$. В еще одном варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$ и Q^2 означает $-C(H)(OH)-$.

[0071] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$ и W означает $-CH_2-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$ и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте

осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила,

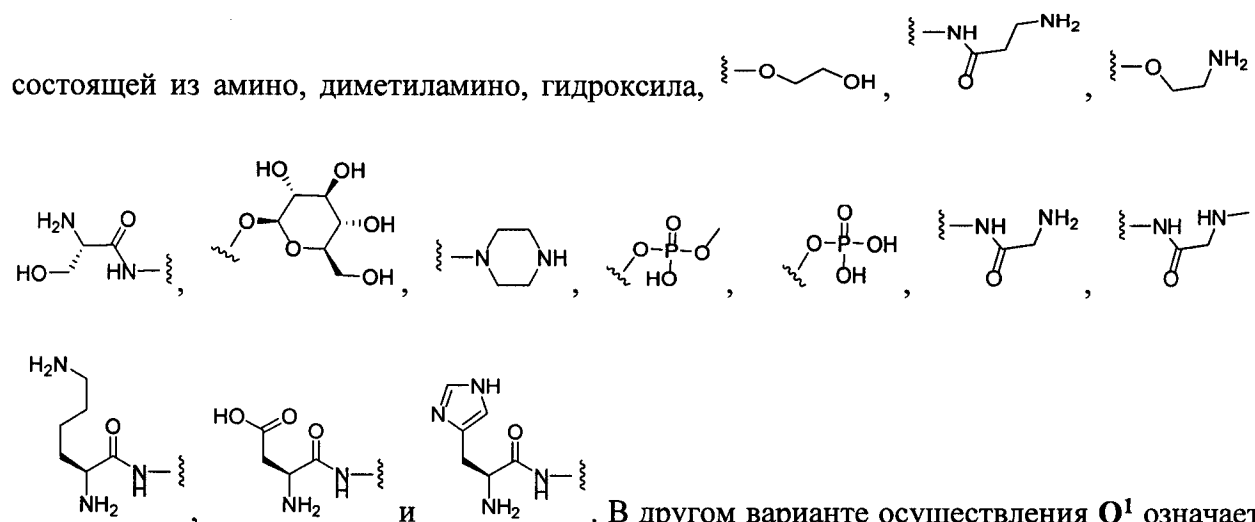


В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , or $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила,

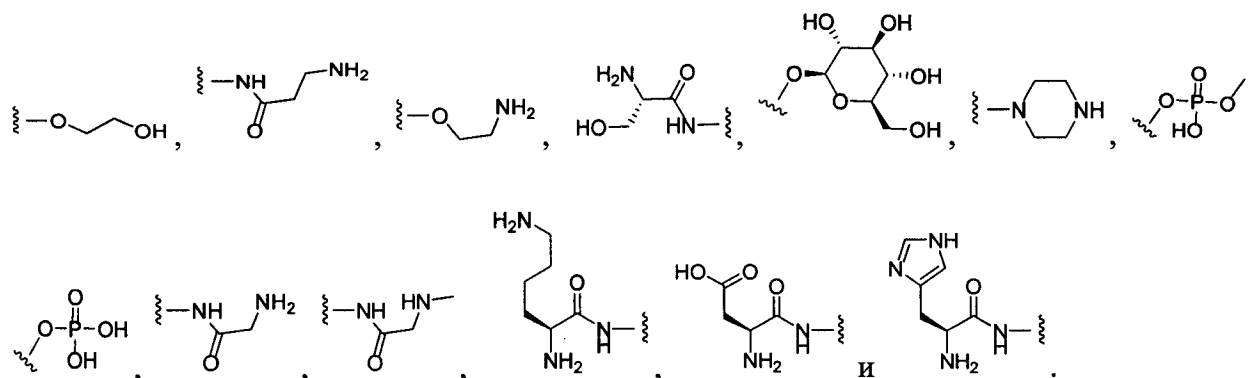


В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2

означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 выбирается из группы,

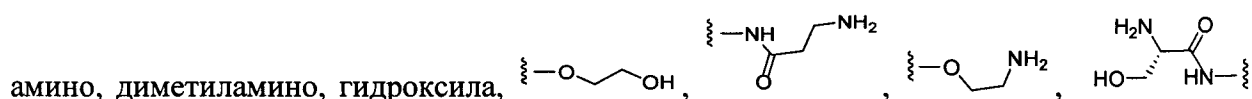


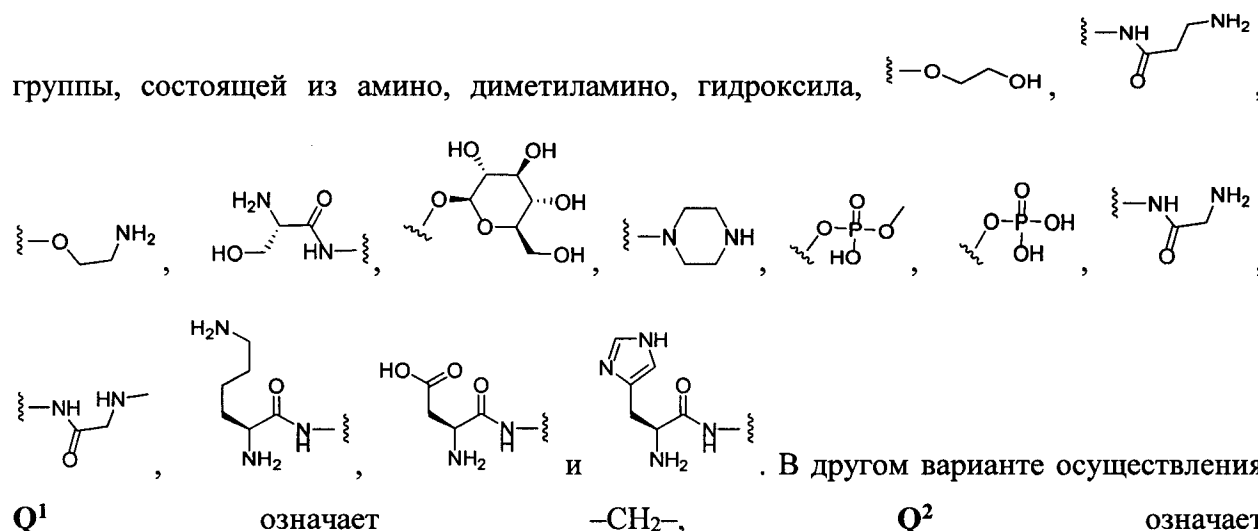
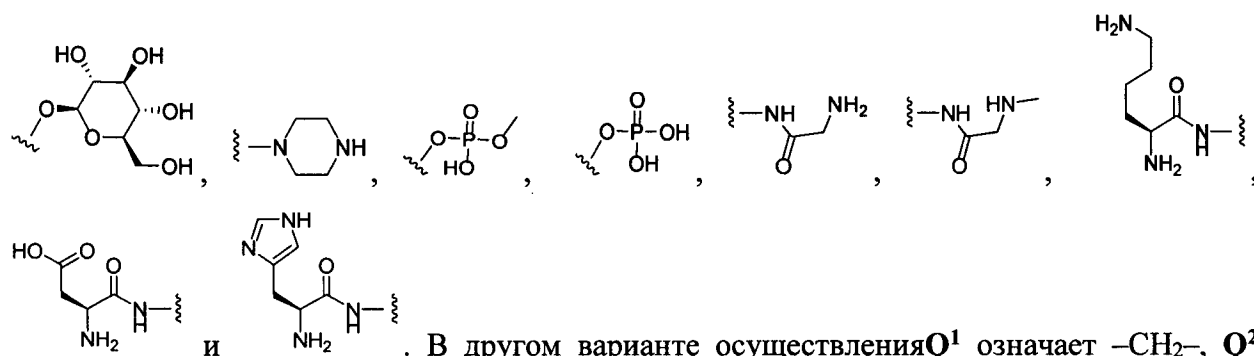
В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 выбирается из группы, состоящей из амина, диметиламина, гидроксила,



[0072] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia, Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ или $-\text{OP(O)}(\text{OR}^6)(\text{OH})$ и R^2 означает $-\text{H}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ и R^2 означает $-\text{H}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{OP(O)}(\text{OR}^6)(\text{OH})$ и R^2 означает $-\text{H}$. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце R^6 может быть выбран из группы, состоящей из гидроксила и метила.

[0073] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia, Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, и W означает $-\text{O}-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-\text{O}-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{OH}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{CH}_2\text{NH}_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{O}-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{CH}_2-$, Q^2 означает $-\text{C(O)}-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из





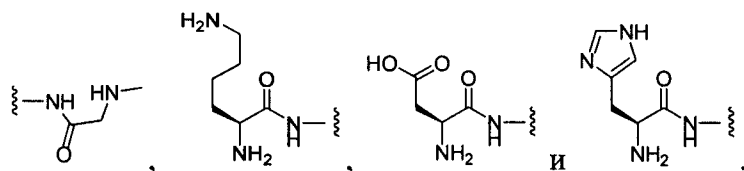
осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 выбирается из группы,



$-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает

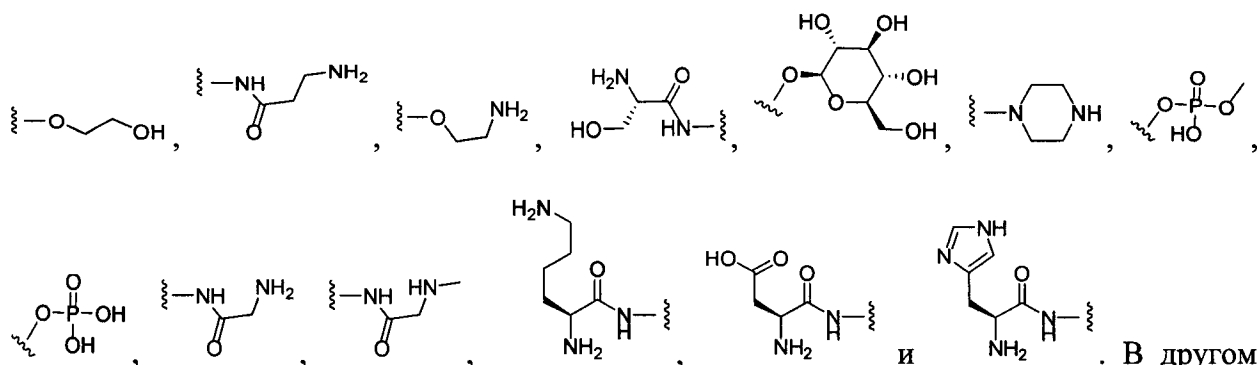
$-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 выбирается из



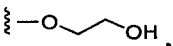
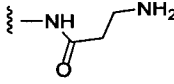
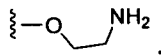
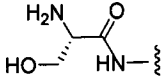
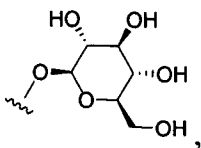
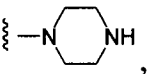
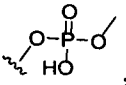
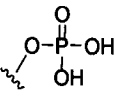
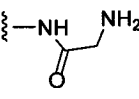
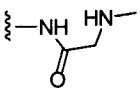
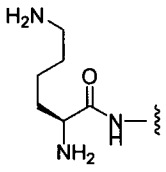
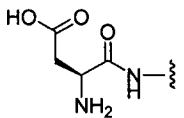
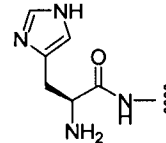


[0074] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia, Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ или $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце R^6 может быть выбран из группы, состоящей из гидроксила и метила.

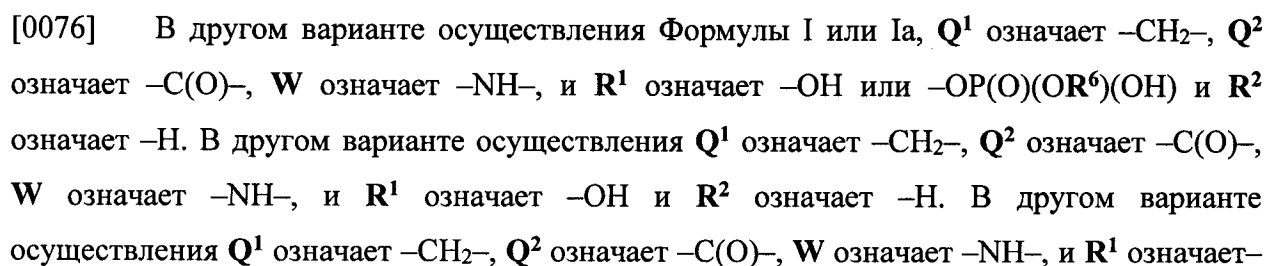
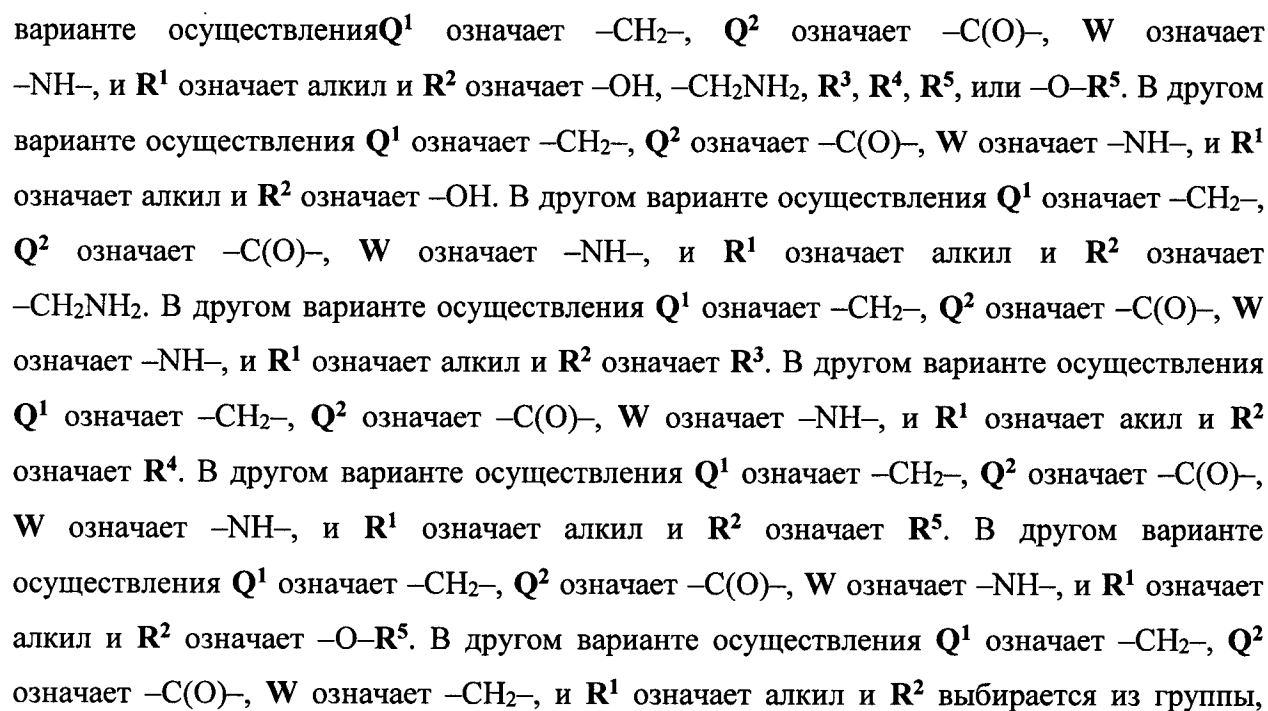
[0075] В одном варианте осуществления Формулы I или Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, и W означает $-NH-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила,



В другом варианте осуществления Q^1 означает $-CH_2-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает

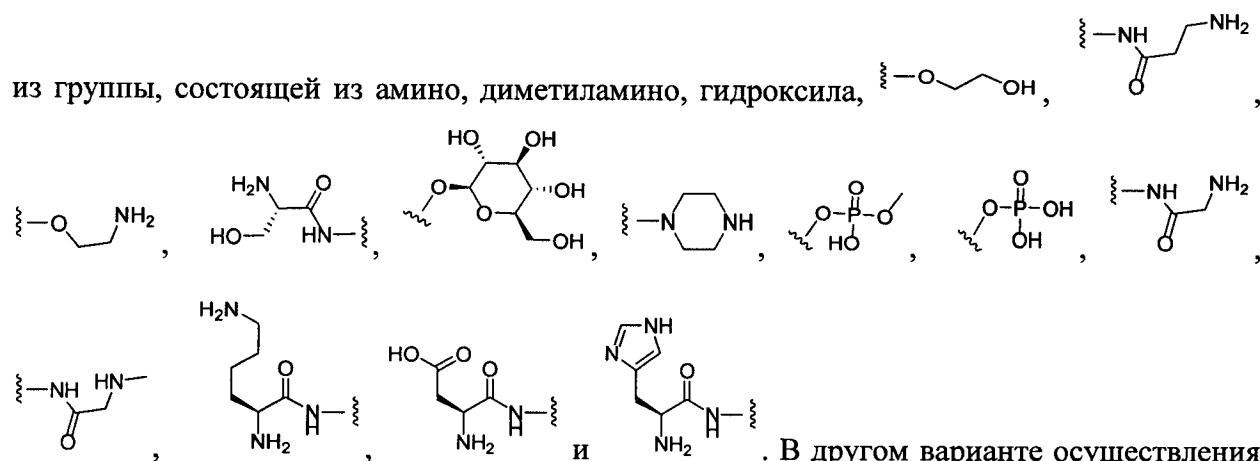
диметиламино, гидроксила, , , , , , , , , , , ,  и . В другом варианте осуществления **O¹** означает $-\text{CH}_2-$, **O²**

34



OP(O)(OR⁶)(OH) и R² означает –H. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце R⁶ может быть выбран из группы, состоящей из гидроксила и метила.

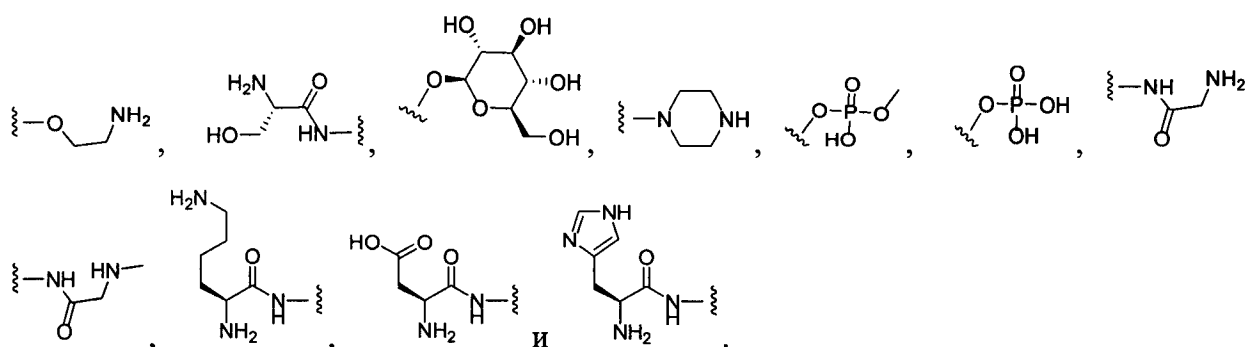
[0077] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, и W означает –CH₂–. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –H и R² означает –OH, –CH₂NH₂, R³, R⁴, R⁵, или –O–R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –H и R² означает –OH. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –H и R² означает –CH₂NH₂. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –H и R² означает R³. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –H и R² означает R⁴. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –H и R² означает R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –H и R² означает –O–R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –H и R² выбирается



Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH означает R² означает –OH, –CH₂NH₂, R³, R⁴, R⁵, или –O–R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH и R² означает –OH. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH и R² означает –CH₂NH₂. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(H)(OH)–, Q² означает –C(O)–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH и R² означает R³. В другом

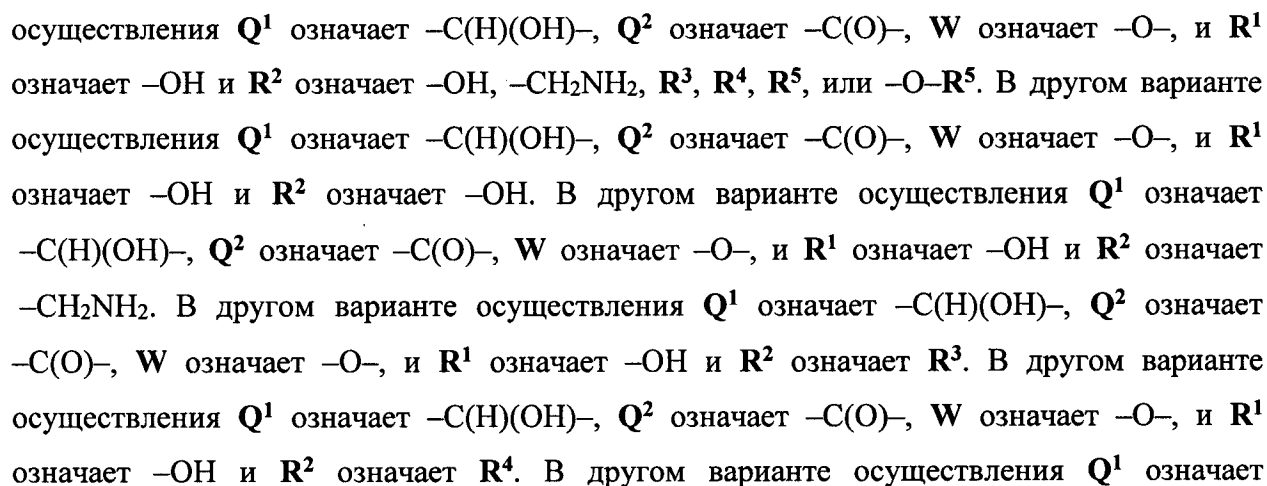


из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила, ,

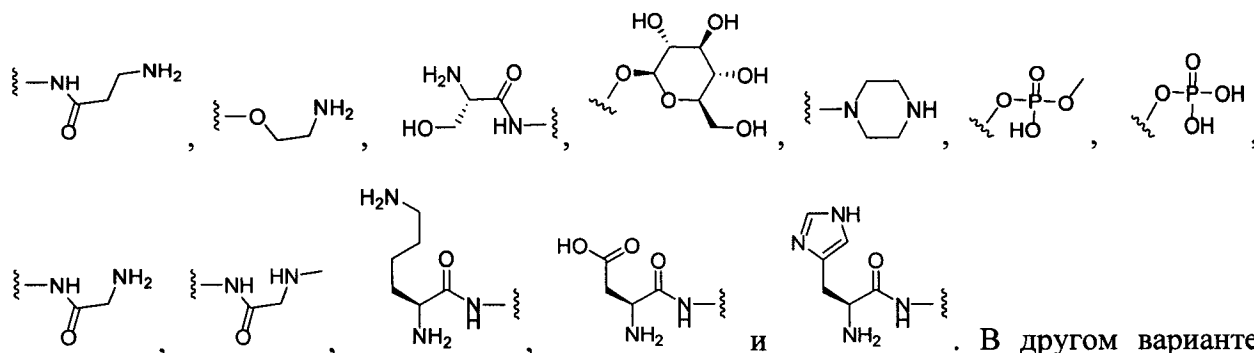


[0078] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ или $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W

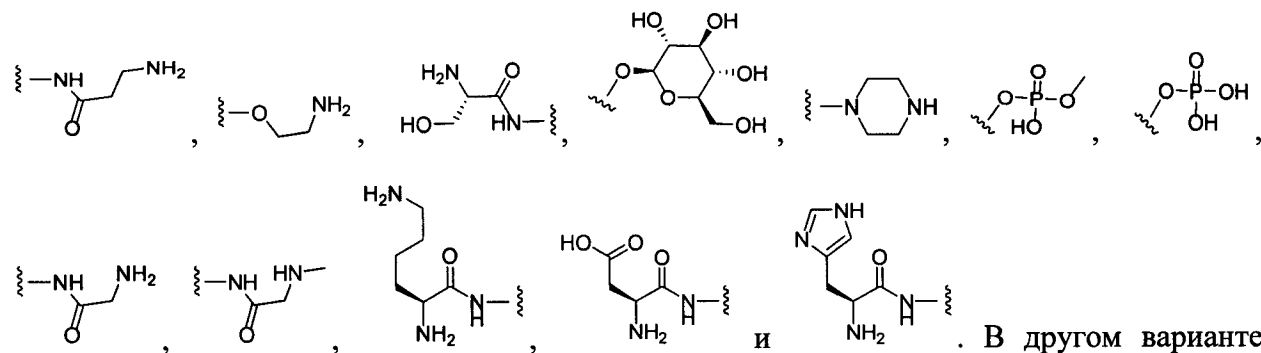
[0079] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, и W означает $-O-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H,OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H,OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H,OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H,OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H,OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H,OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из амина, диметиламина, гидроксила, $\text{---}O\text{---}CH_2CH_2OH$,



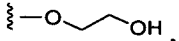
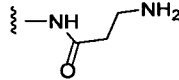
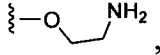
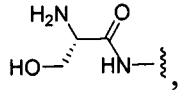
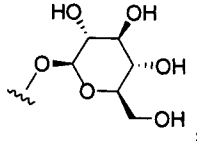
$-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ и R^2 означает $-\text{O}-\text{R}^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из амина, диметиламина, гидроксила, $\text{---O---CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$,

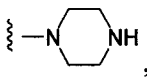
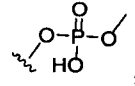
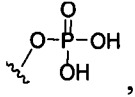
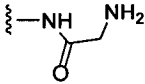
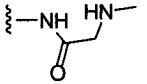
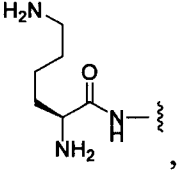
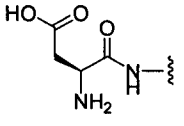


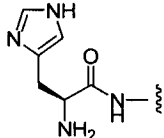
В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает $-\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-\text{O}-\text{R}^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает $-\text{OH}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает $-\text{CH}_2\text{NH}_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает $-\text{O}-\text{R}^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из амина, диметиламина, гидроксила $\text{---O---CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$,



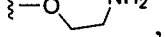
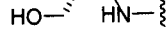
В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1

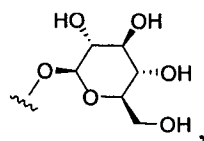
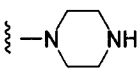
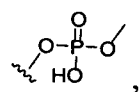
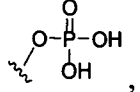
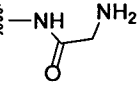
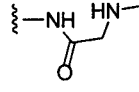
гидроксила, , , , , ,

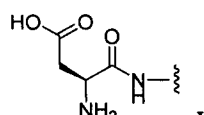
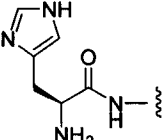
, , , , , , ,



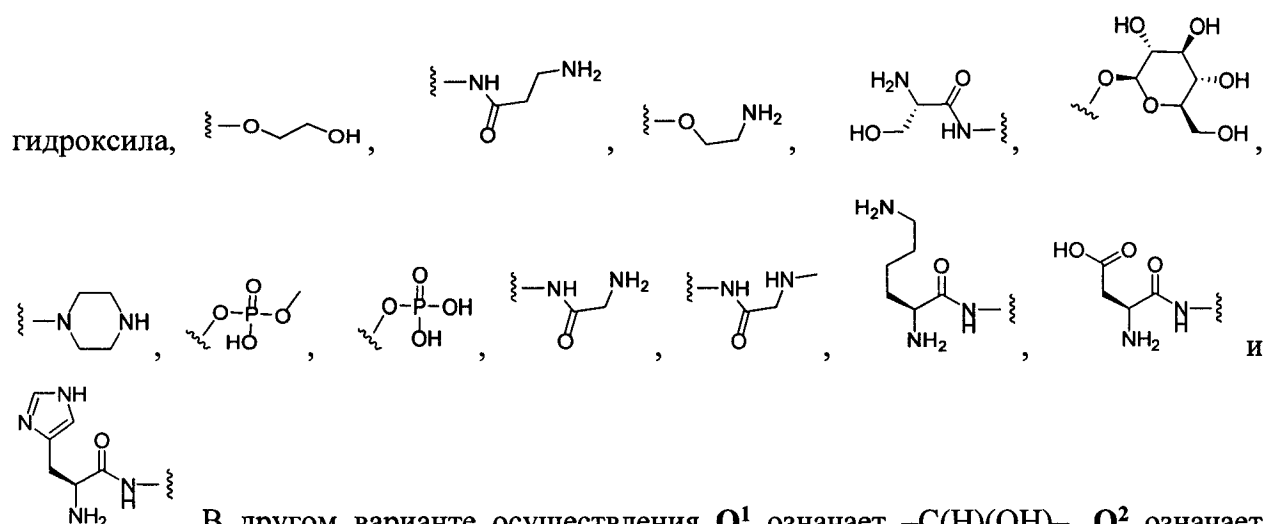
[0081] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, и W означает $-NH-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$,

диметиламино, гидроксила, , , , ,

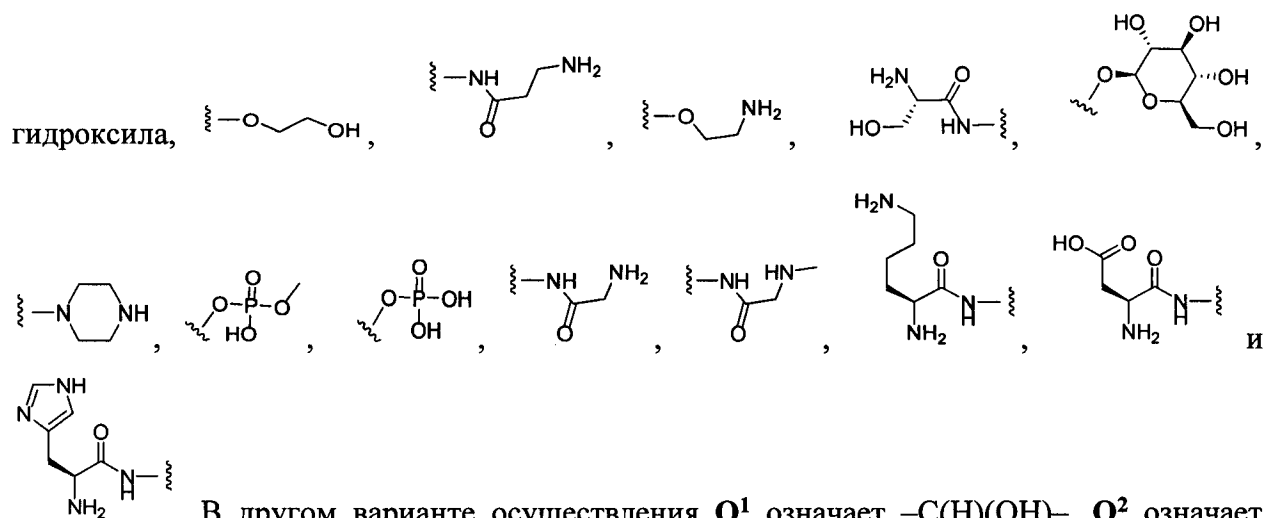
, , , , , ,

 и . В другом варианте осуществления **O**¹ означает -C(H)(OH)-.

42



. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино,



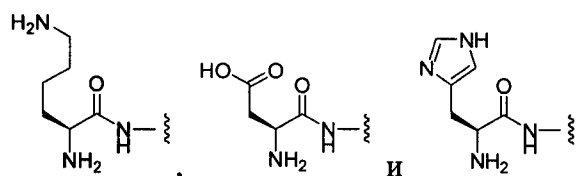
. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(H)(OH)-$, Q^2 означает

В другом варианте

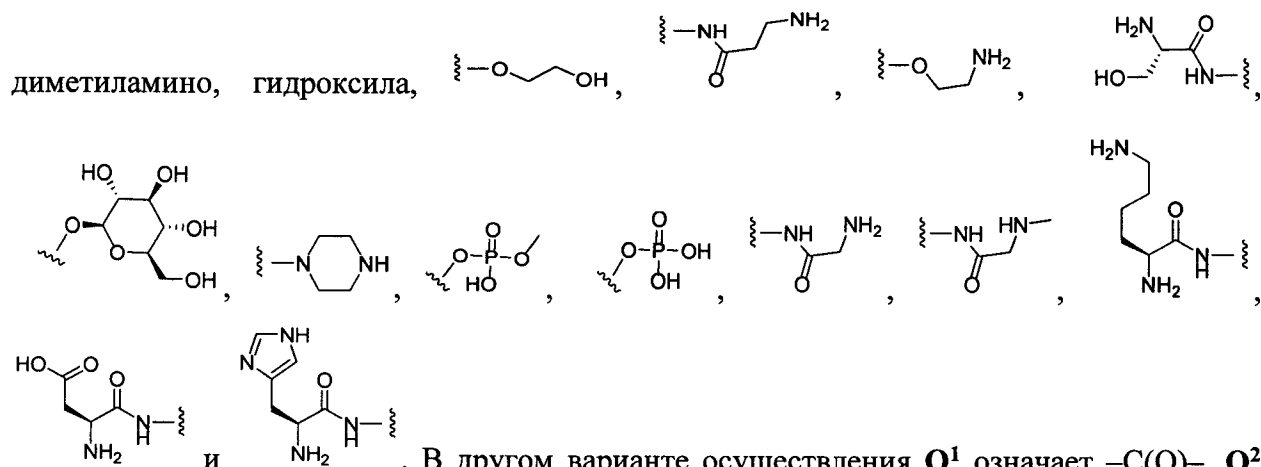
состоящей из amino, диметиламино, гидроксила,

The image shows several chemical structures representing functional groups:

- Amino group: $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{OH})-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$
- Dimethylamino group: $\text{N}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$
- Hydroxyl group: $\text{OH}-$
- Hydroxyl group on a sugar ring: A pyranose ring with multiple OH groups and an O atom in the ring.
- Hydroxyl group on a phosphate: $\text{HO}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})_2$
- Hydroxyl group on a phosphate: $\text{HO}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})(\text{O}-)$
- Amino group: $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{NH}-$
- Dimethylamino group: $\text{N}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$

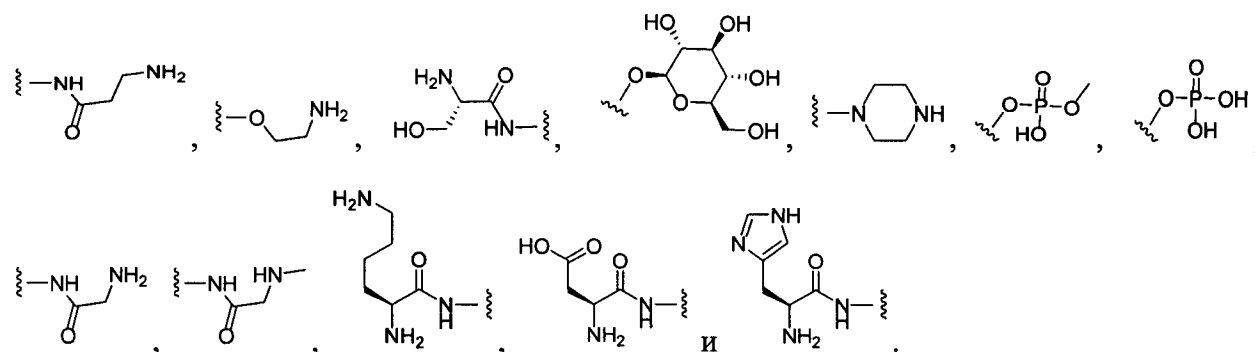


. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из амина,



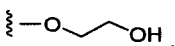
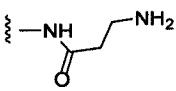
. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$,

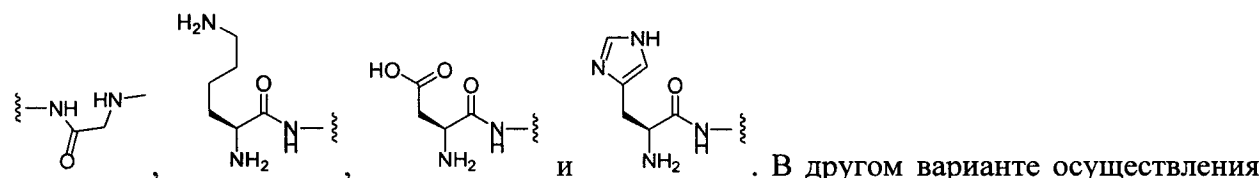
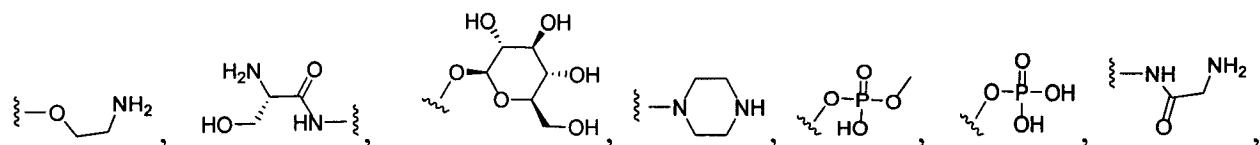
Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 выбирается из группы, состоящей из амина, диметиламина, гидроксила, $\text{---}O\text{---}CH_2CH_2OH$,



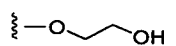
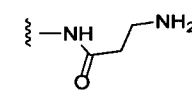
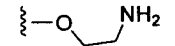
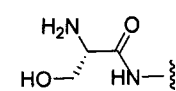
[0084] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ или $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце R^6 может быть выбран из группы, состоящей из гидроксила и метила.

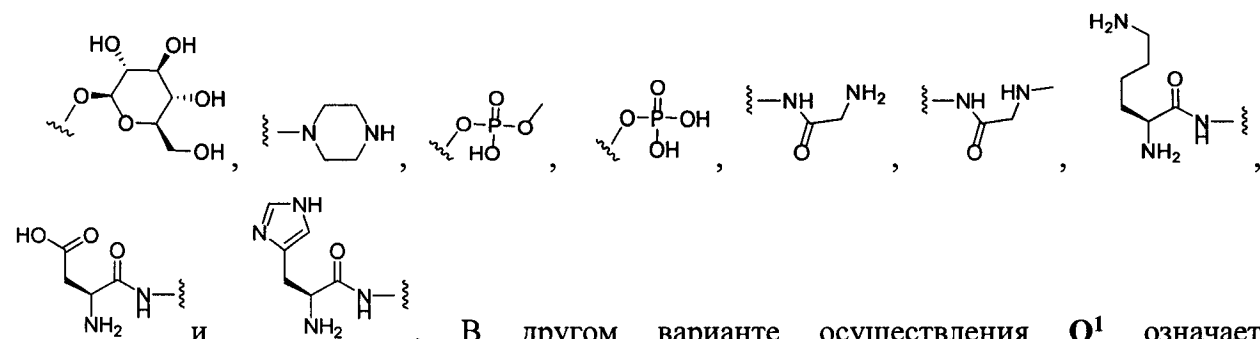
[0085] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, и W означает $-O-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, and R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 , выбирается

из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила, , ,



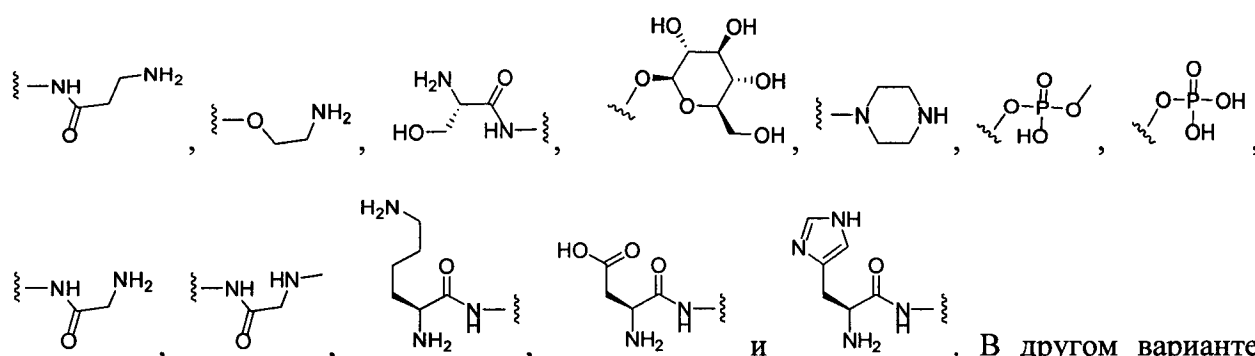
Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino,

диметиламино, гидроксила, , , , ,

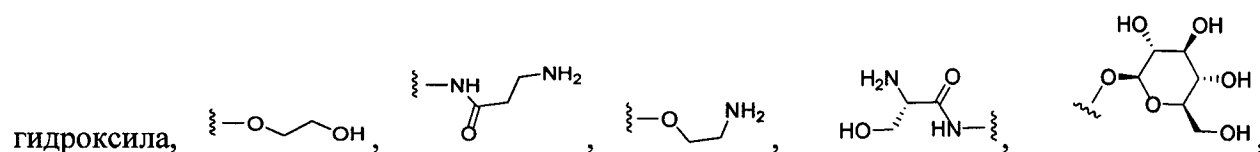


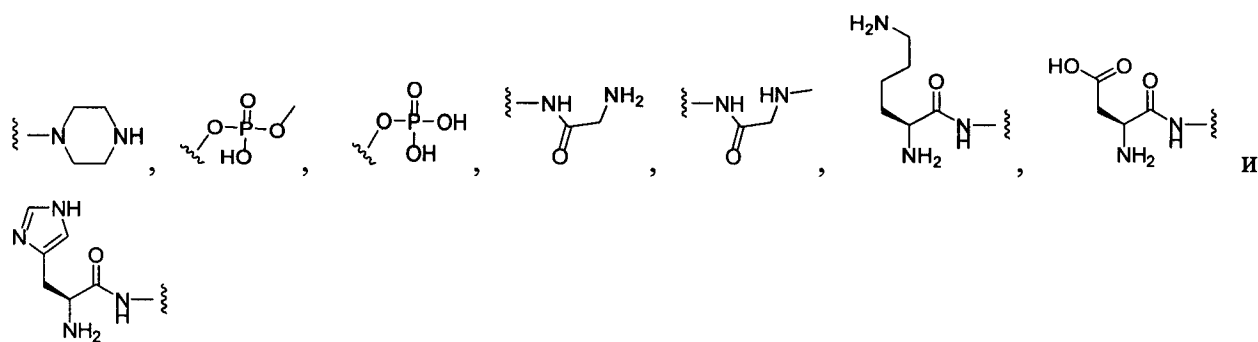
$-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$. В другом

варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила, $\sim-O-CH_2CH_2OH$,



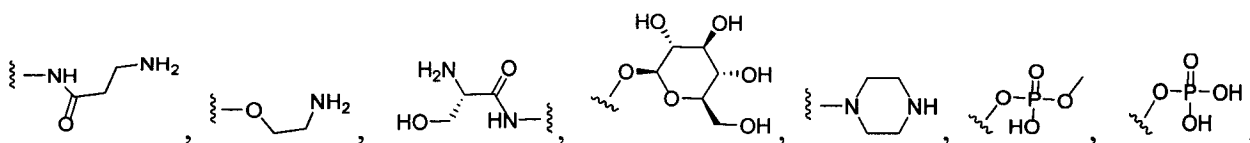
В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила,

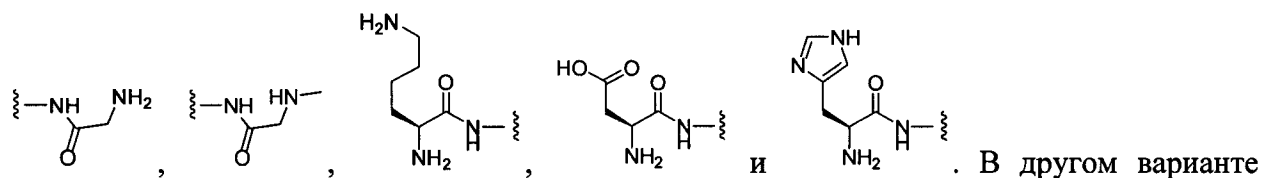




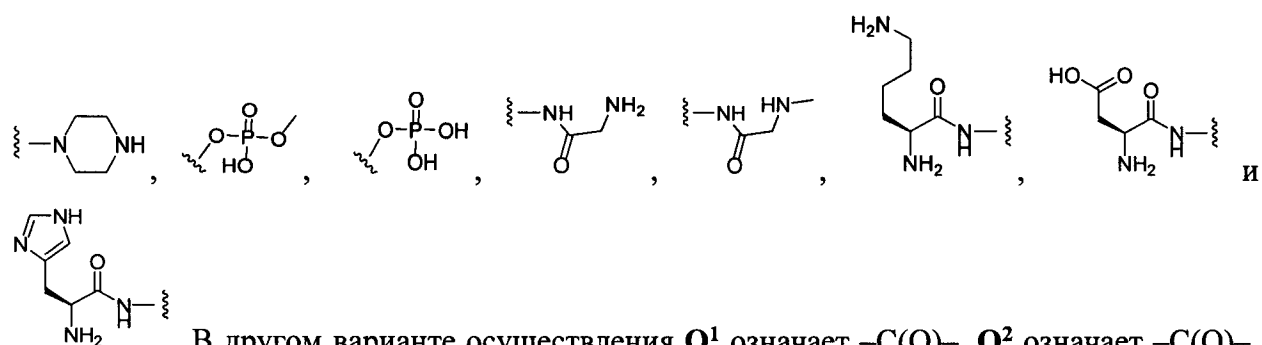
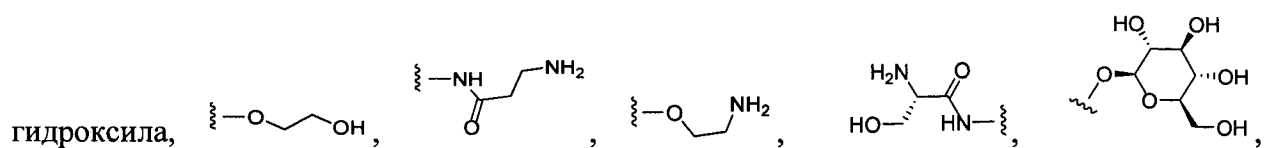
[0086] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ или $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)(\text{OH})$ и R^2 означает $-\text{H}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ and R^2 означает $-\text{H}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)(\text{OH})$ и R^2 означает $-\text{H}$. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце R^6 может быть выбран из группы, состоящей из гидроксила и метила.

[0087] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, и W означает $-\text{NH}-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-\text{O}-\text{R}^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{OH}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{CH}_2\text{NH}_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{O}-\text{R}^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{O})-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из амина, диметиламина, гидроксила, $\sim\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$,



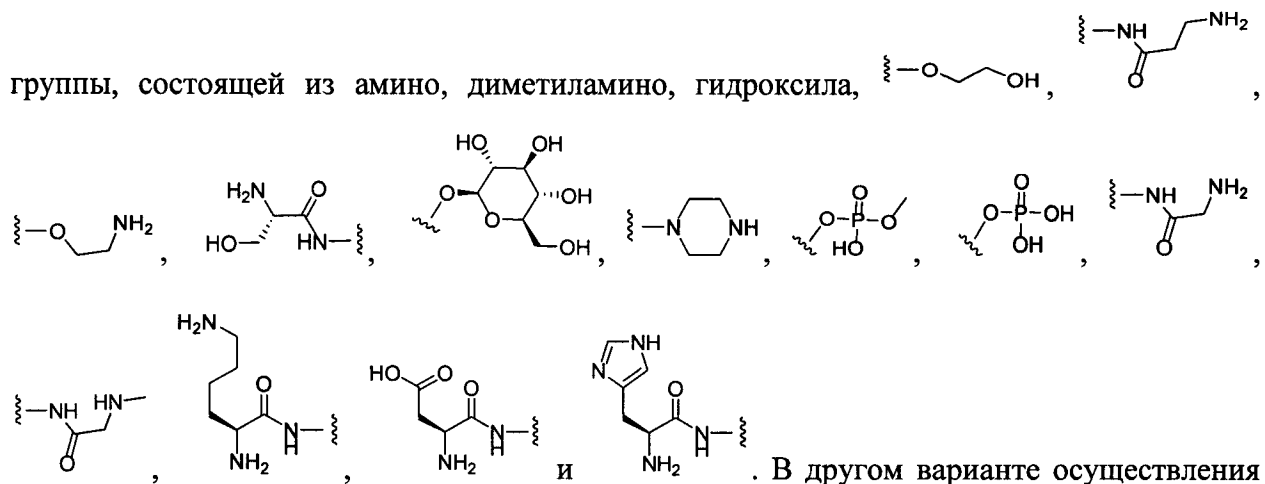


В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления, Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино,

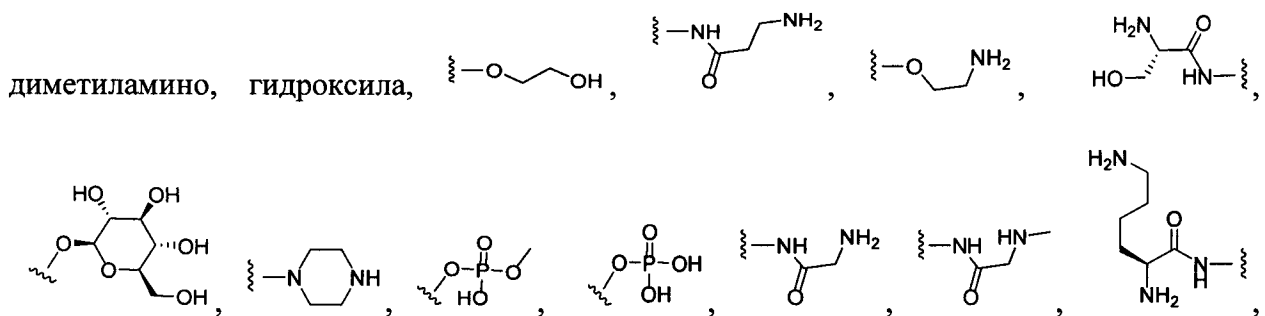


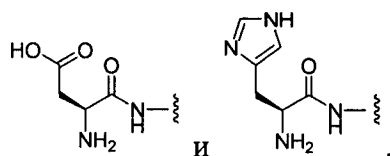
В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2

означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 выбирается из



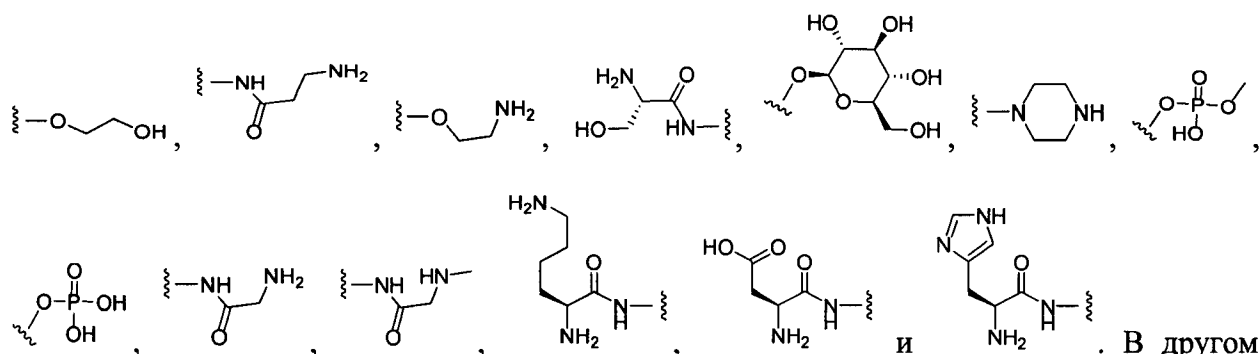
Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления, Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino,





[0088] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ или $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(O)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце R^6 может быть выбран из группы, состоящей из гидроксила и метила.

[0089] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, и W означает $-CH_2-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила,

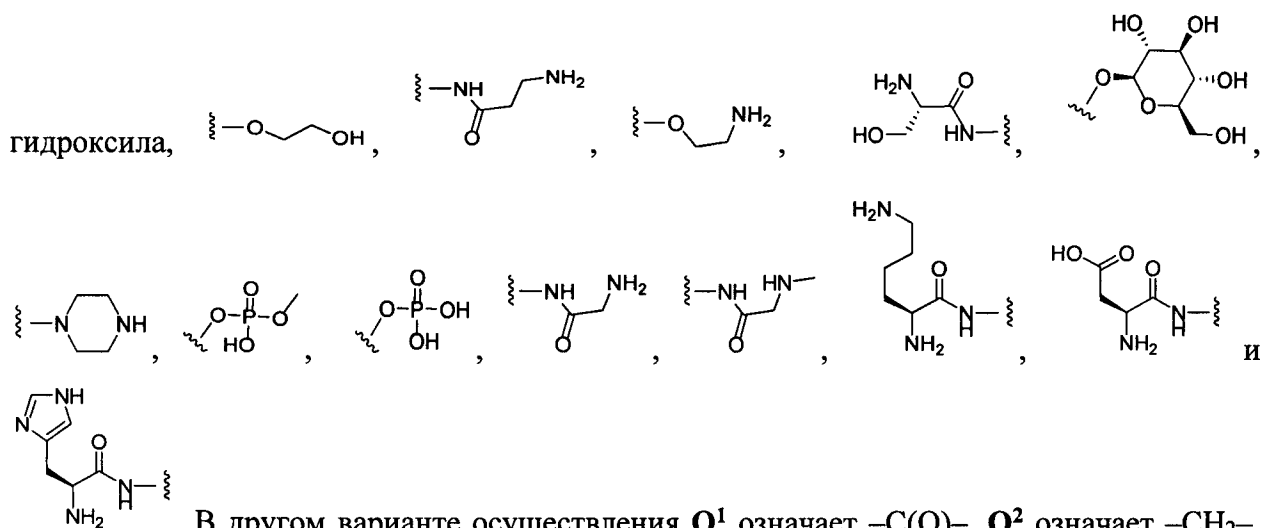


В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает

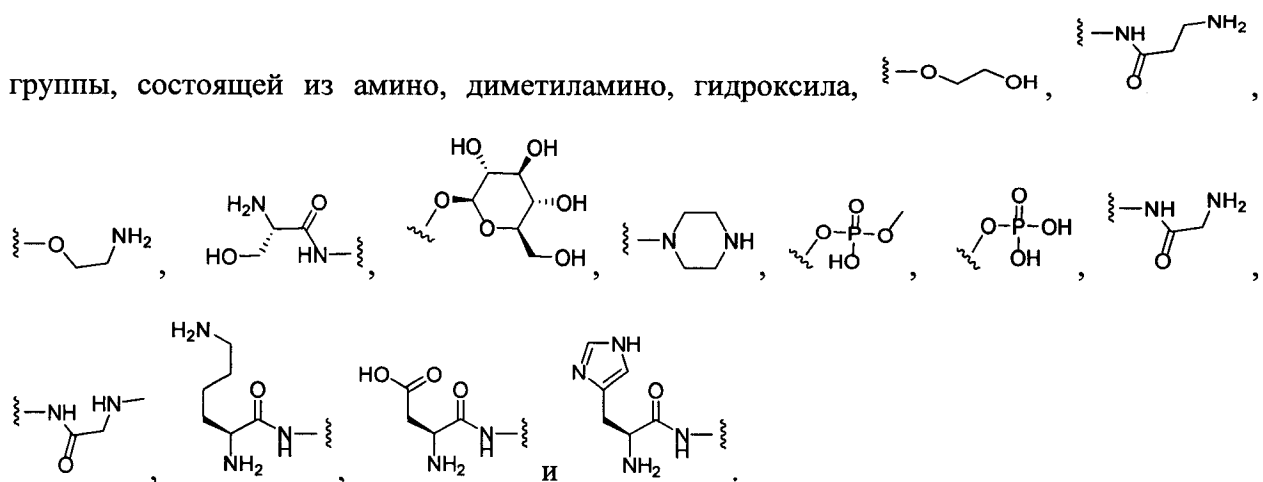
–CH₂–, и R¹ означает –OH и R² означает –OH, –CH₂NH₂, R³, R⁴, R⁵ или –O–R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH и R² означает –OH. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH и R² означает –CH₂NH₂. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH и R² означает R³. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH и R² означает R⁴. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH и R² означает R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH и R² означает –O–R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –OH и R² выбирается из группы,



–C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает –OH, –CH₂NH₂, R³, R⁴, R⁵ или –O–R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает –OH. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает –CH₂NH₂. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает R³. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает R⁴. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает –O–R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –CH₂–, W означает –CH₂–, и R¹ означает –NH₂ и R² выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино,



W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 выбирается из



[0090] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-OH$ or $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W

[0091] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, и W означает $-O-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 выбирается из группы, состоящей

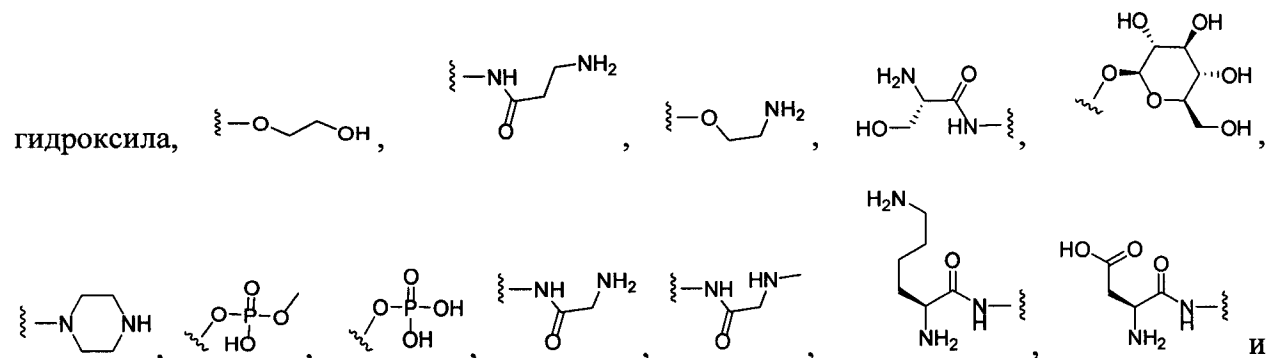
N[C@@H](CO)C(=O)N*, O[C@H]1O[C@@H](O)[C@H](O)[C@@H](CO)O1, *N1CCNCC1, *OP(=O)(O)OC, *OP(=O)(O)O, *NC(=O)CN, *NC(=O)CN,
NCCCC[C@@H](N)C(=O)N*, OC(=O)C[C@@H](N)C(=O)N* и Nc1c[nH]c1[C@@H](N)C(=O)N*. В другом варианте осуществления **O¹** означает:

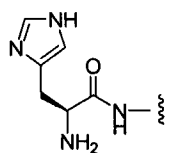
010-8919-9385/2/AMERICAS

и R^1 означает $-\text{OH}$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ и R^2 означает $-\text{O}-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ и R^2 выбирается

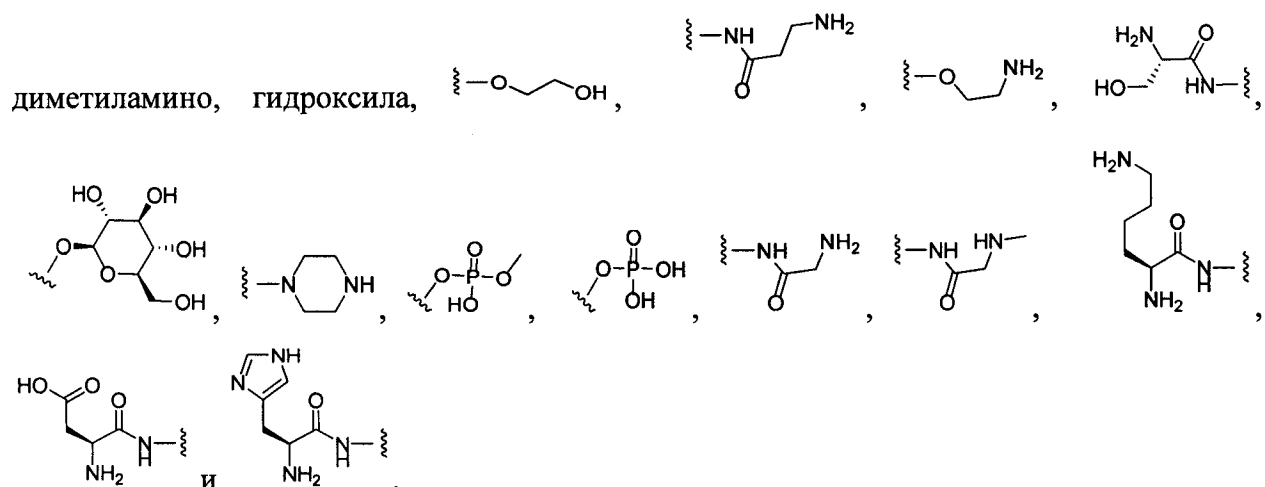


Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает $-\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-\text{O}-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает $-\text{OH}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает $-\text{CH}_2\text{NH}_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 означает $-\text{O}-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{NH}_2$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила,





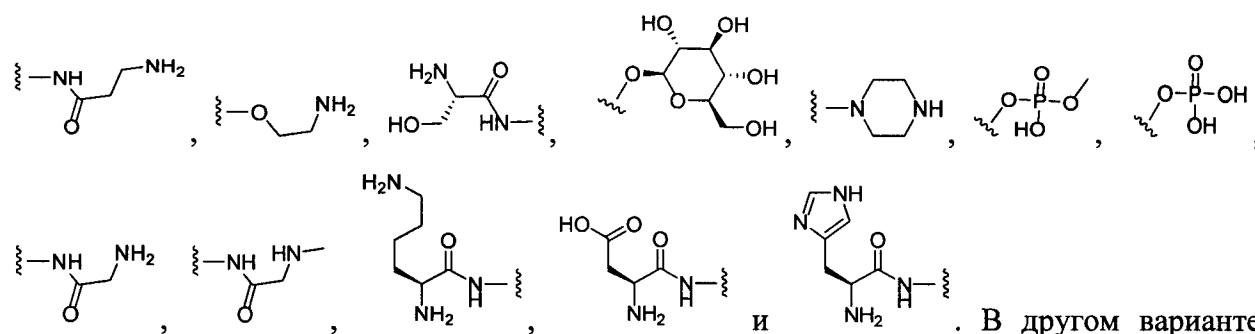
. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-OR^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OR^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает алкил и R^2 выбирается из группы, состоящей из амина,



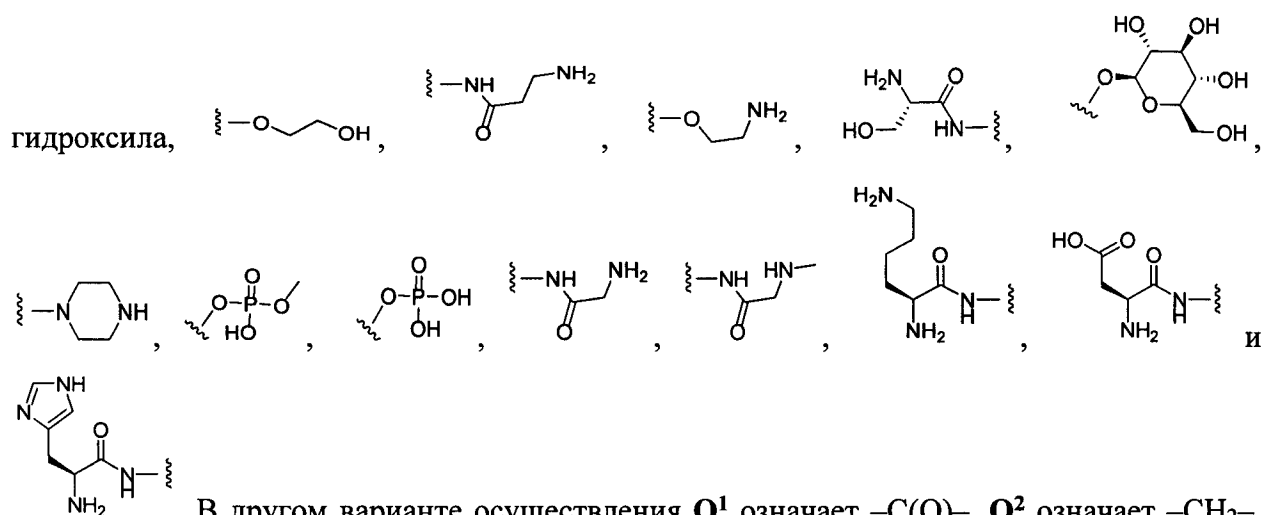
[0092] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ или $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце R^6 может быть выбран из группы, состоящей из гидроксила и метила.

[0093] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$. В другом варианте осуществления Q^1

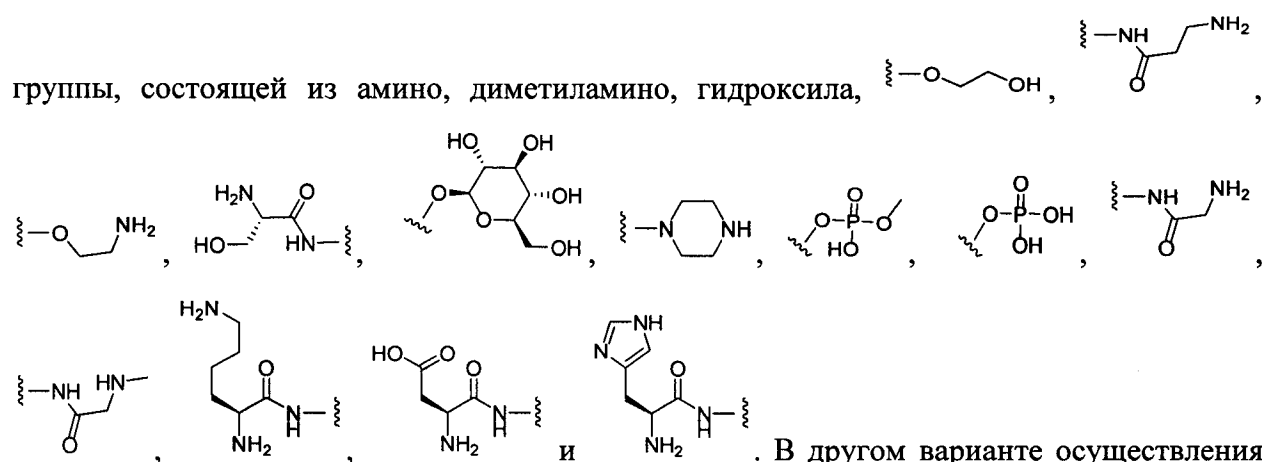
означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила, $\text{---}O\text{---}CH_2\text{---}OH$,



. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино,

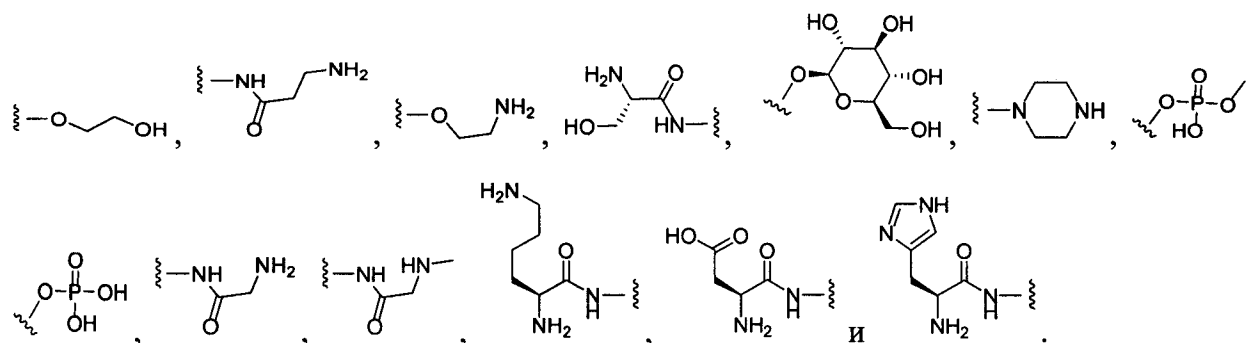


W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 выбирается из



Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-CH_2-$, W

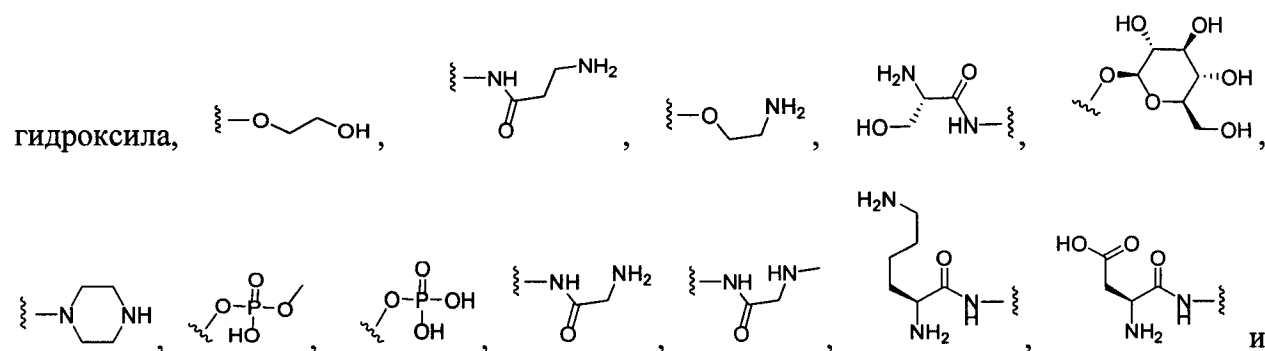
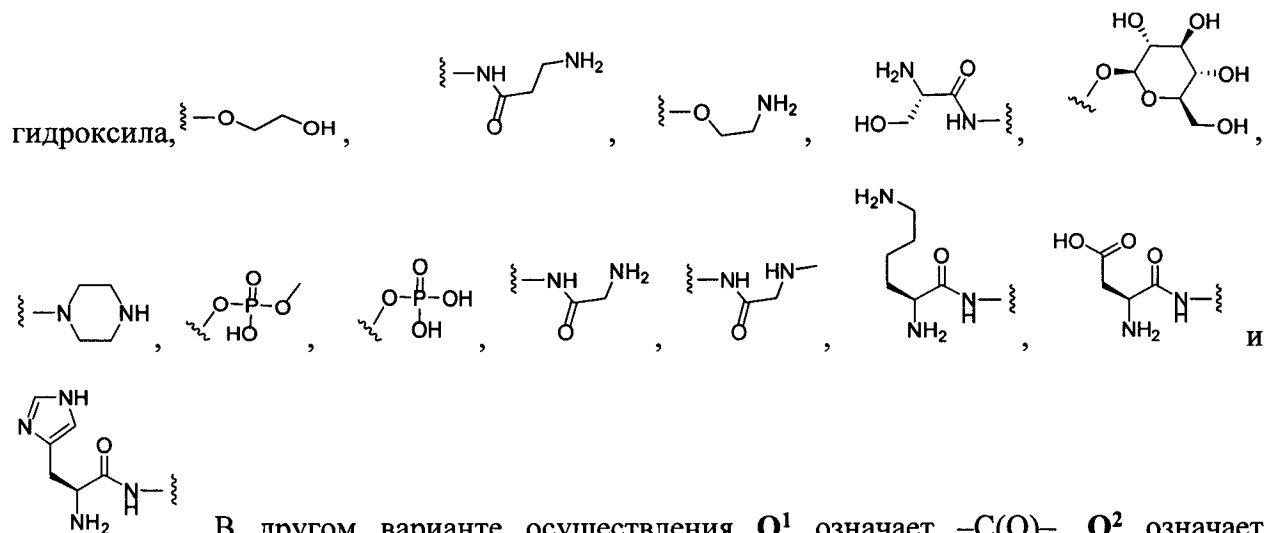
означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-\text{CH}_2\text{NH}_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-\text{O}-\text{R}^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает алкил и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино,

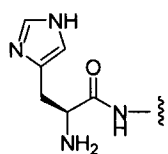


[0094] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ или $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)(\text{OH})$ и R^2 означает $-\text{H}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ и R^2 означает $-\text{H}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{CH}_2-$, W означает $-\text{NH}-$, и R^1 означает $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)(\text{OH})$ и R^2 означает $-\text{H}$. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце R^6 может быть выбран из группы, состоящей из гидроксила и метила.

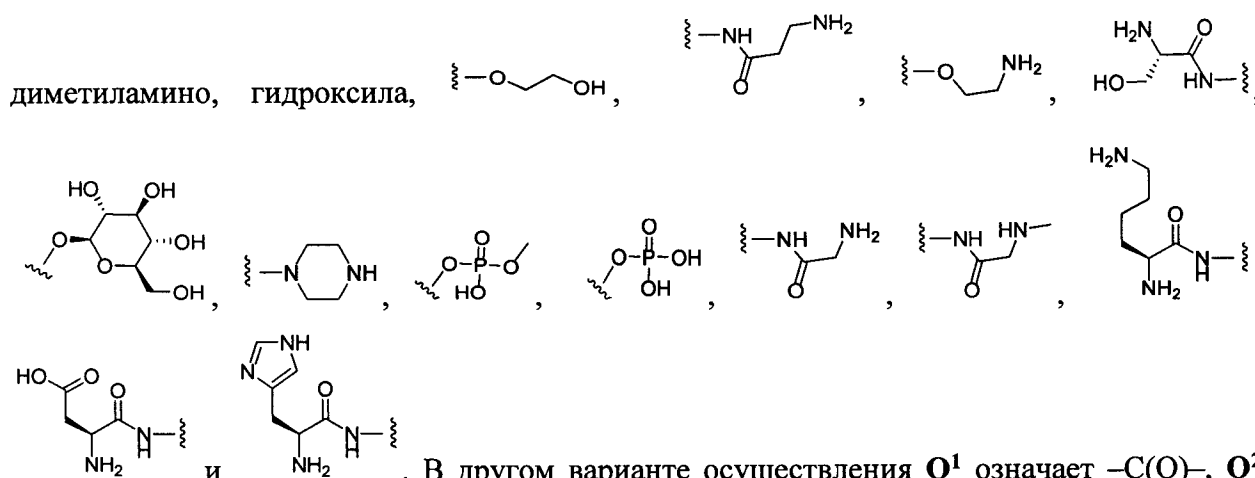
[0095] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, и W означает $-\text{CH}_2-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-\text{O}-\text{R}^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{OH}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{CH}_2\text{NH}_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$,

и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OR^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из амина, диметиламина,



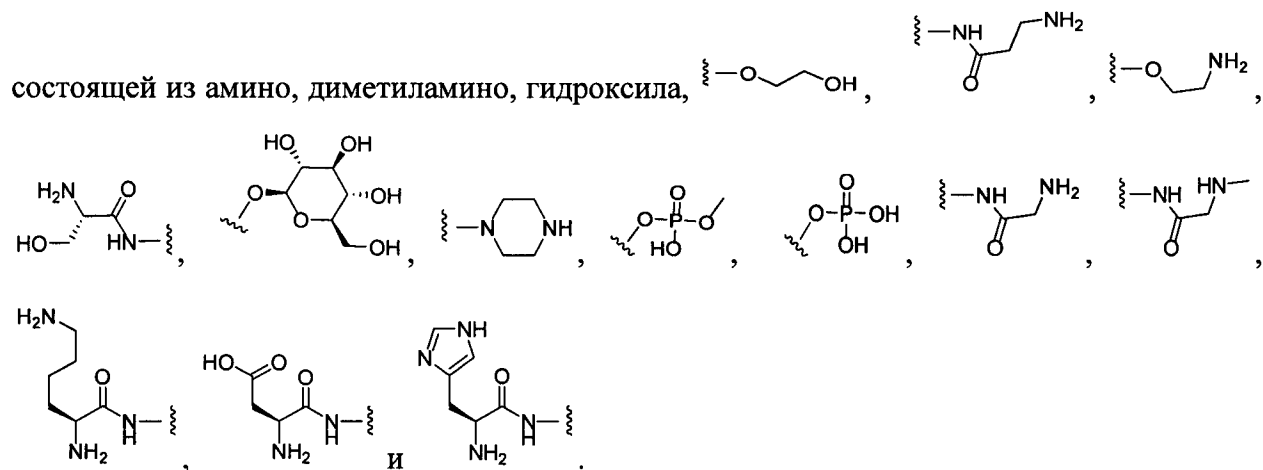


. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino,



означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-CH_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает

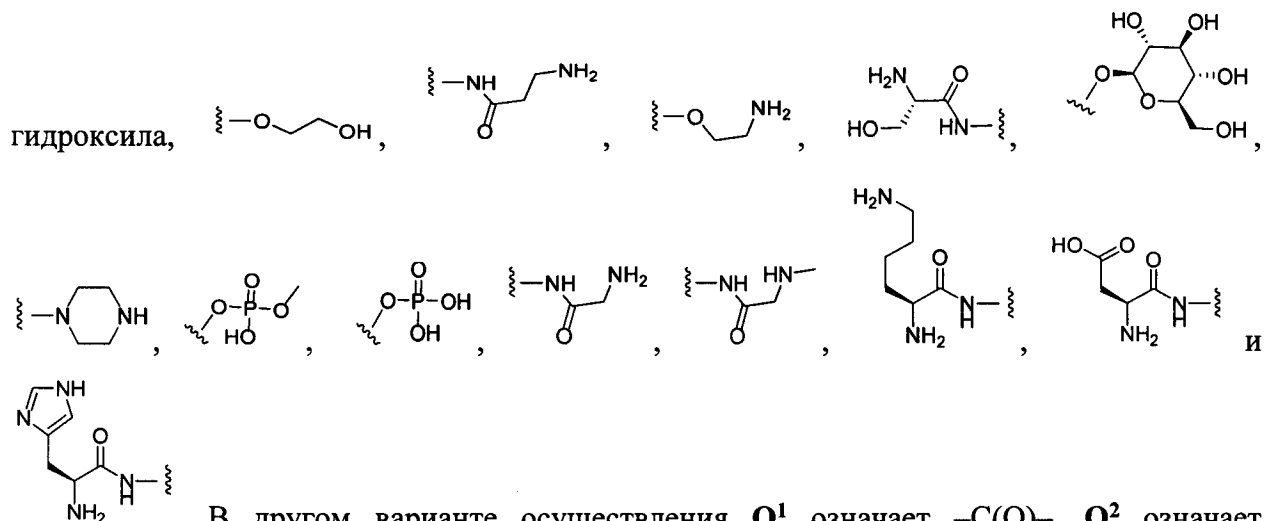
$-\text{CH}_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 означает $-\text{O}-\text{R}^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает алкил и R^2 выбирается из группы,



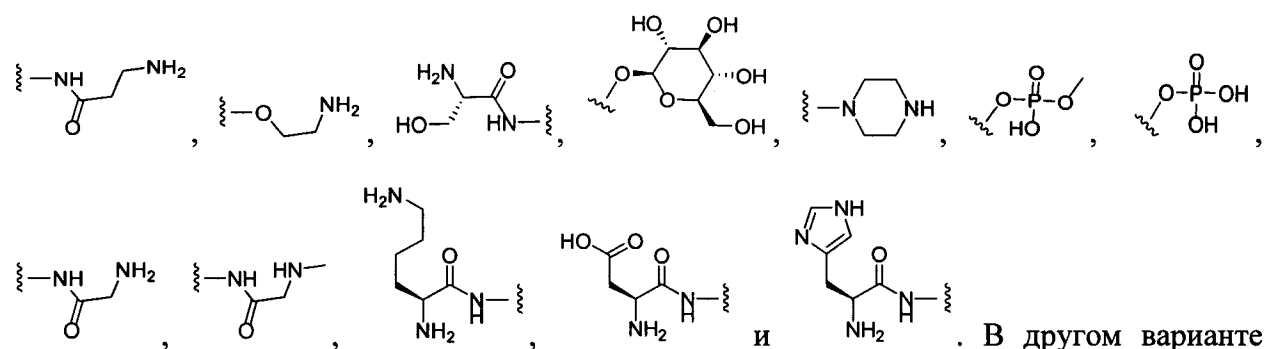
[0096] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ или $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)(\text{OH})$ и R^2 означает $-\text{H}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{OH}$ и R^2 означает $-\text{H}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{CH}_2-$, и R^1 означает $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)(\text{OH})$ и R^2 означает $-\text{H}$. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце R^6 может быть выбран из группы, состоящей из гидроксила и метила.

[0097] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, и W означает $-\text{O}-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-\text{O}-\text{R}^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{OH}$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{CH}_2\text{NH}_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 означает $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, W означает $-\text{O}-$, и R^1 означает $-\text{H}$ и R^2 означает $-\text{O}-\text{R}^5$. В другом

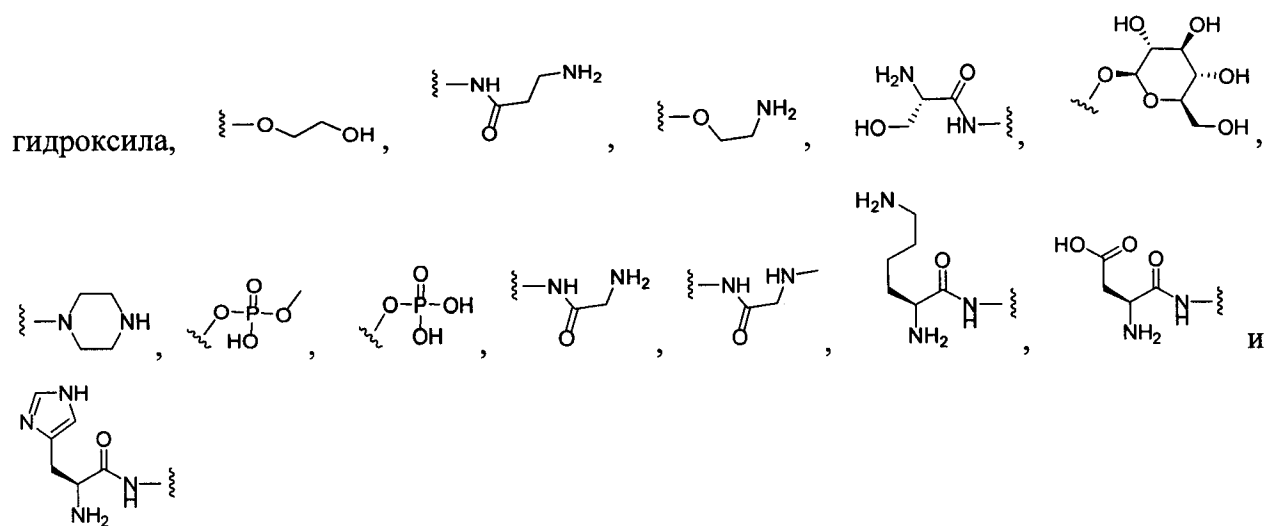
варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила,



. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino, диметиламино, гидроксила,

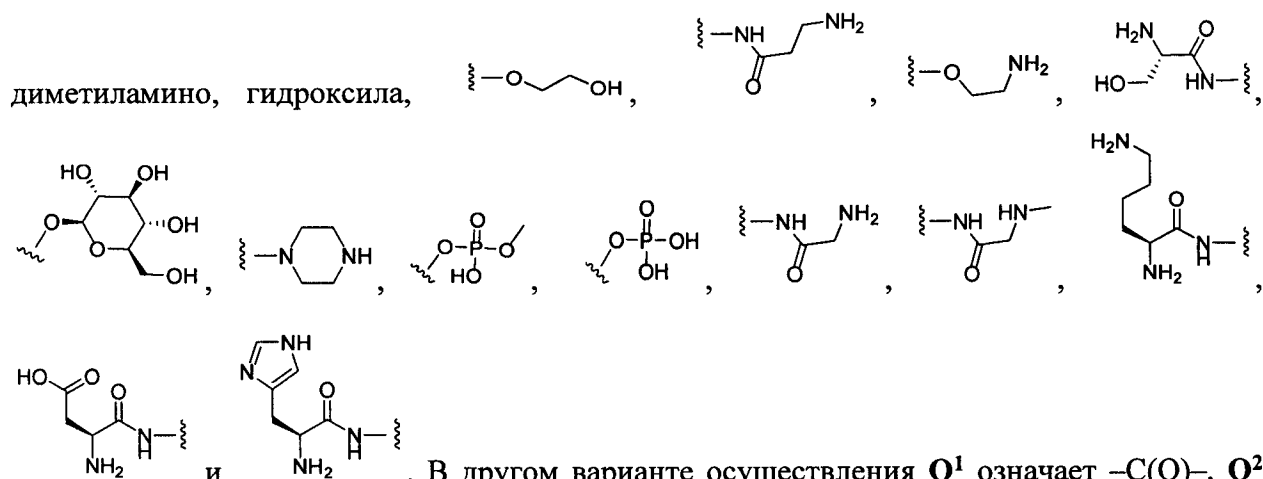


. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-NH_2$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1

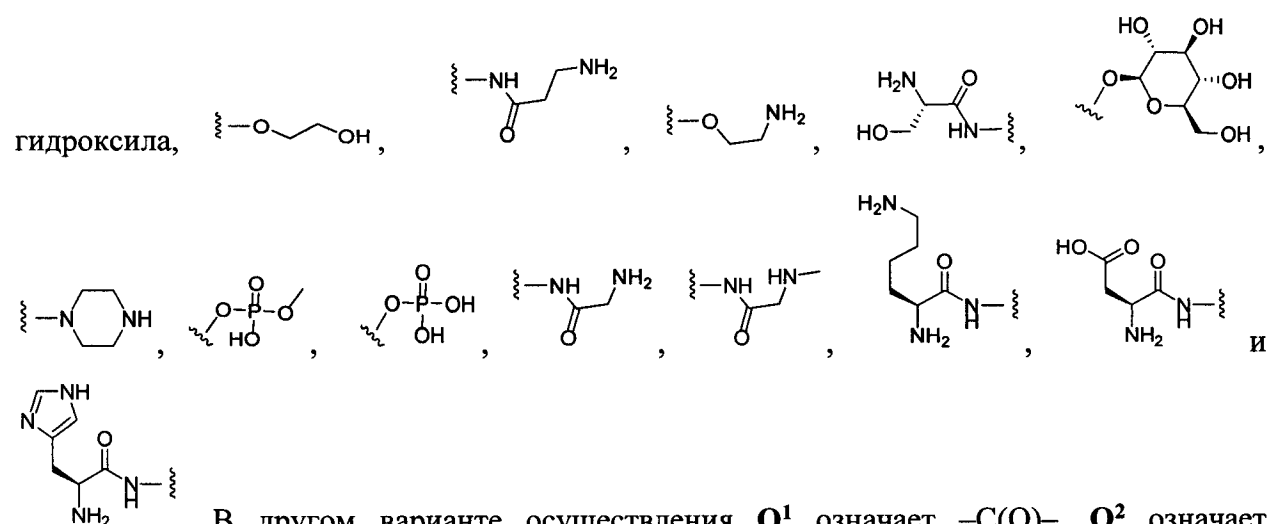


[0098] В другом варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ или $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-H$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-O-$, и R^1 означает $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-H$. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце R^6 может быть выбран из группы, состоящей из гидроксила и метила.

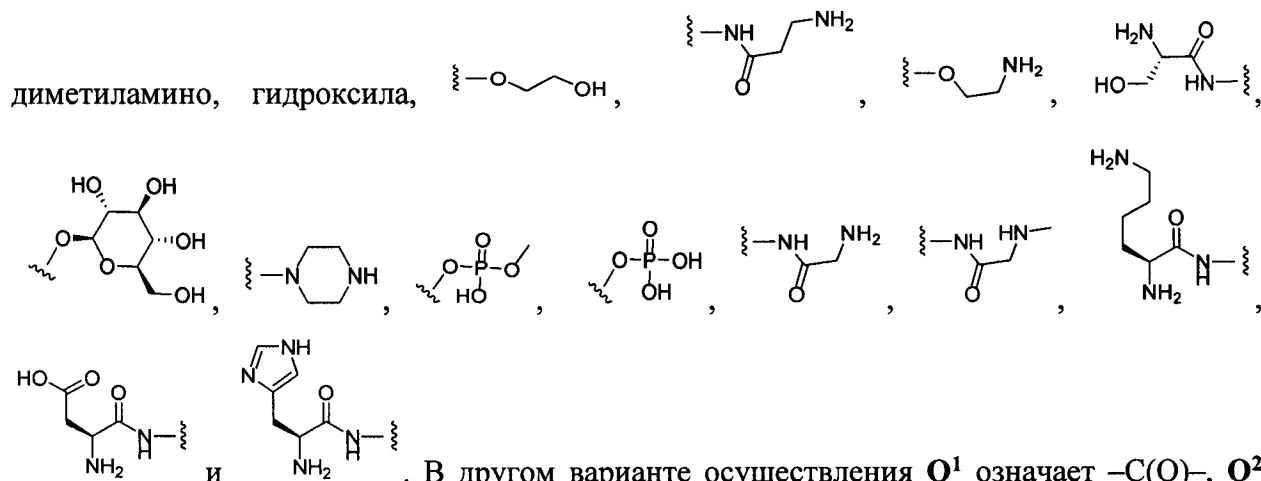
[0099] В одном варианте осуществления Формулы I или Ia Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, и W означает $-NH-$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-H$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из amino,



означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 , или $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-OH$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-CH_2NH_2$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^3 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^4 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^5 . В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-O-R^5$. В другом варианте осуществления Q^1 означает $-C(O)-$, Q^2 означает $-C(H)(OH)-$, W означает $-NH-$, и R^1 означает $-OH$ и R^2 выбирается из группы, состоящей из амина, диметиламина,



–C(H)(OH)–, W означает –NH–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает –OH. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –C(H)(OH)–, W означает –NH–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает –CH₂NH₂. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –C(H)(OH)–, W означает –NH–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает R³. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –C(H)(OH)–, W означает –NH–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает R⁴. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –C(H)(OH)–, W означает –NH–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –C(H)(OH)–, W означает –NH–, и R¹ означает –NH₂ и R² означает –O–R⁵. В другом варианте осуществления Q¹ означает –C(O)–, Q² означает –C(H)(OH)–, W означает –NH–, и R¹ означает –NH₂ и R² выбирается из группы, состоящей из amino,



R^4 означает $-X-Y-Z$;

X выбирается из группы, состоящей из $-O-$ и $-N(H)-$;

Y выбирается из группы, состоящей из алкилена, замещенного алкилена (включая, помимо прочего, оксо замещение, т.е. $=O$), гетероалкилена и замещенного гетероалкилена (включая, помимо прочего, оксо замещение т.е. $=O$));

Z выбирается из группы, состоящей из $-OH$ и $-NH_2$;

R^5 означает алкил, гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил, где в каждом случае гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил включает один, два или три гетероатома, выбранных из азота и кислорода, и включает минимум один $-OH$ и $-CH_2$ заместитель или минимум один первичный или вторичный азот, например, O -глюкозу;

в каждом случае R^6 в каждом примере означает $-H$, аминокислотный остаток, N -алкильный аминокислотный остаток, пептид или алкил; и

в каждом случае R^7 независимо означает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-CN$, O -глюкозу, O -аминокислотный остаток и $O-PEG_n$, где в каждом случае n является целым числом от 0 до 3.

[00102] В Формуле Ib, в некоторых вариантах осуществления, R^5 означает гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил. Полезные гетероциклоалкильные группы включают тетрагидропиранил, глюкозидил и пиперазинил. Эти группы могут быть замещенными или незамещенными. В некоторых вариантах осуществления они являются незамещенными. В определенных вариантах осуществления они являются замещенными. Типовые заместители включают минимум один гидроксил, минимум один первичный азот или минимум один вторичный азот.

[00103] В определенных вариантах осуществления Формулы Ib R^6 независимо означает в каждом случае аминокислотный остаток, N -алкильный аминокислотный остаток или пептид. Специалистам в данной области понятно, что аминокислотный остаток может быть ахиральным или хиральным, например, быть L -аминокислотой или D -аминокислотой. Аминокислоты, в общем случае, включают боковую цепь аминокислоты. Эта боковая цепь может быть боковой цепью любой аминокислоты, известной специалистам в данной области. В определенных вариантах осуществления эта боковая цепь является боковой цепью гистидина, аланина, изолейцина, аргинина, лейцина, аспарагина, лизина, аспарагиновой кислоты, метионина, цистеина,

фенилаланина, глутаминовой кислоты, треонина, глутамина, триптофана, валина, орнитина, селеноцистеина, серина, глицина, гомоглицина (например, β -гомоглицина) или тирозина. Специалистам в данной области понятно, что пептид может быть ахиральным или хиральным, например, может включать рацемические DL-аминокислоты или нерацемические D- или L-аминокислоты или их диастереомерические смеси. Боковые цепи пептидов соответствуют описаниям в контексте аминокислот, см. выше. Специалистам в данной области понятно, что остаток *N*-алкильной аминокислоты включает алкильный заместитель, определение которому дано в настоящем документе, в концевой амино группе аминокислотного остатка или концевой аминокислотной группе пептида.

[00104] В Формуле Ib в определенных вариантах осуществления R^7 означает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-CN$, O-глюкозу, O-аминокислотный остаток или O-PEG_n, где в каждом случае n является целым числом от 0 до 3. В определенных вариантах осуществления O-аминокислотный остаток включает HO-аминокислотный остаток, определение которому дано выше. В одном варианте осуществления O-PEG_n означает соединение, где n=0. В другом варианте осуществления O-PEG_n означает соединение, где n=1. В другом варианте осуществления O-PEG_n означает соединение, где n=2. В еще одном варианте осуществления O-PEG_n означает соединение, где n=3.

[00105] В одном варианте осуществления Формулы Ib, R^1 означает $-OH$. В другом варианте осуществления, R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-O-(CH_2)_n-Z$, где n является целым числом от одного до четырех. В некоторых вариантах осуществления R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-O-(CH_2)_n-Z$, и n равно единице. В некоторых вариантах осуществления R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-O-(CH_2)_n-Z$, и n равно двум. В некоторых вариантах осуществления, R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-O-(CH_2)_n-Z$, и n равно трем. В некоторых вариантах осуществления, R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-O-(CH_2)_n-Z$, и n равно четырем.

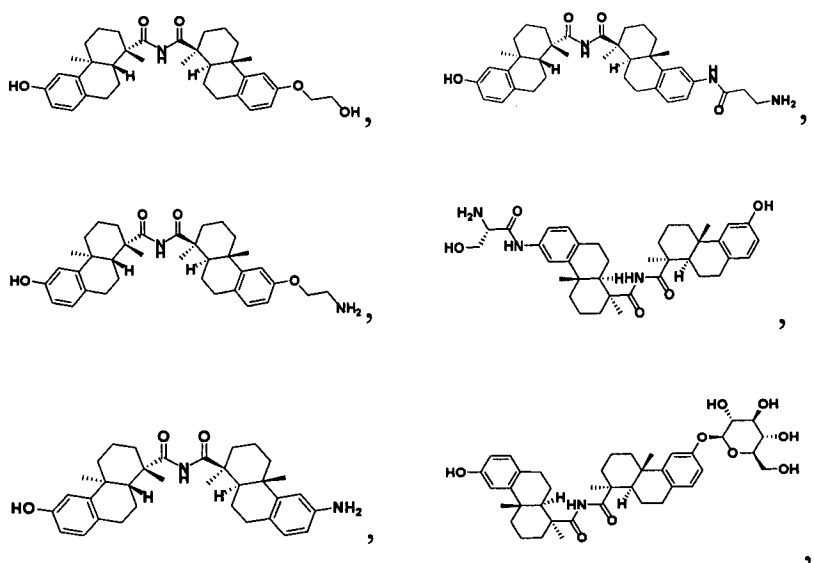
[00106] В одном варианте осуществления Формулы Ib, R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-N(H)C(O)-(CH_2)_n-NH_2$, где n является целым числом от одного до четырех. В некоторых вариантах осуществления R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-N(H)C(O)-(CH_2)_n-NH_2$, и n равно единице. В некоторых вариантах осуществления R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-N(H)C(O)-(CH_2)_n-NH_2$, и n равно двум. В некоторых вариантах осуществления R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-N(H)C(O)-(CH_2)_n-NH_2$, и n равно трем. В некоторых вариантах осуществления R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-N(H)C(O)-(CH_2)_n-NH_2$, и n равно четырем.

[00107] В одном варианте осуществления Формулы Ib R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-N(H)C(O)-(CRR)_n-NH_2$, где в каждом случае R означает $-H$, $-OH$, или $-CH_2OH$, и где n является целым числом от одного до четырех. В некоторых вариантах осуществления R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-N(H)C(O)-(CRR)_n-NH_2$, в каждом случае R означает $-H$, и n является целым числом от одного до четырех. В некоторых вариантах осуществления R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-N(H)C(O)-(CRR)_n-NH_2$, в каждом случае R означает $-OH$, и n является целым числом от одного до четырех. В некоторых вариантах осуществления R^1 означает $-OH$, R^2 означает $-N(H)C(O)-(CRR)_n-NH_2$, в каждом случае R означает $-CH_2OH$, и n является целым числом от одного до четырех. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце n равно единице. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце n равно двум. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце n равно трем. В любом из ранее приведенных вариантов осуществления в данном абзаце n равно четырем.

[00108] В одном варианте осуществления Формулы Ib R^1 означает $-OH$ и R^2 означает N -пиперазинил. В другом варианте осуществления R^1 означает $-OH$ и R^2 означает $-N(R^6)_2$. В другом варианте осуществления R^1 означает $-OH$ и R^2 означает N -серинил. Еще в одном варианте осуществления R^1 означает $-OH$ и R^2 означает O -гликозил.

[00109] В одном варианте осуществления Формулы Ib R^1 означает $-OP(O)(OR^6)(OH)$ и R^2 означает $-NH_2$.

[00110] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе приведены соединения, соответствующие любой из Формул I, Ia и Ib, и они могут быть выбраны из группы, состоящей из:



или их фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма, где **L** означает линкер или **X-Y-Z**, где **X** означает $-\text{NH}-$ или $-\text{O}-$; **Y** означает расщепляемый под воздействием ферментов фрагмент, саморасщепляющуюся группу, кислото-лабильный фрагмент, PEG_n , сахарный фрагмент или усиливающую группу; и **Z** означает линкер связывающего агента (**BL**), где **Z** ковалентно связан с **BA**;

BA означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

в каждом случае **Q¹** и **Q²** независимо означает $-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$ или $-\text{C}(\text{OH})_2-$;

W означает $-\text{CH}_2-$, $-\text{N}(\text{H})-$ или $-\text{O}-$;

R означает $-\text{H}$, $-\text{OR}^6$, $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, алкил или $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)_2$;

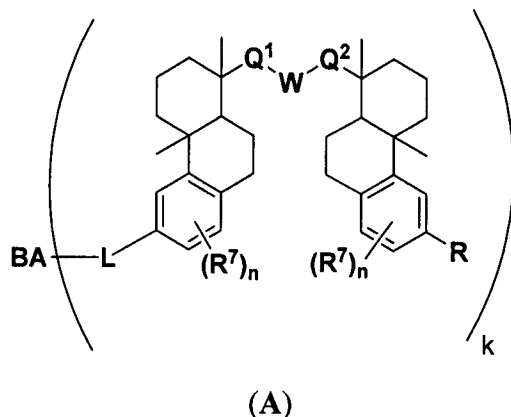
в каждом случае **R⁶** в каждом примере независимо означает $-\text{H}$, аминокислотный остаток, пептид или алкил; и

где **R¹**, **R²**, **R³**, **R⁴** и **R⁵** соответствуют описаниям в контексте Формулы I.

Типовые расщепляемые под воздействием ферментов фрагменты включают, помимо прочего, любые ди- или три-пептиды (например, **VC-PAВ** и **VA**, описанные в настоящем документе). Типовые саморасщепляющиеся группы описаны в настоящем документе. Типовые кислото-лабильные фрагменты включают, помимо прочего, алкоксамин, кетоксамин, карбонаты или фосфонаты. Типовые усиливающие группы описаны в настоящем документе. Типовые реактивные фрагменты описаны в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления **Y** не включает PEG_n . В некоторых вариантах осуществления аминокислота может быть использована для соединения нагрузки, усиливающей группы и антитела (каждый из которых соответствует приведенным здесь определениям) друг с другом, что здесь описано и очевидно. Соединение нагрузки, усиливающей группы и антитела посредством аминокислоты может осуществляться посредством реакций по связыванию амидов, тιο-реакций Майкла или фенол-О-алкилирования, что должно быть понятно специалистам в данной области. Например, аминокислотой, которая соединяет нагрузку, усиливающую группу и антитело, является лизин. Например, в одном варианте осуществления аминокислотой, которая соединяет нагрузку, усиливающую группу и антитело, является D-лизин. Например, в одном варианте осуществления аминокислотой, которая соединяет нагрузку, усиливающую группу и антитело, является аспарагиновая кислота. Например, в одном варианте осуществления аминокислотой, которая соединяет нагрузку, усиливающую группу и

антитело, является глутаминовая кислота. Например, в одном варианте осуществления аминокислотой, которая соединяет нагрузку, усиливающую группу и антитело, является серин. Например, в одном варианте осуществления аминокислотой, которая соединяет нагрузку, усиливающую группу и антитело, является цистеин. Например, в одном варианте осуществления аминокислотой, которая соединяет нагрузку, усиливающую группу и антитело, является тирозин.

[00112] В настоящем документе приведены конъюгаты Формулы (A):



или их фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма, где

L означает линкер;

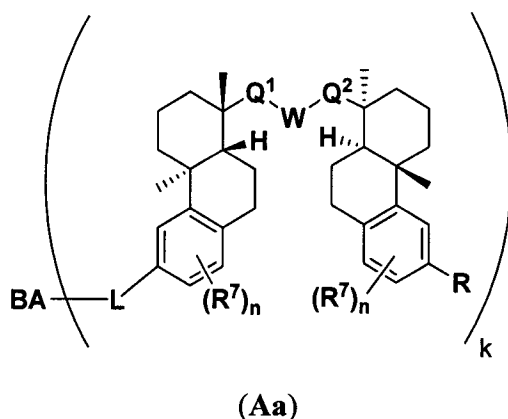
BA означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

R означает $-H$, R^1 или R^2 ; и

Q^1 , Q^2 , **W**, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , **X**, **Y**, и **Z** соответствуют описаниям в контексте Формулы I. В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

[00113] В настоящем документе приведены соединения Формулы (Aa):



или их фармацевтически приемлемая соль,

где

L означает линкер;

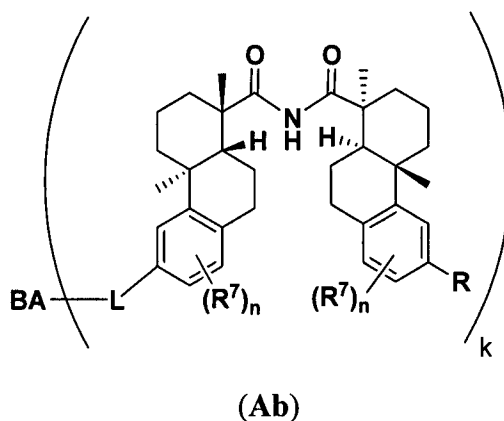
BA означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

R означает $-H$, R^1 или R^2 ; и

Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , X , Y , и Z соответствуют описаниям в контексте Формулы Ia. В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

[00114] В настоящем документе приведены соединения Формулы (Ab):



или их фармацевтически приемлемая соль,

где

L означает линкер;

BA означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

R означает $-H$, R^1 или R^2 ; и

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , X , Y , и Z соответствуют описаниям в контексте Формулы Ib.

В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

Связывающие агенты

[00115] Подходящие связывающие агенты для любого из конъюгатов, приведенных в раскрытии настоящего изобретения, включают, помимо прочего, антитела, лимфокины,

гормоны, факторы роста, вирусные рецепторы, интерлейкины или любые другие связывающие клетки или связывающие пептиды молекулы или вещества.

[00116] В некоторых вариантах осуществления связывающим агентом является антитело или его антиген-связывающий фрагмент. Антитело может иметь любую форму, известную специалистам в данной области. Термин "антитело", в контексте настоящего документа, означает любую антиген-связывающую молекулу или молекулярный комплекс, содержащий минимум один определяющий комплементарность участок (CDR), который специфически связывается или взаимодействует с определенным антигеном. Термин "антитело" включает иммуноглобулиновые молекулы, содержащие четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидной связью, а также их мультимеры (*например*, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит переменный участок тяжелой цепи (сокращается здесь как HCVR или V_H) и константный участок тяжелой цепи. Константный участок тяжелой цепи содержит три домена, C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменный участок легкой цепи (сокращается здесь как LCVR или V_L) и константный участок легкой цепи. Константный участок легкой цепи содержит один домен (C_{L1}). Участки V_H и V_L можно далее подразделить на участки гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность участками (CDR), которые перемежаются с участками, которые более постоянны, называемыми каркасными участками (FR). Каждый V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В различных вариантах осуществления изобретения FR антител (или их антиген-связывающей части), подходящие для описанных здесь соединений, могут быть идентичны человеческим последовательностям зародышевого типа или могут быть естественно или искусственно модифицированными. Консенсусная последовательность аминокислоты может определяться на основании параллельного анализа двух или более CDR. Термин "антитело", в контексте настоящего документа, также включает антиген-связывающие фрагменты молекул полного антитела. Термины "антиген-связывающая часть" антитела, "антиген-связывающий фрагмент" антитела и подобные им, в контексте настоящего документа, включают любой природного происхождения, ферментативно получаемый, синтетический или генетически модифицированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген для образования комплекса. Антиген-связывающие фрагменты антитела могут быть получены, *например*, от молекул полного антитела с помощью любого подходящего, стандартного метода (методов), таких как

протеолитическое расщепление или рекомбинантный метод(ы) генетической инженерии, включающие манипуляцию и экспрессию ДНК, кодирующей переменные и необязательно константные домены антитела. Такая ДНК известна, и/или ее можно легко получить, *например*, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, *например*, фаговые библиотеки антител) либо ее можно синтезировать,. ДНК можно секвенировать или изменять химически или при помощи методов молекулярной биологии, например, организовывать один или несколько переменных и/или константных доменов в подходящей конфигурации или вводить кодоны, создавать цистеиновые остатки, изменять, добавлять или удалять аминокислоты и т.д. Неограничивающие примеры антиген-связывающих фрагментов включают: (i) Fab фрагменты; (ii) F(ab')₂ фрагменты; (iii) Fd фрагменты; (iv) Fv фрагменты; (v) одноцепочечные Fv (scFv) молекулы; (vi) dAb фрагменты; и (vii) минимальные рекогниционные единицы, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гиперпеременный участок антитела (*например*, изолированный CDR, такой как CDR3 пептид) или FR3-CDR3-FR4 пептид с ограниченной конформационной свободой. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, антитела с привитым CDR, диатела, триатела, тетраатела, минитела, нанотела (*например*, одновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и т.д.), иммунофармацевтические средства на основе модульного белка малого размера (SMIP) и переменные домены IgNAR акулы, также включаются в выражение "антиген-связывающий фрагмент" в контексте настоящего документа. Антиген-связывающий фрагмент антитела обычно содержит минимум один переменный домен. Этот переменный домен может быть любого размера и может иметь любой аминокислотный состав и обычно содержит минимум один CDR, который расположен рядом с одной или несколькими каркасными последовательностями или в рамке с ними. В антиген-связывающих фрагментах с V_H доменом, связанным с V_L доменом, V_H и V_L домены могут быть расположены относительно друг друга любым подходящим образом. Например, переменный участок может быть димерным и может содержать V_H-V_H, V_H-V_L или V_L-V_L димеры. В другом варианте антиген-связывающий фрагмент антитела может содержать мономерный V_H или V_L домен. В некоторых вариантах осуществления антиген-связывающий фрагмент антитела может содержать минимум один переменный домен, ковалентно соединенный с минимум одним константным доменом. Неограничивающие типовые конфигурации переменных и константных доменов, которые могут находиться в антиген-связывающем фрагменте антитела настоящего изобретения, включают: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii)

V_H-C_L ; (viii) V_L-C_{H1} ; (ix) V_L-C_{H2} ; (x) V_L-C_{H3} ; (xi) $V_L-C_{H1}-C_{H2}$; (xii) $V_L-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}$; (xiii) $V_L-C_{H2}-C_{H3}$; и (xiv) V_L-C_L . В любой конфигурации переменных и константных доменов, включая любую из указанных выше типовых конфигураций, переменные и константные домены могут быть либо напрямую соединены друг с другом или могут быть соединены полным или частичным шарниром или участком линкера. Шарнир может состоять из минимум 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, в результате чего образуется гибкая или полугибкая связь между рядом расположенными переменными и/или константными доменами в одной полипептидной молекуле. Как и в случае с молекулами полного антитела, антиген-связывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими). Мультиспецифический антиген-связывающий фрагмент антитела обычно содержит минимум два различных переменных домена, при этом каждый переменный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или с другим эпитопом на том же самом антигене. Любой формат мультиспецифического антитела, включая описанные здесь форматы биспецифического антитела, может быть адаптирован для использования в контексте антиген-связывающего фрагмента антитела настоящего изобретения при использовании применяемых в данной области стандартных методов. В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, описанные здесь антитела являются антителами человека. Предполагается, что термин "антитело человека" в контексте настоящего документа включает антитела, имеющие переменные и константные участки, полученные от последовательностей иммуноглобулина человека зародышевой линии. Антитела человека настоящего изобретения могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина человека зародышевой линии (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*), например, в CDR и, в частности, в CDR3. Тем не менее, предполагается, что термин "антитело человека" в контексте настоящего документа не включает антитела, в которых CDR последовательности, полученные от зародышевой линии другого вида млекопитающего, например, мыши, были привиты к каркасным последовательностям человека. Термин "антитело человека" не включает молекулы естественного происхождения, которые обычно существуют без модификаций или вмешательства/манипуляций человека в немодифицированном живом организме, встречающемся в природе. Антитела настоящего изобретения в некоторых вариантах осуществления могут быть рекомбинантными антителами человека. Предполагается, что термин "рекомбинантное антитело человека" в контексте настоящего документа включает все антитела человека,

которые приготавливаются, экспрессируются, создаются или выделяются рекомбинантными способами, такие как антитела, экспрессированные при помощи рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина (описано далее), антитела, выделенные из рекомбинантной, комбинаторной библиотеки антител человека (описано далее), антитела, выделенные из животного (*например*, мыши), трансгенного для генов иммуноглобулина человека (см. *например*, Taylor *et al.* (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, которые приготавливаются, экспрессируются, создаются или изолируются любыми другими способами, которые включают сплайсинг последовательностей гена иммуноглобулина человека в другие последовательности ДНК. Такие рекомбинантные антитела человека имеют переменные и константные участки, полученные от последовательностей иммуноглобулина человека зародышевого типа. В некоторых вариантах осуществления, тем не менее, такие рекомбинантные антитела человека подвергаются *in vitro* мутагенезу (или, когда используется животное, трансгенное для последовательностей Ig человека, *in vivo* соматическому мутагенезу) и, таким образом, аминокислотные последовательности участков V_H и V_L рекомбинантных антител являются последовательностями, которые, если они получены от V_H и V_L последовательностей зародышевой линии человека или родственны им, не могут естественным образом существовать в зародышевом наборе антител человека *in vivo*. Антитела человека могут существовать в двух формах, которые связаны с гетерогенностью шарнира. В одной форме молекула иммуноглобулина содержит стабильную четырехцепочечную конструкцию приблизительно 150-160 кДа, в которой димеры удерживаются вместе с помощью межцепочечной дисульфидной связи между тяжелыми цепями. Во второй форме димеры не связаны через межцепочечные дисульфидные связи, и образуется молекула около 75-80 кДа, состоящая из ковалентно связанных легкой и тяжелой цепей (полуантитело). Эти формы чрезвычайно трудно отделить, даже после аффинной очистки. Частота появления второй формы в различных изотипах интактного IgG обусловлена, помимо прочего, структурными различиями, связанными с изотипом шарнирного участка антитела. Единичная аминокислотная замена в шарнирном участке шарнира IgG4 человека может значительно уменьшить появление второй формы (Angal *et al.* (1993) Molecular Immunology 30:105) до уровней, обычно наблюдаемых для шарнира IgG1 человека. Настоящее изобретение охватывает антитела, имеющие одну или несколько мутаций в шарнирном, C_H2 или C_H3 участке, что может оказаться желательным, например, в производстве для повышения выхода требуемой формы антитела. Описанные здесь антитела могут быть изолированными антителами. "Изолированное антитело" в контексте настоящего документа означает

антитело, которое было идентифицировано и отделено и/или получено, по меньшей мере, от одного компонента его окружающей среды. Например, антитело, которое было отделено или удалено, по меньшей мере, из одного компонента организма или из ткани или клетки, в которой антитело существует естественным образом или образуется естественным образом, является "изолированным антителом" для целей настоящего изобретения. Изолированное антитело также включает антитело *in situ* внутри рекомбинантной клетки. Изолированными антителами являются антитела, которые прошли, по меньшей мере, один этап очистки или выделения. В соответствии с определенными вариантами осуществления изолированное антитело может быть в существенной степени свободно от другого клеточного материала и/или химических веществ. Используемые здесь антитела могут содержать одну или несколько аминокислотных замен, вставок и/или делеций в каркасном и/или CDR участках переменных доменов тяжелой и легкой цепи, по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевой линии, из которой антитела были получены. Такие мутации могут быть легко установлены путем сравнения аминокислотных последовательностей, описанных в настоящем документе, с последовательностями зародышевой линии, например, из общедоступных баз данных последовательностей антител. Настоящее изобретение включает антитела и его антиген-связывающие фрагменты, которые получены из любой из аминокислотных последовательностей, описанных в настоящем документе, где одна или несколько аминокислот в пределах одного или нескольких каркасных и/или CDR участков мутируют в соответствующий остаток (остатки) последовательности зародышевой линии, из которой антитело было получено, или соответствующий остаток (остатки) другой последовательности зародышевой линии человека, или в консервативную аминокислотную замену соответствующего остатка (остатков) зародышевой линии (такие изменения последовательности называются в настоящем документе в совокупности "герминальные мутации"). Специалист в данной области, начиная с последовательностей переменных участков тяжелой и легкой цепи, описанных в настоящем документе, может получить множество антител и антиген-связывающих фрагментов, которые содержат одну или несколько отдельных герминальных мутаций или их комбинации. В определенных вариантах осуществления все каркасные и/или CDR остатки в V_H и/или V_L доменах мутируют обратно в остатки, обнаруживаемые в исходной герминальной последовательности, из которой антитело было получено. В других вариантах осуществления только определенные остатки мутируют обратно в исходную герминальную последовательность, например, только мутировавшие остатки,

обнаруживаемые в пределах первых 8 аминокислот FR1 или в пределах последних 8 аминокислот FR4, или только мутировавшие остатки, обнаруживаемые в CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления один или несколько каркасных и/или CDR остатков (остаток) мутируют в соответствующие остатки (остаток) другой герминальной последовательности (*т.е.* герминальной последовательности, которая отличается от герминальной последовательности, из которой антитело было получено изначально). Более того, антитела настоящего изобретения могут содержать любую комбинацию из двух или более герминальных мутаций в пределах каркасного и/или CDR участка, *например*, где определенные индивидуальные остатки мутируют в соответствующий остаток определенной герминальной последовательности, в то время как некоторые другие остатки, которые отличаются от исходной герминальной последовательности, сохраняются или мутируют в соответствующий остаток другой герминальной последовательности. После их получения антитела и антиген-связывающие фрагменты, которые содержат одну или несколько герминальных мутаций, можно проверить на одно или более необходимых свойств, например, на улучшение специфичности связывания, увеличение аффинности связывания, улучшение или усиление антагонистических или агонистических биологических свойств (в зависимости от обстоятельств), снижение иммуногенности и т.д. Антитела и антиген-связывающие фрагменты, полученные этим общим способом, охватываются настоящим изобретением. Антитела, полезные для описанных здесь соединений, также включают антитела, содержащие варианты любой из описанных здесь аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, имеющих одну или несколько консервативных замен. Термин "эпитоп" означает антигенный детерминант, который взаимодействует со специфическим антиген-связывающим сайтом в переменном участке молекулы антитела, известном как паратоп. Один антиген может иметь более одного эпитопа. Таким образом, различные антитела могут связаться с различными областями на антигене и могут иметь различные биологические действия. Эпитопы могут быть либо конформационными, либо линейными. Конформационный эпитоп образуется пространственно сближенными аминокислотами из разных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, образуемый соседними аминокислотными остатками в полипептидной цепи. В определенных обстоятельствах эпитоп может включать фрагменты сахаридов, фосфорильных групп или сульфонильных групп на антигене.

[00117] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления этой легкой цепью является легкая цепь каппа. В

некоторых вариантах осуществления этой легкой цепью является легкая цепь лямбда. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgA. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgD. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgE. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgG. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgM. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgG1. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgG2. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgG3. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgG4. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgA1. В некоторых аспектах этой тяжелой цепью является IgA2.

[00118] В некоторых вариантах осуществления таким антителом является фрагмент антитела. В некоторых аспектах таким фрагментом антитела является Fv фрагмент. В некоторых аспектах таким фрагментом антитела является Fab фрагмент. В некоторых аспектах таким фрагментом антитела является F(ab')₂ фрагмент. В некоторых аспектах таким фрагментом антитела является Fab' фрагмент. В некоторых аспектах таким фрагментом антитела является scFv (sFv) фрагмент. В некоторых аспектах таким фрагментом антитела является scFv-Fc фрагмент.

[00119] В некоторых вариантах осуществления таким антителом является моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления таким антителом является поликлональное антитело.

[00120] В некоторых вариантах осуществления таким антителом является химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления таким антителом является гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления таким антителом является антитело человека.

[00121] Такое антитело может иметь специфичность связывания для любого антигена, который специалисты в данной области считают подходящим. В некоторых вариантах осуществления таким антигеном является трансмембранная молекула (например, рецептор) или фактор роста. Типовые антигены включают, помимо прочего, молекулы, такие как скэвенджер-рецепторы класса А, включая скэвенджер-рецептор А (SR-A или MSR1), макрофагальный рецептор с коллагеновой структурой (MARCO), скэвенджер-рецептор с лектином С-типа (SRCL) и скэвенджер-рецептор А-5 (SCARA5), COLEC12, макрофагальные скэвенджер-рецепторы класса В, включая CD36, LIMPII, SRBI, SRBII, скэвенджер-рецептор класса D CD68 и лизосомальный мембранный гликопротеин (LAMP), скэвенджер-рецептор класса Е, включая лектинподобный окисленный рецептор

липопротеинов низкой плотности 1 LOX-1 и Dectin-1, скэвенджер-рецептор класса F, включая скэвенджер-рецептор, экспрессированный эндотелиальными клетками-I (SREC-I) и SREC-II, а также домены, подобные эпидермальным факторам роста (ЭФР) (MEGF)10, лиганд 16 интерлейкина 8 скэвенджер-рецептора класса G (CXCL16), скэвенджер-рецепторы класса H, включая Fasciclin, ЭФР-подобные, ЭФР-подобный ламинного типа и связывающий домен-содержащий скэвенджер-рецептор-1 (FEEL-1) и -2 (FEEL-2), скэвенджер-рецептор класса I CD163 и скэвенджер-рецептор класса J для конечных продуктов усиленного гликозилирования (RAGE), другие члены суперсемейства лектинов C-типа, включающие DEC205, CD206, Dectin-2, Mincle, DC-SIGN и DNNGR-1, а также другие мембранные белки, такие как член, относящийся к семейству B7, включая V-set и Ig домен-содержащий 4 (VSIG4), рецептор колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R), асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR) и подобный предшественнику бета-амилоида белок 2 (APLP-2). В некоторых вариантах осуществления таким антигеном является PRLR или HER2. В некоторых вариантах осуществления таким антигеном является антитело анти-PRLR или анти-HER2.

[00122] Линкеры связывающих агентов могут связываться со связывающим агентом, *например*, молекулой антитела или антиген-связывающей молекулой посредством присоединения к определенной аминокислоте в молекуле антитела или антиген-связывающей молекуле. Типовые аминокислотные присоединения, которые могут использоваться в контексте настоящего аспекта изобретения, включают, *например*, лизин (*см., например*, US 5,208,020; US 2010/0129314; Hollander *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 2008, 19:358-361; WO 2005/089808; US 5,714,586; US 2013/0101546; и US 2012/0585592), цистеин (*см., например*, US 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; US 2013/0101546; и US 7,750,116), селеноцистеин (*см., например*, WO 2008/122039; и Hofer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2008, 105:12451-12456), формилглицин (*см., например*, Carrico *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3:321-322; Agarwal *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2013, 110:46-51, и Rabuka *et al.*, *Nat. Protocols*, 2012, 10:1052-1067), неприродные аминокислоты (*см., например*, WO 2013/068874, и WO 2012/166559), а также кислые аминокислоты (*см., например*, WO 2012/05982). Линкеры также могут быть конъюгированы с антиген-связывающим белком посредством присоединения к углеводам (*см., например*, US 2008/0305497, WO 2014/065661, и Ryan *et al.*, *Food & Agriculture Immunol.*, 2001, 13:127-130).

[00123] В некоторых примерах таким связывающим агентом является молекула антитела или антиген-связывающая молекула, и антитело присоединяется к линкеру через

лизиновый остаток. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела или антиген-связывающая молекула связывается с линкером через цистеиновый остаток.

[00124] Линкеры также могут быть конъюгированы с одним или несколькими глутаминовыми остатками посредством основанной на трансглутаминазе хемо-ферментативной конъюгации (см., например, Dennler *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 2014, 25, 569-578, и WO 2017/147542). Например, в присутствии трансглутаминазы, один или несколько глутаминовых остатков антитела могут быть связаны с первичным аминным соединением. В нескольких словах, в некоторых вариантах осуществления на антитело, имеющее глутаминовый остаток (например, остаток Gln295) воздействуют первичным аминным соединением, подробно описанным далее, в присутствии фермента трансглутаминазы. Первичные аминные соединения включают, например, нагрузки или линкер-нагрузки, которые напрямую дают конъюгаты антитело-лекарственное средство посредством опосредованного трансглутаминазой соединения. Первичные аминные соединения также включают линкеры и спейсеры, которые функционализированы реактивными группами, которые могут в последующем быть подвергнуты воздействию других соединений в направлении синтеза конъюгатов антитело-лекарственное средство. Антитела, содержащие глутаминовые остатки, могут быть выделены из естественных источников либо сконструированы так, чтобы содержать один или несколько глутаминовых остатков. Методы конструирования глутаминовых остатков в полипептидной цепи антитела (глутаминил-модифицированные антитела или антиген-связывающие молекулы) известны практикующим специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления такое антитело является агликозилированным.

[00125] В некоторых вариантах осуществления антитело или глутаминил-модифицированное антитело или антиген-связывающая молекула содержит минимум один глутаминовый остаток в минимум одной последовательности полипептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело или глутаминил-модифицированное антитело или антиген-связывающая молекула содержит два полипептида с тяжелой цепью, каждый из которых имеет остаток Gln295. В дальнейших вариантах осуществления антитело или глутаминил-модифицированное антитело или антиген-связывающая молекула содержит один или несколько глутаминовых остатков в сайте, отличном от тяжелой цепи 295. Сюда включены антитела данного раздела, несущие мутацию (мутации) Asn297Gln (N297Q), описанные в настоящем документе. Сюда включены антитела данного раздела, несущие остатки Gln55 (Q55).

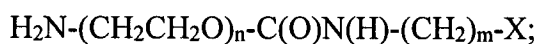
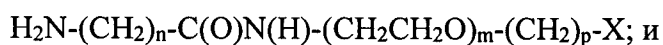
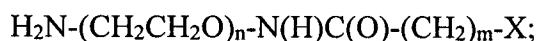
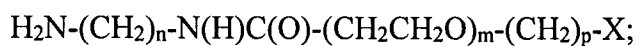
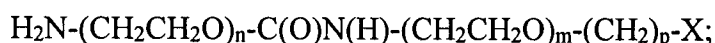
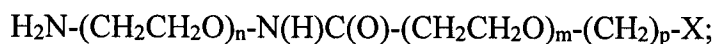
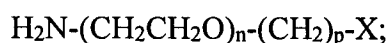
Первичные аминные соединения

[00126] Первичное аминное соединение, полезное для опосредованной трансклутаминой связью антитела (или антиген-связывающего соединения), содержащее глутамин, может быть любым первичным аминным соединением, которое считается полезным практикующим специалистом в данной области. В общем случае, первичное аминное соединение имеет формулу H_2N-R , где R может быть любой группой, совместимой с антителом и условиями реакции. В некоторых вариантах осуществления R означает алкил, замещенный алкил, гетероалкил или замещенный гетероалкил.

[00127] В некоторых вариантах осуществления первичное аминное соединение содержит реактивную группу или защищенную реактивную группу. Полезные реактивные группы включают азиды, алкины, циклоалкины, тиолы, спирты, кетоны, альдегиды, кислоты, эфиры, гидразиды, анилины и амины. В некоторых вариантах осуществления реактивная группа выбирается из группы, состоящей из азиды, алкина, сульфгидрила, циклоалкина, альдегида и карбоксила.

[00128] В некоторых вариантах осуществления первичное аминное соединение соответствует формуле $H_2N-LL-X$, где LL представляет собой двухвалентный спейсер, а X представляет собой реактивную группу или защищенную реактивную группу. В определенных вариантах осуществления LL это двухвалентная полиэтиленгликолиевая (PEG) группа. В некоторых вариантах осуществления X выбирается из группы, состоящей из $-SH$, $-N_3$, алкина, альдегида и тетразола. В определенных вариантах осуществления X означает $-N_3$.

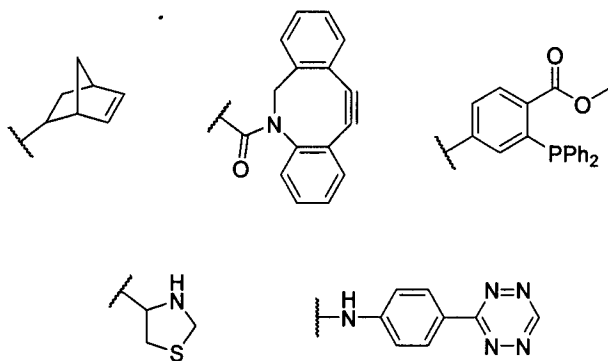
[00129] В некоторых вариантах осуществления первичное аминное соединение соответствует одной из формул:



где n представляет собой целое число от 1 до 12;

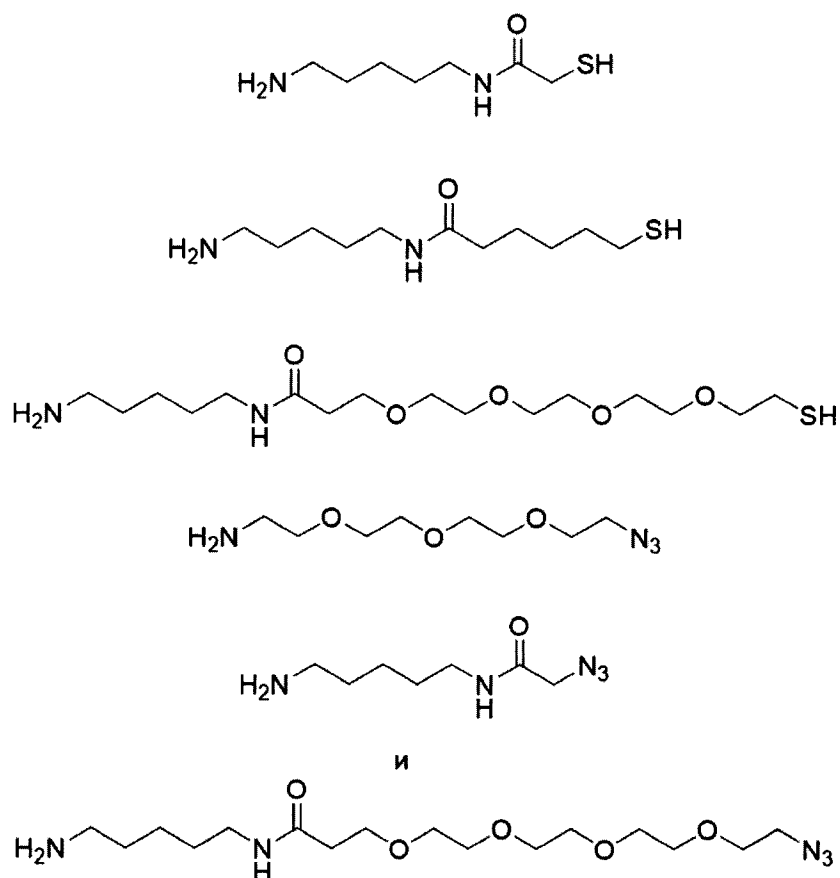
m представляет собой целое число от 0 до 12; p - целое число от 0 до 2; и X выбирается из

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

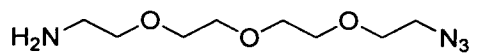


[00130] В выше приведенных примерах любая из алкильных (т.е. $-CH_2-$) групп может быть необязательно замещена, например, C_{1-8} алкилом, метилформилом или $-SO_3H$. В некоторых вариантах осуществления алкильные группы являются незамещенными.

[00131] В некоторых вариантах осуществления первичное аминное соединение выбирается из группы, состоящей из:



[00132] В определенных вариантах осуществления первичным аминным соединением является



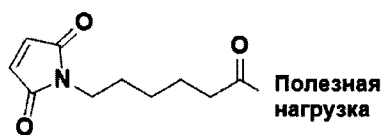
Типовые условия для выше приведенных реакций указаны в ниже приведенных Примерах.

Линкеры

[00133] Часть линкера L описанных здесь конъюгатов является фрагментом, например, двухвалентным фрагментом, который ковалентно соединяет связывающий агент и описанное здесь соединение-нагрузку. В других примерах линкер L - трехвалентный или мультивалентный фрагмент, который ковалентно соединяет связывающий агент и описанное здесь соединение-нагрузку. Подходящие линкеры можно найти, например, в работах *Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins*; Phillips, G. L., Ed.; Springer Verlag: New York, 2013; *Antibody-Drug Conjugates*; Ducry, L., Ed.; Humana Press, 2013; *Antibody-Drug Conjugates*; Wang, J., Shen, W.-C., and Zaro, J. L., Eds.; Springer International Publishing, 2015, содержание каждой из которых включено в настоящий документ полностью посредством ссылки. Соединения-нагрузки включают выше указанные соединения Формулы I, Ia и Ib, а также их остатки после соединения с линкером L или объединением с ним. Специалисты в данной области понимают, что определенные функциональные группы фрагментов нагрузок удобны для соединения с линкерами и/или связывающими агентами. Такие группы включают амины, гидроксилы, фосфаты и сахара.

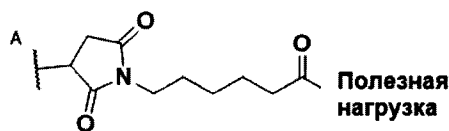
[00134] В некоторых вариантах осуществления линкеры являются стабильными в физиологических условиях. В некоторых вариантах осуществления линкеры расщепляемые, например, способны высвободить, по крайней мере, часть нагрузки в присутствии фермента либо в определенном диапазоне и при определенном значении pH. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит расщепляемый под действием фермента фрагмент. Примеры расщепляемых под действием фермента фрагментов включают, помимо прочего, пептидные связи, эфирные связи, гидразоны и дисульфидные связи. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит линкер, расщепляемый под действием катепсина.

[00135] В некоторых вариантах осуществления линкер содержит нерасщепляемый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления нерасщепляемый линкер получают из



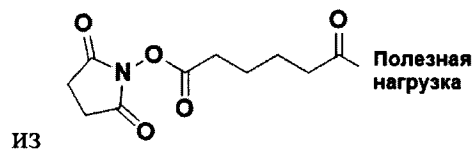
или его остатка. В некоторых вариантах осуществления

нерасщепляемым линкером-нагрузкой является



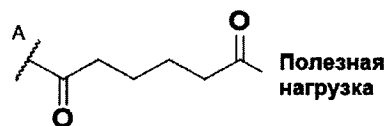
или его

региоизомер. В некоторых вариантах осуществления нерасщепляемый линкер получают



из

или его остатка. В некоторых вариантах осуществления



нерасщепляемым линкером-нагрузкой является

или его

региоизомер. В одном варианте осуществления линкером является

малеимидциклогексанкарбоксилат или 4-(N-малеимидометил)циклогексанкарбоновая

кислота (МСС). В данных структурах  означает связь со связывающим агентом. В

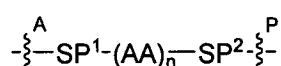
данных структурах, в некоторых примерах,  означает остаток клик-химии, который образуется в результате реакции, например, связывающего агента и линкер-нагрузки.

[00136] В некоторых вариантах осуществления подходящие линкеры включают, помимо прочего, соединения, которые химически связаны с двумя цистеиновыми остатками одного связывающего агента, *например*, антитела. Такие линкеры могут служить для имитации дисульфидных связей антитела, которые нарушаются в результате процесса конъюгации.

[00137] В некоторых вариантах осуществления линкер содержит одну или две аминокислоты. Подходящие аминокислоты включают природные, неприродные, стандартные, нестандартные, протеиногенные, непротеиногенные и L-, или D- α-аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аланин, валин, глицин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин, их производное или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько боковых цепей аминокислот связаны с группой боковой цепи, описанной далее. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит валин и цитруллин. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит лизин, валин и цитруллин. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит лизин, валин и аланин. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит валин и аланин.

[00138] В некоторых вариантах осуществления линкер содержит саморасщепляющуюся группу. Саморасщепляющейся группой может быть любая такая группа, известная специалистам в данной области. В определенных вариантах осуществления саморасщепляющейся группой является *p*-аминобензил (РАВ) или его производное. Полезные производные включают *p*-аминобензилоксикарбонил (РАВС). Специалистам в данной области известно, что саморасщепляющаяся группа способна к проведению химической реакции, в которой высвобождаются оставшиеся атомы линкера из нагрузки.

[00139] В некоторых вариантах осуществления линкером является:



где:

SP¹ означает спейсер;

SP² означает спейсер;

$-\overset{\text{A}}{\underset{\text{~}}{\text{~}}}-$ означает одну или несколько связей со связывающим агентом;

$-\overset{\text{P}}{\underset{\text{~}}{\text{~}}}-$ означает одну или несколько связей с нагрузкой;

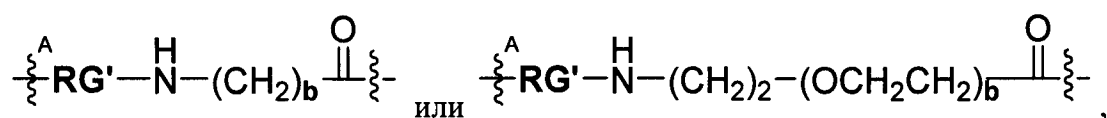
в каждом случае **AA** означает аминокислоту, и

n является целым числом от 1 до 10.

[00140] **SP¹** спейсер - фрагмент, который соединяет **(AA)_n** фрагмент со связывающим агентом (ВА) или с остатком реактивной группы, которая связана с ВА. Подходящие **SP¹** спейсеры включают, помимо прочего, соединения, содержащие алкилен или полиэфир, или и то, и другое. Концы спейсеров, *например*, часть спейсера, соединенная со связывающим агентом или **AA**, могут быть фрагментами, полученными от реактивных фрагментов, которые используются в целях соединения антитела или **AA** со спейсером во время химического синтеза конъюгата. В некоторых вариантах осуществления **n** равно 1, 2, 3 или 4. В определенных вариантах осуществления **n** равно 2. В определенных вариантах осуществления **n** равно 3. В определенных вариантах осуществления **n** равно 4.

[00141] В некоторых вариантах осуществления **SP¹** спейсер содержит алкилен. В некоторых вариантах осуществления **SP¹** спейсер содержит C₅₋₇ алкилен. В некоторых вариантах осуществления **SP¹** спейсер содержит полиэфир. В некоторых вариантах осуществления **SP¹** спейсер содержит полимер этиленоксида, *например*, полиэтиленгликоль.

[00142] В некоторых вариантах осуществления SP^1 спейсером является:



где:

RG' означает остаток реактивной группы после реакции реактивной группы RG со связывающим агентом;

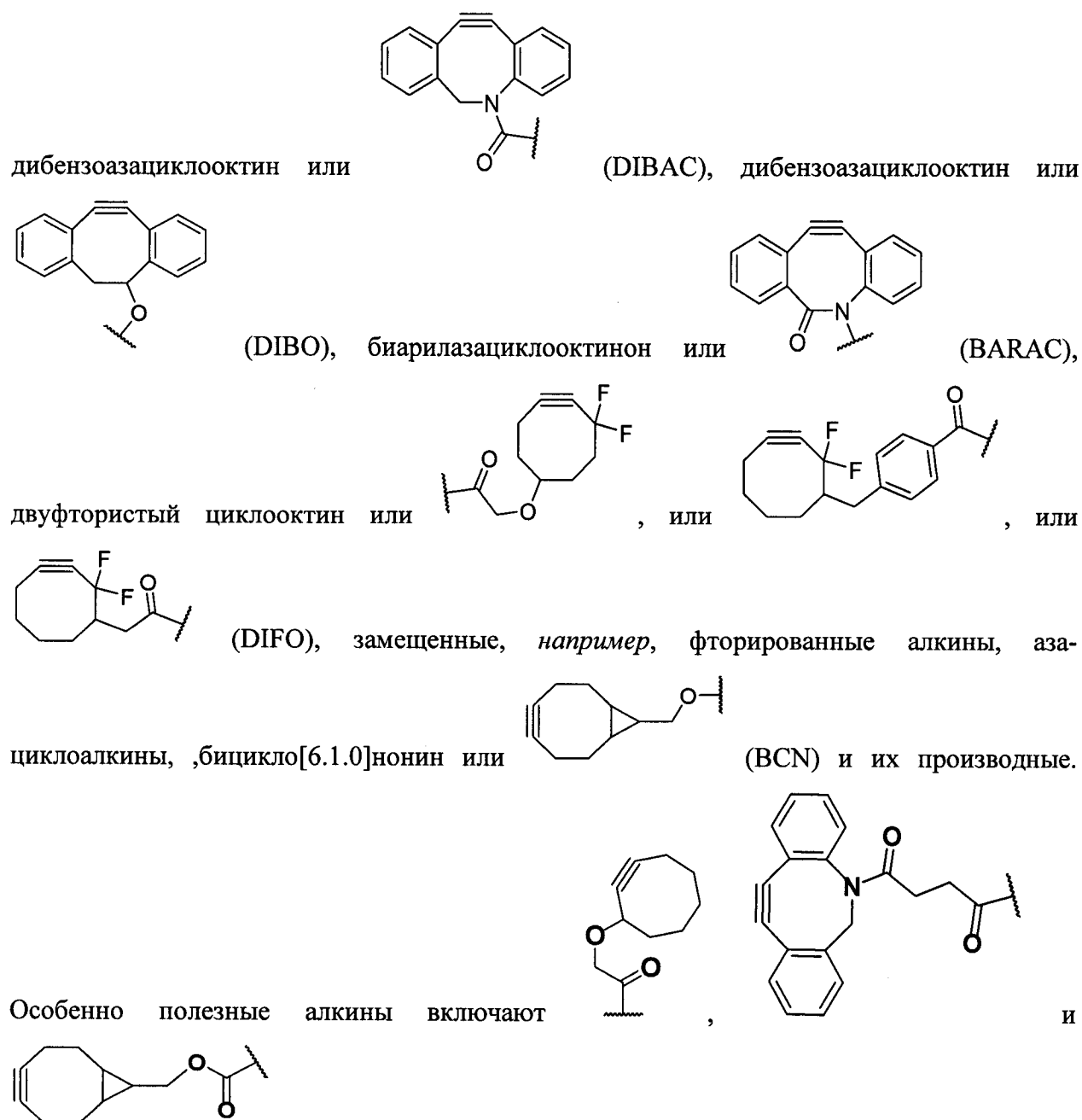
$\text{---}\overset{\text{A}}{\underset{\text{---}}{\text{---}}}\text{---}$ означает связь со связывающим агентом;

$\text{---}\overset{\text{---}}{\underset{\text{---}}{\text{---}}}\text{---}$ означает связь с $(\text{AA})_n$, и

b является целым числом от 2 до 8.

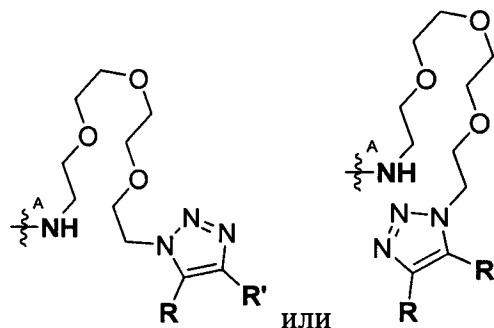
[00143] Реактивной группой RG может быть любая реактивная группа, известная специалистам в данной области как способная образовывать одну или несколько связей со связывающим агентом. Реактивной группой RG является фрагмент, содержащий часть в своей структуре, которая способна вступать в реакцию со связывающим агентом (*например*, вступать в реакцию с антителом на ее цистеиновых или лизиновых остатках либо на азидном фрагменте, *например*, PEG- N_3 функционализированным антителом на одном или нескольких глутаминовых остатках) и образовывать соединение Формулы A , Aa или Ab . После конъюгации со связывающим агентом реактивная группа становится остатком реактивной группы (RG'). Примеры реактивных групп включают, помимо прочего, группы, которые содержат галоацетильные, изотиоцианатные, сукцинимидные, N-гидроксисукцинимидные или малеимидные части, которые способны вступать в реакцию со связывающим агентом.

[00144] В некоторых вариантах осуществления реактивные группы включают, помимо прочего, алкины. В некоторых вариантах осуществления такими алкинами являются алкины, способные участвовать в реакциях 1,3-циклоприсоединений с азидами в отсутствие катализаторов на основе меди, такие как напряженные алкины. Напряженные алкины подходят для промотированных напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкинов, *например*, циклооктинов, бензаннелированных алкинов. Подходящие алкины включают, помимо прочего,



[00145] В некоторых вариантах осуществления связывающий агент напрямую связан с **RG'**. В некоторых вариантах осуществления связывающий агент связан с **RG'** через спейсер, например, ниже приведенный **SP⁴**. В определенных вариантах осуществления связывающий агент связан с **RG'** через PEG спейсер. Как подробно описывается далее, в некоторых вариантах осуществления связывающий агент подготавливают посредством функционализации одной или несколькими азидо группами. Каждая азидо группа способна вступать в реакцию с **RG** и образовывать **RG'**. В определенных вариантах осуществления связывающий агент дериватизируется **-PEG-N₃**, соединенным с глутаминовым остатком. Примеры **-N₃** дериватизированных связывающих агентов, способы их приготовления и способы их использования в реакции с **RG** описаны в

настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления **RG** означает алкин, подходящий для участия в 1,3-циклоприсоединениях, а **RG'** означает 1,2,3-триазиольный фрагмент, образованный в результате реакции **RG** с азидо-функционализированным связывающим агентом. Например, в некоторых вариантах осуществления, **RG'** соединена



со связывающим агентом, показанным в каждом региоизомера. В каждом случае **R** и **R'** соответствует приведенному здесь описанию.

[00146] **SP²** спейсером является фрагмент, который соединяет (**AA**)_n фрагмент с нагрузкой. Подходящие спейсеры включают, помимо прочего, описанные выше спейсеры, например, **SP¹** спейсеры. Другие подходящие **SP²** спейсеры включают, помимо прочего, спейсеры, содержащие алкилен или полиэфир, или и то, и другое. Концы **SP²** спейсеров, *например*, часть спейсера, напрямую соединенная с нагрузкой или **AA**, могут быть фрагментами, полученными от реактивных фрагментов, которые используются в целях соединения нагрузки или **AA** со **SP²** спейсером во время химического синтеза конъюгата. В некоторых примерах концами **SP²** спейсеров, *например*, частью **SP²** спейсера, напрямую соединенной с нагрузкой или **AA**, могут быть остатки реактивных фрагментов, которые используются в целях соединения нагрузки или **AA** со спейсером во время химического синтеза конъюгата.

[00147] В некоторых вариантах осуществления **SP²** спейсер выбирается из группы, состоящей из $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{R}^6)-$, $-\text{R}^{4'}-$, $-\text{R}^{5'}-$, $-\text{OR}^{5'}-$, и $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)\text{O}-$, где:

R^{4'} означает $-\text{Z}'-\text{Y}-\text{X}-$;

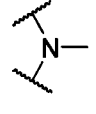
X выбирается из группы, состоящей из $-\text{O}-$ и $-\text{N}(\text{H})-$;

Y выбирается из группы, состоящей из алкилена, замещенного алкилена (включая, помимо прочего оксо замещение, т.е. $=\text{O}$), гетероалкилена и замещенного гетероалкилена;

Z' выбирается из группы, состоящей из $-\text{O}-$ и $-\text{N}(\text{H})-$;

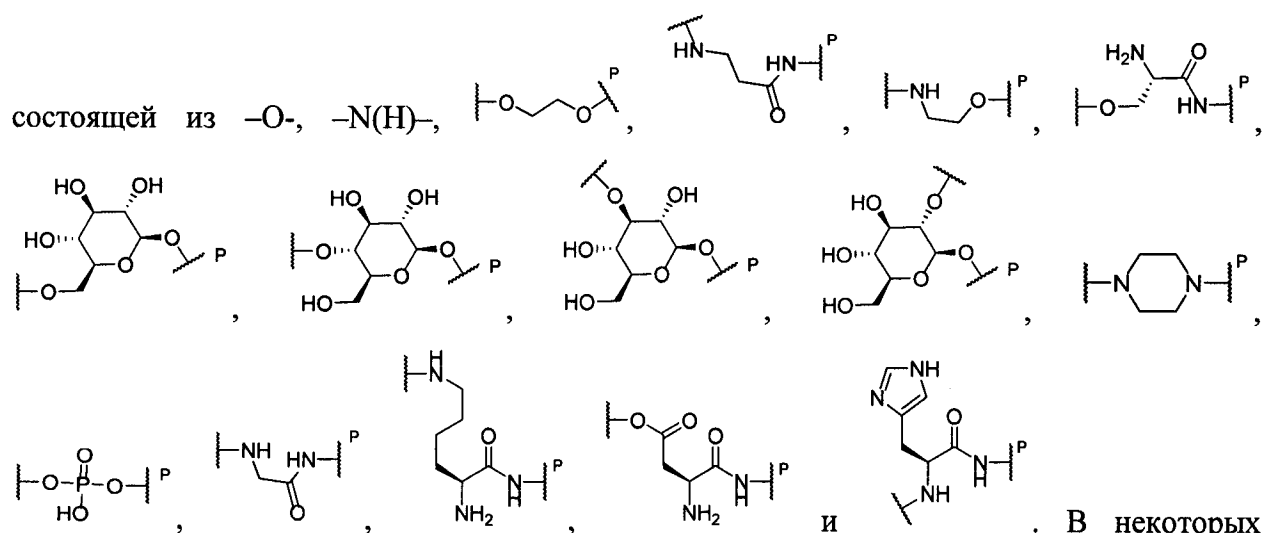
R^{5'} означает гетероциклоалкилен или замещенный гетероциклоалкилен, где в

каждом случае гетероциклоалкилен или замещенный гетероциклоалкилен включает один, два или три гетероатома, выбранные из азота и кислорода, включая минимум два

фрагмента, выбранные из группы, состоящей из $-O-$, $-N(H)-$ и , полезные для связывания с остатком молекулы; и

в каждом случае R^6 означает $-H$, аминокислотный остаток, пептид или алкил.

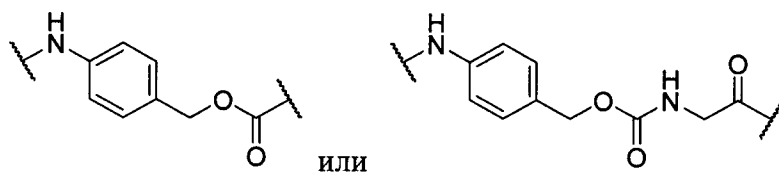
[00148] В некоторых вариантах осуществления SP^2 спейсер выбирается из группы,



вариантах осуществления в каждом случае  является связью с нагрузкой, и в каждом случае  является связью с $(AA)_n$.

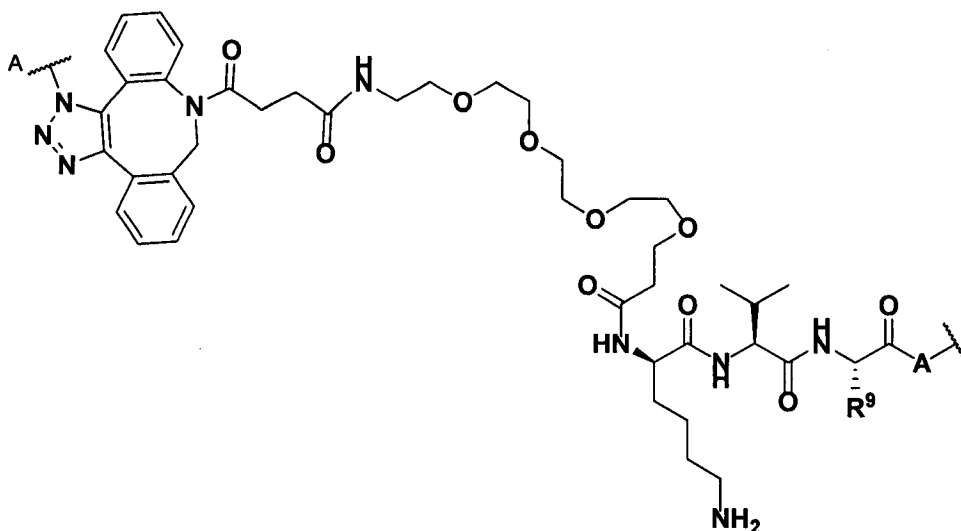
[00149] В выше приведенных формулах в каждом случае AA означает аминокислоту или, необязательно, *p*-аминобензилоксикарбонильный остаток (РАВС). Если присутствует РАВС, предпочтительно должен присутствовать только один РАВС. Предпочтительно, остаток РАВС, при его присутствии, должен являться концевым AA в $(AA)_n$ группе, проксимальной нагрузке. Подходящие аминокислоты для AA в каждом случае включают природные, неприродные, стандартные, нестандартные, протеиногенные, непротеиногенные и L- или D- α -аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления 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, их производное или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько боковых цепей аминокислот связаны с группой боковой цепи, описанной далее. В некоторых вариантах осуществления n равно двум. В некоторых вариантах

осуществления (AA)_n означает валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает глицин-валин. В некоторых вариантах осуществления *n* равно трем. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает валин-цитруллин-РАВС. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает цитруллин-валин-РАВС. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления *n* равно четырем. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает глутамат-валин-цитруллин-РАВ. В некоторых вариантах осуществления (AA)_n означает глутамин-валин-цитруллин-РАВС. Специалистам в данной области известен РАВС как остаток *p*-аминобензилоксикарбонила со следующей структурой:

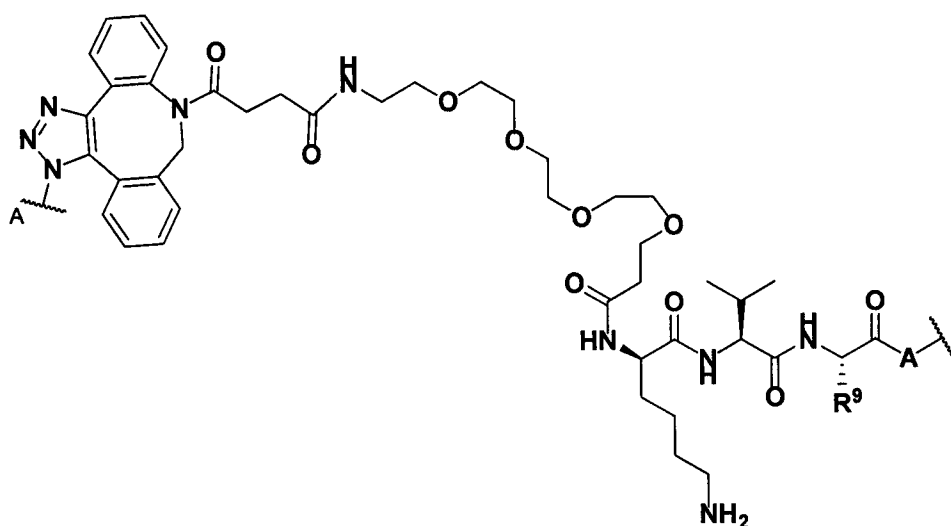


Было доказано, что остаток РАВС ускоряет расщепление определенных линкеров *in vitro* и *in vivo*.

[00150] В некоторых вариантах осуществления линкером является:



или



где:

в каждом случае $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$ означает связь со связывающим агентом;

в каждом случае $\text{---}\text{---}$ означает связь с нагрузкой;

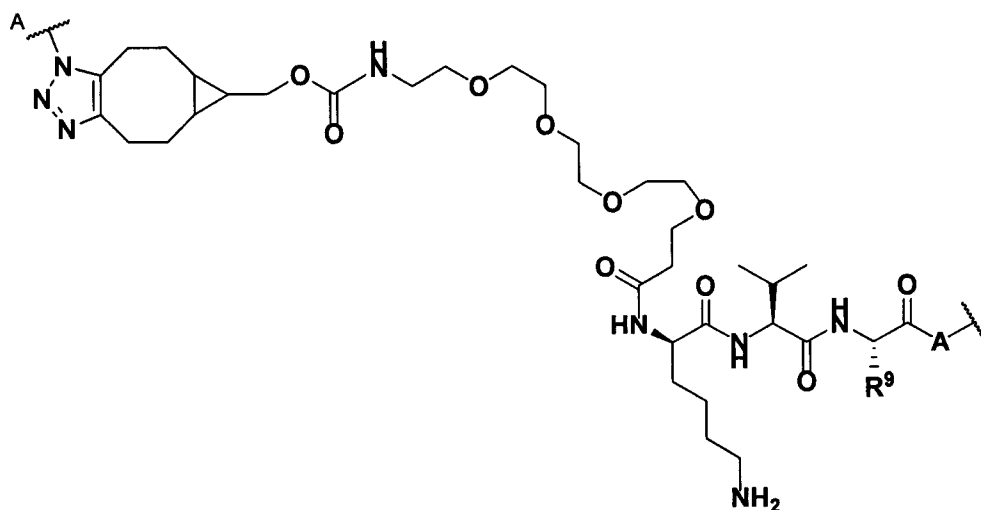
в каждом случае R^9 означает $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

в каждом случае A означает $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$, $\text{---}\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{---}$,

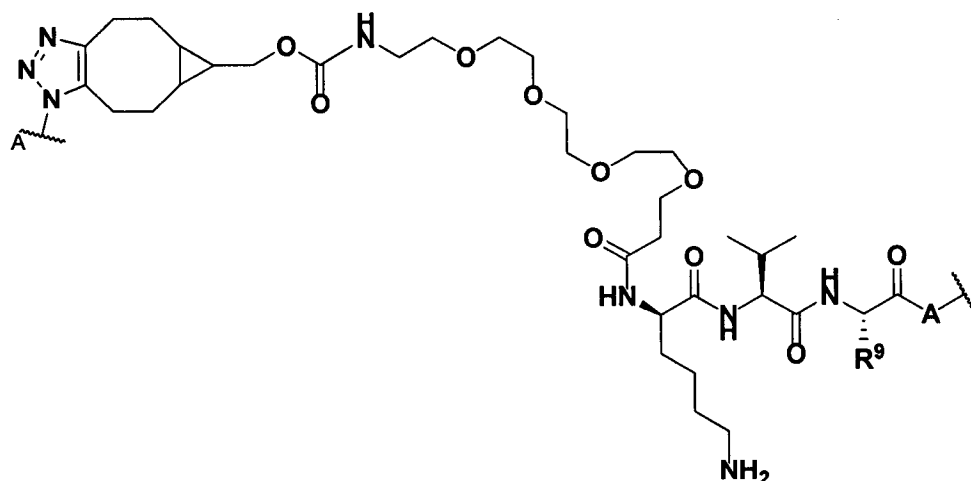
или $\text{---}\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}(\text{ZZ})-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{---}$, где ZZ означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} гетероалкил.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента.

[00151] В некоторых вариантах осуществления линкером является:



ИЛИ

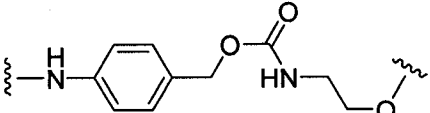


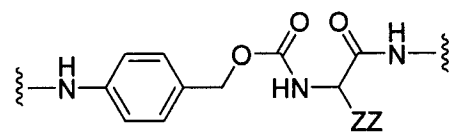
где:

в каждом случае $\begin{smallmatrix} \text{A} \\ | \\ \text{---} \end{smallmatrix}$ означает связь со связывающим агентом;

в каждом случае $\begin{smallmatrix} \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{smallmatrix}$ означает связь с нагрузкой;

в каждом случае R^9 означает $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

в каждом случае A означает $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$, , или



, где ZZ означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ

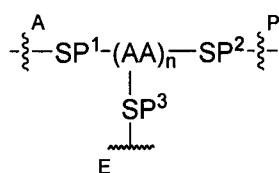
означает C₁₋₆ гетероалкил.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента.

[00152] В любом из выше приведенных вариантов осуществления (AA)_n группа может быть изменена при помощи одной или нескольких усиливающих групп. Предпочтительно, усиливающая группа может быть связана с боковой цепью любой аминокислоты в (AA)_n. Полезные аминокислоты для соединения усиливающих групп включают лизин, аспарагин, аспартат, глутамин, глутамат и цитруллин. Соединение с усиливающей группой может быть прямой связью с боковой цепью аминокислоты либо связь может быть опосредованной, через спейсер и/или реактивную группу. Полезные спейсеры и реактивные группы включают любые описанные выше спейсеры и реактивные группы. Усиливающей группой может быть любая группа, считающаяся полезной специалистами в данной области. Например, усиливающей группой может быть любая группа, которая оказывает благотворное воздействие на соединение, нагрузку, линкер-нагрузку или антитело-конъюгат, включая, помимо прочего, биологическое, биохимическое, синтетическое, солибилизирующее, визуализирующее, обнаруживающее действие и действие реактивности, а также подобные им. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления усиливающая группа способна улучшать растворимость оставшейся части конъюгата. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота является замещенной или незамещенной. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$,

$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, или $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$.

В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления линкером является:



где:

SP^1 означает спейсер;

SP^2 означает спейсер;

SP^3 означает спейсер, соединенный с одной AA у $(AA)_n$;

$\overset{A}{\text{---}\xi\text{---}}$ означает одну или несколько связей со связывающим агентом;

$\overset{P}{\text{---}\xi\text{---}}$ означает одну или несколько связей с нагрузкой;

$\begin{array}{c} \text{E} \\ | \\ \text{---} \end{array}$ означает одну или несколько связей с усиливающей группой EG;

в каждом случае AA означает аминокислоту, и

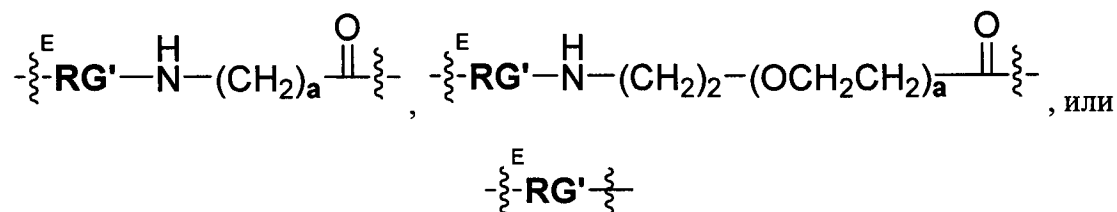
n является целым числом от 1 до 10.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента.

[00153] Группа SP¹ спейсера соответствует выше приведенному описанию. Группа SP² спейсера соответствует выше приведенному описанию. В каждом случае (AA)_n группа соответствует выше приведенному описанию.

[00154] SP³ спейсером является фрагмент, который соединяет (AA)_n фрагмент с усиливающей группой (EG). Подходящие SP³ спейсеры включают, помимо прочего, спейсеры, содержащие алкилен или полиэфир, либо и то, и другое. Концы SP³ спейсеров, т.е. часть SP³ спейсера, напрямую соединенная с усиливающей группой или AA, могут быть фрагментами, полученными от реактивных фрагментов, которые используются в целях соединения усиливающей группы или AA с SP³ спейсером во время химического синтеза конъюгата. В некоторых примерах концами SP³ спейсеров, т.е. частью спейсера, напрямую соединенной с усиливающей группой или AA, могут быть остатки реактивных фрагментов, которые используются в целях соединения или AA со спейсером во время химического синтеза конъюгата. В некоторых вариантах осуществления SP³ является спейсером, соединенным с одной и только одной AA у (AA)_n. В некоторых вариантах осуществления SP³ спейсер соединен с боковой цепью лизинового остатка (AA)_n.

[00155] В некоторых вариантах осуществления SP³ спейсером является:



где:

RG' означает остаток реактивной группы после реакции реактивной группы RG с усиливающим агентом EG;

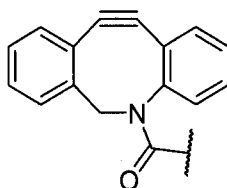
 означает связь с усиливающим агентом;

 означает связь с (AA)_n, и

a является целым числом от 2 до 8.

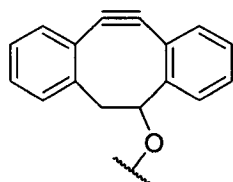
[00156] Реактивной группой **RG** может быть любая реактивная группа, известная специалистам в данной области, способная образовывать одну или несколько связей с усиливающим агентом. Реактивной группой **RG** является фрагмент, содержащий в своей структуре часть, способную вступать в реакцию со связывающим агентом (*например*, вступать в реакцию с антителом на его цистеиновых или лизиновых остатках либо на азидном фрагменте) и образовывать соединение Формулы **A**, **Aa** или **Ab**. После конъюгации со связывающим агентом реактивная группа становится остатком реактивной группы (**RG'**). Реактивной группой **RG** может быть любая реактивная группа, описанная выше. Примеры реактивных групп включают, помимо прочего, группы, которые содержат галоацетильные, изотиоцианатные, сукцинимидные, N-гидроксисукцинимидные или малеимидные части, которые способны вступать в реакцию со связывающим агентом.

[00157] В некоторых вариантах осуществления реактивные группы включают, помимо прочего, алкины. В некоторых вариантах осуществления такими алкинами являются алкины, способные участвовать в реакциях 1,3-циклоприсоединений с азидами в отсутствие катализаторов на основе меди, такие как напряженные алкины. Напряженные алкины подходят для промотированных напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкинов, *например*, циклооктинов, бензаннелированных алкинов. Подходящие алкины включают, помимо прочего,

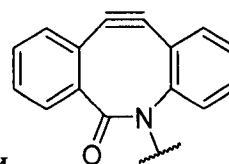


дибензоазациклооктин или

(DIBAC), дибензоазациклооктин или

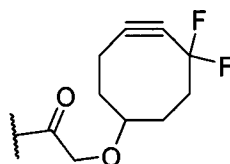


(DIBO), биарилазациклооктинон или

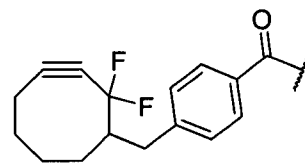


(BARAC),

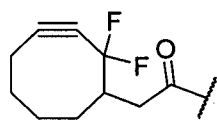
двухфтористый циклооктин или



, или

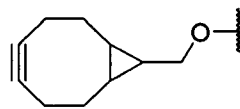


, или



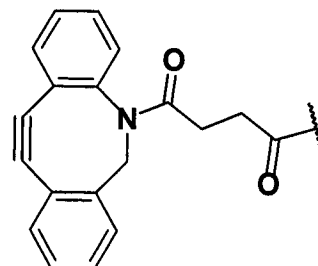
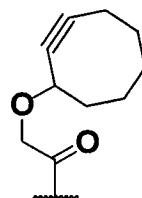
(DIFO), замещенные, например, фторированные алкины, аза-

циклоалкины, бицикло[6.1.0]нонин или

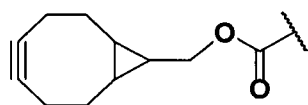


(BCN) и их производные.

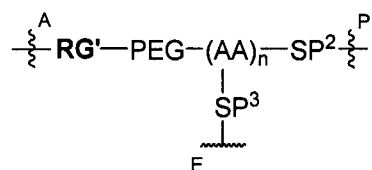
Особенно полезные алкины включают



и



[00158] В некоторых вариантах осуществления линкером является:



где:

RG' означает остаток реактивной группы после реакции реактивной группы **RG** со связывающим агентом;

PEG означает PEG3;

SP² означает спейсер;

SP³ означает спейсер, соединенный с одной **AA** у **(AA)_n**;

$\text{---} \text{A} \text{---}$ означает одну или несколько связей со связывающим агентом;

$\text{---} \text{P} \text{---}$ означает одну или несколько связей с нагрузкой;

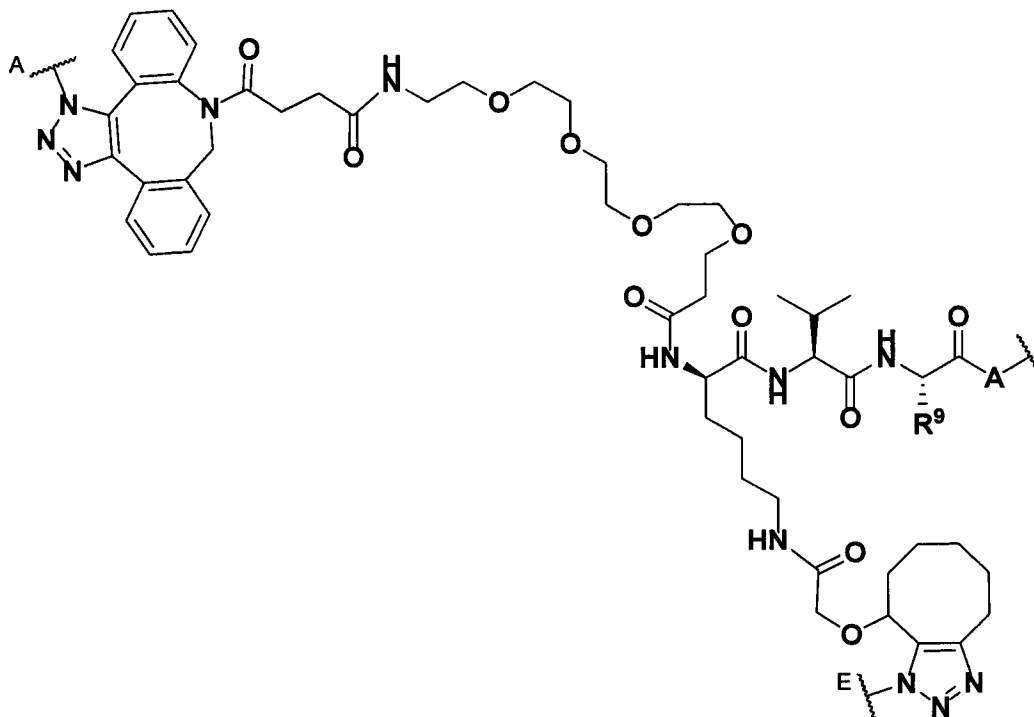
$\text{---} \text{E} \text{---}$ означает одну или несколько связей с усиливающей группой **EG**;

в каждом случае **AA** означает аминокислоту, и

n является целым числом от 1 до 10.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента.

[00159] В некоторых вариантах осуществления линкером является:



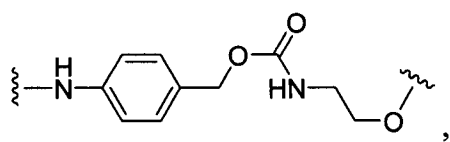
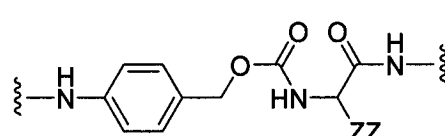
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, или смесь его региоизомеров, где:

в каждом случае $\overset{\text{A}}{\text{---}}$ означает связь со связывающим агентом;

в каждом случае --- означает связь с нагрузкой;

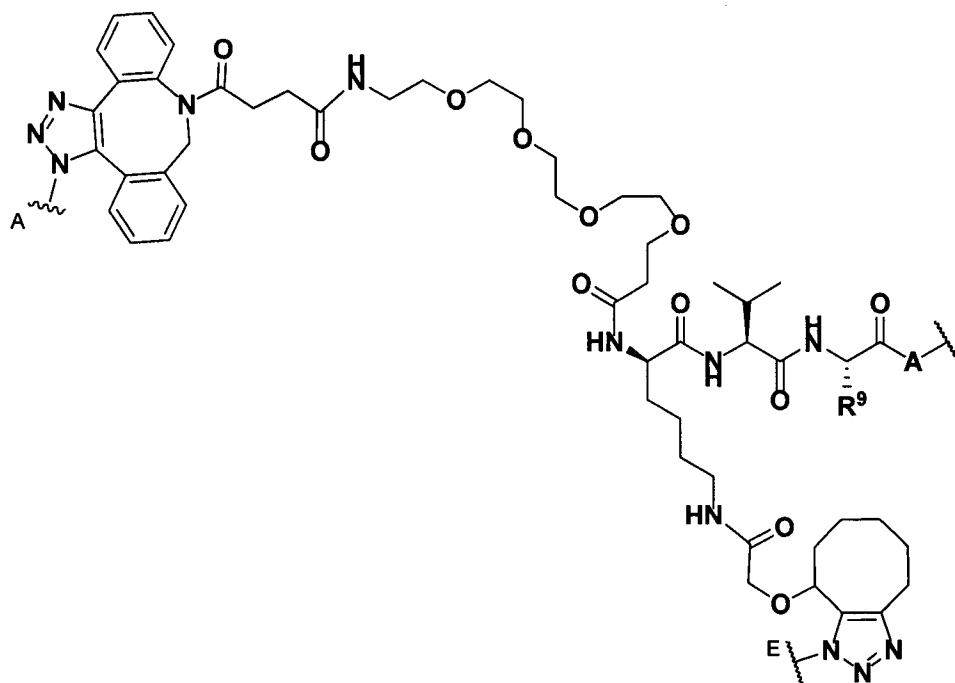
в каждом случае $\overset{\text{E}}{\text{---}}$ означает связь с усиливающим агентом;

в каждом случае R^9 означает ---CH_3 или $\text{---(CH}_2)_3\text{N(H)C(O)NH}_2$; и

в каждом случае A означает ---O--- , ---N(H)--- , , ,

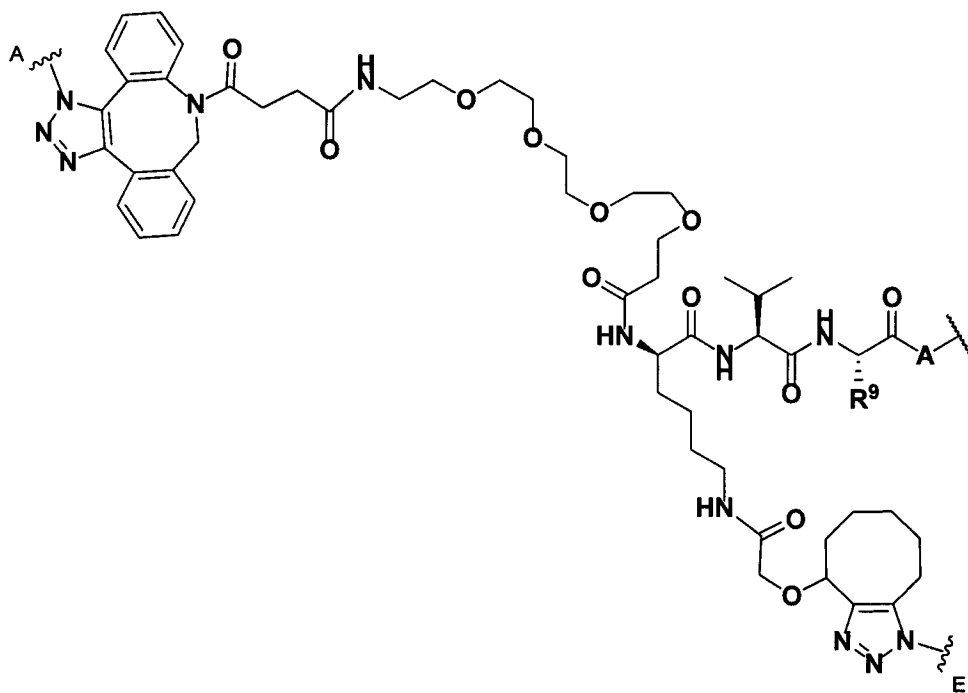
или ---NH--- , где ZZ означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ

означает C₁₋₆ гетероалкил. В некоторых вариантах осуществления региоизомеры или смесь региоизомеров 1,3-циклоприсоединения или SPAAC получают от дериватизированных антител PEG-N₃, на которых воздействуют подходящими алкинами. Например, в одном варианте осуществления линкером является:



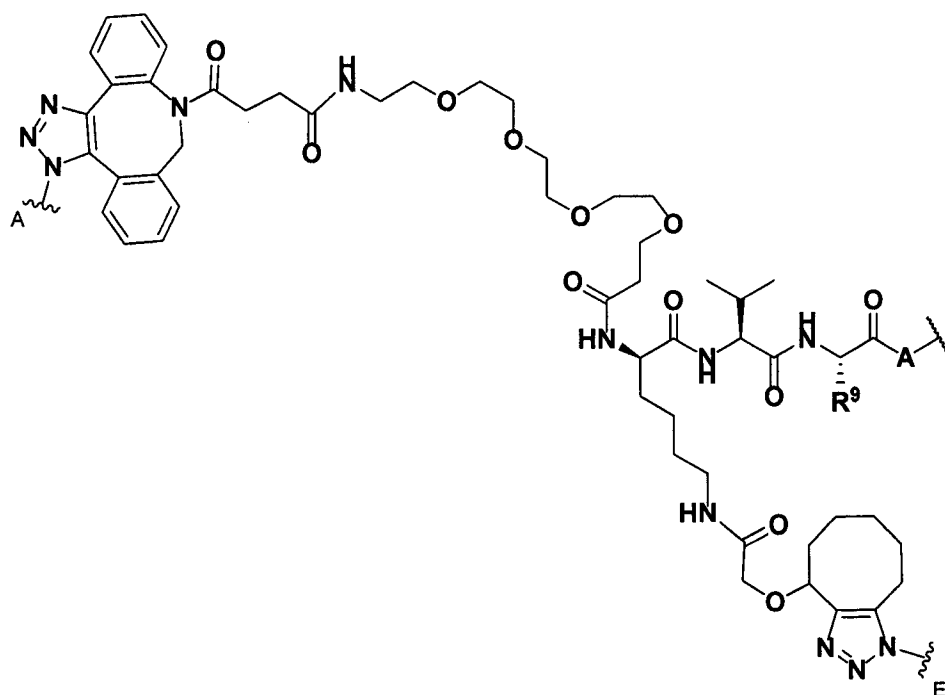
или его

фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, или смесь его региоизомеров. В качестве примера линкером является:



или его

фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, или смесь его региоизомеров. Например, в одном варианте осуществления,



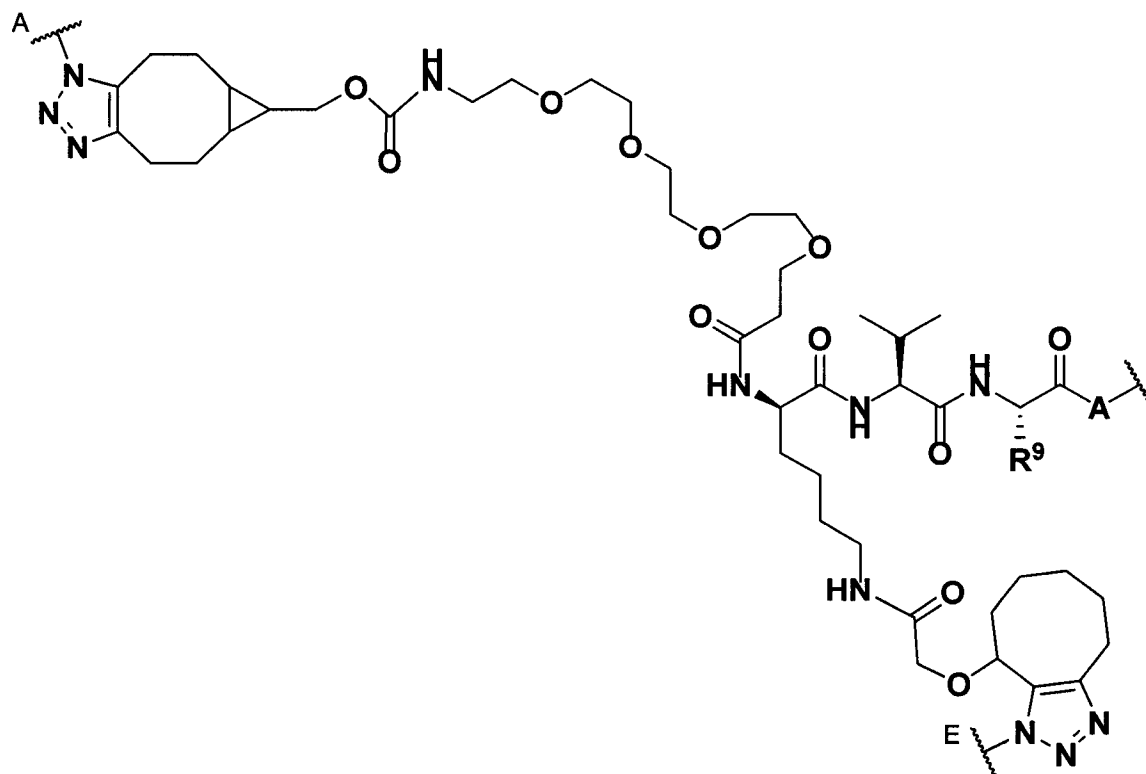
линкером является:

либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, или смесь его региоизомеров.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, или $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно

1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5.

[00160] В некоторых вариантах осуществления линкером является:



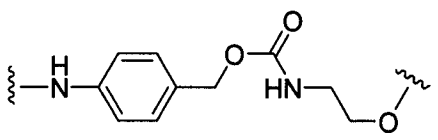
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, или смесь его региоизомеров, где:

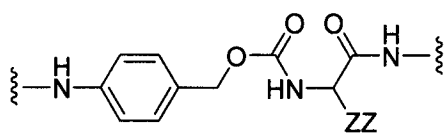
в каждом случае $\begin{array}{c} \text{A} \\ | \\ \text{---} \end{array}$ означает связь со связывающим агентом;

в каждом случае $\begin{array}{c} \text{E} \\ | \\ \text{---} \end{array}$ означает связь с усиливающим агентом;

в каждом случае $\begin{array}{c} \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array}$ означает связь с нагрузкой;

в каждом случае R^9 означает $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

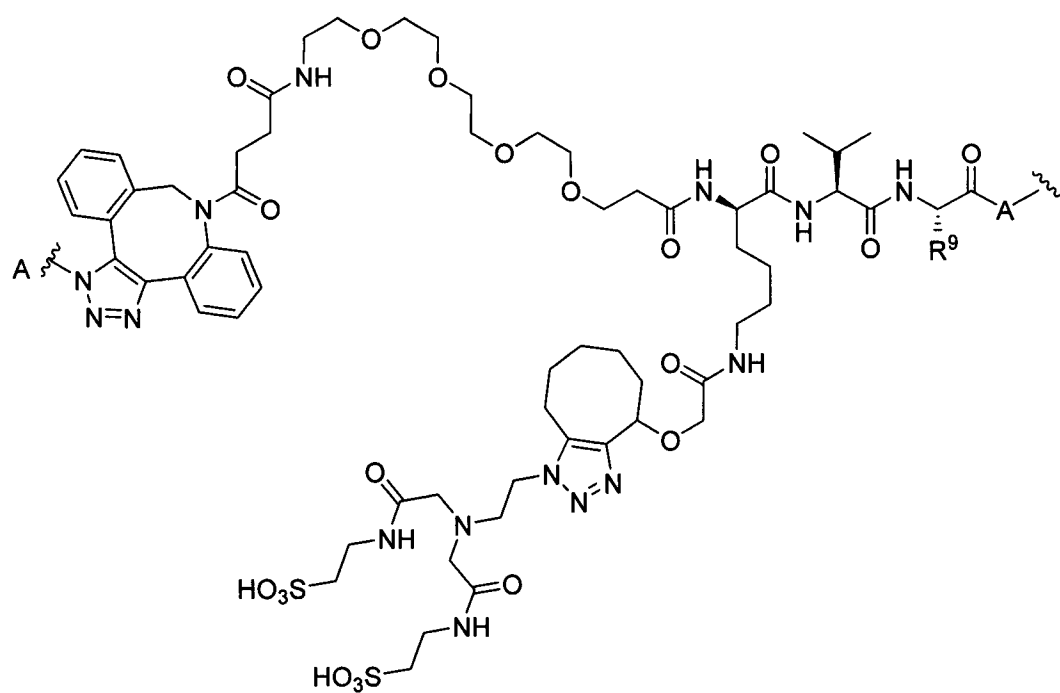
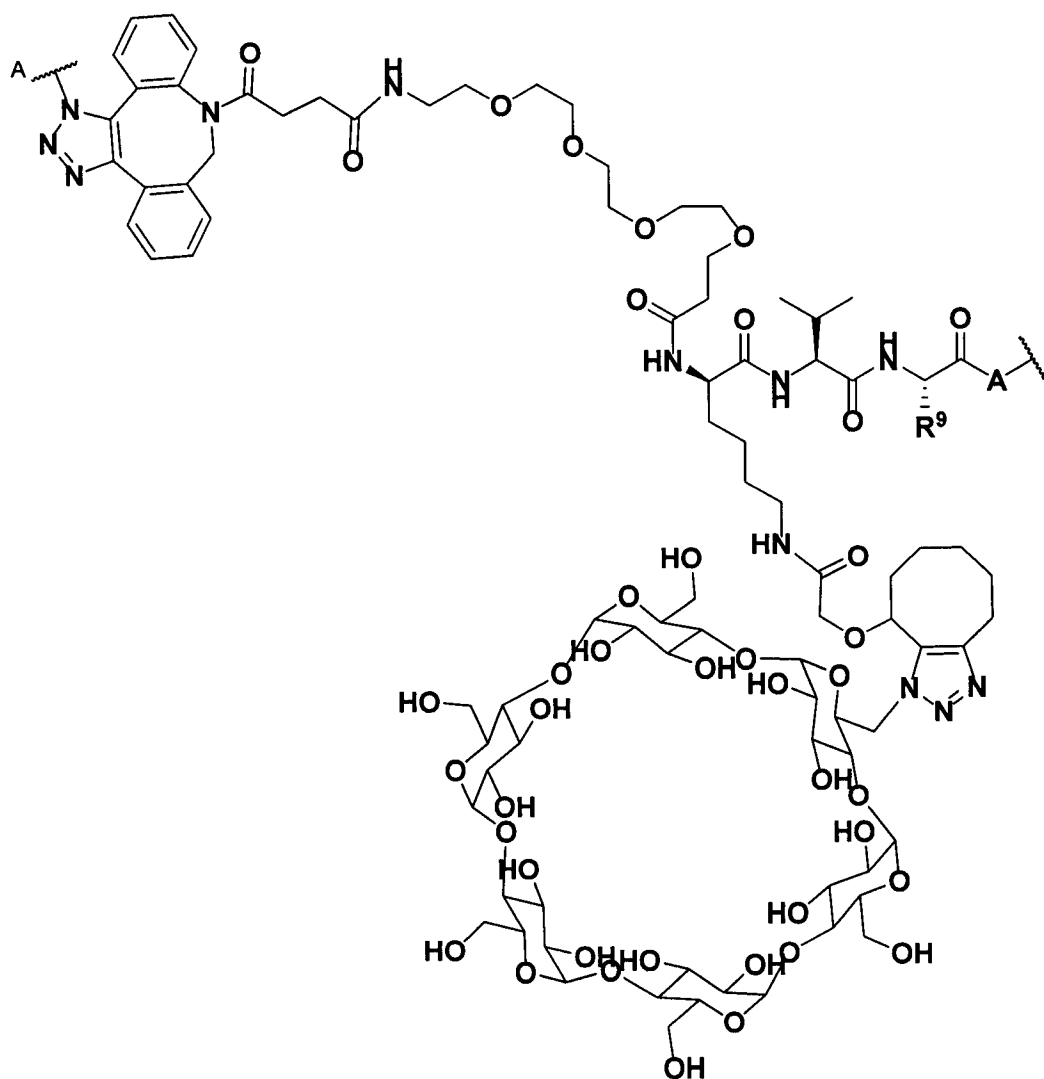
в каждом случае A означает $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$, ,

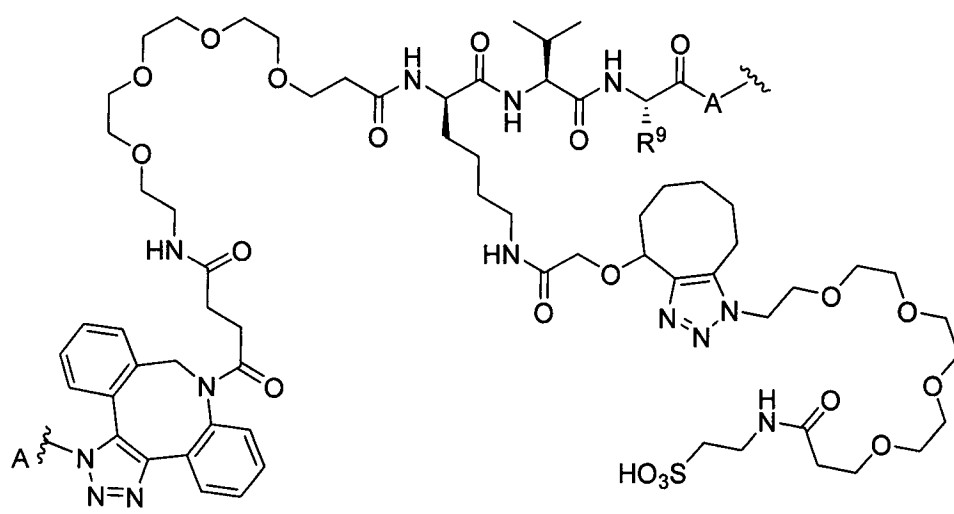
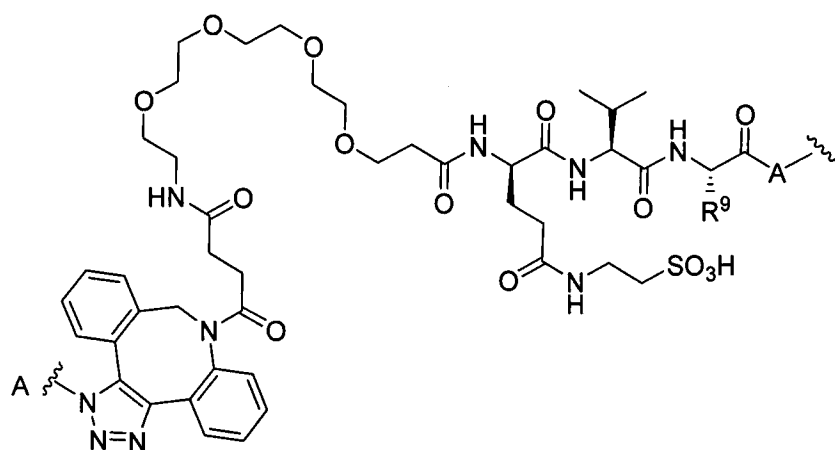
или , где ZZ означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} гетероалкил.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$,

$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, или
 $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5.

[00161] В некоторых вариантах осуществления линкером является:





либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, или смесь его региоизомеров, где:

в каждом случае $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$ означает связь со связывающим агентом;

в каждом случае $\text{---}\overset{\text{ZZ}}{\text{---}}$ означает связь с нагрузкой;

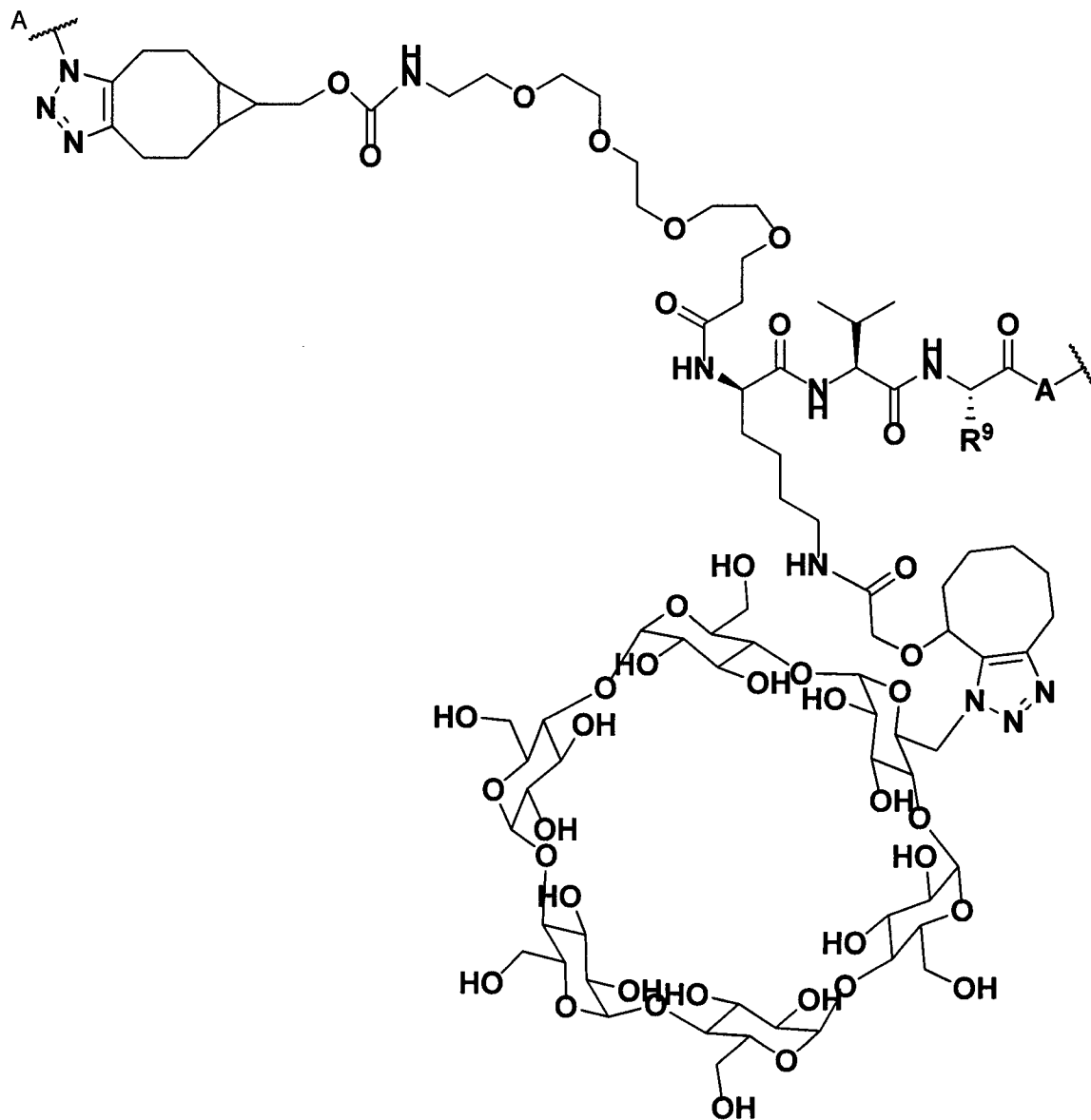
R^9 означает $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

A означает $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$, $\text{---}\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{---}$, или

$\text{---}\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}(\text{ZZ})-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{---}$, где ZZ означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C₁₋₆ алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C₁₋₆ гетероалкил.

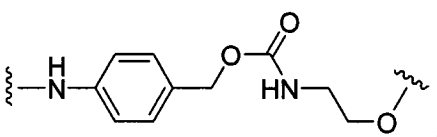
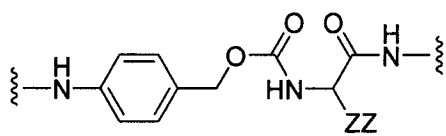
Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента.

В некоторых вариантах осуществления линкером является:



в каждом случае $\text{---}\text{---}\text{---}$ означает связь с нагрузкой;

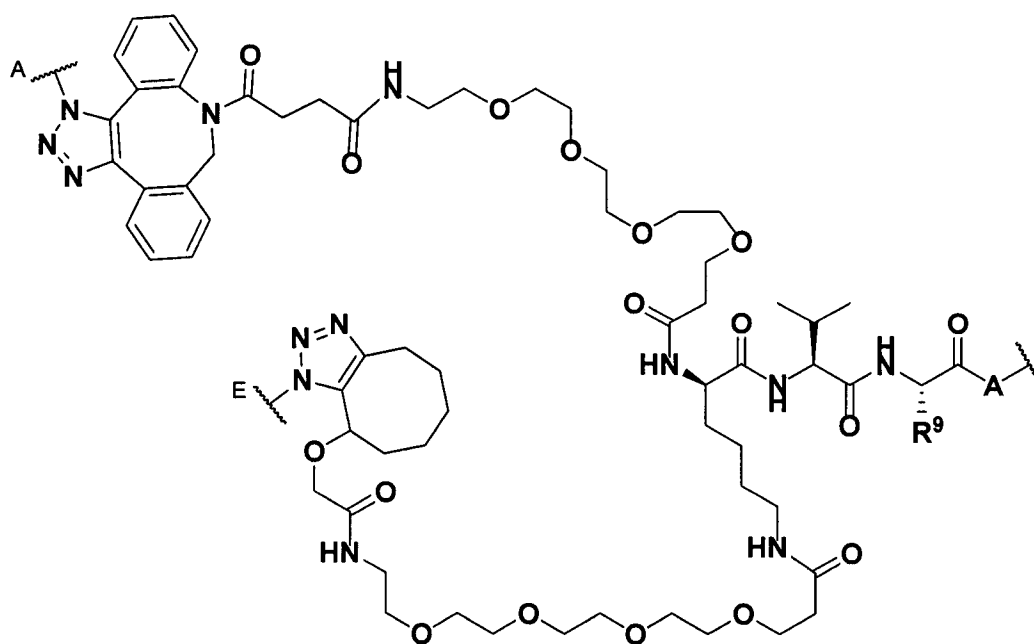
R^9 означает $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

A означает $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$, , или , где ZZ означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} гетероалкил.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента.

[00162] В некоторых вариантах осуществления линкером является:



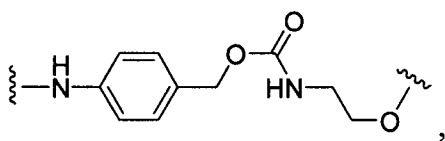
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, или смесь его региоизомеров, где:

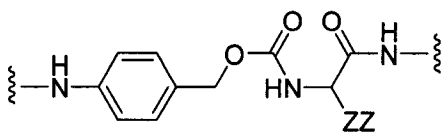
в каждом случае $\text{---}\text{---}\text{---}^A$ означает связь со связывающим агентом;

в каждом случае $\text{---}\text{---}\text{---}$ означает связь с нагрузкой;

в каждом случае $\begin{array}{c} \text{E} \\ | \\ \text{---} \end{array}$ означает связь с усиливающей группой;

в каждом случае R^9 означает $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

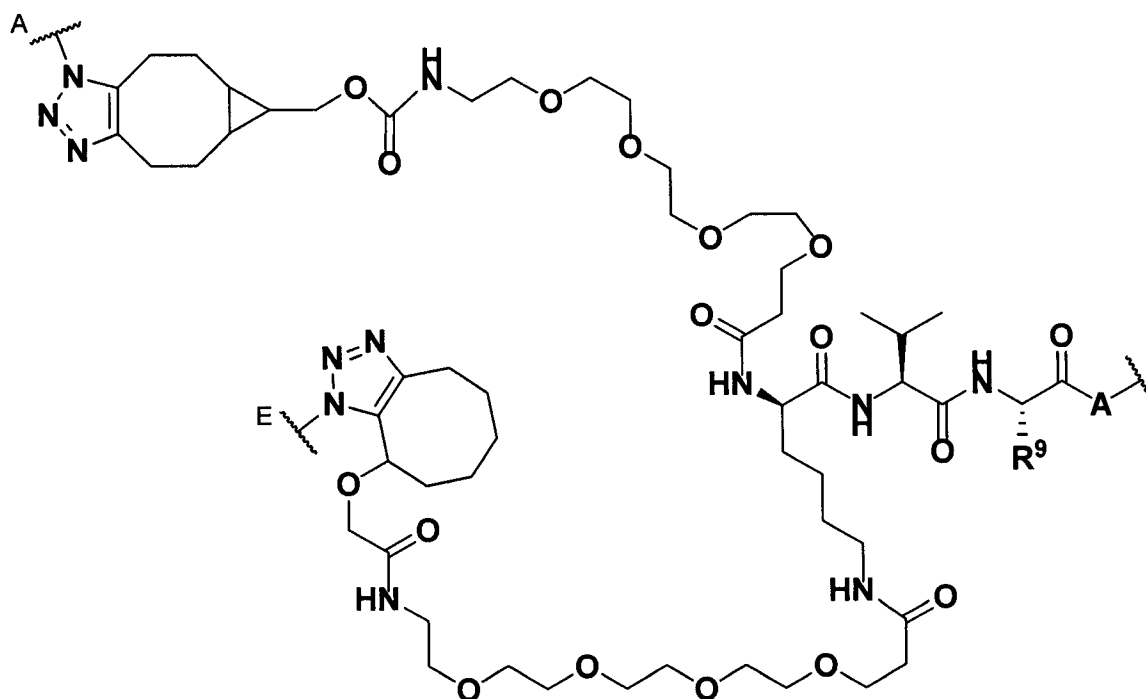
в каждом случае A означает $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$, ,

или , где ZZ означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} гетероалкил.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, или $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная,

алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5.

[00163] В некоторых вариантах осуществления линкером является:

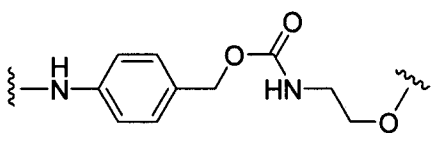


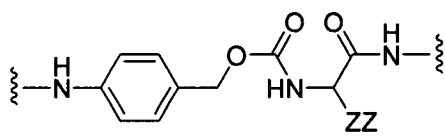
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, или смесь его региоизомеров, где:

в каждом случае $\text{---}\text{A}\text{---}$ означает связь со связывающим агентом;

в каждом случае $\sim$ означает связь с нагрузкой;

в каждом случае R^9 означает $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

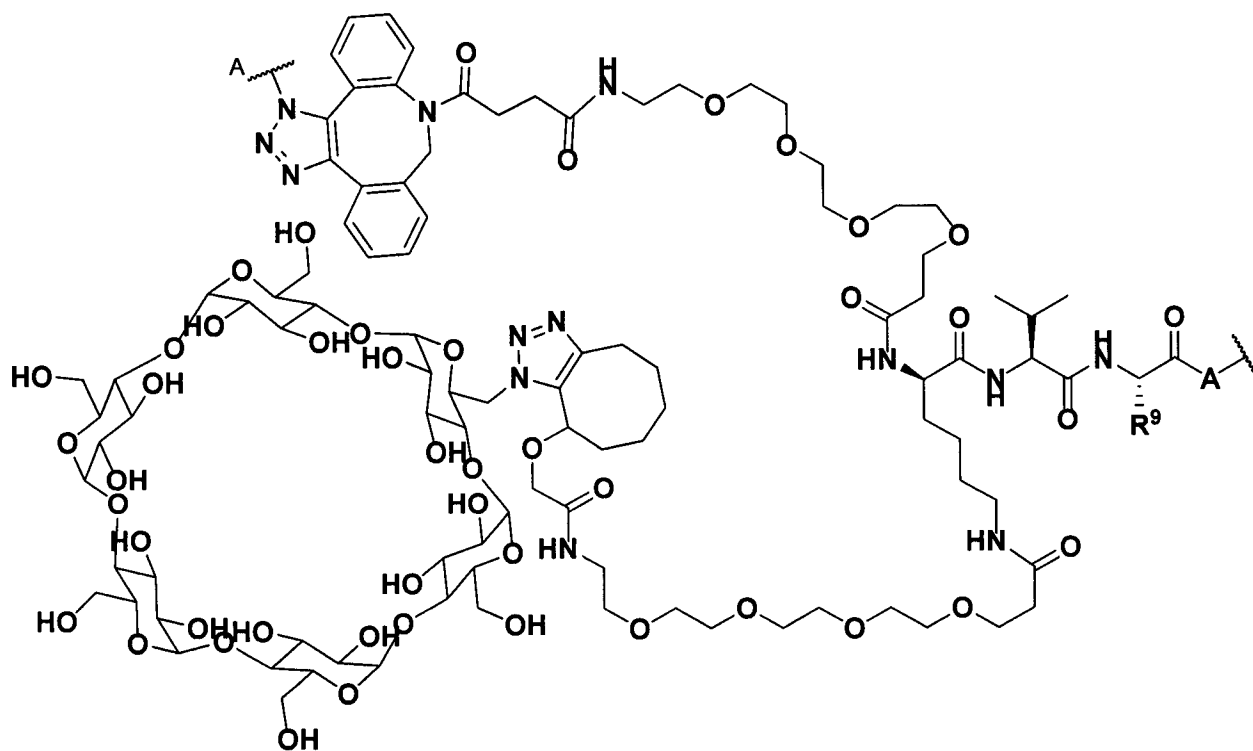
в каждом случае A означает $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$, ,

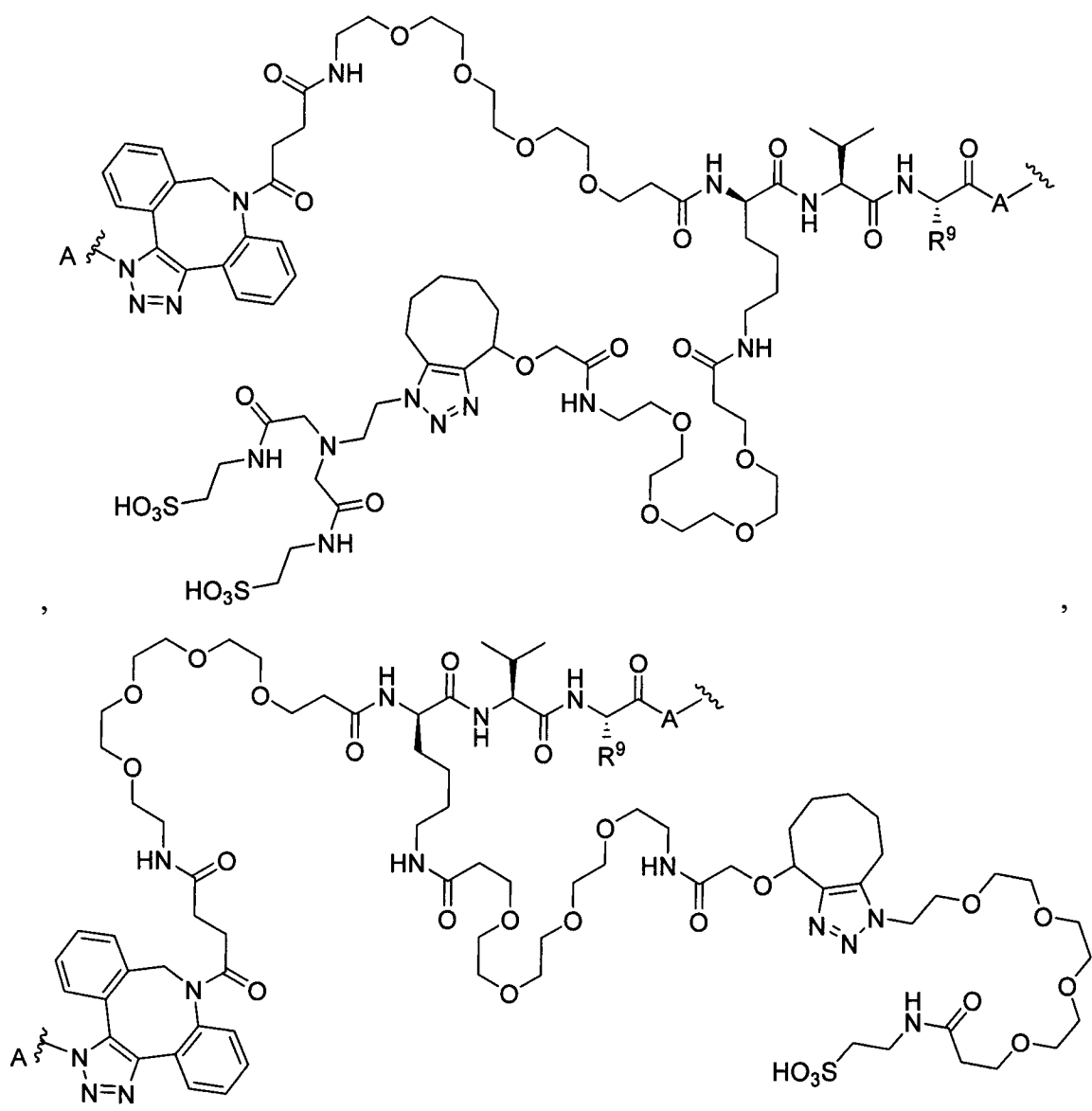
или , где ZZ означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} гетероалкил.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, $-(\text{CH}_2)_n\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, или $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$,

где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5.

[00164] В некоторых вариантах осуществления линкером является:



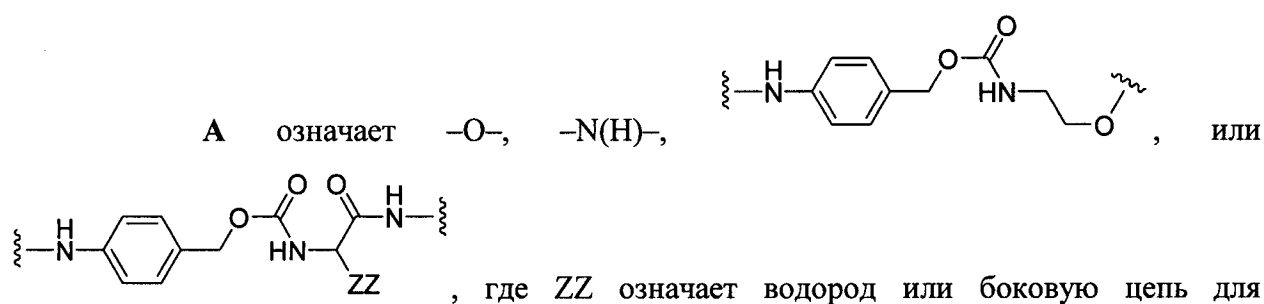


либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, или смесь его региоизомеров, где:

в каждом случае $\overset{\text{A}}{\sim}$ означает связь со связывающим агентом;

в каждом случае $\sim$ означает связь с нагрузкой;

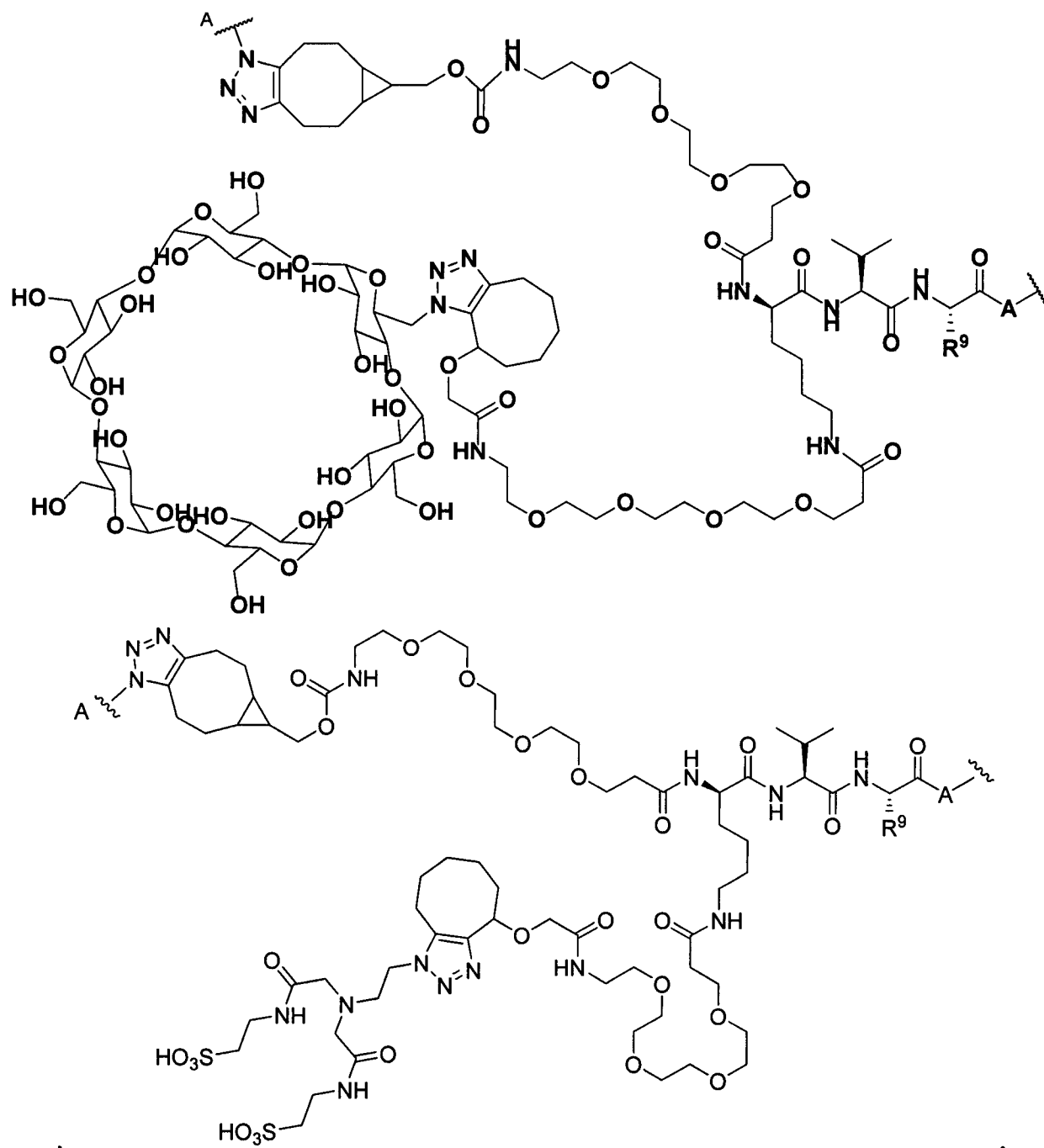
R^9 означает $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

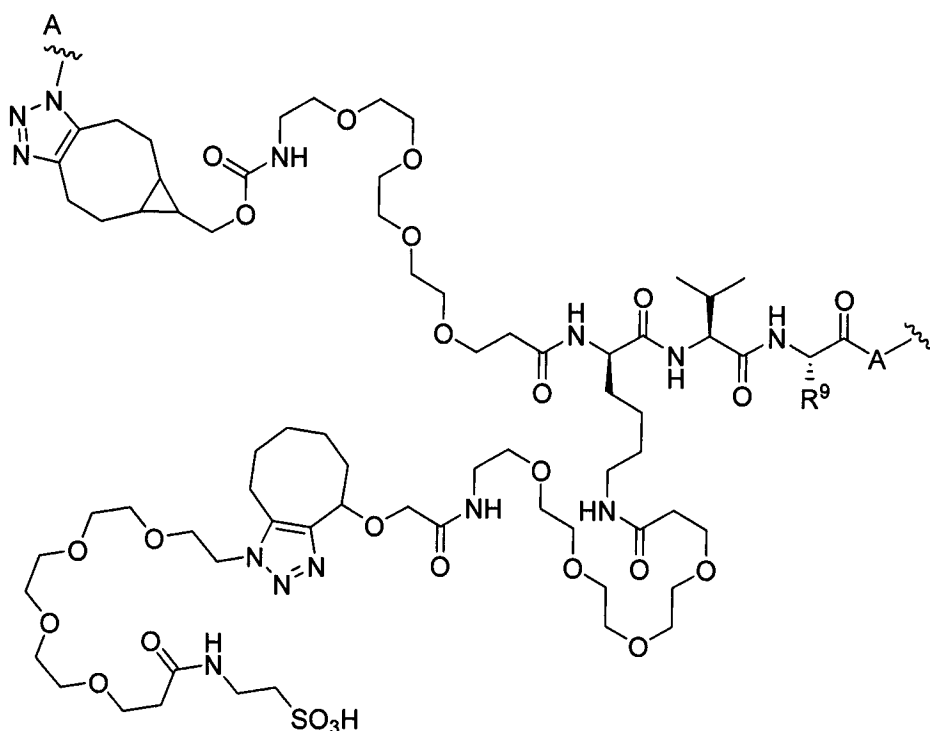


аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C₁₋₆ алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C₁₋₆ гетероалкил.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента.

[00165] В некоторых вариантах осуществления линкером является:



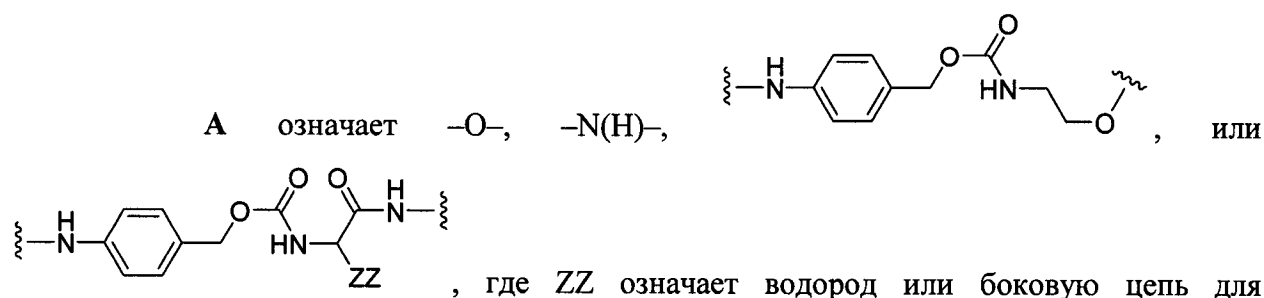


либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, или смесь его региоизомеров, где:

в каждом случае $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{~}}\text{---}$ означает связь со связывающим агентом;

в каждом случае $\text{---}\overset{\text{~}}{\text{~}}\text{---}$ означает связь с нагрузкой;

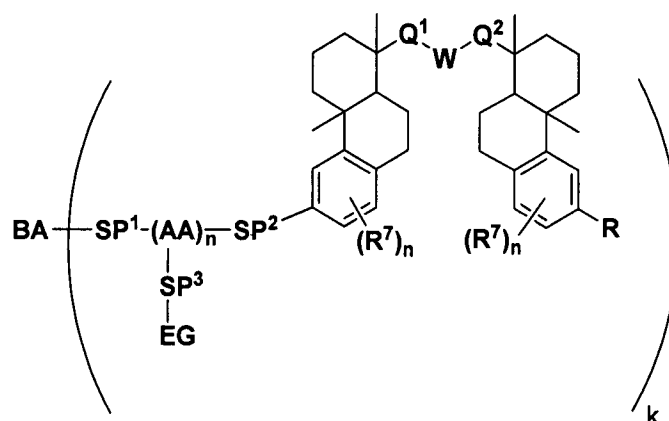
R^9 означает $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и



Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента.

[00166] Выше приведенные линкеры полезны для получения следующих конъюгатов.

[00167] В некоторых вариантах осуществления таким конъюгатом является:



либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, где:

BA означает связывающий агент;

в каждом случае **SP¹**, **SP²** и **SP³** означает спейсерную группу, описанную выше, где **SP³** соединена с одной **AA** у **(AA)_n**;

EG означает усиливающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

R означает **-H**, **R¹**, или **R²**; и

Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R³**, **R⁴**, **R⁵**, **R⁶**, **R⁷**, **X**, **Y**, **Z** и **n** соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае **R⁹** означает **-CH₃** или **-(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂**; и

в каждом случае **A**, независимо в каждом примере, означает **-O-**, **-N(H)-**,

или

 , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, описанной в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает **C₁₋₆** алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает **C₁₋₆** гетероалкил.

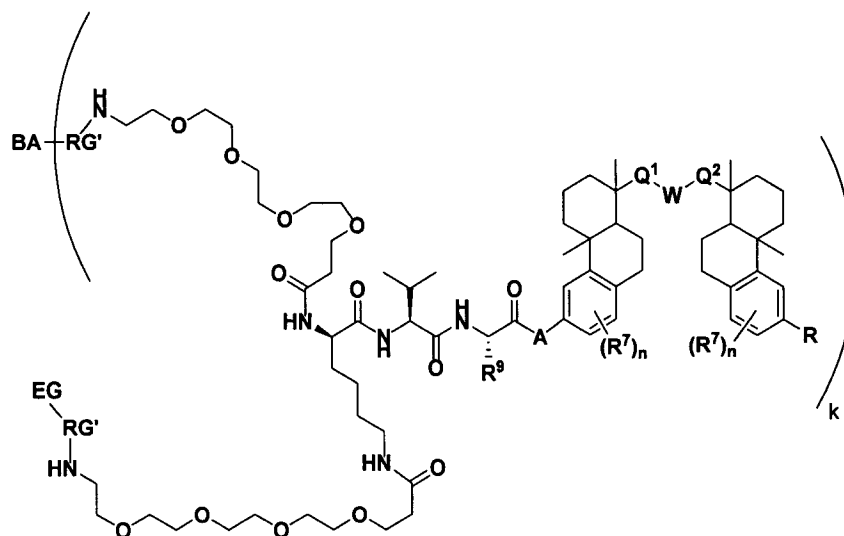
Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является

циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, или $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления **R** означает **R¹**.

[00168] В некоторых вариантах осуществления конъюгатом является:

определенных вариантов осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, или $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления R означает R^1 .

[00169] В некоторых вариантах осуществления конъюгатом является:



либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, где:

BA означает связывающий агент;

в каждом случае **RG'** означает остаток реактивной группы, описанной в настоящем документе;

EG означает усиливающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R³**, **R⁴**, **R⁵**, **R⁶**, **R⁷**, **X**, **Y**, **Z** и **n** соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае **R⁹** означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$, ,

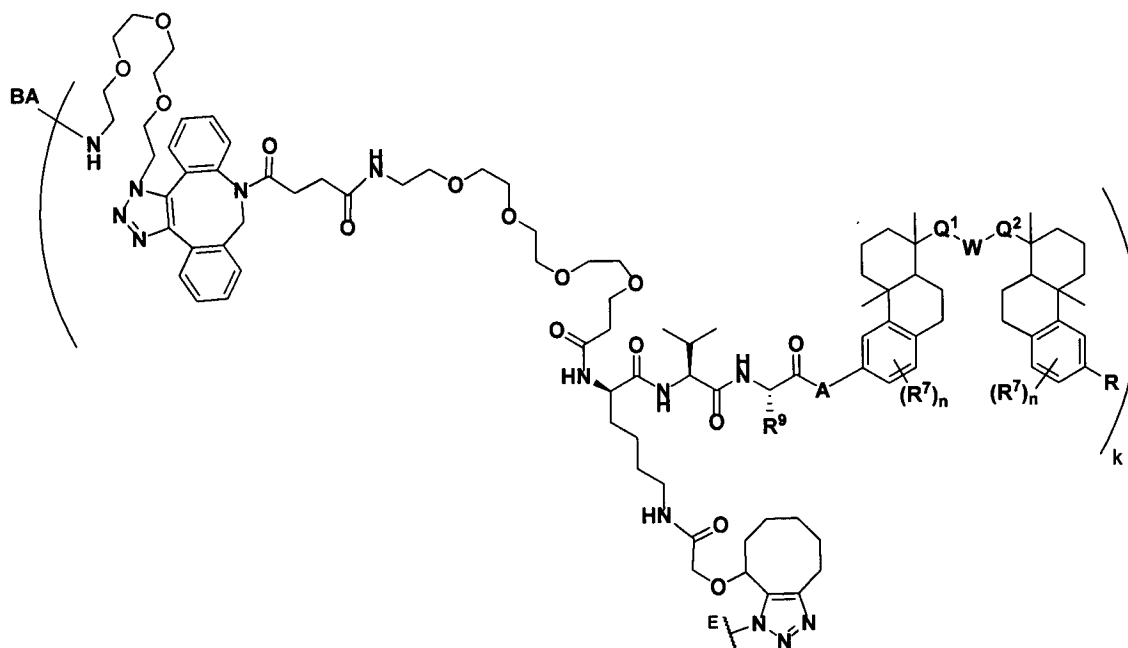
или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} гетероалкил.

Как было описано ранее, связь со связывающим агентом может быть прямой или через

спейсер. В некоторых вариантах осуществления связь со связывающим агентом осуществляется через PEG спейсер с глутаминовым остатком связывающего агента. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, или $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m

равно 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления **R** означает **R¹**.

[00170] В некоторых вариантах осуществления конъюгатом является:



либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

BA означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

R означает **-H**, **R¹**, или **R²**; и

Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R³**, **R⁴**, **R⁵**, **R⁶**, **R⁷**, **X**, **Y**, **Z** и **n** соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае $\text{---}\overset{\text{E}}{\text{---}}$ означает связь с усиливающей группой;

в каждом случае **R⁹** означает **-CH₃** или **-(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂**; и

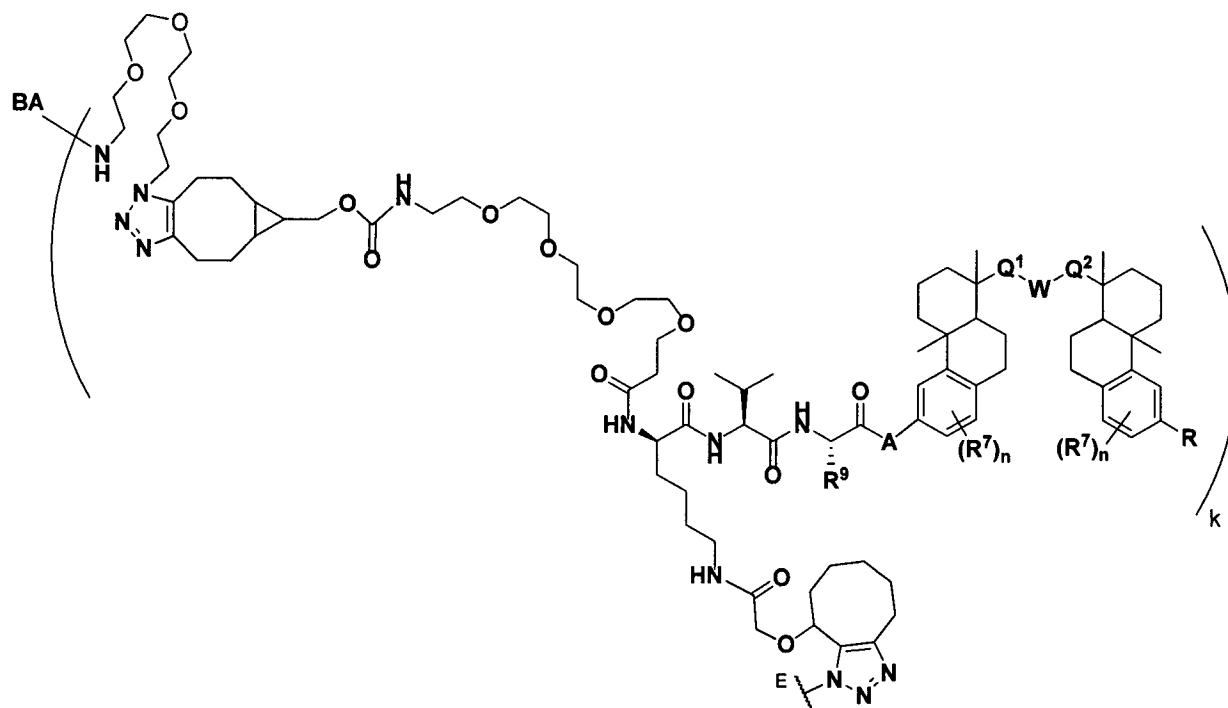
в каждом случае **A** означает **-O-**, **-N(H)-**, ,

или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает **C₁₋₆** алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ**

означает C₁₋₆ гетероалкил.

В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, или $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m

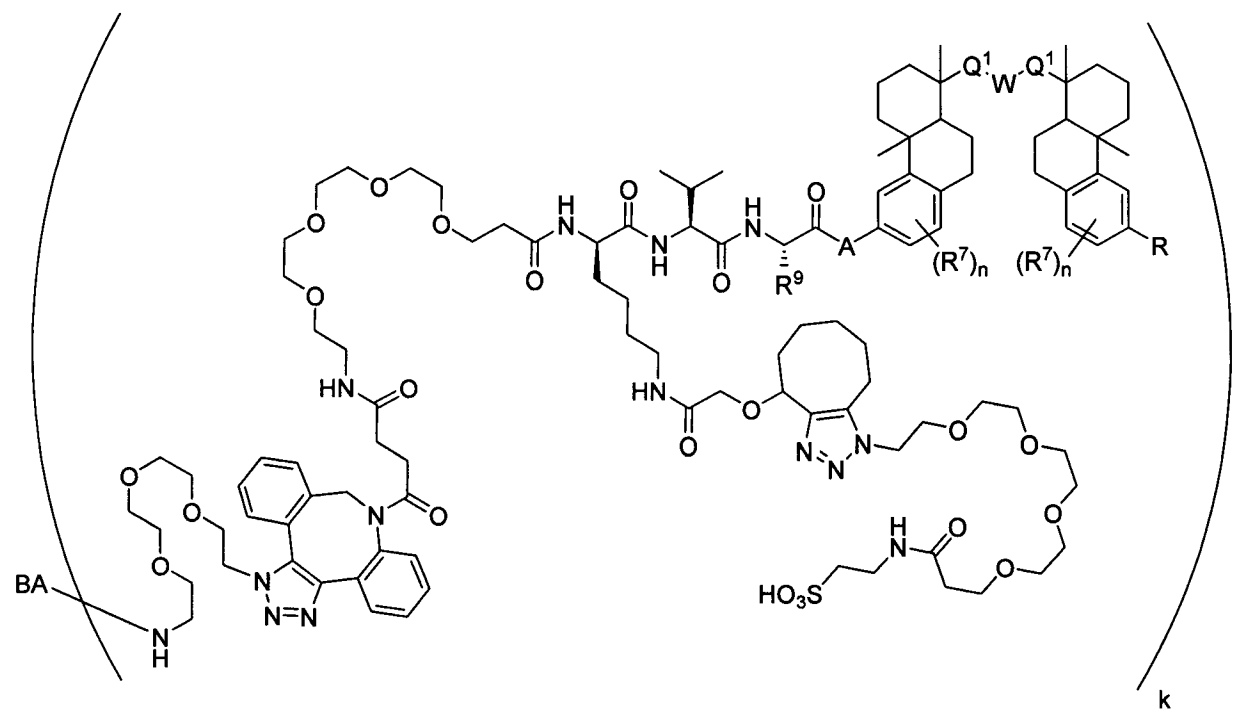
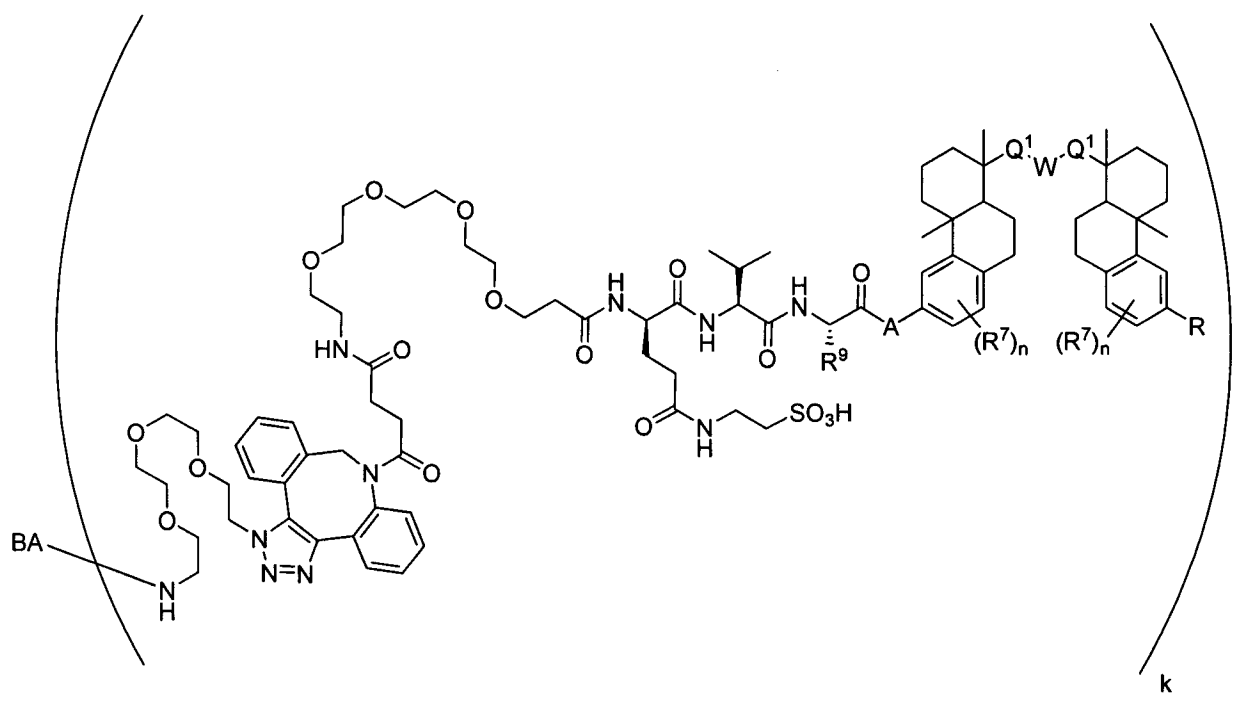
[00171] В некоторых вариантах осуществления таким конъюгатом является:



В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная

группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, или $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления R означает R^1 .

[00172] В некоторых вариантах осуществления таким конъюгатом является:



либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

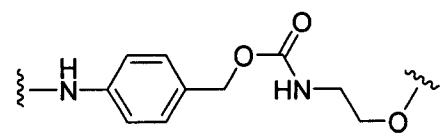
ВА означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

R означает $-\text{H}$, R^1 , или R^2 ; и

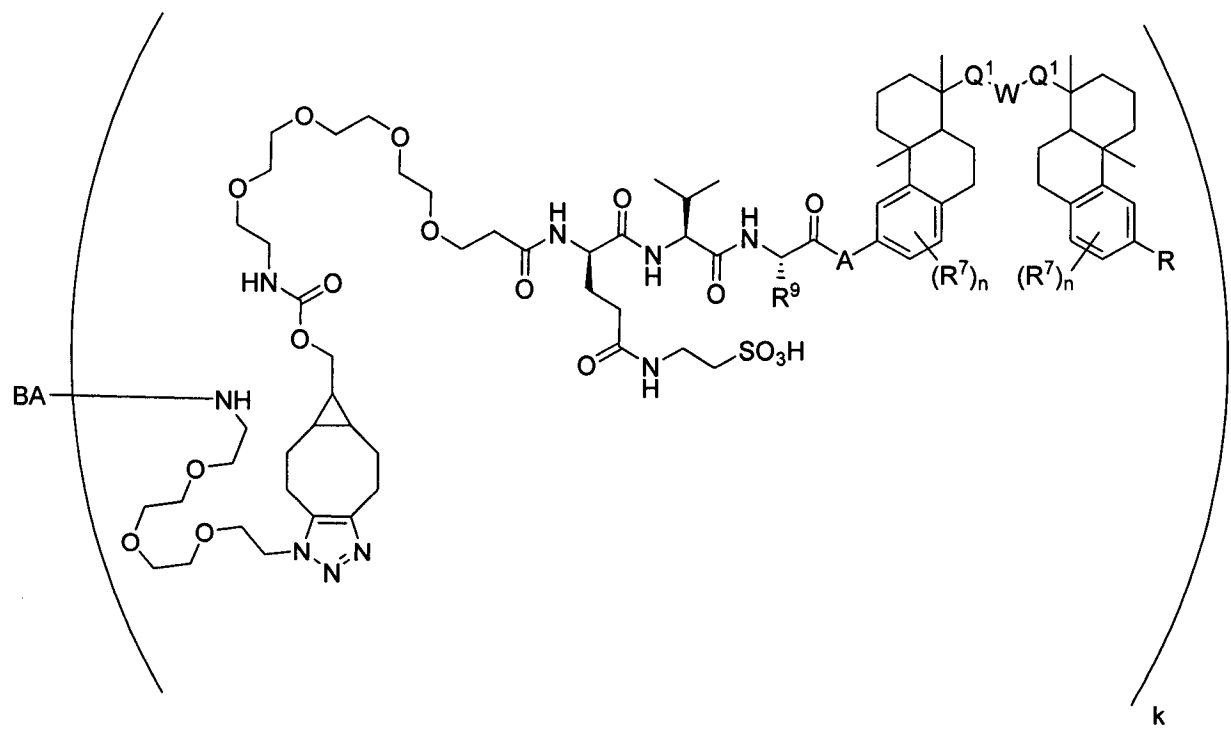
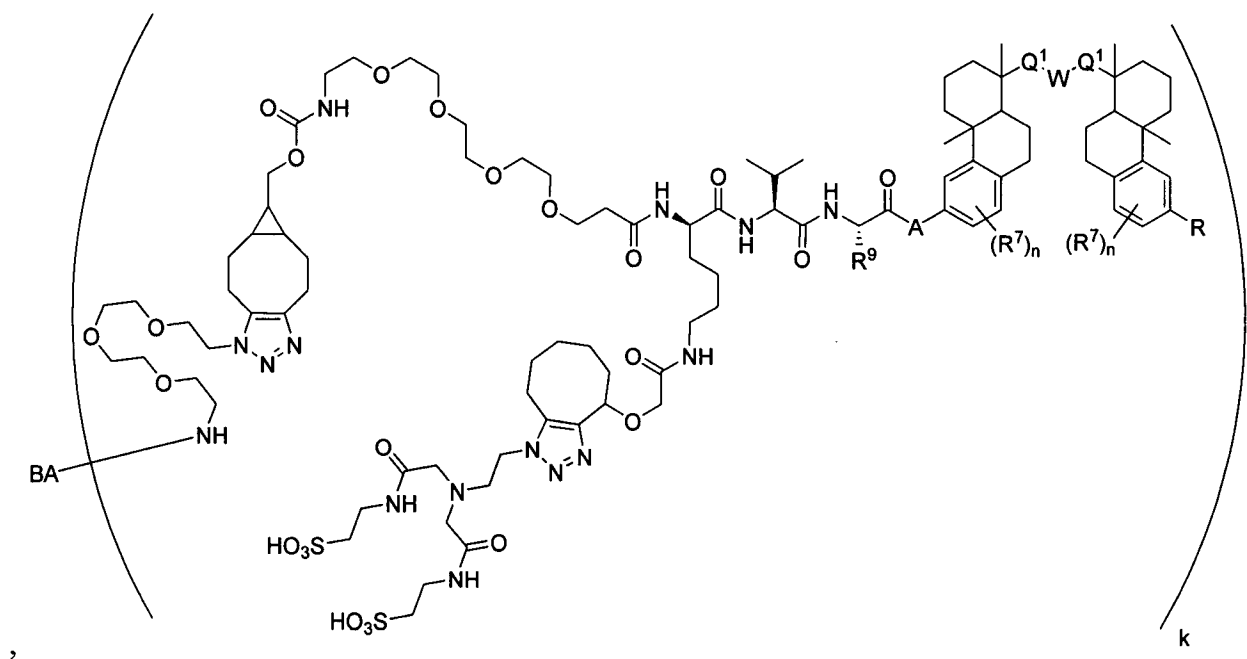
Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , X , Y , Z и **n** соответствуют описаниям в
контексте Формулы I;

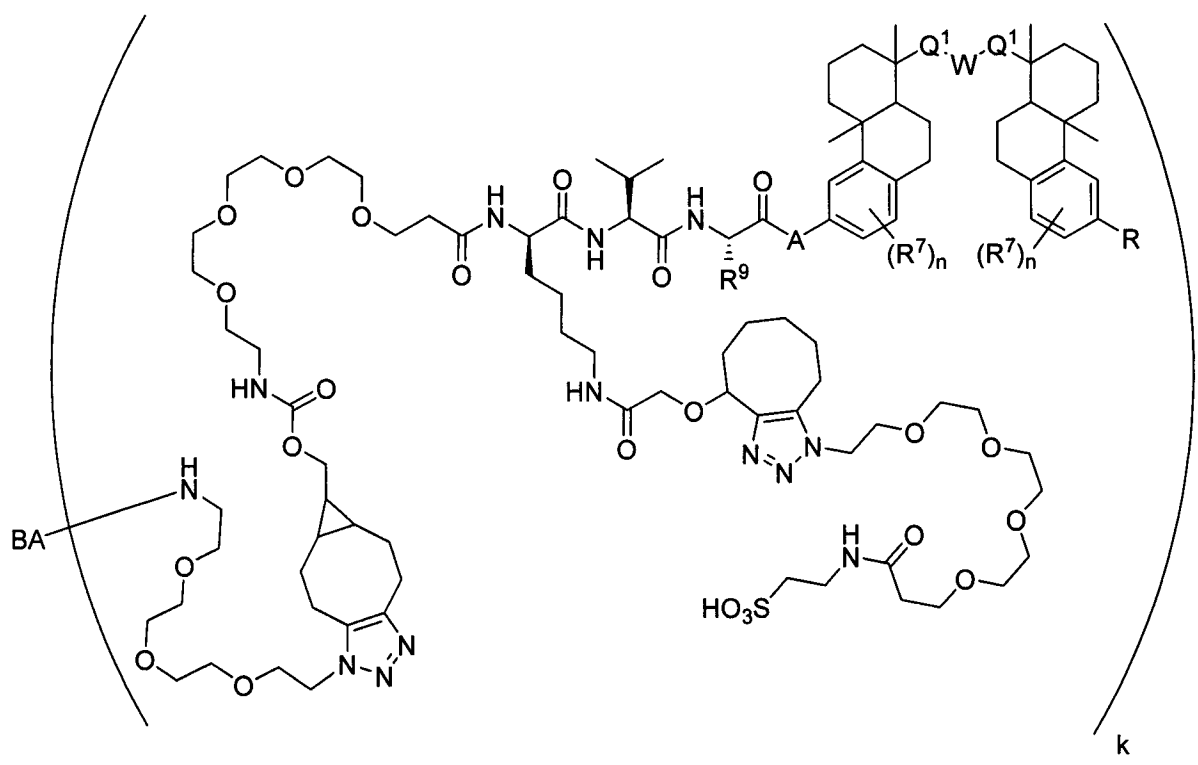
в каждом случае А означает $-O-$, $-N(H)-$,



В некоторых вариантах осуществления $\mathbf{R}$ означает $\mathbf{R}^1$.

[illegible]





либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

BA означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

Q¹, Q², W, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, X, Y, Z и **n** соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

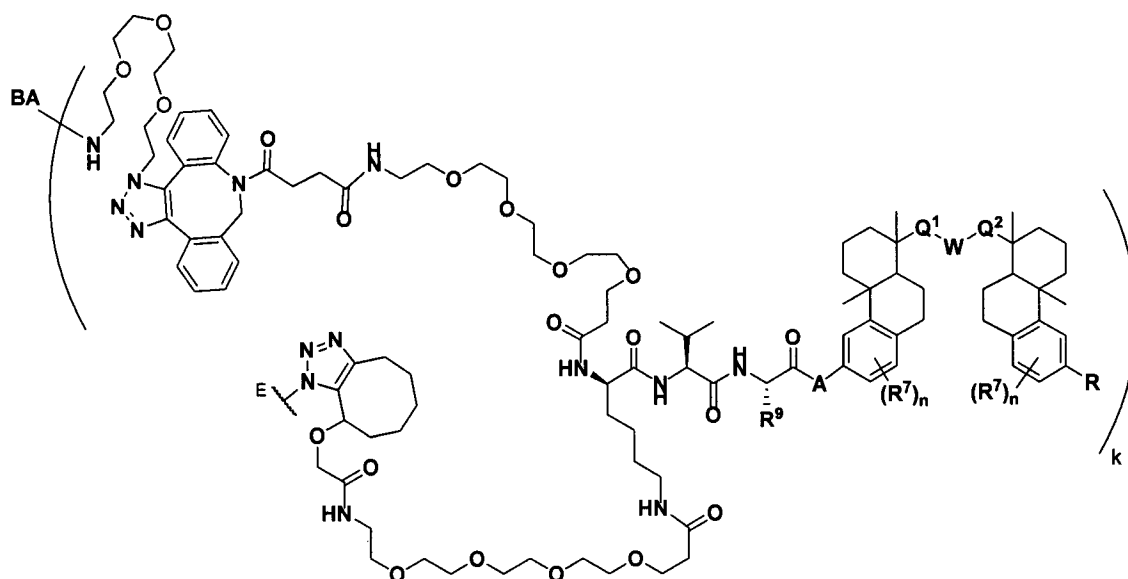
в каждом случае **R⁹** означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$, ,

или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления **R** означает **R¹**.

[00174] В некоторых вариантах осуществления таким конъюгатом является:



либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

ВА означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

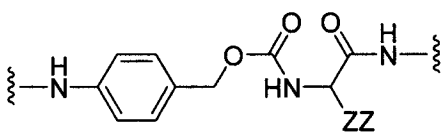
R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

Q¹, Q², W, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, X, Y, Z и **n** соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае $\begin{smallmatrix} E \\ \vdots \\ \vdots \end{smallmatrix}$ означает связь с усиливающей группой;

в каждом случае **R⁹** означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

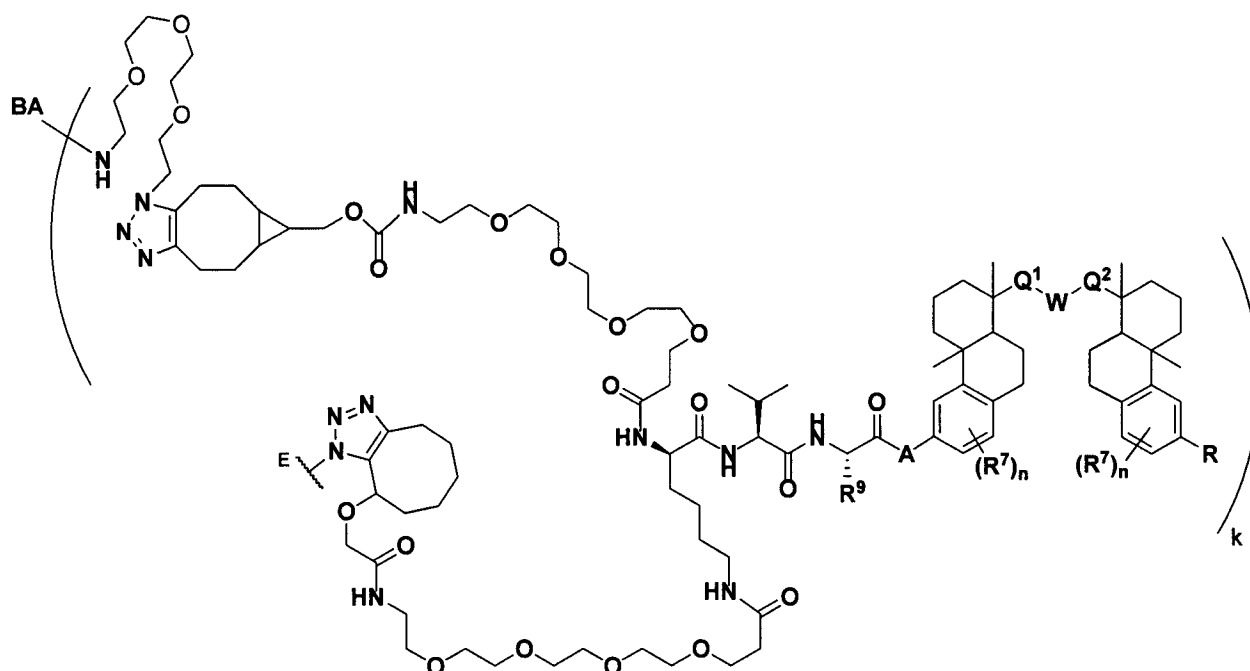
в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$,

или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} гетероалкил.

В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является

циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, или $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления R означает R^1 .

[00175] В некоторых вариантах осуществления таким конъюгатом является:



либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

BA означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

Q¹, Q², W, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, X, Y, Z и **n** соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае $\begin{smallmatrix} E \\ \vdots \\ \vdots \end{smallmatrix}$ означает связь с усиливающей группой;

в каждом случае **R⁹** означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

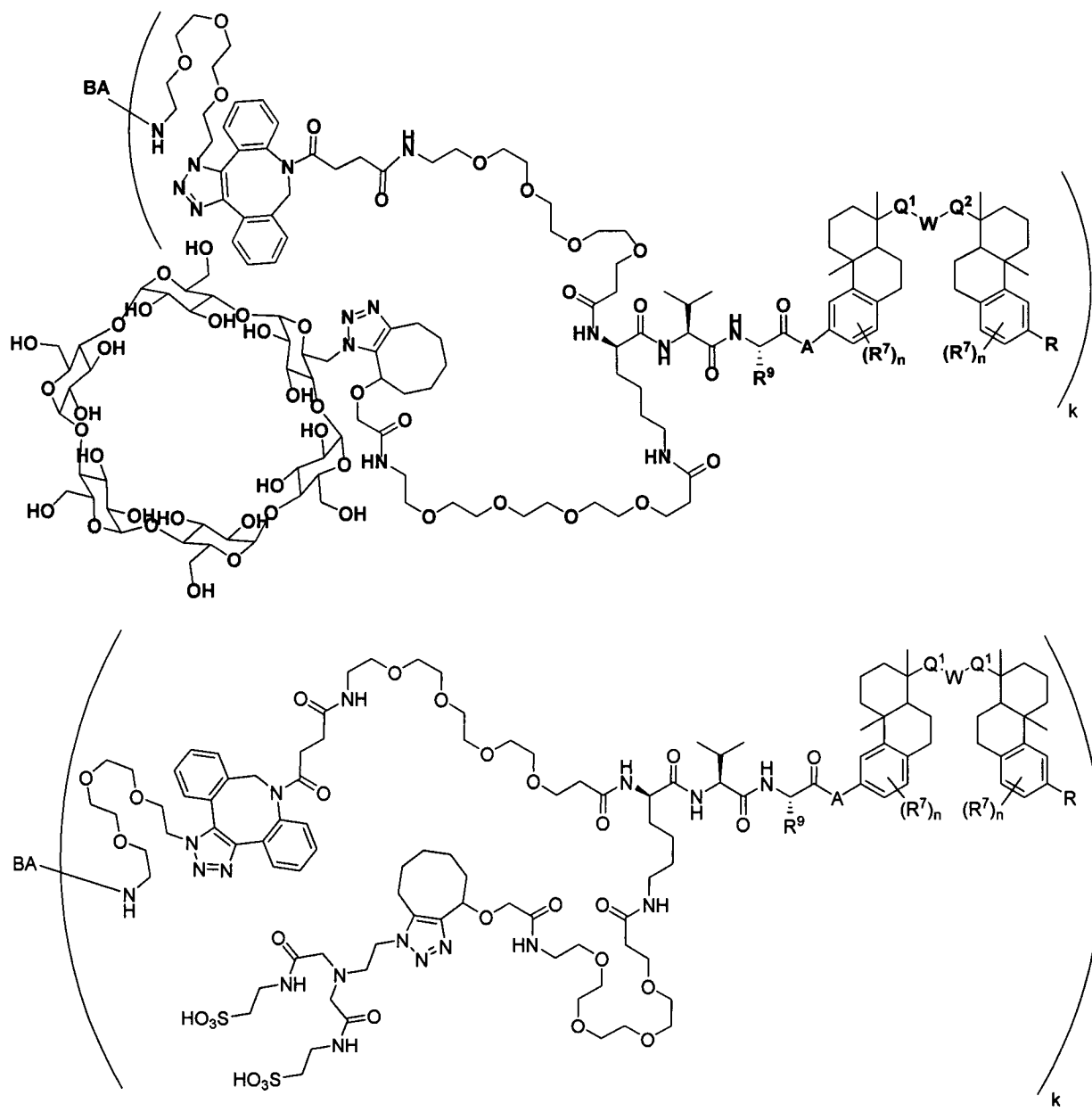
в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$,

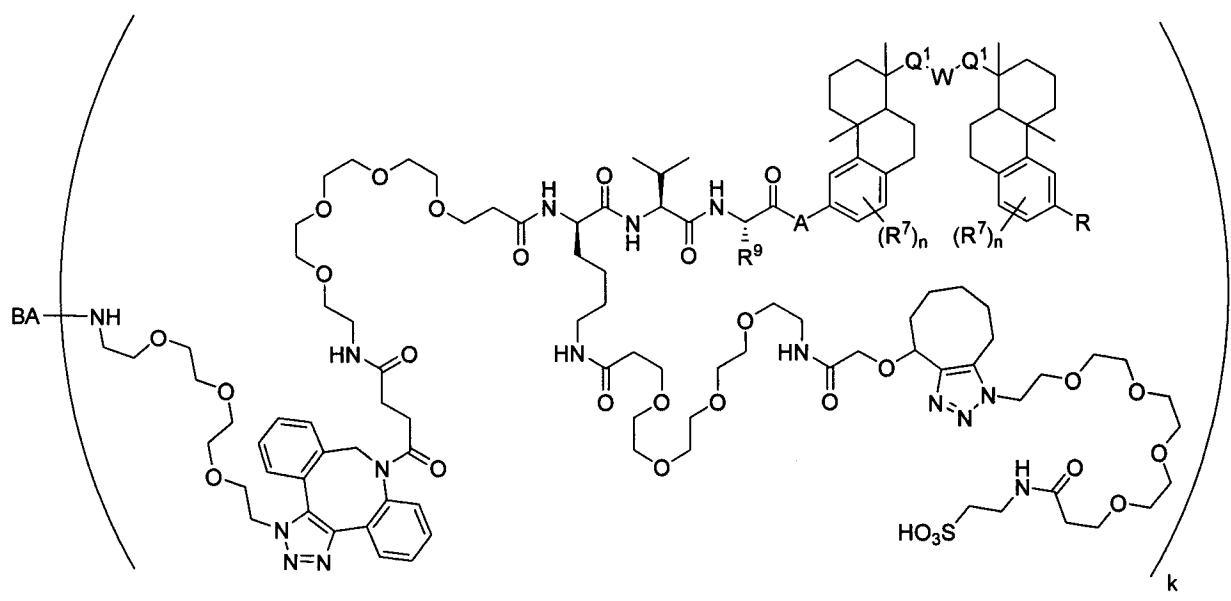
или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C₁₋₆ алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C₁₋₆ гетероалкил.

В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная

группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В некоторых вариантах осуществления усиливающей группой является алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота. Таким циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином, бета циклодекстрином или гамма циклодекстрином либо их смесью. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является альфа циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является бета циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин является гамма циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, или $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5, а m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкильная, гетероалкильная, алкиленильная или гетероалкиленильная сульфоновая кислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления R означает R^1 .

[00176] В некоторых вариантах осуществления таким конъюгатом является:





либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

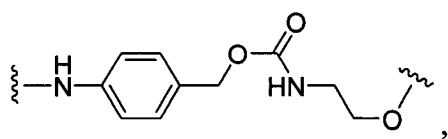
BA означает связывающий агент;

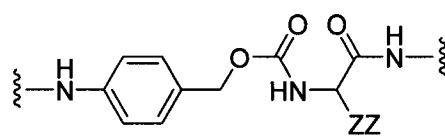
k является целым числом от 1 до 30;

R означает $-\text{H}$, R^1 , или R^2 ; и

Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R³**, **R⁴**, **R⁵**, **R⁶**, **R⁷**, **X**, **Y**, **Z** и **n** соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

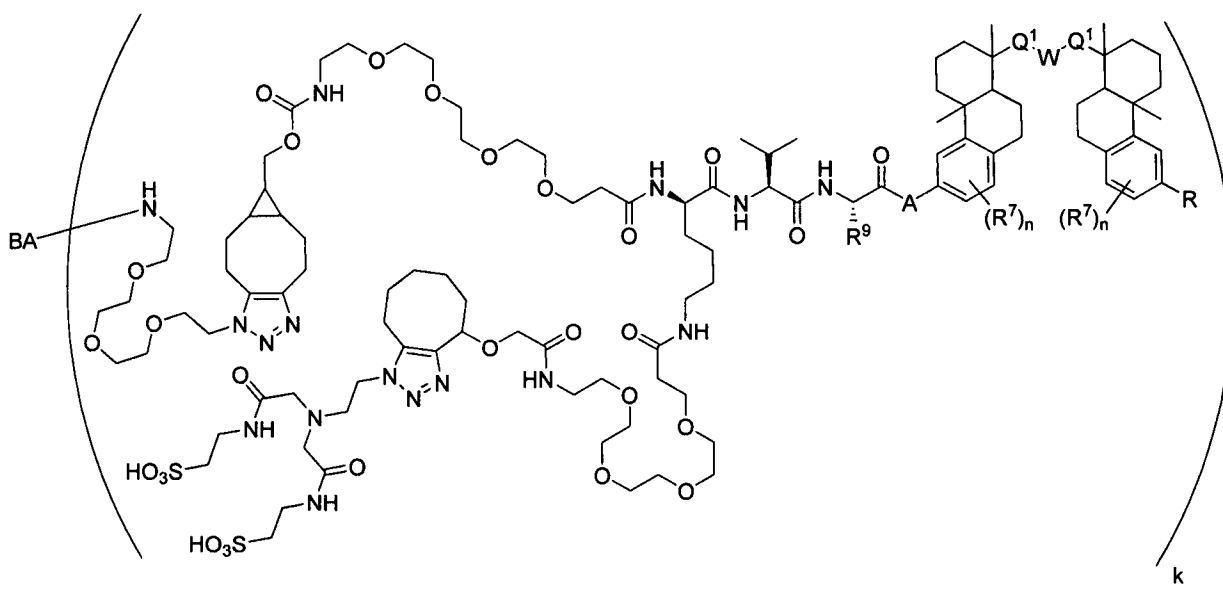
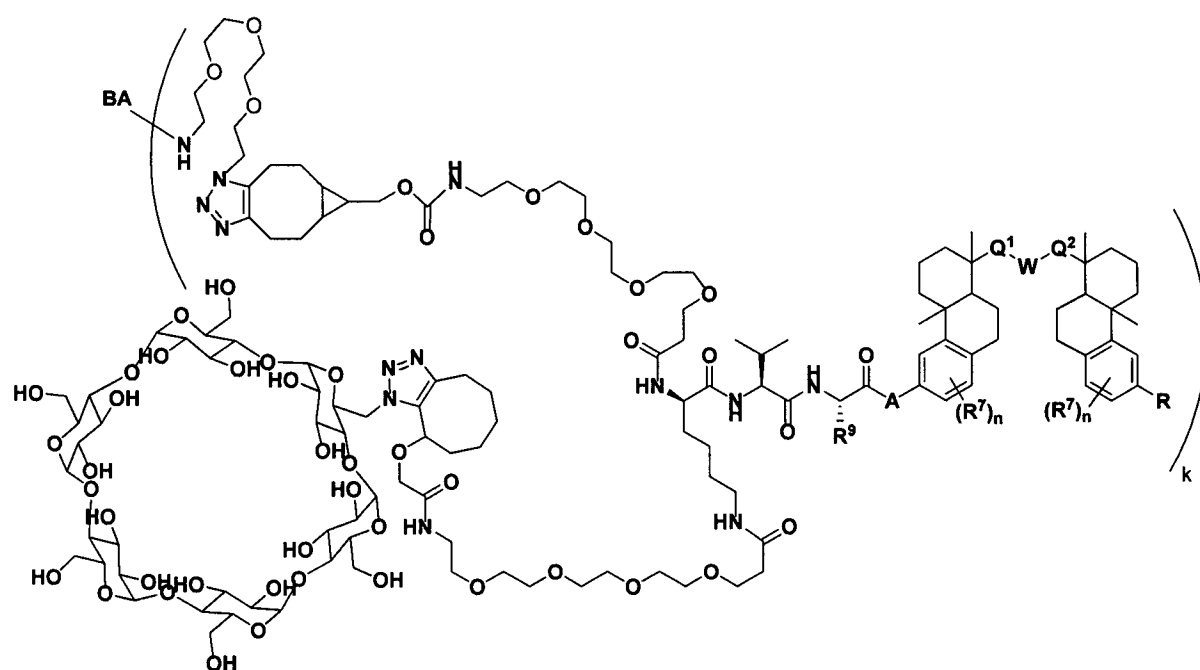
в каждом случае **R⁹** означает $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; и

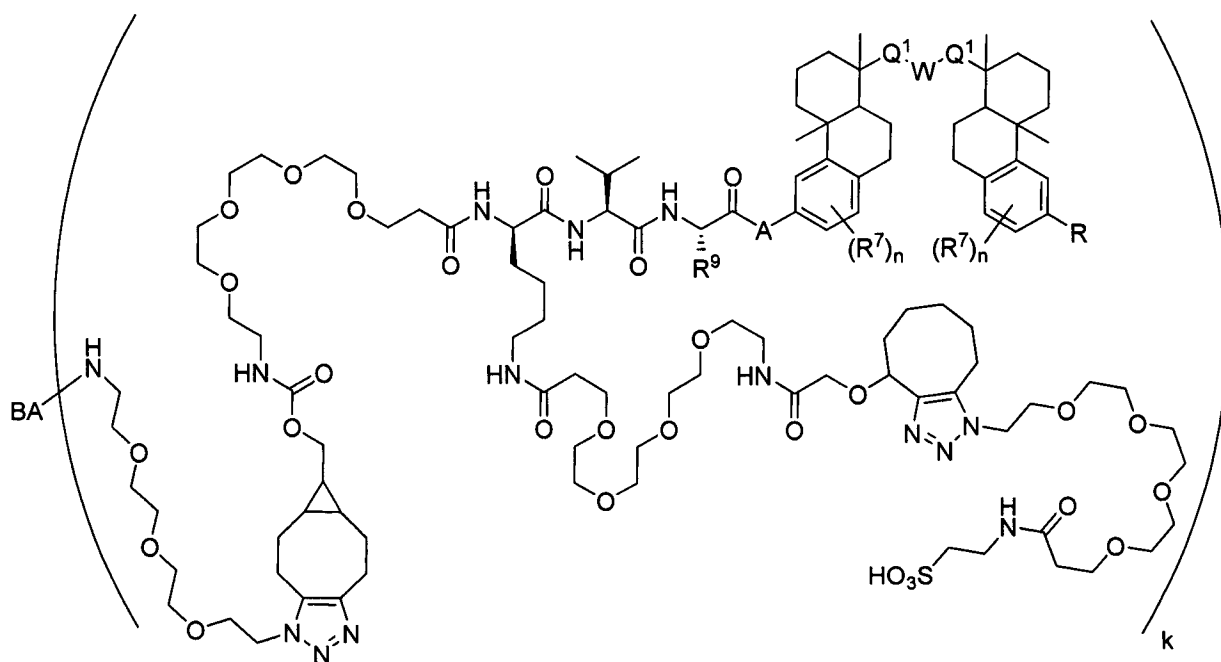
в каждом случае **A** означает $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$, ,
или

 , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления **R** означает **R¹**.

[00177] В некоторых вариантах осуществления таким конъюгатом является:





либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

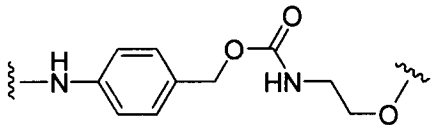
BA означает связывающий агент;

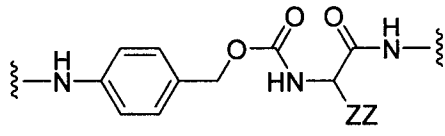
k является целым числом от 1 до 30;

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

Q¹, Q², W, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, X, Y, Z и **n** соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае **R⁹** означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$, , ,

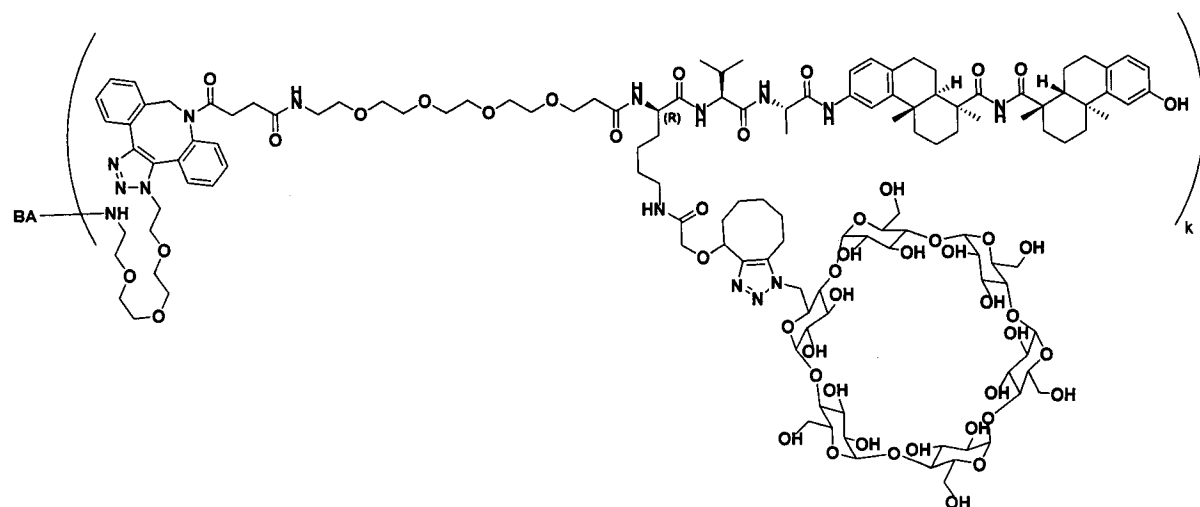
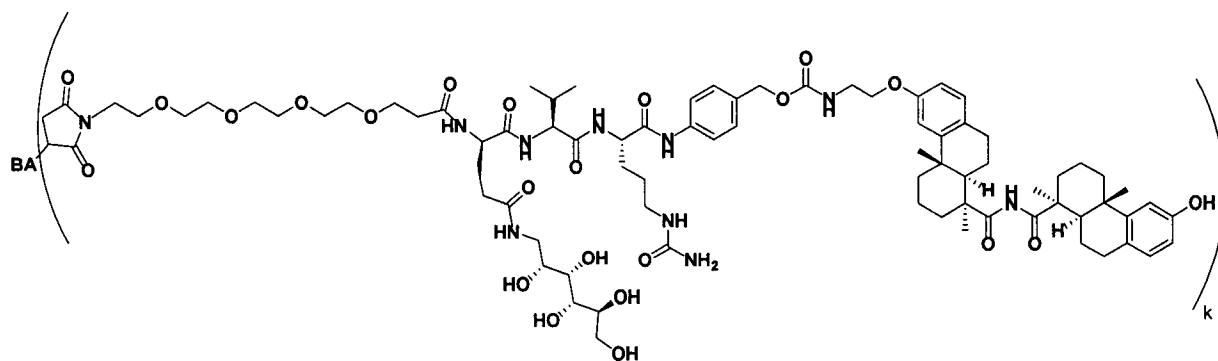
или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} гетероалкил.

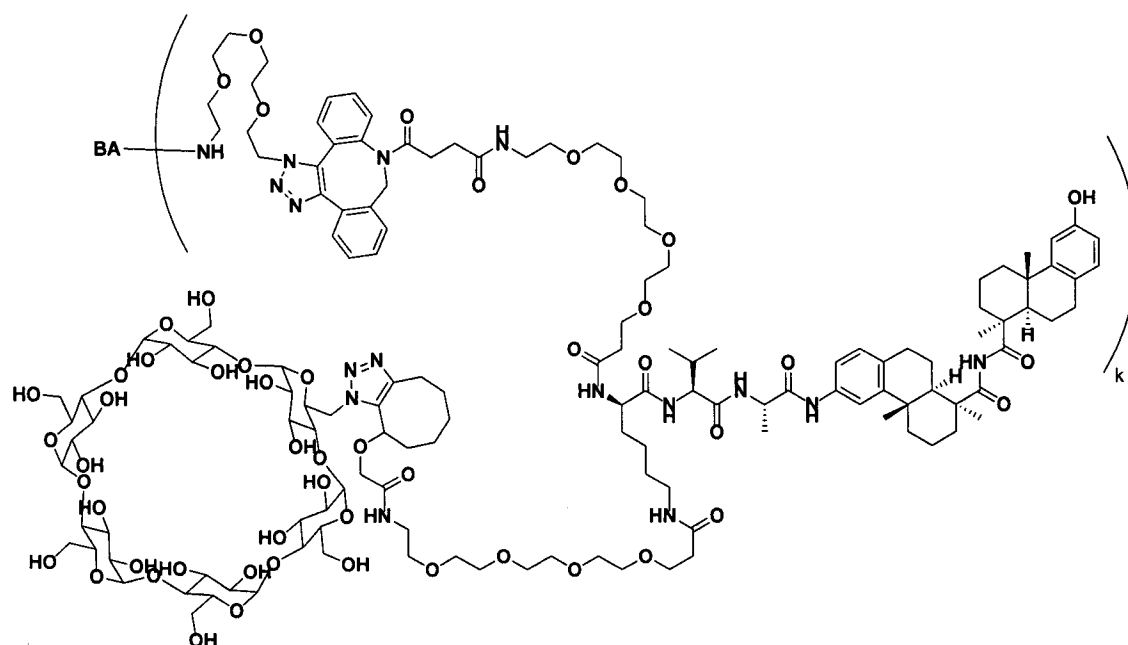
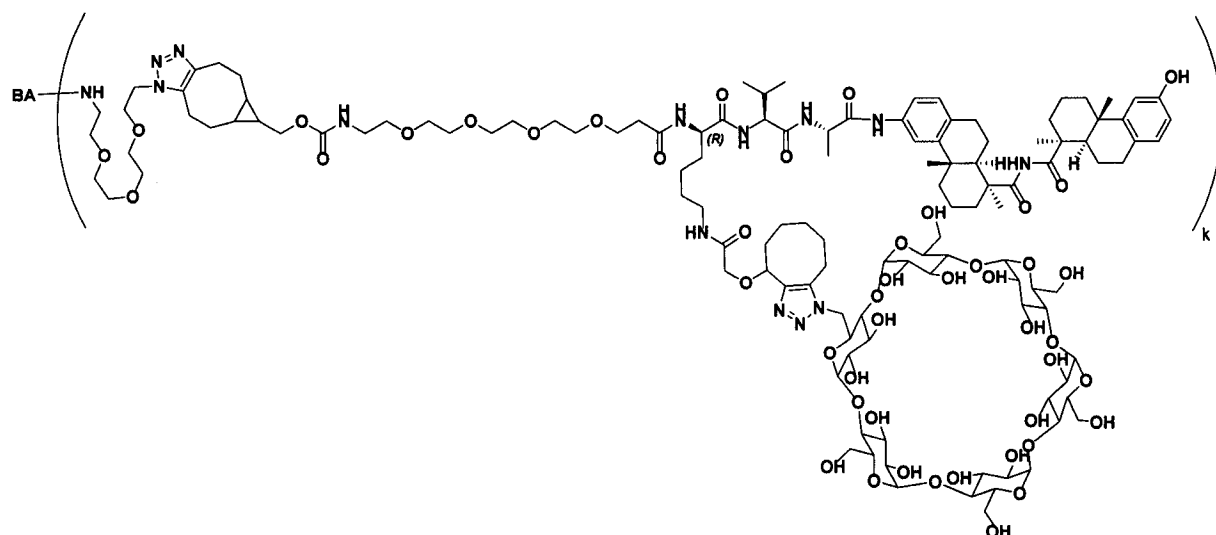
В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

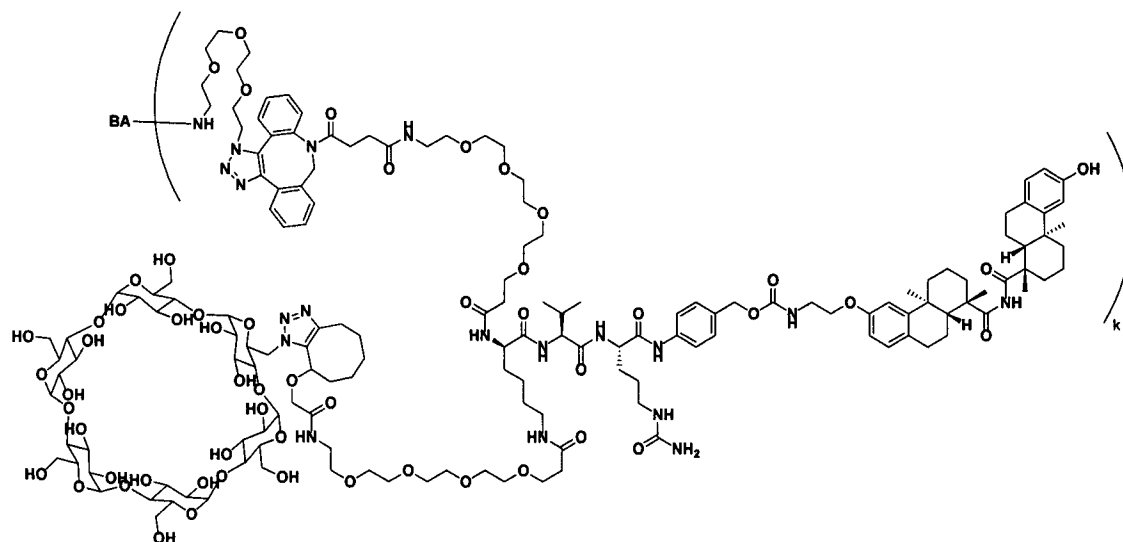
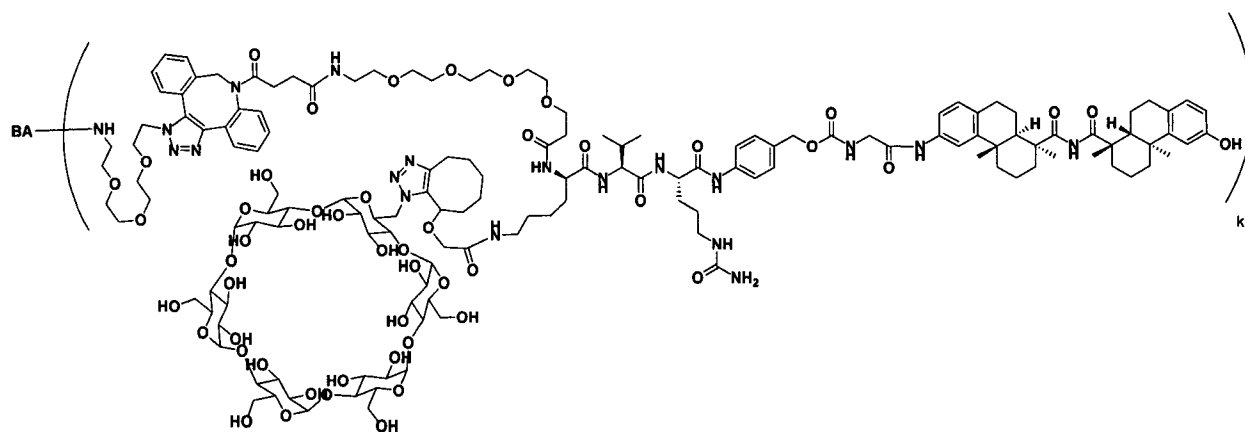
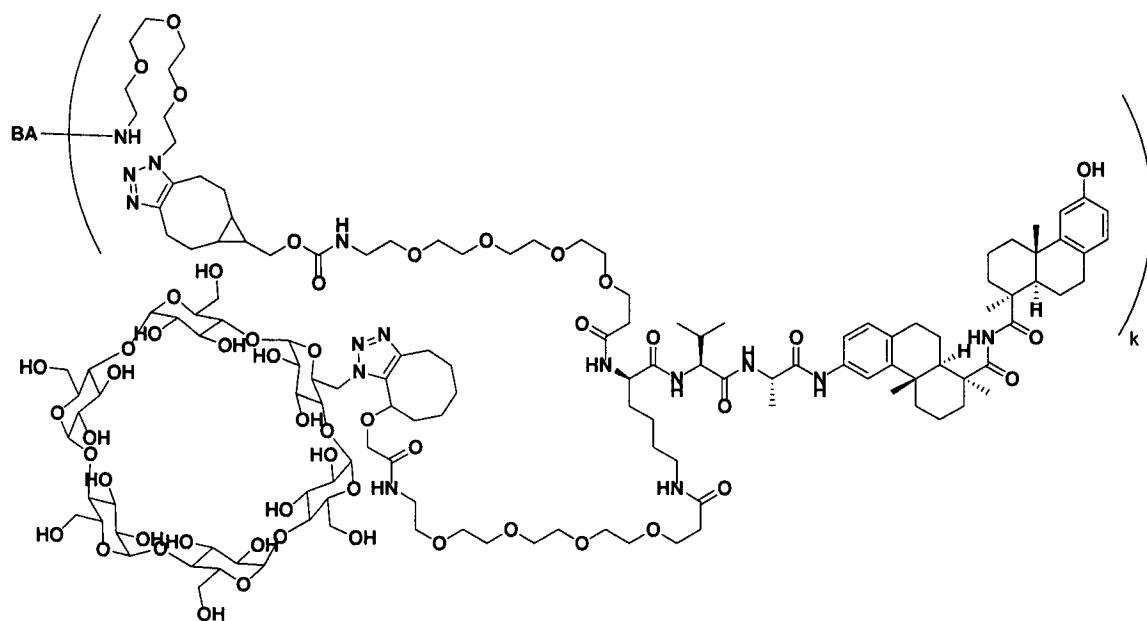
[00178] В каждом из выше приведенных вариантов осуществления конъюгаты могут быть приготовлены из связывающих агентов, функционализированных аزيدными

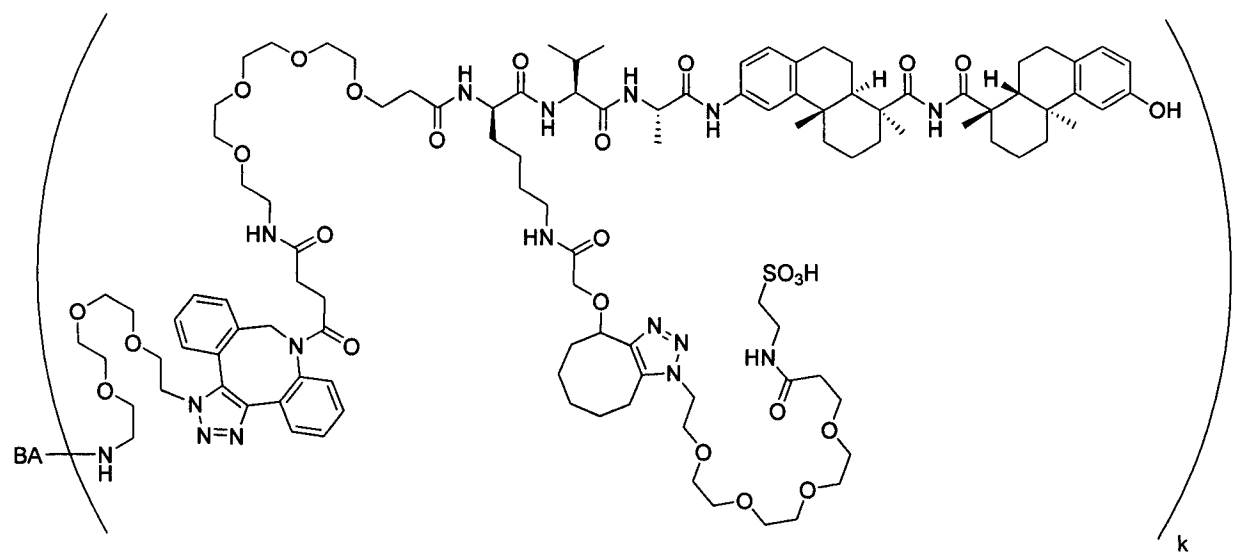
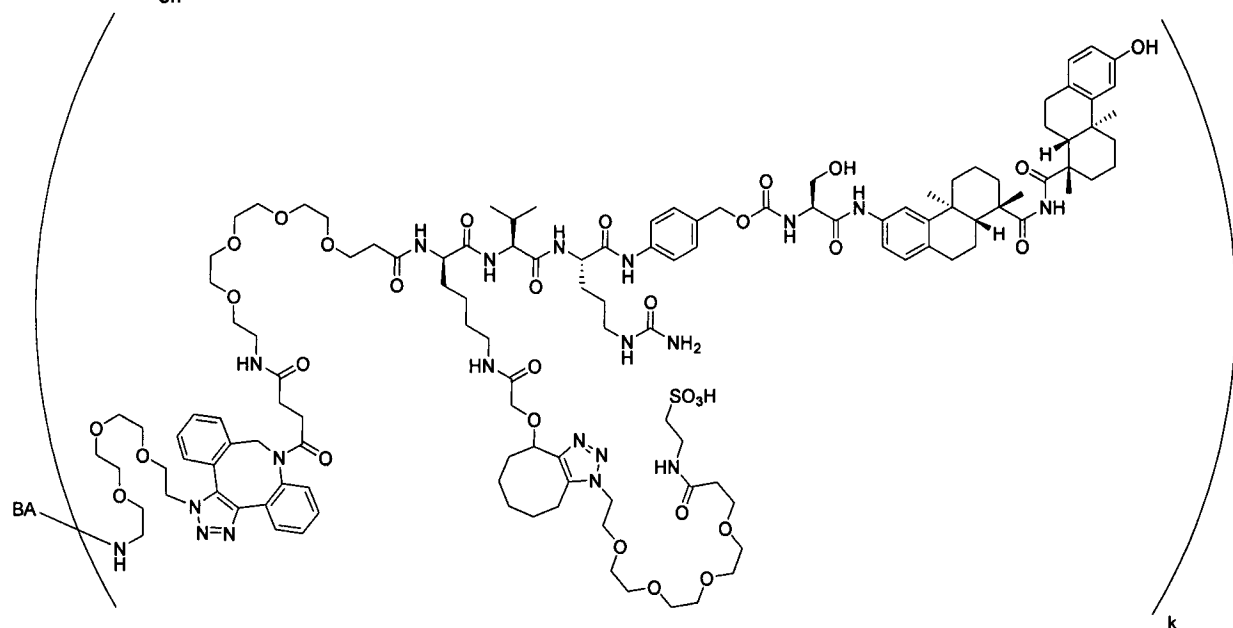
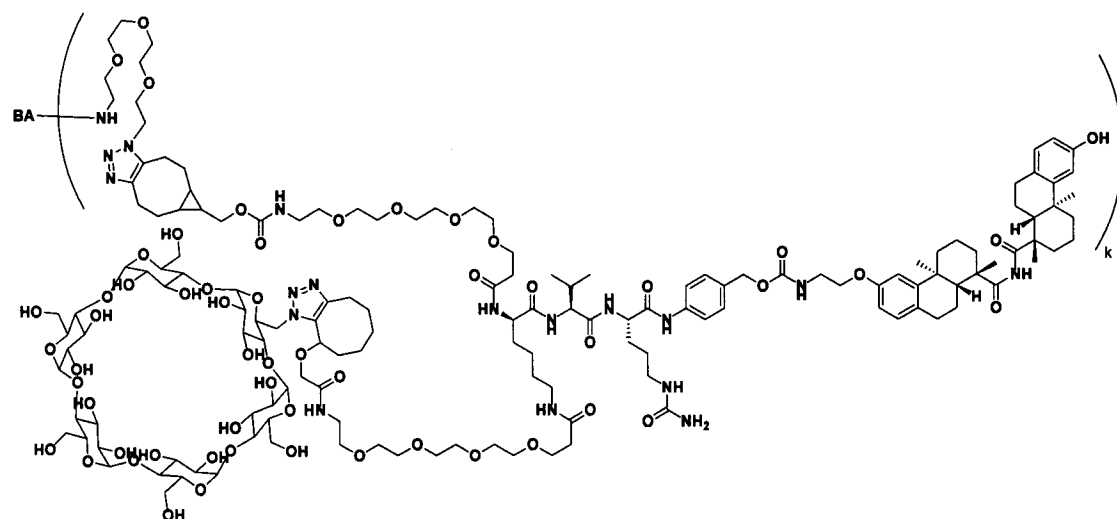
группами, и их остатков, что описано в следующих разделах. Для удобства триазольный остаток в нескольких выше указанных структурах берется в круглые скобки. Специалистам в данной области известно, что триазол может быть образован из азидной группы азид-derivатизированного связывающего агента и алкина линкера-нагрузки L-P.

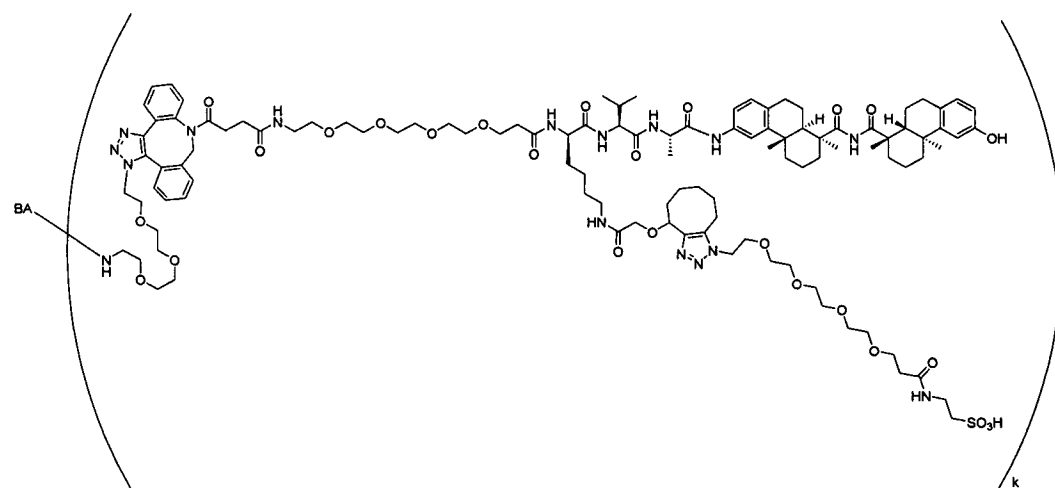
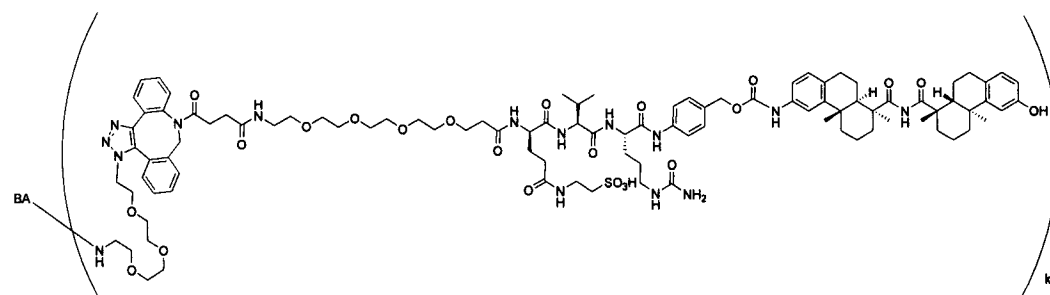
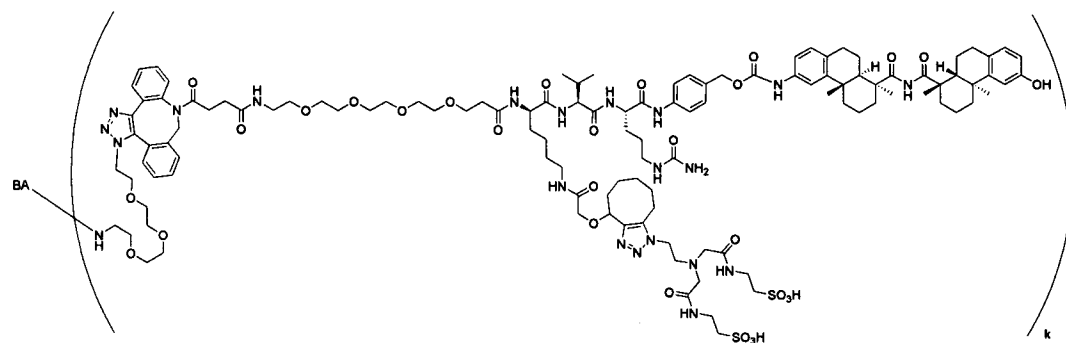
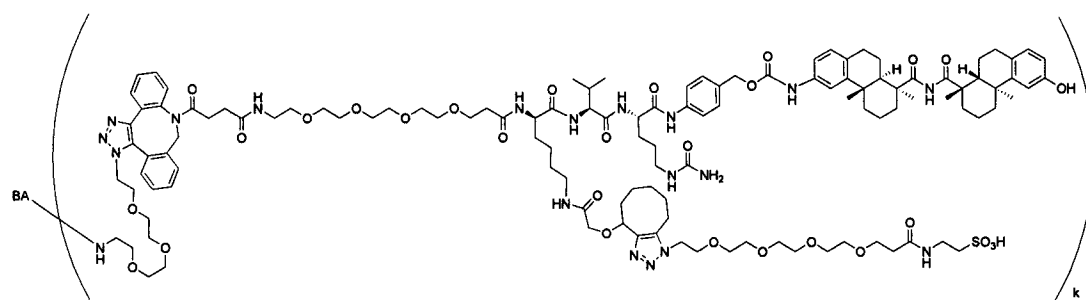
[00179] В некоторых вариантах осуществления конъюгат выбирается из:

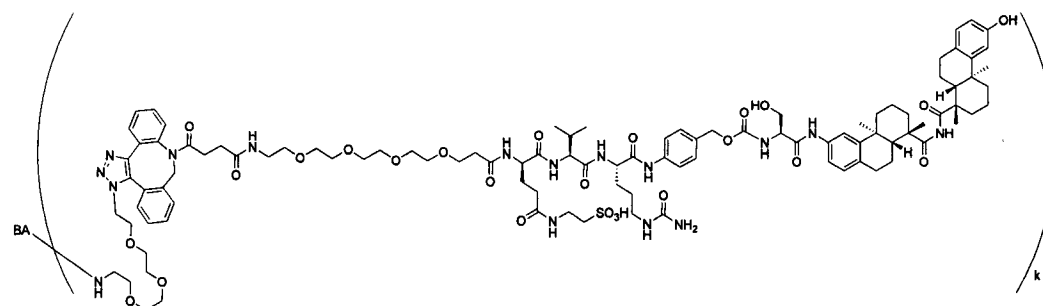
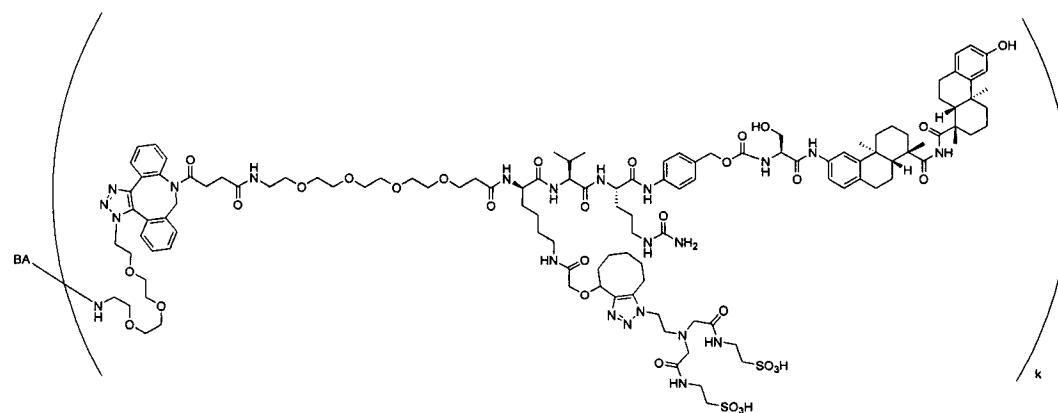
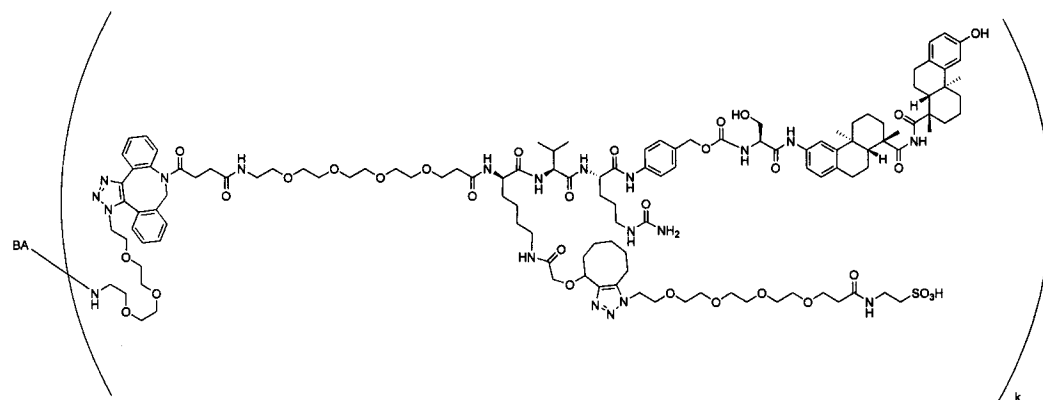
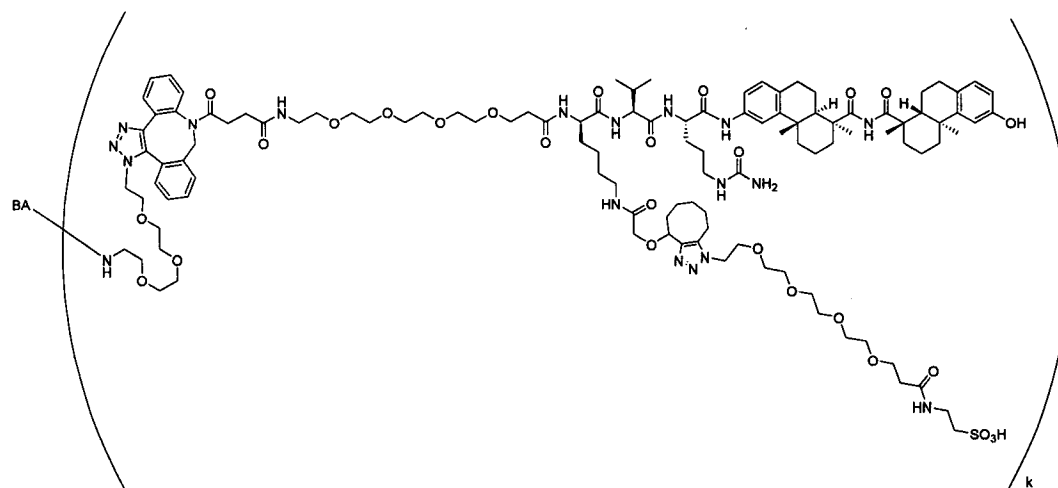


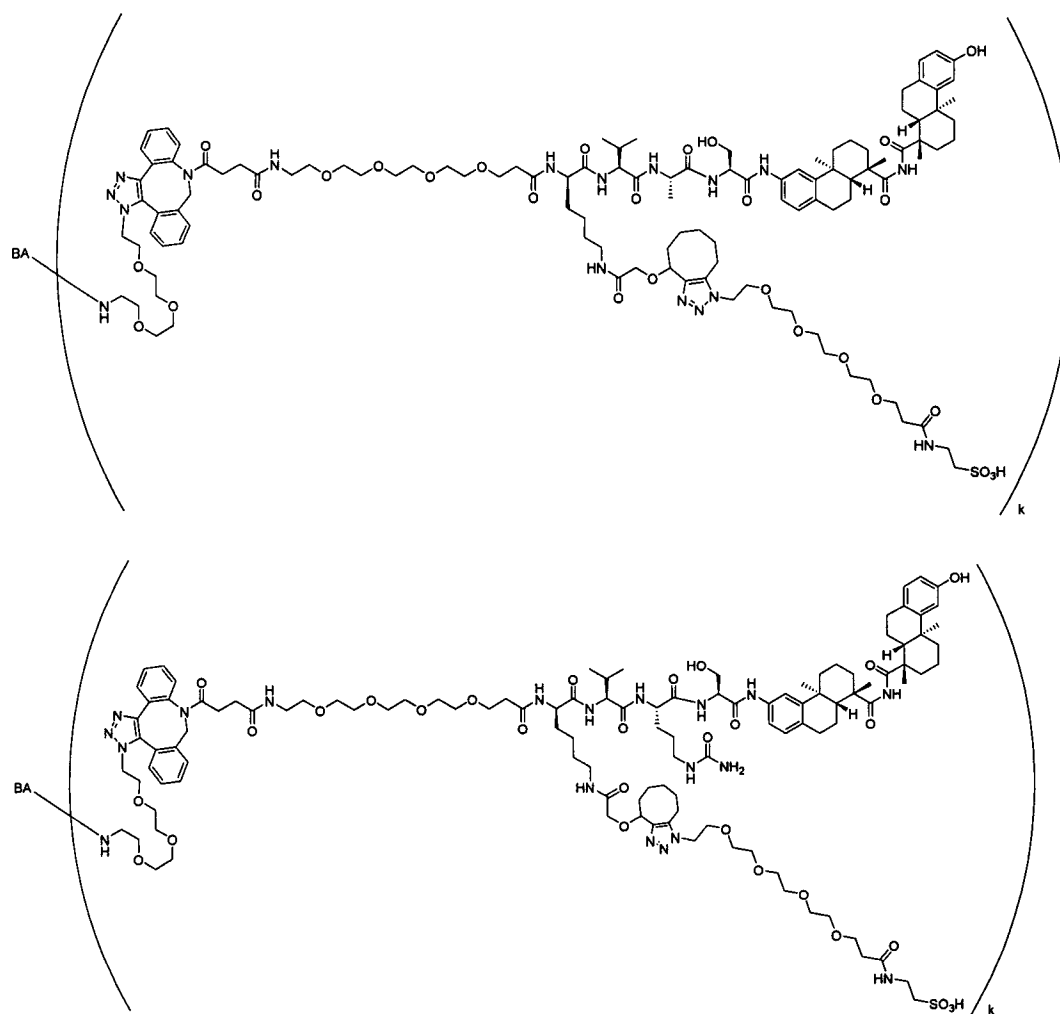












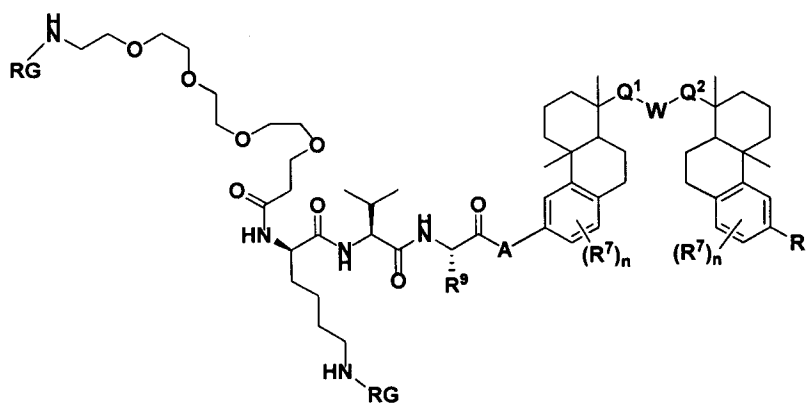
или региоизомера, или стереоизометрической формы его фармацевтически приемлемой соли, сольвата.

В выше приведенных вариантах осуществления k является целым числом от 1 до 30. В некоторых вариантах осуществления k является целым числом от 1 до 8. В некоторых вариантах осуществления k является целым числом от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления k равно 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1. В некоторых вариантах осуществления k равно 4. В некоторых вариантах осуществления k равно 3. В некоторых вариантах осуществления k равно 2. В некоторых вариантах осуществления k равно 1.

Реактивные линкер-нагрузки

[00180] Приведенные здесь конъюгаты могут быть приготовлены из реактивных линкер-нагрузок с реактивными группами **RG**, описанными выше. Реактивные линкер-нагрузки могут соединяться с усиливающими группами и/или связывающими агентами в соответствии с описанными далее способами.

[00181] В некоторых вариантах осуществления реактивной линкер-нагрузкой является:



либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, где:

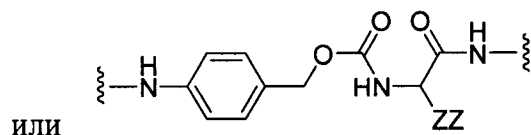
в каждом случае **RG** означает описанную в настоящем документе реактивную группу;

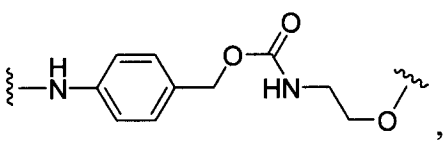
R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

Q^1 , Q^2 , **W**, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , **X**, **Y**, **Z** и **n** соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае R^9 означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

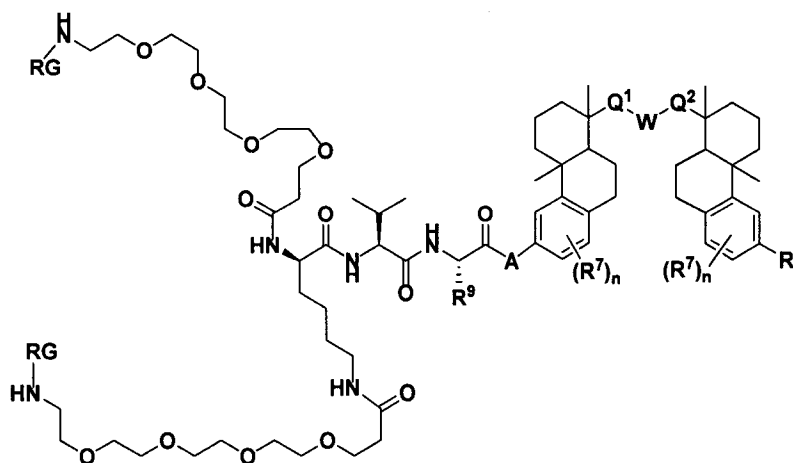
в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$,



или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

[00182] В некоторых вариантах осуществления реактивной линкер-нагрузкой является:



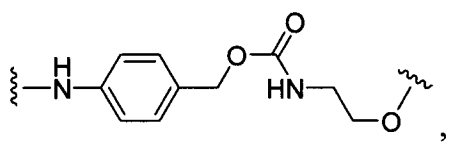
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, где:

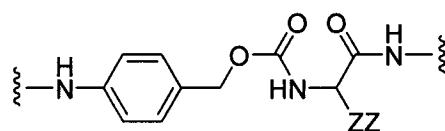
в каждом случае **RG** означает описанную в настоящем документе реактивную группу;

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

Q^1 , Q^2 , **W**, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , **X**, **Y**, **Z** и **n** соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

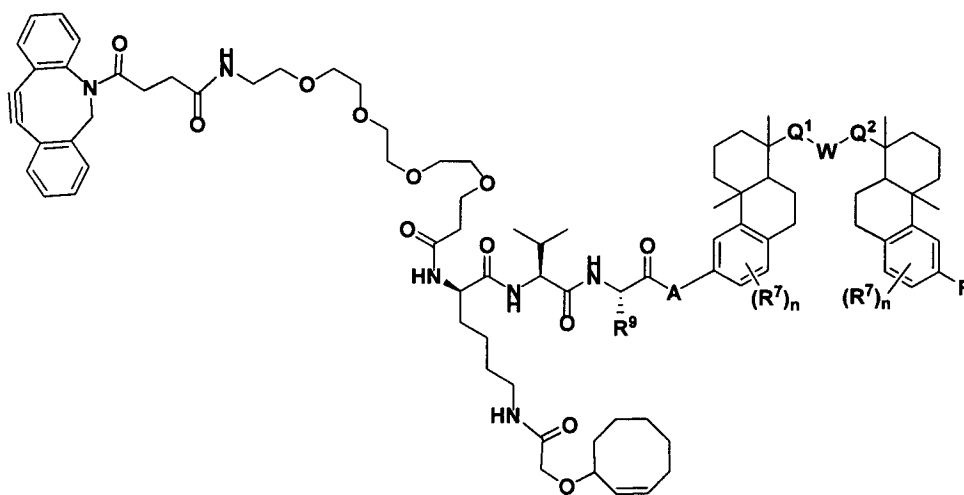
в каждом случае R^9 означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$, ,

или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

[00183] В некоторых вариантах осуществления реактивной линкер-нагрузкой является:



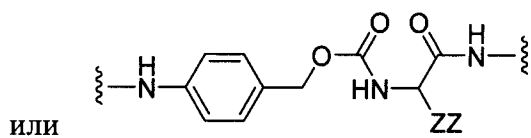
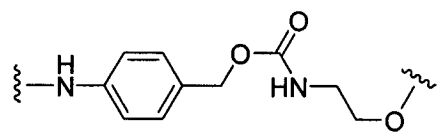
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, где:

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , X , Y , Z и n соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае R^9 означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

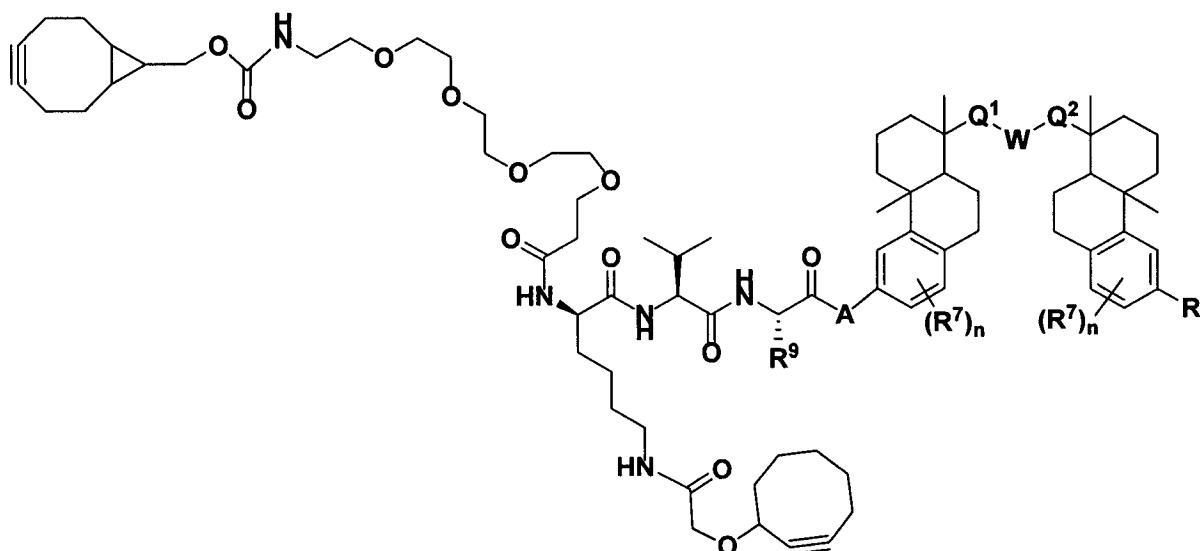
в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$,



, где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

[00184] В некоторых вариантах осуществления реактивной линкер-нагрузкой является:

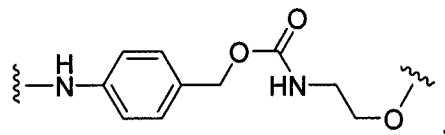


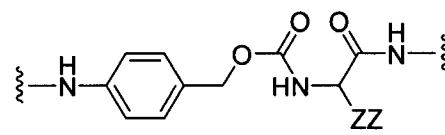
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

Q^1 , Q^2 , **W**, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , **X**, **Y**, **Z** и **n** соответствуют описаниям в
контексте Формулы I;

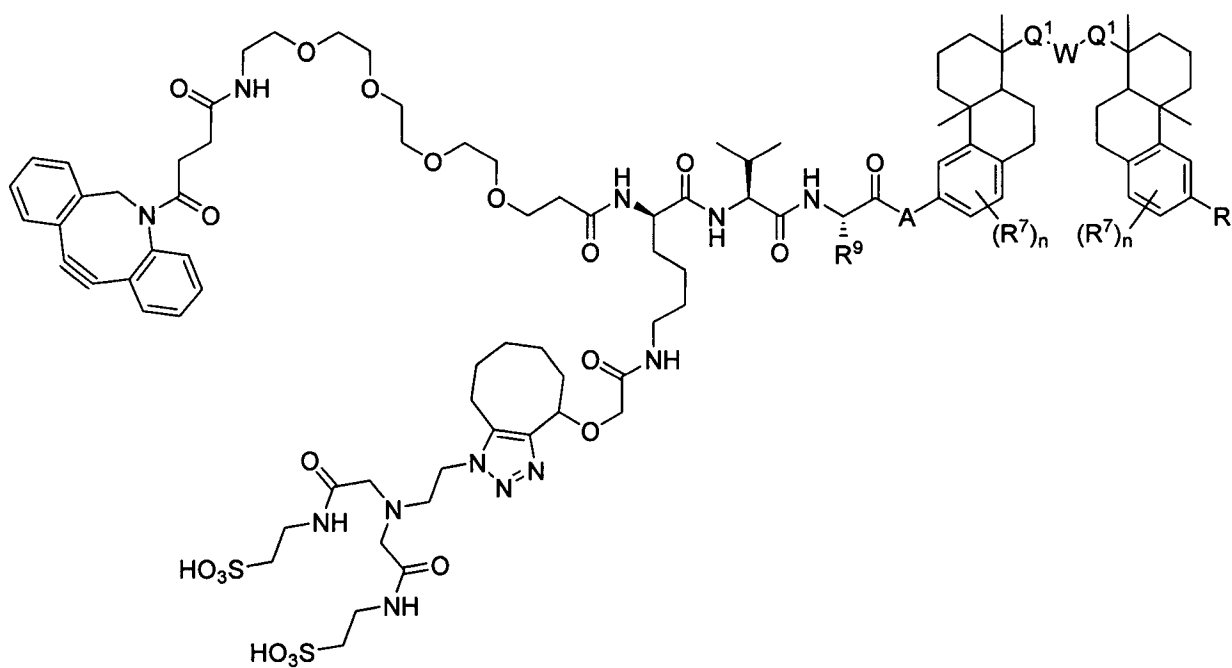
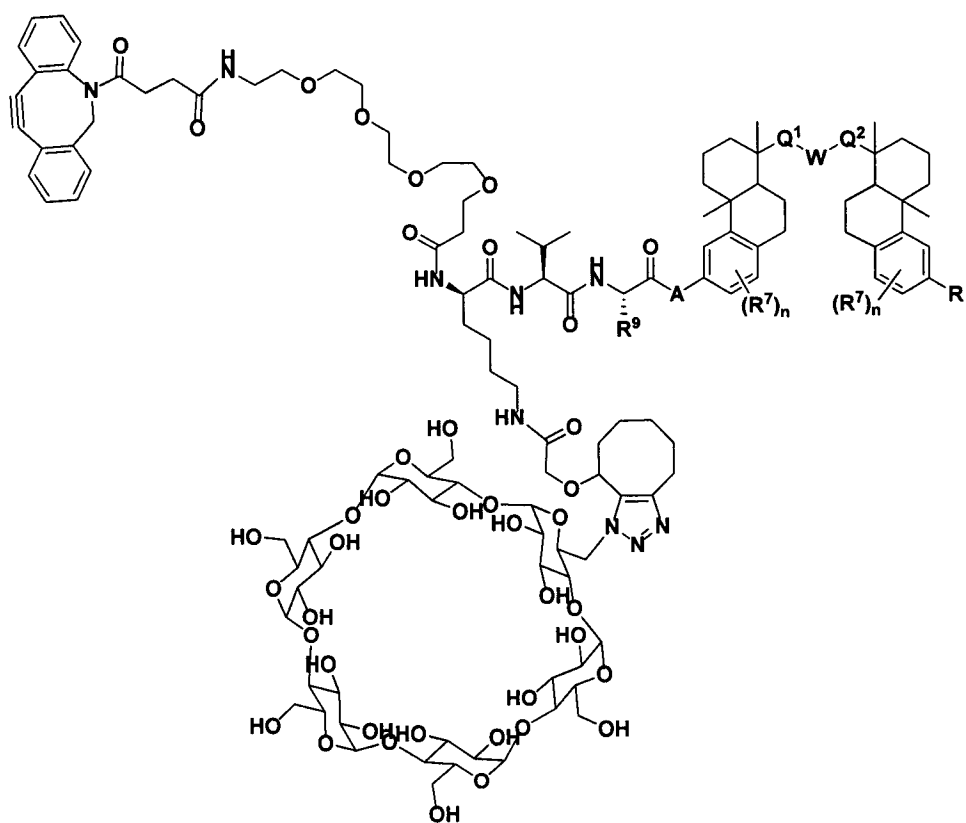
в каждом случае R^9 означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

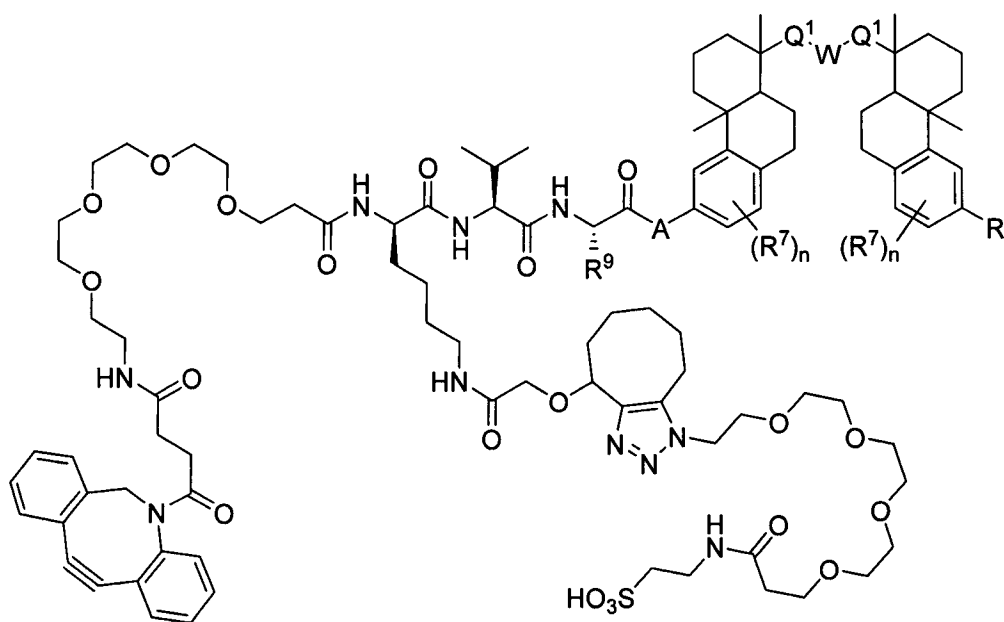
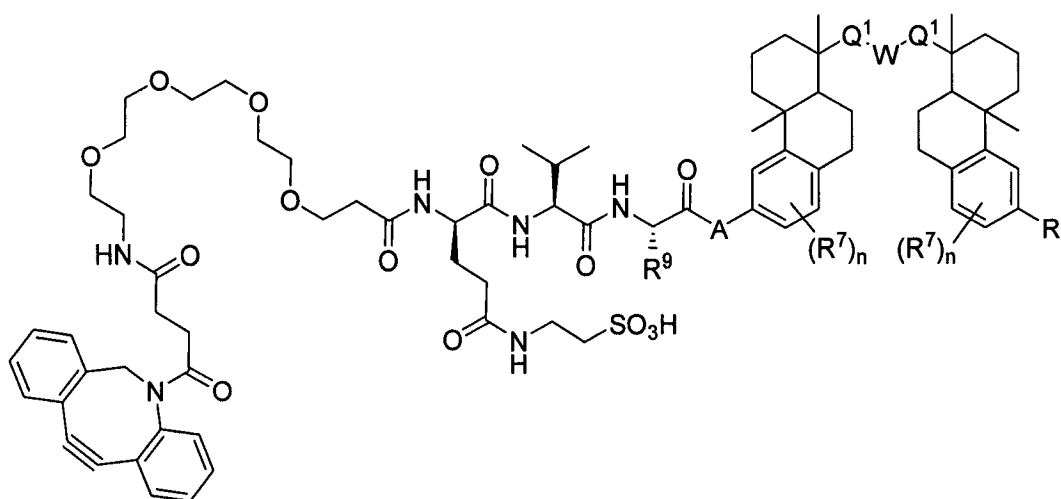
в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$, ,

или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для
аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте
осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ**
означает C_{1-6} гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

[00185] В некоторых вариантах осуществления реактивной линкер-нагрузкой является:





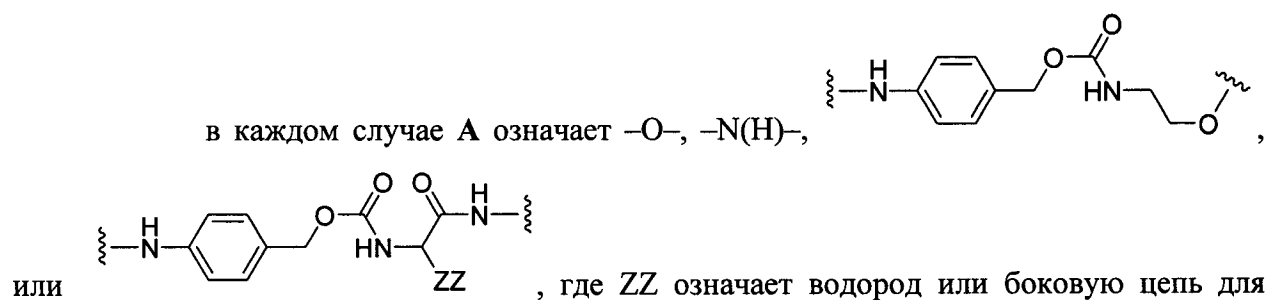
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

R означает -H, **R**¹, или **R**²; и

Q¹, **Q**², **W**, **R**¹, **R**², **R**³, **R**⁴, **R**⁵, **R**⁶, **R**⁷, **X**, **Y**, **Z** и **n** соответствуют описаниям в
контексте Формулы I;

в каждом случае **R**⁹ означает -CH₃ или -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; и

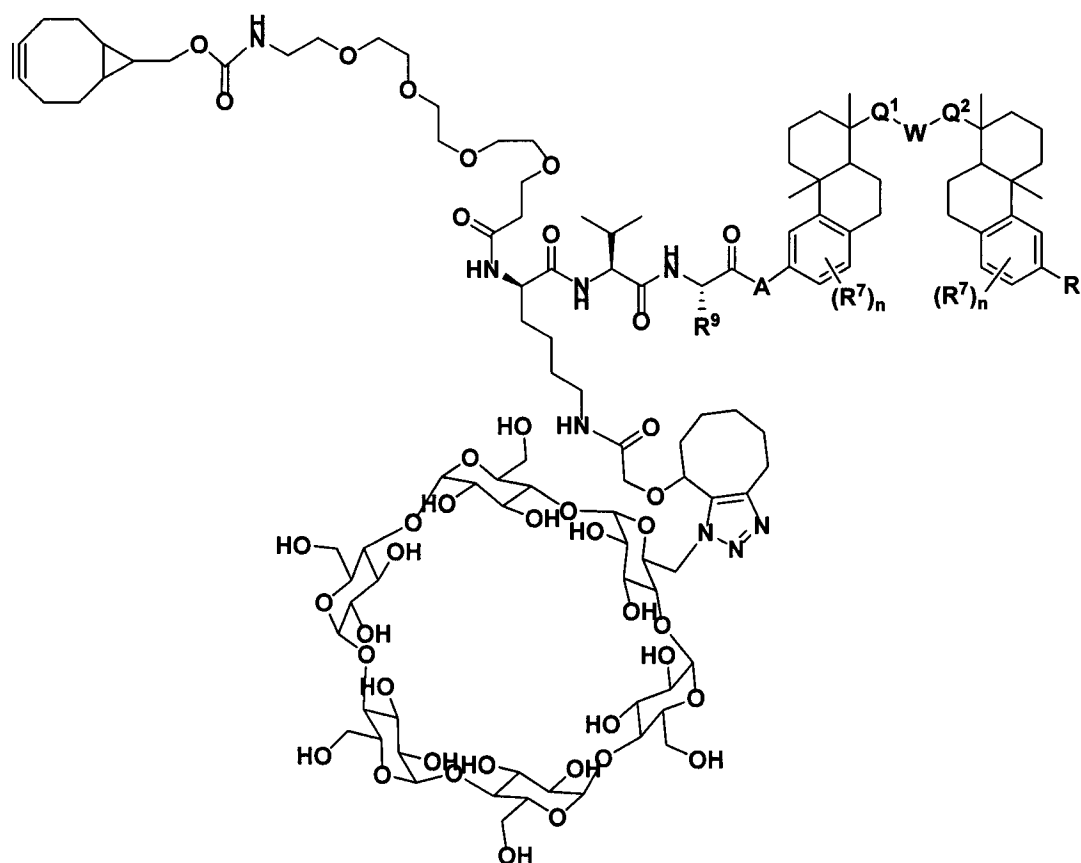
в каждом случае **A** означает -O-, -N(H)-,

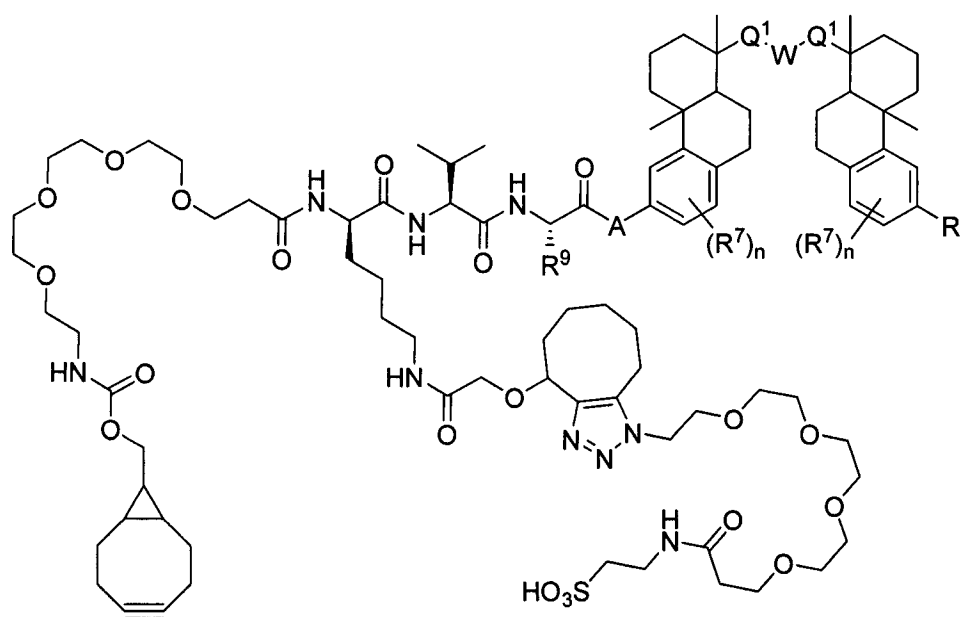
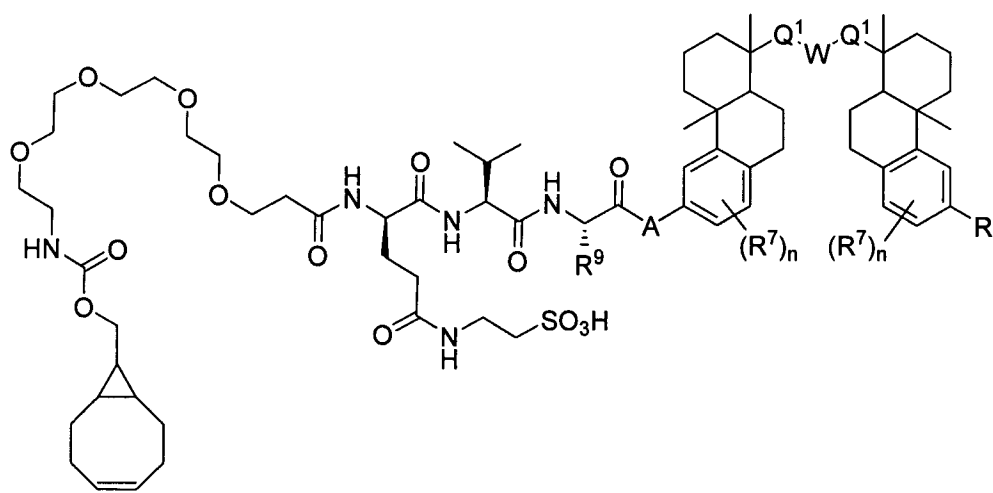
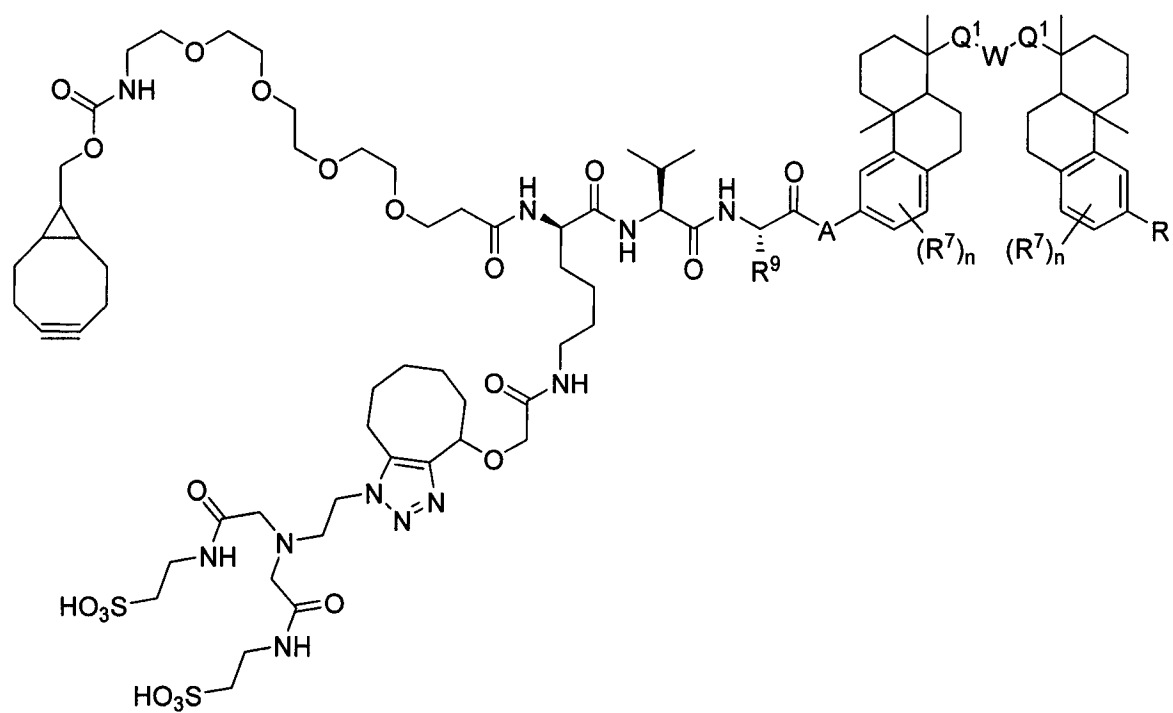


аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления *ZZ* означает C₁₋₆ алкил. Например, в одном варианте осуществления *ZZ* означает C₁₋₆ гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления *R* означает *R*¹.

[00186] В некоторых вариантах осуществления реактивной линкер-нагрузкой является:



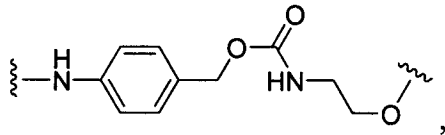
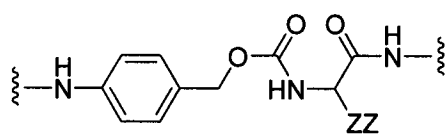


либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

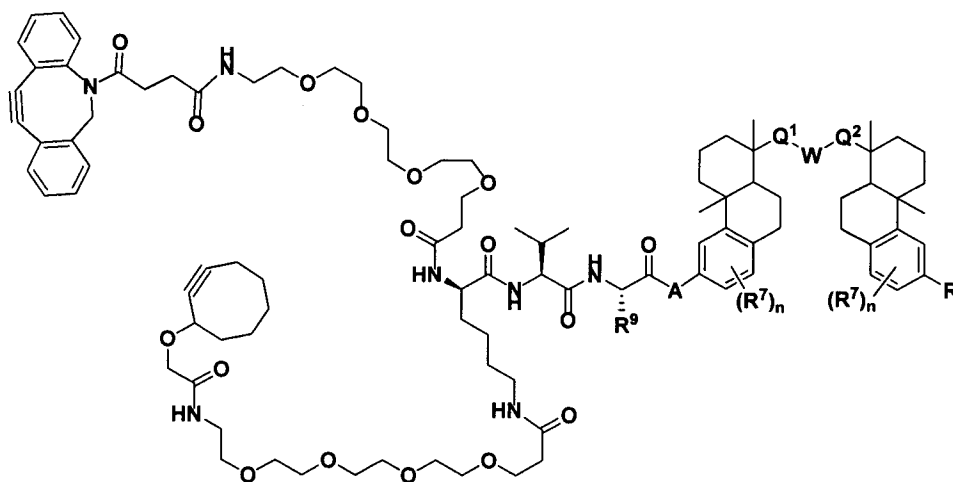
Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , X , Y , Z и n соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае R^9 означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$, ,
или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ** означает C_{1-6} гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

[00187] В некоторых вариантах осуществления реактивной линкер-нагрузкой является:



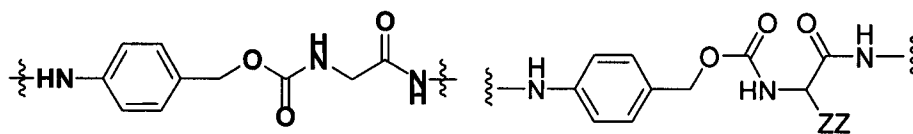
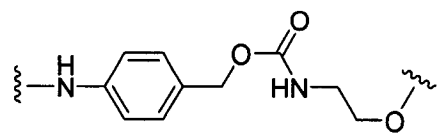
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

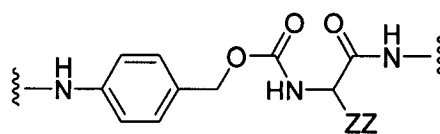
Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , X , Y , Z и n соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае R^9 означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

в каждом случае A означает $-O-$, $-N(H)-$,



или

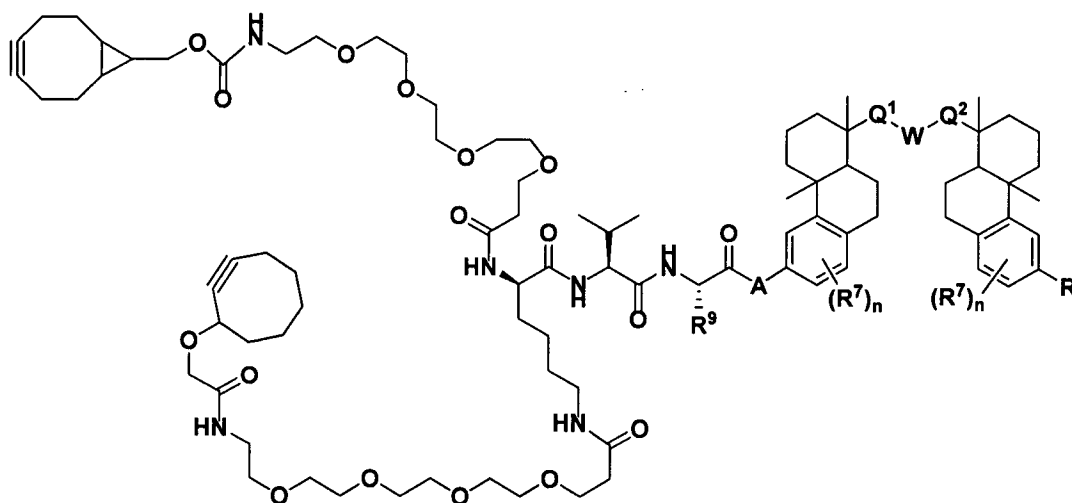


, где ZZ означает

водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления R означает R^1 .

[00188] В некоторых вариантах осуществления реактивной линкер-нагрузкой является:



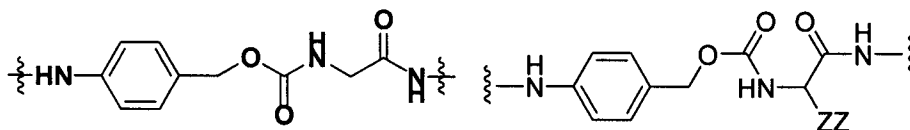
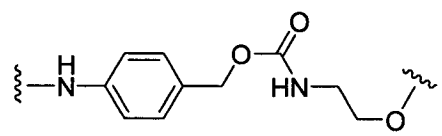
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, где:

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

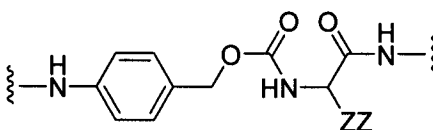
Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , X , Y , Z и n соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

в каждом случае R^9 означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

в каждом случае A означает $-O-$, $-N(H)-$,



или

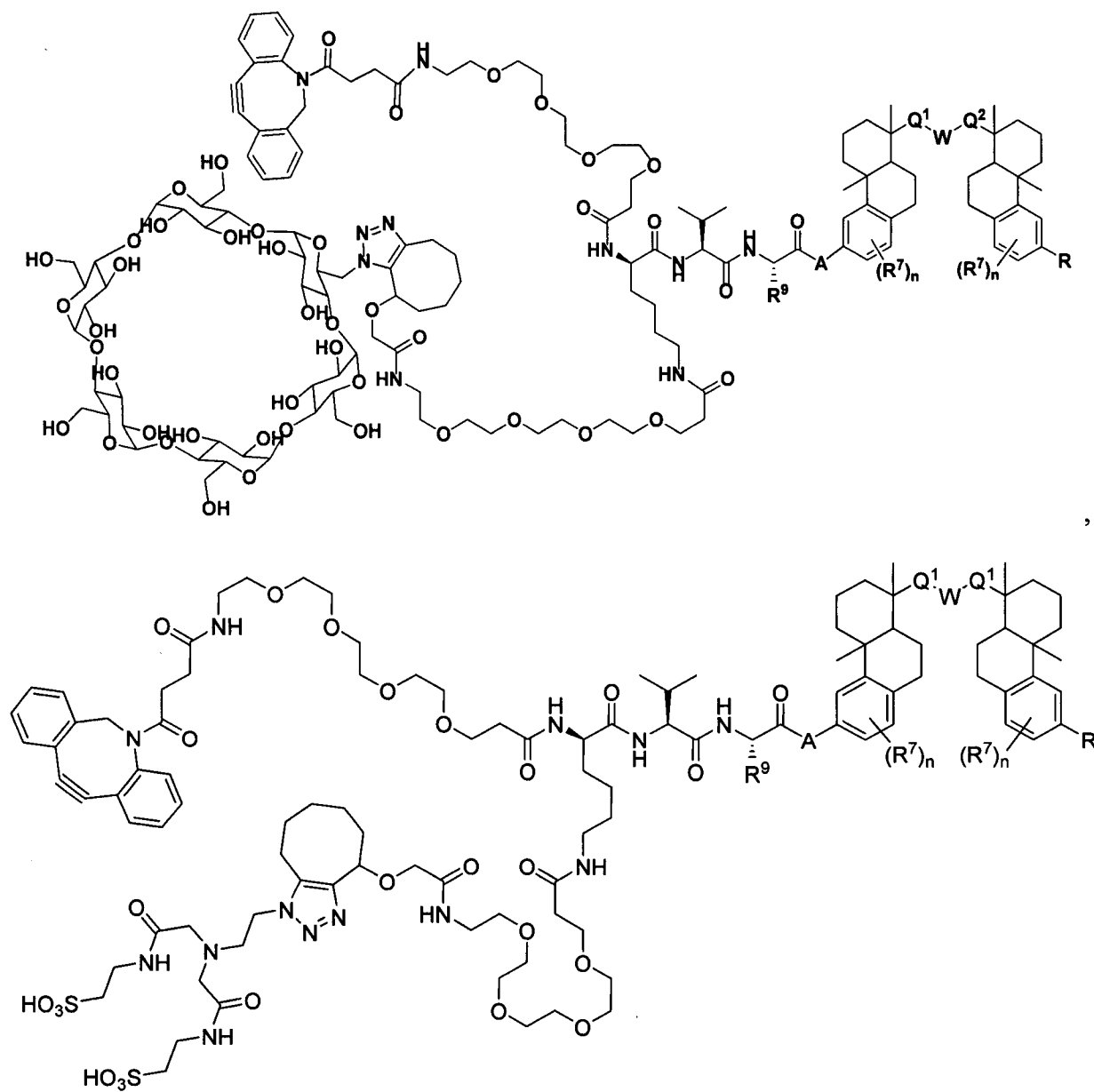


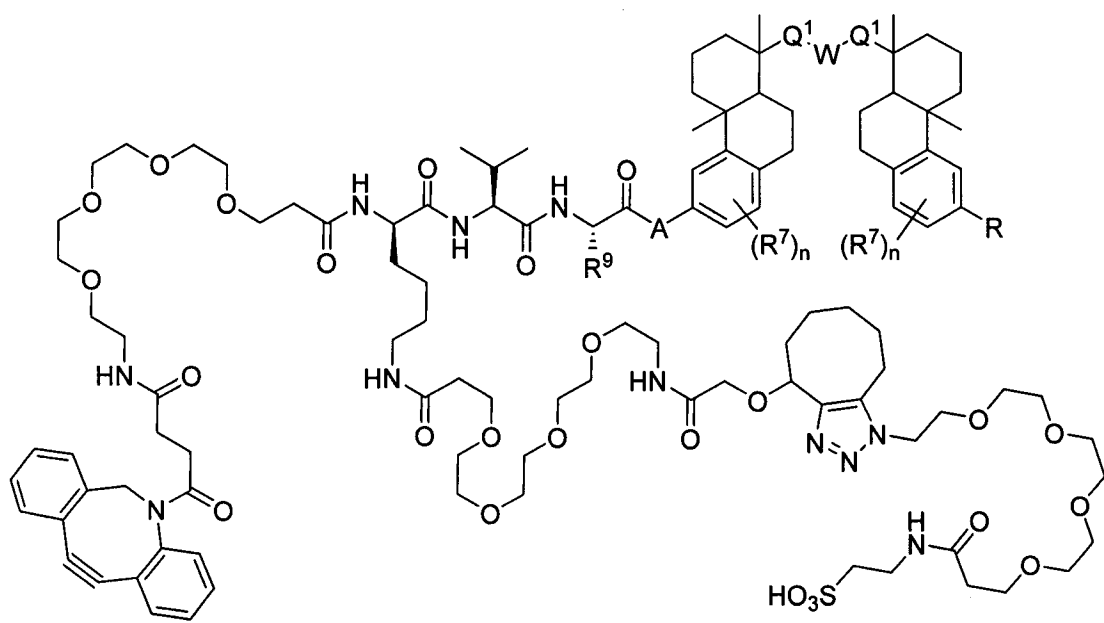
, где ZZ означает

водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C₁₋₆ алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C₁₋₆ гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления R означает R¹.

[00189] В некоторых вариантах осуществления реактивной линкер-нагрузкой является:



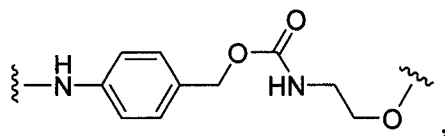
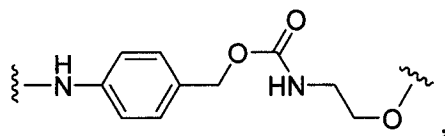


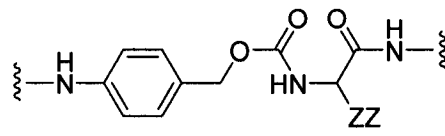
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма
либо его региоизомер, где:

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R³**, **R⁴**, **R⁵**, **R⁶**, **R⁷**, **X**, **Y**, **Z** и **n** соответствуют описаниям в
контексте Формулы I;

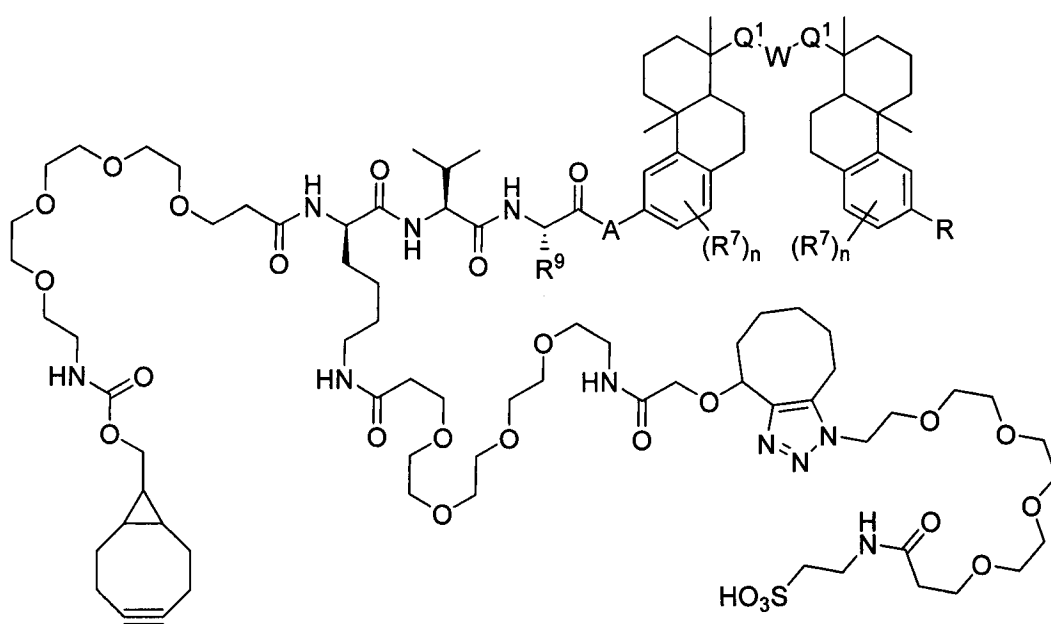
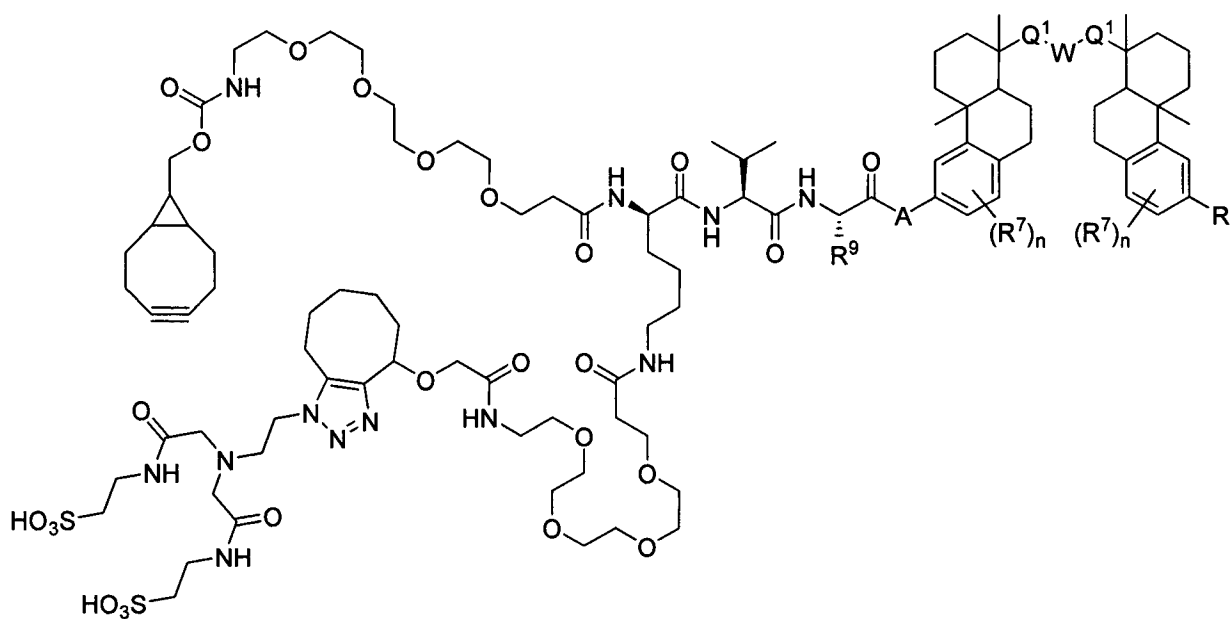
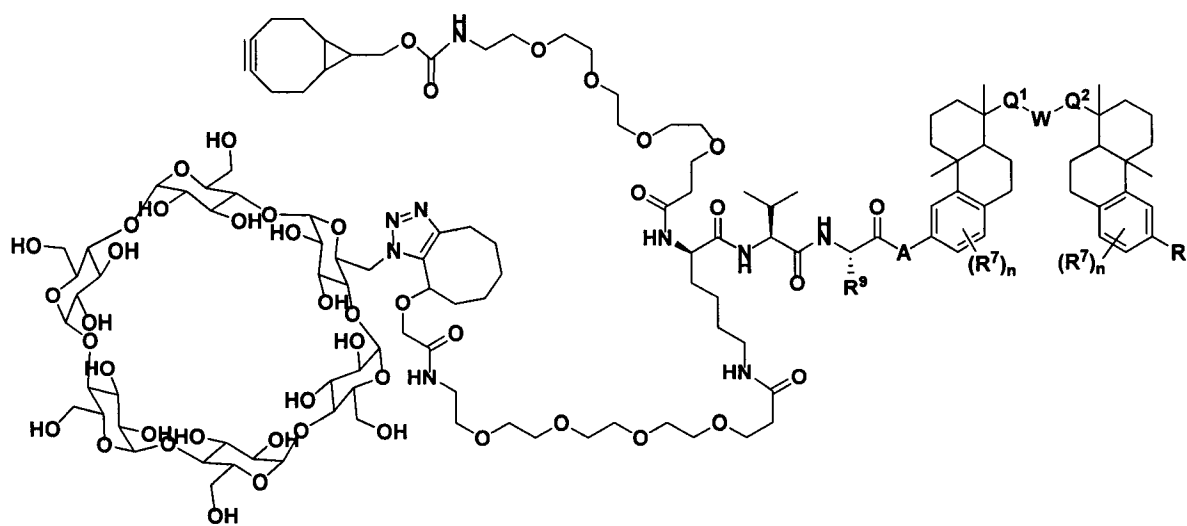
в каждом случае **R⁹** означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$, , ,

или , где **ZZ** означает водород или боковую цепь для
аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте
осуществления **ZZ** означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления **ZZ**
означает C_{1-6} гетероалкил.

В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

[00190] В некоторых вариантах осуществления реактивной линкер-нагрузкой является:



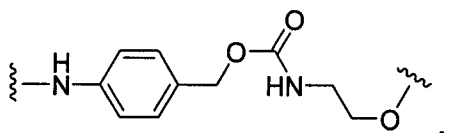
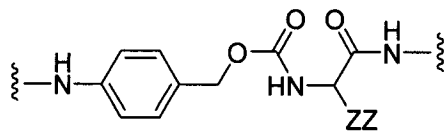
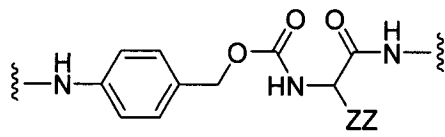
либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма

либо его региоизомер, где:

R означает $-H$, R^1 , или R^2 ; и

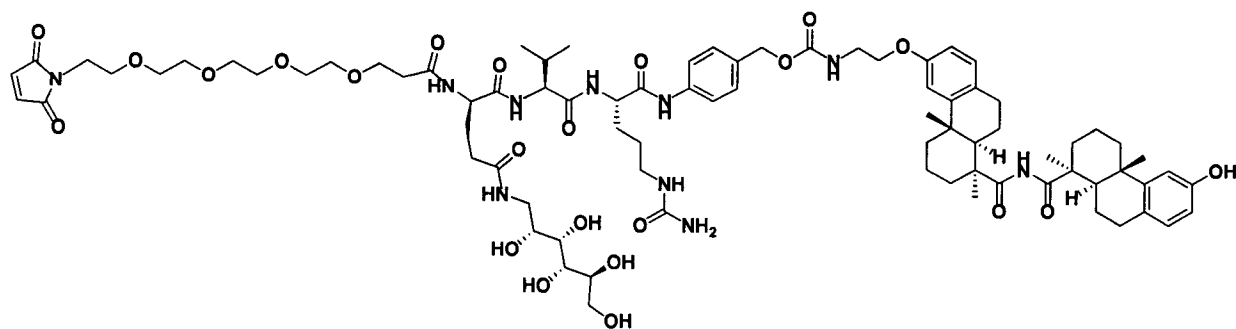
Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , X , Y , Z и n соответствуют описаниям в контексте Формулы I;

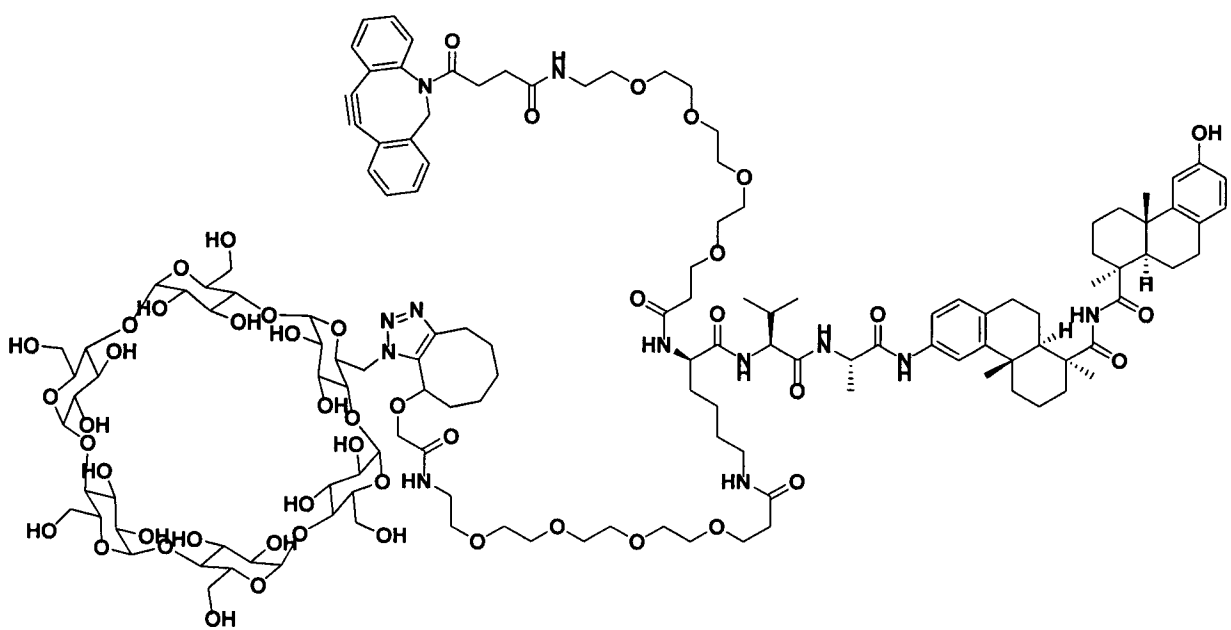
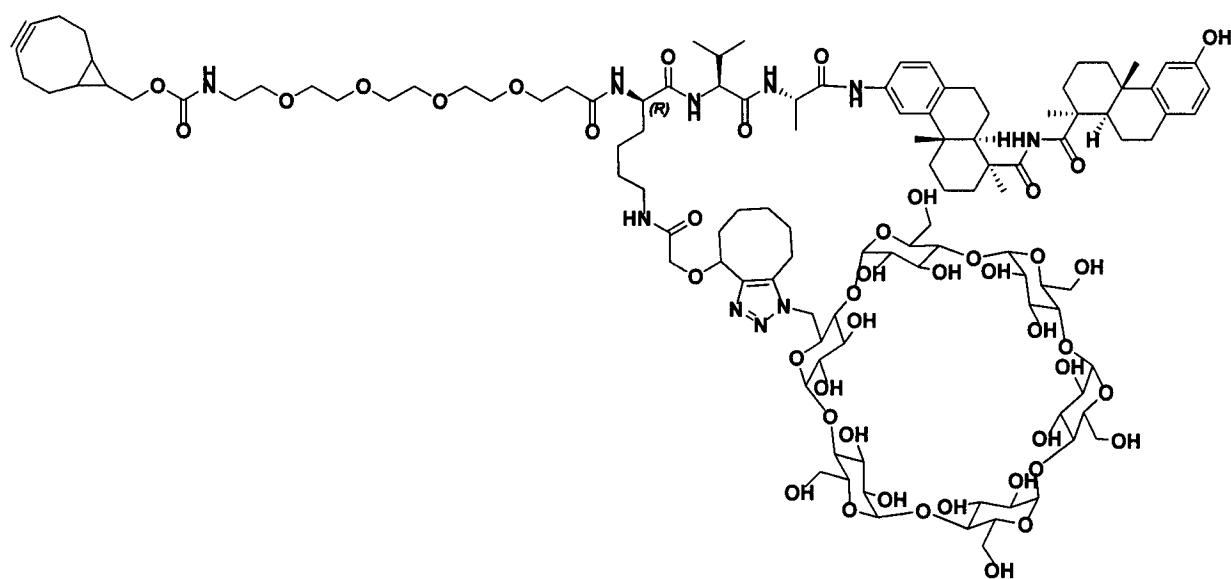
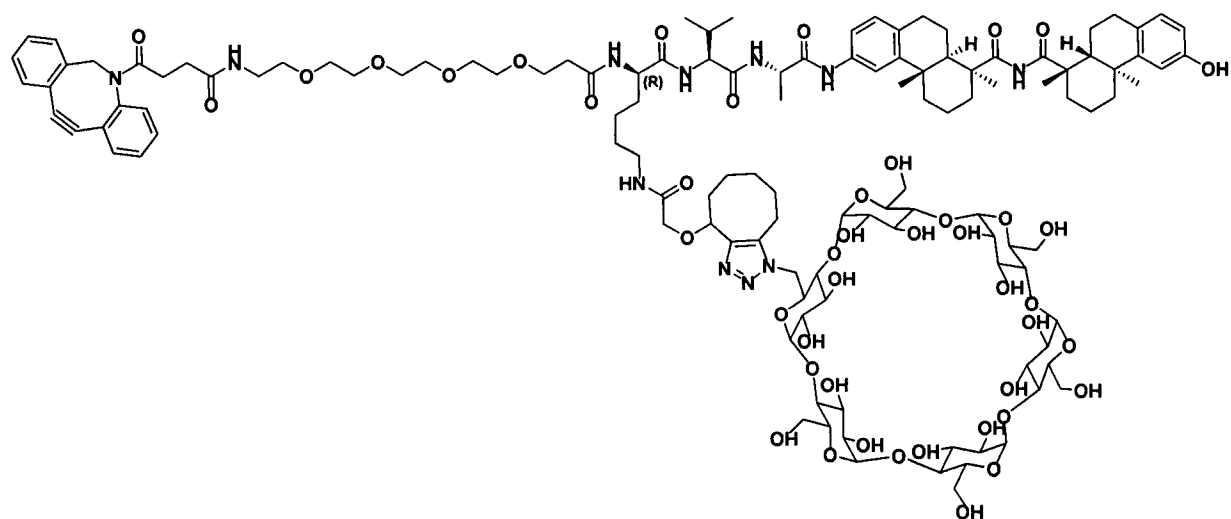
в каждом случае R^9 означает $-CH_3$ или $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; и

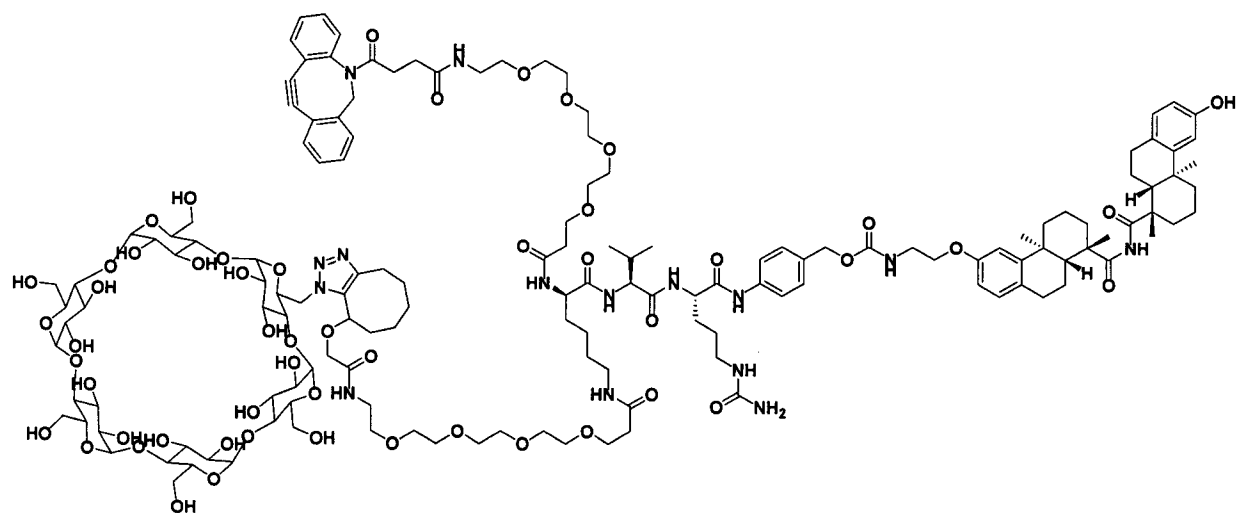
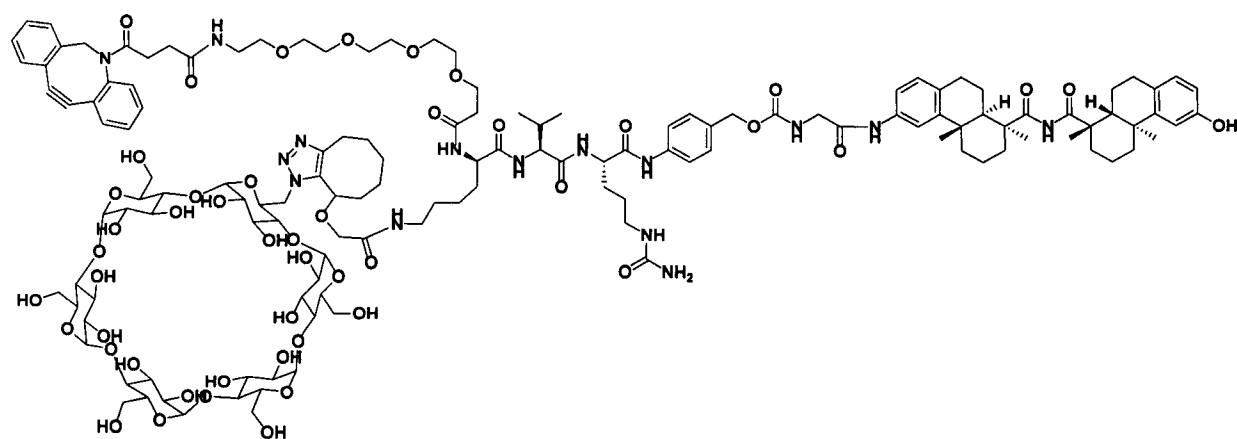
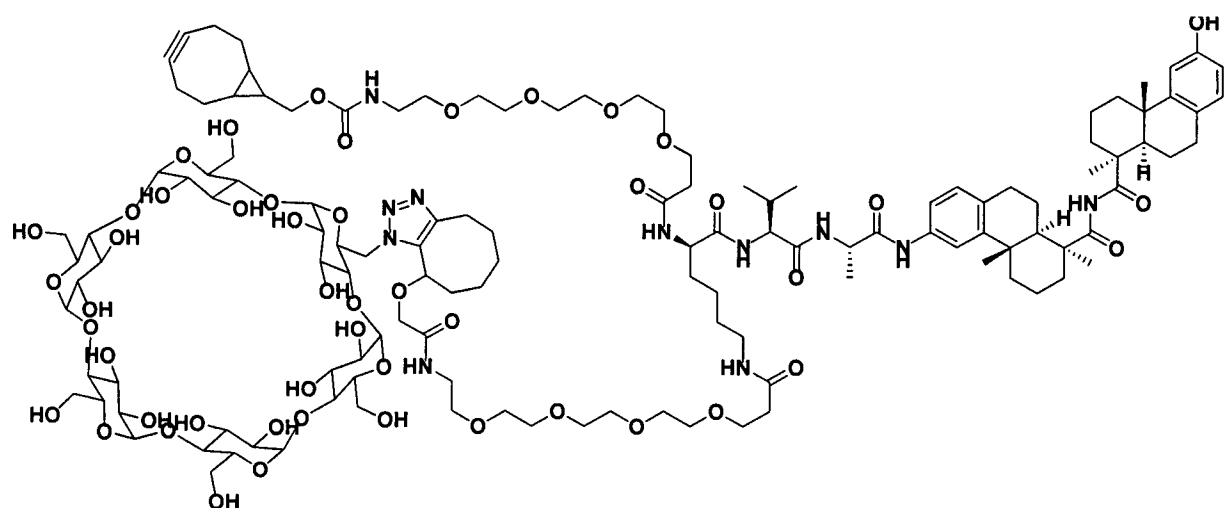
в каждом случае **A** означает $-O-$, $-N(H)-$, , , или , где ZZ означает водород или боковую цепь для аминокислоты, которая описывается в настоящем документе. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} алкил. Например, в одном варианте осуществления ZZ означает C_{1-6} гетероалкил.

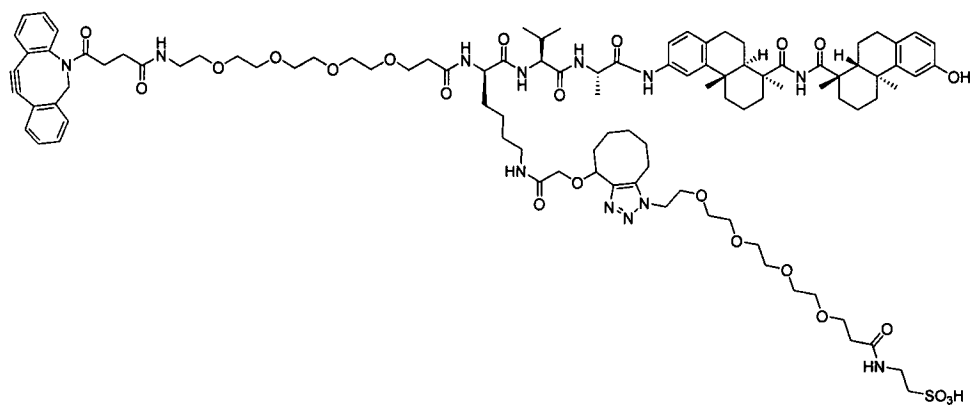
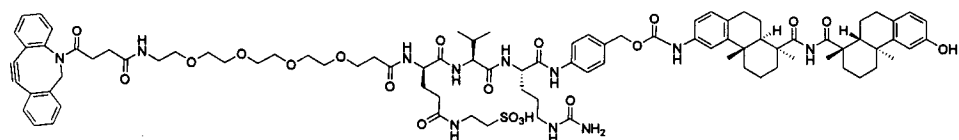
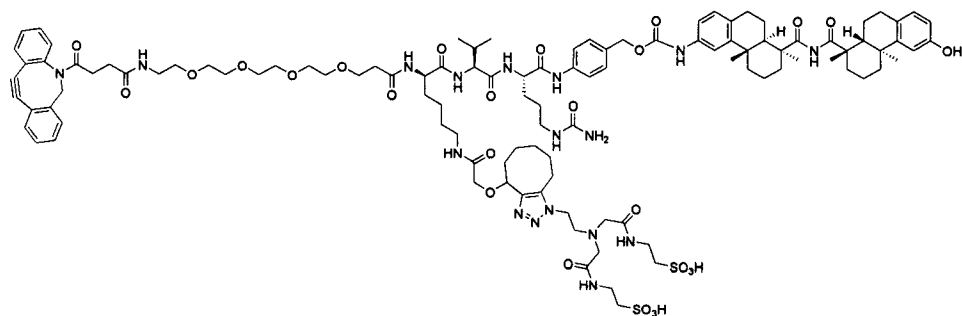
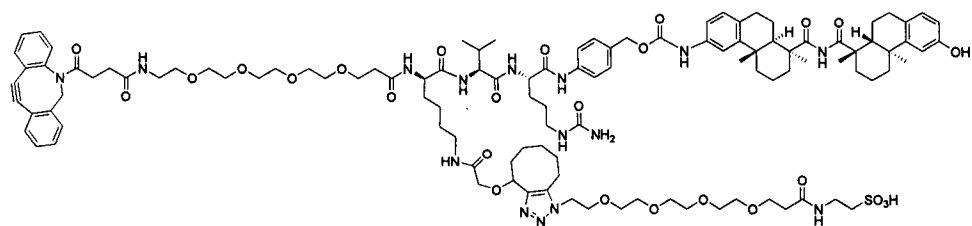
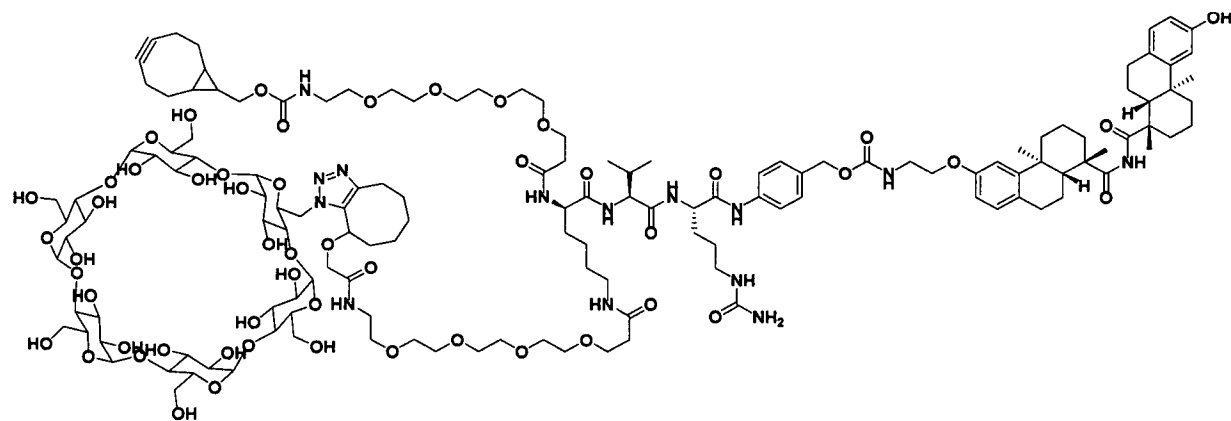
В некоторых вариантах осуществления **R** означает R^1 .

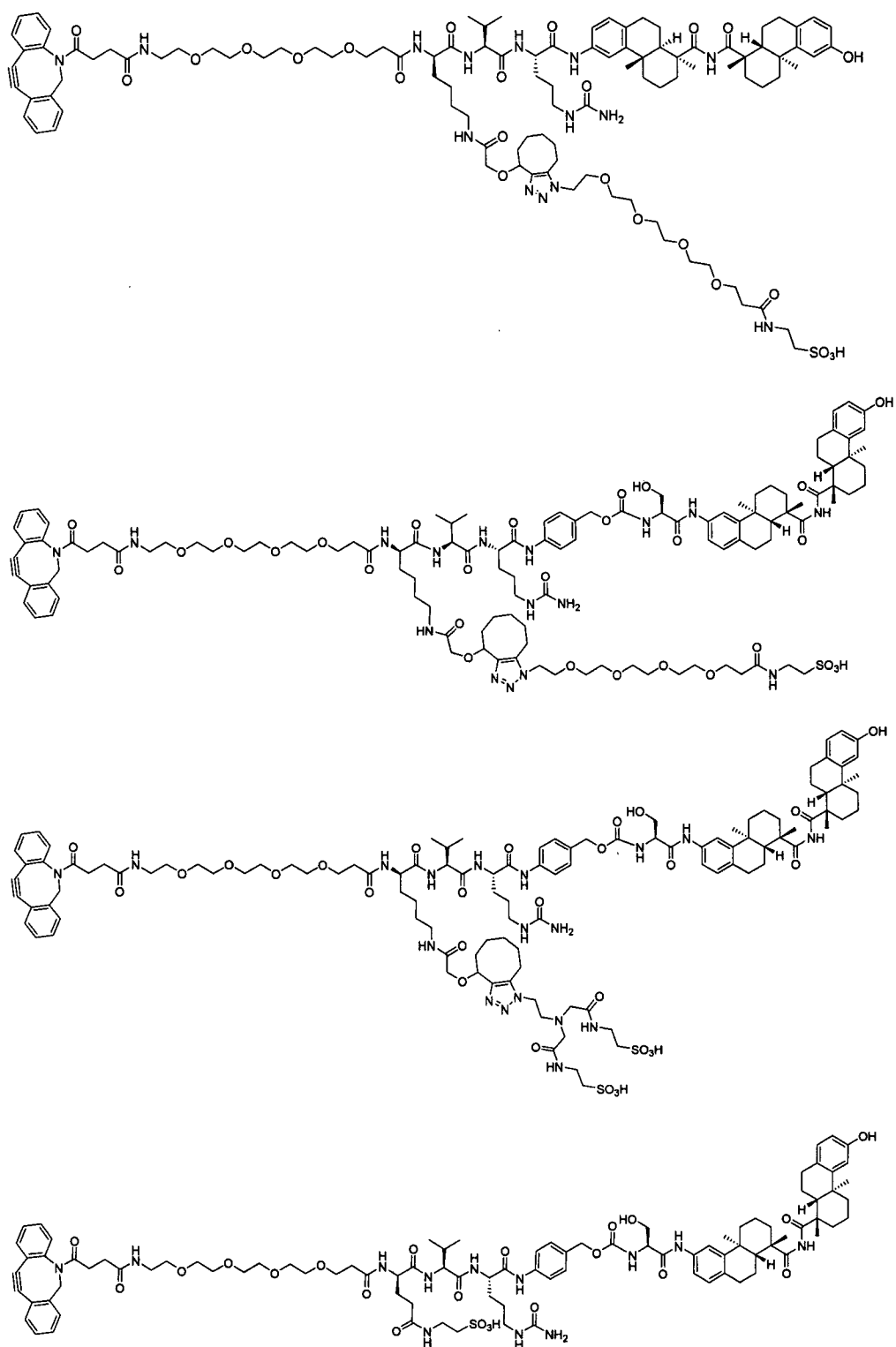
[00191] В некоторых вариантах осуществления реактивная линкер-нагрузка выбирается из:

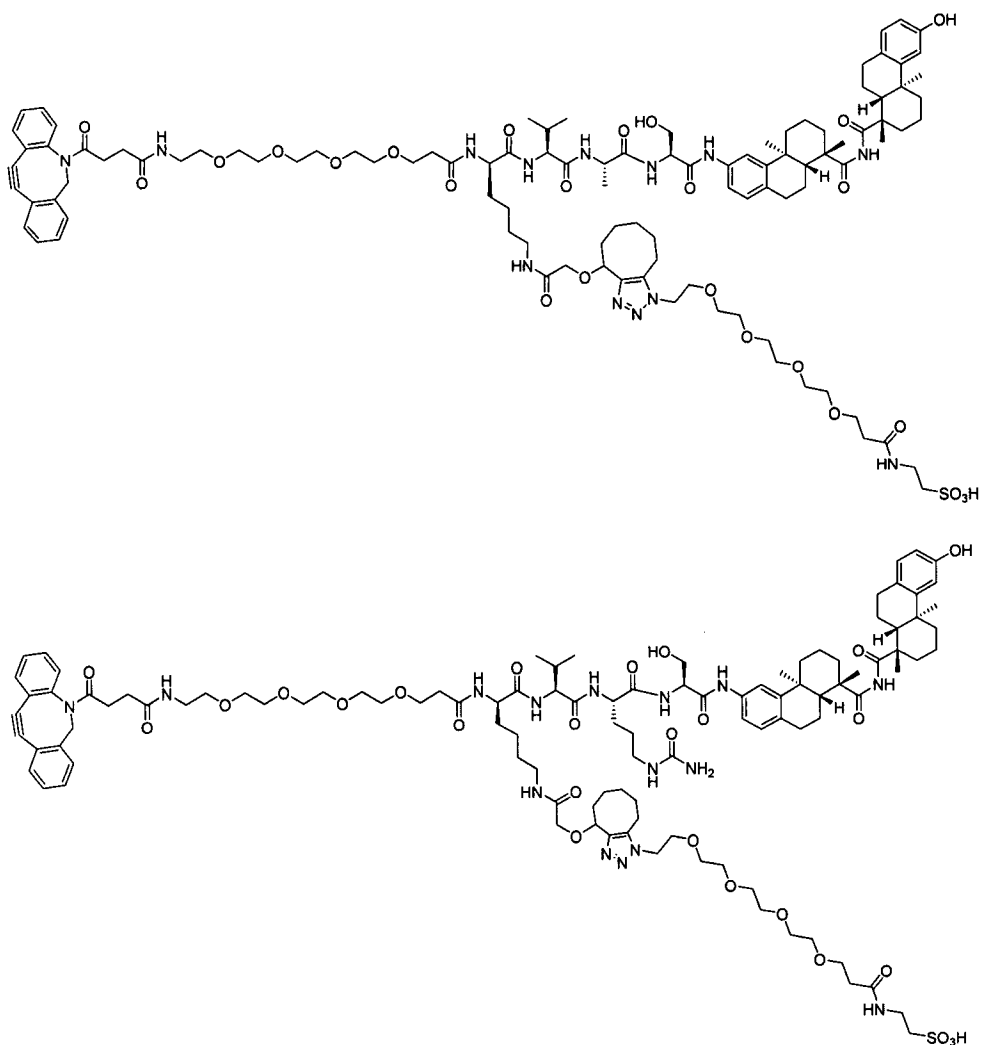










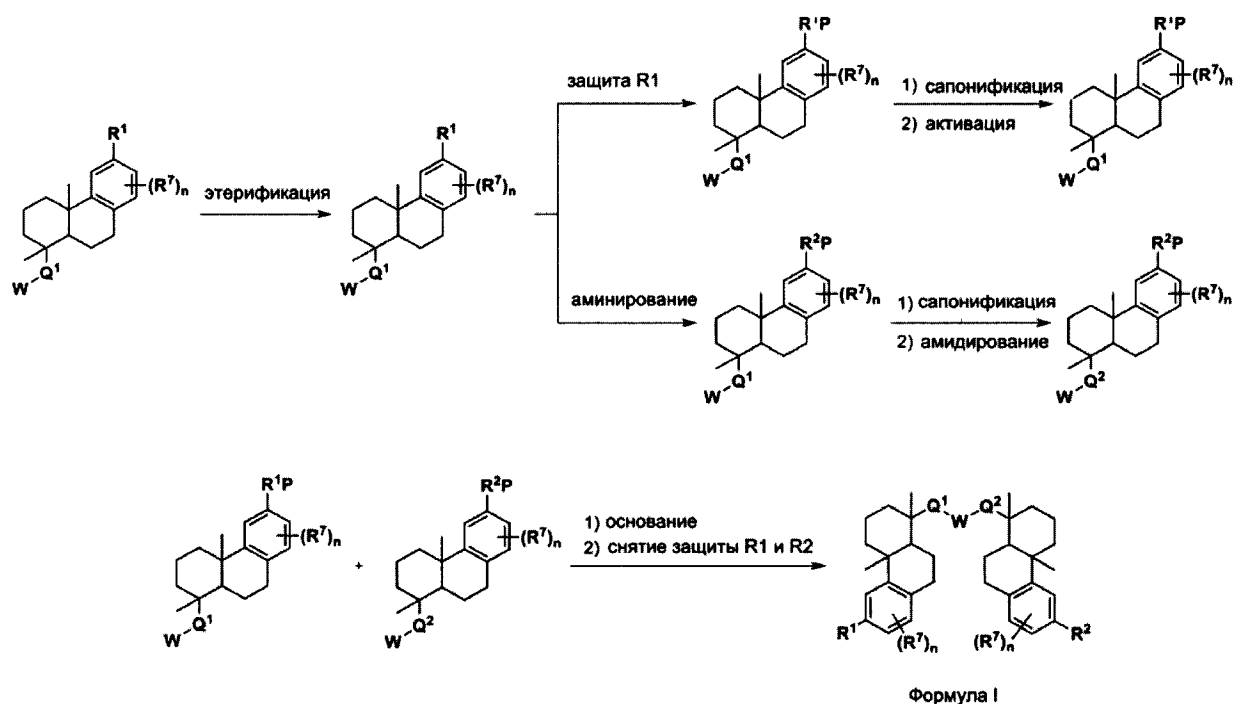


или региоизомера, или стереоизометрической формы его фармацевтически приемлемой соли, сольвата.

Способы приготовления соединений

[00192] Приведенные в настоящем документе соединения можно приготовить, изолировать или получить любым способом, известным специалисту в данной области. Иллюстративные способы приготовления подробно описываются в ниже приведенных примерах. В некоторых вариантах осуществления приведенные здесь соединения можно приготовить в соответствии со Схемой А:

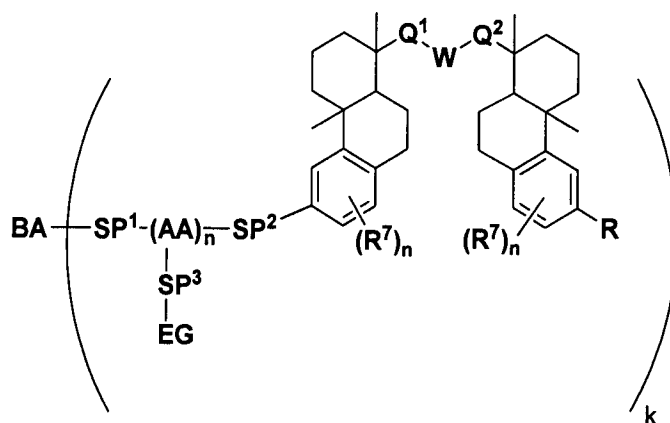
Схема А. Иллюстративная схема приготовления



[00193] В Иллюстративной схеме приготовления Q^1 , Q^2 , R^1 , R^2 , R^7 , W и n определяются в соответствии с описаниями в контексте Формулы (I). За первоначальной этерификацией следует защита R^1 и/или аминирование R^1 для получения R^2P . Последующая защита R^1 , сапонификация и активация, например, фрагмента карбоновой кислоты дает первого партнера связи, имеющего Q^1 . Последующее аминирование, сапонификация и амидирование, например, фрагмента карбоновой кислоты дает второго партнера связи, имеющего Q^2 . Объединение партнеров связи, имеющих Q^1 и Q^2 , соответственно, с последующим удалением защитных групп R^1 и R^2 , соответственно, дает соединения Формулы I. Иллюстративные способы приготовления подробно описаны в ниже приведенных примерах.

[00194] В некоторых вариантах осуществления в способы приготовления, описанные в выше приведенной Схеме А, могут быть включены один или несколько этапов защиты или снятия защиты.

[00195] Описанные здесь линкер-нагрузки могут быть синтезированы в ходе ряда этапов связывания.



Например, нагрузка на правой стороне может быть соединена с SP^2 посредством одной или нескольких стандартных реакций соединения. В предпочтительных вариантах осуществления соединения нагрузки, описанные в настоящем документе, включают свободные аминогруппы, доступные для соединения в условиях синтеза амидов, описанных в настоящем документе. Аминокислоты $(AA)_n$ могут быть присоединены в условиях синтеза амидов, например, условиях синтеза пептидов. Спейсер SP^2 может быть присоединен к $(AA)_n$ посредством одной или нескольких стандартных реакций связывания. В предпочтительных вариантах осуществления SP^2 и $(AA)_n$ группы, описанные в настоящем документе, включают свободные амино или карбоксильные группы, доступные для связывания в условиях синтеза амидов, описанных в настоящем документе. При его присутствии спейсер SP^3 может быть соединен с $(AA)_n$ посредством одной или нескольких стандартных реакций связывания. В предпочтительных вариантах осуществления SP^3 и $(AA)_n$ группы, описанные в настоящем документе, включают свободные амино или карбоксильные группы, доступные для связывания в условиях синтеза амидов, описанных в настоящем документе.

[00196] Спейсер SP^3 , при его присутствии, заканчивается на реактивную группу RG . Эта реактивная группа может быть связана с усиливающим агентом EG в условиях связывания, которые считаются подходящими специалистами в данной области. В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^3 соединяется с усиливающим агентом EG в условиях синтеза амидов. В некоторых вариантах осуществления спейсер SP^3 соединяется с усиливающим агентом EG посредством клик-химии. В этих вариантах осуществления спейсер SP^3 заканчивается реактивной группой, подходящей для клик-реакции, например, азидом или алкином, а усиливающий агент EG содержит комплементарную реактивную группу, подходящую для клик-реакции, например, алкин или азид. В предпочтительных вариантах осуществления SP^3 заканчивается на напряженный алкин, а EG содержит азид; или SP^3 заканчивается на карбоновую кислоту,

а EG содержит амин. Когда EG является циклодекстриновым фрагментом, циклодекстрин может содержать азид. Азидо циклодекстрины могут быть приготовлены синтетически или получены из коммерческих источников. Когда EG является фрагментом сульфоновой кислоты, один конец (концы) EG заканчивается на группу (группы) сульфоновой кислоты, а другой конец заканчивается на первичный или вторичный амин.

[00197] Описанные здесь конъюгаты могут быть синтезированы связыванием описанных здесь линкеров-нагрузок со связывающим агентом, например, антителом в стандартных условиях конъюгации (см., например, работу Doronina *et al. Nature Biotechnology* 2003, 21, 7, 778, которая включается в настоящий документ полностью посредством ссылки). Когда связывающий агент является антителом, антитело может быть связано с линкер-нагрузкой через один или несколько цистеиновых или лизиновых остатков антитела. Линкер-нагрузки могут быть присоединены к цистеиновым остаткам, например, подвергая антитело воздействию восстановителя, например, дитиотреитола, для расщепления дисульфидных связей антитела, очищения восстановленного антитела, например, гель-фильтрацией и последующего воздействия на антитело линкер-нагрузки, содержащей подходящий реактивный фрагмент, например, малеимидо группу. Подходящие растворители включают, помимо прочего, воду, DMA, ДМФ и ДМСО. Линкер-нагрузки, содержащие реактивную группу, например, группу активированных эфиров и галогенангидридов, могут быть связаны с лизиновыми остатками антитела. Подходящие растворители включают, помимо прочего, воду, DMA, ДМФ и ДМСО. Конъюгаты могут очищаться с помощью известных белковых методов, включая, например, гель-проникающую хроматографию, диализ и ультрафильтрацию/диафильтрацию.

[00198] Связывающие агенты, например, антитела, также могут быть конъюгированы посредством клик-реакций. В некоторых вариантах осуществления указанных клик-реакций линкер-нагрузка включает реактивную группу, например, алкин, которая способна участвовать в реакции 1,3-циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реактивные группы описаны выше. Антитело включает одну или несколько азидных групп. Такие антитела включают антитела, функционализированные, например, полиэтиленгликольными группами. В некоторых вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают воздействием на антитело, имеющее минимум один глутаминовый остаток, например, тяжелую цепь Gln295 или Gln55, первичным аминным соединением в присутствии фермента трансглутаминазы. В некоторых вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают воздействием

на антитело, имеющее минимум один глутаминовый остаток, например, тяжелую цепь Gln297, первичным аминным соединением в присутствии фермента трансглутаминазы. Такие антитела включают мутанты Asn297Gln (N297Q). В некоторых вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают воздействием на антитело, имеющее минимум два глутаминовых остатка, например, тяжелую цепь Gln295 и тяжелую цепь Gln297, первичным аминным соединением в присутствии фермента трансглутаминазы. Такие антитела включают мутанты Asn297Gln (N297Q). В некоторых вариантах осуществления антитело имеет две тяжелые цепи, описанные в всего с двумя или всего с четырьмя глутаминовыми остатками.

[00199] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит глутаминовый остаток в одной или нескольких позициях тяжелой цепи под номером 295 в системе нумерации ЕС. В настоящем документе такая позиция обозначается как глутамин 295, или как Gln295, или как Q295. Специалистам в данной области известно, что это консервативный глутаминовый остаток в последовательности дикого типа многих антител. В других полезных вариантах осуществления антитело может быть сконструировано таким образом, чтобы включать глутаминовый остаток. Специалистам в данной области известны методы изменения последовательности антитела для включения глутаминового остатка (см., например, Ausubel *et al.* *Current Protoc. Mol. Biol.*).

[00200] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит два глутаминовых остатка, по одному в каждой тяжелой цепи. В конкретных вариантах осуществления антитело содержит остаток Q295 в каждой тяжелой цепи. В других вариантах осуществления антитело содержит один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или больше глутаминовых остатков. Эти глутаминовые остатки могут быть в тяжелых цепях, легких цепях либо и в тяжелых, и в легких цепях. Образцовые глутаминовые остатки включают Q55. Эти глутаминовые остатки могут быть остатками дикого типа или сконструированными остатками. Антитела могут быть приготовлены в соответствии со стандартными методами.

[00201] Специалистам в данной области известно, что антитела часто гликозилируются на остатке N297, рядом с остатком Q295 в последовательности тяжелой цепи. Гликозилирование на остатке N297 может влиять на трансглутаминазу на остатке Q295 (Dennler *et al.*, *supra*). Соответственно, в предпочтительных вариантах осуществления антитело не гликозилируется. В некоторых вариантах осуществления антитело дегликозилируется или агликозилируется. В конкретных вариантах осуществления тяжелая цепь антитела имеет мутацию N297. Иначе говоря, антитело мутирует и более не

имеет аспарагиновый остаток в позиции 297. В конкретных вариантах осуществления тяжелая цепь антитела имеет мутацию N297Q. Такое антитело можно приготовить посредством сайт-направленного мутагенеза с целью удаления или "отключения" последовательности гликозилирования либо посредством сайт-направленного мутагенеза с целью включения глутаминового остатка в сайт без "отключения" функции антитела или связывания. В некоторых вариантах осуществления антитело, имеющее остаток Q295 и/или мутацию N297Q, содержит один или несколько дополнительных глутаминовых остатков природного происхождения в своих вариабельных участках, которые могут быть доступными для транsgлутаминазы и, следовательно, быть способными к конъюгации с линкером или линкер-нагрузкой. Типовой глутаминовый остаток природного происхождения можно найти, *например*, в Q55 легкой цепи. В таких примерах антитело, конъюгированное посредством транsgлутаминазы, может иметь значение соотношения лекарственный препарат-антитело выше ожидаемого (*например*, значение соотношения лекарственный препарат-антитело выше 4). Любые такие антитела могут быть изолированы из природных или искусственных источников.

[00202] Антитело без интерферирующего гликозилирования далее вступает в реакцию с первичным аминным соединением. В некоторых вариантах осуществления агликозилированное антитело вступает в реакцию с первичным аминным соединением, в результате чего образуется глутаминил-модифицированное антитело. В некоторых вариантах осуществления дегликозилированное антитело вступает в реакцию с первичным аминным соединением, в результате чего образуется глутаминил-модифицированное антитело.

[00203] Таким первичным амином может быть любой первичный амин, который способен образовать ковалентную связь с глутаминовым остатком в присутствии транsgлутаминазы. Полезные первичные амины описываются далее. Такой транsgлутаминазой может быть любая транsgлутаминаза, которую считают подходящей специалисты в данной области. В некоторых вариантах осуществления транsgлутаминаза - это фермент, который является катализатором образования изопептидной связи между свободной аминной группой на первичном аминном соединении и ацильной группой на боковой цепи глутаминового остатка. Транsgлутаминаза также известна как протеин-глутамин-γ-глутамилтрансфераза. В конкретных вариантах осуществления транsgлутаминаза классифицируется как ЕС 2.3.2.13. Транsgлутаминаза может быть получена из любого источника, который посчитают подходящим. В некоторых вариантах осуществления транsgлутаминаза является микробной. Полезные транsgлутаминазы были

изолированы из *Streptomyces mobaraense*, *Streptomyces cinnamoneum*, *Streptomyces griseo-carneum*, *Streptomyces lavendulae* и *Bacillus subtilis*. Также можно использовать немикробные транsgлутаминазы, включая транsgлутаминазы млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления транsgлутаминаза может быть получена при использовании любого метода или из любого источника, который считает подходящим практикующий специалист в данной области. В конкретных вариантах осуществления транsgлутаминазу получают из коммерческого источника.

[00204] В конкретных вариантах осуществления первичное аминное соединение содержит реактивную группу, способную вступать в дальнейшую реакцию после транsgлутаминирования. В этих вариантах осуществления глутаминил-модифицированное антитело может вступать в реакцию с реактивным соединением нагрузки или реактивным соединением линкер-нагрузки, в результате чего образуется конъюгат антитело-нагрузка. В некоторых вариантах осуществления первичное аминное соединение содержит азид.

[00205] В некоторых вариантах осуществления глутаминил-модифицированное антитело вступает в реакцию с реактивной линкер-нагрузкой, в результате чего образуется конъюгат антитело-нагрузка. Эта реакция может продолжаться в условиях, которые специалисты в данной области считают подходящими. В некоторых вариантах осуществления глутаминил-модифицированное антитело контактирует с реактивным соединением линкер-нагрузки в условиях, подходящих для формирования связи между глутаминил-модифицированным антителом и соединением линкер-нагрузки. Подходящие условия реакции хорошо известны специалистам в данной области.

[00206] Иллюстративные реакции даны в ниже приведенных примерах.

Фармацевтические композиции и способы лечения

[00207] В настоящем документе представлены способы лечения и профилактики заболеваний, состояний или нарушений, включающие введение терапевтически или профилактически эффективного количества или одного или нескольких указанных здесь соединений, например, одного или нескольких соединений приведенной здесь формулы. Заболевания, нарушения и/или состояния включают, помимо прочего, заболевания, нарушения и/или состояния ассоциированные с указанными здесь антигенами.

[00208] Описанные здесь соединения могут вводиться по-отдельности или вместе с одним или несколькими дополнительными лекарственными препаратами. Этот один или

несколько дополнительных лекарственных препаратов могут вводиться непосредственно до, одновременно либо сразу же после введения описанных здесь соединений. Настоящее изобретение также включает фармацевтические композиции, содержащие любое из указанных здесь соединений в комбинации с одним или несколькими дополнительными лекарственными препаратами, а также способы лечения, включающие введение таких комбинаций нуждающимся в них субъектам.

[00209] Подходящие дополнительные лекарственные препараты включают, помимо прочего: второй глюкокортикоид, аутоимунный лекарственный препарат, гормон, биологическое или моноклональное антитело. Подходящие лекарственные препараты также включают, помимо прочего, любые фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные указанного здесь соединения.

[00210] В некоторых вариантах осуществления описанных здесь способов несколько доз описанного здесь соединения (или фармацевтической композиции, содержащей комбинацию описанного здесь соединения и любого из упомянутых здесь дополнительных лекарственных средств) могут быть введены субъекту в течение определенного периода времени. Способы в соответствии с данным аспектом изобретения включают последовательное введение субъекту нескольких доз описанного здесь соединения. В контексте настоящего документа “последовательное введение” означает, что каждая доза соединения вводится субъекту в разные моменты времени, например, в различные дни, разделенные заранее установленным интервалом (*например*, часами, днями, неделями или месяцами). Настоящее изобретение включает способы, которые включают последовательное введение пациенту одной первоначальной дозы описанного здесь соединения, а затем одной или нескольких вторичных доз соединения и далее необязательно одной или нескольких третичных доз соединения.

[00211] Термины “первоначальная доза”, “вторичные дозы” и “третичные дозы” означают временную последовательность введения описанных здесь соединений. Таким образом, “первоначальная доза” - это доза, которая вводится в начале курса лечения (также называемая “базовая доза”); “вторичные дозы” - это дозы, которые вводятся после первоначальной дозы; а “третичные дозы” - это дозы, которые вводятся после вторичных доз. Первоначальная, вторичные и третичные дозы все могут включать одинаковое количество описанного здесь соединения, но, как правило, отличаются друг от друга в плане частоты введения. В некоторых вариантах осуществления количество соединения, включенного в первичную, вторичные и/или третичные дозы, различается (*например*, увеличивается или уменьшается в соответствии с обстоятельствами) в ходе лечения. В

некоторых вариантах осуществления две или более (*например*, 2, 3, 4 или 5) дозы вводятся в начале курса лечения как “ударные дозы”, а за ними идут последующие дозы, которые вводятся с меньшей частотой (*например*, “поддерживающие дозы”).

[00212] В определенных типовых вариантах осуществления настоящего изобретения каждая вторичная и/или третичная доза вводится через 1 - 26 (*например*, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ или более) недель после непосредственно предшествующей ей дозы. Фраза “непосредственно предшествующая доза” в контексте настоящего документа означает, в последовательности нескольких введений, дозу соединения, которая вводится пациенту перед введением следующей дозы в последовательности без промежуточных доз.

[00213] Способы в соответствии с данным аспектом изобретения могут включать введение пациенту любого количества вторичных и/или третичных доз соединения. Например, в некоторых вариантах осуществления пациенту вводится только одна вторичная доза. В других вариантах осуществления пациенту вводятся две или более (*например*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичные дозы. Аналогичным образом, в некоторых вариантах осуществления пациенту вводится только одна третичная доза. В других вариантах осуществления пациенту вводятся две или более (*например*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) третичные дозы. Режим введения может соблюдаться неопределенный период времени на протяжении жизни определенного субъекта либо до тех пор, пока такое лечение более не потребуется в терапевтическом плане либо не будет приносить пользу.

[00214] В вариантах осуществления, включающих несколько вторичных доз, каждая вторичная доза может вводиться с такой же частотой, что и другие вторичные дозы. Например, каждая вторичная доза может вводиться пациенту через 1-2 недели либо 1-2 месяца после непосредственно предшествующей дозы. Аналогичным образом, в вариантах осуществления, включающих третичные дозы, каждая третичная доза может вводиться с такой же частотой, что и другие третичные дозы. Например, каждая третичная доза может вводиться пациенту через 2-12 недель после непосредственно предшествующей дозы. В некоторых вариантах осуществления изобретения частота, с которой вторичные и/или третичные дозы вводятся пациенту, могут различаться на протяжении курса лечения. Частота введения также может регулироваться на протяжении лечения врачом в зависимости от потребностей конкретного пациента после клинического осмотра.

[00215] Настоящее изобретение включает режимы введения, в которых пациенту вводятся от 2 до 6 ударных доз с первой частотой (*например*, раз в неделю, раз в две недели, раз в три недели, раз в месяц, раз в два месяца и т.д.), после чего пациенту вводятся две или более поддерживающие дозы с меньшей частотой. Например, в соответствии с данным аспектом изобретения, если ударные дозы вводятся с частотой раз в месяц, тогда пациенту могут вводиться поддерживающие дозы раз в шесть недель, раз в два месяца, раз в три месяца и т.д.

[00216] Настоящее изобретение включает фармацевтические композиции и/или конъюгаты, описанные в настоящем изобретении, *например*, соединения Формулы I, Ia, Ib A, Aa или Ab, *например*, композиции, содержащие описанное здесь соединение, его соль, стереоизомер, полиморф, а также фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество. Примеры подходящих носителей, разбавителей и вспомогательных веществ включают, помимо прочего, буферы для поддержания надлежащего pH композиции (*например*, цитратные буферы, сукцинатные буферы, ацетатные буферы, фосфатные буферы, лактатные буферы, оксалатные буферы и подобные им), белки-носители (*например*, человеческий сывороточный альбумин), физиологический раствор, полиолы (*например*, трегалозу, сахарозу, ксилит, сорбит и подобные им), поверхностно-активные вещества (*например*, полисорбат 20, полисорбат 80, полиоксолат и подобные им), противомикробные препараты и антиоксиданты.

[00217] В некоторых примерах в настоящем документе изложен способ лечения заболевания, нарушения или состояния, включающий введение пациенту с указанным заболеванием терапевтически эффективного количества соединения Формулы I, Ia, Ib A, Aa или Ab или его фармацевтической композиции.

[00218] В некоторых примерах в настоящем документе изложен способ профилактики заболевания, нарушения или состояния, включающий введение пациенту с указанным заболеванием профилактически эффективного количества соединения Формулы I, Ia, Ib A, Aa или Ab или его фармацевтическую композицию.

[00219] В некоторых примерах в настоящем документе изложены способы лечения или профилактики любого заболевания, нарушения или состояния, реагирующие на модуляцию сигнализации LXR. В некоторых примерах заболевание или нарушение связывается с функцией LXR, полиморфизмами LXR, деятельностью агониста LXR или деятельностью антагониста LXR. В некоторых примерах в настоящем документе изложен способ лечения или профилактики заболевания, нарушения или состояния, выбранного из группы, состоящей из пролиферативного нарушения, нейродегенеративного нарушения,

иммунологического нарушения, аутоимунного заболевания, воспаления, дерматологического заболевания, нарушения метаболизма, сердечно-сосудистого заболевания и заболевания желудочно-кишечного тракта.

[00220] Таким пролиферативным заболеванием может быть любое пролиферативное заболевание, известное специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления пролиферативные заболевания включают, помимо прочего, онкологические заболевания, где онкологическим заболеванием является любое раковое заболевание, известное специалисту в данной области. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики меланомы. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики метастатической меланомы. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики рака легких. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики рака легких, резистентного к ингибитору тирозинкиназы EGFR. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики рака ротовой полости. В определенных вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы или профилактики плоскоклеточной карциномы полости рта. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы или профилактики рака простаты. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики лимфомы Ходжкина. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики рака груди.

[00221] Таким нейродегенеративным нарушением может быть любое нейродегенеративное нарушение, известное специалисту в данной области. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики болезни Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики болезни Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики болезни Хантингтона. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики амиотрофического бокового склероза. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики экспрессии гена миелина. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены

способы лечения или профилактики состояний, заболеваний или нарушений миелинизации и ремиелинизации.

[00222] Таким иммунологическим заболеванием может быть любое иммунологическое заболевание, известное специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики воспалительного заболевания кишечника. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики язвенного колита. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики болезни Крона.

[00223] Таким воспалением может быть любое воспаление, известное специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики артрита. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики ревматоидного артрита.

[00224] Таким нарушением метаболизма может быть любое нарушение метаболизма, известное специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления таким нарушением метаболизма является дислипидемия. Такой дислипидемией может быть любая дислипидемия, известная специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления дислипидемия выбирается из группы, состоящей из гиперлипидемии, гиперхолестеринемии, гипертриглицеридемии, гиперлипопротеинемии, дефицита липопротеинов высокой плотности (HDL), дефицита ApoA-I и сердечно-сосудистого заболевания, такого как ишемическая болезнь сердца (включая, например, лечение и профилактику стенокардии, инфаркта миокарда и внезапной сердечной смерти); атеросклероз (включая, например, лечение и профилактику атеросклероза); и рестеноз (включая, например, лечение и профилактику атеросклеротических бляшек, которые появляются как следствие медицинских процедур, например, баллонной ангиопластики). В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики диабета.

[00225] Таким сердечно-сосудистым заболеванием может быть любое сердечно-сосудистое заболевание, известное специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики атеросклероза. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики атеросклероза, связанного с аномальным процессингом в макрофаге. В некоторых вариантах осуществления в

настоящем документе представлены способы лечения или профилактики атеросклероза, связанного с образованием окисленных липопротеинов низкой плотности (oxLDLs), когда макрофаги не могут обработать oxLDLs. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики ишемической болезни сердца. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики инсульта. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения и профилактики гипертензивной болезни сердца. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики аневризмы аорты. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики эндокардита. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики заболевания периферических артерий. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики комбинаций любых заболеваний, упомянутых в настоящем абзаце.

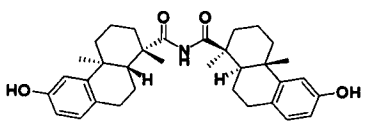
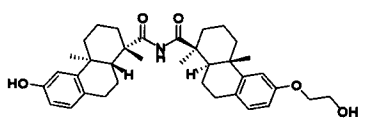
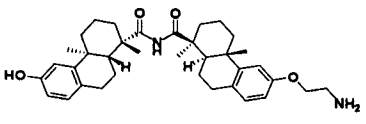
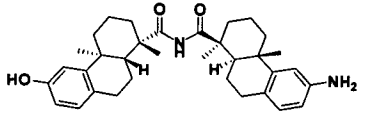
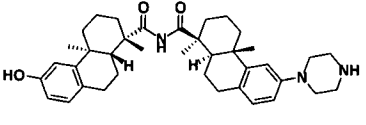
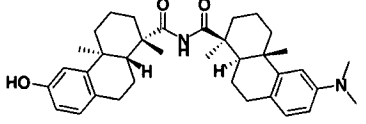
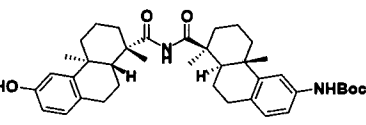
[00226] В некоторых примерах в настоящем документе изложен способ модуляции функции ядерного рецептора. Если привести неограничивающий пример, эта функция может быть выбрана из экспрессии/секреции медиаторов воспаления (например, цитокинов, хемокинов), регуляции холестерина, поглощения холестерина, выделения холестерина, окисления холестерина, миграции, хемотаксиса, апоптоза и некроза, воспалительной активности, регуляции липидов, апоптоза, миграции, хемотаксиса, транскрипции генов и экспрессии белков.

ПРИМЕРЫ

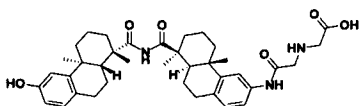
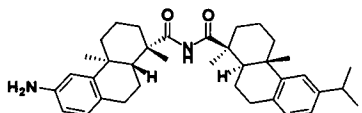
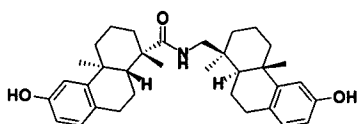
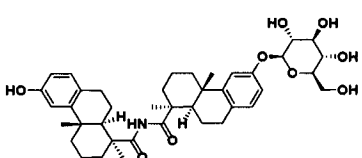
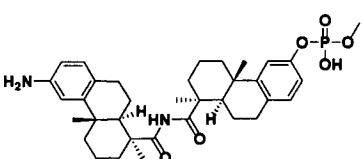
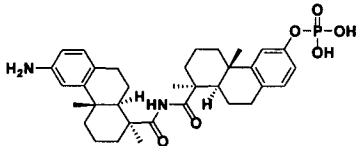
[00227] В настоящем документе представлены новые бис-октагидрофенантрена карбоксамиды, их белковые конъюгаты и способы лечения заболеваний, нарушений и состояний, включающие введение бис-октагидрофенантрена карбоксамидов и конъюгатов.

[00228] В некоторых примерах соединением Формулы (I) является соединение, указанное в Таблице 1.

Таблица 1. Список нагрузок

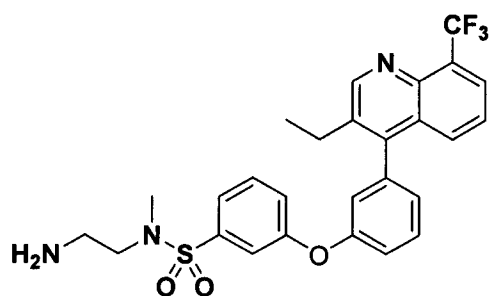
№ соедин.	Структура	МФ	МВ
9a		C ₃₄ H ₄₃ NO ₄	529.71
9b		C ₃₆ H ₄₇ NO ₅	573.76
9c		C ₃₆ H ₄₈ N ₂ O ₄	695.85
9d		C ₃₄ H ₄₄ N ₂ O ₃	528.72
9e		C ₃₈ H ₅₁ N ₃ O ₃	694.85
9f		C ₃₆ H ₄₈ N ₂ O ₃	556.78
9g		C ₃₉ H ₅₂ N ₂ O ₅	628.85

№ соед.	Структура	МФ	МВ
9h		$C_{36}H_{47}N_3O_4$	585.78
9i		$C_{37}H_{49}N_3O_4$	599.80
9j		$C_{37}H_{49}N_3O_4$	615.80
9k		$C_{37}H_{49}N_3O_4$	599.37
9l		$C_{40}H_{56}N_4O_4$	656.43
9m		$C_{40}H_{51}N_5O_4$	665.39
9n		$C_{38}H_{49}N_3O_6$	643.81
9o		$C_{39}H_{51}N_3O_6$	657.38
9p		$C_{35}H_{46}N_2O_3$	542.35
9q		$C_{39}H_{50}N_2O_6$	642.82

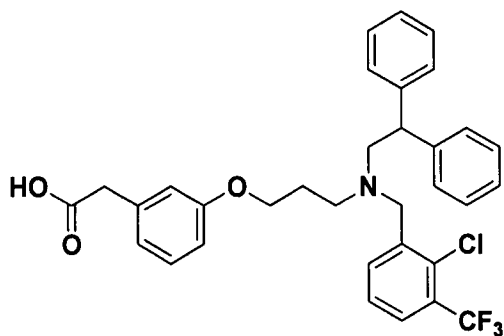
№ соедин.	Структура	МФ	МВ
9r		$C_{38}H_{49}N_3O_6$	643.83
9t		$C_{37}H_{50}N_2O_2$	554.81
9u		$C_{34}H_{45}NO_3$	515.73
15b		$C_{40}H_{53}NO_9$	691.85
17b		$C_{34}H_{45}N_2O_6P$	608.70
17c		$C_{35}H_{47}N_2O_6P$	622.73

[00229] Ссылки:

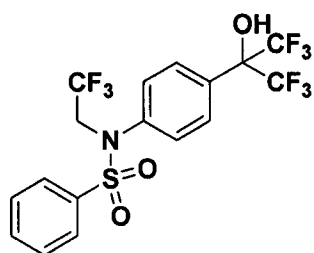
Структура соединения 31



Структура GW3965



Структура T0901317



[00230] Примеры линкер-нагрузок настоящего изобретения включают, помимо прочего, линкер-нагрузки, описанные в ниже приведенной Таблице 2.

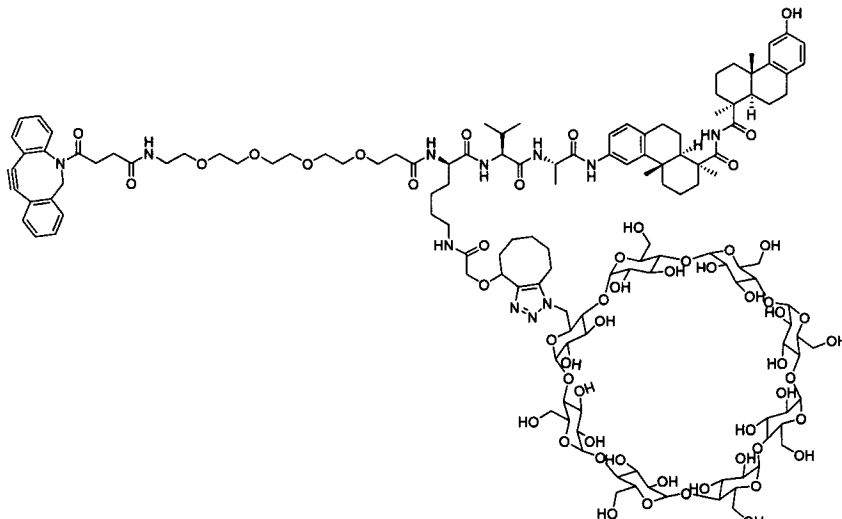
Таблица 2. Список линкер-нагрузок

	№ соед.	Структуры
LP1	24c	
LP2	22d1	

	№ соедин.	Структуры
LP7	29c2	
LP8	29d1	
LP9	29d2	
LP10	29d3	

	№ соед.	Структуры
LP11	29d4	
LP12	29h	
LP13	29j	

	№ соед.	Структуры
LP14	33	
LP39	—	
LP311	—	
LP18	—	
LP36	—	

	№ соед.	Структуры
LP32	—	

[00231] Некоторые варианты осуществления изобретения проиллюстрированы следующими неограничивающими предметами.

[00232] Реагенты и растворители были получены из коммерческих источников, таких как Sinopharm Chemical Reagent Co. (SCRC), Sigma-Aldrich, Alfa, либо от других поставщиков, если не указано иное.

[00233] Спектры ^1H ЯМР и других спектры ЯМР были записаны на Bruker AVIII 400 или Bruker AVIII 500. Данные были обработаны при помощи программного обеспечения Nuts или программного обеспечения MestReNova, измеряющего протонные сдвиги в частях на миллион (ppm) в слабое поле относительно внутреннего стандартного тетраметилсилана (TMS).

[00234] Измерения ВЭЖХ-МС проводились в системе Agilent 1200 HPLC/6100 SQ System в следующих условиях:

[00235] Способ А для измерений ВЭЖХ-МС включал, в подвижной фазе: А: Вода (0.01% трифторуксусная кислота (TFA)), В: ацетонитрил (0.01% TFA); градиентная фаза Рост с 5% В до 95% В в течение 15 минут (мин); расход. 1.0 мл/мин; колонка: SunFire C18, 4.6x50 мм, 3.5 мкм; температура колонки: 50°C. Детекторы: Испарительный детектор светорассеяния (ИДС) аналого-цифрового преобразователя (АЦП), диодно-матричный детектор (ДМД) (214 нм и 254 нм), электроспрейная ионизация -атмосферная ионизация (ЭИ-АИ).

[00236] Способ В для измерений ВЭЖХ-МС включал, в подвижной фазе: А: Вода (10 mM NH_4HCO_3), В: ацетонитрил; градиентная фаза: Рост с 5% до 95% В в течение 15 мин;

расход: 1.0 мл/мин; колонка: XBridge C18, 4.6x50 мм, 3.5 мкм; температура колонки: 50°C. Детекторы: ИДС АЦП, ДМД (214 нм и 254 нм), масс-селективный детектор (МСД) (ЭИ-АИ).

[00237] Измерения ЖХ-МС проводились в системе Agilent 1200 HPLC/6100 SQ System в следующих условиях:

[00238] Способ А для измерений ЖХ-МС включал использование прибора: WATERS 2767; колонка: Shimadzu Shim-Pack, PRC-ODS, 20x250 мм, 15 мкм, две последовательно соединенные; подвижная фаза: А: Вода (0.01% TFA), В: ацетонитрил (0.01% TFA); градиентная фаза: Рост с 5% В до 95% В в течение 3 мин; расход: 1.8 – 2.3 мл/мин; колонка: SunFire C18, 4.6x50 мм, 3.5 мкм; температура колонки: 50°C. Детекторы: ИДС АЦП, ДМД (214 нм и 254 нм), ЭИ-АИ.

[00239] Способ В для измерений ЖХ-МС включал использование прибора: Gilson GX-281; колонка: Xbridge Prep C18 10 um OBD, 19x250 мм; подвижная фаза: А: Вода (10 мМ NH_4HCO_3), В: Ацетонитрил; градиентная фаза: Рост с 5% до 95% В в течение 3 мин; расход: 1.8 – 2.3 мл/мин; колонка: XBridge C18, 4.6x50 мм, 3.5 мкм; температура колонки: 50°C. Детекторы: ИДС АЦП, ДМД (214 нм и 254 нм), МСД (ЭИ-АИ).

[00240] Препаративная высокоэффективная жидкостная хроматография (Преп-ВЭЖХ) в системе кислого или основного растворителя была проведена с использованием прибора Gilson GX-281. В системе кислого растворителя использовалась колонка Waters SunFire 10 мкм C18 (100 Å, 250x19 мм), и растворителем А для преп-ВЭЖХ была вода/0.05%, а растворителем В был ацетонитрил. Условиями элюирования были увеличение линейного градиента растворителя В с 5% до 100% за временной период в 20 мин при расходе в 30 мл/мин. Система основного растворителя включала колонку Waters Xbridge 10 мкм C18 (100 Å, 250x19 мм), и растворителем А, используемым для преп-ВЭЖХ, была вода/10 мМ бикарбоната аммония (NH_4HCO_3), а растворителем В был ацетонитрил. Условиями элюирования были увеличение линейного градиента растворителя В с 5% до 100% за временной период в 20 мин при расходе в 30 мл/мин.

[00241] Флэш-хроматография была проведена с использованием прибора Biotage, с картриджами с диоксидом кремния Agela Flash Column; обращенно-фазовая флэш-хроматография была проведена с использованием прибора Biotage instrument, с картриджами Boston ODS или Agela C18.

[00242] В контексте настоящего документа символы и обозначения, используемые в данных процессах, схемах и примерах, независимо от того, дается ли конкретное

определение конкретному сокращению, соответствуют символам и обозначениям, используемым в современной научной литературе, например, в Журнале Американского химического общества (Journal of the American Chemical Society) или Журнале биологической химии (Journal of Biological Chemistry). В частности, но без каких-либо ограничений, в Примерах и по всему тексту описания изобретения могут использоваться следующие сокращения:

Сокращение	Термин
ADC	Конъюгат антитело-лекарственный препарат
Агликозилированное антитело	Антитело не имеет гликана
API	Ионизация при атмосферном давлении
aq	Водный
Woc	N-трет-бутоксикарбонил
BupH™	Продукт Thermo Scientific № 28372, содержащий 100 мМ фосфата натрия и 150 мМ хлорида натрия, без калия, pH был откорректирован с 7.2 до 7.6–7.8 MQ, если не было указано иное.
CD	Циклодекстрин
COT	Циклооктинол
Da (Да)	Дальтон
DAD (ДМД)	Диодно-матричный детектор
DAR	Отношение лекарственный препарат-антитело
DCM (ДХМ)	Дихлорметан
DIBAC	11,12-дидегидро-5,6-дигидро-добенз[<i>b,f</i>]азоцин
DIBAC-Suc	11,12-дидегидро-5,6-дигидро-добенз[<i>b,f</i>]азиноновая сукцинамовая кислота
DIBAC-Suc-PEG4-VC-pAB-PNP	{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0 ^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламидо)пентанамидо]фенил}метил 4-нитрофенил карбонат

Сокращение	Термин
DIBACT	3H-бензо[с]-1,2,3-триазоло[4,5-е][1]бензазотин, 8,9-дигидро-
DIPEA	Диизопропилэтиламин
DMF (ДМФ)	N,N-диметилформамид
DMSO (ДМСО)	Диметилсульфоксид
ЕС	Комиссия по ферментам
ELSD (ИДС)	Испарительный детектор светорассеяния
ESI (ЭИ)	Электрораспылительная ионизация
Fmoc	N-(9-флуоренилметилоксикарбонил)
Fmoc-vcPAB-PNP	N-Fmoc-L-валин-L-цитруллин-p-аминобензиловый спирт p-нитрофенил карбонат
г	граммов
HATU	2-(7-аза-1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуроний гексафторфосфат
HC	Тяжелая цепь иммуноглобулина
HEK	Почка эмбриона человека (клетки)
HPLC (ВЭЖК)	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ч или час	часов
LC	Легкая цепь иммуноглобулина
LCh (ЖХ)	Жидкостная хроматография
MALDI	Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация
MC	Малеимидокапроил
мг	миллиграммов
мин	минут
мл	миллилитров
mmh	мик-мик-гексагистидиновая метка
мкл	микролитров

Сокращение	Термин
мМ	миллимолярный
мкМ	микромолярный
ММАЕ	Монометила уристатин Е
MS (МС)	Масс-спектрометрия
MsCl	Метансульфонилхлорид
MSD (МСД)	Масс-селективный детектор
MTG	Микробная трансглутаминаза (MTG ЕС 2.3.2.13, Zedira, Дармштадт, Германия)
MB	Молекулярный вес
ncADC	Нецитотоксичный конъюгат антитело-лекарственный препарат
NHS	N-гидрокси сукцинимид
нМ	наномолярный
NMR (ЯМР)	Ядерный магнитный резонанс
NOESY	Спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера
PAB	Пара-аминобензилокси(карбонил)
PBS	10 мМ натрий-фосфатного буфера и 150 мМ хлорида натрия
PBSg	10 мМ фосфата, 150 мМ хлорида натрия, 5% глицерина
PEG (ПЭГ)	Полиэтиленгликоль
PNP	p-нитрофенил
MC-VC-PAB-PNP	Малеимидокапроил-L-валин-L-цитруллин-p-аминобензиловый спирт p-нитрофенилкарбонат
ppm	частей на миллион (химический сдвиг, δ)
RP (ОФ)	Обращенная фаза
КТ или комн. темп.	Комнатная температура
SDS-PAGE	Электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия

Сокращение	Термин
SEC (ГПХ)	Гель-проникающая хроматография
Suc	Янтарная кислота
TCEP	Трис(2–карбоксиэтил)фосфингидрохлорид
TEA (ТЭА)	Триэтиламин
TMS (TMC)	Тетраметилсилан
TFA (ТФК)	Трифторуксусная кислота
TG (ТГ)	Трансглутаминаза
THF (ТГФ)	Тетрагидрофуран
TOF	Время пролета
UPLC (УЭЖХ)	Ультразэффективная жидкостная хроматография
УФ	Ультрафиолетовый
VA (ВА)	Валин–аланин
VC (ВЦ)	Валин–цитруллин
VC–PAB	Валин–цитруллин–пара–аминобензилокси(карбонил)

СПОСОБЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ

ПРИМЕР 1

[00243] Данный пример демонстрирует общие способы синтеза подокарповых производных, **9a** to **9r**, **9t** и **9u** в выше приведенной Таблице 1. Данный пример относится к соединениям, пронумерованным от **1** до **9a-p** на ФИГ. 1.

[00244] На ФИГ. 1 исходный материал подокарповая кислота **1** первоначально была обнаружена в смолах растений в 1873 году, а позднее поступило сообщение о ее наличии в некоторых видах подокарпа (*Podocarpus*) (См., например, *J. Chem. Soc.* **1938**, 1006-1013). Ранее о синтезе соединения **4** из подокарповой кислоты **1** уже писали (См., например, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 2824; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 4574). Ацилхлорид **6a** был приготовлен в результате реакции **4** с тионилхлоридом; а активный эфир **6b** был приготовлен в результате реакции **4** с **5**. Симметричный имид **8a** был синтезирован в результате реакции амида **7a** с хлорангидридом **6a** или активированным

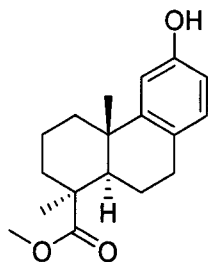
эфиром **6b**, и далее он был подвергнут дебензилированию посредством гидрогенизации для получения имида **9a**. Аналогичным образом, асимметричные имиды **8b-e** и **8g** были синтезированы в результате реакций соединения амидов **7b-g** с активированным эфиром **6b** или хлорангидридом **6a**. Выходы для асимметричных имидов **8b-e** и **8g** от **6a** сравнили с выходами для симметричного имида **8a**, однако выходы для **8b-e** и **8g** при использовании активированного эфира **6b** увеличились с ~40% до 50-85%.

[00245] Имиды **9a-e** были получены из **8a-e** посредством снятия защиты соответствующих защитных групп – Bn в **8a**, TBS в **8b** или Boc в **8c**, **8d** и **8e**, соответственно. *N,N*-диметильный аналог **9f** был получен в результате гидрогенизации **8d** в метаноле для удаления бензильной группы с параллельным *N,N*-диметилированием анилинового азота; *N*-Boc аналог **9g** был получен в результате дебензилирования **8d**. Соединения **9h-o** были получены в результате реакций связывания амидов **9d** с производными аминокислот в присутствии HATU и DIPEA, с последующим снятием защиты групп Boc с 10-25% TFA в DCM или снятием защиты групп Fmoc с 20% пиперидином в органическом растворителе. Реакции связывания амидов **9d** с Fmoc-Gly-OH с последующим снятием защиты Fmoc дали **9h**; Boc-beta-Ala-OH с последующим снятием защиты Boc дали **9i**; Boc-Ser-OH с последующим снятием защиты Boc дали **9j**; Boc-Sar-OH с последующим снятием защиты Boc дали **9k**; Boc-Lys(Boc)-OH с последующим снятием защиты Boc дали **9l**; Boc-His-OH с последующим снятием защиты Boc дали **9m**; Boc-Asp-OtBu с последующим снятием защиты Boc и -OtBu дали **9n** в одном реакционном сосуде; и Boc-Glu-OtBu с последующим снятием защиты Boc и -OtBu дали **9o** в одном реакционном сосуде, соответственно. Соединение **9p** было синтезировано в реакции связывания амидов **7g** с **6b** в присутствии LiHMDS с образованием **8g**, с последующим восстановлением нитрила с никелевым катализатором Ренея в амин и дебензилированием трехбромистым бором (BBr₃). Соединение **9q** было получено в результате реакции связывания амидов **9d** с глутаровым ангидридом. Соединение **9r** было получено в результате реакции связывания амидов **9d** с Boc-иминодиуксусной кислотой с последующим снятием защиты Boc. Соединение **9t** было получено от реакции связывания амидов **7d** с активированным эфиром дегидроабиетиновой кислоты (№ Cas 1740-19-8) с последующим снятием защиты Boc.

ПРИМЕР 1a

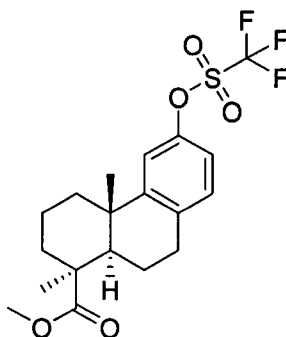
Синтез нагрузки **9d** (ФИГ. 1a)

Метил (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксилат (**P1-2**)



[00246] К раствору подокарповой кислоты (**P1-1**, 90 г, 0.33 моль) в метаноле (200 мл) и толуоле (600 мл) добавили (триметилсилил)дiazометан (2 М в гексане, 200 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем подокарповая кислота была полностью разрушена согласно жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Летучие вещества удалили *in vacuo*, а остаток измельчили из петролейного эфира (2 л) для получения соединения **P1-2** (91 г, выход 96%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 289 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 8.95 (s, 1H), 6.79 (d, *J*=8.2 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.4 Гц, 1H), 6.48 (dd, *J*=8.2, 2.4 Гц, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.80-2.55 (m, 2H), 2.20-2.02 (m, 3H), 1.96-1.71 (m, 2H), 1.56-1.45 (m, 2H), 1.27 (t, *J*=13.5 Гц, 1H), 1.21 (s, 3H), 1.09 (td, *J*=13.5, 4.1 Гц, 1H), 0.91 (s, 3H) ppm.

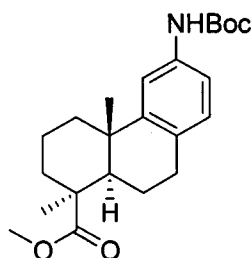
Метил (1*S*,4*aS*,10*aR*)-1,4*a*-диметил-6-(трифторметансульфонилокси)-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксилат (**P1-3**)



[00247] К раствору соединения **P1-2** (10 г, 35 ммоль) в метиленхлориде (200 мл) добавили пиридин (3.3 г, 42 ммоль) и DMAP (0.84 г, 6.9 ммоль) в азотной атмосфере. Смесь охладил до -78°C и добавили трифлатный ангидрид (12 г, 42 ммоль), и получившейся смеси дали нагреться до 25°C и перемешивали при 25°C еще 4 часа. Реакционную смесь разбавили DCM (500 мл), промыли водой (100 мл), *aq.* гидрохлоридом (1 N, 150 мл) и рассолом (100 мл), высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo* для получения сырьевого соединения **P1-3** (14 г, выход 97%) в виде вязкого масла, которое было достаточно чистым для следующего этапа. Сырьевое соединение **P1-3** можно было очистить посредством флэш-хроматографии (0-10% этилацетат в петролейном эфире) и получили чистый продукт в виде вязкого масла. ЭИ

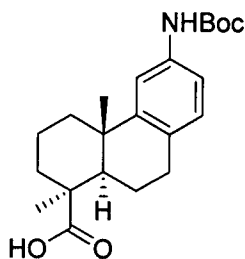
м/з: 421.2 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7.12 (d, J=2.5 Гц, 1H), 7.10 (d, J=8.5 Гц, 1H), 6.97 (dd, J=8.5, 2.5 Гц, 1H), 3.67 (s, J=3.4 Гц, 3H), 2.93 (dd, J=17.2, 4.4 Гц, 1H), 2.85-2.71 (m, 1H), 2.29 (d, J=13.5 Гц, 1H), 2.25-2.14 (m, 2H), 2.03-1.89 (m, 2H), 1.71-1.61 (m, 1H), 1.56-1.48 (m, 1H), 1.40 (td, J=13.4, 4.2 Гц, 1H), 1.30-1.22 (m, 3H), 1.09 (td, J=13.6, 4.2 Гц, 1H), 1.02 (s, 3H) ppm.

Метил (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксилат (**P1-4**)



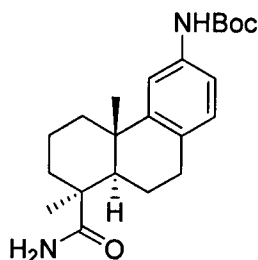
[00248] К раствору соединения **P1-3** (14 г, 34 ммоль) и *трет*-бутилкарбамата (BocNH₂, 7.9 г, 68 ммоль) в *трет*-бутаноле (100 мл) добавили, последовательно, карбонат цезия (22 г, 68 ммоль), трис(дибензилиденацетон)дипалладий(0) (Pd₂(dba)₃, 1.8 г, 2.0 ммоль) и X-Phos (1.8 г, 4.0 ммоль) при комнатной температуре. Смесь дегазировали и продули аргоном 3 раза, а затем перемешивали при 80°C под аргоном (баллон) на протяжении ночи до полного разрушения соединения **P1-3**, по результатам тонкослойной хроматографии. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавили этилацетатом и отфильтровали через целит. Твердое вещество промыли этилацетатом 3 раза. Объединенный фильтрат сконцентрировали *in vacuo*, и остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (0-6.25% этилацетата в петролейном эфире) в результате чего было получено соединение **P1-4** (11 г, выход 82%) в виде твердого вещества белого цвета. ЭИ м/з: 410 (M + 23)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9.07 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.13 (d, J=8.5 Гц, 1H), 6.87 (d, J=8.3 Гц, 1H), 3.59 (s, 3H), 2.76 (dd, J=16.4, 4.5 Гц, 1H), 2.70-2.61 (m, 1H), 2.16-2.05 (m, 3H), 2.00-1.75 (m, 2H), 1.65-1.50 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.31-1.25 (m, 1H), 1.21 (s, 3H), 1.10 (td, J=13.5, 4.1 Гц, 1H), 0.92 (s, 3H) ppm.

(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-[[*трет*-бутоксикарбонил]амино]-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоновая кислота (**P1-5**)



[00249] К раствору соединения **P1-4** (4.9 г, выход 13 ммоль) в DMSO добавили калия *трет*-бутоксид (15 г, 0.13 моль) одной порцией при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при 60°C на протяжении 3 часов под аргоном до завершения реакции по результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь налили в лед и медленно окислили *aq.* гидрохлоридом (0.5 М) до pH 5, и в течение этого времени температура не превышала 25 °C. Осадок был собран посредством фильтрации и промыт водой несколько раз. Сырой продукт далее очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (0-20% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **P1-5** (4.5 г, выход 93%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 318 (M - 55)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 12.08 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.87 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 2.79-2.68 (m, 1H), 2.65 (d, *J*=12.6 Гц, 1H), 2.17-2.03 (m, 4H), 1.94-1.76 (m, 2H), 1.53 (d, *J*=13.7 Гц, 1H), 1.46 (d, *J*=7.4 Гц, 9H), 1.29-1.14 (m, 5H), 1.04 (s, 3H) ppm.

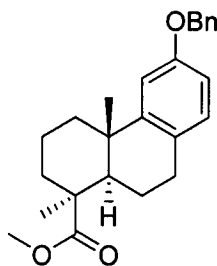
трет-бутил *N*-[(4b*S*,8*S*,8a*R*)-8-карбамоил-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамат (**P1-6**)



[00250] К раствору **P1-5** (4.5 г, 12 ммоль) и НАТУ (4.9 г, 13 ммоль) в DMF (50 мл) добавили диизопропилэтиламин (20 мл, 0.12 моль) и смесь перемешивали при 25°C на протяжении одного часа. Затем к смеси добавили хлорид аммония (16 г, 0.30 моль) и смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи. Полученную смесь разбавили этилацетатом, промыли водой и рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-20% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **P1-6** (4.2 г, выход 94%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 373.3 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.20 (s,

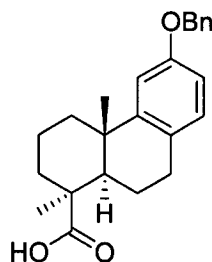
1H), 6.97 (d, $J=7.7$ Гц, 1H), 6.80 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 2.77-2.68 (m, 2H), 2.66-2.55 (m, 1H), 2.20 (d, $J=12.9$ Гц, 1H), 2.13 (dd, $J=13.2, 5.3$ Гц, 1H), 2.08 (d, $J=14.0$ Гц, 1H), 2.03-1.86 (m, 2H), 1.54 (d, $J=11.1$ Гц, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.26 (t, $J=26.7$ Гц, 1H), 1.18 (s, 3H), 1.14-1.03 (m, 4H) ppm.

Метил (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксилат (**P1-8**)



[00251] Смесь соединения **P1-2** (12 г, 40 ммоль) и карбоната цезия (14 г, 44 ммоль) в DMF (100 мл) перемешивали при 20-25°C на протяжении 15 минут. К смеси добавили бензилбромид (7.1 мл, 60 ммоль) при комнатной температуре. После перемешивания при комнатной температуре на протяжении 4 часов полученную смесь налили в холодную воду и экстрагировали этилацетатом. Объединенный органический раствор промыли водой и рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Сырой продукт очистили посредством флэш-хроматографии (0-10% этилацетат в петролейном эфире) и получили указанное в заголовке соединение **P1-8** (13 г, выход 89%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 379 ($M + H$)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*dd*) δ 7.60-7.20 (m, 5H), 7.00-6.82 (m, 2H), 6.73 (d, $J=7.1$ Гц, 1H), 5.03 (s, 2H), 3.66 (s, 3H), 2.95-2.58 (m, 2H), 2.36-2.10 (m, 3H), 2.10-1.85 (m, 2H), 1.70-1.48 (m, 2H), 1.44-1.21 (m, 4H), 1.15 (t, $J=17.2$ Гц, 1H), 1.01 (s, 3H) ppm.

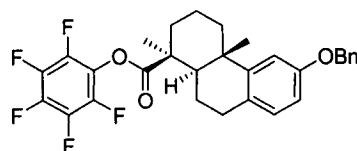
1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоновая кислота (**P1-9**)



[00252] Смесь соединения **P1-8** (11 г, 29 ммоль) и калия трет-бутоксид (33 г, 0.29 моль) в ДМСО (0.19 л) перемешивали при 100°C на протяжении одного часа до полного удаления метиловой группы под контролем жидкостной хроматомасс-

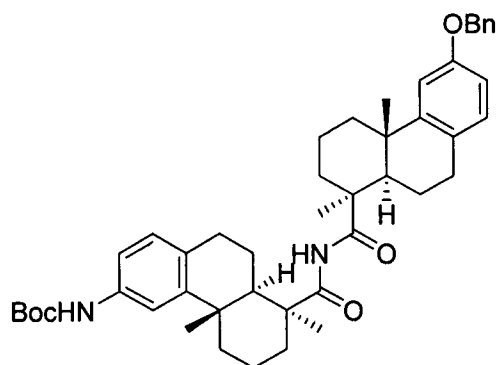
спектрометрии и тонкослойной хроматографии. После охлаждения смеси до 25°C реакцию остановили при помощи водного гидрохлорида (1 N) и смесь экстрагировали этилацетатом. Объединенный органический раствор промыли рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (0-24% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **P1-9** (7.5 г, выход 71%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 365 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 7.42 (d, J=7.4 Гц, 2H), 7.36 (t, J=7.5 Гц, 2H), 7.30 (t, J=7.3 Гц, 1H), 6.92 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.87 (d, J=2.5 Гц, 1H), 6.72 (dd, J=8.4, 2.5 Гц, 1H), 5.02 (s, 2H), 2.82 (dd, J=16.3, 4.4 Гц, 1H), 2.77-2.65 (m, 1H), 2.24 (d, J=13.2 Гц, 2H), 2.19 (dd, J=13.8, 6.0 Гц, 1H), 2.11-1.96 (m, 2H), 1.64-1.56 (m, 1H), 1.53 (d, J=11.0 Гц, 1H), 1.35 (td, J=13.3, 3.7 Гц, 1H), 1.30 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.11-1.05 (m, 1H) ppm.

Пентафторфенил (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксилат (**P1-10**)



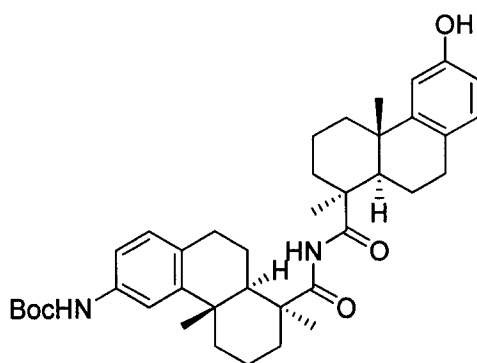
[00253] К раствору **P1-9** (9.6 г, 26 ммоль) в ДМА (100 мл) добавили DIPEA (14 мл, 79 ммоль) и перфторфенил 2,2,2-трифторацетат (15 г, 53 ммоль). Эту смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи и процесс контролировали посредством жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь затем разбавили эфиром (200 мл) и промыли водой (300 мл) и рассолом (200 мл). Органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-10% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **P1-10** (12 г, выход 88%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 531 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 7.43 (d, J=7.1 Гц, 2H), 7.38 (t, J=7.4 Гц, 2H), 7.31 (t, J=7.2 Гц, 1H), 6.93 (dd, J=10.2, 5.5 Гц, 2H), 6.76 (dd, J=8.4, 2.5 Гц, 1H), 5.05 (s, 2H), 2.81 (dd, J=16.3, 4.5 Гц, 1H), 2.77-2.68 (m, 1H), 2.28-2.19 (m, 2H), 2.18 (dd, J=13.4, 5.6 Гц, 1H), 2.00-1.83 (m, 2H), 1.74 (d, J=11.8 Гц, 1H), 1.65 (d, J=14.1 Гц, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.38-1.27 (m, 2H), 1.08 (s, 3H) ppm.

трет-бутил *N*-[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамат (**P1-11**)



[00254] К раствору соединения **P1-6** (2.3 г, 6.2 ммоль) в THF (20 мл) добавили по каплям *n*-BuLi (2.5 М в гексане, 5.5 мл, 14 ммоль) при -78 °С. Реакционную смесь перемешивали при этой температуре на протяжении 1 часа. К смеси добавили раствор **P1-10** (3.0 г, 5.6 ммоль) в ТГФ (20 мл) и полученную смесь перемешивали при 10-20°С на протяжении ночи до разрушения соединения **P1-10** согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакцию остановили при помощи насыщ. водного хлорида аммония и смесь экстрагировали этилацетатом. Объединенный органический раствор промыли водой и рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-30% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **P1-11** (1.59 г, выход 51%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 719 (M+1)⁺.

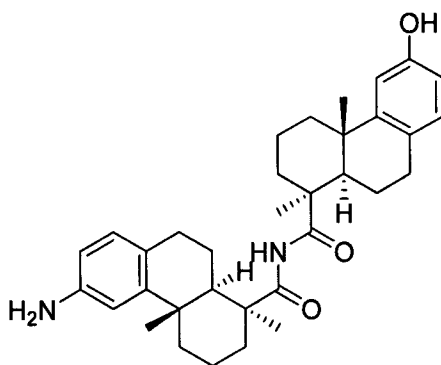
трет-бутил *N*-[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамат (**P1-12**)



[00255] К раствору **P1-11** (2.0 г, 2.78 ммоль) в этилацетате (40 мл) добавили влажный палладиевый катализатор на углеродном носителе (10% Pd, 0.9 г) в азотной атмосфере. Смесь дегазировали, продули водородом и перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода из баллона на протяжении ночи до тех пор, пока соединение **P1-11** не было полностью разрушено, под контролем жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Смесь профильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток

очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (0-55% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **P1-12** (1.06 г, выход 61%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 629 ($M + H$)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.10 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.15 (d, $J=7.5$ Гц, 1H), 6.90 (d, $J=8.4$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.63 (d, $J=2.3$ Гц, 1H), 6.50 (dd, $J=8.2, 2.4$ Гц, 1H), 2.84 (td, $J=16.3, 3.8$ Гц, 2H), 2.77-2.64 (m, 2H), 2.30-2.22 (m, 2H), 2.14 (t, $J=10.9$ Гц, 4H), 2.00-1.80 (m, 4H), 1.65-1.54 (m, 4H), 1.45 (s, 9H), 1.34-1.28 (m, 2H), 1.27 (d, $J=2.5$ Гц, 6H), 1.15-1.08 (m, 2H), 0.99 (s, 6H) ppm.

(1*S*,4*aS*,10*aR*)-*N*-[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-амино-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил]-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**9d**)



[00256] К раствору соединения **P1-12** (0.17 г, 0.27 ммоль) в ДХМ (10 мл) добавили по каплям ТФК (3 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение часа до удаления Вос, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **9d** (0.10 г, выход 70%) в виде белого твердого вещества.

[00257] ЭИ м/з: 529.3 ($M+1$)⁺.

[00258] ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.14 (s, 1H), 6.92 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.86 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 6.73 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 6.65-6.57 (m, 2H), 6.50 (dd, $J=8.1, 2.3$ Гц, 1H), 4.75 (s, 1H), 3.49 (s, 1H), 2.99-2.85 (m, 2H), 2.79 (tt, $J=11.6, 5.8$ Гц, 2H), 2.34-2.14 (m, 6H), 2.15-1.95 (m, 4H), 1.74-1.51 (m, 5H), 1.46-1.34 (m, 2H), 1.30 (s, 6H), 1.21-1.06 (m, 8H) ppm.

[00259] ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.99 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 6.81 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 6.68 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 6.63 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 6.50 (dd, $J=8.0, 2.5$ Гц, 1H), 6.48 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 6.34 (dd, $J=8.0, 2.5$ Гц, 1H), 4.69 (s, 2H), 2.86-2.60 (m, 4H), 2.28-2.10 (m, 6H), 1.94-1.75 (m, 4H), 1.65-1.53 (m, 4H), 1.35-1.20 (m, 8H), 1.20-1.06 (m, 2H), 0.98 (s, 6H) ppm.

[00260] ^{13}C ЯМР (100 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 174.03, 173.92, 155.34, 148.39, 147.63, 146.43, 129.56, 129.09, 124.60, 121.65, 113.23, 112.58, 111.81, 110.77, 52.32, 52.09, 45.56, 45.52, 39.20, 39.36, 38.23, 38.17, 37.18, 37.12, 31.08, 31.00, 27.65, 27.64, 23.08, 23.03, 21.43, 21.27, 19.64, 19.61 ppm.

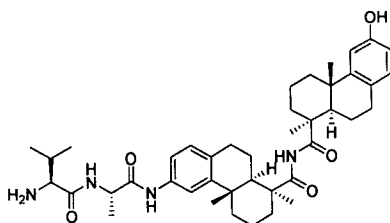
[00261] ВЭЖХ (способ В): Время удерживания: 8.92 мин, чистота: 99.4%. хиральная ВЭЖХ: >99.9% (в колонке AD, AS, OD и OJ).

[00262] Оптическое вращение (α): +2.53° (1.7 g/100 мл THF, 25 °C).

ПРИМЕР 1b

Синтез **LP8** (ФИГ. 1b)

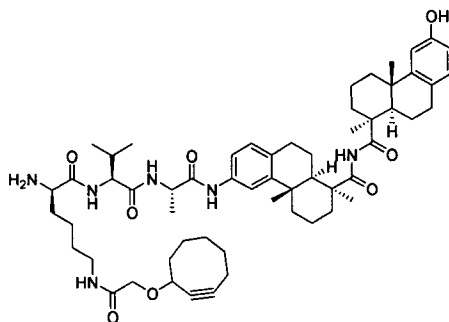
(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-((*S*)-2-((*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**LP1-2**)



[00263] К раствору **9d** (53 мг, 0.10 ммоль) в DMF (1 мл) добавили Fmoc-Val-Ala-OH (41 мг, 0.10 ммоль), HATU (38 мг, 0.1 ммоль) и диизопропилэтиламин (26 мг, 0.20 ммол) последовательно. После перемешивания при 25°C в течение 24 часов до полного разрушения **9d**, согласно жидкостной хроматомасс-спектрометрии, к смеси добавили пиперидин (0.1 мл) и полученную смесь перемешивали при 25°C на протяжении еще 3 часов. После фильтрации фильтрат напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **LP1-2** (45 мг, выход 64%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 699 ($\text{M}+1$)⁺. ^1H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 8.40 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.32 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 7.03 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.88 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.72 (d, $J=2.4$ Гц, 1H), 6.56 (dd, $J=8.3, 2.4$ Гц, 1H), 4.60-4.48 (m, 1H), 3.22-3.11 (m, 1H), 3.02-2.93 (m, 1H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.74-2.70 (m, 1H), 2.43-2.31 (m, 3H), 2.28 (d, $J=14.1$ Гц, 3H), 2.16-1.96 (m, 3H), 1.81 (s, 1H), 1.78-1.65 (m, 4H), 1.53-1.42 (m, 4H), 1.38 (d, $J=5.3$ Гц, 6H), 1.33-1.22 (m, 2H), 1.14 (d, $J=6.6$ Гц, 6H), 1.09 (d, $J=18.6$ Гц, 6H) ppm.

(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-((2*S*)-2-((2*S*)-2-((2*R*)-2-амино-6-(2-(циклоокт-2-инилокси)ацетида)гексанамидо)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-

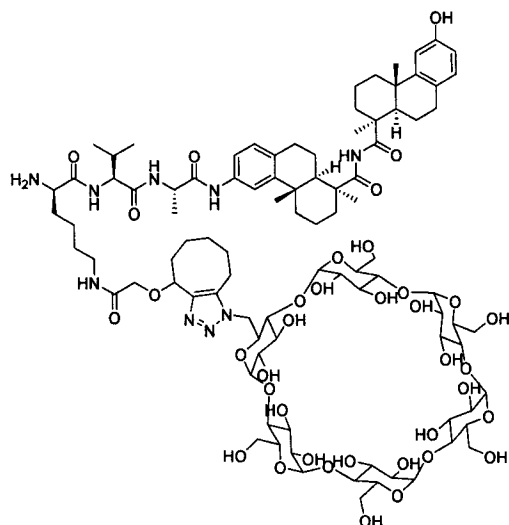
1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**LP1-4**)



[00264] К раствору соединения **LP1-3** (35 мг, 0.064 ммоль) в ДМФ (1 мл) добавили НАТУ (24 мг, 0.064 ммоль) и соединение **LP1-2** (45 мг, 0.064 ммоль) последовательно при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение нескольких минут при комнатной температуре до получения однородной смеси. К этой смеси добавили диизопропилэтиламин (41 мг, 0.32 ммоль) при комнатной температуре шприцом. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (16 часов) до тех пор, пока соединение **LP1-2** было, по большей части, разрушено, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. К данной реакционной смеси затем добавили пиперидин (0.1 мл, в избытке) по каплям при комнатной температуре и смесь перемешивали еще на протяжении 3 часов до удаления Fmoc, что контролировалось жидкостной хроматомасс-спектрометрией. Реакционную смесь напрямую очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии либо преп-ВЭЖХ (способ В, базовые условия), в результате чего получили соединение **LP1-4** (30 мг, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 991 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 7.51 (d, J=1.5 Гц, 1H), 7.37 (dd, J=8.3, 2.0 Гц, 1H), 7.02 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.89 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.72 (d, J=2.4 Гц, 1H), 6.56 (dd, J=8.3, 2.5 Гц, 1H), 4.64-4.57 (m, 1H), 4.48 (q, J=7.1 Гц, 1H), 4.33-4.27 (m, 1H), 4.20 (d, J=6.7 Гц, 1H), 3.93 (m, 2H), 3.43 (t, J=6.6 Гц, 1H), 3.24 (t, J=6.9 Гц, 2H), 3.02-2.93 (m, 2H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.40-2.32 (m, 2H), 2.33-2.23 (m, 4H), 2.22-2.12 (m, 3H), 2.12-2.00 (m, 5H), 1.99-1.91 (m, 1H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.78-1.66 (m, 6H), 1.66-1.58 (m, 1H), 1.58-1.49 (m, 2H), 1.45 (d, J=7.1 Гц, 6H), 1.38 (d, J=4.0 Гц, 6H), 1.34-1.22 (m, 4H), 1.14 (d, J=7.0 Гц, 6H), 1.06-0.98 (m, 6H) ppm.

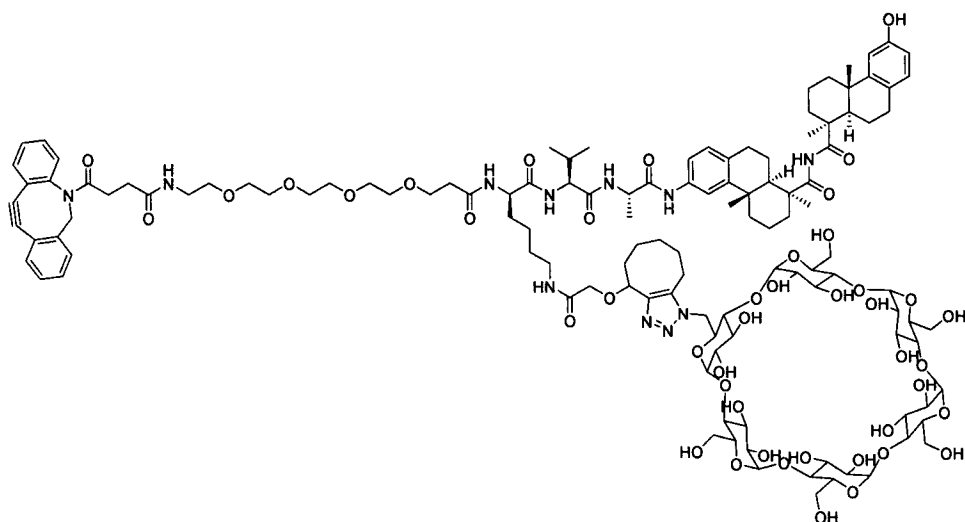
(1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-амино-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил]метил}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-

ил]карбонил}-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**LP1-5**)



[00265] К раствору соединения **LP1-4** (30 мг, 30 мкмоль) в DMF (0.5 мл) добавили раствор CD-N₃ (60 мг, 60 мкмоль) в DMF (0.5 мл) при комнатной температуре шприцом. Смесь перемешивали при 20-25°C в течение 3 дней. Соединение **LP1-4** было, по большей части, разрушено, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **LP1-5** (14 мг, выход 23%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 995 (M/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 8.40 (s, 1H), 7.56-7.52 (m, 1H), 7.32 (t, J=7.7 Гц, 1H), 7.03 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.88 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.72 (d, J=2.4 Гц, 1H), 6.56 (dd, J=8.2, 2.3 Гц, 1H), 5.24-5.16 (m, 1H), 5.01-4.95 (m, 6H), 4.65-4.59 (m, 1H), 4.52-4.44 (m, 1H), 4.31-4.22 (m, 2H), 4.13-3.73 (m, 22H), 3.63-3.43 (m, 14H), 3.14-2.72 (m, 7H), 2.45-2.32 (m, 3H), 2.28 (d, J=13.8 Гц, 3H), 2.22-1.85 (m, 11H), 1.82-1.59 (m, 9H), 1.55-1.41 (m, 8H), 1.38 (d, J=5.3 Гц, 6H), 1.31-1.26 (m, 3H), 1.14 (d, J=7.2 Гц, 6H), 1.06-0.93 (m, 6H) ppm.

1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил]метил}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}пентил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (**LP8**)

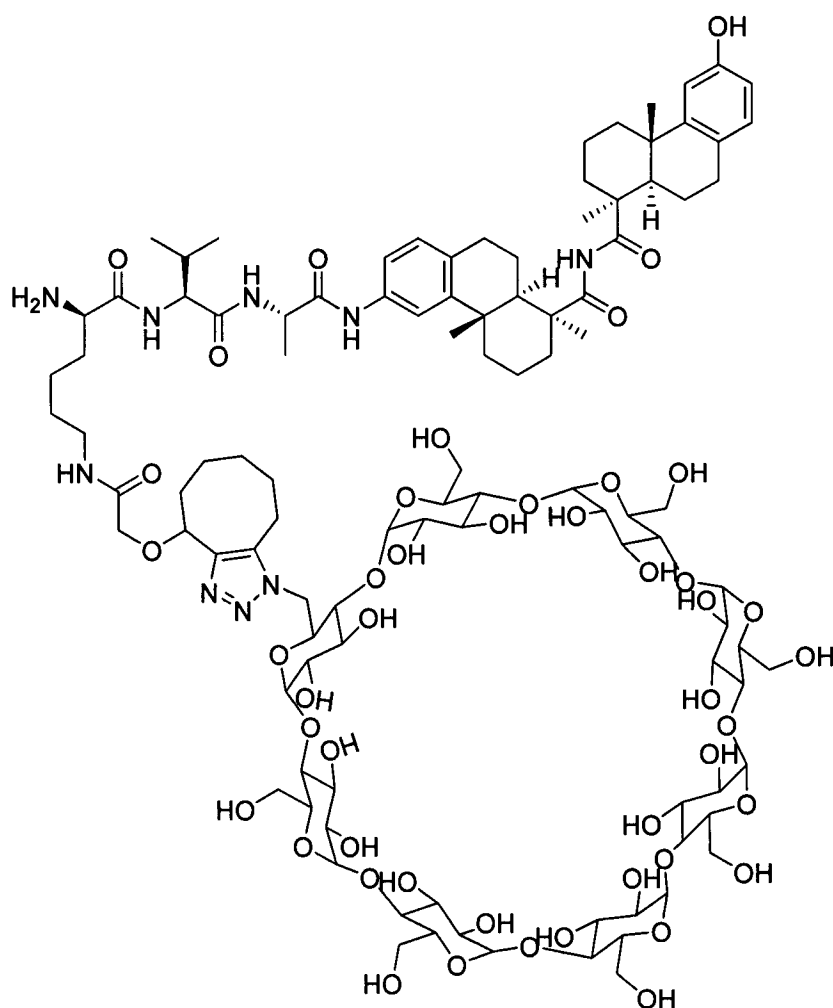


[00266] К раствору соединения **LP1-5** (14 мг, 7.4 мкмоль) и DIBAC-Suc-PEG₄-OSu (6.5 мг, 10 мкмоль) в ДМФ (1 мл) добавили триэтиламин (2.0 мг, 20 мкмоль) и смесь перемешивали при 20-25°C на протяжении 16 часов. Большую часть летучих веществ удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **LP8** (5.0 мг, выход 27%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 1261 (M/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.69-7.44 (m, 6H), 7.41-7.30 (m, 3H), 7.26 (d, *J*=6.8 Гц, 1H), 7.04-6.96 (m, 1H), 6.88 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.72 (d, *J*=1.9 Гц, 1H), 6.56 (dd, *J*=8.3, 2.4 Гц, 1H), 5.25-5.18 (m, 1H), 5.17-5.08 (m, 1H), 5.01-4.94 (m, 4H), 4.61 (s, 16H), 4.53-4.13 (m, 5H), 4.03-3.80 (m, 18H), 3.74-3.64 (m, 3H), 3.63-3.41 (m, 23H), 3.28-2.76 (m, 12H), 2.76-2.65 (m, 1H), 2.56-2.44 (m, 2H), 2.42-2.31 (m, 4H), 2.30-2.23 (m, 4H), 2.18-1.92 (m, 9H), 1.79-1.55 (m, 9H), 1.49-1.34 (m, 9H), 1.33-1.22 (m, 3H), 1.18-1.10 (m, 6H), 1.06-0.94 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 1с

Синтез **LP32** (ФИГ. 1с)

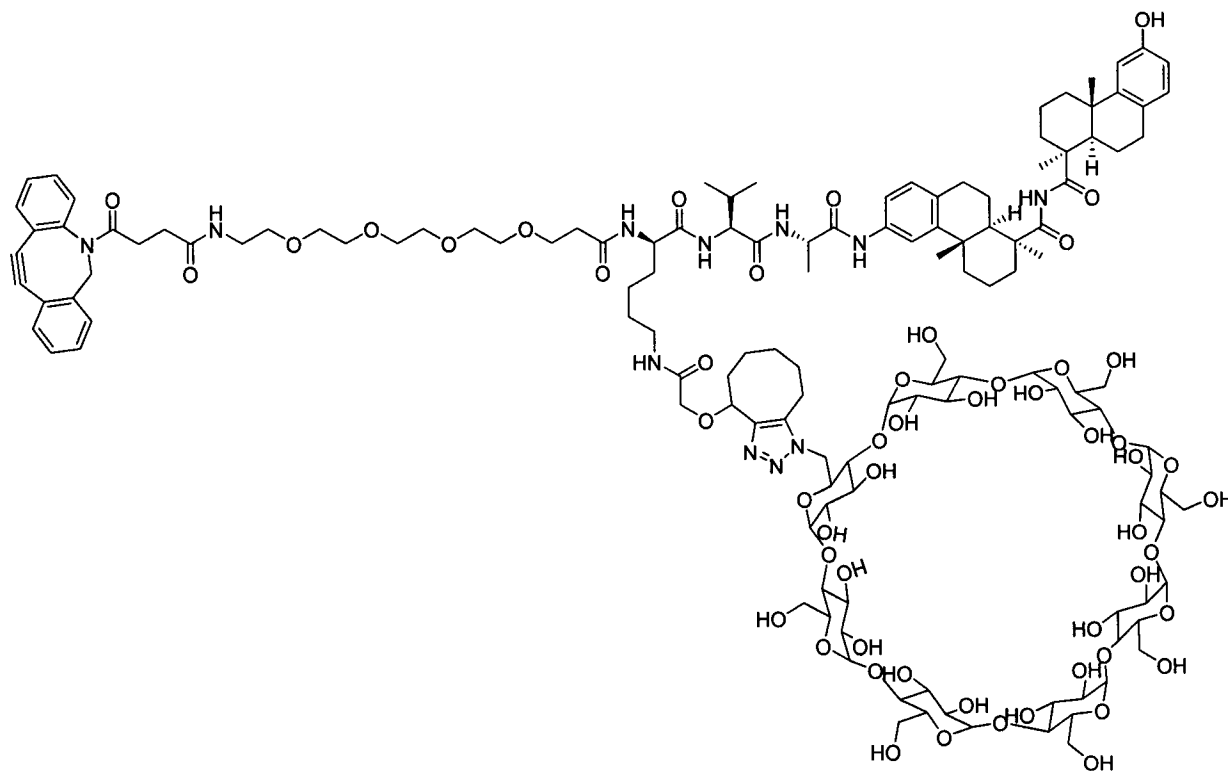
(1*S*,4*aS*,10*aR*)-*N*-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-амино-6-{2-[(1-{[41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56-гексадекагидрокси-10,15,20,25,30,35,40-гептакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29,32,34,37,39-гексадекаоксаноацикло[36.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}.2^{28,31}.2^{33,36}]гексапентанконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]пропанамидо]-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрэн-1-ил]карбонил}-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрэн-1-карбоксамид (**LP2-5**)



[00267] К раствору соединения **LP1-4** (30 мг, 0.030 ммоль) в ДМФ (2 мл) добавили γ CD- N_3 (0.12 мг, 0.091 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов, что контролировалось жидкостной хроматомасс-спектрометрией. Смесь отфильтровали через мембрану и затем фильтрат очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А), в результате чего получили соединение **LP2-5** (40 мг, выход 57%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 1157.6 ($M/2 + 1$)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСO-*d*₆) δ 9.82 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.55 (d, $J=9.0$ Гц, 1H), 8.39 (d, $J=6.5$ Гц, 1H), 8.11-8.04 (m, 4H), 7.93-7.88 (m, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.35 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 6.97 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.50 (d, $J=11$ Гц, 1H), 5.89-5.68 (m, 16H), 5.16-4.32 (m, 19H), 3.94-3.80 (m, 4H), 3.69-3.51 (m, 50H), 3.18-2.64 (m, 8H), 2.33-1.85 (m, 12H), 1.65-1.11 (m, 25H), 0.99 (d, $J=9.5$ Гц, 6H), 0.89-0.83 (m, 6H) ppm.

1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*R*)-1-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-{2-[(1-{[41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56-

гексадекагидрокси-10,15,20,25,30,35,40-гептакис(гидроксиметил)-
 2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29,32,34,37,39-
 гексадекаоксана цикло[36.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}.2^{28,31}.2^{33,36}]гексапентаконтан-5-
 ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*- циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-ид)окси]ацетамидо}пенсил
]-3,6,9,12-тетраокспентадекан-амид (**LP32**)

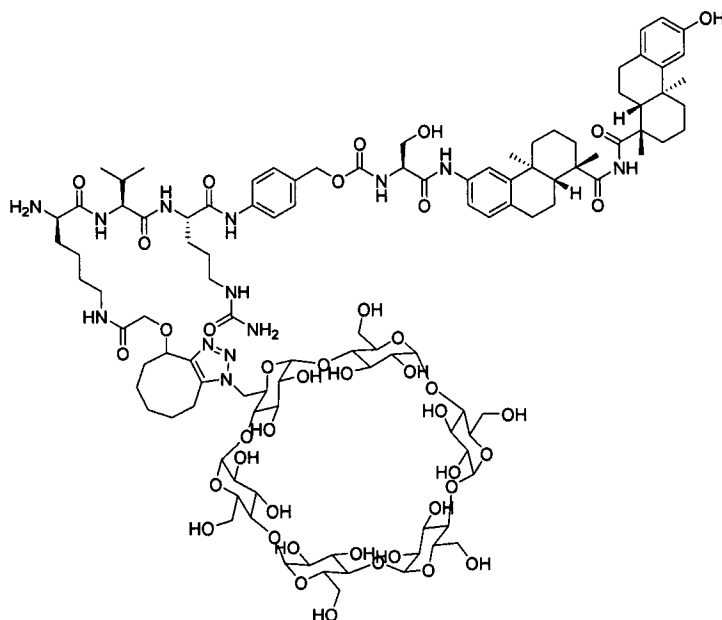


[00268] К раствору соединения **LP2-6** (4.3 мг, 7.8 мкмоль) в безводном ДМФ (1 мл) добавили НАТУ (3.0 мг, 7.8 мкмоль). Смесь перемешивали при 10°C на протяжении 10 минут, а затем добавили соединение **LP2-5** (15 мг, 6.5 мкмоль) и DIPEA (1.7 мг, 13 мкмоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов до полного разрушения **LP2-5**, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Смесь отфильтровали через мембрану и фильтрат очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **LP32** (6.0 мг, выход 32%) в виде белого твердого вещества. ЭИ m/z : 1424.2 ($M/2 + 1$)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.26 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.24-7.98 (m, 4H), 7.81 (d, $J=5.6$ Гц, 1H), 7.72 (t, $J=5.5$ Гц, 1H), 7.67 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 7.61 (d, $J=7.4$ Гц, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.53-7.25 (m, 7H), 6.95 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=8.4$ Гц, 1H), 6.63 (d, $J=2.1$ Гц, 1H), 6.50 (dd, $J=8.2, 2.1$ Гц, 1H), 5.94-5.58 (m, 15H), 5.39-4.43 (m, 17H), 4.37-4.24 (m, 3H), 4.13-4.08 (m, 1H), 3.98-3.33 (m, 52H), 3.26-2.52 (m, 18H), 2.40-1.18 (m, 48H), 1.18-0.63 (m, 19H) ppm. Растворимость: 0.075 мг/мл H₂O.

ПРИМЕР 1d

Синтез **LP13** (ФИГ. 1d)

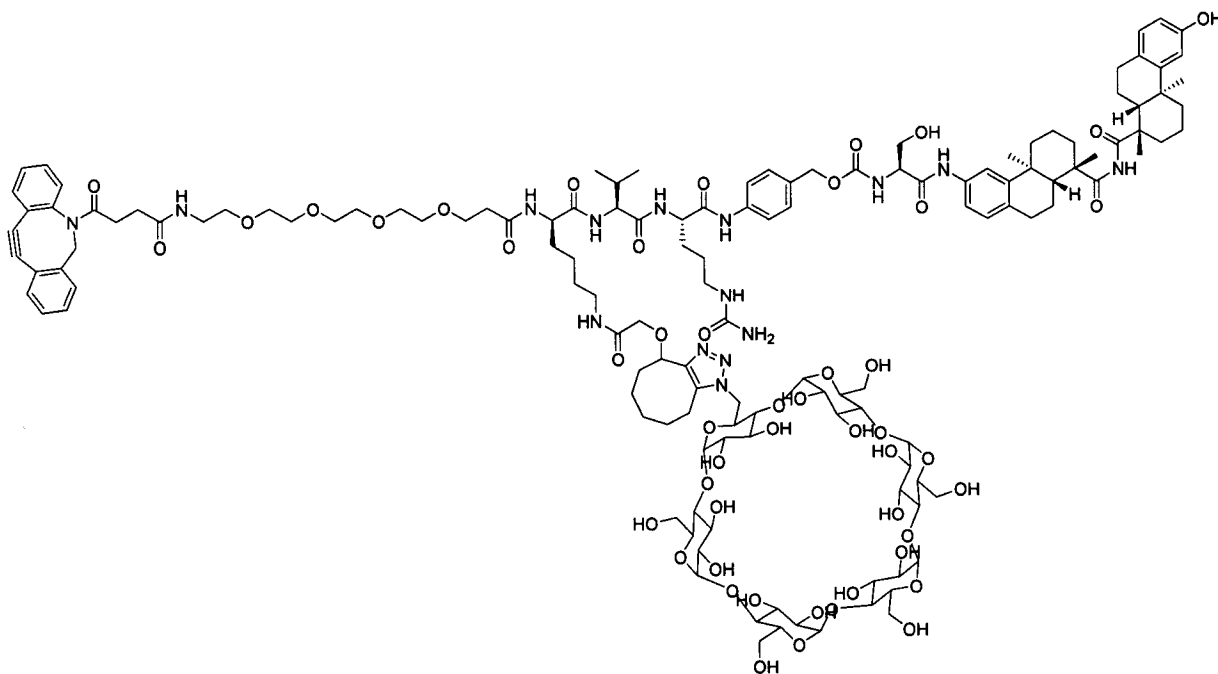
{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-амино-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамат (**LP5-1**)



[00269] К раствору соединения **LP15** (20 мг, 15 мкмоль) в DMF (1 мл) добавили раствор CD-N₃ (46 мг, 45 мкмоль) в ацетонитриле (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при 30°C в течение 16 часов. Соединение **LP15** было, по большей части, разрушено, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **LP5-1** (20 мг, выход 57%) в виде белого твердого вещества. ЭИ *m/z*: 1156.0 (*M*/2 + 1)⁺.

{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил]метил}-

1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(1*S*)-1-{{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамат (**LP13**)

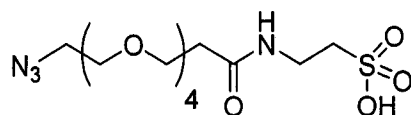


[00270] К раствору DIBAC-PEG₄-acid **LP5-2** (4.3 мг, 7.8 мкмоль) в ДМФ (1 мл) добавили НАТУ (3.0 мг, 3.6 мкмоль) и DIPEA (1.7 мг, 13 мкмоль) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 минут. Затем к смеси добавили **LP5-1** (15 мг, 6.5 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 2 часов до завершения реакции, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь отфильтровали и очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **LP13** (10 мг, выход 42%) в виде белого твердого вещества. ЭИ *m/z*: 1424.3 (*M*/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.81-9.67 (m, 2H), 8.99 (s, 1H), 8.20-8.06 (m, 5H), 7.85-7.22 (m, 18H), 6.97-6.49 (m, 2H), 5.98 (s, 1H), 5.65-5.33 (m, 15H), 5.14-4.92 (m, 5H), 4.82-4.72 (m, 6H), 4.60-4.54 (m, 4H), 4.36-4.28 (m, 3H), 4.18-3.96 (m, 3H), 3.85-3.55 (m, 27H), 3.49-3.39 (m, 23H), 3.28-3.08 (m, 8H), 2.94-2.57 (m, 4H), 2.42-2.07 (m, 8H), 1.99-1.45 (m, 22H), 1.28-1.11 (m, 23H), 1.05-0.95 (m, 6H), 0.89-0.79 (m, 7H) ppm.

ПРИМЕР 1e

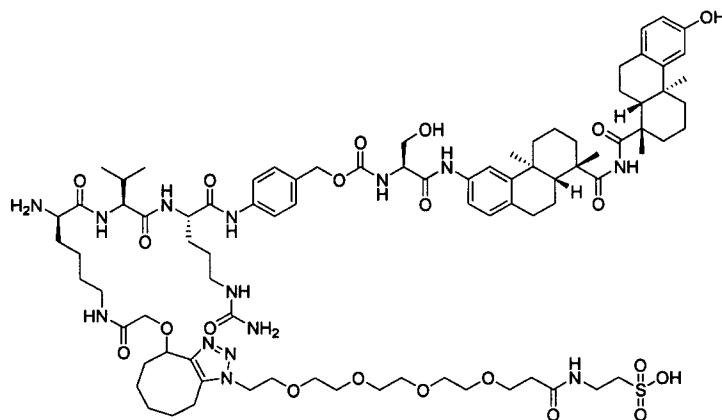
Синтез **LP36** (ФИГ. 1e)

1-азидо-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азаоктадекан-18-сульфоновая кислота (**L6-2**)



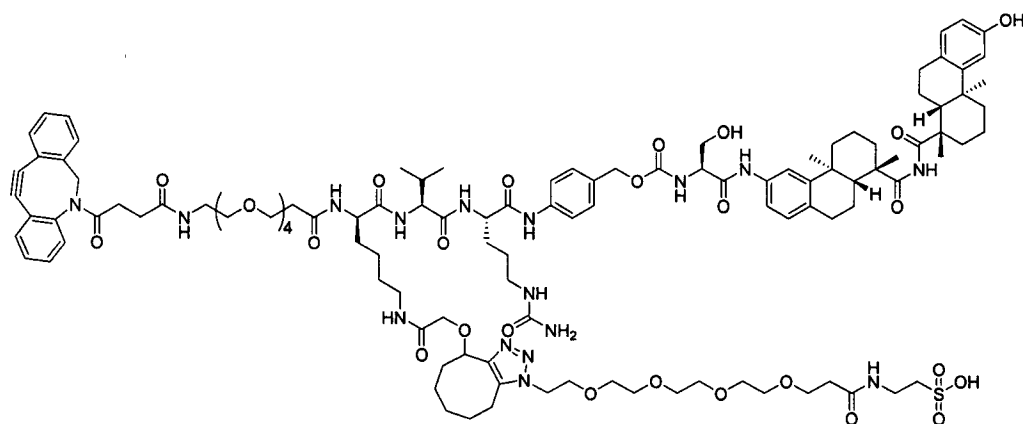
[00271] К раствору азидо-PEG₄-NHS (**L6-1**, 0.10 г, 0.26 ммоль) в безводном ДМФ (4 мл) добавили таурин (39 мг, 0.31 ммоль) и DIPEA (15 мг, 0.52 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °С на протяжении ночи. Смесь отфильтровали и фильтрат очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А), в результате чего получили соединение **LP6-2** (80 мг, выход 78%) в виде бесцветного масла. ЭИ м/з: 399.1 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 3.69 (t, J=6.0 Гц, 2H), 3.64-3.59 (m, 14H), 3.49 (t, J=6.5 Гц, 2H), 3.41 (t, J=4.5 Гц, 2H), 3.00 (t, J=7.0 Гц, 2H), 2.45 (t, J=6.0 Гц, 2H) ppm.

2-{1-[4-({[(5R)-5-амино-5-{{[(1S)-1-{{[(1S)-1-({4-{{[(1S)-1-{{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамоил}окси)метил]фенил}карбамоил)-4-(карбамоиламино)бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоновая кислота (**LP6-3**)



[00272] К раствору соединения **LP6-2** (20 мг, 50 мкмоль) в воде (1 мл) добавили по каплям насыщ. водный раствор бикарбоната натрия при 0°С до pH ~ 7. К перемешанному раствору затем добавили раствор соединения **LP15** (28 мг, 21 мкмоль) в ацетонитриле (1 мл) шприцом. Смесь перемешивали при 25 °С на протяжении ночи. Реакционную смесь контролировали посредством жидкостной хроматомасс-спектрометрии до полного разрушения соединения **LP15**. Реакционную смесь отфильтровали и очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А), в результате чего получили **LP6-3** (15 мг, выход 41%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 856.5 (M/2 + 1)⁺.

2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамино)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-({4-({[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо} карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамоил}окси)метил]фенил}карбамоил)-4-(карбамоиламино)бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-сульфоновая кислота (**LP36**)

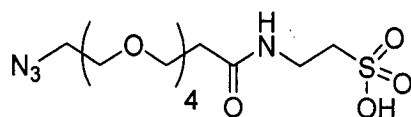


[00273] К раствору соединения **LP6-3** (15 мг, 8.8 мкмоль) и коммерчески доступного DIBAC-Suc-PEG₄-OSu **LP6-4** (5.7 мг, 8.8 мкмоль, CAS 1427004-19-0) в ДМФ (1 мл) добавили DIPEA (2.3 мг, 18 мкмоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Большую часть летучих веществ удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **LP36** (6.0 мг, выход 30%) в виде белого твердого вещества. ЭИ *m/z*: 1123.8 (*M*/2+*H*)⁺, 749.5 (*M*/3 + *H*)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.76-7.16 (m, 14H), 7.06-7.00 (m, 1H), 6.88 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.56-6.55 (m, 1H), 5.39-5.33 (m, 1H), 5.14-5.09 (m, 5H), 4.61 (s, 18H), 4.50-4.43 (m, 2H), 4.33-4.30 (m, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.89-3.85 (m, 3H), 3.73-3.42 (m, 28H), 3.25-2.72 (m, 8H), 2.45 (t, *J*=7.5 Гц, 2H), 2.36-1.96 (m, 18H), 1.81-1.51 (m, 12H), 1.45-1.32 (m, 15H), 1.12-0.89 (m, 12H) ppm.

ПРИМЕР 1f

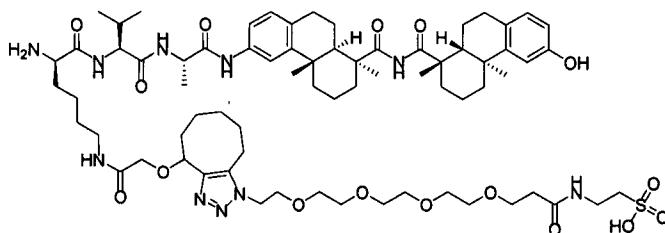
Синтез **LP18** (ФИГ. 1f)

1-азидо-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азаоктадекан-18-сульфоновая кислота (**L18-2**)



[00274] К раствору азидо-PEG₄-NHS (**L18-1**, 0.10 г, 0.26 ммоль) в безводном ДМФ (4 мл) добавили таурин (39 мг, 0.31 ммоль) и DIPEA (15 мг, 0.52 ммоль). Смесь перемешивали при 25°C на протяжении ночи. Смесь отфильтровали и фильтрат очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А), в результате чего получили соединение **LP18-2** (80 мг, выход 78%) в виде бесцветного масла. ЭИ м/з: 399.1 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 3.69 (t, J=6.0 Гц, 2H), 3.64-3.59 (m, 14H), 3.49 (t, J=6.5 Гц, 2H), 3.41 (t, J=4.5 Гц, 2H), 3.00 (t, J=7.0 Гц, 2H), 2.45 (t, J=6.0 Гц, 2H) ppm.

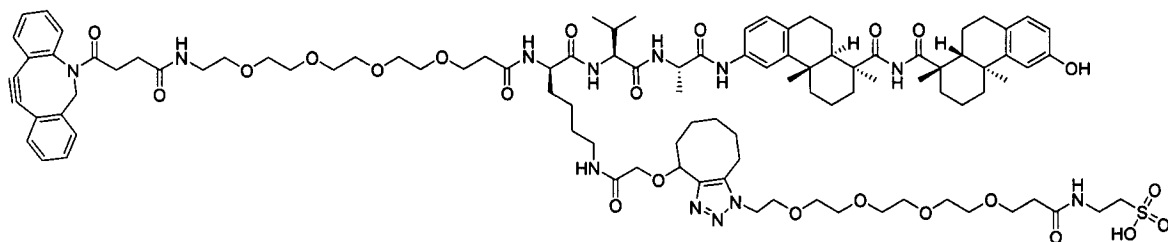
1-(4-(2-((R)-5-амино-6-((S)-1-((S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонилкарбамоил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-иламино)-1-оксопропан-2-иламино)-3-метил-1-оксобутан-2-иламино)-6-оксогексиламино)-2-оксоэтокси)-4,5,6,7,8,9-гексагидро-1H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил)-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азаоктадекан-18-сульфоновая кислота (**LP18-3**)



[00275] К раствору соединения **LP1-4** (40 мг, 40 мкмоль) в ДМФ (1 мл) добавили азид**LP18-2** (40 мг, 0.10 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов, пока жидкостная хроматомасс-спектрометрия не показала завершение реакции. Реакционную смесь напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ, в результате чего получили **LP18-3** (43 мг, выход 77%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 695.4 (M/2+H)⁺.

2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-5-{{[(1S)-1-{{[(1S)-1-{{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]карбамоил}метокси)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-1-ил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}этан-1-

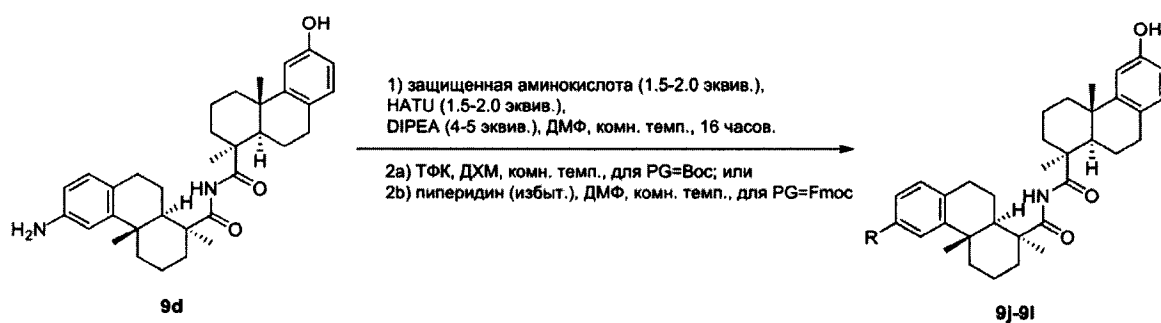
сульфоновая кислота (**LP18**)



[00276] К раствору соединения **LP18-3** (30 мг, 22 мкмоль) в ДМФ (1 мл) добавили раствор DIBAC-suc-PEG₄-OSu (**LP18-4**, 14 мг, 22 мкмоль) в ДМФ (1 мл) и DIPEA (4 мг, 32 мкмоль) последовательно при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Реакционную смесь напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **LP18** (15 мг, выход 37%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 642 (M/3 + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9.68-9.27 (m, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.23-7.85 (m, 4H), 7.79-7.71 (m, 2H), 7.76-7.42 (m, 6H), 7.39-7.28 (m, 3H), 7.21 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.96-6.93 (m, 2H), 6.81 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.4 Гц, 1H), 6.50 (dd, *J*=8.4 Гц, 2.4 Гц, 1H), 5.02 (d, *J*=14.0 Гц, 1H), 4.93-4.72 (m, 1H), 4.53-4.09 (m, 5H), 3.82-3.75 (m, 4H), 3.62-3.53 (m, 3H), 3.51-3.38 (m, 23H), 3.30-3.27 (m, 6H), 3.12-2.67 (m, 10H), 2.61-2.54 (m, 4H), 2.39-1.52 (m, 31H), 1.45-1.08 (m, 18H), 1.01-0.98 (m, 6H), 0.90-0.82 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 1g

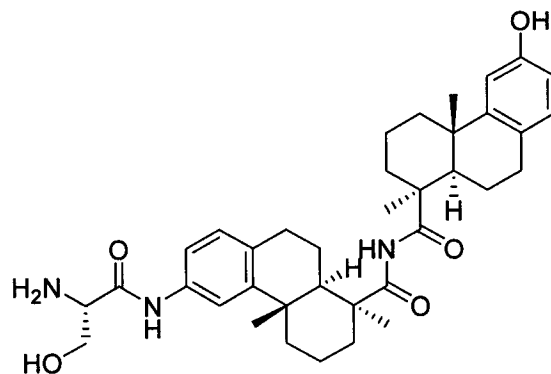
Синтез нагрузки **9j**, нагрузки **9o** и нагрузки **9l**



Соединение	R	PG	Выход
9j	NHC(O)(<i>S</i>)-CH(CH ₂ OH)NH ₂ (Ser)	Fmoc	51%
9o	NHC(O)(<i>S</i>)-CH(CH ₂ CH ₂ COOH)NH ₂ (Glu)	tBu, Boc	46%
9l	NHC(O)(<i>S</i>)-CH((CH ₂) ₄ NH ₂)NH ₂ (Lys)	Boc, Boc	49%

Нагрузка 9j

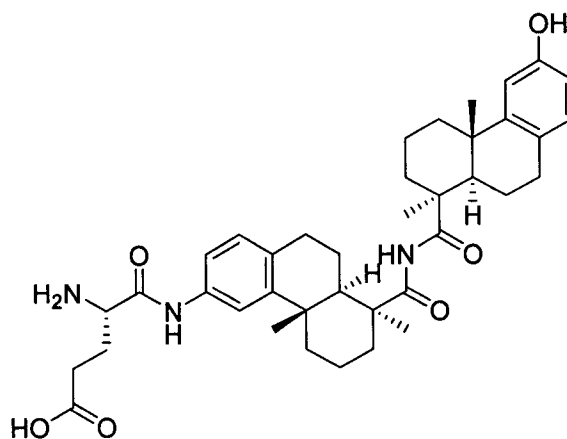
(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-((*S*)-2-амино-3-гидроксипропанамидо)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксаимд (**9j**)



[00277] К раствору Fmoc-Ser-OH (33 мг, 0.1 ммоль) в DMF (1 мл) добавили HATU (38 мг, 0.1 ммоль) и DIPEA (39 мг, 0.3 ммоль) при 25 °С. Реакционную смесь перемешивали при этой температуре на протяжении 1 часа. Затем к смеси добавили **9d** (30 мг, 0.06 ммоль). Затем реакционную смесь перемешивали при 25°С в течение 16 часов, и **9d** было полностью разрушено (по результатам контроля жидкостной хроматомасс-спектрометрии), пиперидин (0.2 мл) добавили в смесь, а затем перемешивали ее на протяжении еще 30 минут при комнатной температуре. Остаток напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **9j** (18 мг, выход 51%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 616 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.74 (br s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.41 (dd, *J*=8.2, 2.0 Гц, 1H), 6.96 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.50 (dd, *J*=8.2, 2.4 Гц, 1H), 4.82 (t, *J*=5.5 Гц, 1H), 3.62-3.45 (m, 2H), 2.97-2.67 (m, 4H), 2.67-2.61 (m, 2H), 2.33-2.21 (m, 2H), 2.21-2.03 (m, 4H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.43-1.37 (m, 1H), 1.36-1.20 (m, 8H), 1.23-1.06 (m, 2H), 1.06-0.93 (m, 6H) ppm.

Нагрузка 9o

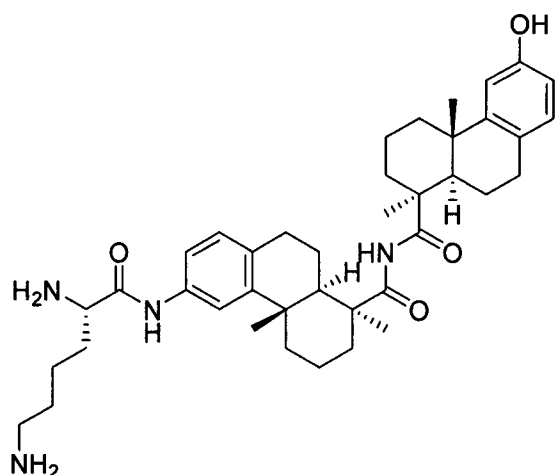
(4*S*)-4-амино-4-[[[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-[[[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил]-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}бутановая кислота; трифторуксусной кислоты соль (**9o**)



[00278] К раствору OtBu-*N*-Boc-Glu-OH (15 мг, 0.05 ммоль) в ДМФ (1 мл) добавили HATU (19 мг, 0.05 ммоль) и DIPEA (13 мг, 0.1 ммоль) при 25 °С. Реакционную смесь перемешивали при этой температуре на протяжении 1 часа. Затем к смеси добавили **9d** (14 мг, 0.026 ммоль). После перемешивания при 25°C в течение 16 часов и после полного разрушения **9d** (по результатам контроля жидкостной хроматомасс-спектрометрии) реакционную смесь разбавили этилацетатом и промыли водой и рассолом. Органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Осадок растворили в ДХМ (1 мл) и к раствору медленно добавили ТФК (0.1 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А), в результате чего получили **9o** (8 мг, выход 46%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 658.3 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.32 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.35 (d, *J*=8.2 Гц, 1H), 7.02 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.1 Гц, 1H), 6.50 (dd, *J*=8.2, 2.3 Гц, 1H), 3.87 (t, *J*=6.5 Гц, 1H), 2.97-2.67 (m, 4H), 2.41-2.22 (m, 4H), 2.22-2.08 (m, 4H), 2.05-1.97 (m, 2H), 1.94-1.80 (m, 4H), 1.69-1.52 (m, 4H), 1.42-1.22 (m, 8H), 1.22-1.06 (m, 2H), 1.02 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ -73.50 ppm.

Нагрузка **9l**

(1*S*,4*aS*,10*aR*)-*N*-[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил]-6-[(2*S*)-2,6-диаминогексанамидо]-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксамид; соль трифторуксусной кислоты (**9l**)

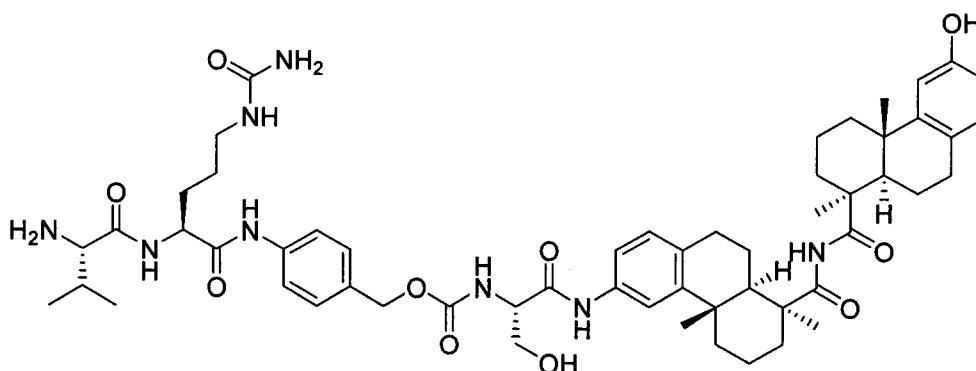


[00279] К раствору Boc-Lys-OH (15 мг, 0.05 ммоль) в ДМФ (1 мл) добавили HATU (19 мг, 0.05 ммоль) и DIPEA (13 мг, 0.1 ммоль) при 25 °С. Реакционную смесь перемешивали при этой температуре на протяжении 1 часа. Затем к смеси добавили **9d** (15 мг, 0.028 ммоль). После перемешивания при 25°C в течение 16 часов и после полного разрушения **9d** (по результатам контроля жидкостной хроматомасс-спектрометрии) реакционную смесь разбавили этилацетатом и промыли водой и рассолом. Органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток (**Boc-9l**) растворили в ДХМ (1 мл) и к раствору медленно добавили ТФК (0.1 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А), в результате чего получили **9l** (9 мг, выход 49%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 657.5 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10.33 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.78 (br s, 6H), 7.51 (s, 1H), 7.34 (d, *J*=8.1 Гц, 1H), 7.02 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.6 Гц, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.51 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 3.82 (s, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.82-2.67 (m, 5H), 2.29 (s, 2H), 2.15 (s, 4H), 1.85 (s, 6H), 1.64-1.51 (m, 6H), 1.28 (d, *J*=6.8 Гц, 10H), 1.13 (s, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ -73.53 ppm.

ПРИМЕР 1h

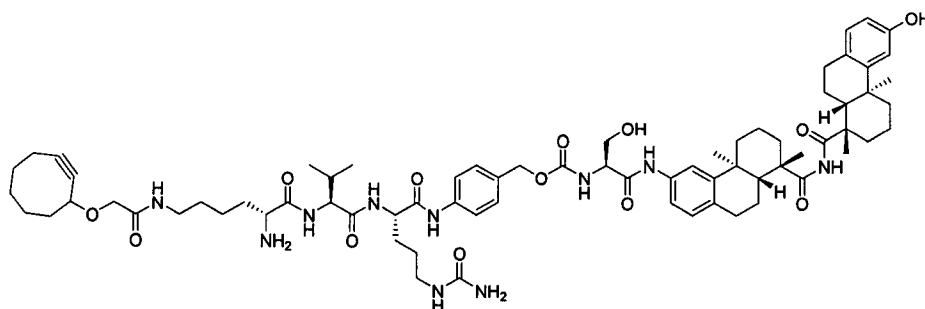
Синтез **LP15** (ФИГ. 1g)

{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамат (**LP4-2**)



[00280] К раствору Fmoc-vc-PAВ-PNP (**LP4-1**, 58 мг, 76 мкмоль) и **9j** (36 мг, 58 мкмоль) в ДМФ (3 мл) добавили HOBt (7.9 мг, 58 мкмоль) и DIPEA (15 мг, 0.12 ммоль) и смесь перемешивали при 30°C в течение 16 часов. Затем соединение **9j** было полностью разрушено, согласно жидкостной хроматомасс-спектрометрии. К полученной смеси добавили диэтиламин (0.1 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении одного часа до удаления Fmoc, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. После фильтрации реакционной смеси фильтрат напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **LP4-2** (36 мг, выход 48%) в виде светло-желтого твердого вещества. ЭИ м/з: 1021 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСO-d₆) δ 10.02 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.69-8.65 (m, 1H), 8.11-8.00 (m, 4H), 7.65-7.53 (m, 3H), 7.40-7.30 (m, 3H), 7.30-7.20 (m, 1H), 6.96 (d, J=8.0 Гц, 1H), 6.81 (d, J=8.0 Гц, 1H), 6.65-6.61 (m, 1H), 6.50 (dd, J=8.0 Гц, 2.0 Гц, 1H), 6.00-5.95 (m, 1H), 5.48 (s, 2H), 5.00-4.95 (m, 3H), 4.60-4.40 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 4H), 3.15-2.55 (m, 10H), 2.40-2.20 (m, 3H), 2.20-2.00 (m, 5H), 2.00-1.80 (m, 4H), 1.86-1.55 (m, 6H), 1.27 (d, J=4.8 Гц, 9H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.97-0.90 (m, 6H) ppm.

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-амино-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиамидо]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоил амино)пентанамидо]фенил}метил N-[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-([[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамат (**LP15**)

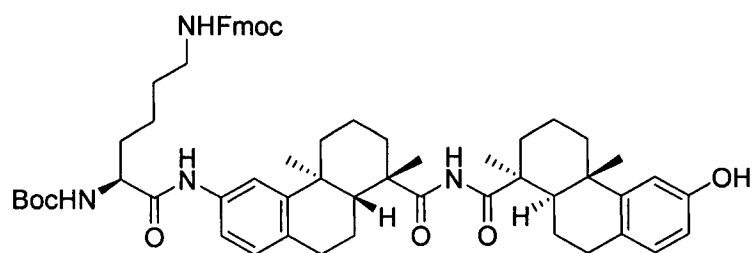


[00281] К раствору соединения **LP4-3** (24 мг, 44 мкмоль) в ДМФ (2 мл) добавили НАТУ (17 мг, 44 мкмоль) и соединение **LP4-2** (35 мг, 34 мкмоль) последовательно при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение нескольких минут до тех пор, пока смесь не стала однородной. К этой смеси добавили DIPEA (8.8 мг, 68 мкмоль) при комнатной температуре шприцом. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов до практически полного разрушения **LP4-2**, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. К этой реакционной смеси затем добавили диэтиламин или пиперидин (0.1 мл, в избытке) по каплям при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение одного часа до удаления группы Fmoc, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. (Примечание: И диэтиламин, и пиперидин были эффективны.) Реакционную смесь напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего было получено соединение **LP15** (15 мг, выход 33%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 1313.6 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 7.59 (d, J=8.5 Гц, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.36-7.26 (m, 3H), 7.01 (d, J=8.5 Гц, 1H), 6.88 (d, J=8.0 Гц, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.57-6.54 (m, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.64-4.52 (m, 1H), 4.35-4.28 (m, 2H), 4.21 (d, J=7.0 Гц, 1H), 4.01-3.98 (m, 1H), 3.88-3.84 (m, 3H), 3.43 (t, J=6.5 Гц, 1H), 3.26-3.10 (m, 4H), 3.00-2.76 (m, 3H), 2.38-2.24 (m, 7H), 2.19-2.02 (m, 9H), 1.98-1.78 (m, 4H), 1.74-1.54 (m, 12H), 1.45-1.26 (m, 14H), 1.13 (s, 6H), 1.00 (t, J=7.5 Гц, 6H) ppm.

ПРИМЕР 1i

Синтез **LP311** (ФИГ. 1h)

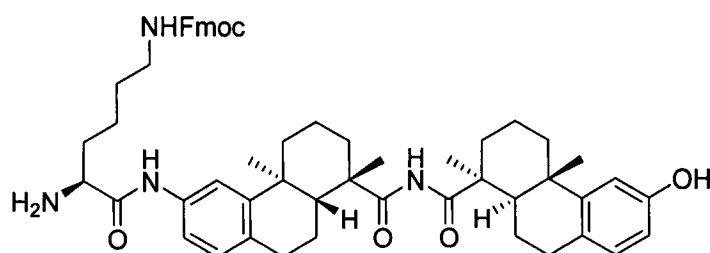
трет-бутил *N*-[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-5-{[(9*H*-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}пентил] карбамат(**LP11-1**)



[00282] К раствору *N*-Boc-*N*-Fmoc-*L*-лизина (0.21 г, 0.45 ммоль) в ДМФ (2 мл) добавили НАТУ (0.24 г, 0.64 ммоль) и DIPEA (0.15 г, 1.1 ммоль) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3

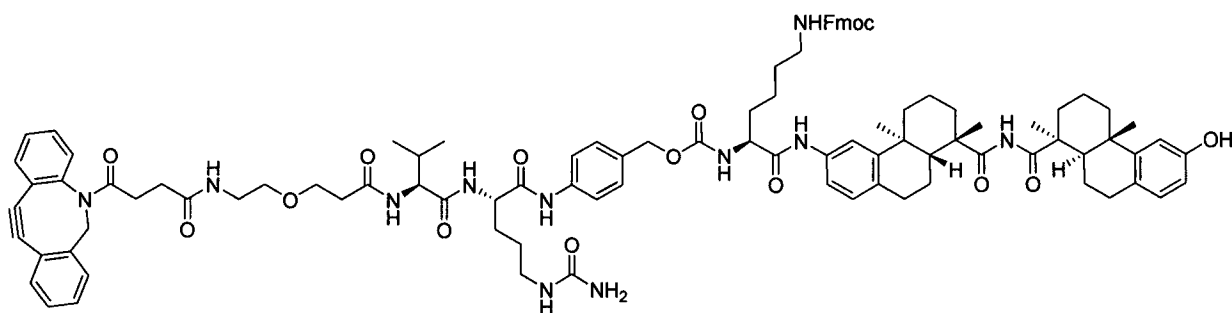
минут. Затем к смеси добавили нагрузку **9d** (0.20 г, 0.38 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут до завершения реакции, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь отфильтровали и очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **LP11-1** (0.10 г, выход 27%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 979 (M+1)⁺.

9H-флуорен-9-илметил N-[(5S)-5-амино-5-[(4bS,8S,8aR)-8-[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}пентил]карбамат (**LP11-2**)



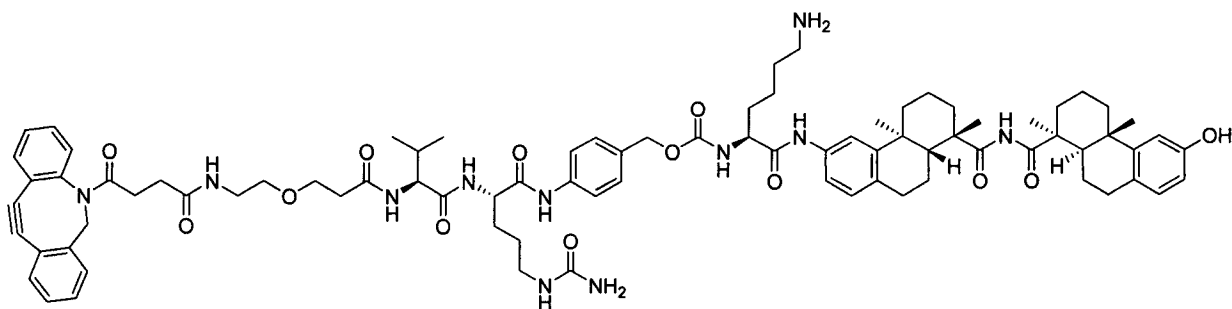
[00283] К раствору соединения **LP11-1** (0.10 г, 0.10 ммоль) в ДХМ добавили ТФК (2 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение часа до полного удаления Вос, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Летучие вещества удалили *in vacuo*. Остаток очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в водном бикарбонате аммония (10 mM)), в результате чего получили соединение **LP11-2** (77 мг, выход 86%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 879 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСO-d₆) δ 9.87-9.52 (m, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.92-7.81 (m, 2H), 7.71-7.48 (m, 3H), 7.44-7.22 (m, 6H), 7.00-6.90 (m, 1H), 6.82 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.66-6.60 (m, 1H), 6.54-6.47 (m, 1H), 4.38-4.14 (m, 3H), 3.27-3.17 (m, 1H), 3.01-2.93 (m, 2H), 2.90-2.66 (m, 4H), 2.33-2.06 (m, 7H), 1.94-1.78 (m, 4H), 1.67-1.51 (m, 5H), 1.48-1.07 (m, 16H), 1.03-0.92 (m, 6H) ppm.

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-[(1S)-1-[(4bS,8S,8aR)-8-[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-5-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}пентил]карбамат (**LP11-3**)



[00284] К смеси соединения **LP11-2** (57 мг, 65 мкмоль) и соединения **LP9-5** (0.10 г, 96 мкмоль) в ДМФ (3 мл) добавили НОВт (30 мг, 0.22 ммоль) и DIPEA (0.11 г, 0.81 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение одного часа под контролем жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в водном бикарбонате аммония (10 mM)), в результате чего получили соединение **LP11-3** (97 мг, выход 81%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 909 ($M/2 + 1$)⁺.

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-[(1S)-5-амино-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил]-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}пентил]карбамат (**LP311**)



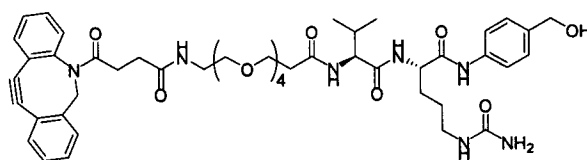
[00285] К раствору соединения **LP11-3** (97 мг, 53 мкмоль) в ДМФ (3 mL) добавили диэтиламин (45 мг, 0.62 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов до полного удаления Fmoc, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии.. Реакционную смесь напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **LP311** (40 мг, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 798 ($M/2 + 1$)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.99 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.21-8.10 (m, 2H), 7.88 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 7.82-7.59 (m, 6H), 7.55-7.43 (m, 5H), 7.41-7.29 (m, 5H), 6.98 (d, *J*=8.2 Гц, 1H), 6.84 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.53 (d, *J*=8.1 Гц, 1H), 6.06-5.96 (m, 1H), 5.50-5.38 (m, 2H), 5.09-4.92 (m, 3H), 4.45-4.35

(m, 1H), 4.28-4.21 (m, 1H), 4.14-4.04 (m, 1H), 3.67-3.58 (m, 4H), 3.52-3.45 (m, 13H), 3.14-2.69 (m, 9H), 2.63-2.56 (m, 1H), 2.50-2.44 (m, 1H), 2.43-2.37 (m, 1H), 2.33-2.13 (m, 7H), 2.06-1.85 (m, 6H), 1.82-1.56 (m, 9H), 1.51-1.23 (m, 17H), 1.21-1.13 (m, 2H), 1.10-0.80 (m, 12H) ppm.

ПРИМЕР 1j

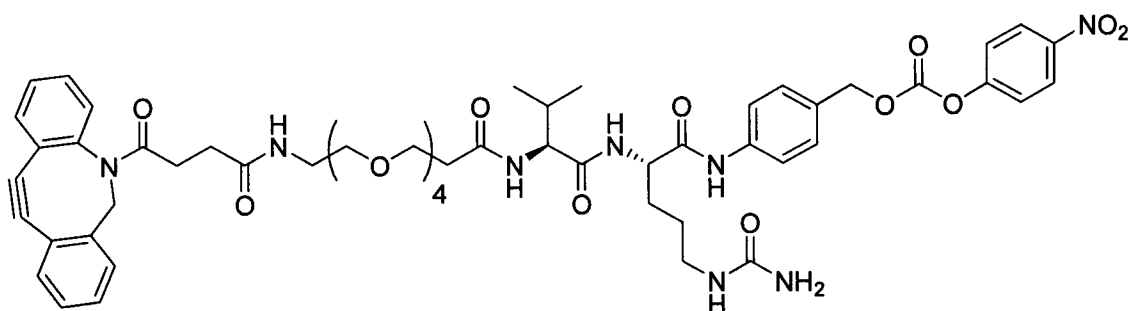
Синтез LP39 (ФИГ. 1i)

1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-{[4-(гидроксиметил)фенил]карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (LP9-3)



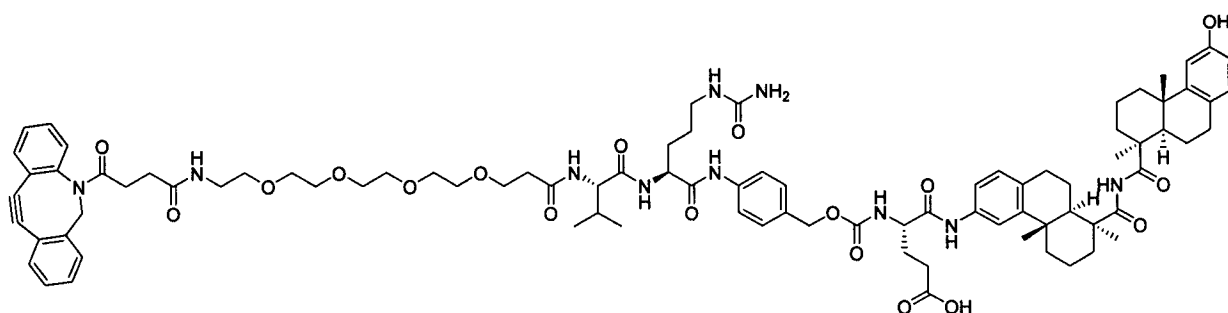
[00286] К раствору соединения LP9-2 (0.30 г, 0.54 ммоль) в ДМФ (10 мл) добавили HATU (0.31 г, 0.81 ммоль) и DIPEA (0.14 г, 1.1 ммоль) последовательно при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут. К реакционному раствору добавили VC-PAВ-OH (LP9-1, CAS: 159857-79-1, 0.21 г, 0.54 ммоль) при комнатной температуре и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов; за процессом реакции наблюдали посредством жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь отфильтровали через фильтрационную мембрану и фильтрат напрямую очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде (с 10 ммоль/л бикарбоната аммония)), в результате чего получили соединение LP9-2 (0.30 г, выход 60%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 617 (M + H)⁺.

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил 4-нитрофенил карбонат (LP9-5)



[00287] К раствору соединения **LP9-3** (0.15 г, 0.16 ммоль) в ДМФ (10 мл) добавили бис(4-нитрофенил) карбонат (**LP9-4**, 0.15 г, 0.49 ммоль) и DIPEA (63 мг, 0.49 ммоль) последовательно при 0 °С. Затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов до практически полного разрушения **LP9-3**, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь отфильтровали через фильтрационную мембрану и фильтрат напрямую очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде (с 10 ммоль/л бикарбоната аммония)), в результате чего получили соединение **LP9-5** (50 мг, выход 28%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 1079 (M + H)⁺.

(4S)-4-{{{[4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил]амино}-4-{{{(4bS,8S,8aR)-8-{{{[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрин-1-карбонил]карбамоил}-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрин-3-ил]карбамоил}бутановая кислота (**LP39**)



[00288] К смеси соединения **9o** (50 мг, 76 мкмоль) и соединения **LP9-5** (0.10 г, 96 мкмоль) в ДМФ (1 мл) добавили HOBt (16 мг, 0.12 ммоль) и DIPEA (39 мг, 0.31 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение одного часа под контролем жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **LP39** (40 мг, выход 33%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 799 (M/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 10.02 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.20-8.07 (m, 2H), 7.94-7.87 (m, 1H), 7.82-7.76 (m, 1H), 7.70-7.57

(m, 4H), 7.54-7.42 (m, 4H), 7.40-7.26 (m, 6H), 6.99-6.91 (m, 1H), 6.85-6.79 (m, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.53-6.47 (m, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.07-4.88 (m, 3H), 4.42-4.32 (m, 1H), 4.27-4.20 (m, 1H), 4.11-4.02 (m, 1H), 3.63-3.55 (m, 3H), 3.51-3.41 (m, 13H), 3.11-2.58 (m, 10H), 2.40-2.10 (m, 11H), 2.00-1.55 (m, 15H), 1.46-1.09 (m, 14H), 1.05-0.94 (m, 6H), 0.99-0.77 (m, 7H) ppm.

ПРИМЕР 2

[00289] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления ключевых интермедиатов, **7b-7f**. Химические синтезы для приготовления **7b-7e** были показаны на ФИГ. 2.

[00290] Амид **7f** приготовили с помощью реакции связывания амида **1** с NH_4Cl , катализированного НАТУ. Интермедиаты **7b** и **7c** приготовили с помощью фенол-О-алкилирования **7f** с **10b** и **10c**, соответственно. Интермедиаты **7d** и **7e** были синтезированы, начиная с конверсии фенола **2** в трифлат **11**, с последующими условиями связывания Бухвальда для введения скрытой аминокфункциональной группы **12d** и **12e**; за этим последовали кислотное снятие защиты **12d** и **12e** с последующим щелочным гидролизом для преобразования эфиров в кислоты **13d** и **13e**, соответственно; в завершение, Вос-защита **13d** и **13e** дала **14d** и **14e**, соответственно, которые затем включили в реакции связывания амида с аммониевой солью, что дало **7d** и **7e**, соответственно. Интермедиат **7g** приготовили посредством реакции связывания амида **1** с 2,4-диметоксибензиламин, в результате чего образовалось соединение **7g-1**, за чем последовало преобразование в трифталатный аналог **7g-2** с трифлатным ангидридом. Цианистый аналог **7g-3** приготовили с использованием цианида цинка и итоговое снятие защиты достигли посредством ТФК для удаления 2,4-диметокси-бензилового фрагмента.

[00291] В ином случае **13d** приготовили, начиная с Вос-защиты подокарповой кислоты **1**, в результате чего образовалось соединение **E2**, с последующим преобразованием в трифлат **E3**. Интермедиат **E3** был стабилен для очистки посредством хроматографии на колонке с нормальной фазой, и затем его подвергли воздействию дифенилметанимина в условиях Бухвальда для получения смеси соединений **E4-1**, **E4-2**, **E4-3**, и **13d**, которые были гидролизированы в водной HCl в ТГФ (об/об = 1:1) в одном сосуде, что дало **13d** с общим выходом 28%.

ПРИМЕР 3

[00292] Данный пример демонстрирует способ приготовления интермедиата **7a**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00293] **Этап 1:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-метил-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксилата (**2**)

[00294] К раствору подокарповой кислоты (1, 0.20 г, 0.73 ммоль) в метаноле (1.4 мл) и толуоле (5.2 мл) добавили (триметилсилил)дiazометан (2М в гексане, 0.45 мл). Реакционную смесь перемешивали при 10-25°C на протяжении ночи. После полного разрушения подокарповой кислоты согласно жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией летучие вещества удалили *in vacuo*, а остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-35% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего получили соединение **2** (0.21 г, выход 98%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 289 (М + Н)⁺. ¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.95 (s, 1H), 6.79 (d, *J*=8.2 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.4 Гц, 1H), 6.48 (dd, *J*=8.2, 2.4 Гц, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.80-2.55 (m, 2H), 2.20-2.02 (m, 3H), 1.96-1.71 (m, 2H), 1.56-1.45 (m, 2H), 1.27 (t, *J*=13.5 Гц, 1H), 1.21 (s, 3H), 1.09 (td, *J*=13.5, 4.1 Гц, 1H), 0.91 (s, 3H) ppm.

[00295] **Этап 2:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-метил 6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксилата (**3**)

[00296] К раствору соединения **2** (0.10 г, 0.35 ммоль) в ДМФ (1.2 мл) добавили карбонат цезия (0.12 г, 0.38 ммоль) и смесь перемешивали при 20-25°C в течение 15 мин. К смеси затем добавили бензилбромид (88 мг, 0.52 ммоль) при комнатной температуре и полученную смесь перемешивали на протяжении еще 4 часов, далее вылили в воду и экстрагировали этилацетатом. Объединенную органическую смесь промыли водой и рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Сырой продукт очистили посредством флэш-хроматографии (10-35% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего получили соединение **3** (0.13 г, выход 99%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 379 (М + Н)⁺. ¹Н ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.60-7.20 (m, 5H), 7.00-6.82 (m, 2H), 6.73 (d, *J*=7.1 Гц, 1H), 5.03 (s, 2H), 3.66 (s, 3H), 2.95-2.58 (m, 2H), 2.36-2.10 (m, 3H), 2.10-1.85 (m, 2H), 1.70-1.48 (m, 2H), 1.44-1.21 (m, 4H), 1.15 (t, *J*=17.2 Гц, 1H), 1.01 (s, 3H) ppm.

[00297] **Этап 3:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоновой кислоты (**4**)

[00298] К смеси соединения **3** (0.10 г, 0.26 ммоль) в ДМСО (1.7 мл) добавили калия *трет*-бутоксид (0.30 г, 2.6 ммоль) и смесь перемешивали при 100°C в течение 2 часов до завершения реакции под контролем жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией и тонкослойной хроматографии. После охлаждения реакционной смеси до 25°C реакцию

остановили при помощи водного гидрохлорида (1N) до pH 2 и экстрагировали этилацетатом. Объединенную органическую смесь промыли рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (20-35% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего получили соединение **4** (92 мг, выход 95%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 365 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.42 (d, J=7.4 Гц, 2H), 7.36 (t, J=7.5 Гц, 2H), 7.30 (t, J=7.3 Гц, 1H), 6.92 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.87 (d, J=2.5 Гц, 1H), 6.72 (dd, J=8.4, 2.5 Гц, 1H), 5.02 (s, 2H), 2.82 (dd, J=16.3, 4.4 Гц, 1H), 2.77-2.65 (m, 1H), 2.24 (d, J=13.2 Гц, 2H), 2.19 (dd, J=13.8, 6.0 Гц, 1H), 2.11-1.96 (m, 2H), 1.64-1.56 (m, 1H), 1.53 (d, J=11.0 Гц, 1H), 1.35 (td, J=13.3, 3.7 Гц, 1H), 1.30 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.11-1.05 (m, 1H) ppm.

[00299] **Этап 4:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-хлорокси углерода (**6a**)

[00300] К раствору соединения **4** (0.10 г, 0.27 ммоль) в 1,2-дихлорэтаноле (ДХЭ) (2 мл) добавили тионилхлорид (0.20 мл) и затем реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 3 ч. После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры летучие вещества удалили *in vacuo* и сырой продукт использовали для следующего этапа без дальнейшего очищения.

[00301] **Альтернативный этап 4:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-перфторфенил-6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксилата (**6b**)

[00302] К раствору **4** (0.50 г, 1.4 ммоль) в ДМФ (5 мл) добавили DIPEA (0.51 г, 4.1 ммоль) и затем перфторфенил 2,2,2-трифторацетат **5** (0.77 г, 2.7 ммоль). Эту смесь перемешивали при 25°C на протяжении ночи и затем разбавили эфиром (80 мл). Полученную органическую смесь промыли водой (10 мл) и рассолом (10 мл), высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-15% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего получили эфир **6b** (0.46 г, выход 63%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, ацетон-*d*₆) δ 7.33 (d, J=7.4 Гц, 2H), 7.24 (t, J=7.5 Гц, 2H), 7.17 (t, J=7.3 Гц, 1H), 6.86-6.80 (m, 2H), 6.63 (dd, J=8.4, 2.5 Гц, 1H), 4.95 (s, 2H), 2.78-2.57 (m, 3H), 2.28-2.19 (m, 2H), 2.14 (dd, J=13.5, 5.9 Гц, 1H), 2.02-1.81 (m, 1H), 1.63 (d, J=11.5 Гц, 1H), 1.60-1.52 (m, 1H), 1.40 (s, 3H), 1.29 (td, J=13.4, 3.8 Гц, 1H), 1.22 (td, J=13.8, 4.1 Гц, 1H), 1.05 (s, 3H) ppm.

[00303] **Этап 5:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамида (**7a**)

[00304] Раствор соединения **4** (50 мг, 0.14 ммоль) и HATU (57 мг, 0.15 ммоль) в ДМФ

перемешивали при 25°C в течение 15 мин. К раствору добавили DIPEA (89 мг, 0.69 ммоль) и хлорид аммония (25 мг, 0.48 ммоль) при 25°C и полученную смесь затем перемешивали на протяжении еще 4 ч, вылили в воду и экстрагировали этилацетатом. Объединенную органическую смесь промыли водой и рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Сырой продукт очистили посредством флэш-хроматографии (0-35% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего получили соединение **7a** (48 мг, выход 91%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 364 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.63-7.22 (m, 5H), 7.02-6.82 (m, 2H), 6.78 (d, *J*=7.1 Гц, 1H), 5.10 (s, 2H), 2.95-2.58 (m, 2H), 2.36-2.10 (m, 3H), 2.10-1.85 (m, 2H), 1.70-1.48 (m, 2H), 1.44-1.21 (m, 4H), 1.15 (t, *J*=17.2 Гц, 1H), 1.01 (s, 3H) ppm.

ПРИМЕР 4

[00305] Данный пример демонстрирует способы приготовления интермедиатов **7b-7g**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 2.

[00306] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**7f**)

[00307] К раствору подокарповой кислоты **1** (0.30 г, 1.1 ммоль) в ДМФ (4 мл) добавили НАТУ (0.46 г, 1.2 ммоль), DIPEA (0.57 г, 4.4 ммоль) и хлорид аммония (0.23 г, 4.4 ммоль) и раствор перемешивали при 10-25°C в течение 16 ч. Смесь налили в воду и экстрагировали этилацетатом. Объединенную органическую смесь промыли рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-35% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего было получено желаемое соединение (0.77 г, выход 100%) в виде масла. ЭИ м/з: 274.1 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 6.82 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.71 (d, *J*=2.4 Гц, 1H), 6.58-6.47 (m, 1H), 2.79 (dd, *J*=16.1, 4.1 Гц, 1H), 2.71-2.60 (m, 1H), 2.29-2.13 (m, 3H), 2.13-1.95 (m, 2H), 1.67-1.56 (m, 1H), 1.48 (d, *J*=11.6 Гц, 1H), 1.36 (td, *J*=13.2, 4.0 Гц, 1H), 1.27 (s, 3H), 1.19 (dt, *J*=8.9, 4.5 Гц, 1H), 1.16 (s, 3H) ppm.

[00308] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(2-(*трет*-бутилдиметилсилолокси)этокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**7b**)

[00309] К раствору **7f** (0.33 г, 0.47 ммоль) в ДМФ (2.5 мл) добавили карбонат цезия (0.60 г, 1.8 ммоль) и (2-бромозтокси)(*трет*-бутил)диметилсилан (**10b**, 0.45 г, 2.1 ммоль). После этого реакционную смесь перемешивали в течение 8 ч в атмосфере азота, смесь вылили в воду (30 мл) и этилацетат (30 мл). Органическую смесь сепарировали и промыли рассолом, высушили над безводным сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*.

Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (20-35% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего получили соединение **7b** (0.21 г, выход 87%). ЭИ м/з: 432.2 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 6.79 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.69 (d, *J*=2.2 Гц, 1H), 6.53 (dd, *J*=8.3, 1.5 Гц, 1H), 3.84 (dd, *J*=14.3, 4.1 Гц, 4H), 2.71 (dd, *J*=16.1, 4.6 Гц, 1H), 2.64-2.47 (m, 1H), 2.20-2.02 (m, 3H), 2.01-1.84 (m, 2H), 1.52 (d, *J*=14.0 Гц, 1H), 1.37 (d, *J*=12.2 Гц, 1H), 1.25 (td, *J*=13.2, 3.3 Гц, 1H), 1.16 (s, 3H), 1.12-0.99 (m, 4H), 0.81 (s, 9H), 0.00 (s, 6H) ppm.

[00310] *трет*-бутил 2-((4b*S*,8*S*,8a*R*)-8-карбамоил-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-илокси)этилкарбамат (**7c**)

[00311] После процедуры для приготовления **7b**, **7c** (60 мг, выход 40%) в виде белого твердого вещества получили из **7f**, на которого воздействовали **10c**. ЭИ м/з: 360.9 (M - 55)⁺, 438.9 (M + 23)⁺.

[00312] *трет*-бутил-(4b*S*,8*S*,8a*R*)-8-карбамоил-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-илкарбамат (**7d**)

[00313] **Этап 1:** приготовление (1*S*,4a*S*,10a*R*)-метил-1,4a-диметил-6-(трифторметилсульфонилокси)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксилата (**11**)

[00314] К раствору соединения **2** (0.33 г, 1.1 ммоль) в ДХМ (6 мл) добавили 2,6-лутидин (0.15 г, 1.4 ммоль) и DMAP (28 мг, 0.23 ммоль). Смесь охладил до -78°C и добавили трифлатный ангидрид (0.39 г, 1.4 ммоль). Полученной смеси дали согреться до 25°C и перемешивали ее при 25°C в течение еще 4 ч. Реакционную смесь разбавили этилацетатом (50 мл) и органическую смесь промыли водой (6 мл), водным гидрохлоридом (1 N, 10 мл) и рассолом (10 мл), затем высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-10% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **11** (0.43 г, выход 89%) в виде вязкого масла. ЭИ м/з: 421.2 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7.12 (d, *J*=2.5 Гц, 1H), 7.10 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.97 (dd, *J*=8.5, 2.5 Гц, 1H), 3.67 (s, *J*=3.4 Гц, 3H), 2.93 (dd, *J*=17.2, 4.4 Гц, 1H), 2.85-2.71 (m, 1H), 2.29 (d, *J*=13.5 Гц, 1H), 2.25-2.14 (m, 2H), 2.03-1.89 (m, 2H), 1.71-1.61 (m, 1H), 1.56-1.48 (m, 1H), 1.40 (td, *J*=13.4, 4.2 Гц, 1H), 1.30-1.22 (m, 3H), 1.09 (td, *J*=13.6, 4.2 Гц, 1H), 1.02 (s, 3H) ppm.

[00315] **Этап 2:** приготовление (1*S*,4a*S*,10a*R*)-6-амино-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоновой кислоты (**13d**)

[00316] К смеси карбоната цезия (0.62 г, 1.9 ммоль), X-phos (50 мг, 0.11 ммоль) и

$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (50 мг, 55 мкмоль) в *трет*-бутаноле (5 мл) в атмосфере аргона добавили раствор соединения **11** (0.40 г, 0.95 ммоль) в *трет*-бутаноле (5 мл) и затем дифенилметанимин (0.26 г, 1.4 ммоль). После этого реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 30 минут под аргоном, реакционную смесь охладили до комнатной температуры, разбавили ДХМ и отфильтровали через целит для удаления нерастворимого остатка. Фильтрат промыли водой, высушили над безводным сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. К остатку (сырой **12d**) добавили гидрохлорид в метаноле (4N, 2 мл) и полученный раствор перемешивали при 25°C в течение 5ч. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-20% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего получили **12d'**-метилловый эфир (0.28 г) в виде белого твердого анилин-эфира. ЭИ м/з: 288 ($\text{M}+1$)⁺, ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.72 (s, 2H), 7.22 (s, 1H), 7.11 (d, *J*=8.1 Гц, 1H), 7.01 (d, *J*=8.1 Гц, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.86 (dd, *J*=17.0, 4.5 Гц, 1H), 2.79-2.66 (m, 1H), 2.21-2.05 (m, 3H), 1.97-1.76 (m, 2H), 1.55 (t, *J*=13.7 Гц, 2H), 1.30 (td, *J*=13.2, 3.7 Гц, 1H), 1.22 (s, 3H), 1.10 (td, *J*=13.4, 4.0 Гц, 1H), 0.93 (s, 3H) ppm. К смеси **12d'**-метилэфира (0.12 г, 0.42 ммоль) в ДМФ (3 мл) добавили этанэтилат натрия (0.37 г, 4.2 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. После этого реакционную смесь охладили до комнатной температуры, полученную смесь разбавили водой и окислили водным гидрохлоридом (1 N, 20 мл). Водный раствор экстрагировали этилацетатом и органическую смесь сепарировали и сконцентрировали *in vacuo*, в результате чего получили сырое соединение **13d** (0.14 г), которое непосредственно использовали на следующем этапе. ЭИ м/з: 274.2 ($\text{M}+1$)⁺.

[00317] Альтернативный способ приготовления **13d** посредством **E2**, **E3** и **E4** описывается следующим образом:

[00318] **Этап 1:** приготовление (*трет*-бутил угольного) (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоновой кислоты ангидрида (**E2**)

[00319] К смеси подокарповой кислоты (**1**, 0.40 г, 1.5 ммоль) и карбоната натрия (0.31 г, 2.9 ммоль) в *t*-BuOH (10 мл) добавили ди-*трет*-бутилдикарбонат (0.35 г, 1.6 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 10-25°C в течение 16 ч. Реакцию контролировали посредством тонкослойной хроматографии и жидкостной хроматомасс-спектрометрии до разрушения подокарповой кислоты. Полученную смесь налили в этилацетат (100 мл) и органическую смесь промыли водой (20 мл x 2) и рассолом (50 мл). Органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Сырой продукт очистили посредством флэш-хроматографии (0-20% этилацетат в петролейном эфире) и получили указанное в заголовке соединение **E2** (0.41 г, выход 76%) в виде вязкого масла. ЭИ м/з:

319.2 (M - 55)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.95 (s, 1H), 6.79 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 6.64 (d, *J*=2.5 Гц, 1H), 6.49 (dd, *J*=8.0, 2.5 Гц, 1H), 2.76-2.72 (m, 1H), 2.67-2.60 (m, 1H), 2.16-2.03 (m, 3H), 1.85-1.78 (m, 2H), 1.60-1.57 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.33-1.27 (m, 4H), 1.21-1.15 (m, 1H), 1.04 (s, 3H) ppm.

[00320] **Этап 2:** приготовление (*трет*-бутил угольного) (1*S*,4*aS*,10*aR*)-1,4*a*-диметил-6-(трифторметилсульфонилокси)-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоновой кислоты ангидрида (**E3**)

[00321] К раствору соединения **E2** (0.30 г, 0.80 ммоль) в ДХМ (16 мл) добавили пиридин (95 мг, 1.2 ммоль) и DMAP (10 мг, 0.080 ммоль) в атмосфере азота. Смесь охладил до -20°C и добавили трифлатный ангидрид (0.27 г, 0.96 ммоль) шприцом. Полученной смеси дали согреться до 25°C и перемешивали ее при 25°C в течение еще 2 ч. Реакционную смесь разбавили этилацетатом (50 мл) и органическую смесь промыли водой (6 мл), *водным* гидрохлоридом (1 N, 10 мл) и рассолом (10 мл), затем высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-10% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **E3** (0.27 г, выход 66%) в виде вязкого масла. ЭИ м/з: 529.2 (M + Na)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 7.37 (d, *J*=2.0 Гц, 1H), 7.23-7.17 (m, 2H), 2.95-2.90 (m, 1H), 2.82-2.75 (m, 1H), 2.30-2.28 (m, 1H), 2.12-2.09 (m, 1H), 1.90-1.80 (m, 2H), 1.68-1.66 (m, 1H), 1.62-1.59 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.33-1.27 (m, 4H), 1.26-1.17 (m, 1H), 1.08 (s, 3H) ppm.

[00322] **Этап 3:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-амино-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоновой кислоты (**13d**)

[00323] К перемешанному раствору соединения **E3** (0.20 г, 0.40 ммоль) и дифенилметанимина (0.086 г, 0.48 ммоль) в *трет*-бутаноле (10 мл) добавили карбонат цезия (0.33 г, 1.0 ммоль), X-phos (38 мг, 80 мкмоль) и Pd₂(dba)₃ (37 мг, 40 мкмоль) в атмосфере аргона. Реакционную смесь перемешивали под аргоном при 90°C в течение 3ч под контролем жидкостной хроматомасс-спектрометрии, и в это время в спектрах жидкостной хроматомасс-спектрометрии обнаружили **E4-1**, **E4-2**, **E4-3** и **13d**. Реакционную смесь охладил, разбавил ДХМ (30 мл) и отфильтровал через целит для удаления неорганических веществ. Фильтрат промыл водой, высушил над безводным сульфатом натрия и сконцентрировал *in vacuo*. Остаток растворил в ТГФ (5 мл) и окислил *водным* HCl (2 N, 5 мл). Реакционную смесь затем перемешивали при 25°C и контролировали посредством жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Через 16 ч жидкостная хроматомасс-спектрометрия показала, что большая часть **E4-1** и **E4-2** была преобразована в **13d**. Реакционную смесь нейтрализовали насыщенным *водным*

бикарбонатом натрия до pH 8 и экстрагировали этилацетатом (20 мл x 3). Объединенную органическую смесь высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Сырой продукт очистили посредством флэш-хроматографии (0-50% этилацетат в петролейном эфире) и получили указанное в заголовке соединение **13d** (30 мг, выход 56% за 2 этапа) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 274.2 (M + H)⁺.

[00324] **Этап 4:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(*трет*-бутоксикарбониламино)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоновой кислоты (**14d**)

[00325] К раствору **13d** (0.12 г) в *трет*-бутаноле (5 мл) добавили карбонат натрия (0.12 г, 1.1 ммоль), ди-*трет*-бутилдикарбонат (0.48 г, 2.2 ммоль) и DMAP (20 мг, 0.16 ммоль) и затем смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток разбавили DCM (20 мл). Органическую смесь сепарировали, промыли насыщенной водной лимонной кислотой, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-35% этилацетат в петролейном эфире), в результате его получили соединение **14d** (0.11 г, выход 67% за 3 этапа из **11**) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 318.2 (M-tBu+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 12.08 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.87 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 2.79-2.68 (m, 1H), 2.65 (d, *J*=12.6 Гц, 1H), 2.17-2.03 (m, 4H), 1.94-1.76 (m, 2H), 1.53 (d, *J*=13.7 Гц, 1H), 1.46 (d, *J*=7.4 Гц, 9H), 1.29-1.14 (m, 5H), 1.04 (s, 3H) ppm.

[00326] **Этап 5:** приготовление *трет*-бутил-(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-карбамоил-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-илкарбамата (**7d**)

[00327] К раствору **14d** (0.11 г, 0.30 ммоль) в ДМФ (2.4 мл) добавили HATU (0.12 г, 0.32 ммоль) и DIPEA (0.5 мл, 3.0 ммоль) и смесь перемешивали при 25°C в течение одного часа. Затем к смеси добавили хлорид аммония (0.40 г, 7.5 ммоль) и смесь перемешивали при 15-25°C в течение еще 16 ч. Полученную смесь разбавили этилацетатом (40 мл); органическую смесь сепарировали и промыли водой (10 мл) и рассолом (10 мл), высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-20% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **7d** (84 мг, выход 75%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 373.3 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.20 (s, 1H), 6.97 (d, *J*=7.7 Гц, 1H), 6.80 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 2.77-2.68 (m, 2H), 2.66-2.55 (m, 1H), 2.20 (d, *J*=12.9 Гц, 1H), 2.13 (dd, *J*=13.2, 5.3 Гц, 1H), 2.08 (d, *J*=14.0 Гц, 1H), 2.03-1.86 (m, 2H), 1.54 (d, *J*=11.1 Гц, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.26 (t, *J*=26.7 Гц, 1H), 1.18 (s, 3H), 1.14-1.03 (m, 4H) ppm.

[00328] *трет*-бутил-4-((4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-карбамоил-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-

октагидрофенантрен-3-ил)пиперазин-1-карбоксилат (**7e**)

[00329] **Этап 1:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-1,4*a*-диметил-6-(пиперазин-1-yl)-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоновой кислоты (**14e**)

[00330] К раствору соединения **11** (0.40 г, 0.95 ммоль) и *трет*-бутил пиперазина-1-карбоксилата (0.29 г, 1.5 ммоль) в *трет*-бутаноле (5 мл) в атмосфере аргона добавили карбонат цезия (0.62 г, 1.9 ммоль), X-phos (50 мг, 0.11 ммоль) и Pd₂(dba)₃ (50 мг, 55 мкмоль). После этого реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 30 мин под аргоном, реакционную смесь охладили, разбавили ДХМ и отфильтровали через целит для удаления неорганических веществ. Фильтрат промыли водой, высушили над безводным сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (20-35% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего получили соединение **12e** (0.42 г) в виде желтого твердого вещества. ЭИ м/з: 457.1 (M+1)⁺. Раствор **12e** (0.23 г, 0.5 ммоль) в ДМСО (5 мл) подвергали воздействию калия *трет*-бутоксидом (0.25 г, 2.2 ммоль) при 100°C на протяжении одного часа. После этого реакционную смесь охладили до комнатной температуры, к смеси сырого **13e** добавили ди-*трет*бутилдикарбонат (0.92 г, 4.3 ммоль) при 20-25°C и полученную смесь перемешивали при 25°C в течение 4 часов. Затем реакционную смесь разбавили этилацетатом (100 мл), органическую смесь промыли водой, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (0-35% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего получили соединение **14e** (0.15 г, выход 79% за 3 этапа из **11**) в виде желтого твердого вещества. ЭИ м/з: 443 (M+1)⁺.

[00331] **Этап 2:** приготовление *трет*-бутил-4-((4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-карбамоил-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (**7e**)

[00332] К раствору **14e** (0.10 г, 0.30 ммоль) и HATU (0.12 г, 0.32 ммоль) в ДМФ (2.4 мл) добавили DIPEA (0.5 мл, 3.0 ммоль) и полученный раствор перемешивали при 25°C в течение одного часа. Затем к смеси добавили хлорид аммония (0.40 г, 7.5 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 15-25 °C на протяжении еще 16 ч. Полученную смесь разбавили этилацетатом (40 мл) и органическую смесь промыли водой (10 мл) и рассолом (10 мл), высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-20% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **7e** (96 мг, выход 87%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 442 (M+1)⁺.

[00333] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**7g**)

[00334] **Этап 1:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-*N*-(2,4-диметоксибензил)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамида (**7g-1**)

[00335] После процедуры для приготовления **7f** реакция связывания соединения **1** с 2,4-диметоксибензиламином дала **7g-1** (0.57 г, выход 93%) в виде светло-желтого твердого вещества. ЭИ м/з: 424.1 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.90 (s, 1H), 7.33 (t, *J*=5.7 Гц, 1H), 7.06 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.77 (d, *J*=8.2 Гц, 1H), 6.60 (d, *J*=2.4 Гц, 1H), 6.51 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.48-6.42 (m, 2H), 4.28-4.02 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.74-2.67 (m, 1H), 2.62-2.53 (m, 1H), 2.24-2.05 (m, 3H), 2.02-1.90 (m, 1H), 1.90-1.78 (m, 1H), 1.56-1.45 (m, 1H), 1.42-1.22 (m, 2H), 1.19 (s, 3H), 1.09-1.01 (m, 1H), 0.87 (s, 3H) ppm.

[00336] **Этап 2:** приготовление (4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-(2,4-диметоксибензилкарбамоил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил трифторметансульфоната (**7g-2**)

[00337] После процедуры приготовления **11**, **7g-2** получили (0.59 г, выход 96%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 556.2 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 7.43 (t, *J*=5.7 Гц, 1H), 7.31 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 7.22-7.11 (m, 2H), 7.06 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.52 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.45 (dd, *J*=8.3, 2.3 Гц, 1H), 4.17 (d, *J*=5.7 Гц, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.92-2.82 (m, 1H), 2.78-2.65 (m, 1H), 2.27-2.15 (m, 3H), 2.03-1.86 (m, 2H), 1.57-1.48 (m, 1H), 1.42-1.17 (m, 5H), 1.10-1.05 (m, 1H), 0.91 (s, *J*=5.9 Гц, 3H) ppm.

[00338] **Этап 3:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-циано-*N*-(2,4-диметоксибензил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамида (**7g-3**)

[00339] К раствору соединения **7g-2** (0.20 г, 0.36 ммоль) в ДМФ (3.6 мл) добавили тетраakis(трифенилфосфин)палладий (42 мг, 36 мкмоль) и цианид цинка (84 мг, 0.72 ммоль) под азотом. Смесь перемешивали под азотом при 110 °C в течение 4 ч до завершения реакции под контролем жидкостной хроматомасс-спектрометрии. После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры ее разбавили этилацетатом (100 мл) и органическую смесь промыли водой (20 мл) и рассолом (20 мл). Органическую смесь высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (10-20% этилацетат в петролейном эфире) и получили указанное в заголовке соединения **7g-3** (0.13 г, выход 82%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 433.2 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 7.74 (d, *J*=1.1 Гц, 1H), 7.47 (dd, *J*=7.9, 1.4 Гц, 1H), 7.44 (t, *J*=5.7 Гц, 1H), 7.20 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 7.06 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.51 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.45 (dd, *J*=8.3, 2.3 Гц, 1H), 4.16 (d, *J*=5.6 Гц, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.72

(s, 3H), 3.05-2.87 (m, 1H), 2.82-2.70 (m, 1H), 2.36-2.28 (m, 1H), 2.26-2.16 (m, 2H), 2.01-1.85 (m, 2H), 1.58-1.48 (m, 1H), 1.45-1.17 (m, 5H), 1.13-1.05 (m, 1H), 0.91 (s, 3H) ppm.

[00340] **Этап 4:** приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-циано-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамида (**7g**)

[00341] К раствору соединения **7g-3** (0.12 г, 0.28 ммоль) в ДХМ (3 мл) добавили ТФК (3 мл) по каплям при 0°C. Полученной смеси дали согреться и затем перемешивали ее при 25°C в течение 48 ч. Желаемую массу обнаружили посредством жидкостной хроматомасс-спектрометрии как главный пик. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством флэш-хроматографии (20-40% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего было получено указанное в заголовке соединение **7g** (70 мг, выход 71%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 283.2 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 7.76 (d, *J*=1.3 Гц, 1H), 7.48 (dd, *J*=7.9, 1.5 Гц, 1H), 7.21 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 6.84 (d, *J*=11.8 Гц, 2H), 3.00-2.85 (m, 1H), 2.84-2.69 (m, 1H), 2.41-2.27 (m, 1H), 2.22-2.15 (m, 1H), 2.15-2.09 (m, 1H), 2.04-1.89 (m, 2H), 1.56-1.48 (m, 1H), 1.40-1.20 (m, 2H), 1.16 (s, 3H), 1.11-1.00 (m, 4H) ppm.

ПРИМЕР 5

[00342] Данный пример демонстрирует способы приготовления интермедиатов **8a-e** и **8g**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00343] **Общие процедуры для соединений 8a-e и 8g:** Раствор одного из интермедиатов **7a-g** (40-100 мг) в ТГФ (0.5-2 мл) приготовили для достижения концентрации 0.06-0.28 М. К раствору добавили лития бис(триметилсилил)амид (LiHMDS) (1 М в гексане, 1.2 эквив.) по каплям при -78°C и полученную смесь перемешивали при -78°C в течение 2 ч. К смеси добавили раствор **6a** (0.9-2.2 эквив.) или **6b** (1.2 эквив.) в ТГФ (1 мл) и затем полученную смесь перемешивали при 10-20 °C на протяжении ночи. После того, как **7a-g** было разрушено согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии, реакцию остановили при помощи насыщенного водного хлорида аммония и экстрагировали этилацетатом. Объединенную органическую смесь промыли водой и рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-35% этилацетат в петролейном эфире), в результате чего получили соединения **8a-e** и **8g** в виде белого твердого вещества.

[00344] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-

октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**8a**): Процедура синтеза **8a** была аналогична процедуре, описанной в работе *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 2824-2828, однако LiHMDS заменили NaHMDS. **8a** (60 мг, выход 31%) получили в результате взаимодействия **7a** (0.10 г, 0.28 ммоль) и **6a** (0.10 г, 0.26 ммоль). ЭИ м/з: 710 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.16 (s, 1H), 7.46-7.28 (m, 10H), 6.97 (dd, J=8.4, 3.0 Гц, 2H), 6.88 (dd, J=5.8, 2.6 Гц, 2H), 6.75 (dt, J=8.4, 2.9 Гц, 2H), 5.02 (s, 4H), 2.98-2.89 (m, 1H), 2.89-2.71 (m, 3H), 2.33-2.14 (m, 6H), 2.12-1.93 (m, 4H), 1.72-1.61 (m, 4H), 1.45-1.40 (m, 2H), 1.38 (s, 3H), 1.31 (s, 3H), 1.22-1.09 (m, 8H) ppm.

[00345] (1S,4aS,10aR)-6-(бензилокси)-N-((1S,4aS,10aR)-6-(2-(трет-бутилдиметилсилолокси)этоксид)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**8b**): Соединение **8b** (34 мг, выход 38%) получили в результате реакции **7b** (50 мг, 0.12 ммоль) и **6a** (0.10 г, 0.26 ммоль). ЭИ м/з: 779 (M+1)⁺.

[00346] трет-бутил 2-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(бензилокси)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил карбамоил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-илокси)этилкарбамат (**8c**): Соединение **8c** (0.11 г, выход 60%) получили в результате реакции **7c** (0.10 г, 0.24 ммоль) и **6b** (0.15 г, 0.29 ммоль). ЭИ м/з: 763 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.14 (s, 1H), 7.37-7.33 (m, 2H), 7.32-7.28 (m, 2H), 7.26-7.22 (m, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.80 (d, J=2.5 Гц, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.69 (dd, J=8.4, 2.6 Гц, 1H), 6.60 (dd, J=8.4, 2.5 Гц, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.90 (t, J=5.0 Гц, 2H), 3.61 (s, 1H), 3.44 (s, 2H), 2.87 (dd, J=16.2, 4.1 Гц, 2H), 2.80-2.67 (m, 2H), 2.25-2.11 (m, 6H), 2.06-1.89 (m, 4H), 1.67-1.54 (m, 4H), 1.45-1.29 (m, 11H), 1.24 (s, 6H), 1.14-1.03 (m, 8H) ppm.

[00347] трет-бутил-(4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(бензилокси)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонилкарбамоил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-илкарбамат (**8d**): Соединение **8d** (37 мг, выход 46%) получили в результате реакции **7d** (42 мг, 0.11 ммоль) и **6b** (72 мг, 0.14 ммоль). ЭИ м/з: 719 (M+1)⁺.

[00348] трет-бутил-4-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(бензилокси)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонилкарбамоил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил)пиперазин-1-карбоксилат (**8e**): Соединение **8e** (80 мг, выход 99%) получили в результате реакции **7e** (45 мг, 0.10 ммоль) и **6b** (65 мг, 0.12 ммоль). ЭИ м/з: 788.4 (M+1)⁺.

[00349] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-циано-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамида (**8g**): Соединение **8g** (83 мг, выход 67%) получили в результате реакции **7g** (56 мг, 0.20 ммоль) и **6b** (0.16 г, 0.30 ммоль). ЭИ м/з: 629.2 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.14 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.51 (dd, *J*=7.9, 1.4 Гц, 1H), 7.44-7.40 (m, 2H), 7.40-7.35 (m, 2H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.25 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 6.94 (d, *J*=8.6 Гц, 1H), 6.89 (d, *J*=2.5 Гц, 1H), 6.78-6.71 (m, 1H), 5.04 (s, 2H), 3.20-2.98 (m, 1H), 2.92-2.80 (m, 2H), 2.78-2.68 (m, 1H), 2.39-2.21 (m, 5H), 2.22-2.11 (m, 2H), 1.95-1.79 (m, 4H), 1.69-1.53 (m, 4H), 1.31-1.22 (m, 7H), 1.21-1.08 (m, 2H), 1.02 (s, 3H), 1.01 (s, 3H) ppm.

ПРИМЕР 6

[00350] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9a** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00351] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамида (**9a**) описано в *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 2824-2828; процедура синтеза была аналогична описанной процедуре, и гидрогенизация проводилась под атмосферным давлением вместо давления 45 фунтов на кв. дюйм. К раствору **8a** (50 мг, 70 мкмоль) в этилацетате (2 мл) добавили влажную палладиевую чернь (Pd/C) (10%, 20 мг) под азотом. Смесь продули водородом 3 раза и перемешивали при 15-25°C в атмосфере водорода в течение 16 ч. Смесь отфильтровали через целит для удаления Pd/C и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-20% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **9a** (10 мг, выход 27%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 530 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.16 (s, 1H), 6.93 (d, *J*=8.4 Гц, 2H), 6.73 (d, *J*=2.6 Гц, 2H), 6.64-6.59 (m, 2H), 3.00-2.85 (m, 2H), 2.88-2.71 (m, 2H), 2.34-2.16 (m, 6H), 2.15-1.96 (m, 4H), 1.49-1.35 (m, 4H), 1.31 (s, 6H), 1.30-1.08 (m, 4H), 1.08 (s, 6H) ppm.

ПРИМЕР 7

[00352] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9b** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00353] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(2-гидроксиэтокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-

октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**9b**)

[00354] **Этап 1:** К раствору **8b** (37 мг, 44 мкмоль) в ТГФ (1.4 mL) добавили ТБАФ (1 M в ТГФ, 0.09 мл) и смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Удаление ТГФ *in vacuo* дало сырой гидроксильный интермедиат, который использовали на следующем этапе без дальнейшего очищения. ЭИ м/з: 664 (M+1). ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.42 (d, *J*=7.4 Гц, 2H), 7.36 (t, *J*=7.5 Гц, 2H), 7.29 (t, *J*=7.3 Гц, 1H), 6.97 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.96 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.87 (dd, *J*=4.4, 2.6 Гц, 2H), 6.75 (dd, *J*=8.4, 2.5 Гц, 1H), 6.72 (dd, *J*=8.4, 2.5 Гц, 1H), 5.03 (s, 2H), 4.02-3.98 (m, 2H), 3.87-3.83 (m, 2H), 2.94 (d, *J*=16.3 Гц, 2H), 2.82 (dd, *J*=18.2, 8.2 Гц, 2H), 2.40-2.20 (m, 5H), 2.16-1.95 (m, 4H), 1.77-1.62 (m, 3H), 1.59-1.49 (m, 1H), 1.48-1.32 (m, 8H), 1.25 (tt, *J*=13.8, 3.8 Гц, 2H), 1.12 (d, *J*=13.3 Гц, 6H), 0.98 (t, *J*=7.4 Гц, 1H) ppm.

[00355] **Этап 2:** К раствору сырого гидроксильного интермедиата (20 мг, 30 мкмоль) в этилацетате (2 мл) добавили влажную Pd/C (10%, 20 мг) под азотом. Смесь продули водородом 3 раза и перемешивали при 20-25°C в атмосфере водорода в течение 16 ч. Смесь отфильтровали через целит для удаления Pd/C и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-35% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **9b** (4 мг, выход 23%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 574.2 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.16 (s, 1H), 7.02-6.87 (m, 2H), 6.85-6.72 (m, 2H), 6.72-6.57 (m, 2H), 4.08-4.01 (m, 2H), 3.99-3.89 (m, 2H), 3.01-2.87 (m, 2H), 2.87-2.68 (m, 2H), 2.33-2.15 (m, 6H), 2.14-1.97 (m, 4H), 1.78-1.58 (m, 5H), 1.50-1.35 (m, 2H), 1.36-1.25 (m, 7H), 1.22-1.07 (m, 8H) ppm.

ПРИМЕР 8

[00356] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9c** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00357] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(2-аминоэтоксид)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**9c**)

[00358] Способ 1: К раствору **8c** (0.11 г, 0.16 ммоль) в этилацетате (5 мл) добавили влажную Pd/C (10%, 30 мг) под азотом. Смесь продули водородом 3 раза и перемешивали при 15-25°C в атмосфере водорода в течение 16 ч. Смесь отфильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*, в результате чего получили дебензилированный интермедиат (94 мг) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 673 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400

МГц, метанол-*d*₄) δ 6.95 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.90-6.82 (m, 2H), 6.72-6.66 (m, 2H), 6.54 (dd, $J=8.3, 2.4$ Гц, 1H), 3.94 (t, $J=5.6$ Гц, 2H), 3.43-3.34 (m, 2H), 2.98-2.86 (m, 2H), 2.86-2.72 (m, 2H), 2.38-2.30 (m, 3H), 2.26 (d, $J=13.8$ Гц, 3H), 2.15-1.94 (m, 4H), 1.75-1.63 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.39-1.32 (m, 8H), 1.31-1.20 (m, 2H), 1.12 (d, $J=5.0$ Гц, 6H) ppm. Смесь дебензилированного интермедиата (90 мг) в метаноле (0.5 мл) подвергали воздействию HCl в диоксане (4 М, 0.5 мл) при 15-25°C на протяжении 16 ч. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **9c** (40 мг, выход 52%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 573.3 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, метанол-*d*₄) δ 8.41 (s, 1H, NH имидина), 6.99 (d, $J=8.4$ Гц, 1H), 6.90 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 6.87 (d, $J=8.4$ Гц, 1H), 6.76 (dd, $J=8.3, 2.5$ Гц, 1H), 6.69 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 6.54 (dd, $J=8.3, 2.5$ Гц, 1H), 4.17 (t, $J=5.0$ Гц, 2H), 3.40-3.22 (m, 2H), 2.99-2.71 (m, 4H), 2.41-2.21 (m, 6H), 2.15-1.93 (m, 4H), 1.75-1.64 (m, 4H), 1.47-1.33 (m, 8H), 1.27-1.25 (m, 2H), 1.12 (s, 3H), 1.09 (s, 3H) ppm.

[00359] Способ 2: К раствору **9b** (25 мг, 44 мкмоль) в толуоле (1 мл) добавили фталимид (10 мг, 65 мкмоль), трифенилфосфин (23 мг, 88 мкмоль) и диизопропилазодикарбоксилат (ДИАД, 18 мг, 88 мкмоль). После этого реакционную смесь перемешивали при 20-25°C в течение 24 ч, разбавили ее этилацетатом (40 мл), органическую смесь промыли водой (20 мл), высушили над безводным сульфатом натрия и сконцентрировали. Остаток растворили в этаноле (5 мл) и этанольный раствор подвергли воздействию гидразина (0.3 мл). Эту смесь перемешивали при 90°C в течение 3ч. После охлаждения реакционной смеси летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток перетерли с ацетонитрилом (10 мл). Смесь перемешивали при 25°C в течение 10 минут и отфильтровали. Твердое вещество промыли ацетонитрилом (10 мл) и объединенный фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Сырой продукт очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **9c** (11 мг, выход 44%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 573.4 (M+1)⁺.

ПРИМЕР 9

[00360] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9d** в вышеприведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00361] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-амино-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**9d**)

[00362] **Этап 1:** К раствору **8d** (0.84 г, 1.3 ммоль) в этилацетате (50 мл) добавили влажную Pd/C (10%, 0.15 г) под азотом. Смесь продули водородом и перемешивали при 15-25°C под водородом из баллона в течение 16 ч. Смесь профильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (0-50% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **9g** (0.66 г, выход 90%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 629 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ 9.12 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.39 (d, J=17.8 Гц, 1H), 7.15 (d, J=7.4 Гц, 1H), 6.90 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.82 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.64 (d, J=2.3 Гц, 1H), 6.51 (dd, J=8.2, 2.4 Гц, 1H), 2.85 (td, J=16.3, 3.8 Гц, 2H), 2.79-2.64 (m, 2H), 2.33-2.22 (m, 2H), 2.21-2.09 (m, 4H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.68-1.54 (m, 4H), 1.46 (s, 9H), 1.34-1.24 (m, 8H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.99 (s, 6H) ppm.

[00363] **Этап 2:** К раствору **9g** в метаноле (0.5 мл) was добавили HCl в диоксане (4 M, 0.5 мл) при 0°C и полученный раствор перемешивали при 15-25°C в течение 16 ч. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **9d** (1.3 мг, выход 44%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 529.3 (M+1)⁺.

[00364] Данные ЯМР 500 МГц в ДМСО-d₆ (ppm) для **9d** приведены в следующей Таблице 3.

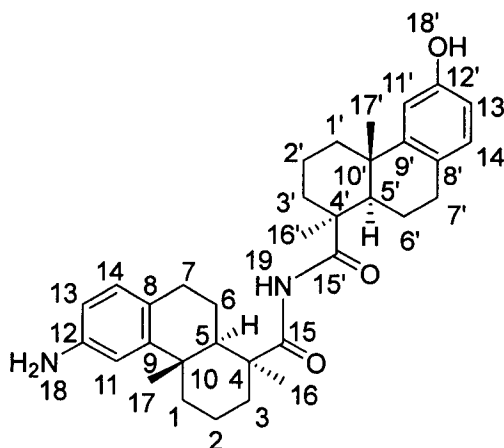


Таблица 3.

Атом №	¹ H ЯМР	¹³ C ЯМР	Атом №	¹ H ЯМР	¹³ C ЯМР
1	1.30 (Ha), 2.14 (He)	39.2	1'	1.30 (Ha), 2.14 (He)	39.36
2	1.54 (Ha), 1.84 (He)	19.61	2'	1.54 (Ha), 1.84 (He)	19.64

Атом №	¹ H ЯМР	¹³ C ЯМР	Атом №	¹ H ЯМР	¹³ C ЯМР
3	1.13 (Ha), 2.14 (He)	37.12	3'	1.13 (Ha), 2.14 (He)	37.18
4	-	45.52	4'	-	45.56
5	1.6	52.09	5'	1.6	52.32
6	1.84 (Ha), 2.23 (He)	21.27	6'	1.84 (Ha), 2.23 (He)	21.43
7	2.75	31	7'	2.75	31.08
8	-	121.65	8'	-	124.6
9	-	147.63	9'	-	148.39
10	-	38.17	10'	-	38.23
11	6.48	110.77	11'	6.63	111.81
12	-	146.43	12'	-	155.34
13	6.34	112.58	13'	6.5	113.23
14	6.68	129.09	14'	6.81	129.56
15	-	173.92	15'	-	174.03
16	1.26	27.65	16'	1.26	27.64
17	0.98	23.03	17'	0.98	23.08
18 (N)	4.69		18' (O)	8.99	
19 (N)	8.09				

[00365] ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8.14 (s, 1H), 6.92 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.86 (d, *J*=8.1 Гц, 1H), 6.73 (d, *J*=2.5 Гц, 1H), 6.65-6.57 (m, 2H), 6.50 (dd, *J*=8.1, 2.3 Гц, 1H), 4.75 (s, 1H), 3.49 (s, 1H), 2.99-2.85 (m, 2H), 2.79 (tt, *J*=11.6, 5.8 Гц, 2H), 2.34-2.14 (m, 6H), 2.15-1.95 (m, 4H), 1.74-1.51 (m, 5H), 1.46-1.34 (m, 2H), 1.30 (s, 6H), 1.21-1.06 (m, 8H) ppm.

[00366] ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.99 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 6.81 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 6.68 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.5 Гц, 1H), 6.50 (dd, *J*=8.0, 2.5 Гц, 1H), 6.48 (d, *J*=2.5 Гц, 1H), 6.34 (dd, *J*=8.0, 2.5 Гц, 1H), 4.69 (s, 2H), 2.86-2.60 (m, 4H), 2.28-2.10 (m, 6H), 1.94-1.75 (m, 4H), 1.65-1.53 (m, 4H), 1.35-1.20 (m, 8H), 1.20-1.06 (m, 2H), 0.98 (s, 6H) ppm.

[00367] ¹³C ЯМР (100 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 174.03, 173.92, 155.34, 148.39, 147.63, 146.43, 129.56, 129.09, 124.60, 121.65, 113.23, 112.58, 111.81, 110.77, 52.32, 52.09, 45.56, 45.52,

39.20, 39.36, 38.23, 38.17, 37.18, 37.12, 31.08, 31.00, 27.65, 27.64, 23.08, 23.03, 21.43, 21.27, 19.64, 19.61 ppm.

[00368] ВЭЖХ (способ В): Время удержания (R_t): 8.92 мин, чистота: 99.4%. хиральная ВЭЖХ: >99.9% (в колонке AD, AS, OD и OJ). Оптическое вращение $[\alpha]^{25}$: +2.53° (1.7 г/100 мл ТГФ).

ПРИМЕР 10

[00369] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9e** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00370] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-1,4*a*-диметил-6-(пиперазин-1-yl)-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**9e**)

[00371] К раствору **8e** (61 мг, 77 мкмоль) в этилацетате (1 мл) добавили влажную Pd/C (10%, 5 мг) под азотом. Смесь продули водородом 3 раза и перемешивали при 30 ° в атмосфере водорода в течение 16 ч. Смесь отфильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*, в результате чего получили дебензилированный интермедиат (54 мг, ЭИ м/з: 698 ($M+1$)⁺), который растворили в метаноле (0.5 мл) и подвергли воздействию HCl в диоксане (4 М, 0.5 мл) при 15-25 °C в течение 16 ч. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **9e** (10 мг, выход 22%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 598 ($M+1$)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, метанол-*d*₄) δ 8.40 (s, 1H, NH), 7.00 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.92 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 6.87 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.80 (dd, $J=8.3, 2.4$ Гц, 1H), 6.70 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 6.54 (dd, $J=8.2, 2.4$ Гц, 1H), 3.36 (m, 8H), 3.02-2.71 (m, 4H), 2.42-2.20 (m, 6H), 2.15-1.92 (m, 4H), 1.79-1.59 (m, 4H), 1.52-1.18 (m, 10H), 1.12 (d, $J=9.1$ Гц, 6H) ppm.

ПРИМЕР 11

[00372] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9f** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00373] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(диметиламино)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**9f**)

[00374] К раствору соединения **8d** (36 мг, 50 мкмоль) в метаноле (0.5 мл) добавили HCl в диоксане (4 N, 0.5 мл, 2 моль) при 0 °C и полученную смесь перемешивали при 20-25 °C в течение 16 ч. Реакцию контролировали при помощи жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией до разрушения соединения **8d**. Летучие вещества удалили *in vacuo*, в результате чего получили 27 мг свободного аминного интермедиата, который растворили в метаноле (2 мл), после чего добавили Pd/C (10%, 5 мг) под азотом. Реакционную смесь продули водородом и перемешивали при 20-25 °C под водородом из баллона в течение 16 ч. В кислотных условиях произошло N-метилирование с метанолом. Смесь профильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **9f** (10 мг, выход 36%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 557 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.15 (s, 1H), 6.99-6.90 (m, 2H), 6.73 (d, J=2.6 Гц, 1H), 6.68-6.58 (m, 3H), 4.69 (s, 1H), 2.98-2-2.85 (m, 8H), 2.87-2.72 (m, 2H), 2.35-2.16 (m, 6H), 2.15-1.98 (m, 4H), 1.66 (d, J=14.5 Гц, 4H), 1.5-1.34 (m, 2H), 1.31 (s, 3H), 1.31 (s, 3H) 1.19 (s, 3H), 1.17-1.08 (m, 5H) ppm.

ПРИМЕР 12

[00375] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9g** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00376] *трет*-бутил (4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонилкарбамоил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-илкарбамат (**9g**)

[00377] К раствору **8d** (0.84 г, 1.3 ммоль) в этилацетате (50 мл) добавили влажную Pd/C (10%, 0.15 г) под азотом. Смесь продули водородом и перемешивали при 15-25 °C под водородом из баллона в течение 16 ч до полного разрушения **8d**, что контролировали посредством жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. Смесь профильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (0-50% этилацетат в петролейном эфире) и получили соединение **9g** (0.66 г, выход 90%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 629 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9.12 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.39 (d, J=17.8 Гц, 1H), 7.15 (d, J=7.4 Гц, 1H), 6.90 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.82 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.64 (d, J=2.3 Гц, 1H), 6.51 (dd, J=8.2, 2.4 Гц, 1H), 2.85 (td, J=16.3, 3.8 Гц, 2H), 2.79-2.64 (m, 2H), 2.33-2.22 (m, 2H), 2.21-2.09 (m, 4H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.68-1.54 (m, 4H), 1.46 (s, 9H), 1.34-

1.24 (m, 8H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.99 (s, 6H) ppm.

ПРИМЕР 13

[00378] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9h** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00379] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(2-аминоацетамидо)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксаид (**9h**)

[00380] К раствору Fmoc-Gly-OH (30 мг, 0.1 ммоль) в ДМФ (1 мл) добавили HATU (38 мг, 0.1 ммоль) и DIPEA (39 мг, 0.3 ммоль) при 25 °C. Реакционную смесь перемешивали при этой температуре на протяжении 1 часа. Затем к смеси добавили **9d** (30 мг, 0.06 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч до полного разрушения **9d** (по результатам контроля жидкостной хроматомасс-спектрометрии). К смеси добавили пиперидин (0.2 мл) и полученную смесь перемешивали еще 30 минут при комнатной температуре. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **9h** (17 мг, выход 51%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 586 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.70 (br s, 1H, CONH-Ph), 9.03 (s, 1H, OH), 8.12 (s, 1H, NH имидина), 7.52 (s, 1H), 7.41 (dd, *J*=8.3, 1.8 Гц, 1H), 6.97 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.64 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.51 (dd, *J*=8.2, 2.3 Гц, 1H), 3.22 (s, 2H), 2.95-2.63 (m, 4H), 2.33-2.23 (m, 2H), 2.23-2.08 (m, 4H), 1.98-1.77 (m, 4H), 1.71-1.51 (m, 4H), 1.37-1.23 (m, 8H), 1.20-1.09 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm.

ПРИМЕР 14

[00381] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9i** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00382] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(3-аминопропанамидо)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксаид (**9i**)

[00383] К раствору Boc-β-Ala-OH (38 мг, 0.2 ммоль) в ДМФ (1 мл) добавили HATU (76 мг, 0.2 ммоль) и DIPEA (52 мг, 0.4 ммоль) при 25°C. Полученный раствор перемешивали при этой температуре в течение часа. Затем к смеси добавили **9d** (53 мг, 0.1 ммоль) и

реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч до полного разрушения **9d** (по результатам контроля жидкостной хроматомасс-спектрометрии). Реакционную смесь разбавили этилацетатом и промыли водой и рассолом. Органическую смесь высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток растворили в ДХМ (2 мл) и к раствору медленно добавили ТФК (0.2 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **9i** (30 мг, выход 50%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 600 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*dd*) δ 7.38 (s, 1H), 7.20 (d, *J*=8.2 Гц, 1H), 6.90 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.76 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.60 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.43 (dd, *J*=8.2, 2.3 Гц, 1H), 2.93 (t, *J*=6.5 Гц, 2H), 2.90-2.80 (m, 2H), 2.80-2.63 (m, 2H), 2.47 (t, *J*=6.5 Гц, 2H), 2.30-2.12 (m, 6H), 2.02-1.85 (m, 4H), 1.65-1.54 (m, 4H), 1.37-1.28 (m, 2H), 1.26 (s, 3H), 1.25 (s, 3H), 1.21-1.11 (m, 2H), 1.02 (s, 3H), 1.01 (s, 3H) ppm.

ПРИМЕР 15

[00384] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9j** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00385] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-((*S*)-2-амино-3-гидроксипропанамидо)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамида (**9j**)

[00386] При помощи той же процедуры для приготовления **9h**, за исключением замены Fmoc-Gly-OH соединением Fmoc-Ser-OH, получили **9j** (18 мг, выход 51%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 616 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*dd*) δ 9.74 (br s, 1H, CONH-Ph), 9.00 (s, 1H, OH), 8.11 (s, 1H, NH имидина), 7.58 (s, 1H), 7.41 (dd, *J*=8.2, 2.0 Гц, 1H), 6.96 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.50 (dd, *J*=8.2, 2.4 Гц, 1H), 4.82 (t, *J*=5.5 Гц, 1H, OH на Ser), 3.62-3.45 (m, 3H), 2.97-2.61 (m, 4H), 2.33-2.21 (m, 2H), 2.21-2.03 (m, 4H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.36-1.20 (m, 8H), 1.23-1.06 (m, 2H), 1.06-0.93 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 16

[00387] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9k** а в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00388] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-1,4*a*-диметил-6-(2-(метиламино)ацетамидо)-

1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксаид; трифторуксусной кислоты соль (9k)

[00389] Согласно процедурам по приготовлению 9i, за исключением замены Вос-β-Ala-ОН на *N*-Вос-Sar-ОН, получили 9k (27 мг, выход 28%, соль ТФК) в виде белого твердого вещества после очистки посредством преп-ВЭЖХ (способ А). ЭИ м/з: 600.5 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10.33 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.74 (s, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.32 (dd, *J*=8.3, 1.6 Гц, 1H), 7.03 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.1 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.50 (dd, *J*=8.2, 2.4 Гц, 1H), 3.87 (s, 2H), 2.97-2.66 (m, 4H), 2.62 (s, 3H), 2.37-2.23 (m, 2H), 2.21-2.06 (m, 4H), 2.00-1.77 (m, 4H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.38-1.23 (m, 8H), 1.21-1.08 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ -73.43 ppm.

ПРИМЕР 17

[00390] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения 9l в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00391] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-*N*-[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил]-6-[(2*S*)-2,6-диаминогексанамидо]-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксаид; соль трифторуксусной кислоты (9l)

[00392] При соблюдении процедур по приготовлению 9i, за исключением замены Вос-β-Ala-ОН на Вос-Lys-ОН, было получено соединение 9l (9 мг, выход 49%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 657.5 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10.33 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.78 (br s, 6H), 7.51 (s, 1H), 7.34 (d, *J*=8.1 Гц, 1H), 7.02 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.6 Гц, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.51 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 3.82 (s, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.82-2.67 (m, 5H), 2.29 (s, 2H), 2.15 (s, 4H), 1.85 (s, 6H), 1.64-1.51 (m, 6H), 1.28 (d, *J*=6.8 Гц, 10H), 1.13 (s, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO *d*₆) δ -73.53 ppm.

ПРИМЕР 18

[00393] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения 9m в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00394] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-*N*-[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил]-6-[(2*S*)-2-амино-3-(1*H*-имидазол-4-ил)пропанамидо]-

1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксамид; трифторуксусной кислоты соль (**9m**)

[00395] При соблюдении процедур по приготовлению **9i**, за исключением замены Вос-β-Ala-ОН на Вос-His-ОН, получили **9m** (11 мг, выход 60%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 666.3 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10.39 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.45 (br s, 2H), 8.13 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.31-7.27 (dd, J=8.3 Гц, 1.7 Гц, 1H), 7.02 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.82 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.63 (d, J=2.2 Гц, 1H), 6.51 (dd, J=8.2, 2.3 Гц, 1H), 4.20 (t, J=6.8 Гц, 1H), 3.28-3.13 (m, 2H), 2.95-2.63 (m, 4H), 2.34-2.22 (m, 2H), 2.22-2.08 (m, 4H), 1.93-1.81 (m, 4H), 1.66-1.56 (m, 4H), 1.37-1.22 (m, 8H), 1.22-1.08 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ -73.64 ppm.

ПРИМЕР 19

[00396] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9n** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00397] (3*S*)-3-амино-3-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}пропановая кислота (**9n**)

[00398] При соблюдении процедур по приготовлению **9i**, за исключением замены Вос-β-Ala-ОН на OtBu-*N*-Вос-Asp-ОН, получили **9n** (11 мг, выход 62%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 644.3 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10.34 (br s, 1H), 9.03 (br s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.34 (dd, J=8.3, 1.8 Гц, 1H), 6.98 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.81 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.63 (d, J=2.3 Гц, 1H), 6.50 (dd, J=8.2, 2.3 Гц, 1H), 3.79-3.74 (m, 1H), 2.93-2.69 (m, 5H), 2.37-2.23 (m, 3H), 2.22-2.08 (m, 4H), 1.95-1.78 (m, 4H), 1.66-1.54 (m, 4H), 1.42-1.22 (m, 8H), 1.19-1.09 (m, 2H), 1.00 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm.

ПРИМЕР 20

[00399] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9o** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00400] (4*S*)-4-амино-4-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}бутановая кислота; трифторуксусной кислоты соль (**9o**)

[00401] При соблюдении процедур по приготовлению **9i**, за исключением замены *Woc-β-Ala-OH* на *OtBu-N-Woc-Glu-OH*, получили **9o** (8 мг, выход 46%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 658.3 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.32 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.35 (d, *J*=8.2 Гц, 1H), 7.02 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.1 Гц, 1H), 6.50 (dd, *J*=8.2, 2.3 Гц, 1H), 3.87 (t, *J*=6.5 Гц, 1H), 2.97-2.67 (m, 4H), 2.41-2.22 (m, 4H), 2.22-2.08 (m, 4H), 2.05-1.97 (m, 2H), 1.94-1.80 (m, 4H), 1.69-1.52 (m, 4H), 1.42-1.22 (m, 8H), 1.22-1.06 (m, 2H), 1.02 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ -73.50 ppm.

ПРИМЕР 21

[00402] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9p** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1, а синтез показан на ФИГ. 3а.

[00403] **Этап 1:** Приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(аминометил)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(бензилокси)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамида; трифторуксусной кислоты соли (**9p'**)

[00404] К раствору **8g** (70 мг, 0.11 ммоль) в этаноле (15 мл) под азотом добавили никель Ренея (0.610 г) при 0°C, а затем добавили *конц. водный* раствор аммиака (1.5 мл). Полученную смесь продули водородом и перемешивали в атмосфере водорода из баллона в течение 18 ч. Восстановление посчитали законченным по результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Раствор отфильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*, в результате чего получили сырье (67 мг, выход 95%) в виде белого твердого вещества, 7 мг из которого очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А), что дало **9p'** (4 мг, соль ТФК) для анализа ЯМР. ЭИ м/з: 633.4 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9.21 (s, 2H), 9.01 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.52-7.34 (m, 6H), 7.18 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 7.10 (d, *J*=7.9 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.2 Гц, 1H), 6.51 (dd, *J*=8.2, 2.3 Гц, 1H), 4.19-4.03 (m, 4H), 3.00-2.93 (m, 1H), 2.87-2.77 (m, 2H), 2.75-2.64 (m, 1H), 2.35-2.24 (m, 3H), 2.22-2.09 (m, 3H), 1.96-1.74 (m, 4H), 1.71-1.51 (m, 4H), 1.38-1.22 (m, 8H), 1.21-1.08 (m, 2H), 1.03 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ -73.53 ppm.

[00405] **Этап 2:** Приготовление (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(аминометил)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамида; трифторуксусной кислоты соли (**9p**)

[00406] К раствору соединения **9p'** (60 мг, 95 мкмоль) в ДХМ (5 мл) добавили по каплям трёхбромистый бор (1 М в ДХМ, 1 мл) в атмосфере аргона при -78 °С. Полученную смесь перемешивали при -78°С в течение одного часа до полного удаления бензильной группы, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Затем к смеси добавили метанол (5 мл) по каплям при -78°С и реакционной смеси дали согреться до комнатной температуры. Раствор разбавили ДХМ (50 мл) и промыли *нас. вод.* бикарбонатом натрия (20 мл x 2). Органическую смесь высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А), в результате чего получили указанное в заголовке соединения **9p** (15 мг, выход 30%, соль ТФК) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 543.2 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.02 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.09 (br s, 3H), 7.40 (s, 1H), 7.15 (d, J=7.9 Гц, 1H), 7.09 (d, J=7.9 Гц, 1H), 6.82 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.64 (d, J=2.3 Гц, 1H), 6.51 (dd, J=8.2, 2.4 Гц, 1H), 3.96 (d, J=4.7 Гц, 2H), 3.00-2.91 (m, 1H), 2.87-2.76 (m, 2H), 2.75-2.66 (m, 1H), 2.36-2.24 (m, 3H), 2.22-2.10 (m, 3H), 1.97-1.78 (m, 4H), 1.68-1.53 (m, 4H), 1.35-1.23 (m, 8H), 1.16 (qd, J=14.0, 3.6 Гц, 2H), 1.03 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ -73.53 ppm.

ПРИМЕР 22

[00407] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9q** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1.

[00408] 4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}бутановая кислота (**9q**)

[00409] В колбу с завинчивающейся крышкой 4 мл добавили соединения **9d** (15 мг, 28 мкмоль) и глутаровый ангидрид (5.0 мг, 43 мкмоль). Смесь твердых веществ растворили в ТГФ (0.2 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов до завершения реакции, согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Смесь разбавили метанолом (2 мл). Раствор отфильтровали и фильтрат очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединения **9q** (10 мг, выход 56%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 643.3 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.73 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.33 (dd, J=8.3, 1.7 Гц, 1H), 6.94 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.81 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.63 (d, J=2.3 Гц, 1H), 6.50 (dd, J=8.2, 2.3 Гц, 1H), 2.94-2.60 (m, 4H), 2.33-2.07 (m, 10H), 1.96-1.51 (m, 10H), 1.37-1.21 (m, 8H), 1.14 (t, J=14.1 Гц, 2H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (s, 3H) ppm.

ПРИМЕР 23

[00410] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9r** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1, а синтез показан на ФИГ. 3b.

[00411] 2-[(4bS,8S,8aR)-8-[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}метил)амино]уксусная кислота; трифторуксусной кислоты соль (**9r**)

[00412] К раствору Вос-иминодиуксусной кислоты (30 мг, 0.13 ммоль) в ДМФ (0.5 мл) добавили HATU (60 мг, 0.16 ммоль) и DIPEA (72 мг, 0.56 ммоль) при 25 °C. Реакционную смесь перемешивали при этой температуре на протяжении 1 часа. Реакционную смесь охладили до 10-15°C и затем к смеси добавили **9d** (30 мг, 57 мкмоль). После перемешивания реакционной смеси при 10-15°C в течение 3 часов **9d** было полностью разрушено (согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии). К реакционной смеси добавили водный гидроксид лития (1 М, 0.5 мл). Затем смесь перемешивали при 70°C в течение 2 часов. После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры и фильтрации через мембрану шприцевого фильтра фильтрат напрямую сепарировали посредством обращенно-фазовой хроматографии (5-90% ацетонитрил в воде (с 0.1% ТФК), что дало белое твердое вещество. Твердое вещество растворили в ДХМ (0.4 мл), к раствору добавили ТФК (0.1 мл) медленно при комнатной температуре и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **9r** (10 мг, выход 28%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 644.4 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.24 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.32 (d, J=7.9 Гц, 1H), 7.01 (d, J=8.5 Гц, 1H), 6.82 (d, J=8.3 Гц, 1H), 6.67-6.60 (m, 1H), 6.51 (d, J=8.4 Гц, 1H), 3.88-3.76 (m, 4H), 2.96-2.61 (m, 5H), 2.32-2.22 (m, 2H), 2.19-2.08 (m, 4H), 1.97-1.78 (m, 4H), 1.69-1.54 (m, 4H), 1.39-1.20 (m, 8H), 1.22-1.08 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ -73.44 ppm.

ПРИМЕР 24

[00413] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9t** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1, а синтез показан на ФИГ. 3с.

[00414] (1S,4aS,10aR)-6-амино-N-((1R,4aS,10aR)-7-изопропил-1,4а-диметил-

1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**9t**)

[00415] **Этап 1:** приготовление (1*R*,4a*S*,10a*R*)-перфторфенил 7-изопропил-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксилата (**6d**)

[00416] При помощи той же процедуры для приготовления **6b**, за исключением замены **4** на **14f** (дегидроабетиновая кислота, CAS № 1740-19-8, 0.50 г, 1.7 ммоль), получили соединение **6d** (0.30 г, выход 39%) в виде бесцветного масла после флэш-хроматографии (5% этилацетат в петролейном эфире). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСO-*d*₆) δ 7.2 (d, *J*=7.0 Гц, 1H), 7.00-6.99 (m, 1H), 6.88 (s, 1H), 2.94-2.78 (m, 3H), 2.38-2.36 (m, 1H), 2.25-2.23 (m, 1H), 2.02-1.73 (m, 5H), 1.46-1.40 (m, 2H), 1.36 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.15 (d, *J*=7.0 Гц, 6H) ppm.

[00417] **Этап 2:** приготовление *трет*-бутил (4b*S*,8*S*,8a*R*)-8-((1*R*,4a*S*,10a*R*)-7-изопропил-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонилкарбамоил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-илкарбамата (**8t**)

[00418] При помощи той же процедуры для приготовления **8d** реакция связывания амида **7d** (40 мг, 0.11 ммоль) с **6d** (60 мг, 0.13 ммоль) дала чистое соединение **8t** (10 мг, выход 14%). ЭИ м/з: 655 (M+1)⁺.

[00419] **Этап 3:** приготовление (1*S*,4a*S*,10a*R*)-6-амино-*N*-((1*R*,4a*S*,10a*R*)-7-изопропил-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксамида (**9t**)

[00420] К раствору соединения **8t** (10 мг, 15 мкмоль) в ДХМ (2 мл) добавили по каплям ТФК (0.2 мл) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение одного часа до удаления Вос, что контролировали посредством жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь разбавили ДХМ (20 мл) и промыли *нас. вод.* бикарбонатом натрия, водой и рассолом. Органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*, в результате чего получили соединение **9t** (5 мг, выход 59%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 555.2 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.19 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 7.00 (d, *J*=9.5 Гц, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.81 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.72 (d, *J*=2.5 Гц, 1H), 6.55-6.53 (m, 1H), 2.88-2.74 (m, 5H), 2.43-2.40 (m, 1H), 2.31-2.28 (m, 3H), 2.11-1.99 (m, 2H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.81-1.67 (m, 4H), 1.52-1.46 (m, 2H), 1.42 (s, 4H), 1.35 (s, 3H), 1.32-1.30 (m, 3H), 1.26 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 1.13 (s, 3H) ppm.

ПРИМЕР 25

[00421] Данный пример демонстрирует способы приготовления конечного соединения **9u** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1, а синтез показан на ФИГ. 3d.

[00422] **Этап 1:** приготовление (4b*S*,8*S*,8a*R*)-8-(аминометил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ола (**7f**)

[00423] К раствору соединения **7f** (0.10 г, 0.37 ммоль) в ТГФ (10 мл) добавили комплекс боран-метилсульфид (2 М в ТГФ, 1.9 мл, 3.7 ммоль) шприцом при комнатной температуре. Затем смесь перемешивали при 70°C в течение 48 часов до завершения реакции под контролем жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. После охлаждения реакционной смеси ее вылили в холодный метанол (50 мл) при 0-5°C. Летучие вещества удалили *in vacuo*. Остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **7f** (45 мг, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 260.2 (M+1)⁺.

[00424] **Этап 2:** приготовление (1*S*,4a*S*,10a*R*)-*N*-{[(1*S*,4a*S*,10a*R*)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-ил]метил}-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоксамида (**9u**)

[00425] К раствору подокарповой кислоты **1** (10 мг, 36 мкмоль) в ДМФ (0.5 мл) добавили HATU (21 мг, 55 мкмоль) и DIPEA (14 мг, 0.11 ммоль) при 25 °C. Полученную смесь перемешивали при этой температуре в течение 16 часов. Затем к смеси добавили соединение **7f** (10 мг, 39 мкмоль). После этого реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 40 часов под контролем жидкостной хроматомасс-спектрометрии, затем реакционную смесь напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А), в результате чего получили соединение **9u** (9 мг, выход 48%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 516.3 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 8.93 (br s, 2H), 6.77 (dd, *J*=8.2, 5.3 Гц, 2H), 6.70 (t, *J*=5.9 Гц, 1H), 6.62 (s, 2H), 6.47 (dt, *J*=8.2, 2.1 Гц, 2H), 3.70-3.62 (m, 1H), 2.87-2.55 (m, 5H), 2.22-2.09 (m, 4H), 2.02-1.80 (m, 4H), 1.72-1.13 (m, 14H), 1.10-1.04 (m, 1H), 1.01 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.87-0.81 (m, 1H) ppm.

ПРИМЕР 26

[00426] Данный пример демонстрирует способ приготовления соединения **15b** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 1, а синтез показан на ФИГ. 3е.

[00427] Глюкозный аналог **15b** получили посредством щелочного гидролиза ацетилового эфира **15a**, при котором соединение **15a** образовалось в результате реакции бис-фенола **9a** и бром-глюкозы **16**.

[00428] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-1,4*a*-диметил-6-((2*S*,3*R*,4*S*,5*S*,6*R*)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2*H*-пиран-2-илокси)-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**15b**)

[00429] К раствору **9a** (10 мг, 19 мкмоль) в ацетонитриле (0.2 мл) добавили [(2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,6*S*)-3,4,5-трис(ацетилокси)-6-бромоксан-2-ил]метилацетат (**16**, 10 мг, 24 мкмоль) и оксид серебра (I) (15 мг, 64 мкмоль). Полученную смесь перемешивали при 10-20°C в течение 48 ч. Смесь профильтровали через целит и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток (сырой **15a**) растворили в ТГФ/воде (об/об = 4, 1 мл) и к раствору добавили гидроксид лития (0.50 мг, 0.021 ммоль). После перемешивания реакционной смеси при 18 °C в течение 2 ч смесь отфильтровали и фильтрат напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **15b** (2 мг, выход 15%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 692 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.01 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 6.96-6.89 (m, 2H), 6.85-6.75 (m, 2H), 6.66-6.61 (m, 1H), 6.57 (s, 1H), 5.26 (d, *J*=5.1 Гц, 1H), 5.07 (d, *J*=4.4 Гц, 1H), 4.99 (d, *J*=6.1 Гц, 1H), 4.80 (d, *J*=7.8 Гц, 1H), 4.52-4.49 (m, 1H), 2.32-2.22 (m, 4H), 2.21-2.09 (m, 4H), 1.93-1.78 (m, 5H), 1.66-1.54 (m, 4H), 1.32-1.22 (m, 14H), 1.15 (s, 3H), 1.00 (d, *J*=7.7 Гц, 6H) ppm.

ПРИМЕР 27

[00430] Данный пример демонстрирует способ приготовления соединений **17b** и **17c** в выше приведенной Таблице 1. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 4.

[00431] Аналог фосфорной кислоты **17a** получили в результате реакции фенола **9g** и дисфосфорилхлорида **18**. Соединения **17b** и **17c** получили в результате кислотного снятия защиты **17a** при помощи ТФК. Аналог фосфорной кислоты **17c** был нерастворимым в воде в щелочных и нейтральных условиях, но не стабильным при pH 5 и был преобразован в

метоксифосфат **17b** в присутствии метанола; последний был стабилен при pH 5-8.

[00432] (4b*S*,8*S*,8a*R*)-8-((1*S*,4a*S*,10a*R*)-6-амино-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонилкарбамоил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил метил гидрофосфат (**17b**); (4b*S*,8*S*,8a*R*)-8-((1*S*,4a*S*,10a*R*)-6-амино-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбонилкарбамоил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил дигидрофосфат (**17c**)

[00433] К перемешанному раствору **9g** (10 мг, 16 мкмоль) в ТГФ (0.1 мл) при -40°C добавили дифосфорилхлорид **18** (10 мг, 40 мкмоль) и ТЭА (16 мг, 0.16 ммоль). После того, как реакцию смесь перемешивали при -40°C в течение одного часа, реакцию остановили при помощи воды и pH откорректировали при помощи насыщенного водного раствора бикарбоната натрия до pH 8. Затем раствор окислили водным гидрохлоридом (1 N) до pH 2 и экстрагировали этилацетатом. Объединенную органическую смесь промыли рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали для получения сырого **17a**. К раствору **17a** (11 мг) в приблизительно 1% метаноле в метиленхлориде (1 мл) добавили ТФК (0.1 мл) и полученную смесь перемешивали при 25°C в течение одного часа. Летучие вещества удалили и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **17b** (3 мг, выход 31%) в виде белого твердого вещества и **17c** (2 мг, выход 20%) в виде белого твердого вещества.

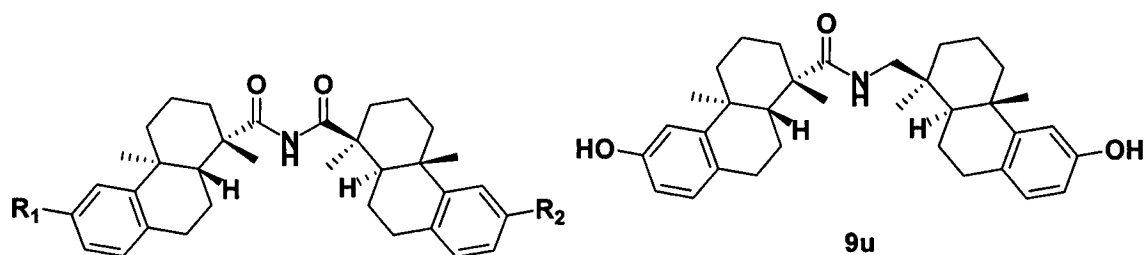
[00434] Для **17b**: ЭИ м/з: 623 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.13 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.00 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.96-6.89 (m, 1H), 6.89-6.84 (m, 2H), 6.76-6.67 (m, 1H), 3.60 (d, *J*=11.4 Гц, 3H), 2.89 (t, *J*=17.0 Гц, 2H), 2.81-2.68 (m, 1H), 2.56-2.50 (m, 4H), 2.33-2.23 (m, 2H), 2.16 (d, *J*=12.3 Гц, 4H), 1.93-1.80 (m, 4H), 1.67-1.55 (m, 4H), 1.33-1.20 (m, 8H), 1.15 (t, *J*=10.4 Гц, 2H), 1.00 (s, 6H) ppm.

[00435] Для **17c**: ЭИ м/з: 609 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.11 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.00-6.91 (m, 2H), 6.86 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.68 (d, *J*=8.1 Гц, 1H), 6.48 (s, 1H), 6.34 (d, *J*=7.9 Гц, 1H), 2.87 (d, *J*=14.4 Гц, 2H), 2.80-2.57 (m, 5H), 2.31-2.22 (m, 2H), 2.19-2.07 (m, 4H), 1.95-1.73 (m, 4H), 1.69-1.48 (m, 4H), 1.27 (d, *J*=5.9 Гц, 8H), 1.21-1.06 (m, 2H), 0.99 (s, 6H) ppm.

ПРИМЕР 28

[00436] Структуры, рассчитанные значения LogP, результаты масс-спектрометрии и ВЭЖХ для выше указанных соединений указаны в Таблице 4.

Таблица 4. Химико-физические свойства нагрузки



	R1	R2	CLogP	MS M+H (100%)	HPLC (ВЭЖК)	
					Чистота (%)	R _t (мин)
9a	OH	OH	+++	530.3	100	2.01
9b	OH	OCH ₂ CH ₂ OH	+++	574.2	100	2.00
9c	OH	OCH ₂ CH ₂ NH ₂	+++	572.4	100	8.72
9d	OH	NH ₂	+++	529.3	95	8.66
9e	OH	N-пиперазин	+++	598.4	100	8.99
9f	OH	N(CH ₃) ₂	+++	557.4	95	10.07
9h	OH	NH-Gly	+++	586.2	100	7.51
9i	OH	NH-β-Ala	+++	600.3	97	8.43
9j	OH	NH-Ser	++	616.3	92	6.38
9k	OH	NH-Sar	+++	599.4	99	7.55
9l	OH	NH-Lys	+++	657.5	96	6.82
9m	OH	NH-His	+++	666.3	99	6.85
9n	OH	NH-Asp	++	644.3	99	6.69
9o	OH	NH-Glu	++	658.3	100	7.41
9p	OH	CH ₂ NH ₂	+++	526.2	99	7.48
9q	OH	NHCO(CH ₂) ₃ CO ₂ H	+++	643.3	100	9.35
9r	OH	NHCOCH ₂ NH ₂ CH ₂ CO ₂ H	+	644.4	100	7.7
9t	NH ₂	iPr	+++	555.2	98	11.4
9u	OH	OH	+++	516.3	100	10.6
15b	OH	Глюкоза	++	692.2	90	7.24
17b	NH ₂	OPO ₃ HMe	+++	623.2	99	6.42
17c	NH ₂	OPO ₃ H ₂	+++	609.1	98	5.83

6 < +++ < 9; 4 < ++ < 6; 2 < + < 4

ПРИМЕР 29

[00437] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления VA-нагрузок, VC-нагрузок и VC-PAВ-нагрузок, представленных соединениями **21c**, **21d**, **21h** и **21j**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 5.

[00438] Соединение **21d** получили в результате реакции связывания амида **9d** с Fmoc-VA-кислотой (**20**) с последующими стандартными условиями снятия защиты Fmoc. Соединения **21c**, **21d**, **21h** и **21j** получили в результате реакции **9c**, **9d**, **9h** или **9j** с Fmoc-L-валин-L-цитруллин-*p*-аминобензиловый спирт *p*-нитрофенилкарбонат (Fmoc-VC-PAВ-PNP, **19**) с последующими стандартными условиями снятия защиты Fmoc, соответственно.

[00439] 4-((*S*)-2-((*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензил 2-((4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонилкарбамоил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-илокси)этилкарбамат (**21c**)

[00440] К раствору **9c** (18 мг, 31 мкмоль) в ДМФ добавили Fmoc-VC-PAВ-PNP **19** (16 мг, 21 мкмоль) и DIPEA (20 мг, 0.16 ммоль) и смесь перемешивали при 20-25°C в течение 24 ч. К полученной смеси добавили пиперидин (0.1 мл) и смесь перемешивали при 25°C в течение еще 2 ч до удаления Fmoc из интермедиата под контролем жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. Смесь отфильтровали через мембрану и фильтрат очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **21c** (14 мг, выход 50%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 978 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10.22 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.71 (d, *J*=7.5 Гц, 1H), 8.12 (s, 2H), 7.59 (d, *J*=8.3 Гц, 2H), 7.42 (t, *J*=5.4 Гц, 1H), 7.29 (d, *J*=8.2 Гц, 2H), 6.94 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.84-6.76 (m, 2H), 6.67 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.51 (dd, *J*=8.1, 2.0 Гц, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.52 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.51 (d, *J*=5.1 Гц, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.66 (d, *J*=5.7 Гц, 1H), 3.32 (d, *J*=5.6 Гц, 2H), 3.13-2.93 (m, 2H), 2.85 (t, *J*=18.0 Гц, 2H), 2.77-2.63 (m, 2H), 2.26 (d, *J*=7.2 Гц, 2H), 2.22-2.03 (m, 4H), 1.89-1.82 (m, 4H), 1.79-1.69 (m, 1H), 1.68-1.53 (m, 4H), 1.46-1.40 (m, 2H), 1.27 (d, *J*=3.3 Гц, 8H), 1.19-1.08 (m, 4H), 1.03-0.89 (m, 12H) ppm.

[00441] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-((*S*)-2-((*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**21d**)

[00442] К раствору **9d** (53 мг, 0.10 ммоль) в ДМФ (1 мл) добавили Fmoc-Val-Ala-ОН **20** (41 мг, 0.10 ммоль), HATU (38 мг, 0.1 ммоль) и DIPEA (26 мг, 0.20 ммоль). После того,

как реакцию смесь перемешивали при 25°C в течение 24 ч, соединение **9d** было разрушено, согласно результатам жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. Затем к смеси добавили пиперидин (0.1 мл) и полученный раствор перемешивали при 25°C еще на протяжении 3 ч. Смесь отфильтровали и фильтрат сконцентрировали *in vacuo* и остаток напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили соединение **21d** (45 мг, выход 64%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 699 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 8.40 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.32 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 7.03 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.88 (d, *J*=8.2 Гц, 1H), 6.72 (d, *J*=2.4 Гц, 1H), 6.56 (dd, *J*=8.3, 2.4 Гц, 1H), 4.60-4.48 (m, 1H), 3.22-3.11 (m, 1H), 3.02-2.93 (m, 1H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.74-2.70 (m, 1H), 2.43-2.31 (m, 3H), 2.28 (d, *J*=14.1 Гц, 3H), 2.16-1.96 (m, 3H), 1.81 (s, 1H), 1.78-1.65 (m, 4H), 1.53-1.42 (m, 4H), 1.38 (d, *J*=5.3 Гц, 6H), 1.33-1.22 (m, 2H), 1.14 (d, *J*=6.6 Гц, 6H), 1.09 (d, *J*=18.6 Гц, 6H) ppm.

[00443] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил} метил *N*-({[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}метил)карбамат (**21h**)

[00444] При соблюдении той же процедуры приготовления **21c**, за исключением использования **9h** вместо **9c** получили **21h** (85 мг, выход 32%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 990 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 8.40 (s, 1H, NH имида), 7.58 (d, *J*=8.5 Гц, 2H), 7.50 (s, 1H), 7.37 (d, *J*=8.5 Гц, 2H), 7.30 (d, *J*=7.5 Гц, 1H), 7.02 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.88 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.72 (d, *J*=2.4 Гц, 1H), 6.56 (dd, *J*=8.2, 2.5 Гц, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.66-4.52 (m, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.75 (d, *J*=5.7 Гц, 1H), 3.26-3.03 (m, 3H), 3.02-2.75 (m, 4H), 2.42-2.22 (m, 7H), 2.14-1.98 (m, 5H), 1.97-1.87 (m, 1H), 1.85-1.59 (m, 6H), 1.40 (t, *J*=15.9 Гц, 8H), 1.34-1.27 (m, 3H), 1.16-1.12 (m, 6H), 1.10 (d, *J*=6.9 Гц, 3H), 1.07 (d, *J*=6.9 Гц, 3H) ppm.

[00445] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(1*S*)-1-{{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формаидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамат (**21j**)

[00446] При соблюдении той же процедуры приготовления **21c**, за исключением использования **9j** вместо **9c**, получили **21j** (22 мг, выход 40%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 1021 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10.02 (s, 1H), 9.82 (s, 1H),

9.00 (s, 1H), 8.69-8.65 (m, 1H), 8.11-8.00 (m, 4H), 7.65-7.53 (m, 3H), 7.40-7.30 (m, 3H), 7.30-7.20 (m, 1H), 6.96 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 6.65-6.61 (m, 1H), 6.50 (dd, $J=8.0$ Гц, 2.0 Гц, 1H), 6.00-5.95 (m, 1H), 5.48 (s, 2H), 5.00-4.95 (m, 3H), 4.60-4.40 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 4H), 3.15-2.55 (m, 10H), 2.40-2.20 (m, 3H), 2.20-2.00 (m, 5H), 2.00-1.80 (m, 4H), 1.86-1.55 (m, 6H), 1.27 (d, $J=4.8$ Гц, 9H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.97-0.90 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 30

[00447] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления линкер-нагрузок **22d1**, **22d2** и **22j**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 5.

[00448] **Общая процедура приготовления линкер-нагрузки 22:** К раствору соединения **21** (5-30 мг, 1 эквив.) в ДМФ (0.5 мл) добавили раствор коммерчески доступного соединения DIBAC-Suc-PEG₄-COOSu или DIBAC-Suc-PEG₄-COOH, или BCN-PEG₄-COOSu (1.2 эквив.) в ТГФ (0.5 мл) и затем ТЭА (2 эквив.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре до разрушения **21**, согласно результатам контроля жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. Реакционную смесь сконцентрировали *in vacuo* и остаток напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ, в результате чего получили **22** в виде белого твердого вещества.

ПРИМЕР 31

[00449] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления линкер-нагрузки **22d1**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 5.

[00450] 1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенатрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенатрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (**22d1**)

[00451] При помощи общей процедуры приготовления линкер-нагрузки **22** получили **22d1** (10 мг, выход 28%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 1234 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.65 (d, $J=7.4$ Гц, 1H), 7.62-7.51 (m, 2H), 7.48-7.43 (m, 3H), 7.39-7.30 (m, 2H), 7.27-7.23 (m, 1H), 7.00 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.88 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 6.72 (d, $J=2.4$ Гц, 1H), 6.57-6.54 (m, 1H), 5.15-5.10 (m, 1H), 4.62 (s, 6H), 4.52-4.45 (m, 1H), 4.22-4.02 (m, 1H), 3.77-3.64 (m, 3H), 3.60-3.51 (m, 11H), 3.46-3.41 (m, 2H), 3.24 (t, $J=5.5$ Гц, 2H), 2.99-

2.66 (m, 5H), 2.57-2.51 (m, 1H), 2.37-2.24 (m, 6H), 2.21-2.12 (m, 1H), 2.09-1.95 (m, 5H), 1.74-1.65 (m, 4H), 1.47-1.41 (m, 4H), 1.39-1.35 (m, 6H), 1.31-1.22 (m, 2H), 1.14-1.10 (m, 6H), 1.05-0.97 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 32

[00452] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления линкер-нагрузки **22d2**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 5.

[00453] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамат (**22d2**)

[00454] При помощи общей процедуры приготовления линкер-нагрузки **22** получили **22d2** (7 мг, выход 44%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 735.0 (M/2+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.65-7.62 (m, 3H), 7.59-7.57 (m, 1H), 7.44-7.42 (m, 3H), 7.39-7.18 (m, 7H), 6.96 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.88 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.56-6.54 (m, 1H), 5.15-5.10 (m, 3H), 4.64 (s, 5H), 4.53-4.49 (m, 1H), 4.22 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 3.77-3.66 (m, 3H), 3.59-3.51 (m, 11H), 3.45-3.42 (m, 2H), 3.24 (t, *J*=5.5 Гц, 2H), 3.15-3.08 (m, 1H), 2.96-2.90 (m, 2H), 2.84-2.68 (m, 3H), 2.55 (t, *J*=6.0 Гц, 2H), 2.40-2.33 (m, 3H), 2.28-1.91 (m, 11H), 1.75-1.58 (m, 5H), 1.36-1.22 (m, 11H), 1.12-1.11 (m, 5H), 1.01-0.98 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 33

[00455] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления линкер-нагрузки **22j**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 5.

[00456] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(1*S*)-1-{{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамат (**22j**)

[00457] При помощи общей процедуры приготовления линкер-нагрузки **22** получили **22j** (8 мг, выход 26%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 778 (M/2+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10.02 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.11 (m, 2H), 7.88 (d, *J*=8.5

Гц, 1H), 7.80-7.75 (m, 1H), 7.70-7.66 (m, 1H), 7.65-7.53 (m, 4H), 7.53-7.45 (m, 3H), 7.40-7.25 (m, 7H), 6.96 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 6.63 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 6.50 (dd, $J=8.0$ Гц, 2.0 Гц, 1H), 6.00-5.95 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.10-5.05 (m, 4H), 4.43-4.33 (m, 1H), 4.25-4.10 (m, 2H), 3.65-3.55 (m, 5H), 3.50-3.40 (m, 12H), 3.30-3.25 (m, 2H), 3.15-2.55 (m, 10H), 2.40-2.20 (m, 5H), 2.20-2.10 (m, 4H), 2.00-1.90 (m, 2H), 1.86-1.70 (m, 5H), 1.64-1.54 (m, 6H), 1.50-1.25 (m, 9H), 1.20-1.10 (m, 2H), 1.00 (m, 6H), 0.86 (d, $J=6.5$ Гц, 3H), 0.82 (d, $J=6.5$ Гц, 3H) ppm.

ПРИМЕР 34

[00458] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления линкер-нагрузок, которые можно конъюгировать с антителом через цистеиновое конъюгирование, представленное соединением **24c**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 6.

[00459] Реакция связывания амида **21c** с замещенной глутаминовой кислотой (**23c1**) дала соединение **23c**, которое в результате реакции с MC-PEG₄-CO₂Su эфиром (**23c2**) дало линкер-нагрузку **24c**.

[00460] {4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-4-[(2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил]карбамоил}бутанамидо]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метил *N*-(2-[(4bS,8S,8aR)-8-([(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-ил]формаидо}карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8a,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]окси}этил)карбамат (**24c**)

[00461] **Этап 1:** К раствору **23c1** (15 мг, 25 мкмоль) в ДМФ (1 мл) добавили соединение **21c** (14 мг, 14 мкмоль), НАТУ (9.5 мг, 25 мкмоль) и NMM (4.9 мг, 49 мкмоль). После перемешивания реакционной смеси при 25°C в течение 4ч, соединение **21c** было разрушено, согласно результатам жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. На полученную смесь воздействовали пиперидином (0.1 мл) и дали ей перемешиваться в течение 2 ч. Смесь напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ, в результате чего получили **23c** (8.0 мг, выход 45%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 675 (M/2+1)⁺.

[00462] **Этап 2:** К раствору **23c** (10 мг, 7.4 мкмоль) в ДМФ (1 мл) добавили **23c2** (7 мг, 22 мкмоль) и *N*-метилморфолин (2.0 мг, 20 мкмоль) и полученную смесь перемешивали при 25°C в течение 4 ч. После удаления летучих веществ *in vacuo* остаток растворили в ДХМ (1 мл) и к раствору добавили ТФК (0.1 мл). Полученную смесь перемешивали при

25°C в течение 2 ч, затем сконцентрировали *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **24c** (4.0 мг, выход 30%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 1598 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.71 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.20 (d, *J*=6.9 Гц, 1H), 8.13-8.08 (m, 2H), 8.06 (d, *J*=8.1 Гц, 1H), 7.74 (t, *J*=5.5 Гц, 1H), 7.61 (d, *J*=8.4 Гц, 2H), 7.40 (t, *J*=5.9 Гц, 1H), 7.27 (d, *J*=8.5 Гц, 2H), 7.02 (s, 2H), 6.93 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.84-6.77 (m, 2H), 6.67 (d, *J*=10.5 Гц, 1H), 6.63 (d, *J*=2.2 Гц, 1H), 6.50 (dd, *J*=8.2, 2.3 Гц, 1H), 5.98 (t, *J*=5.8 Гц, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.33 (s, 3H), 4.23-4.13 (m, 1H), 3.92 (t, *J*=5.9 Гц, 2H), 3.62-3.54 (m, 6H), 3.51-3.45 (m, 18H), 3.07-2.62 (m, 9H), 2.43-2.35 (m, 2H), 2.32-2.21 (m, 4H), 2.19-2.09 (m, 6H), 2.09-2.01 (m, 1H), 1.93-1.70 (m, 8H), 1.68-1.53 (m, 6H), 1.51-1.33 (m, 2H), 1.27 (d, *J*=3.2 Гц, 9H), 1.14 (t, *J*=12.4 Гц, 2H), 1.00 (d, *J*=11.9 Гц, 6H), 0.87 (dd, *J*=20.2, 6.8 Гц, 6H) ppm.

ПРИМЕР 35

[00463] Данный пример демонстрирует общие способы получения линкер-нагрузок, которые могут быть конъюгированы с антителом через клик-реакцию азидов с алкином. Синтез интермедиатов для линкеров показан на ФИГ. 7, а синтез линкер-нагрузок показан на ФИГ. 8. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 7 и 8.

[00464] На ФИГ. 7 показан синтез COT-(PEG₄)_n-(N²-Fmoc)dLys **26a** и **26b**. Реакция связывания амида N²-Fmoc-D-лизина **25a** с коммерчески доступным эфиром **25c** дала **26a**. Реакция связывания амида N²-Fmoc-D-лизина **25a** с коммерчески доступным эфиром **25b1** с последующим снятием защиты Boc дала **25b2**; реакция связывания амида **25b2** с **25c** дала **26b**.

[00465] На ФИГ. 8 показан общий синтез линкер-нагрузок **29**, таких как **29c1**, **29c2**, **29d1**, **29d2**, **29d3**, **29d4**, **29h** и **29j**. Синтез линкер-нагрузок **29** начинался с реакций связывания амида **26a** или **26b** с **21c**, **21d**, **21h**, и **21j**, независимо, с последующим снятием защиты Fmoc, в результате чего образовывались соединения **27c**, **27d1**, **27d2**, **27h** и **27j**, независимо, каждое из которых проходило циклизацию 2+3 с циклодекстрин-азидом, что давало **28c**, **28d1**, **28d2**, **28h** и **28j**, соответственно. Наконец, реакции связывания амида **28c**, **28d1**, **28d2**, **28h** и **28j** с коммерчески доступным DIBAC-Suc-PEG₄-NHS эфиром или BCN-карбамат-PEG₄-кислотой дали **29c1**, **29c2**, **29d1**, **29d2**, **29d3**, **29d4**, **29h** и **29j**, соответственно.

ПРИМЕР 36

[00466] Данный пример демонстрирует общие способы синтеза интермедиатов для

линкеров **26a** и **26b**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 7.

[00467] (2*R*)-6-[2-((циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо)]-2-[[*(9H*-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}капроновая кислота (**26a**)

[00468] К раствору коммерчески доступного **25c** (65 мг, 0.23 ммоль) и Fmoc-*D*-Lys-ОН (85 мг, 0.23 ммоль) в ДМФ (2 мл) добавили ТЭА (52 мг, 0.51 ммоль) и затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем смесь сконцентрировали *in vacuo* и остаток напрямую очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде (0.05% ТФК)), что дало **26a** (85 мг, выход 70%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 533 (М + Н)⁺. ¹Н ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄): δ 7.70 (d, *J*=7.5 Гц, 2H), 7.59 (t, *J*=8.0 Гц, 2H), 7.30 (t, *J*=7.5 Гц, 2H), 7.22 (t, *J*=7.4 Гц, 2H), 4.35-4.22 (m, 2H), 4.22-4.09 (m, 2H), 4.09-3.99 (m, 1H), 3.94-3.81 (m, 1H), 3.79-3.67 (m, 1H), 3.15 (t, *J*=6.9 Гц, 2H), 2.17-1.96 (m, 3H), 1.96-1.86 (m, 1H), 1.85-1.66 (m, 4H), 1.66-1.41 (m, 5H), 1.41-1.25 (m, 3H) ppm.

[00469] (24*R*)-24-(((*9H*-флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)-1-(циклоокт-2-инилокси)-2,18-диоксо-6,9,12,15-тетраокса-3,19-диазапентакосан-25-кислота(**26b**)

[00470] **Этап 1:** К смеси соединения **25b1** (4.6 г, 10 ммоль) и Fmoc-(*D*)Lys-ОН (**25a**, 3.6г, 10 ммоль) в ДМФ (10 мл) добавили триэтиламин (2.0 г, 20 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение одного часа и затем разбавили ДХМ (100 мл) и промыли водой и рассолом. Органическую смесь высушили над безводным сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (0-5% метанол в метиленхлориде), в результате чего получили **25b2'** в виде бесцветного масла (5.5 г, выход 77%). ЭИ м/з: 716.2 (М + Н)⁺. ¹Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 7.89 (d, *J*=7.5 Гц, 2H), 7.84-7.80 (m, 1H), 7.74-7.72 (d, *J*=7.5 Гц, 2H), 7.61-7.59 (m, 1H), 7.42 (t, *J*=7.5 Гц, 2H), 7.33 (t, *J*=7.5 Гц, 2H), 6.76-6.74 (m, 1H), 4.28-4.21 (m, 3H), 3.93-3.85 (m, 1H), 3.58 (t, *J*=6.5 Гц, 2H), 3.48-3.47 (m, 12H), 3.16 (d, *J*=5.5 Гц, 1H), 3.07-2.97 (m, 3H), 2.28 (t, *J*=6.5 Гц, 2H), 2.02-1.94 (m, 1H), 1.71-1.56 (m, 2H), 1.36 (s, 9H), 1.23-1.15 (m, 6H) ppm.

[00471] **Этап 2:** К раствору **25b2'** (0.60 г, 0.84 ммоль) в ДХМ (10 мл) добавили ТФК (2.0 мл) по каплям при 0°C. Реакционной смеси дали согреться и перемешивали ее при 25°C на протяжении ночи до полного разрушения **25b2'** под контролем тонкослойной хроматографии. Летучие вещества удалили *in vacuo*, что дало осадок: ЭИ м/з: 616.3 (М+Н)⁺.

[00472] **Этап 3:** К раствору выше указанного остатка в ДМФ (10 мл) добавили

соединение **25c** (0.27 г, 0.98 ммоль). Небольшое количество реакционной смеси проверили на влажной индикаторной бумаге и pH реакционной смеси скорректировали с 7 до 8 добавлением ТЭА (около 1.0 мл). Реакционную смесь перемешивали при 25°C под контролем жидкостной хроматомасс-спектрометрии и завершили этот процесс через полчаса. Затем реакционную смесь разбавили DCM (100 мл) и водой (100 мл). Полученную смесь окислили гидрохлоридом (2 N) до pH 2. Органическую смесь промыли водой (80 мл) и рассолом, высушили над безводным сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (0-5% метанол в метиленхлориде), в результате чего получили **26b** в виде бесцветного масла (0.38 г, выход 49%). ЭИ м/з: 780.3 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7.75 (d, J=7.6 Гц, 2H), 7.61 (t, J=7.6 Гц, 2H), 7.39 (t, J=7.6 Гц, 2H), 7.32-7.27 (m, 2H), 7.05-7.01 (m, 1H), 6.86-6.83 (m, 1H), 5.85 (d, J=7.6 Гц, 1H), 4.38-4.37 (m, 3H), 4.27-4.15 (m, 2H), 4.11-4.05 (m, 1H), 3.91-3.87 (m, 1H), 3.69 (t, J=5.6 Гц, 2H), 3.62-3.47 (m, 17 H), 3.28-3.19 (m, 2H), 2.46 (t, J=5.6 Гц, 2H), 2.27-2.01 (m, 3H), 1.91-1.72 (m, 5H), 1.66-1.55 (m, 4H), 1.42-1.34 (m, 3H) ppm.

ПРИМЕР 37

[00473] Данный пример демонстрирует способы приговления линкер-нагрузок **27c**, **27d1**, **27d2**, **27h** и **27j**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00474] **Общие процедуры приготовления промежуточной линкер-нагрузки 27:** К раствору соединения **26a** или **26b** (1 эквив.) в ДМФ (30-50 мг **26a** или **26b** на мл ДМФ) последовательно добавили HATU (1 эквив.) и – независимо – соединение **21c**, **21d**, **21h** или **21j** (1 эквив.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре до тех пор, пока смесь не стала однородной. К этой смеси медленно добавили DIPEA (5 эквив.) при комнатной температуре шприцом. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (16 ч) до тех пор пока, независимо, **21c**, **21d**, **21h** или **21j** не были разрушены, согласно жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. К реакционной смеси затем добавили пиперидин (0.1 мл, в избытке) по каплям при комнатной температуре и смесь перемешивали на протяжении еще 3 ч до удаления группы Fmoc согласно результатам жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Реакционную смесь напрямую очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии или преп-ВЭЖХ (способ В, щелочные условия), в результате чего независимо получили соединения **27c**, **27d1**, **27d2**, **27h** и **27j**, соответственно, в виде белого твердого вещества.

ПРИМЕР 38

[00475] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления линкер-нагрузки **27с**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00476] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-амино-6-{1-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-(2-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]окси}этил)карбамат (**27с**)

[00477] Соединение **27с** (40 мг, выход 30%) в виде белого твердого вещества получили от реакции связывания амида **21с** (85 мг, 87 мкмоль) с **26b** (68 мг, 87 мкмоль) при соблюдении общей процедуры по приготовлению **27**. ЭИ м/з: 759 (*M*/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10.01 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.24-8.09 (m, 1H), 8.06-7.74 (m, 1H), 7.64-7.36 (m, 3H), 7.28 (d, *J*=8.3 Гц, 2H), 6.94 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.4 Гц, 2H), 6.68 (d, *J*=7.6 Гц, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.51 (d, *J*=6.4 Гц, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.39 (s, 1H), 4.28-2.21 (m, 2H), 4.05 (s, 2H), 3.93 (t, *J*=5.6 Гц, 2H), 3.86-3.79 (m, 2H), 3.59 (t, *J*=6.5 Гц, 2H), 3.53-3.47 (m, 11H), 3.43 (t, *J*=5.9 Гц, 2H), 3.36 (s, 6H), 3.24 (dt, *J*=12.8, 6.1 Гц, 3H), 3.10-2.91 (m, 4H), 2.85 (t, *J*=17.2 Гц, 2H), 2.75-2.69 (m, 2H), 2.34-2.10 (m, 10H), 2.10-1.66 (m, 12H), 1.67-1.54 (m, 8H), 1.47-1.24 (m, 16H), 1.14 (t, *J*=13.3 Гц, 2H), 1.01 (d, *J*=11.8 Гц, 6H), 0.88(s, 3H) 0.84 (s, 3H) ppm.

ПРИМЕР 39

[00478] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления линкер-нагрузки **27d1**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00479] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-((2*S*)-2-((2*S*)-2-((2*R*)-2-амино-6-(2-(циклоокт-2-инилокси)ацетамидо)гексанамидо)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)-*N*-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил)-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**27d1**)

[00480] Соединение **27d** (30 мг, выход 47%) в виде белого твердого вещества получили от реакции связывания амида **26a** (35 мг, 0.064 ммоль) с **21d1** (45 мг, 0.064 ммоль) при соблюдении общей процедуры по приготовлению **27**. ЭИ м/з: 991 (*M*+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.51 (d, *J*=1.5 Гц, 1H), 7.37 (dd, *J*=8.3, 2.0 Гц, 1H), 7.02 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.89 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.72 (d, *J*=2.4 Гц, 1H), 6.56 (dd, *J*=8.3, 2.5 Гц, 1H), 4.64-4.57 (m,

1H), 4.48 (q, $J=7.1$ Гц, 1H), 4.33-4.27 (m, 1H), 4.20 (d, $J=6.7$ Гц, 1H), 3.93 (m, 2H), 3.43 (t, $J=6.6$ Гц, 1H), 3.24 (t, $J=6.9$ Гц, 2H), 3.02-2.93 (m, 2H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.40-2.32 (m, 2H), 2.33-2.23 (m, 4H), 2.22-2.12 (m, 3H), 2.12-2.00 (m, 5H), 1.99-1.91 (m, 1H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.78-1.66 (m, 6H), 1.66-1.58 (m, 1H), 1.58-1.49 (m, 2H), 1.45 (d, $J=7.1$ Гц, 6H), 1.38 (d, $J=4.0$ Гц, 6H), 1.34-1.22 (m, 4H), 1.14 (d, $J=7.0$ Гц, 6H), 1.06-0.98 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 40

[00481] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **27d2**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00482] *N*-[(5*R*)-5-амино-5-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]-1-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (**27d2**)

[00483] Соединение **27d2** (54 мг, выход 50%) в виде белого твердого вещества получили от реакции связывания амида **21d** (60 мг, 0.086 ммоль) с **26b** при соблюдении общей процедуры по приготовлению **27**. ЭИ м/з: 620 ($M/2 + 1$)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.61-7.48 (m, 1H), 7.35-7.29 (m, 1H), 7.02 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.88 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.71 (d, $J=1.8$ Гц, 1H), 6.56 (dd, $J=8.2, 1.7$ Гц, 1H), 4.52-4.44 (m, 1H), 4.27 (dd, $J=21.9, 7.2$ Гц, 2H), 4.03 (dd, $J=15.1, 2.4$ Гц, 1H), 3.96 (dt, $J=22.5, 6.5$ Гц, 1H), 3.89 (dd, $J=15.1, 3.1$ Гц, 1H), 3.75 (t, $J=5.8$ Гц, 2H), 3.64 (t, $J=8.6$ Гц, 12H), 3.60-3.54 (m, 3H), 3.44 (dd, $J=11.7, 5.9$ Гц, 2H), 3.23 (t, $J=6.7$ Гц, 2H), 3.02-2.91 (m, 1H), 2.91-2.74 (m, 3H), 2.46 (t, $J=5.9$ Гц, 2H), 2.40-2.31 (m, 3H), 2.26-2.22 (m, 5H), 2.21-1.79 (m, 12H), 1.77-1.65 (m, 6H), 1.62-1.53 (m, 3H), 1.47-1.43 (m, 5H), 1.38 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.33-1.22 (m, 3H), 1.14 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 1.06-0.95 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 41

[00484] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **27h**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00485] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-амино-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}метил)карбамат (**27h**)

[00486] Соединение **27h** (65 мг, выход 62%) в виде белого твердого вещества получили от реакции связывания амида **21h** (80 мг, 64 мкмоль) с **26a** (53 мг, 97 мкмоль) при соблюдении общей процедуры по приготовлению **27**. ЭИ м/з: 1283 (M+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.53-7.33 (m, 3H), 7.28-7.14 (m, 3H), 6.89 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.76 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.60 (d, *J*=2.5 Гц, 1H), 6.43 (dd, *J*=8.3, 2.5 Гц, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.53-4.46 (m, 2H), 4.41 (dd, *J*=8.9, 5.0 Гц, 1H), 4.18 (t, *J*=6.0 Гц, 1H), 4.09 (d, *J*=7.1 Гц, 1H), 3.92-3.72 (m, 4H), 3.31 (t, *J*=6.6 Гц, 1H), 3.16-3.05 (m, 3H), 3.06-2.97 (m, 1H), 2.90-2.62 (m, 4H), 2.27-2.09 (m, 7H), 2.09-1.87 (m, 7H), 1.86-1.68 (m, 4H), 1.66-1.40 (m, 12H), 1.36-1.22 (m, 10H), 1.20-1.09 (m, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 0.89 (t, *J*=7.0 Гц, 6H) ppm.

ПРИМЕР 42

[00487] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **27j**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00488] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-амино-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамат (**27j**)

[00489] Соединение **27j** (15 мг, выход 33%) получили в виде белого твердого вещества при соблюдении общей процедуры по приготовлению **27**. ЭИ м/з: 1313.6 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.59 (d, *J*=8.5 Гц, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.36-7.26 (m, 3H), 7.01 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.88 (d, *J*=8.0 Гц, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.57-6.54 (m, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.64-4.52 (m, 1H), 4.35-4.28 (m, 2H), 4.21 (d, *J*=7.0 Гц, 1H), 4.01-3.98 (m, 1H), 3.88-3.84 (m, 3H), 3.43 (t, *J*=6.5 Гц, 1H), 3.26-3.10 (m, 4H), 3.00-2.76 (m, 3H), 2.38-2.24 (m, 7H), 2.19-2.02 (m, 9H), 1.98-1.78 (m, 4H), 1.74-1.54 (m, 12H), 1.45-1.26 (m, 14H), 1.13 (s, 6H), 1.00 (t, *J*=7.5 Гц, 6H) ppm.

ПРИМЕР 43

[00490] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузок **28c**, **28d1**, **28d2**, **28h** и **28j**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00491] Общая процедура приготовления промежуточной линкер-нагрузки **28**: К раствору соединения **27** (30 мг, 1 эквив.) в ДМФ (0.5 мл) добавили раствор α-циклодекстриназида (CD-N₃, ЭИ м/з: 1020 (M + Na)⁺, 2 эквив.; см. *Synthetic Communications*, **2002**, 32(21), 3367-3372.) в ДМФ (0.5 мл) при комнатной температуре

посредством шприца. Смесь перемешивали при 20-25°C в течение 3 дней. Соединение **27** было разрушено, судя по результатам жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. Реакционную смесь сконцентрировали *in vacuo* и остаток напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В) или обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил с водой с 10% бикарбонатом аммония), в результате чего получили соединение **28** в виде белого твердого вещества.

ПРИМЕР 44

[00492] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **28c**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

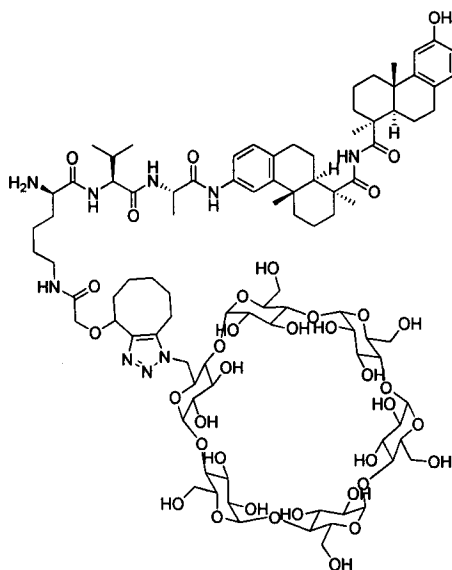
[00493] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-амино-6-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2³,⁶.2⁸,¹¹.2¹³,¹⁶.2¹⁸,²¹.2²³,²⁶]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[d][1,2,3]триазол-9-ил)окси]ацетамидо}-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-(2-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]окси}этил)карбамат (**28c**)

[00494] Соединение **28c** (51 мг, выход 78%) в в виде белого твердого вещества получили от клик-реакции (2+3) **27c** (40 мг, 26 мкмоль) с CD-N₃ (52 мкмоль) при соблюдении процедуры по приготовлению **28**. ЭИ м/з: 1258 (M/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10.08 (s, 1H), 9.09-8.91 (m, 1H), 8.56 (d, *J*=8.7 Гц, 1H), 8.39 (d, *J*=7.3 Гц, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.85-7.78 (m, 2H), 7.58 (d, *J*=8.5 Гц, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.29 (d, *J*=8.5 Гц, 2H), 6.94 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.85-6.78 (m, 2H), 6.68 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.51 (d, *J*=8.2 Гц, 1H), 6.06 (s, 1H), 5.50 (br s, 15H), 5.15 (s, 1H), 4.96 (s, 3H), 4.85-4.78 (m, 12H), 4.70 (s, 3H), 4.56 (s, 3H), 4.39 (s, 5H), 3.89-3.75(m, 14H), 3.74-3.56 (m, 8H), 3.54-3.39 (m, 8H), 3.38-3.29 (m, 7H), 3.14 (s, 2H), 3.01 (d, *J*=5.5 Гц, 5H), 2.86-2.8 (m, 2H), 2.74 (s, 4H), 2.32-2.23 (m, 5H), 2.16 (d, *J*=11.2 Гц, 3H), 2.00 (d, *J*=6.6 Гц, 2H), 1.93-1.86 (m, 5H), 1.77-1.54 (m, 10H), 1.46-1.42 (m, 6H), 1.30-1.27 (m 11H), 1.14 (s, 3H), 1.00 (d, *J*=12.5 Гц, 6H), 0.88(s, 3H) 0.84 (s, 3H) ppm.

ПРИМЕР 45

[00495] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **28d1**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00496] (1*S*,4*aS*,10*aR*)-*N*-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-амино-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]пропанамидо] -1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]карбонил}-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбоксамид (**28d1**)



[00497] Соединение **28d1** (14 мг, выход 23%) в виде белого твердого вещества получили от клик-реакции (2+3) **27d1** (30 мг, 30 мкмоль) с CD-N₃ (60 мкмоль) при соблюдении общей процедуры по приготовлению **28**. ЭИ м/з: 995 (M/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 8.40 (s, 1H, имид-Н), 7.56-7.52 (m, 1H), 7.32 (t, *J*=7.7 Гц, 1H), 7.03 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.88 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.72 (d, *J*=2.4 Гц, 1H), 6.56 (dd, *J*=8.2, 2.3 Гц, 1H), 5.24-5.16 (m, 1H), 5.01-4.95 (m, 6H), 4.65-3.43 (m, 40H), 3.14-2.72 (m, 7H), 2.55-1.26 (m, 44H), 1.16 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.09-0.93 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 46

[00498] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **28d2**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00499] *N*-[(5*R*)-5-амино-5-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]-1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-

додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[d][1,2,3]триазол-9-yl)окси]ацетамидо}-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (**28d2**)

[00500] Соединение **28d2** (30 мг, выход 72%) в виде белого твердого вещества получили от клик-реакции (2+3) **27d2** (23 мг, 19 мкмоль) с CD-N₃ (38 мкмоль) при соблюдении общей процедуры по приготовлению **28**. ЭИ м/з: 1118 (M/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.91-9.85 (m, 1H), 9.13-8.90 (m, 1H), 8.58 (t, *J*=9.3 Гц, 2H), 8.50-8.47 (m, 1H), 8.17-8.00 (m, 6H), 7.88-7.78 (m, 2H), 7.53-7.49 (m, 1H), 7.36-7.30 (m, 1H), 6.97 (d, *J*=8.5 Гц, 1H), 6.82 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.51 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 5.52-5.50 (m, 11H), 5.14 (s, 1H), 4.86-4.67 (m, 10H), 4.54 (d, *J*=12.9 Гц, 2H), 4.46-4.32 (m, 5H), 4.06-3.94 (m, 3H), 3.89-3.76 (m, 4H), 3.73-3.61 (m, 5H), 3.57 (t, *J*=6.5 Гц, 3H), 3.53-3.34 (m, 12H), 3.33-3.19 (m, 4H), 3.17-3.08 (m, 3H), 3.00 (dd, *J*=12.6, 6.2 Гц, 3H), 2.91-2.68 (m, 8H), 2.31-2.22 (m, 5H), 2.18-2.07 (m, 6H), 1.93-1.78 (m, 6H), 1.74-1.35 (m, 15H), 1.28 (d, *J*=6.6 Гц, 17H), 1.19-1.06 (m, 5H), 1.01-0.94 (m, 9H), 0.89-0.79 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 47

[00501] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **28h**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00502] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-амино-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40, 41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,2*H*,3*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-({[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}метил)карбамат (**28h**)

[00503] Соединение **28h** (67 мг, выход 76%) в виде белого твердого вещества получили от клик-реакции (2+3) **27h** (60 мг, 47 мкмоль) с CD-N₃ (94 мкмоль) при соблюдении общей процедуры по приготовлению **28**. ЭИ м/з: 1141 (M/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 8.40 (s, 1H), 7.65-7.45 (m, 3H), 7.40-7.26 (m, 3H), 7.02 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.88 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.72 (d, *J*=2.4 Гц, 1H), 6.56 (dd, *J*=8.3, 2.4 Гц, 1H), 5.24-5.16 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.02-4.93 (m, 4H), 4.66-4.51 (m, 2H), 4.43-4.22 (m, 2H), 4.15-3.73 (m, 22H), 3.64-3.42 (m, 12H), 3.37 (s, 3H), 3.24-3.03 (m, 4H), 3.01-2.75 (m, 6H), 2.42-2.25 (m, 6H), 2.18-1.98 (m, 8H), 1.94-

1.58 (m, 15H), 1.56-1.50 (m, 3H), 1.47-1.40 (m, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.34-1.25 (m, 4H), 1.16-1.10 (m, 6H), 1.09-0.93 (m, 7H) ppm.

ПРИМЕР 48

[00504] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **28j**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00505] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-амино-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41, 42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил]метил}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагилрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамат (**28j**)

[00506] Соединение **28j** (20 мг, выход 57%) получили в виде белого твердого вещества от клик-реакции (2+3) **27j** с CD-N₃ при соблюдении общей процедуры по приготовлению **28**. ЭИ м/з: 1156.0 (M/2+1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.81-9.67 (m, 2H), 8.99 (s, 1H), 8.20-8.06 (m, 5H), 7.85-7.22 (m, 18H), 6.97-6.49 (m, 2H), 5.98 (s, 1H), 5.65-5.33 (m, 15H), 5.14-4.92 (m, 5H), 4.82-4.72 (m, 6H), 4.60-4.54 (m, 4H), 4.36-4.28 (m, 3H), 4.18-3.96 (m, 3H), 3.85-3.55 (m, 27H), 3.49-3.39 (m, 23H), 3.28-3.08 (m, 8H), 2.94-2.57 (m, 4H), 2.42-2.07 (m, 8H), 1.99-1.45 (m, 22H), 1.28-1.11 (m, 23H), 1.05-0.95 (m, 6H), 0.89-0.79 (m, 7H) ppm.

ПРИМЕР 49

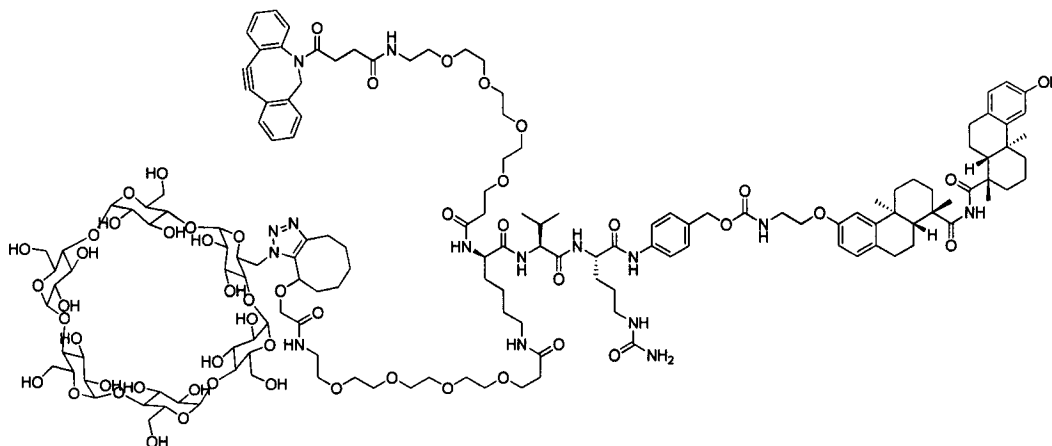
[00507] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузок **29c1**, **29c2**, **29d1**, **29d2**, **29d3**, **29d4**, **29h** и **29j**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00508] **Общая процедура по приготовлению линер-нагрузки 29:** К раствору соединения **28** (5-30 мг, 1 эквив.) в ДМФ (0.5 мл) добавили раствор коммерчески доступного DIBAC-Suc-PEG₄-OSu или BCN-PEG₄-NHS эфира (1.2 эквив.) в ТГФ (0.5 мл) и затем ТЭА (2 эквив.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре до разрушения **28**, согласно результатам контроля жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. Реакционную смесь сконцентрировали *in vacuo* и остаток напрямую очистили посредством преп-ВЭЖХ, в результате чего получили **29** в виде белого твердого вещества.

ПРИМЕР 50

[00509] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **29c1**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00510] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-6-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[d][1,2,3]триазол-9-ил)окси]ацетамидо}-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил-*N*-(2-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]окси}этил)карбамат (**29c1**)



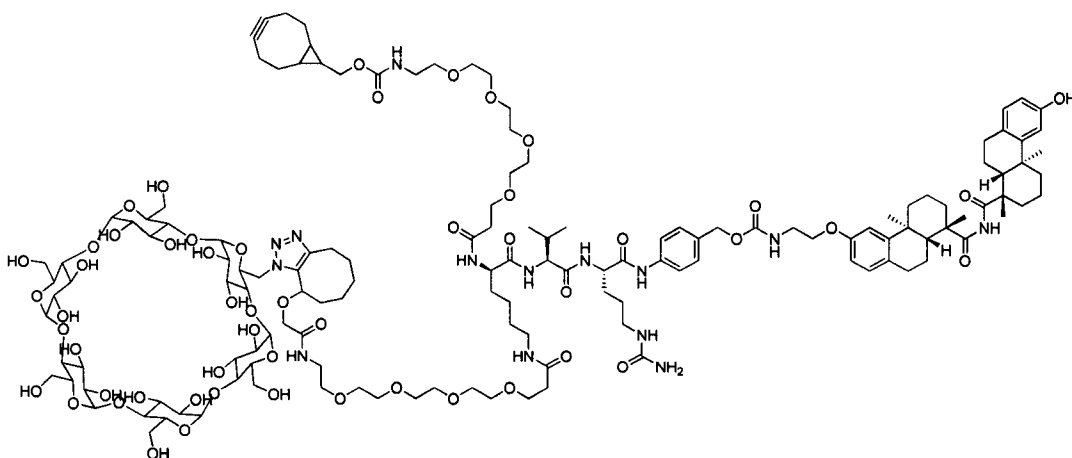
[00511] Соединение **29c1** (12 мг, выход 39%) получили в виде белого твердого вещества при соблюдении общей процедуры по приготовлению **29**.

[00512] C₁₄₈H₂₁₃N₁₅O₅₃, точная масса: 3048.4. ЭИ м/з: 1017 (M/3 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9.68 (s, 1H), 8.21-8.04 (m, 3H), 7.88-7.74 (m, 2H), 7.71-7.56 (m, 3H), 7.52-7.21 (m, 8H), 6.93 (d, J=8.6 Гц, 1H), 6.84-6.77 (m, 1H), 6.70-6.58 (m, 2H), 6.51 (d, J=8.1 Гц, 1H), 6.01 (s, 1H), 5.78-5.33 (m, 12H), 5.22-4.51 (m, 14H), 4.43-4.12 (m, 4H), 4.07-3.55 (m, 35H), 3.53-3.33 (m, 38H), 3.33-2.52 (m, 32H), 2.43-1.21 (m, 41H), 1.20-0.77 (m, 14H) ppm.

ПРИМЕР 51

[00513] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **29c2**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00514] {Бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-ил}метил *N*-(14-{[(1*R*)-1-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(2-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]окси}этил)карбамоил]окси}метил)фенил]карбамоил}-4-(карбамоиламино)бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2³,⁶.2⁸,¹¹.2¹³,¹⁶.2¹⁸,²¹.2²³,²⁶]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-9-yl)окси]ацетамидо}-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)пентил]карбамоил}-3,6,9,12-тетраоксатетрадекан-1-ил)карбамат (**29c2**)



[00515] Соединение **29c2** (5 мг, выход 21%) получили в виде белого твердого вещества при соблюдении общей процедуры по приготовлению **29**.

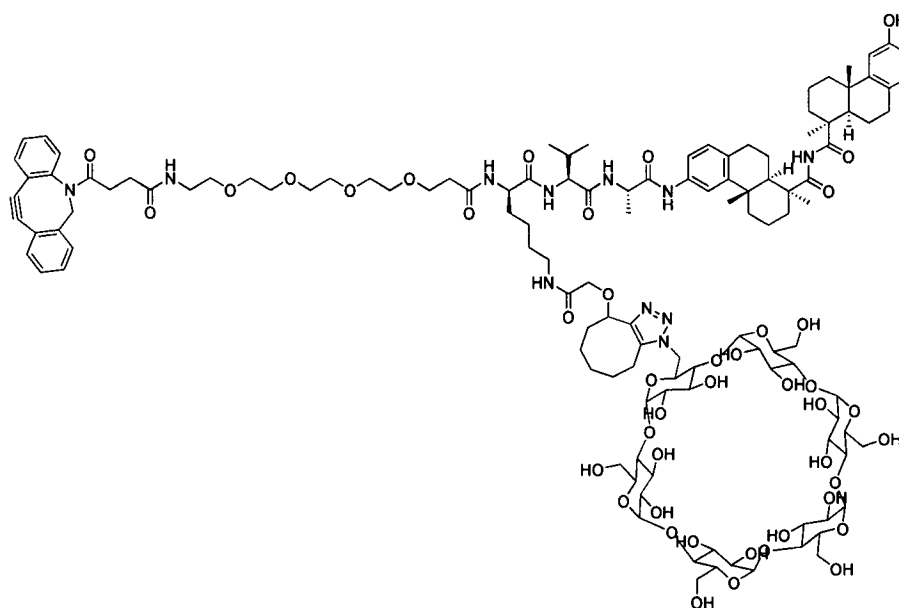
[00516] C₁₄₀H₂₁₂N₁₄O₅₃, точная масса: 2937.4. ЭИ *m/z*: 1470 (*M*/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9.68 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.21-8.03 (m, 2H), 7.62 (d, *J*=8.4 Гц, 2H), 7.27 (d, *J*=8.3 Гц, 2H), 6.93 (d, *J*=8.8 Гц, 1H), 6.81 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.67 (d, *J*=8.6 Гц, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.50 (d, *J*=7.9 Гц, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.64-5.37 (m, 12H), 5.14 (s, 1H), 5.00-4.50 (m, 13H), 4.38-4.29 (m, 3H), 4.20-4.13 (m, 1H), 4.09-3.97 (m, 10H), 3.95-3.89 (m, 2H), 3.86-3.54 (m, 23H), 3.52-3.33 (m, 28H), 3.16-2.61 (m, 17H), 2.45-1.20 (m, 66H), 1.18-0.80 (m, 21H) ppm.

ПРИМЕР 52

[00517] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **29d1**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00518] 1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*R*)-1-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-

гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}пентил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (**29d1**)



[00519] Соединение **29d1** (5.0 мг, выход 27%) получили в виде белого твердого вещества при соблюдении общей процедуры по приготовлению **29**.

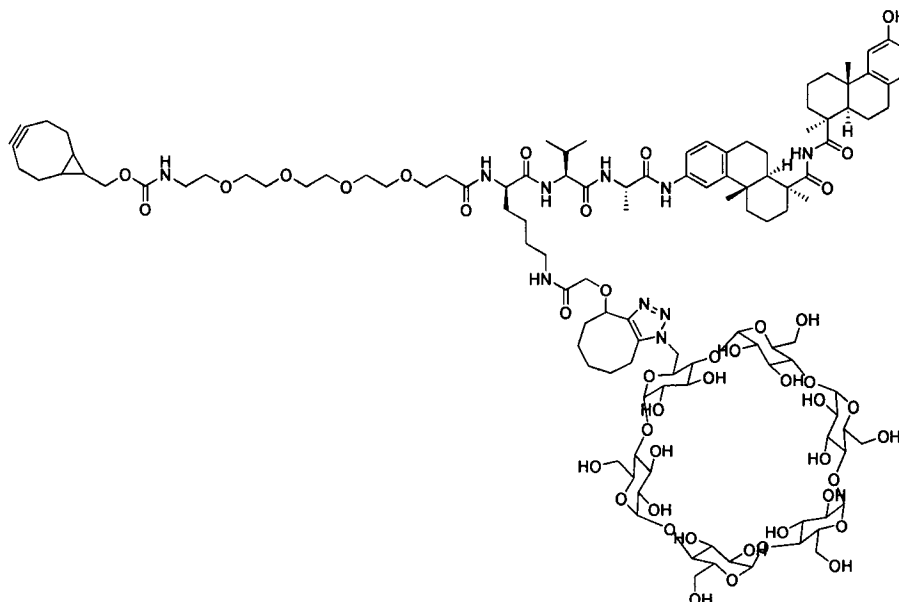
[00520] C₁₂₄H₁₇₅N₁₁O₄₄, Точная масса: 2522.2. ЭИ м/з: 1261 (M/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) δ 7.69-7.44 (m, 6H), 7.41-7.30 (m, 3H), 7.26 (d, *J*=6.8 Гц, 1H), 7.04-6.96 (m, 1H), 6.88 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.72 (d, *J*=1.9 Гц, 1H), 6.56 (dd, *J*=8.3, 2.4 Гц, 1H), 5.25-4.94 (m, 6H), 4.75-4.55 (m, 16H), 4.53-3.41 (m, 49H), 3.33-1.20 (m, 53H), 1.18-1.10 (m, 6H), 1.06-0.94 (m, 6H) ppm.

ПРИМЕР 53

[00521] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **29d2**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00522] {Бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-yl}метил N-(14-{[(1*R*)-1-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонид]карбамоил}-4b,8-диметил-4b,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-{2-

[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-
пентакис(гидроксиметил) -2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-
додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}] дотетраконтан-5-ил]метил}-
1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-4-
ил)окси]ацетамидо}пентил]карбамоил}-3,6,9,12-тетраоксатетрадекан-1-ил)карбамат
(**29d2**)



[00523] Соединение **29d2** (16 мг, выход 43%) получили в виде белого твердого вещества при соблюдении общей процедуры по приготовлению **29**.

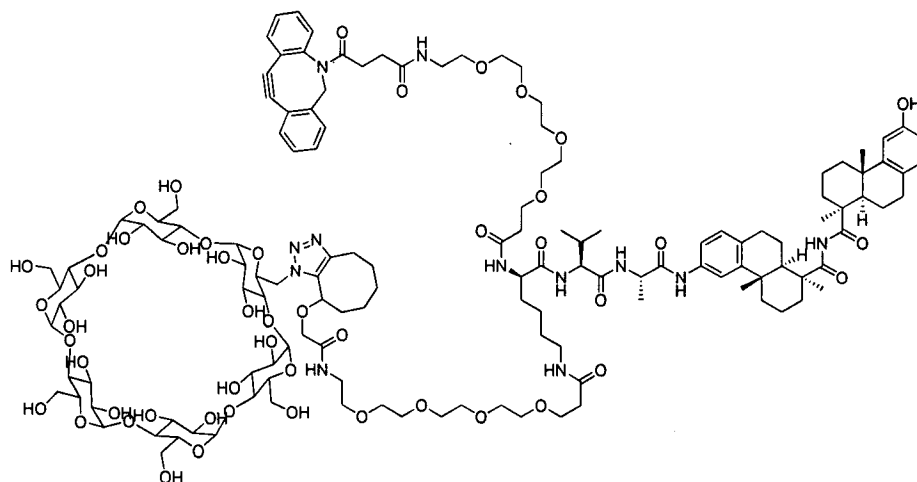
[00524] C₁₁₆H₁₇₄N₁₀O₄₄, Точная масса: 2411.2. ЭИ м/з: 1206 (M/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*dd*) δ 7.62 (s, 1H), 7.39 (d, *J*=8.2 Гц, 1H), 7.03 (d, *J*=8.4 Гц, 1H), 6.89 (d, *J*=8.3 Гц, 1H), 6.72 (d, *J*=2.3 Гц, 1H), 6.56 (dd, *J*=8.2, 2.4 Гц, 1H), 5.21 (t, *J*=2.8 Гц, 1H), 4.99-4.95 (m, 4H), 4.65-3.43 (m, 57H), 3.31-2.74 (m, 11H), 2.55-1.22 (m, 55H), 1.16 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.06-0.87 (m, 9H) ppm.

ПРИМЕР 54

[00525] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **29d3**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00526] 1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*R*)-1-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-

додекаоксагептацикло[26.2.2.2³, 6.2⁸, 11.2¹³, 16.2¹⁸, 21.2²³, 26]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-9-ил)окси]ацетиамидо}-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)пентил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (**29d3**)



[00527] Соединение **29d3** получили в виде белого твердого вещества (8 мг, выход 32%) при соблюдении общей процедуры по приготовлению **29**.

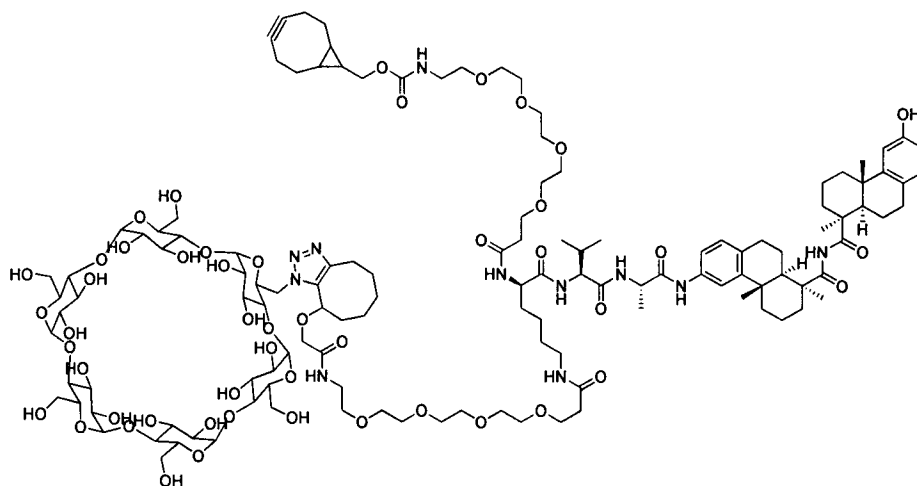
[00528] C₁₃₅H₁₉₆N₁₂O₄₉, точная масса: 2769.3. ЭИ *m/z*: 1385.9 (*M*/2 + 1)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9.71-9.30 (br s, 0.6H), 9.01 (s, 1H), 8.29-7.99 (m, 4H), 7.89-7.76 (m, 3H), 7.74-7.60 (m, 2H), 7.58-7.27 (m, 7H), 7.01-6.92 (m, 1H), 6.82 (d, *J*=8.1 Гц, 1H), 6.68-6.48 (m, 2H), 5.71-5.45 (m, 12H), 5.17-4.69 (m, 2H), 4.90-4.50 (m, 12H), 4.44-3.54 (m, 33H), 3.54-3.41 (m, 38H), 3.33-2.54 (m, 15H), 2.43-1.19 (m, 44H), 1.18-0.66 (m, 18H) ppm.

ПРИМЕР 55

[00529] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления линкер-нагрузки **29d4**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00530] {Бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-ил]метил *N*-(14-{[(1*R*)-1-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4*a*-диметил-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-октагидрофенантрен-1-карбонил]карбамоил}-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло

[26.2.2.2³, 6.2⁸, 11.2¹³, 16.2¹⁸, 21.2²³, 26]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-9-ил)окси]ацетиамидо}-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо)пентил]карбамоил}-3,6,9,12-тетраоксатетрадекан-1-ил)карбамат (**29d4**)



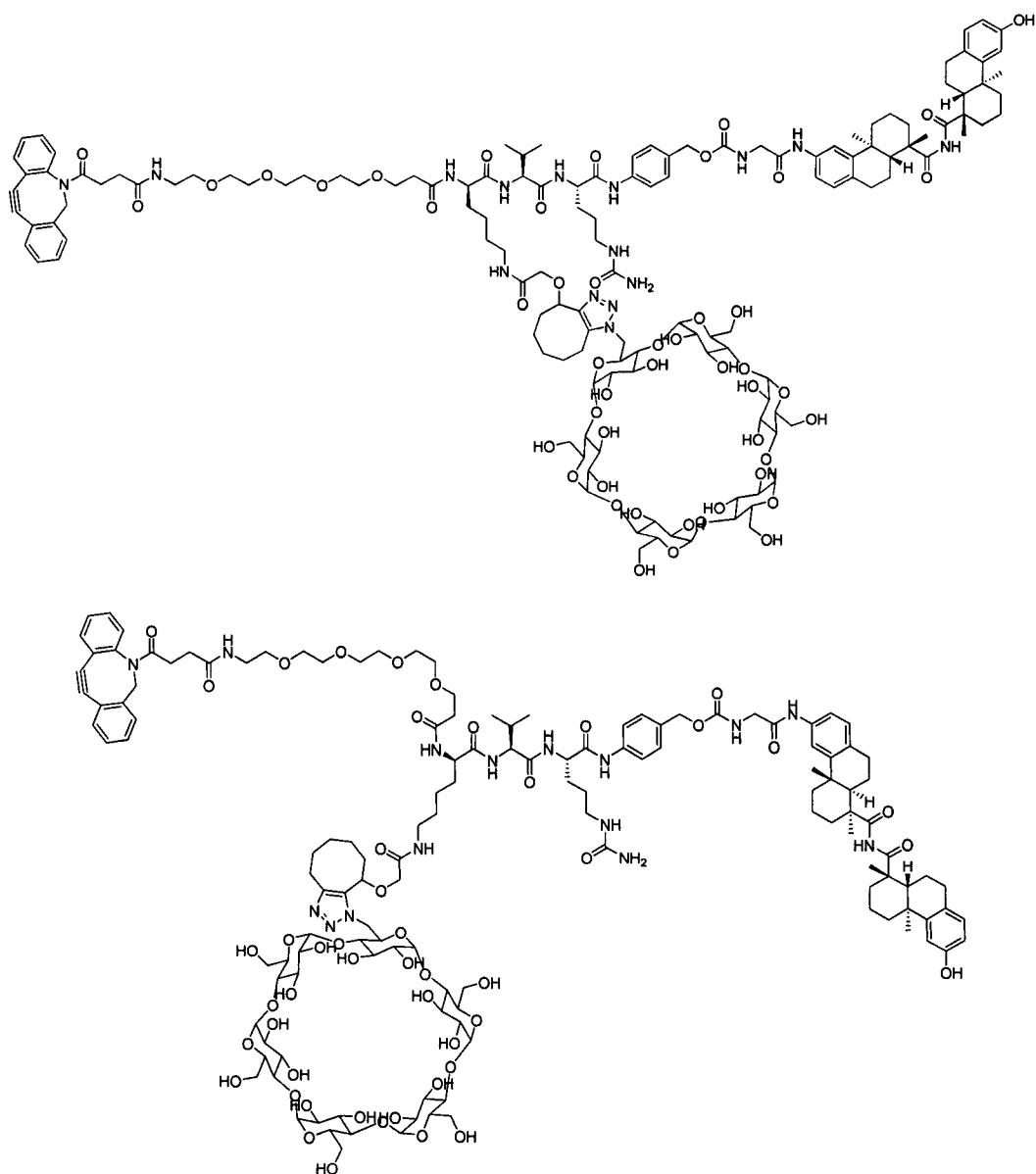
[00531] Соединение **29d4** (2 мг, выход 14%) получили в виде белого твердого вещества при соблюдении общей процедуры по приготовлению **29**.

[00532] $C_{148}H_{213}N_{15}O_{53}$, точная масса: 3048.4. ЭИ m/z : 1017 ($M/3 + 1$)⁺, 1H ЯМР (500 МГц, $DMCO_{d6}$) δ 9.68 (s, 1H), 8.21-8.04 (m, 3H), 7.88-7.74 (m, 2H), 7.71-7.56 (m, 3H), 7.52-7.21 (m, 8H), 6.93 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 6.84-6.77 (m, 1H), 6.70-6.58 (m, 2H), 6.51 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 6.01 (s, 1H), 5.78-5.33 (m, 12H), 5.22-4.51 (m, 14H), 4.43-4.12 (m, 4H), 4.07-3.55 (m, 35H), 3.53-3.33 (m, 38H), 3.33-2.52 (m, 32H), 2.43-1.21 (m, 41H), 1.20-0.77 (m, 14H) ppm.

ПРИМЕР 56

[00533] Данный пример демонстрирует общие способы приготовления линкер-нагрузки **29h**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00534] 1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*R*)-1-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-ил]формаидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаосагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3] триазол-4-ил)окси]ацетаидо}пентил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (**29h**)



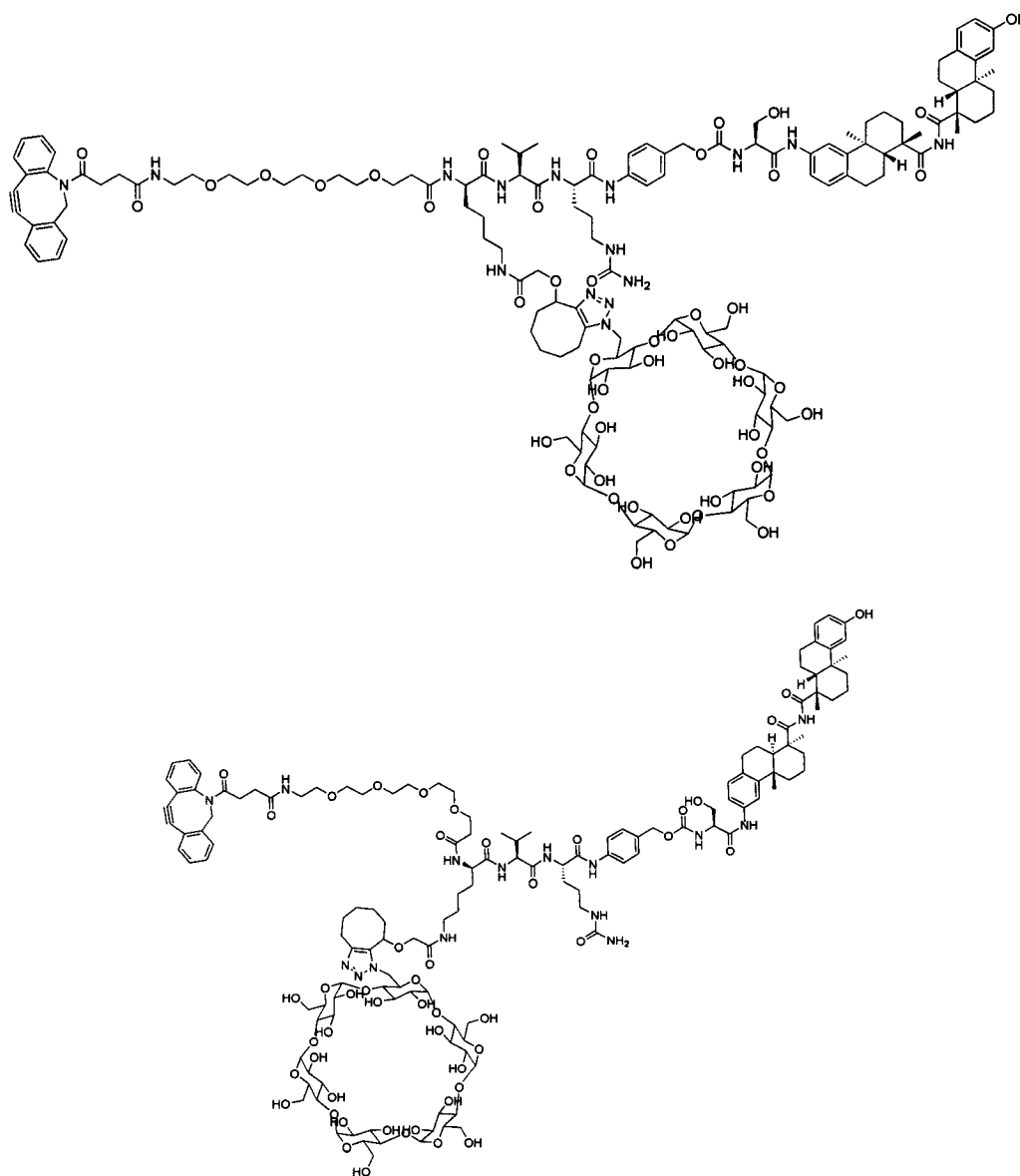
[00535] Соединение **29h** (28 мг, выход 35%) получили в виде белого твердого вещества (смесь региоизомеров на триазоле) при соблюдении общей процедуры приготовления **29**.

[00536] $C_{137}H_{191}N_{15}O_{48}$, точная масса: 2814.3. ЭИ м/з: 1409 ($M/2 + 1$)⁺. 1H ЯМР (500 МГц, $DMCO_{d6}$) δ 9.79 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.24-8.05 (m, 3H), 7.86-7.73 (m, 2H), 7.71-7.58 (m, 3H), 7.54-7.42 (m, 4H), 7.42-7.25 (m, 5H), 6.96 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=8.4$ Гц, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.57-6.45 (m, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.69-5.31 (m, 12H), 5.17-4.49 (m, 14H), 4.39-3.95 (m, 5H), 3.90-3.51 (m, 25H), 3.50-3.33 (m, 32H), 3.33-2.53 (m, 21H), 2.44-1.20 (m, 41H), 1.21-0.77 (m, 16H) ppm.

ПРИМЕР 57

[00537] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **29j**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 8.

[00538] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетраконтан-5-ил}метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-({[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-гидрокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-ил]формамидо}карбонил)-4*b*,8-диметил-4*b*,5,6,7,8,8а,9,10-октагидрофенантрен-3-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамат (**29j**)



[00539] Соединение **29j** (10 мг, выход 42%) получили в виде белого твердого вещества (смесь региоизомеров на триазоле) при соблюдении общей процедуры по приготовлению **29**.

[00540] $C_{138}H_{193}N_{15}O_{49}$, точная масса: 2844.3. ЭИ м/з: 1424.3 ($M/2+H$)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9.81 (s, 1H), 9.65 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.28-8.04 (m, 3H), 7.91-7.73 (m, 2H), 7.73-7.16 (m, 12H), 6.95 (d, $J=8.8$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 6.73-6.59 (m, 1H), 6.59-6.44 (m, 1H), 5.98 (s, 1H), 5.71-5.27 (m, 12H), 5.23-4.48 (m, 14H), 4.43-3.93 (m, 5H), 4.09-3.50 (m, 24H), 3.51-3.33 (m, 31H), 3.33-2.53 (m, 17H), 2.42-1.08 (m, 51H), 1.06-0.67 (m, 14H) ppm.

ПРИМЕР 58

[00541] Данный пример демонстрирует способы приготовления линкер-нагрузки **33**. В данном примере используется нумерация соединений на ФИГ. 9.

{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^(4,9)]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-{2-[*N*-метил(3-{3-[3-этил-8-(трифторметил)хинолин-4-ил]фенокси}бензол)сульфонамидо]этил}карбамат (**33**)

[00542] Ранее было описано, что *N*-(2-аминоэтил)-3-(3-(3-этил-8-(трифторметил)хинолин-4-ил)фенокси)-*N*-метилбензолсульфонамид (**31**) является сильным LXR агонистом, имеющим связывающую способность 1.5 нМ с LXR α и 12 нМ с LXR β (см, *Bioconjug Chem.* **2015** 26(11), 2216-22).

[00543] Синтез линкер-нагрузки **33** посредством двух реакций связывания амида показан на ФИГ. 9. Первая реакция связывания амида **31** с Fmoc-VC-PAB-PNP, катализируемая HOBT, с последующим снятием защиты Fmoc в щелочных условиях дала **32**, а вторая реакция связывания амида **32** с коммерчески доступной DIBAC-сук-PEG₄-кислотой дала **33**.

[00544] **Этап 1:** К смеси **31** (0.14 г, 0.26 ммоль) в ДМФ (5 мл) последовательно добавили Fmoc-vc-PAB-PNP (0.26 г, 0.34 ммоль), HOBT (46 мг, 0.34 ммоль) и DIPEA (89 мг, 0.68 ммоль) при комнатной температуре. После перемешивания реакционной смеси при 20-25°C в течение 24 ч соединение **31** было полностью разрушено, согласно результатам жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. К реакционной смеси добавили Et₂NH (0.5 мл) и полученную смесь перемешивали при 25°C еще в течение 2 ч. Жидкостная хроматография с масс-спектрометрией показала, что группа Fmoc в этот раз была полностью удалена. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ А), в результате чего получили **32** (75 мг, выход 30%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 935 ($M + H$)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, метанол-*d*₄) δ 8.97 (s, 1H), 8.06 (d, $J=7.2$ Гц, 1H), 7.71-7.52 (m, 7H), 7.40-7.37 (m, 2H), 7.31-7.27 (m, 3H),

7.18 (d, $J=7.2$ Гц, 1H), 7.06-7.04 (m, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.55-4.52 (m, 1H), 3.25-3.06 (m, 7H), 2.74 (s, 3H), 2.73-2.60 (m, 2H), 2.06-1.54 (m, 5H), 1.18 (t, $J=7.2$ Гц, 3H), 0.98 (d, $J=6.8$ Гц, 3H), 0.93 (d, $J=6.8$ Гц, 3H) ppm.

[00545] **Этап 2:** К раствору DIBAC-сук-PEG₄-кислоты (8.0 мг, 14 мкмоль) в ДМФ (1 мл) добавили NATU (8.0 мг, 20 мкмоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при 25°C в течение одного часа и к смеси последовательно добавили **32** (13 мг, 14 мкмоль) и ТЭА (13 мг, 28 мкмоль). Смесь перемешивали при 25°C еще в течение 2ч. Реакцию контролировали при помощи жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией до разрушения соединения **32**. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством преп-ВЭЖХ (способ В), в результате чего получили **33** (7.0 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества. ЭИ м/з: 735 ($M/2+H$)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, метанол-*d*₄) δ 8.96 (s, 1H), 8.06 (d, $J=7.2$ Гц, 1H), 7.71-7.52 (m, 9H), 7.43-7.18 (m, 12H), 7.05 (s, 1H), 5.13-5.09 (m, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.52-4.46 (m, 1H), 4.20 (d, $J=6.8$ Гц, 1H), 3.77-3.65 (m, 3H), 3.58-3.51 (m, 12H), 3.44-3.39 (m, 2H), 3.22 (t, $J=6.0$ Гц, 4H), 3.14-3.03 (m, 3H), 2.73-2.62 (m, 6H), 2.53 (t, $J=6.0$ Гц, 2H), 2.40-2.31 (m, 1H), 2.20-1.86 (m, 5H), 1.79-1.51 (m, 3H), 1.17 (t, $J=7.6$ Гц, 3H), 0.97 (t, $J=6.0$ Гц, 6H) ppm.

ПРИМЕР 59

[00546] В Таблице 2 представлены структуры линкер-нагрузок **22**, **24**, **27**, **29** и **33**. В Таблице 5 представлены молекулярные формулы, молекулярный вес, рассчитанные значения LogP, результаты МС и ВЭЖХ для линкер-нагрузок.

Таблица 5. Химико-физические свойства линкер-нагрузки

	№ соед.	CLog P	МФ	МВ	МС м/з (100%)	ВЭЖХ R _t Способ А или В (мин)	Чистота ВЭЖХ (%)
LP1	24c	+	C ₈₁ H ₁₁₆ N ₁₀ O ₂₃	1597.8	1598.7 [M+H]	6.70 (A) 7.72 (B)	100
LP2	22d1	+++	C ₇₂ H ₉₂ N ₆ O ₁₂	1233.53	617.3 [M/2+H]	9.21 (B)	100
LP3	22d2	++	C ₃₈ H ₅₁ N ₃ O ₃	597.39	598.4 [M+H]	8.99 (B)	100
LP4	22j	++	C ₈₆ H ₁₁₀ N ₁₀ O ₁₇	1555.8	778.4 [M/2+H]	7.21 (B)	96.6

	№ соед.	CLog P	МФ	МВ	МС м/з (100%)	ВЭЖХ R _t Способ А или В (мин)	Чистота ВЭЖХ (%)
LP5	27d1	++	C ₅₈ H ₈₂ N ₆ O ₈	990.62	991.3 [M+H]	6.5 (B)	100
LP6	29c1	+	C ₁₃₇ H ₁₉₁ N ₁₅ O ₄₈	2818.1	939.5 [M/3+H]	6.62 (B)	100
LP7	29c2	+	C ₁₄₈ H ₂₁₃ N ₁₅ O ₅₃	3050.3	1017.3 [M/3+H]	6.68 (B)	96
LP8	29d1	+	C ₁₂₄ H ₁₇₅ N ₁₁ O ₄₄	2523.8	841.8 [M/3+H]	6.19 (B)	98
LP9	29d2	+	C ₁₁₆ H ₁₇₄ N ₁₀ O ₄₄	2412.7	1215.2 [(M+H ₂ O)/ 2+H]	6.37 (B)	100
LP10	29d3	+	C ₁₃₅ H ₁₉₆ N ₁₂ O ₄₉	2771.1	924.5 [M/3+H]	6.42 (B)	100
LP11	29d4	+	C ₁₂₇ H ₁₉₅ N ₁₁ O ₄₉	2660	837.2 [(M- BCN)/ 3+H]	6.33 (B)	100
LP12	29h	+	C ₁₃₇ H ₁₉₁ N ₁₅ O ₄₈	2818.1	939.5 [M/3+H]	6.62 (B)	100
LP13	29j	+	C ₁₃₈ H ₁₉₃ N ₁₅ O ₄₉	2846.08	1424.3 [M/2+H]	6.12 (B)	100
LP15	27j	++	C ₇₂ H ₁₀₀ N ₁₀ O ₁₃	1313.62	657.5 [M/2+H] 1313.6 [M+H, 5%]	8.16 (B)	96
LP14	33	++	C ₇₆ H ₈₇ F ₃ N ₁₀ O ₁₅ S	1469.6	735.3 [M/2+H]	9.34 (B)	96

9 < +++ ; 7 < ++ < 9; -2 < + < 2

ПРИМЕР 60

[00547] Данный пример демонстрирует способ приготовления несайт-специфического конъюгированного соединения лекарственного препарата (препаратов) с антителом посредством реакции тиол-малеимид.

[00548] Конъюгация через цистеины антитела выполнялась в два этапа с использованием способов, аналогичных способам приготовления Adcetris®-подобных ADC (см. *Mol. Pharm.* **2015**, 12(6), 1863-71).

[00549] Моноклональное антитело (mAb) восстанавливают дитиотреитолом или ТКЭФ. После фильтрации в геле раствор **24с** в ДМСО добавляют к восстановленному антителу и pH смеси корректируют необходимым образом. Реакционной смеси дают перемешаться. Полученный конъюгат очищают посредством гель-проникающей хроматографии. Значения DAR (UV) определяют посредством измеренных абсорбций pcADC и коэффициентов экстинкции антитела и **24с**.

ПРИМЕР 61

[00550] Данный пример демонстрирует способ для сайт-специфической конъюгации, в общем случае, нагрузки с антителом или его антиген-связывающим фрагментом. Данный пример относится к ФИГ. 10.

[00551] В одном примере сайт-специфические конъюгаты были получены посредством двухэтапной конъюгации антитела N297Q, опосредованной трансклутаминазой микробиологического происхождения (MTG EC 2.3.2.13, Zedira, Дармштадт, Германия) (в дальнейшем именуемой “MTG-опосредованной”). Первый этап представлял собой MTG-опосредованное ферментное присоединение малой молекулы, такой как азид-PEG₃-амин, к мутированному антителу. Второй этап включал присоединение линкер-нагрузки к азидо-функционализированному антителу посредством циклоприсоединения [2+3], например, 1,3-диполярного присоединения между азидами и циклооктинами (также называемого клик-химией без соединений меди). См. Baskin, J. M.; Prescher, J. A.; Laughlin, S. T.; Agard, N. J.; Chang, P. V.; Miller, I. A.; Lo, A.; Codelli, J. A.; Bertozzi, C. R. *PNAS* **2007**, 104 (43), 16793–7. На ФИГ. 10 показан пример линкер-нагрузки, имеющей фрагмент DIBAC, конъюгированный с азидо-функционализированным антителом посредством циклоприсоединения [2+3]. Этот процесс позволил получить сайт-специфические и стехиометрические конъюгаты с фактическим выходом около 50–80%.

ПРИМЕР 62

[00552] Данный пример демонстрирует способ приготовления конъюгата азидо-функционализированное антитело-лекарственный препарат.

[00553] Агликолизированный человеческий IgG (IgG1, IgG4, etc.) или изотип человеческого IgG1 в ВирНTM (pH 6.5–8.0) смешали с ≥ 200 молярными эквивалентами азидо-dPEG₃-амин (МВ=218.26 г/моль). Полученный раствор смешали с трансклутаминазой (25 ед/мл; 5ед MTG на мг антитела, Zedira, Дармштадт, Германия, или Ajinomoto, Япония), в результате чего получили конечную концентрацию антитела 0.5–5 мг/мл, pH раствора поддерживали на уровне 6.5–8.0 и затем провели инкубацию при 37°C

в течение 4–24 ч с осторожным встряхиванием. Реакцию контролировали посредством ЭИ–МС. После завершения реакции избыточный амин и МТГ удалили посредством гель-проникающей хроматографии (см. ФИГ. 12) или элюирования из колонки, содержащей белок А, кислотным буфером и последующей нейтрализацией трис буфером (pH8) для получения азидо-функционализированного антитела. Данный продукт анализировали посредством электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (SDS–PAGE) (см. ФИГ. 11) и ЭИ–МС (см. ФИГ. 13). Азидо–dPEG₃–амин присоединился к двум сайтам – Q295 и Q297– антитела, что обусловило увеличение 804 Да для конъюгата 4DAR агликолизированное антитело–PEG₃–азид. Сайты конъюгации идентифицировали и подтвердили на EEQ^{линкер}YQ^{линкер}STYR для 4DAR азидо-функционализированного антитела при помощи пептидной карты секвенирования подвергнутых воздействию трипсина тяжелых цепей.

ПРИМЕР 63

[00554] Данный пример демонстрирует способ приготовления сайт-специфических конъюгатов лекарственный препарат-антитело посредством клик-реакций.

[00555] Сайт-специфические конъюгаты агликолизированного антитела и лекарственного препарата с человеческим IgG (IgG1, IgG4 и т.д.), содержащие мутацию N297Q (нумерация ЕС), в Таблице 6 приготовили посредством клик-реакции [2+3] между азидо-функционализированными антителами с алкином, содержащим линкер-нагрузку. Как показано в Таблице 6, анти Her2–PEG₃–N₃ конъюгировали с линкер-нагрузками (LP) в Таблице 2: LP2, LP3, LP4, LP5, LP6, LP7, LP8, LP10, LP11, LP12, LP13 и LP14. Как показано в Таблице 6, анти PRLR–PEG₃–N₃ конъюгировали с LP в Таблице 2: LP5, LP6, LP7, LP8, LP10, LP11, LP12, LP13 и LP14. Как показано в Таблице 6, изотипический контроль–PEG₃–N₃ конъюгировали с LP2, LP3, LP4, LP5, LP6, LP7, LP8, LP10, LP11, LP12, LP13 и LP14 в Таблице 2.

[00556] Для конъюгации конъюгат азидо-функционализированного агликолизированного антитела IgG1 (mAb–PEG₃–N₃) и линкер-нагрузки (LP) приготовили посредством инкубирования mAb–PEG₃–N₃ (1–3 мг/мл) в водной среде (например, PBS, PBS с содержанием 5% глицерина, HBS) с ≥ 6 молярными эквивалентами LP, растворенной в подходящем органическом растворителе, таком как ДМСО, ДМФ или DMA (т.е. реакционная смесь содержит 5-20% органического растворителя, об/об) при температуре от 24°C до 37°C в течение более 6 ч. Протекание реакции контролировали при помощи ЭИ–МС, и отсутствие mAb–PEG₃–N₃ показало завершение конъюгации. Избыточное количество LP и органического растворителя удалили посредством гель-

проникающей хроматографии через элюирование с PBS, или через элюирование из колонки, содержащей белок А, кислотным буфером и последующей нейтрализацией трис (pH 8). Очищенные конъюгаты проанализировали посредством гель-проникающей хроматографии, электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия и масс-спектрометрии и ионизации электрораспылением. В Таблице 6 приведен список нецитотоксических конъюгатов антитела (ncADC) от соответствующих LP, их молекулярный вес и значения ЭИ-DAR.

[00557] В Таблице 6 приведены голые антитела (антитело анти-Her2, антитело анти-PRLR и антитело изотопического контроля), азидо-функционализированные антитела (анти-Her2 антитело-PEG₃-N₃, анти-PRLR антитело-PEG₃-N₃ и антитело изотопического контроля-PEG₃-N₃), а также их конъюгаты антитело-лекарственный препарат. В Таблице 6 Ab означает антитело, mAb означает моноклональное антитело, Ab-N₃ означает азидо-функционализированное антитело, Ab-PEG₃-N₃ означает азидо-функционализированное антитело с PEG₃ спейсером, а ncADC означает нецитотоксичный конъюгат антитело-лекарственный препарат. Для удобства номенклатура анти Her2-LP(X) и анти PRLR-LP(X) – в Таблице 6 и в других таблицах настоящего документа – где X означает конкретную линкер-нагрузку (например, LP2 или LP10 и т.д.) включает присутствие PEG₃ спейсера (например, от анти-Her2 антитело-PEG₃-N₃ или анти-PRLR антитело-PEG₃-N₃), что описано в настоящем документе.

Таблица 6. Список антител, антитело-PEG₃-N₃ и LXR агонист-ncADC

Ab, Ab-N ₃ или ncADC	МС м/з (ncADC)	LP №	MB (LP)	DAR (ЭИ-МС)
Анти Her2 mAb	145132			
Anti Her2-PEG ₃ -N ₃	145930	NH ₂ -PEG ₃ -N ₃	218.26	4
Анти Her2-LP2	150880	LP2	1232.7	3.8
Анти Her2-LP3	151830	LP3	1467.8	3.9
Анти Her2-LP4	152175	LP4	1554.8	3.8
Анти Her2-LP5	149925	LP5	990.0	4
Анти Her2-LP6	158153	LP6	3050.3	4
Анти Her2-LP7	157715	LP7	2939.2	3.9
Анти Her2-LP8	156047	LP8	2523.8	3.9
Анти Her2-LP10	157040	LP10	2771.1	4
Анти Her2-LP11	156602	LP11	2660.0	4

Ab, Ab-N ₃ или ncADC	МС м/з (ncADC)	LP №	MB (LP)	DAR (ЭИ-МС)
Анти Her2-LP12	157212	LP12	2818.1	4
Анти Her2-LP14	151827	LP14	1469.6	4
Анти PRLR mAb	144579			
Анти PRLR- PEG ₃ -N ₃	145373	NH ₂ -PEG ₃ -N ₃	218.26	4
Анти PRLR-LP5	149368	LP5	990.0	4
Анти PRLR-LP6	157589	LP6	3050.3	4
Анти PRLR-LP7	157169	LP7	2939.2	3.9
Анти PRLR-LP8	155484	LP8	2523.8	4
Анти PRLR-LP10	156474	LP10	2771.1	4
Анти PRLR-LP11	156052	LP11	2660.0	4
Анти PRLR-LP14	151283	LP14	1469.6	4
mAb изотопического контроля	145430			
изотипический контроль- PEG ₃ -N ₃	146235	NH ₂ -PEG ₃ -N ₃	218.26	4
изотипический контроль-LP2	151176	LP2	1232.7	4
изотипический контроль-LP3	152120	LP3	1467.8	4
изотипический контроль-LP4	152472	LP4	1554.8	4
изотипический контроль-LP5	150218	LP5	990.0	4
изотипический контроль-LP8	156355	LP8	2523.8	4
изотипический контроль-LP10	157340	LP10	2771.1	4
изотипический контроль-LP11	156893	LP11	2660.0	3.4
изотипический контроль-LP12	157514	LP12	2818.1	3.9

ПРИМЕР 64

[00558] Данный пример демонстрирует способы характеристики конъюгатов антитела и нецитотоксического антитела и лекарственного препарата (ncADC).

[00559] Конъюгаты антитела и psADC характеризовали посредством электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия, гель-проникающей хроматографии и МС (ЭИ). Конъюгат анти-Her2-LP8 в Таблице 6, полученный от антитела анти-Her2 через его азидо-функционализированное антитело (анти-Her2-PEG₃-N₃), характеризовали посредством электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия, проведенного в невосстанавливающих и восстанавливающих условиях (ФИГ. 11), гель-проникающей хроматографии (ФИГ. 12) и ЭИ-МС (ФИГ. 13), что также показало завершение образования psADC.

[00560] Для анализа целостности и чистоты ADC провели электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия.

[00561] Согласно одному способу, условия электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия включали невосстановленные и восстановленные образцы (2-4 мкг) наряду с набором предокрашенных маркерных белков BenchMark (Invitrogen, кат. № 10748-010; L# 1671922.), загруженные на трек в (1.0 мм x 10 лунок) Novex 4-20% трис-глициновом геле, с параметрами: 180 В, 300 мА, 80 мин. Образец для анализа подготовили при использовании трис-глицинового SDS-буфера Novex (2X) (Invitrogen, кат. № LC2676), а восстанавливающий образец подготовили при использовании SDS-буфера для образца (2X) с содержанием 10% 2-мекаптоэтанола.

[00562] На ФИГ.11 показан репрезентативный гель, показывающий смещение молекулярного веса антител и psADC при электрофорезе в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия, проведенного в невосстанавливающих и восстанавливающих условиях. Массы тяжелых цепей увеличивались от голых антител до конъюгата psADC. Обнаруживаемого материала с поперечной межмолекулярной связью не было.

[00563] Как показывает ФИГ. 11, треки электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия включали следующие образцы на основании следующих меток треков в Таблице 7.

Таблица 7.

Трек	Образец
1	Стандарты (Bench Mark 10 мкл)
2	Анти Her2 mAb
3	Анти Her2 mAb-NH-PEG ₃ -N ₃

4	Анти Her2 mAb-LP8
7	Анти Her2 mAb (восстановл.)
8	Анти Her2 mAb-NH-PEG ₃ -N ₃ (восстановл.)
9	Анти Her2 mAb-LP8 (восстановл.)
~ 2 мкг невосстановленного/восстановленного образца/трек. Novex 4-20% трис-глициновый гель; 1.0 мм x 10 лунок; 180 В, 300 мА, 80 мин. Набор предокрашенных маркерных белков BenchMark, Invitrogen, кат. № 10748-010; L#1671922.	

[00564] ADC проанализировали на чистоту посредством гель-проникающей хроматографии.

[00565] Для определения чистоты конъюгатов антитело-лекарственный препарат выполнили гель-проникающую хроматографию. Аналитические эксперименты гель-проникающей хроматографии проводили с использованием прибора Waters 600, на HR-колонке Superdex 200 (1.0 x30см) HR, при расходе в 0.80 мл/мин с использованием фосфатно-солевого буферного раствора (PBS) pH 7.4, и контролировали при $\lambda=280$ нм с помощью детектора с фотодиодной матрицей Waters 2998. Образец для анализа состоял из 200 мкл PBS (pH 7.4) с 30-100 мкл тестового образца. Препаративные очищения гель-проникающей хроматографии проводили с использованием прибора АКТА от GE Healthcare, на колонке Superdex 200 PG (2.6x60 см), с элюированием при расходе в 2 мл/мин с PBS pH 7.4 и контролировали при $\lambda=280$ нм. Результаты гель-проникающей хроматографии на ФИГ. 12 показали стандартное время удержания для мономерных mAb и их конъюгатов, и обнаруживаемой агрегации или деградации не было.

[00566] Антитело и ADC анализировали посредством анализа массы исходного вещества при помощи жидкостной хроматографии, электрораспылительной ионизации и масс-спектрометрии.

[00567] Измерение массы исходного вещества для образцов psADC посредством жидкостной хроматографии, электрораспылительной ионизации и масс-спектрометрии провели для определения профиля распределения лекарственный препарат-нагрузка и для расчета среднего значения DAR исходных форм ADC. Каждый тестовый образец (20-50 нг, 5 мкл) загрузили в колонку Acquity UPLC Protein BEH C4 (10К фунт на кв. дюйм, 300 Å, 1.7 мкм, 75 мкм × 100 мм; кат. № 186003810). После обессоливания в течение 3 мин белок элюировали и получили спектры масс при помощи масс-спектрометра Waters Synapt G2-Si.

[00568] Спектры массы после деконволюции продемонстрировали доминирующий пик для агликолизированного антитела анти-HER2 с молекулярным весом в 145132 Да, и доминирующий пик для его азидо-функционализированного антитела анти-PRLR с молекулярным весом в 145930 Да, что показало повышение в 798 Да по сравнению с агликолизированным исходным антителом (т.е. соответствующие 4 амино-PEG₃-азидным конъюгациям с каждым агликолизированным антителом). Также доминирующий пик для конъюгата анти-HER2-LP8 имел молекулярный вес 156047 Да, что показало увеличение на 10931 Да по сравнению с его агликолизированным исходным антителом (т.е. соответствующие 4 LP8 конъюгациям с каждым агликолизированным антителом). Согласно Таблице 6, большинство сайт-специфических ADC в настоящем документе имеют 4DAR.

[00569] Для несайт-специфических конъюгатов антитело-лекарственный препарат значения DAR определили на основании квадрупольной времяпролетной масс-спектрометрии с электрораспылительной ионизацией (ESI Q-TOF). Спектры масс ESI Q-TOF деконволюировали до спектров масс с нулевым зарядом с использованием алгоритма максимальной энтропии (MassLynx). Полученные спектры масс показали дистрибуцию каждого антитела, конъюгированного с лекарственным препаратом. Процентная площадь пика показывает относительную дистрибуцию определенных видов нагруженных лекарственным препаратом антител. Среднее значение DAR рассчитали с использованием информации о процентной площади пика и лекарственных нагрузок на антителе.

[00570] Для несайт-специфических конъюгатов антитело-лекарственный препарат значения DAR определили на основании квадрупольной времяпролетной масс-спектрометрии с электрораспылительной ионизацией (ESI Q-TOF). Спектры масс ESI Q-TOF деконволюировали до спектров масс с нулевым зарядом с использованием алгоритма максимальной энтропии (MassLynx). Полученные спектры масс показали дистрибуцию каждого антитела, конъюгированного с лекарственным препаратом. Процентная площадь пика показывает относительную дистрибуцию определенных видов нагруженных лекарственным препаратом антител. Среднее значение DAR рассчитали с использованием информации о процентной площади пика и лекарственных нагрузок на антителе.

ПРИМЕР 65

[00571] Данный пример демонстрирует способы конкурентно-связывающего анализа LanthaScreen TR-FRET GR.

[00572] Для оценки способности новых агонистов LXR связываться с альфа и бета

рецептором LXR провели бесклеточный анализ связывания с использованием набора реактивов для альфа рецептора Lanthascreen TR-FRET LXR alpha Coactivator Assay Kit (ThermoFisher, кат. № PV4655) и набор реагентов для бета рецептора LXR beta Coactivator Assay Kit (ThermoFisher, кат. № PV4658). Анализ провели в соответствии с инструкциями производителя. Если описать анализ вкратце, подготовили 3-кратное последовательное разведение агонистов LXR в 100% ДМСО, начиная с 100 мкМ (100X от конечного значения). Последовательные разведения были далее разведены - 50-кратно в буфере F ядерного рецептора с 5 мМ ДТТ и перенесены на 384-луночный аналитический планшет. Далее Fluorescein-D22, LXR альфа или бета LBD-GST и Tb анти-GST антитело последовательно добавили на 384-луночный аналитический планшет. Затем планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 2.5 часов с защитой от света. Планшет анализировали на планшет-ридере Envision Multilabel Plate Reader (PerkinElmer) с настройкой возбуждения в 40 нм и настройками эмиссионных фильтров в 520 нм и 486 нм. Отношение FRET рассчитали как 520 нм / 486 нм. Значения IC₅₀ определили при помощи четырехпараметрического логистического уравнения по 12-точечной характеристике (GraphPad Prism).

[00573] Как показано в Таблице 8, агонисты LXR изобретения связывались в анализе LXR с LXRa со значениями IC₅₀ от менее 1 нМ до более 100 нМ и с LXRb со значениями IC₅₀ от менее 1 нМ до более 100 нМ. Референсные соединения, связанные в LXR анализе с LXRa со значениями IC₅₀ менее или равными 10 нМ и с LXRb со значениями IC₅₀ от 1 нМ до 10 нМ. В данных условиях анализа несколько представленных здесь агонистов LXR дали похожие или лучшие значения IC₅₀ для связывания с LXR по сравнению с референсными соединениями.

[00574] Бесклеточное связывание и клеточная функциональная активность соединений в Таблице 1 приведены в Таблице 8. Активацию в клеточных анализах (что описано в ниже приведенном примере 68) определяли на основании максимальной активности свободной нагрузки **9d**. Соединения, которые показали активацию свободной нагрузки более 75%, определяются как "полная активация". Соединения, которые показывают от 25% от максимальной активации до 75% максимальной активации свободной нагрузки, определяются как "частичная активация". Соединения, которые показывают менее 25% от активации свободной нагрузки, определяются как "отсутствие активации".

Таблица 8. Бесклеточное связывание и клеточная функциональная активность через 48 часов

№ соед.	Бесклеточное связывание		Активация THP1/LXR-Luc клеток	
	LXR α IC ₅₀	LXR β IC ₅₀	Тип активации	EC ₅₀ (нМ)
9a	+++	+++	Полная активация	+++
9b	+++	+++	Полная активация	+++
9c	++	+++	Полная активация	++
9d	+++	+++	Полная активация	++++
9e	+++	+++	Полная активация	+++
9f	+++	+++	Полная активация	+++
9h	++++	++++	Полная активация	++++
9i	+++	+++	Частичная активация	++
9j	+++	+++	Полная активация	++++
9k	++	+++	Полная активация	+++
9l	++	++	Полная активация	+++
9m	++	+++	Полная активация	+++
9n	++	+++	Полная активация	++++
9o	++	+++	Полная активация	++++
9p	++	+++	Полная активация	+++
9q	+++	+++	Полная активация	++
9r	+++	+++	Полная активация	++
9t	+	+	Частичная активация	++
9u	++	++	Частичная активация	+++
17b	++	+++	Полная активация	++
17c	+	+++	Полная активация	++++
31	+++	+++	Частичная активация	++
GW3965	+++	+++	Полная активация	+
T0901317	++++	+++	Полная активация	++

IC₅₀: ++++: ≤1 нМ; +++: ≤10 нМ > 1 нМ; ++: ≤100 нМ > 10 нМ; +: >100 нМ. НП: не проверялось.

EC₅₀: ++++: ≤1 нМ; +++: ≤10 нМ > 1 нМ; ++: ≤100 нМ > 10 нМ; +: >100 нМ. НП: не проверялось.

ПРИМЕР 66

Для определения способности агонистов LXR активировать гены ABCA1 и ABCG1 измерили мРНК уровни этих двух генов в дифференцированных макрофагах. Для анализа был произведен посев клеток линии клеток человека THP-1 на 48-лучночные планшеты в размере 500000 клеток / лунка в среде RPMI 1640 (Irvine Scientific, № 9160), содержащей 10% ФБС (Gibco, кат. № 1043010), 10 мг/мл пенициллин-стрептомицин (Gibco, кат. №15140122) в 5% CO₂ при 37°C. Клетки дифференцировали в макрофаги посредством воздействия 100 нМ Форбол-12 миристан-13-ацетата (Sigma, № P8139), который добавили

к выше описанной среде, в течение 72 часов. На дифференцированные макрофаги воздействовали последовательным разведением соединений агониста LXR и референсным соединением TO901317 в течение 24 часов, с диапазоном концентрации от 5×10^{-7} М до 5×10^{-17} М. Среда из клеток удалили и добавили 0.75 мл реагента TRIzol (Invitrogen, кат. № 15596018) для лизиса клеток. Далее для фазоразделения использовали хлороформ. Водную фазу, содержащую тотальную РНК, очистили при помощи набора для выделения тотальной РНК микроматричного анализа MagMAX™-96 (Ambion, кат. № AM1830) и обратно транскрибировали в кДНК при помощи мастер-микса SuperScript® VILO™ (Invitrogen, кат. № 11755050) согласно инструкциям производителя. TaqMan® выполнили с использованием мастер-микса экспрессии генов, секвенатора ABI 7900HT (Applied Biosystems), а также праймеров и зондов, указанных далее в Таблице 9. Ген GAPDH использовали в качестве внутреннего контролирующего гена для нормализации любых различий в вводе кДНК.

Таблица 9. Зоны и праймеры Taqman

Ген	Последовательность зонда	Прямой праймер	Обратный праймер
ABCA1	CTGACCAATGTGAACAGCTCCAGC	ACATGCGACAGGAGGTGATG	ATGCCCCGACAGAC AATACGA
ABCG1	AGATAATAACCTCACGGAAGCCCAGCG	GGACCTGCTGAATGGACATC	CCGAGGCAAGGA GGAGAA
GAPDH	TCAACAGCGACACCCACTCCTC	CCAGGTGGTCTCCTCTGACT	GCTTGACAAAGT GGTCGTTGA

Все соединения продемонстрировали индукцию LXR эндогенных генов эффект-мишень ABCA1 и ABCG1 в человеческих макрофагах THP1 (ФИГ. 14). Соединения **9d** и **9h** показали максимальную активность, с EC₅₀ значениями индукции ABCA1, которые были суб-пиколярными, и с EC₅₀ индукции ABCG1, которые были суб-пиколярными. Другие проанализированные соединения показали схожие уровни активации генов ABCA1 и ABCG1 по сравнению с **9d** и **9h**, но они активировались с нано-молярными значениями EC₅₀.

ПРИМЕР 67

[00575] Данный пример демонстрирует генерацию клеточных линий для биоанализа в целях оценки LXR-агонистов и их конъюгатов с антителом.

[00576] Для оценки активности агонистов LXR после интернационализации агониста

или psADC в клетки и связывания с LXR, ядерным рецептором, при помощи коммерчески доступного репортера LXR (называемого LXR-Luc), который содержит ген люциферазы светлячка под контролем посредством минимального CMV промотора и tandemных повторов транскрипционного элемента ответа LXR, был разработан биоанализ. Для данного анализа сконструировали клеточную линию THP1, которая является человеческой моноцитарной лейкемической линией, для экспрессии полноразмерного человеческого Her2 (экспрессия аминокислот M1 через V1255 с номером доступа NP_004439.2). Последовательную стабильную клеточную линию трансдуцировали репортером Signal LXR Luc Reporter (Qiagen, кат. № CLS-7041L). Полученная стабильная клеточная линия называется здесь THP1/Her2/LXR-Luc. Экспрессию Her2 на поверхности клеток клеточной линии THP1/Her2/LXR-Luc подтвердили посредством метода анализа сортировки клеток с активированной флуоресценцией (данные не показаны).

[00577] Кроме того, клеточную линию THP1 трансдуцировали репортером Signal LXR Luc (Qiagen, кат. № CLS-7041L) без добавления Her2. Полученная стабильная клеточная линия называется здесь THP1/LXR-Luc. Все антитела, использованные в последующих биоанализах, оценили на их способность интернационализировать и высвобождать нагрузку на использованной для биоанализа клеточной линии.

ПРИМЕР 68

[00578] Данный пример позволил оценить способность указанных здесь LXR-агонистов, референсных соединений и конъюгатов psADC пн -Her2 антитело-LXR для активации LXR. Образцы проанализировали в ходе биоанализа THP1/LXR-Luc/Her2. Для анализа выполнили посев либо клеток THP1/LXR-Luc, либо клеток THP1/LXR-Luc/Her2 на белые 96-луночные планшеты в объеме 30000 клеток / лунка в среде, содержащей RPMI-раствор, дополненный 10% ФБС и пенициллином-стрептомицином (полная среда). В последующем, 3-кратные последовательные разведения конъюгатов антитело-лекарственный препарат, неконъюгированных антител или свободных нагрузок добавили к клеткам с конечной концентрацией в диапазоне от 100 нМ до 0.01 нМ. После 48-часовой или 72-часовой инкубации активность люциферазы определили после добавления реагента One-Glo™ (Promega, кат. № E6130) в каждую лунку клеток. Относительные световые единицы (RLU) измерили на люминомере Victor (PerkinElmer), и EC₅₀ значения определили при помощи четырехпараметрического логистического уравнения на 10-точечной кривой доза-эффект (GraphPad Prism) (ФИГ. 15). EC₅₀ значения агонистов LXR соединений изобретения и референсных соединений показаны в Таблице 3. EC₅₀ значения psADC и одновременно проанализированных агонистов LXR показаны в Таблице 10.

Активация рассчитывается на основании максимальной активации свободной нагрузки **9d**. Проанализированные молекулы, которые продемонстрировали активацию более 75% от активации свободной нагрузки **9d**, определяются как "полная активация". Проанализированные молекулы, которые продемонстрировали от 25% от максимальной активации до 75% максимальной активации свободной нагрузки **9d**, определяются как "частичная активация". Проанализированные молекулы, которые продемонстрировали менее 25% активации свободной нагрузки **9d**, определяются как "отсутствие активации".

[00579] Как показано в Таблице 10, во временной точке 48 часов свободная нагрузка, **9d**, индуцировала полную активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значением 1.6нМ. Антитело анти-Her2, сайт-специфически конъюгированное с **линкер-нагрузками, содержащими 9d**, стимулировало активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значениями, варьирующимися от 0.51 нМ до 0.83 нМ (анти-Her2-LP2, LP3, LP5 и LP8). Антитела отрицательного изотопического контроля, конъюгированные с **линкер-нагрузками, содержащими 9d**, не показали значительной активации, за исключением контроля с LP2, который продемонстрировал незначительную активацию на максимальных проанализированных концентрациях. Свободная нагрузка, **9j**, индуцировала полную активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значением 0.39 нМ. Антитело анти-Her2, сайт-специфически конъюгированное с **линкер-нагрузкой, содержащей 9j** (анти-Her2-LP4), стимулировало активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значением 0.60 нМ. Антитела отрицательного изотопического контроля, конъюгированные с **линкер-нагрузками, содержащими 9j**, продемонстрировали незначительную активацию на максимальных проанализированных концентрациях. Свободная нагрузка, **9h**, индуцировала полную активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значением 0.50 нМ. Антитело анти-Her2, сайт-специфически конъюгированное с **линкер-нагрузкой, содержащей 9h** (анти-Her2-LP12), стимулировало активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значением в 0.47 нМ. Антитело отрицательного изотопического контроля с **линкер-нагрузкой, содержащей 9h**, продемонстрировало незначительную активацию на максимальных проанализированных концентрациях.

[00580] Как показано в Таблице 10, во временной точке 72 часа свободная нагрузка, **9d**, индуцировала полную активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значением в 2.8 нМ. Антитело анти-Her2, сайт-специфически конъюгированное с **линкер-нагрузками, содержащими 9d**, стимулировало активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значениями, варьирующимися от 0.46 нМ до 0.80 нМ (анти-Her2-LP2, LP3, LP5 и LP8). Антитела отрицательного изотопического контроля, конъюгированные с **линкер-нагрузками,**

содержащими **9d**, не показали значительной активации, за исключением контроля с LP2, который продемонстрировал незначительную активацию на максимальных проанализированных концентрациях. Свободная нагрузка, **9j**, индуцировала полную активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значением 47 пМ. Антитело анти-Her2, сайт-специфически конъюгированное с **линкер-нагрузкой, содержащей 9j** (анти-Her2-LP4), стимулировало активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значением 0.60 нМ. Антитело отрицательного изотопического контроля, конъюгированное с **линкер-нагрузкой, содержащей 9j**, продемонстрировало незначительную активацию на максимальных проанализированных концентрациях. Свободная нагрузка, **9h**, индуцировала полную активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значением в 0.65 нМ. Антитело анти-Her2, сайт-специфически конъюгированное с **линкер-нагрузкой, содержащей 9h** (анти-Her2-LP12), стимулировало активацию клеток THP1/LXR-Luc/Her2 с EC₅₀ значением 0.45 нМ. Антитело отрицательного изотопического контроля с **линкер-нагрузкой, содержащей 9h**, продемонстрировало незначительную активацию на максимальных проанализированных концентрациях.

Таблица 10. Активация в анализе THP1/LXR-Luc/Her2 агонистами LXR и pcADC

Молекула	48 часов		72 часа	
	Уровень активации	EC ₅₀	Уровень активации	EC ₅₀ (нМ)
Анти Her2-LP2	Полная активация	8.3E-10	Полная активация	8.0E-10
Изотипический контроль-LP2	Частичная активация	НП	Частичная активация	НП
Анти Her2-LP3	Полная активация	5.1E-10	Полная активация	4.6E-10
Изотипический контроль-LP3	Нет активации	НП	Нет активации	НП
Анти Her2-LP4	Полная активация	6.0E-10	Полная активация	5.5E-10
Изотипический контроль-LP4	Частичная активация	5.7E-08	Частичная активация	3.8E-08
Анти Her2-LP5	Полная активация	5.5E-10	Полная активация	5.7E-10
Изотипический контроль-LP5	Нет активации	НП	Нет активации	НП
Анти Her2-LP8	Полная активация	6.5E-10	Полная активация	7.0E-10
Изотипический контроль-LP8	Нет активации	НП	Нет активации	НП
Анти Her2-LP12	Полная активация	4.7E-10	Полная активация	4.5E-10
Изотипический контроль-LP12	Частичная активация	НП	Частичная активация	НП

	48 часов		72 часа	
9d, нагрузка LP2, 3, 5 и 8	Полная активация	1.6E-09	Полная активация	2.8E-09
9h, нагрузка LP12	Полная активация	5.0E-10	Полная активация	6.5E-10
9j, нагрузка LP4	Полная активация	3.9E-10	Полная активация	4.7E-10
Только антитело Анти Her2	Нет активации	НП	Нет активации	НП

НП: не применимо.

ПРИМЕР 69

Конъюгация ADC

[00581] Данный пример демонстрирует способ для сайт-специфической конъюгации, в общем случае, нагрузки с антителом или его антиген-связывающим фрагментом.

[00582] Антитела анти-MSR1 видоизменили (N297Q) для включения трансклутаминазного сайта для конъюгации с терапевтической нагрузкой. Сайт-специфические агликолизированные антитела, содержащие мутацию N297Q, были конъюгированы с амин-PEG₃-N₃ для получения азидо-функционализированных конъюгатов антитела (mAb-N₃), включая анти MSR1 Ab-PEG₃-N₃.

[00583] Данный пример демонстрирует способ приготовления конъюгатов. Агликолизированное антитело с человеческим изотипом IgG1 в BuPHTM (pH 7-8) смешали с ≥ 200 молярными эквивалентами азидо-dPEG₃-амин (МВ. 218.26 г/моль). Полученный раствор смешали с трансклутаминазой (25 ед/мл; 5 ед МТГ на мг антитела), в результате чего получили конечную концентрацию антитела 0.5–10 мг/мл, и затем раствор инкубировали при 37°C в течение 4–24 часов с осторожным встряхиванием. Реакцию контролировали посредством электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия или ЭИ-МС. По завершении избыточный амин и МТГ удалили посредством гель-проникающей хроматографии (SEC) и получили азидо-функционализированное антитело (mAb-N₃). Данный продукт проанализировали посредством электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия и ЭИ-МС. Азидо-dPEG₃-амин присоединился к двум сайтам – Q295 и Q297-антитела, что обусловило повышение в 804 Да для конъюгата агликолизированное антитело-PEG₃-азид 4DAR. Сайты конъюгации идентифицировали и подтвердили на EEQ^{линкер}-YQ^{линкер} STYR для 4DAR азидо-функционализированного антитела при помощи пептидной карты секвенирования подвергнутых воздействию трипсина тяжелых цепей.

[00584] Конъюгаты сайт-специфическое аггликолизированное антитело-лекарственный препарат (ADC) с человеческим IgG1 или IgG4, содержащие мутацию N297Q, подготовили посредством клик-реакции [2+3] между азидо-функционализированным антителом (mAb-N₃) и алкином, содержащим линкер-нагрузку (LP).

[00585] Конъюгат сайт-специфического антитела с линкер-нагрузкой (LP) подготовили посредством инкубации **mAb-PEG₃-N₃** (1–12 мг/мл) в водной среде (например, PBS, PBS с содержанием 5% глицерина, HBS) с ≥ 6 молярными эквивалентами **LP**, растворенными в подходящем органическом растворителе, таком как ДМСО, ДМФ или ДМА (т.е. реакционная смесь содержит 5-20% органического растворителя, об/об) при температуре от 24°C до 37°C в течение периода от 30 мин до 24 ч. Протекание реакции контролировали при помощи ЭИ–МС, и отсутствие **mAb-PEG₃-N₃** показало завершение конъюгации. Избыточное количество **LP** и органического растворителя удалили посредством гель-проникающей хроматографии через элюирование с PBS, или через элюирование из колонки, содержащей белок А, кислотным буфером и последующей нейтрализацией трис (рН 8). Очищенные конъюгаты проанализировали посредством гель-проникающей хроматографии, электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия и масс-спектрометрии и ионизации электрораспылением.

[00586] В конкретном примере азидо-функционализированное антитело (1 мг) в 0.800 мл PBSp (PBS, 5% глицерин, рН 7.4) подвергали воздействию шести молярных эквивалентов DIBAC-PEG₄-d-Lys (COT- α -CD)-VC-PABC-нагрузка (конц. 10 мг/мл в ДМСО) в течение 2 часов при комнатной температуре и избыток линкер-нагрузки (**LP**) удалили посредством гель-проникающей хроматографии (SEC, Superdex 200 HR, GE Healthcare). Готовый продукт сконцентрировали посредством ультра-центрифугирования и характеризовали посредством УФ, гель-проникающей хроматографии, электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия и ЭИ–МС.

ПРИМЕР 70

Характеризация ADC посредством ЖХ–ЭИ–МС

[00587] Измерение массы исходного вещества для образцов ADC посредством жидкостной хроматографии, электрораспылительной ионизации и масс-спектрометрии провели для определения профиля распределения лекарственный препарат-нагрузка и для расчета среднего значения DAR. Каждый тестовый образец (20-50 нг, 5 мкл) загрузили в колонку Acquity UPLC Protein BEH C4 (10K фунт на кв. дюйм, 300 Å, 1.7 мкм, 75 мкм × 100 мм; кат. № 186003810). После обессоливания в течение 3 мин белок элюировали и

получили спектры масс при помощи масс-спектрометра Waters Synapt G2–Si. Как указано в Таблице 12, большинство сайт-специфических ADC имеют 3.9 – 4 DAR для сайт-специфических конъюгатов.

Таблица 11. Свойства линкер-нагрузок

LP	CLogP	МФ	МВ	Чистота ВЭЖХ (%)	ВЭЖХ R _t (мин)	МС (м/з) 100%	Максимальный пик м/з
LP8	-0.38	C ₁₂₄ H ₁₇₅ N ₁₁ O ₄₄	2523.76	98	6.45, 6.55 (B)	841.8 [M/3+H]	1262.4 [M/2+H] (30%)
LP32	-3.92	C ₁₃₆ H ₁₉₅ N ₁₁ O ₅₄	2848.04	96	7.48 (B)	955.0 [(M+18)/3] 949.5 (M/3+H)	1424.2 (M/2+H) (30%)
LP15	7.53	C ₇₂ H ₁₀₀ N ₁₀ O ₁₃	1313.62	96	8.16 (B)	657.5 (M/2+H)	1313.6 (M+H) (5%)
LP13	-1.48	C ₁₃₈ H ₁₉₃ N ₁₅ O ₄₉	2846.08	100	6.11, 6.21 (B)	949.0 (M/3+H)	1423.3 (M/2+H) (5%)
LP36	6.59	C ₁₁₅ H ₁₆₀ N ₁₆ O ₂₈ S	2246.66	100	7.24 (B)	749.5 (M/3+H)	1123.8 (M/2+H) (5%)
LP39	8.70	C ₈₈ H ₁₁₂ N ₁₀ O ₁₈	1597.89	95	5.67 (B)	799.0 (M/2+H)	799.0 (M/2+H)
LP311	8.17	C ₈₉ H ₁₁₇ N ₁₁ O ₁₆	1596.95	95	8.51 (B)	798.5 (M/2+H)	798.5 (M/2+H)
LP18	6.49	C ₁₀₁ H ₁₄₂ N ₁₂ O ₂₃ S	1924.34	97	7.57 (B)	642.2 (M/3+H)	962.5 (M/2+H) (70%)

Таблица 12. Свойства ADC

LP №	МВ (LP)	Ab, Ab–N ₃ или ncADC	МС м/з (ncADC)	DAR (ЭИ–МС)
		H1H27729P		
		H1H27729P–N ₃	144166	4
8	2523.8	H1H27729P–LP8		
		H1H27731P	144620	4
		H1H27731P–N ₃		
8	2523.8	H1H27731P–LP8		
		H1H27732P	144176	5.7

LP №	MB (LP)	Ab, Ab-N ₃ или ncADC	MC м/з (ncADC)	DAR (ЭИ-МС)
		H1H27732P-N ₃		
8	2523.8	H1H27732P-LP8		
		H1H27734P	145110	4.4
		H1H27734P-N ₃		
8	2523.8	H1H27734P-LP8		
		H1H27736P	145940	4
		H1H27736P-N ₃		
8	2523.8	H1H27736P-LP8		
		H1H27739P	145251	4
		H1H27739P-N ₃		
8	2523.8	H1H27739P-LP8		
		H1H27747P	145214	5.3
		H1H27747P-N ₃		
8	2523.8	H1H27747P-LP8		
		H1H27749P	143441	4
		H1H27749P-N ₃		
8	2523.8	H1H27749P-LP8		
		H1H17751P	146092	3.8
		H1H17751P-N ₃		
8	2523.8	H1H17751P-LP8		
		H1H27754P	145477	4.2
		H1H27754P-N ₃		
8	2523.8	H1H27754P-LP8		
		H1H27756P	145503	
		H1H27756P-N ₃	146310	4
8	2523.8	H1H27756P-LP8	156424	4
		H1H17759P2	145126	
		H1H17759P2-N ₃	145930	4
8	2523.8	H1H17759P2-LP8	156046	4
		H1H17760P2	145611	

LP №	MB (LP)	Ab, Ab-N ₃ или ncADC	MC м/з (ncADC)	DAR (ЭИ-МС)
		H1H17760P2-N ₃	146431	4
8	2523.8	H1H17760P-LP8	156533	4
		H1H17761P2	145508	
		H1H17761P2-N ₃	146717	6
8	2523.8	H1H17761P2-LP8	161884 159158	5.34
		H1H27762P2	144371	
		H1H27762P2-N ₃	145177	4
8	2523.8	H1H27762P2-LP8	155294	4
		H1H27766P2	146314	
		H1H27766P2-N ₃	147121	4
8	2523.8	H1H27766P2-LP8	157236	4
		H1H27771P2	145966	
		H1H27771P2-N ₃	146774	4
8	2523.8	H1H27771P2-LP8	156890	4
		H1H27773P2	145533	
		H1H27773P2-N ₃	146337	4
8	2523.8	H1H27773P2-LP8	156453	4
		H1H27778P2	145310	
		H1H27778P2-N ₃	146115	4
8	2523.8	H1H27778P2-LP8	156227	4
		H1H21231N		
		H1H21231N-N ₃	Lot2	2
8	2523.8	H1H21231N-LP8	Lot4	1.9
		H1H21227N		
		H1H21227N-N ₃	Lot2	4
8	2523.8	H1H21227N-LP8	Lot3	3.7
		H1H21231N		
		H1H21231N-N ₃	Lot2	6
8	2523.8	H1H21231N-LP8	Lot3	5.9
		H1H21235N	145487	

LP №	MB (LP)	Ab, Ab-N ₃ или ncADC	MC м/з (ncADC)	DAR (ЭИ-МС)
		H1H21235N-N ₃	146288	4
8	2523.8	H1H21235N-LP8	156390	4.1
		H1H25700N	145484	
		H1H25700N-N ₃	146688	6
8	2523.8	H1H25700N-LP8	161873	6
		H1H25690N	145157	
		H1H25690N-N ₃	145969	4
8	2523.8	H1H25690N-LP8	156060	4.1
		H1H25695N	145736	
		H1H25695N-N ₃	146537	4
8	2523.8	H1H25695N-LP8	156637	3.9
		H1H25685N	145380	
		H1H25685N-N ₃	146582	6
8	2523.8	H1H25685N-LP8	161767	5.8
		H1H21228N	144830	
		H1H21228N-N ₃	145631	4
8	2523.8	H1H21228N-LP8	155732	4.2
		H1H21234N	145790	
		H1H21234N-N ₃	146583	4
8	2523.8	H1H21234N-LP8	156691	4
32	2848.1	H1H21234N-LP32	157983	3.9
15	1313.7	H1H21234N-LP15	151841	3.9
13	2846.2	H1H21234N-LP13	157963	3.9
36	2246.7	H1H21234N-LP36	155570	3.9
39	1597.9	H1H21234N-LP39	152975	3.9
311	1597.0	H1H21234N-LP311	152979	3.9
Fel D1		изотипический контроль-N297Q		
		изотипический контроль-N297Q-N ₃	146251	4
8	2523.8	изотипический контроль-N297Q-LP8	156352	3.9

ПРИМЕР 71

Кинетика связывания конъюгатов анти-MSR1 антитело-лекарственный препарат на основе поверхностного плазмонного резонанса на биосенсоре Biacore

[00588] Описанные здесь антитела MSR1 конъюгировали с различными нагрузками печеночного рецептора X (LXR). Данный пример описывает, каким образом определили значения равновесной константы диссоциации (K_D) для связывания реагентов MSR1 человека с конъюгатами человеческого антитела анти-MSR1 - лекарственный препарат и их соответствующими неконъюгированными исходными антителами с использованием биосенсора Biacore T200, применяющего технологию поверхностного плазмонного резонанса в режиме реального времени.

[00589] Все исследования связывания были проведены в 10 mM HEPES, 300 mM NaCl, 3 mM ЭДТА и 0.05% об/об ПАВ Tween-20, pH 7.4 (HBS-ET) подвижном буфере при 25°C. Сначала поверхность сенсорного чипа Biacore CM4 дериватизировали посредством связывания по амино-группе с козым противочеловеческим Fc γ специфическим поликлональным антителом (Jackson ImmunoResearch Laboratories, кат. № BR-1008-39) для получения моноклональных антител анти-MSR1. Исследования связывания были проведены на внеклеточном домене человеческого MSR1, экспрессированного N-терминальным нонагистиридиновым маркером (His9-hMSR1; R&D Systems, кат. № 2708-MS). Сначала подготовили различные концентрации His9-hMSR1 (100 нМ – 3.7 нМ или 30 нМ – 3.33 нМ; 3-кратное последовательное разведение) в HBS-ET подвижном буфере и затем их ввели на поверхность противочеловеческого Fc γ анти-MSR1 моноклонального антитела в течение 3 минут с расходом в 50 мкл/мин, а диссоциацию связанного с моноклональным антителом MSR1 реагента контролировали в течение приблизительно 8-10 минут в HBS-ET подвижном буфере.

[00590] Уровень ассоциации (k_a) и уровень диссоциации (k_d) определили посредством подстановки сенсограмм связывания в режиме реального времени в модель связывания 1:1 с ограничением массопереноса с использованием программного обеспечения для обработки кривых Scrubber 2.0c. Константу равновесия при диссоциации связывания (K_D) и диссоциативное время полужизни ($t^{1/2}$) рассчитали на основании кинетических параметров следующим образом:

$$K_D (M) = \frac{k_d}{k_a} \text{ и } t^{1/2} (\text{мин}) = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$$

[00591] Параметры кинетики связывания для связывания His9-hMSR1 с различными

конъюгатами анти-MSR1 антитело-LXR и их неконъюгированными антителами при 25°C показаны в Таблице 13. "LP1" представляет собой линкер-нагрузку, для которой структура нагрузки указана в Примере 111a.

Таблица 13. Кинетика связывания для связывания His-hMSR1 с конъюгатами MSR1 антитело-LXR и соответствующими неконъюгированными антителами при 25°C

Захваченное антитело	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (моляр.)	$t_{1/2}$ (мин)
H1H27729P-N297Q	1.05E+05	9.06E-04	8.67E-09	12.8
H1H27729P-N297Q-LP8	5.47E+04	7.18E-04	1.31E-08	16.1
H1H27731P-N297Q	1.17E+05	1.00E-05	8.55E-11	1155.2
H1H27731P-N297Q-LP8	1.28E+05	1.00E-05*	7.80E-11	1155.2
H1H27732P-N297Q	2.20E+05	1.00E-05*	4.50E-11	1155.2
H1H27732P-N297Q-LP8	1.50E+05	1.00E-05*	6.60E-11	1155.2
H1H27734P-N297Q	7.72E+04	5.96E-04	7.72E-09	19.4
H1H27734P-N297Q-LP8	6.93E+04	4.49E-04	6.49E-09	25.7
H1H27736P-N297Q	1.14E+05	1.47E-04	1.29E-09	78.7
H1H27736P-N297Q-LP8	9.59E+04	1.21E-04	1.26E-09	95.5
H1H27739P-N297Q	1.19E+05	5.55E-04	4.68E-09	20.8
H1H27739P-N297Q-LP8	8.88E+04	7.22E-04	8.14E-09	16.0
H1H27747P-N297Q	1.17E+05	2.62E-04	2.24E-09	44.1
H1H27747P-N297Q-LP8	1.36E+05	2.03E-04	1.49E-09	56.9
H1H27749P-N297Q	1.43E+05	1.00E-05*	6.99E-11	1155.2
H1H27749P-N297Q-LP8	1.40E+05	1.00E-05*	7.16E-11	1155.2

Захваченное антитело	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (моляр.)	$t_{1/2}$ (мин)
H1H27751P-N297Q	2.10E+05	1.75E-04	8.33E-10	66.1
H1H27751P-N297Q-LP8	2.29E+05	1.52E-04	6.64E-10	76.1
H1H27754P-N297Q	2.00E+05	1.00E-05*	4.99E-11	1155.2
H1H27754P-N297Q-LP8	1.77E+05	1.00E-05*	5.64E-11	1155.2
H1H27756P-N297Q	7.21E+04	1.19E-04	1.65E-09	97.4
H1H27756P-N297Q-LP8	6.27E+04	1.10E-04	1.76E-09	104.7
H1H27759P-N297Q	1.03E+05	4.35E-04	4.23E-09	26.6
H1H27759P-N297Q-LP8	1.30E+05	5.95E-04	4.57E-09	19.4
H1H27760P-N297Q	2.31E+05	3.83E-04	1.66E-09	30.2
H1H27760P-N297Q-LP8	2.59E+05	4.34E-04	1.67E-09	26.6
H1H27761P-N297Q	5.95E+05	3.62E-04	6.09E-10	31.9
H1H27761P-N297Q-LP8	2.53E+05	5.11E-04	2.02E-09	22.6
H1H27762P-N297Q	4.05E+05	5.60E-04	1.38E-09	20.6
H1H27762P-N297Q-LP8	4.83E+05	6.23E-04	1.29E-09	18.5
H1H27766P-N297Q	1.72E+05	1.00E-05*	5.83E-11	1155.2
H1H27766P-N297Q-LP8	4.16E+05	2.70E-05	6.49E-11	427.4
H1H27771P-N297Q	3.83E+05	3.55E-04	9.26E-10	32.6
H1H27771P-N297Q-LP8	3.38E+05	4.42E-04	1.31E-09	26.1
H1H27773P-N297Q	5.49E+04	7.52E-04	1.37E-08	15.4
H1H27773P-N297Q-LP8	2.72E+04	9.47E-04	3.48E-08	12.2

Захваченное антитело	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (моляр.)	$t_{1/2}$ (мин)
H1H27778P-N297Q	1.66E+05	2.71E-04	1.63E-09	42.6
H1H27778P-N297Q-LP8	2.85E+05	2.76E-04	9.70E-10	41.8
H1H21234N-N297Q	2.20E+05	1.00E-05*	4.54E-11	1155.2
H1H21234N-N297Q-LP8	4.90E+05	1.00E-05*	2.04E-11	1155.2
H1xH29273P2	8.20E+04	7.63E-03	9.30E-08	1.5
H1xH29282P2	8.28E+04	3.62E-03	4.37E-08	3.2
H1xH29283P2	1.39E+05	1.85E-03	1.34E-08	6.2

* показывает, что диссоциация His9-hMSR1 не наблюдалась в данных экспериментальных условиях и k_d значение 1.00E-05 было задано вручную при подборе данных

§ показывает, что в текущих экспериментальных условиях связывание не наблюдалось.

[00592] При 25°C различные конъюгаты анти-MSR1 антитело-LXR связывались с 9xHis-hMSR1 с K_D значениями, варьирующимся от менее или равно 0.6 пМ до 34.8 нМ, а неконъюгированные исходные антитела связывались с 9xHis-hMSR1 с K_D значениями, варьирующимся от менее или равно 0.6 пМ до 13.7 нМ, что показано в Таблице 13.

ПРИМЕР 72

Конъюгаты анти-MSR1 антитело-LXR активируют связывание агониста в биоанализе репортерного гена люциферазы LXR

[00593] Генерация клеточной линии для анализа. Для проверки эффективности конъюгатов fynb-MSR1 антитело-LXR *in vitro* был разработан клеточный- анализ LXR-респонсивного репортерного гена люциферазы. Для создания клеточной линии для анализа LXR-регулируемый репортерный ген люциферазы [набор Signal Lenti LXR Reporter (luc) (Qiagen, кат. № CLS-001L)] трансдуцировали в THP1 клетки, и клеточный отбор проводили в пуромицине в течение двух недель. Лентивирус экспрессирует ген люциферазы светлячка под контролем минимального CMV промотора и tandemных повторов транскрипционного элемента ответа LXR. Полученная клеточная линия называется клетками THP1/LXR-Luc.

[00594] Протокол анализа. Посев клеток THP1/LXR-Luc произвели на 96-луночные

планшеты в объеме 40000 клеток/лунка в среде, содержащей RPMI-раствор, дополненный 10% ФБС и пенициллином/стрептомицином, и в последующем проводили дифференциацию 200 нМ Форбол-миристат-ацетатом (PMA) в течение 3 дней. После 3-дневного периода дифференциации трехкратные последовательные разведения конъюгатов антитело-лекарственный препарат, неконъюгированных антител и свободных нагрузок в свежей среде добавили к клеткам с конечной концентрацией, варьирующейся от 100 нМ до 0.01 нМ. Среда использовали в качестве контроля. Через сорок восемь часов активность люциферазы определили после добавления реагента One-Glo™ (Promega, кат. № E6130) в каждую лунку. Относительные световые единицы (RLU) измерили на люминомере Victor (PerkinElmer), и EC₅₀ значения определили при помощи четырехпараметрического логистического уравнения на 10-точечной кривой доза-эффект (GraphPad Prism). EC₅₀ значение каждого использованного реагента показано в Таблице 14. Отношение сигнал-шум (С/Ш) определили посредством вычисления RLU стандартного одного к RLU стандартных восьми для каждого из неконъюгированных антител анти-MSR1 или свободных нагрузок. "LP#" представляет линкер-нагрузку, для которой в настоящем документе приведены соответствующие структуры, и "P#" и представляет нагрузку, для которой в настоящем документе приведены соответствующие структуры.

Таблица 14. Активность агониста конъюгатов анти-MSR1 антитело-LXR, нагрузок и неконъюгированных антител

Анализируемая молекула	EC ₅₀ (M)	С/Ш
H1H21231N-N297Q-LP8	8.6E-10	14.5
H1H21227N-N297Q-LP8	8.9E-10	31.0
H1H21231N-N297Q-LP8	1.73E-09	38.6
H1H21234N-N297Q-LP8	3.65E-09	18.4
H1H21234N-N297Q-LP15	6.3E-10	9.0
H1H21234N-N297Q-LP13	9.8E-10	9.6
H1H21234N-N297Q-LP36	1.02E-09	9.2
H1H21234N-N297Q-LP39	1.12E-09	8.3
H1H21234N-N297Q-LP311	8.1E-10	10.0
H1H21234N-N297Q-LP32	8.7E-10	9.1
H1H27729N-N297Q-LP8	1.64E-09	14.5
H1H27731N-N297Q-LP8	1.46E-09	15.5

Анализируемая молекула	EC ₅₀ (M)	С/Ш
H1H27732N-N297Q-LP8	8.2E-10	19.1
H1H27734N-N297Q-LP8	5.19E-09	17.8
H1H27736N-N297Q-LP8	1.01E-09	16.4
H1H27739N-N297Q-LP8	1.60E-09	21.0
H1H27747N-N297Q-LP8	4.77E-09	20.6
H1H27749N-N297Q-LP8	1.46E-09	13.1
H1H27751N-N297Q-LP8	1.54E-09	17.9
H1H27754N-N297Q-LP8	1.30E-09	17.3
H1H27756N-N297Q-LP8	1.61E-09	18.6
H1H27759N-N297Q-LP8	5.94E-09	18.9
H1H27760N-N297Q-LP8	6.34E-09	21.5
H1H27761N-N297Q-LP8	5.72E-09	20.7
H1H27762N-N297Q-LP8	7.02E-09	16.4
H1H27766N-N297Q-LP8	1.277E-08	11.3
H1H27771N-N297Q-LP8	2.41E-09	17.3
H1H27773N-N297Q-LP8	>4.05E-08	12.9
H1H27778N-N297Q-LP8	1.51E-09	16.1
H1H21235N-N297Q-LP8	8.3E-10	8.2
H1H25700N-N297Q-LP8	1.13E-09	7.4
H1H25690N-N297Q-LP8	2.5E-10	8.0
H1H25695N-N297Q-LP8	1.87E-09	9.8
H1H25685N-N297Q-LP8	7.8E-10	8.3
изотипический контроль-N297Q-LP8	>6.6E-08	2.7
H1H21234N-N297Q	Нет активации	Нет активации
9d	1.14E-09	15.9
9j	4.6E-10	5.7
9l	2.09E-09	8.9
9o	3.7E-10	8.3

[00595] Как показано в Таблице 14, в 48-часовой временной точке все антитела анти-MSR1, конъюгированные с LP8, продемонстрировали стимулирование клеток THP1/Luc со значениями EC₅₀, варьирующимися от 0.2 нМ до более 140.5 нМ и со значениями С/Ш,

варьирующимися от 7.4 до 38.6. Один типовой конъюгат анти-MSR1 антитело-LXR (H1H21234N-N297Q-LP8) продемонстрировал стимулирование клеток THP1/Luc со значением EC_{50} 3.7 нМ и С/Ш 18.4. Свободная нагрузка, **9d**, продемонстрировала стимулирование клеток THP1/Luc со средним значением EC_{50} в 15.9 нМ. Антитело изотопического контроля, конъюгированное с **LP8** (изотипический контроль-LP8) имело среднее значение EC_{50} >66 нМ и С/Ш 2.7. Кроме того, H1H21234N-N297Q, конъюгированный с дополнительными проанализированными линкер-нагрузками агониста LXR (H1H21234N-N297Q-LP15, H1H21234N-N297Q-LP13, H1H21234N-N297Q-LP36, H1H21234N-N297Q-LP39, H1H21234N-N297Q-LP311 и H1H21234N-N297Q-LP32), продемонстрировал стимулирование клеток THP1/Luc со значениями EC_{50} в диапазоне от 0.63 нМ до более 73 нМ и С/Ш в диапазоне от 1.4 до 10. Дополнительные проанализированные нагрузки агониста LXR (**9j**, **9l** и **9o**) продемонстрировали стимулирование клеток THP1/Luc со значениями EC_{50} в диапазоне от 0.37 нМ до 2.09 нМ и С/Ш в диапазоне от 5.7 до 8.9. Только одно неконъюгированное антитело анти-MSR1 (H1H21234N) никаким образом не влияло на стимулирование клеток THP/Luc.

ПРИМЕР 73

Конъюгаты антитело Anti-MSR1-LXR активируют выделение холестерина в клетках THP-1

[00596] Способность конъюгатов анти-MSR1 антитело-LXR активировать выделение холестерина в человеческой макрофагальной клеточной линии (THP-1; ATCC катал. №TIB-202) проанализировали с использованием флуоресцентного аналога холестерина.

[00597] Если описать анализ вкратце, посев клеток THP-1 произвели на 96-луночные покрытые полилизинном планшеты (Corning, кат. № 354640) в объеме 100000 клеток/луночка в среде RPMI 1640 (Irvine Scientific, кат. № 9160) с содержанием 10% ФБС (Gibco, кат. №1043010), 10 мг/мл пенициллина-стрептомицина (Gibco, кат. № 15140122) и инкубировали в 5% CO₂ при 37 °C. Клетки дифференцировали в макрофаги посредством добавления 100 нМ форбол-12 миристат 13-ацетата (Sigma, кат. № P8139) к среде и подвергли дальнейшей инкубации на протяжении 96 часов. Далее дифференцированные макрофаги инкубировали в среде RPMI 1640 без фенолового красного (Gibco, кат. №32404-014) с содержанием 25 мкМ BODIPY-холестерина (Avanti Polar Lipids, кат. №810255P), 0.2% альбумина бычьей сыворотки (BSA; Sigma кат. № A7211) и 10 мкг/мл пенициллина-стрептомицина в течение 24 часов, с последующим 24-часовым воздействием последовательных разведений, варьирующихся от 1×10^7 М до 5×10^{-14} М свободной нагрузки, конъюгата анти-MSR1 антитело-LXR (H1H21234N-N297Q-LP8),

конъюгата изотипический контроль-LXR (изотипический контроль-N297Q-LP8) и неконъюгированного антитела анти-MSR1 (H1H21234N) в среде RPMI 1640 без фенолового красного с содержанием 0.2% альбумина бычьей сыворотки. Клетки промыли раствором RPMI 1640 без фенолового красного и инкубировали с 100 мкл акцепторной среды с содержанием 50 мкг/мл липопroteина высокой плотности (Millipore кат. №437641), 10 мкг/мл аполипoteина A1 (Millipore, кат. № ALP10) в растворе RPMI 1640 без фенолового красного в течение 5 часов, после чего акцепторную среду собрали и клетки подвергли лизису в 100 мкл в RIPA буфере (Millipore, кат. № 20-188) в течение 2 часов с легким перемешиванием при комнатной температуре. Флуоресценцию в этих фракциях измерили при возбуждении 482 нм, эмиссии 515 нм в планшет-ридере SpectraMax i3 (Molecular Devices).

[00598] Процентную долю выделения BODIPY-холестерина рассчитали при помощи следующей формулы: $\left[\frac{\text{флуоресценция в акцепторной среде}}{\text{флуоресценция в акцепторной среде} + \text{флуоресценция в клеточном лизате}} \right] \times 100$. В Таблице 15 приведено активированное выделение холестерина для проанализированных образцов, а на ФИГ. 15 показаны данные в графическом виде.

Таблица 15. Активация выделения холестерина конъюгатами антитело-LXR и компараторами

Анализируемая молекула	Активация выделения холестерина EC ₅₀ (M)	Максимальное выделение (%)
9d	1.5E-10	36.7
H1H21234N-N297Q-LP8	5.0E-11	36.7
изотипический контроль-N297Q-LP8	> 6.4E-8	30.3
H1H21234N-N297Q	Н/П	18.7

[00599] Как показано в Таблице 15, через 24 часа конъюгат H1H21234N-N297Q-LP8 продемонстрировал максимальное количество выделенного холестерина с максимальным процентным выделением 36.6% и значением EC₅₀ в 50 пМ. Свободная нагрузка 9d продемонстрировала второе по величине количество выделенного холестерина с максимальным процентным выделением 36.6% и значением EC₅₀ в 150 пМ. Конъюгат изотипический контроль-N297Q-LP8 продемонстрировал минимальное количество выделенного холестерина с максимальным процентным выделением в 30.3%. Неконъюгированное антитело, H1H21234N-N297Q, не продемонстрировало доступного

для измерения выделения холестерина.

ПРИМЕР 74

***In vivo* влияние конъюгатов анти-MSR1 антитело-LXR на атеросклероз на модели мыши**

[00600] Влияние конъюгата анти-MSR1 антитело-агонист LXR, H1H21234N-N297Q-LP8, на развитие атеросклероза оценили *in vivo* у мыши, гомозиготной для экспрессии внеклеточного домена MSR1 человека вместо внеклеточного домена MSR1 мыши и гомозиготного для делеции *apoE* гена (называемого здесь *Msr1^{hu/hu} ApoE^{-/-}* мыши).

[00601] У *Msr1^{hu/hu} ApoE^{-/-}* мышей предварительно выполняли забор крови за 6 дней до начала эксперимента после 4-часового голодания, а затем их перевели на атерогенную западную диету (Research Diets, кат. № 106452). Мышей разделили на группы (n=7-9 в каждой группе) на основании их исходных значений триглицеридов (TG) и холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C). MSR1 антитело (H1H21234N-N297Q) или конъюгат MSR1 антитело-LXR агонист (H1H21234N-N297Q-LP8) вводили путем еженедельных подкожных инъекций с дозировкой 25 мг/кг (на основании концентрации антител), начиная с дня 0 в течение 16 недель. Забор сыворотки крови производили на 4, 8 и 16 неделе исследования после 4-часового голодания для анализа липидов сыворотки крови с помощью системы AdviaXPT Chemistry System (Siemens). Средние значения липидов сыворотки крови рассчитали для каждой временной точки. Результаты, выраженные как (среднее ± стандартная погрешность среднего), показаны на ФИГ. 16. ФИГ. 16 показывает, что введение конъюгата MSR1 антитело-LXR агонист H1H21234N-N297Q-LP8 не оказало влияния на уровни липидов сыворотки крови.

[00602] Мышей умертвили в конце исследования в условиях не натощак через 6 дней после последней инъекции антитела MSR1 или ncADC MSR1 антитело-LXR агонист и извлекли их сердца и печени. Сердца поместили в среду OCT и выполнили разрез перпендикулярно оси аорты, начиная внутри сердца и двигаясь в направлении дуги аорты. После идентификации корня аорты при помощи створок аортального клапана сделали последовательные поперечные срезы (толщиной 12 мкм) и поместили их на слайды (VWR International, кат. №16004-406). Эти срезы окрасили гематоксилином и эозином, красителем липидов масляным красным O и антителом анти-CD68 крысы (Abcam, кат. № ab201844) для идентификации макрофагов для анализа. Для сканирования слайдов и получения изображений использовали сканнер слайдов Aperio AT2 (Leica Biosystems, Иллинойс). Для каждой мыши липидную площадь измерили при помощи

программного обеспечения HALO (Indica Labs, Нью-Мексико) в 7 последовательных поперечных срезах на основании окрашивания масляным красным O, и в последующем при помощи этих измерений рассчитали среднюю общую площадь повреждения на мышь. Все измерения проводил аналитик, от которого были скрыты группы лечения. Результаты, выраженные как (среднее $\pm$ стандартная погрешность среднего), показаны на ФИГ. 17А. На ФИГ. 17А показано, что введение конъюгата MSR1 антитело-LXR агонист H1H21234N-N297Q-LP8 обусловило уменьшение площади атеросклеротического повреждения.

[00603] Кроме того, окрашенные гематоксилином и эозином слайды использовали для вычисления соотношения интима/медиа, которое представляет нормализованное значение размера бляшки. Внутренние и наружные эластические пластинки медиа артерии и площади просветов измерили в 7 последовательных поперечных срезах для каждой мыши с использованием окрашенных гематоксилином и эозином срезов, и для каждой мыши рассчитали средние значения. Соотношение интима/медиа рассчитали при помощи уравнения:

$$\text{Соотношение интима/медиа} = (\text{Площадь внутренних эластических пластинок} - \text{Площадь просвета}) / (\text{Площадь наружных эластических пластинок} - \text{Площадь внутренних эластических пластинок})$$

Результаты, выраженные как (среднее $\pm$ стандартная погрешность среднего), показаны на ФИГ. 17В.

[00604] Макрофагальное содержание в срезах измерили при использовании слайдов, окрашенных антителом анти-CD68 крысы. Для каждой мыши макрофаг-положительную площадь измерили посредством программного обеспечения HALO в минимум 5 последовательных поперечных срезах, а при помощи этих измерений рассчитали среднее значение общего содержания макрофагов на мышь. Результаты, выраженные как (среднее $\pm$ стандартная погрешность среднего), показаны на ФИГ. 17С. На ФИГ. 17С показано, что введение конъюгата MSR1 антитело-LXR агонист H1H21234N-N297Q-LP8 обусловило снижение содержания макрофагов.

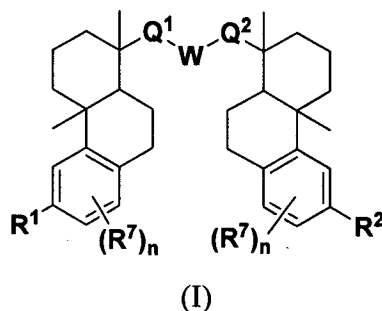
[00605] Печень мышей использовали для количественной ПЦР с детекцией в реальном времени и экстракции липидов. По одной части печени от каждой мыши поместили в RNeasy lysis buffer (Qiagen, кат. № 19043) для экстракции РНК и затем экспрессию липогенных генов (*Srebf1*, *Acc*, *Fasn*) для оценки *de novo* липогенеза проанализировали посредством количественной ПЦР с детекцией в реальном времени с использованием стандартных способов. Результаты, выраженные как (среднее $\pm$ стандартная погрешность

среднего), показаны на ФИГ. 18. ФИГ. 18 показывает, что введение конъюгата MSR1 антитело-LXR агонист H1H21234N-N297Q-LP8 не оказывает влияния на уровни триглицеридов или холестерина в печени.

[00606] Липиды экстрагировали из второго фрагмента печени от каждой мыши методом Фолша и солюбилизировали методом Карра. Уровни TG, общего и свободного холестерина измерили посредством ферментного анализа для детекции (Teco Diagnostics, кат. № T532-480 (TG); Thermo Fisher Scientific, кат. № TR13421 (общий холестерин); Waco Diagnostics, кат. № 993-02501 (свободный холестерин)) и нормализовали по сырому весу тканей. Результаты, выраженные как (среднее $\pm$ стандартная погрешность среднего), показаны на ФИГ. 19. ФИГ. 19 показывает, что введение конъюгата MSR1 антитело-LXR агонист H1H21234N-N297Q-LP8 не оказывает влияния на *de novo* липогенез в печени.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение Формулы (I):



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма, где в каждом случае Q^1 и Q^2 независимо означает $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$, $-C(OH)_2-$, $-SO_2-$, $-SO-$, $-PO(OR^{11})-$, $-PO(NR^{11}NR^{12})-$, $-NR^{11}-$ или $-N=$;

W означает $-CH_2-$, $-N(H)-$ или $-O-$;

R^1 независимо означает $-H$, $-OR^6$, $-OH$, $-NH_2$, алкил или $-OP(O)(OR^6)_2$;

R^2 независимо означает $-H$, $-OH$, $-OR^{11}$, галогенид, $-SO_2NR^{11}R^{12}$, $-CONR^{11}R^{12}$, $-CH_2NH_2$, R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$;

где R^1 и R^2 одновременно не означают $-H$;

R^3 означает $-N(R^6)_2$;

R^4 означает $-X-Y-Z$;

X выбирается из группы, состоящей из $-O-$ и $-N(H)-$;

Y выбирается из группы, состоящей из алкилена, замещенного алкилена (включая оксо, т.е. $=O$ замещение), гетероалкилена и замещенного гетероалкилена;

Z выбирается из группы, состоящей из $-OH$ и $-NH_2$;

R^5 означает алкил, гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил, где в каждом случае гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил содержит один, два или три гетероатома, выбранных из азота и кислорода, и включает минимум один $-OH$ и $-CH_2OH$ или минимум один первичный или вторичный азот;

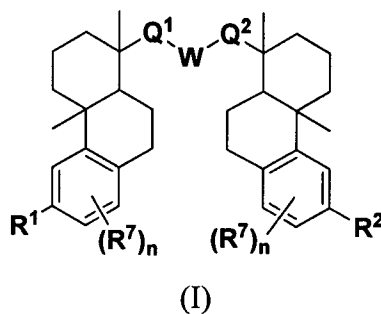
в каждом случае R^6 независимо означает в каждом примере $-H$, аминокислотный остаток, N -алкильный аминокислотный остаток, пептид, биоразлагаемый фрагмент или алкил;

в каждом случае R^7 независимо означает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-CN$, O -глюкозу,

О-аминокислотный остаток и О-PEG_n, где в каждом случае *n* означает целое число от 0 до 3; и

в каждом случае **R**¹¹ и **R**¹² независимо означают –H, алкил и арил.

2. Соединение по п. 1 в соответствии с Формулой I:



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма, где

в каждом случае **Q**¹ и **Q**² независимо означает –CH₂–, –C(O)–, –C(H)(OH)– или –C(OH)₂–;

W означает –CH₂–, –N(H)– или –O–;

R¹ независимо означает –H, –OH, –NH₂, алкил или –OP(O)(OR⁶)₂;

R² независимо означает –H, –OH, –CH₂NH₂, **R**³, **R**⁴, **R**⁵ или –O–**R**⁵;

где **R**¹ и **R**² одновременно не означают –H;

R³ означает –N(**R**⁶)₂;

R⁴ означает –X–Y–Z;

X выбирается из группы, состоящей из –O– и –N(H)–;

Y выбирается из группы, состоящей из алкилена, замещенного алкилена (включая оксо, т.е. =O замещение), гетероалкилена и замещенного гетероалкилена;

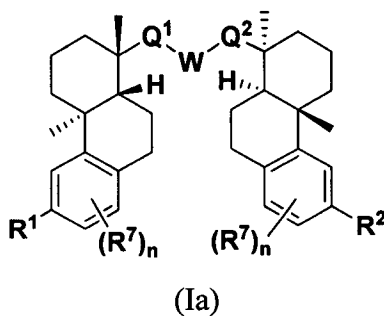
Z выбирается из группы, состоящей из –OH и –NH₂;

R⁵ означает алкил, гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил, где в каждом случае гетероциклоалкил или замещенный гетероциклоалкил содержит один, два или три гетероатома, выбранных из азота и кислорода, и включает минимум один –OH и –CH₂OH или минимум один первичный или вторичный азот;

в каждом случае **R**⁶ независимо в каждом примере означает –H, аминокислотный остаток, *N*-алкильный аминокислотный остаток, пептид или алкил; и

в каждом случае R^7 независимо означает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-CN$, O -глюкозу, O -аминокислотный остаток и $O-PEG_n$, где в каждом случае n означает целое число от 0 до 3.

3. Соединение по п. 1 в соответствии с Формулой Ia:



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма.

4. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где Q^1 означает $-CH_2-$ и Q^2 означает $-C(O)-$.

5. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где Q^1 означает $-C(H)(OH)-$ и Q^2 означает $-C(O)-$.

6. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где Q^1 означает $-C(O)-$ и Q^2 означает $-C(O)-$.

7. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где Q^1 означает $-C(O)-$ и Q^2 означает $-CH_2-$.

8. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где Q^1 означает $-C(O)-$ и Q^2 означает $-C(H)(OH)-$.

9. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где W означает $-CH_2-$.

10. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где W означает $-O-$.

11. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где W означает $-NH-$.

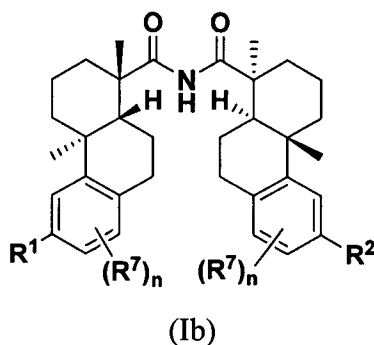
12. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^1 означает $-H$ и R^2 означает R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$.

13. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^1 означает $-OH$ и R^2 означает R^3 , R^4 , R^5 или $-O-R^5$.

14. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^1 означает $-OH$ или

$-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)(\text{OH})$ и R^2 означает $-\text{H}$.

15. Соединение по п. 1 в соответствии с Формулой Ib:



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма.

16. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^1 означает $-\text{OH}$.

17. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^2 означает $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{Z}$ и n является целым числом от 1 до 4.

18. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^2 означает $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$ и n является целым числом от 1 до 4.

19. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^2 означает $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})-(\text{CRR})_n-\text{NH}_2$; в каждом случае R означает $-\text{H}$, $-\text{OH}$ или $-\text{CH}_2\text{OH}$; и n является целым числом от 1 до 4.

20. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^2 означает N -пиперазинил.

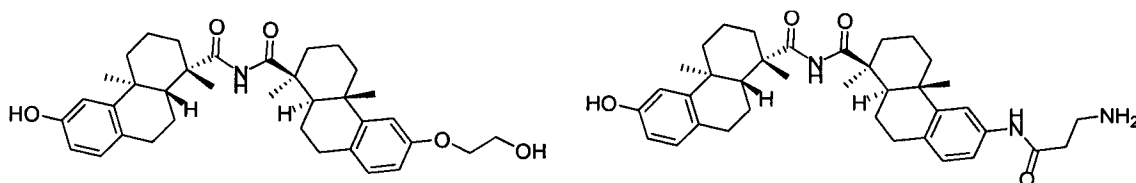
21. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^2 означает $-\text{N}(\text{R}^6)_2$.

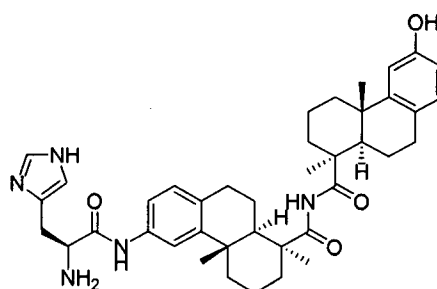
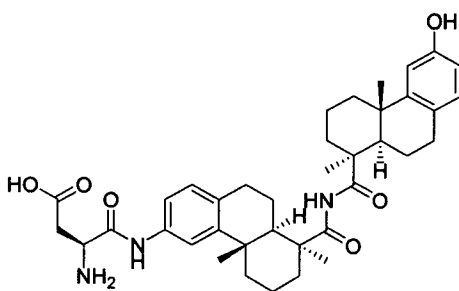
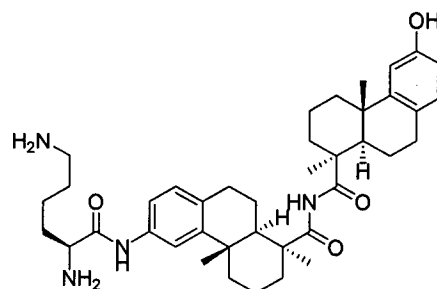
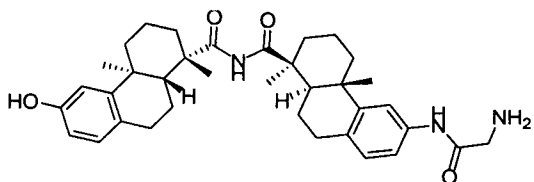
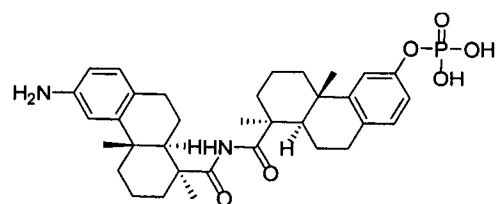
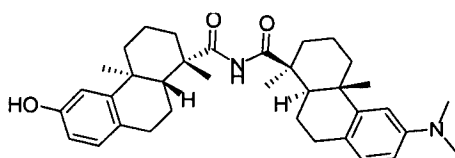
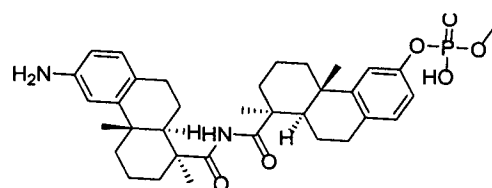
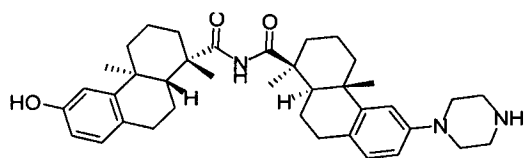
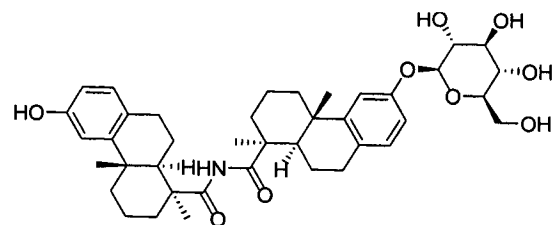
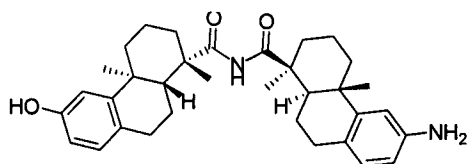
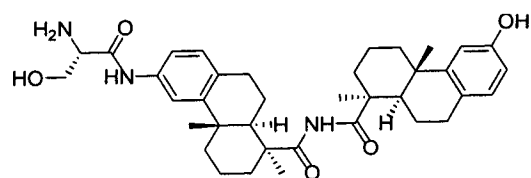
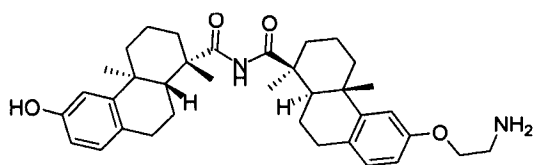
22. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^2 означает N -серинил.

23. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^2 означает O -гликозил.

24. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где R^1 означает $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)(\text{OH})$ и R^2 означает $-\text{NH}_2$.

25. Соединение по п. 1 формулы изобретения, выбранное из группы, состоящей из:





и

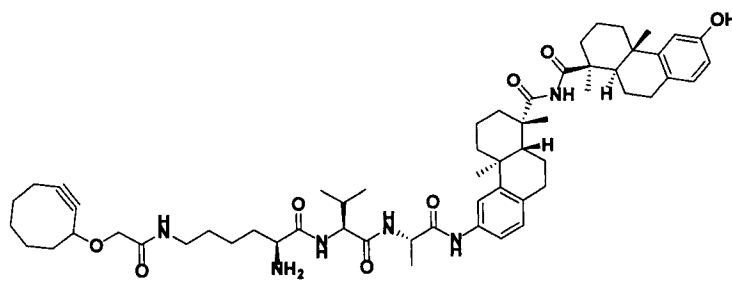
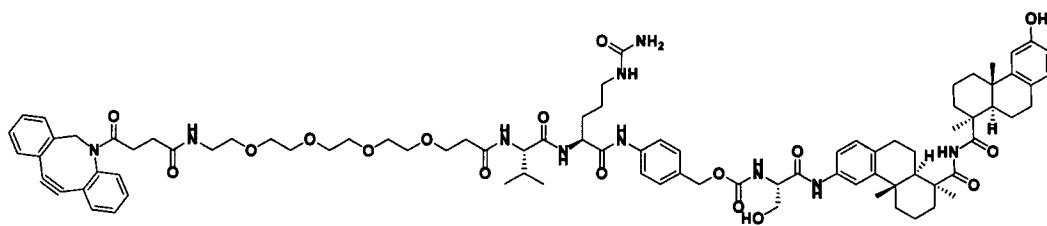
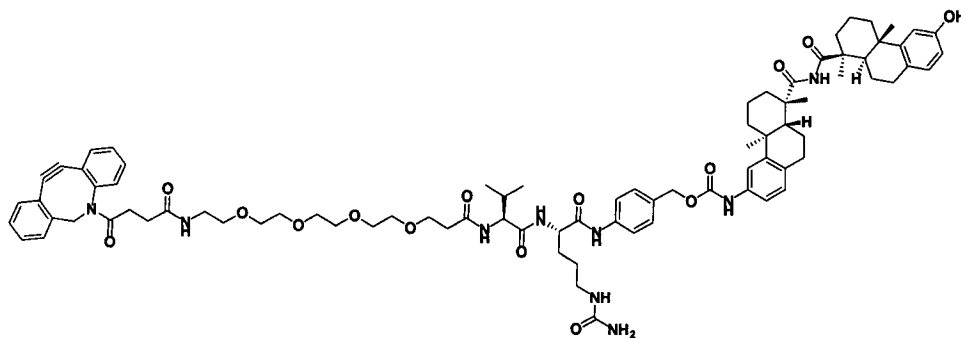
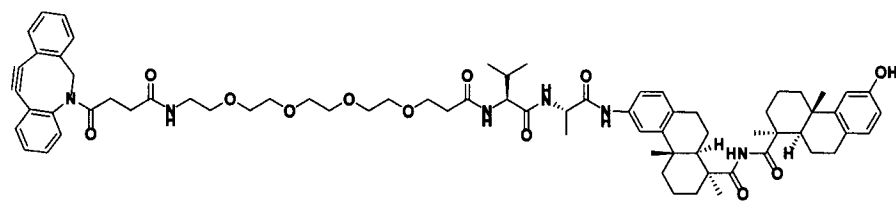
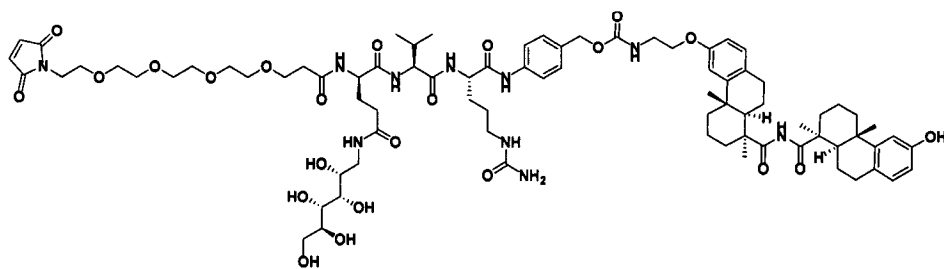
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма.

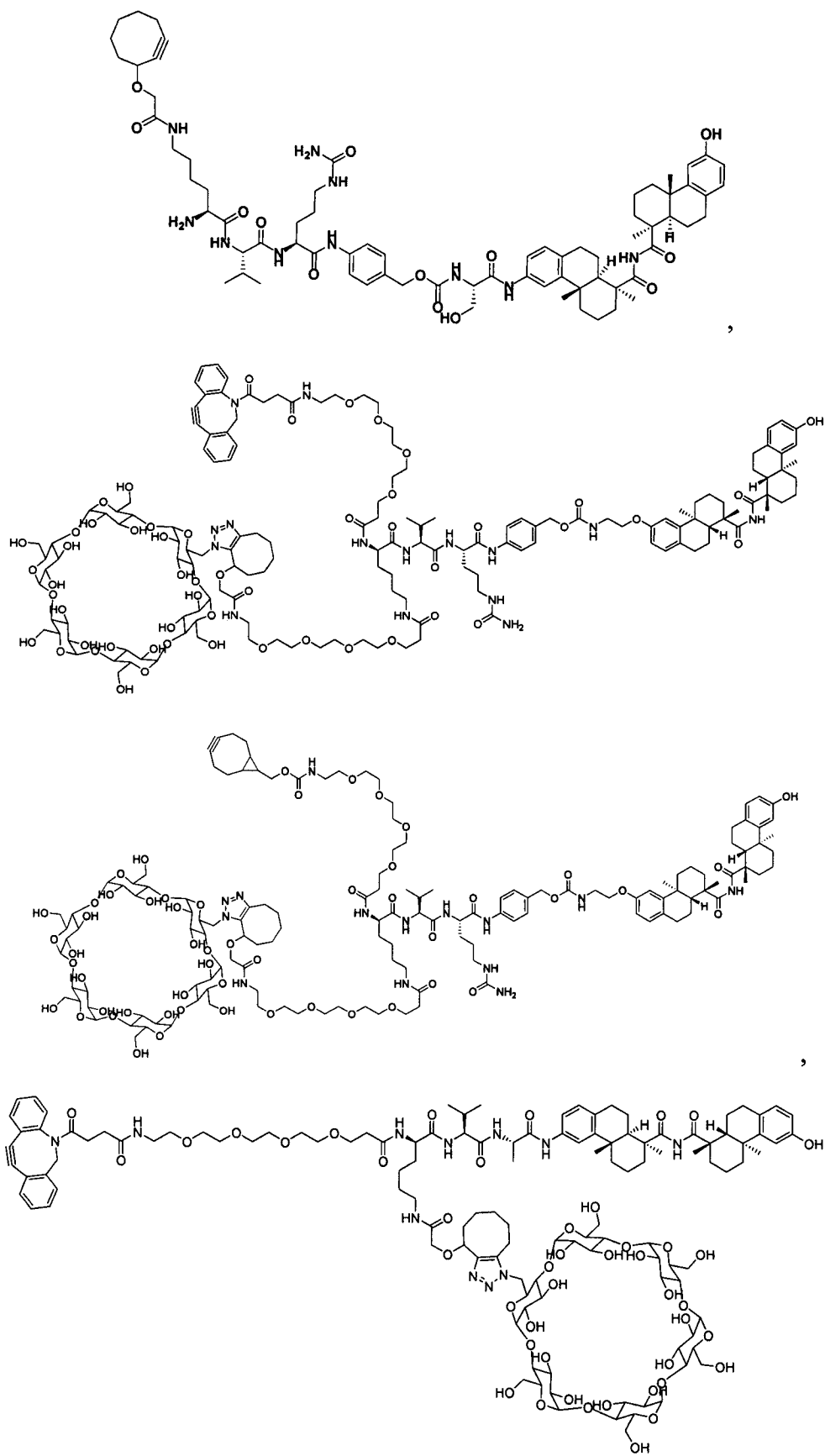
26. Линкер-нагрузка, содержащая соединение любого из предшествующих пунктов, связанное с линкером.

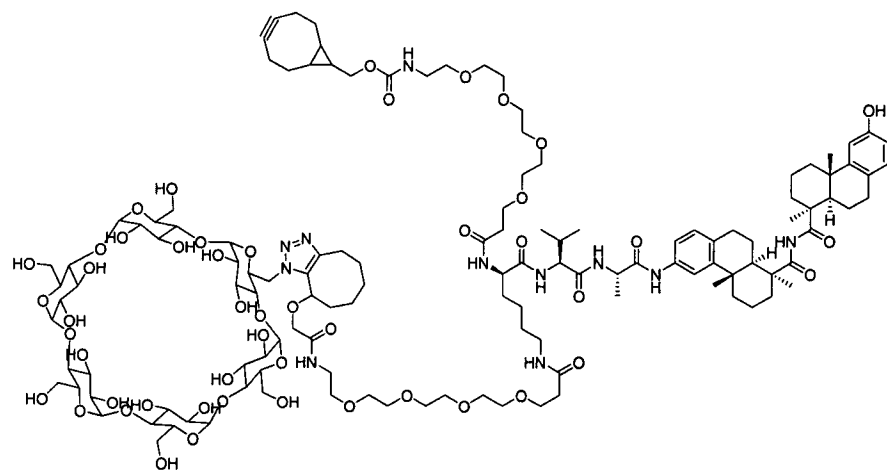
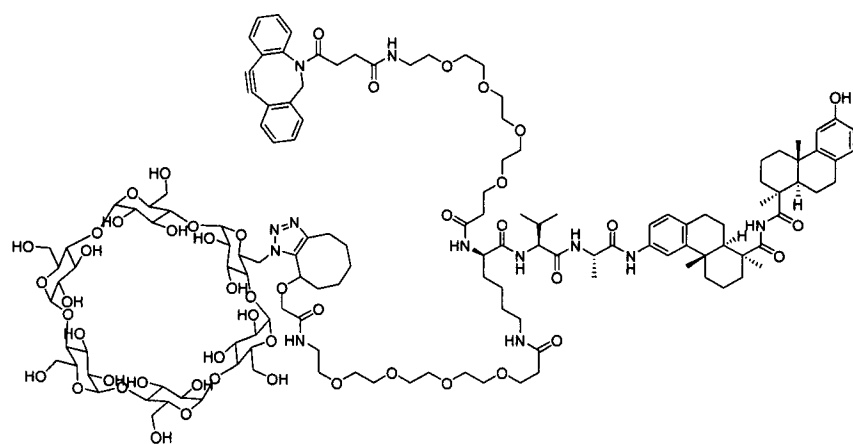
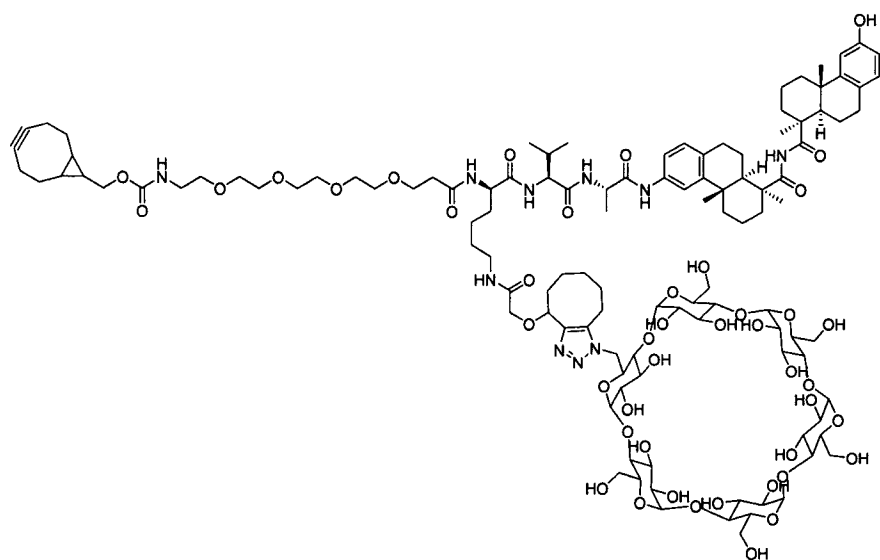
27. Линкер-нагрузка по предшествующему пункту, где линкер связан с кислородом

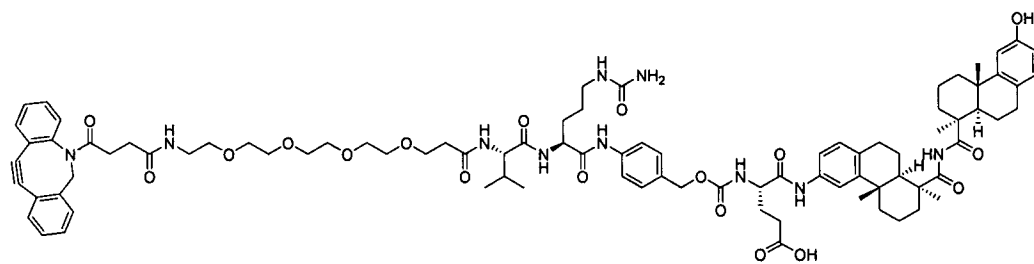
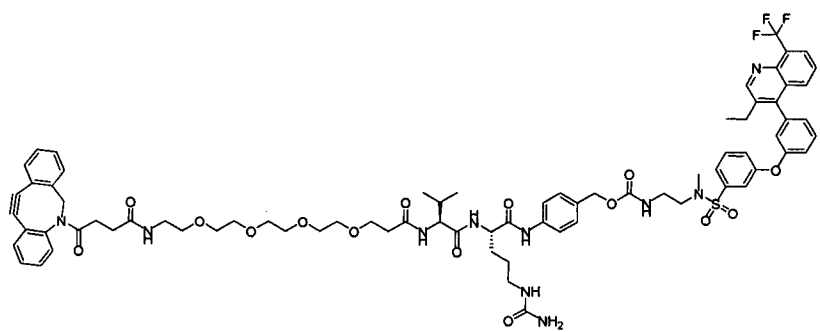
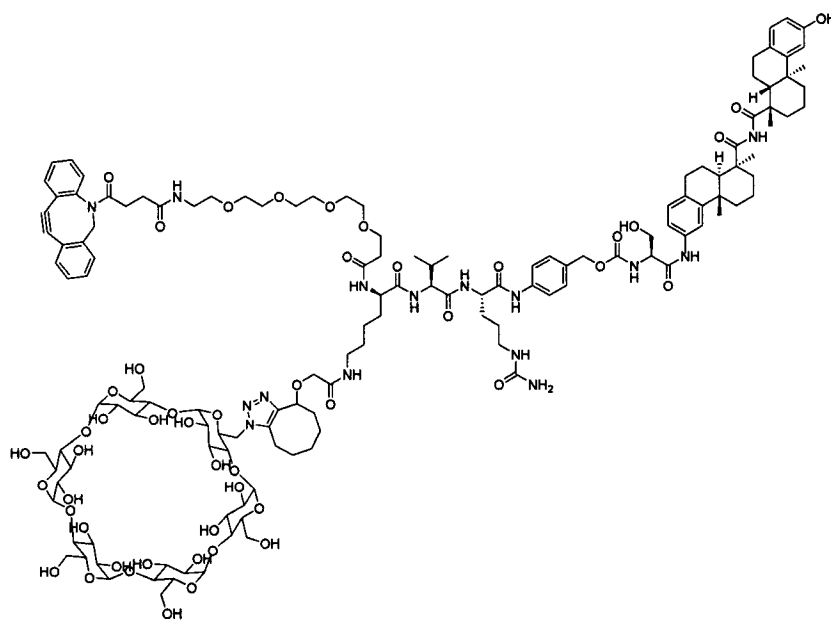
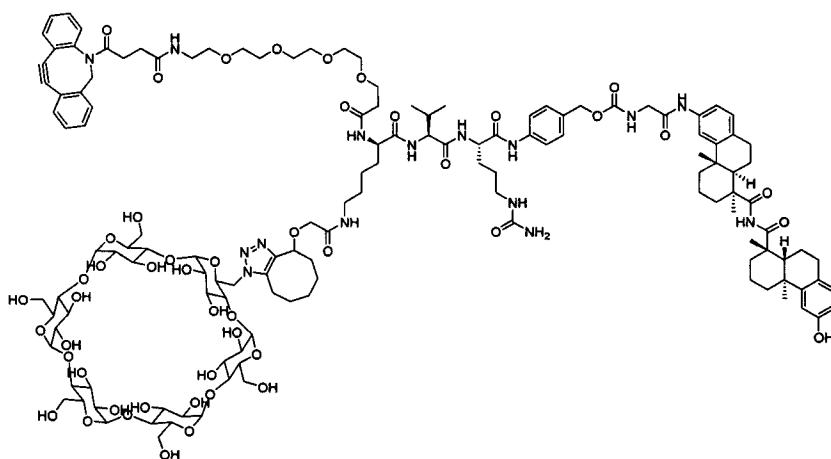
или с первичным или вторичным азотом соединения предшествующих пунктов.

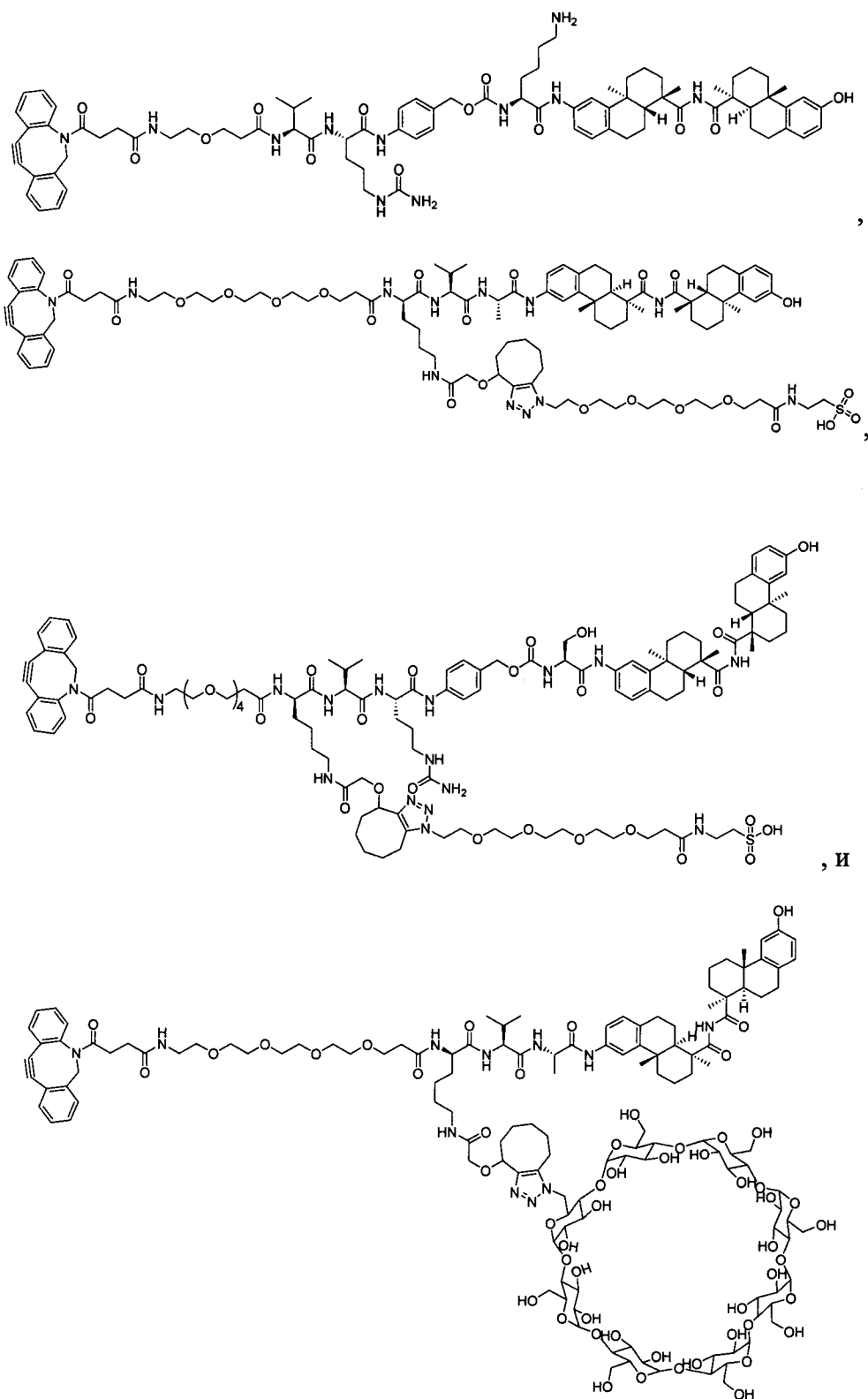
28. Линкер-нагрузка по п.п. 26 или 27, выбранная из группы, состоящей из





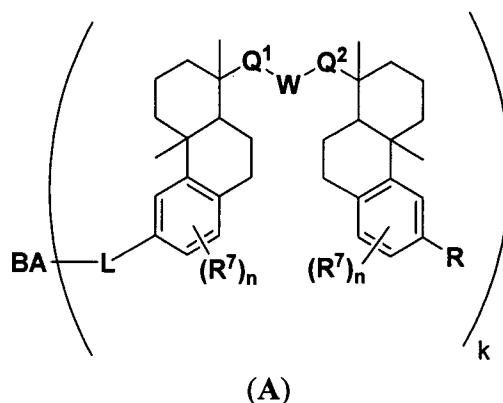






29. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий соединение или линкер-нагрузку по любому из предшествующих пунктов, связанных с антителом или его антиген-связывающим фрагментом.

30. Соединение Формулы А:



или его фармацевтически приемлемая соль или стереоизометрическая форма, где

L означает линкер;

BA означает связывающий агент;

k является целым числом от 1 до 30;

в каждом случае **Q¹** и **Q²** независимо означает $-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$ или $-\text{C}(\text{OH})_2-$;

W означает $-\text{CH}_2-$, $-\text{N}(\text{H})-$ или $-\text{O}-$;

R независимо означает $-\text{H}$, $-\text{OH}$ или $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^6)(\text{OH})$; и

в каждом случае **R⁶** независимо означает в каждом примере $-\text{H}$, аминокислотный остаток, пептид или алкил; и

в каждом случае **R⁷** независимо означает гало, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, $-\text{CN}$, O -глюкозу, O -аминокислотный остаток и O - PEG_n , где в каждом случае **n** означает целое число от 0 до 3.

31. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение, линкер-нагрузку или конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из предшествующих пунктов и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, носитель или разбавитель.

32. Способ лечения дислипидемии, нарушения метаболизма, воспаления или нейродегенеративного заболевания у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов.

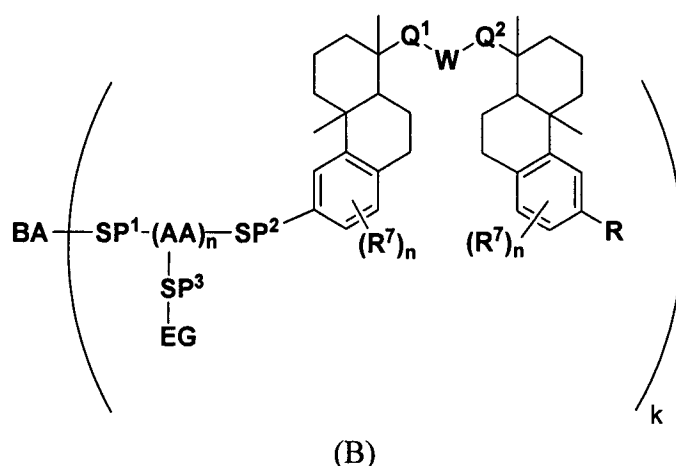
33. Способ лечения дислипидемии у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов.

34. Способ лечения нарушения метаболизма у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов.

35. Способ лечения воспаления у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов.

36. Способ лечения нейродегенеративного заболевания у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов.

37. Соединение по п. 30 с Формулой (B)



либо его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизометрическая форма либо его региоизомер, где:

в каждом случае SP^1 , SP^2 и SP^3 означает спейсерную группу, где SP^3 связан с одной AA из $(AA)_n$;

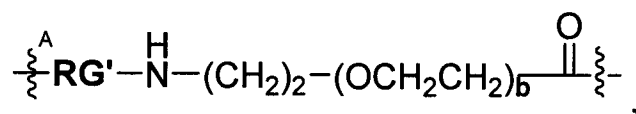
в каждом случае AA означает аминокислоту;

n является целым числом от 1 до 10; и

EG означает усиливающий агент.

38. Соединение по п.37, где

SP^1 спейсер - это:



где RG' означает остаток реактивной группы после реакции реактивной группы RG со

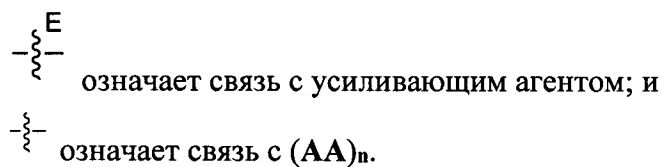
связывающим агентом, $\begin{array}{c} \text{A} \\ \text{---} \end{array}$ означает связь, прямую или опосредованную, со связывающим агентом, и b является целым числом от 1 до 4;

$(AA)_n - SP^2$ означает $-\text{NH}$ -лизин-валин-аланин- $\text{NH}-$.

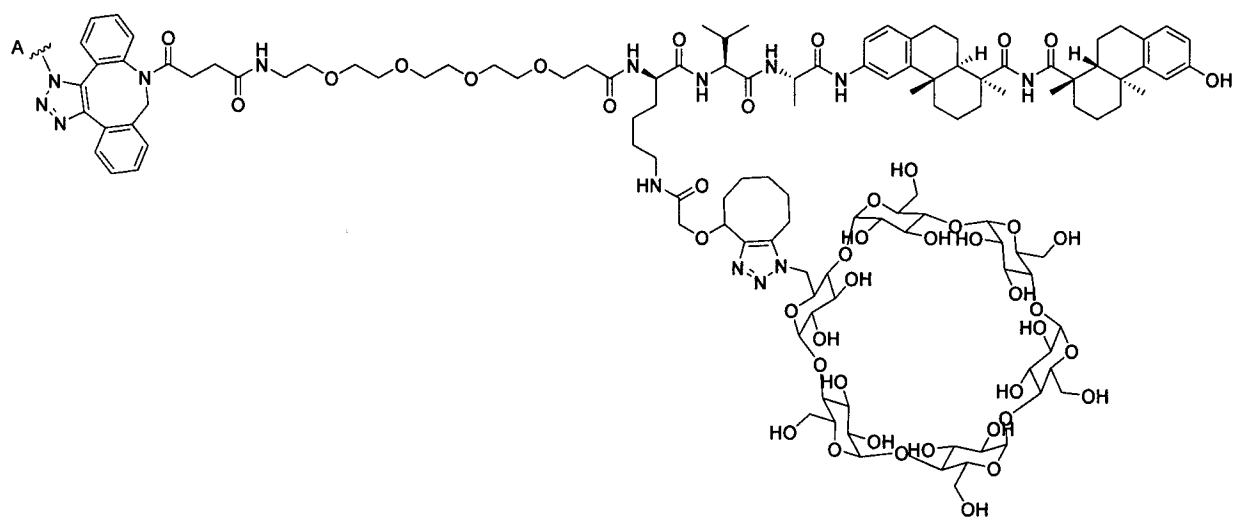
SP^3 спейсер - это:



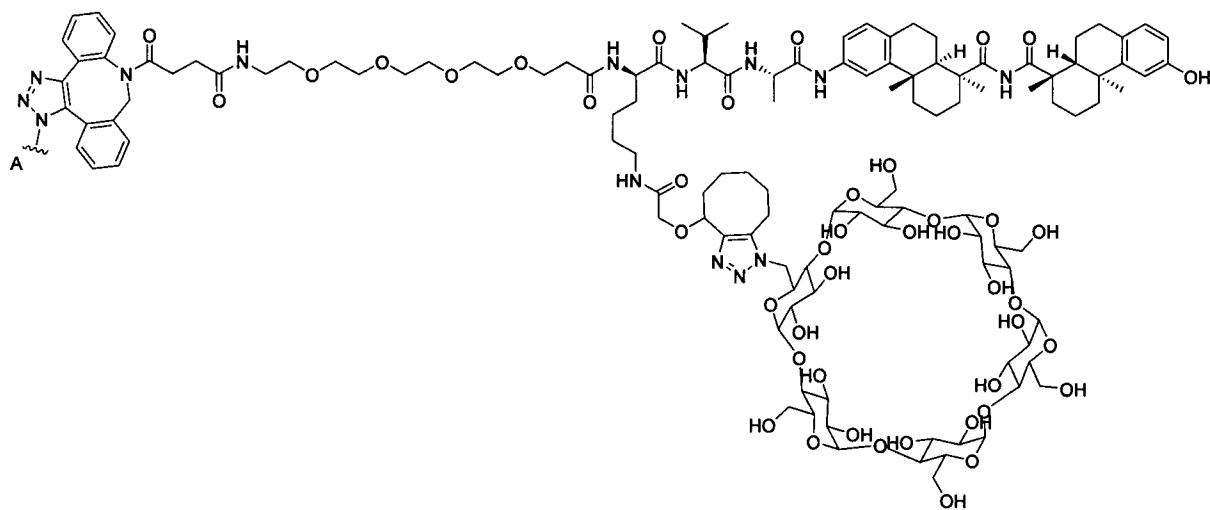
где **RG'** означает остаток реактивной группы после реакции реактивной группы **RG** с усиливающим агентом **EG**;



39. Соединение по любому из пунктов 30 или 37-38, где соединение выбирается из группы, состоящей из,

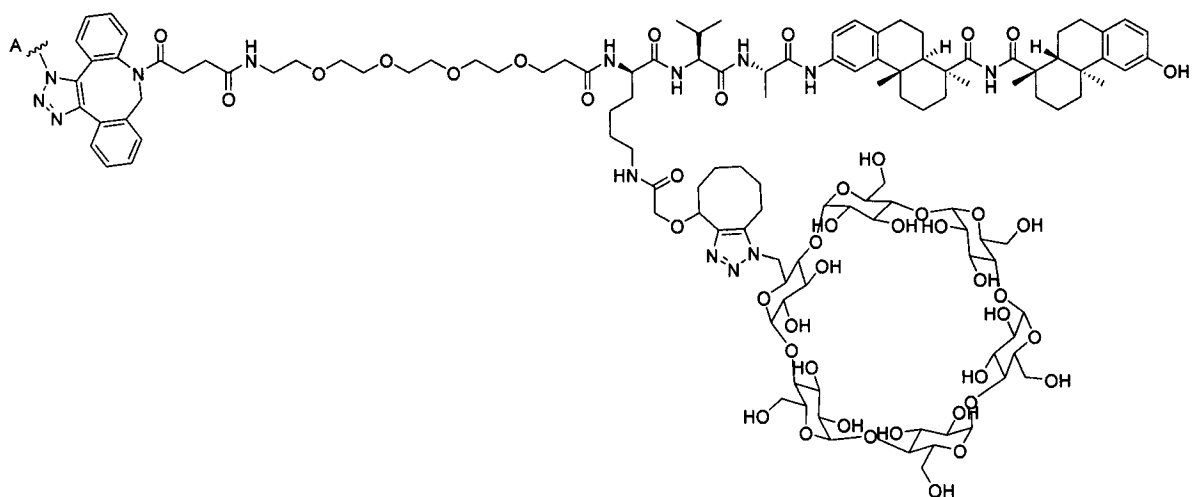


и



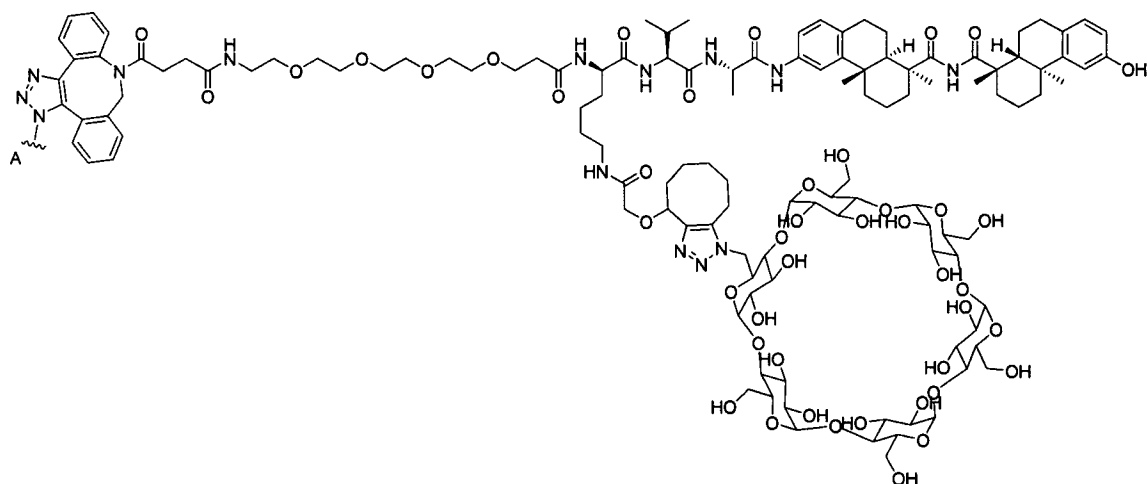
где в каждом случае $\begin{array}{c} \text{A} \\ | \\ \text{---} \end{array}$ означает связь, прямую или опосредованную, со связывающим агентом.

40. Соединение по п.39, где соединение представляет собой



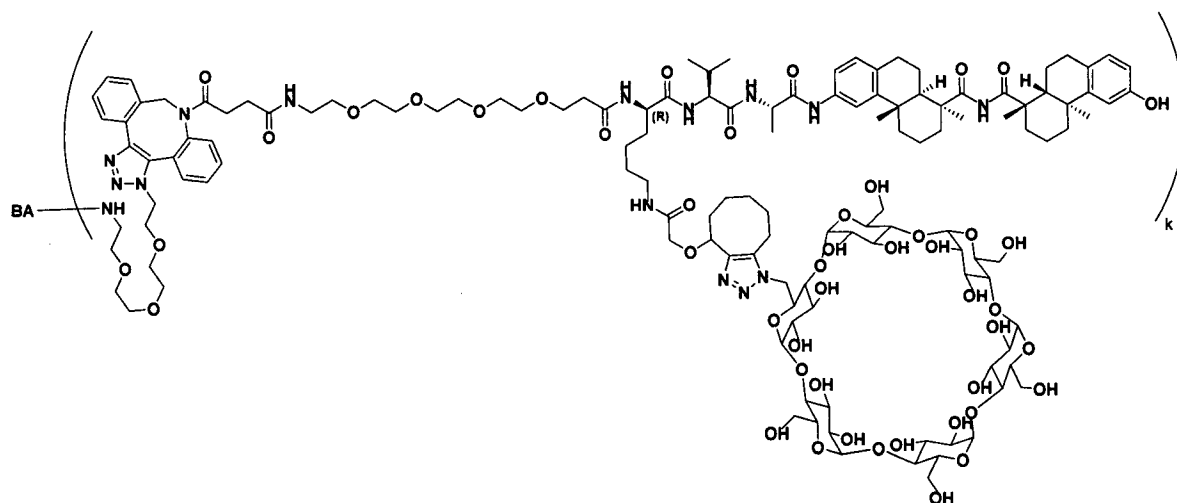
где $\overset{A}{\sim}$ означает связь, прямую или опосредованную, со связывающим агентом.

41. Соединение по п. 39, где соединение представляет собой

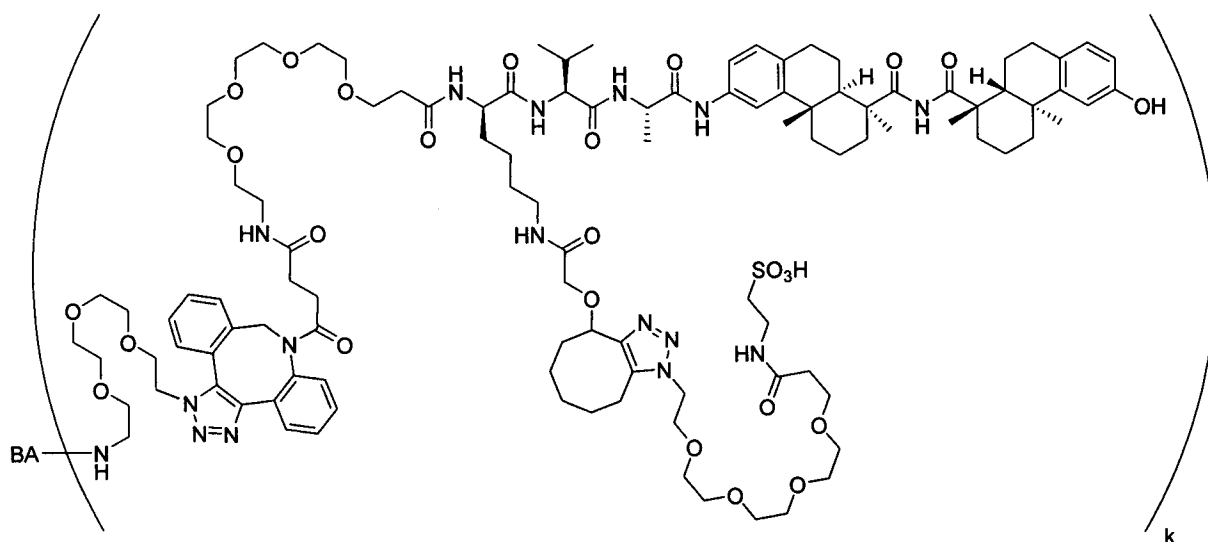


где $\overset{A}{\sim}$ означает связь, прямую или опосредованную, со связывающим агентом.

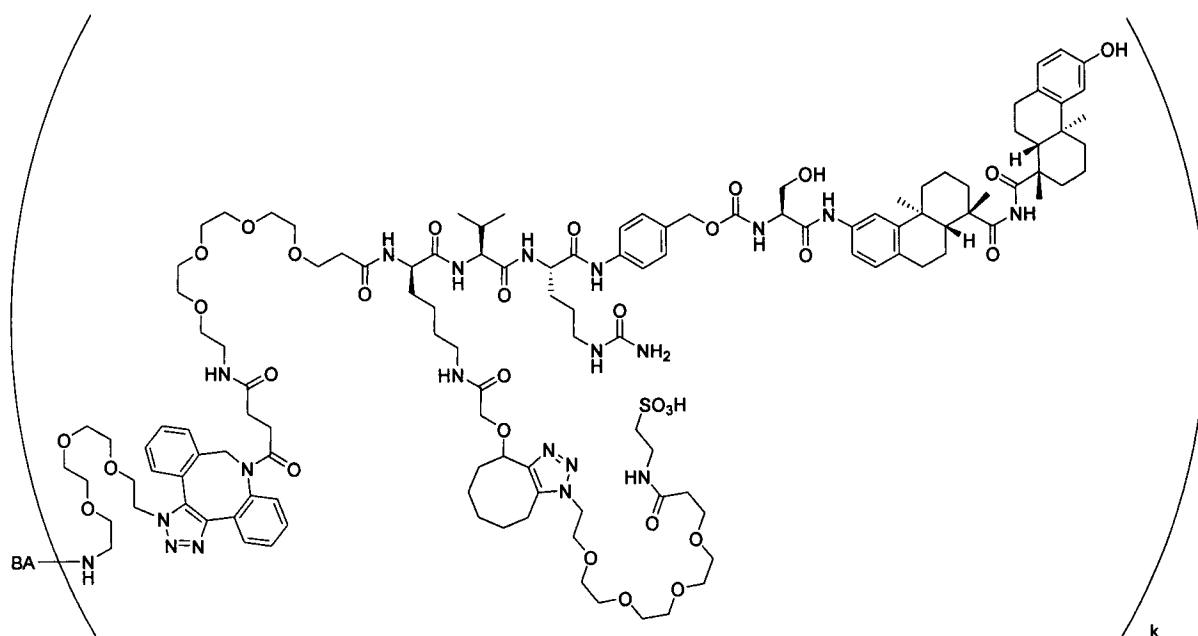
42. Соединение по любому из пунктов 37-38, где соединение представляет собой



43. Соединение по любому из пунктов 37-38, где соединение представляет собой



44. Соединение по любому из пунктов 37-38, где соединение представляет собой



45. Соединение по п. 42, где связывающим агентом является антитело или его антиген-связывающий фрагмент.

46. Соединение по п.42, где k является целым числом от 1 до 4.

47. Соединение по п. 42, где связывающим агентом является антитело или его антиген-связывающий фрагмент, который связывает HER2.

48. Соединение по п. 42, где связывающим агентом является антитело или его антиген-связывающий фрагмент, который связывает PRLR.

49. Соединение по п.42, где связывающим агентом является антитело или его антиген-связывающий фрагмент, и конъюгация происходит через, по крайней мере, один

остаток Q295.

50. Соединение по п. 42, где связывающим агентом является антитело или его антиген-связывающий фрагмент, и конъюгация происходит через два остатка Q295.

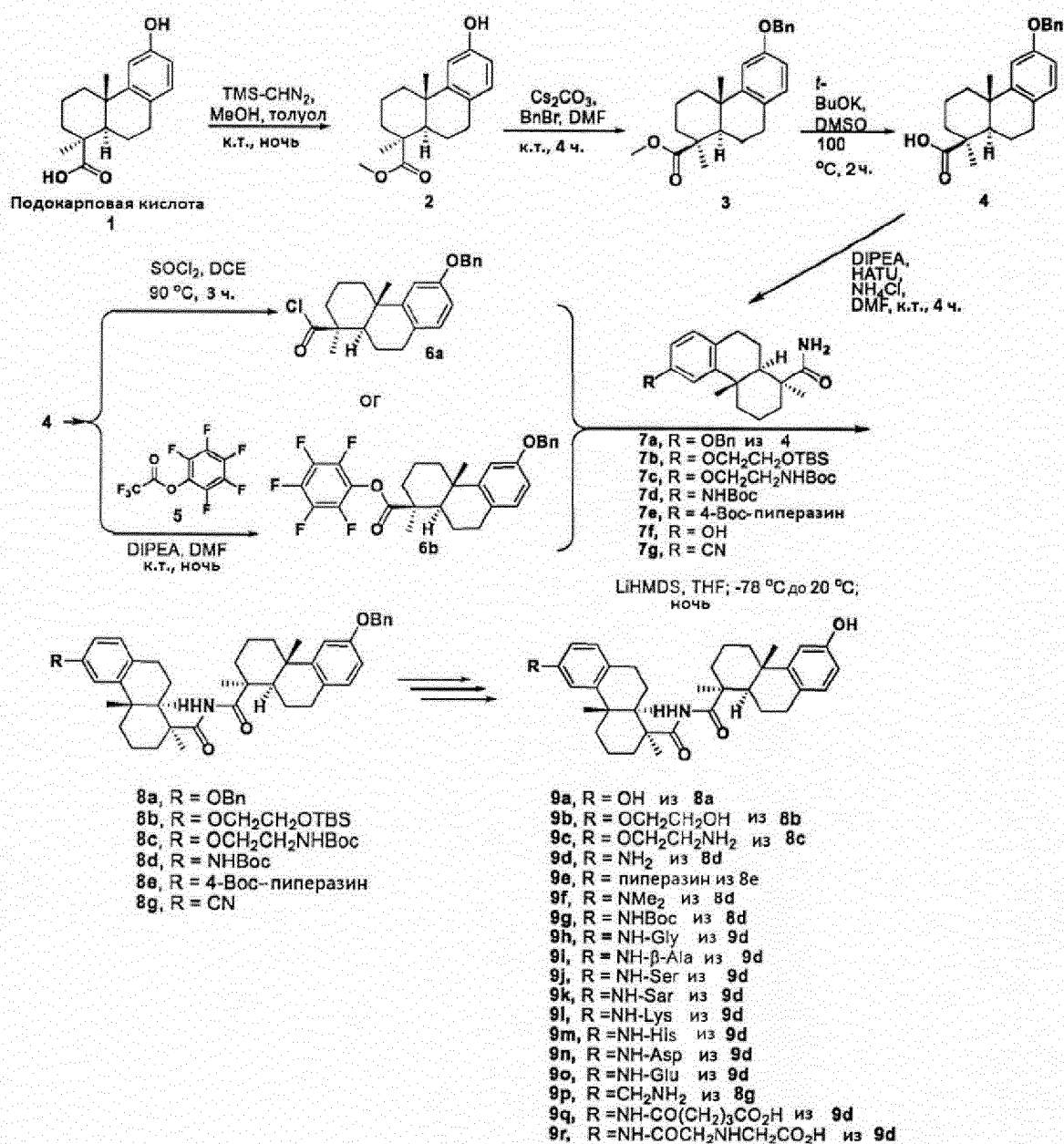
51. Соединение по п. 42, где связывающим агентом является антитело N297Q или его антиген-связывающий фрагмент.

52. Соединение по п. 42, где связывающим агентом является антитело N297Q или его антиген-связывающий фрагмент, и конъюгация происходит через, по меньшей мере, один остаток Q295 и, по меньшей мере, один остаток Q297.

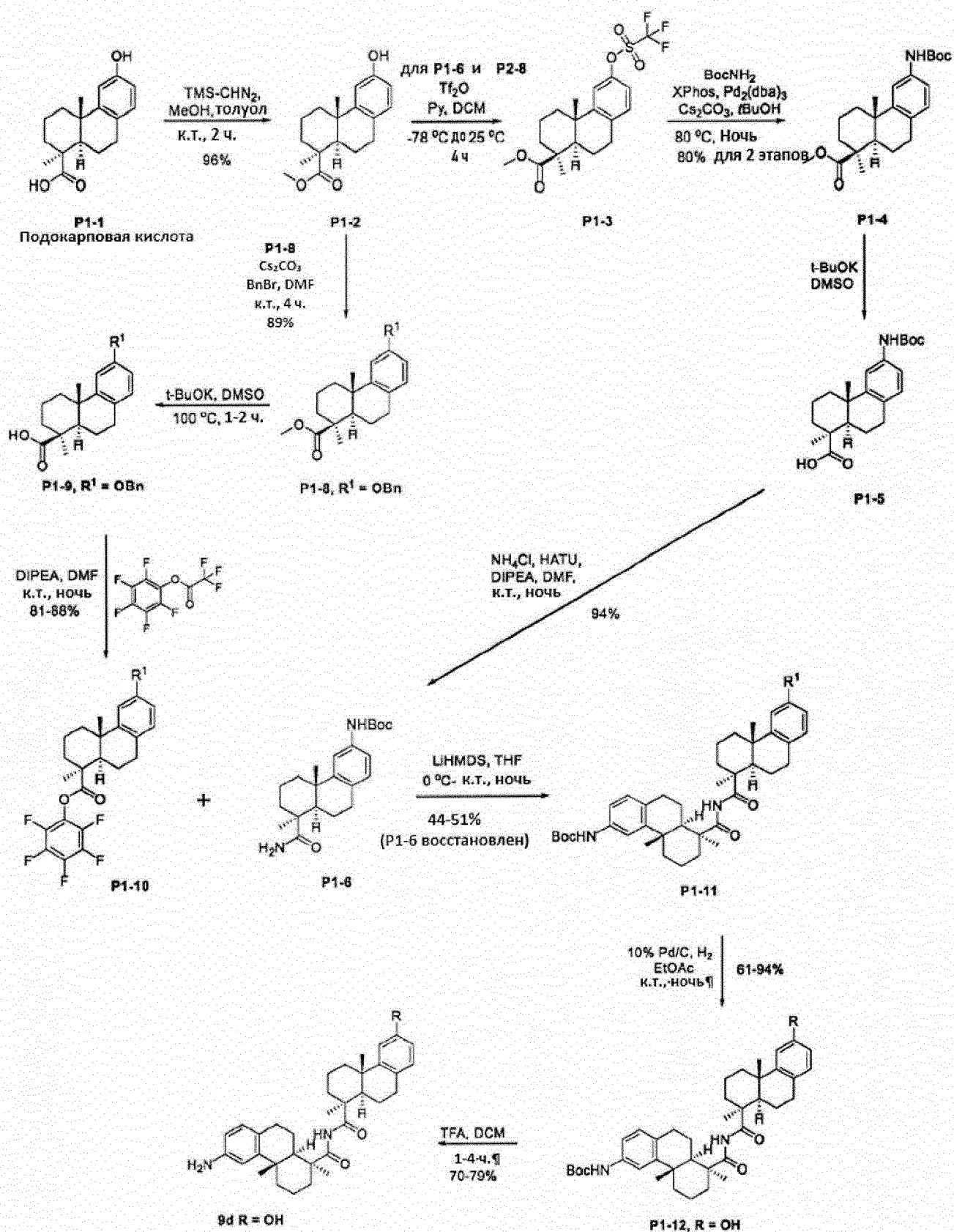
53. Соединение по п. 42, где связывающим агентом является антитело N297Q или его антиген-связывающий фрагмент, и конъюгация происходит через два остатка Q295 и два остатка Q297.

ФИГ.1.

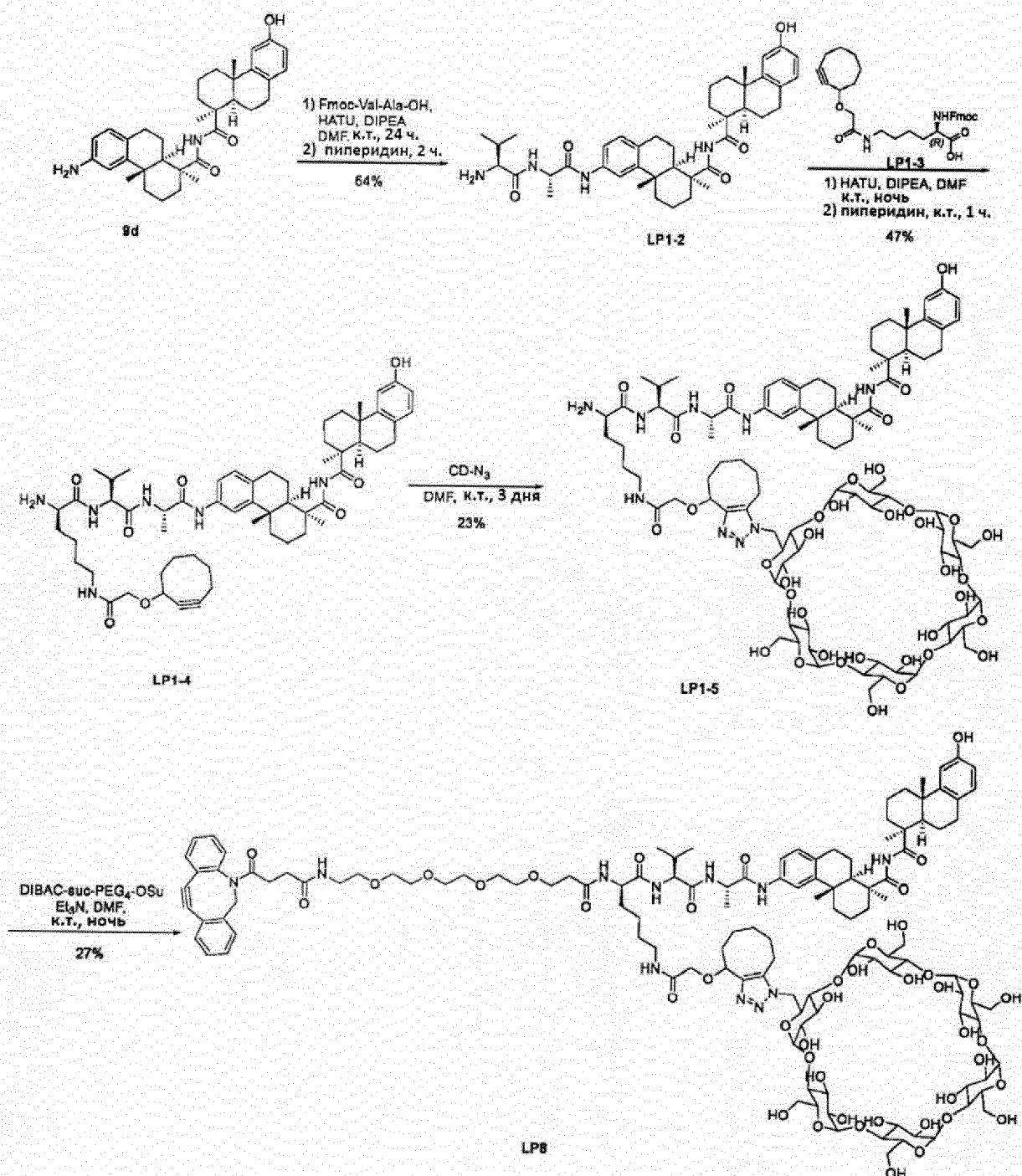
Синтез 9a-9p



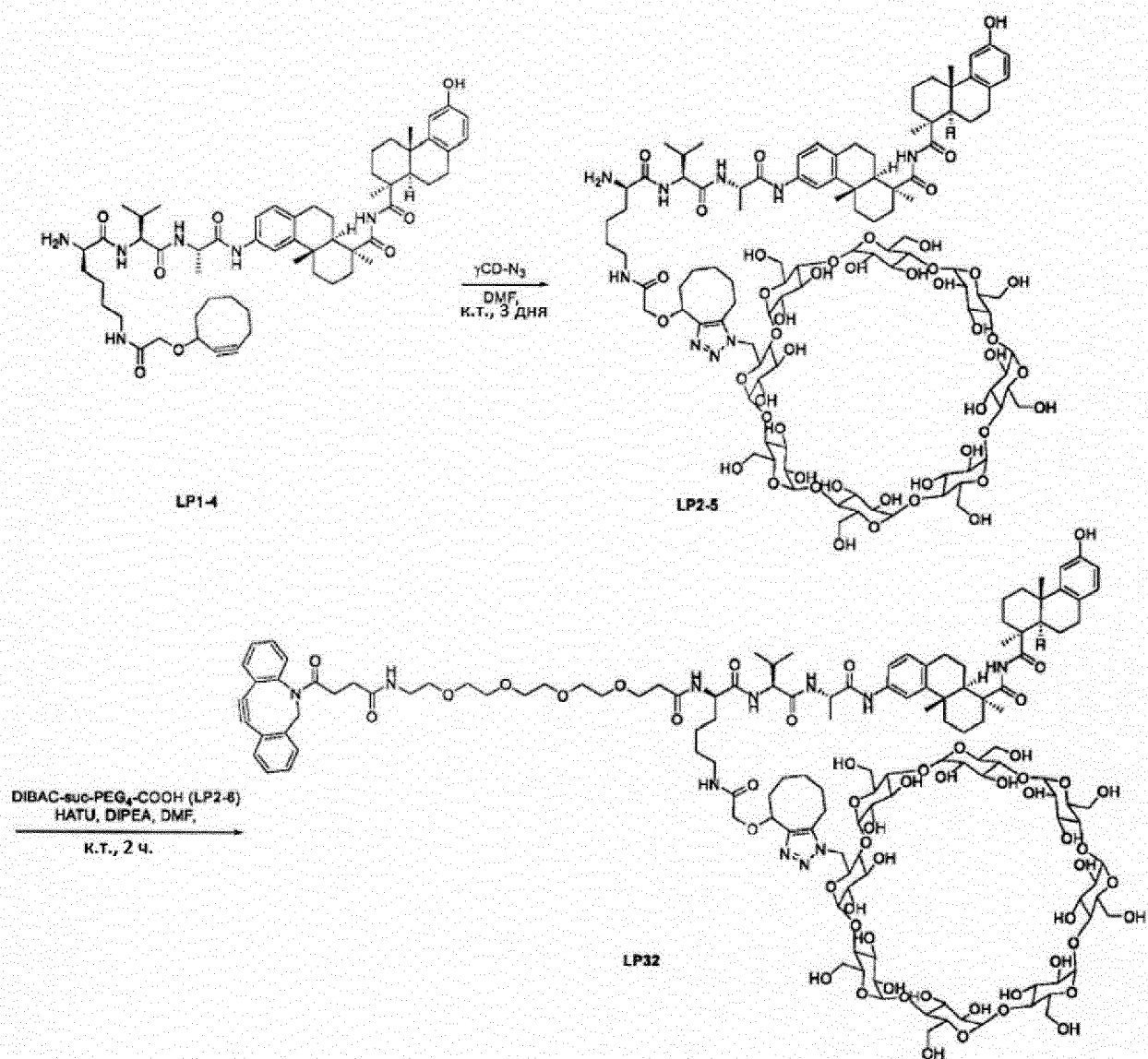
ФИГ.1а. Синтез 9d



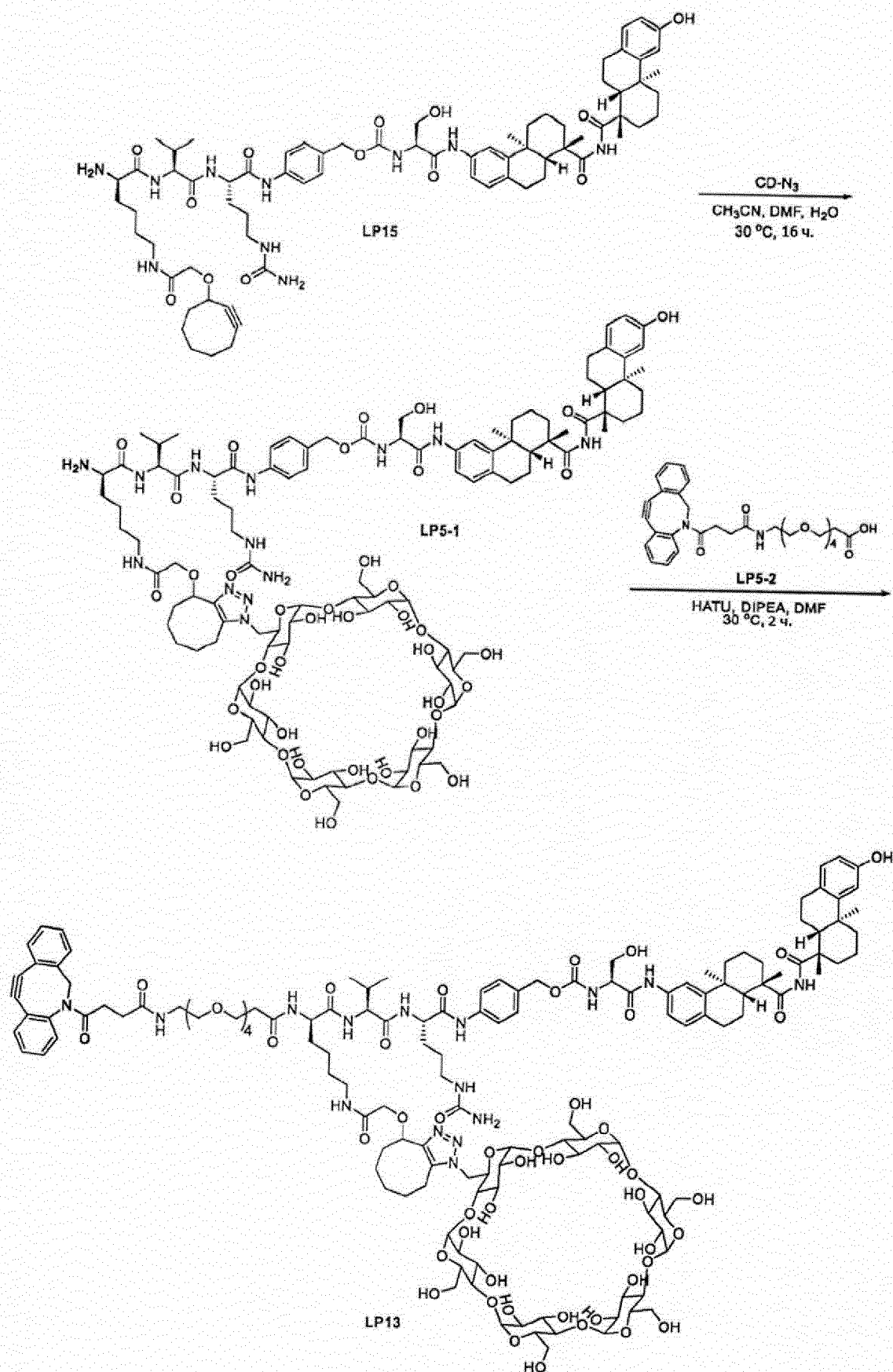
ФИГ.1b. Синтез LP8



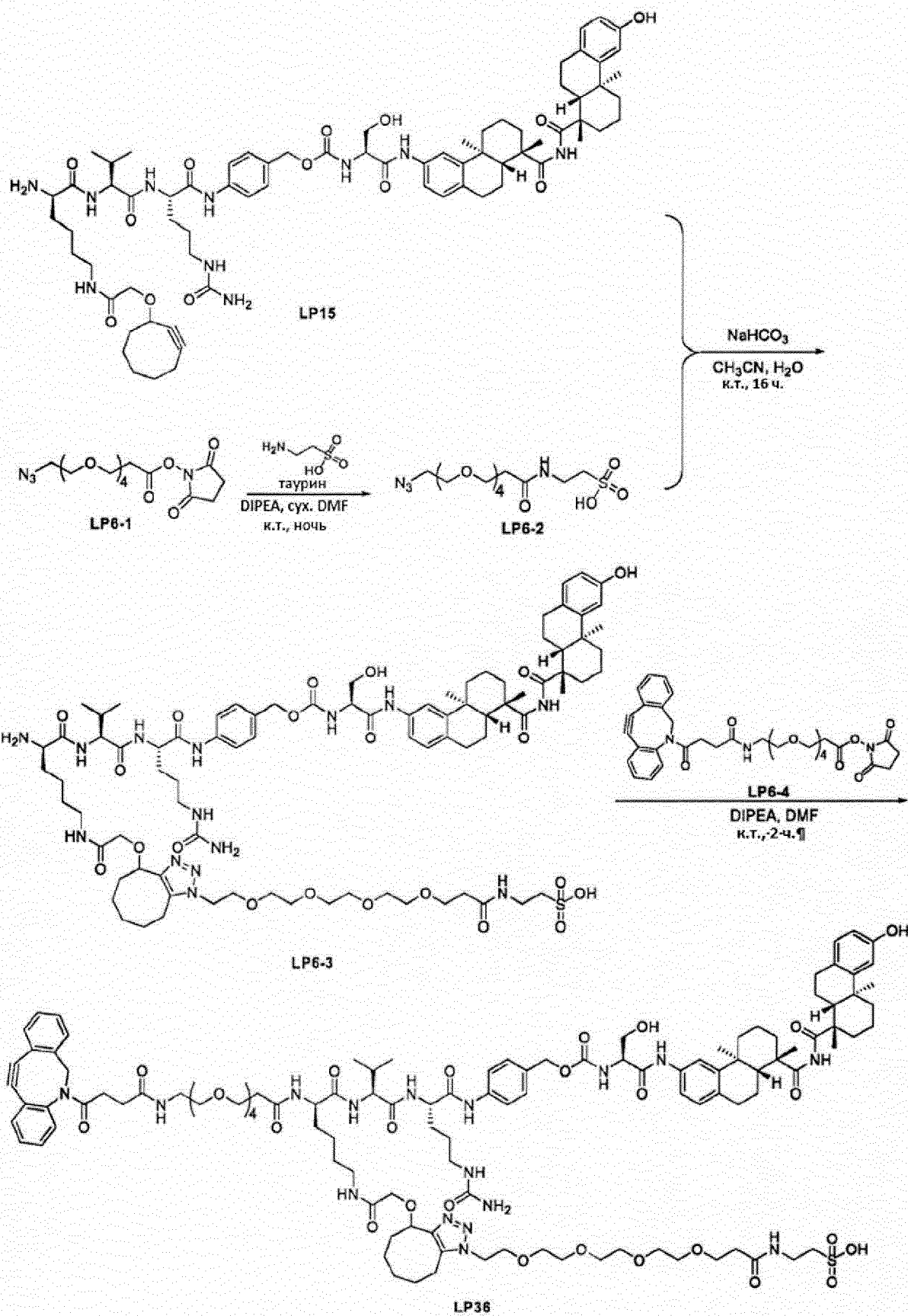
ФИГ.1с. Синтез LP32



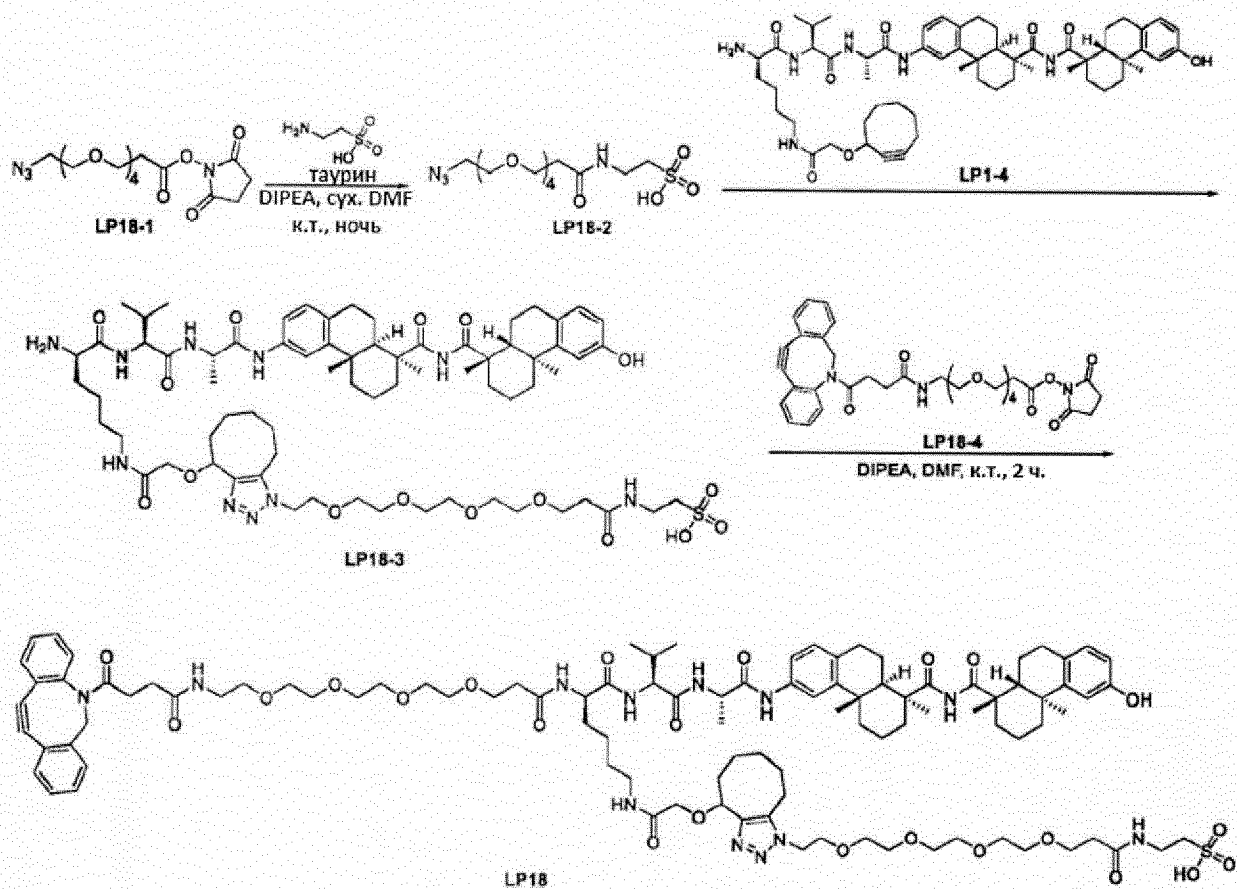
ФИГ.1d. Синтез LP13



ФИГ.1е Синтез LP36

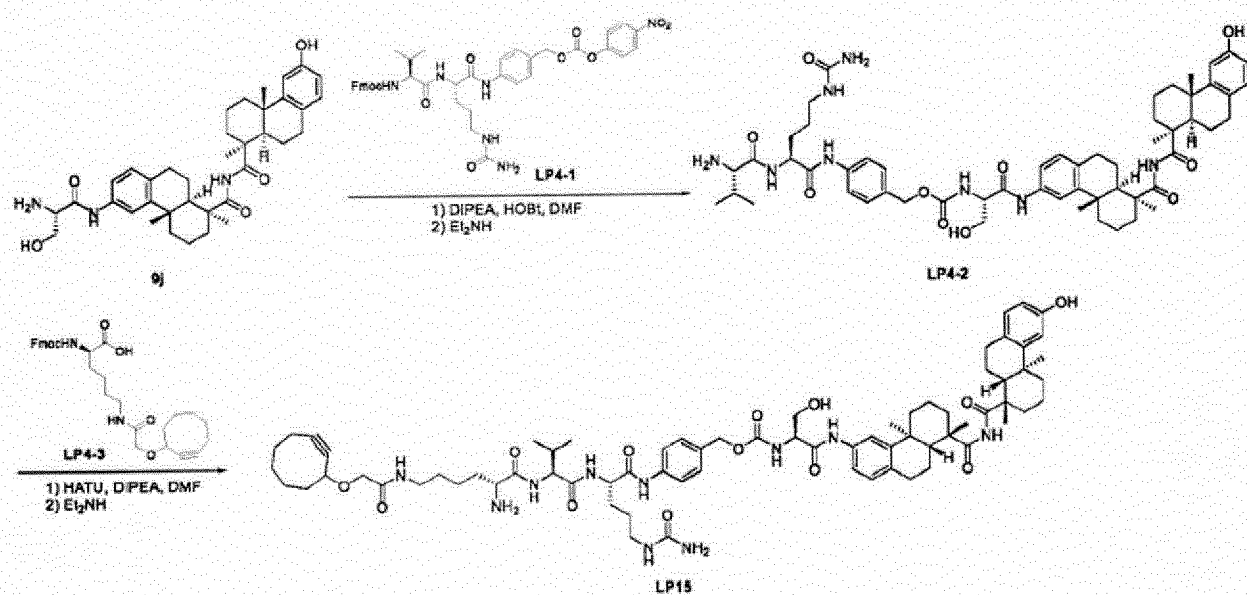


ФИГ.1f Синтез LP18



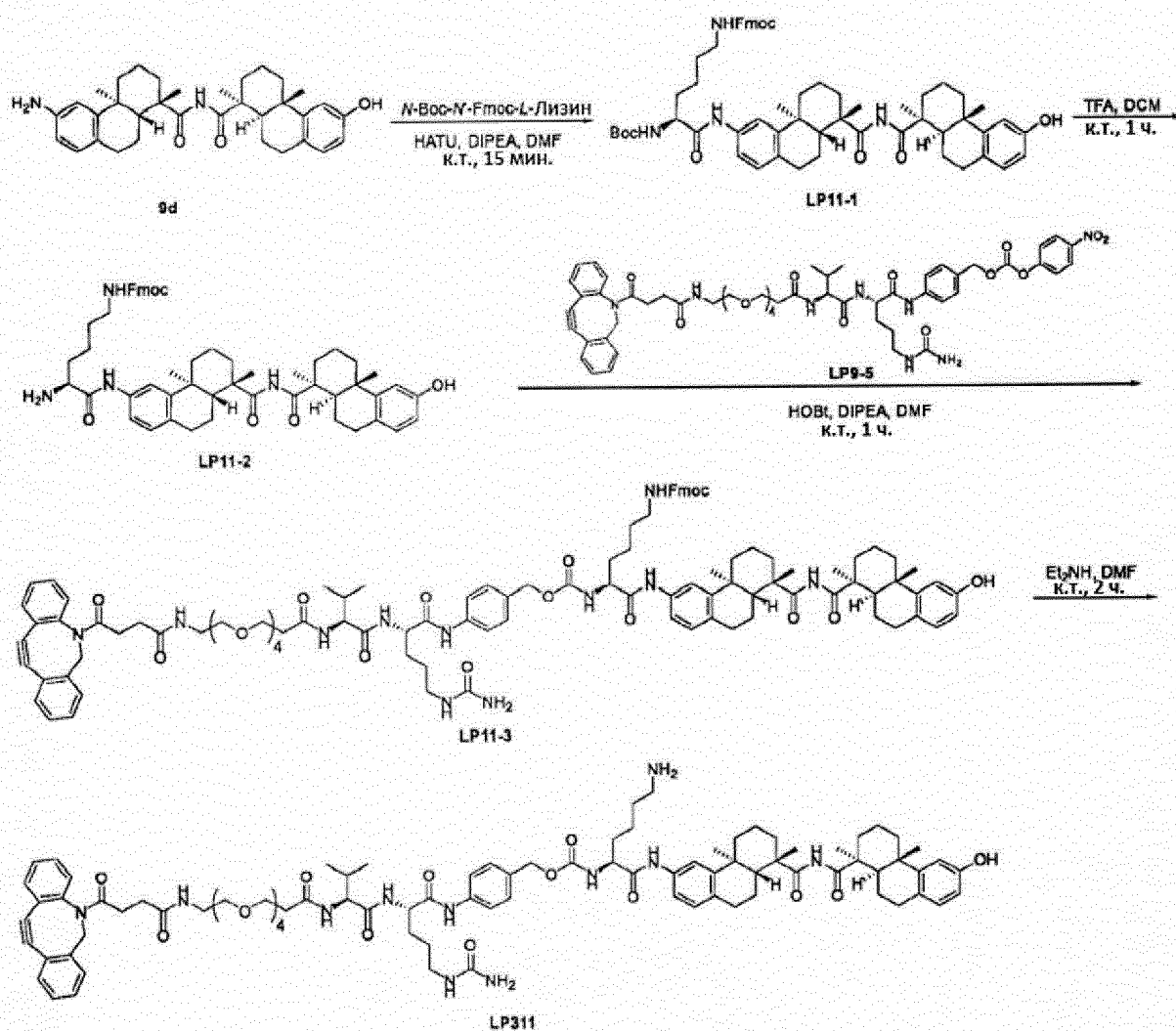
8/28

ФИГ.1g Синтез LP15



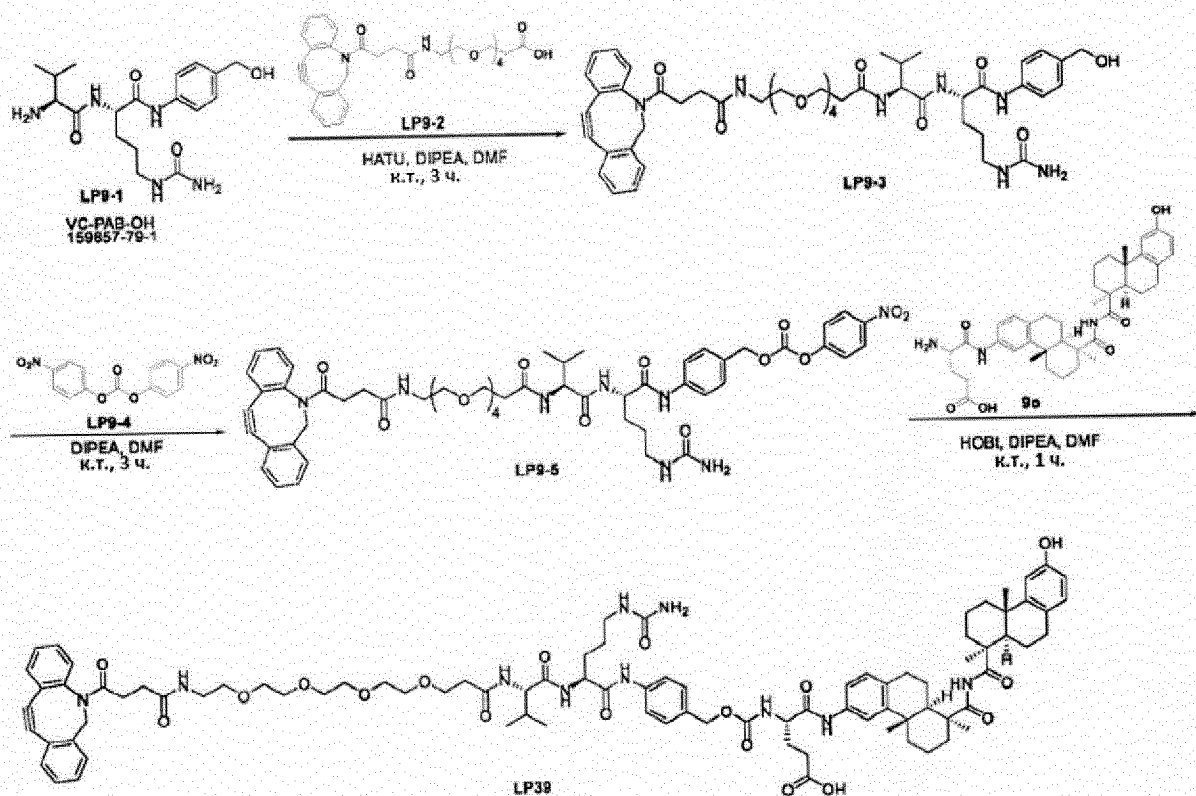
9/28

ФИГ.1h Синтез LP311

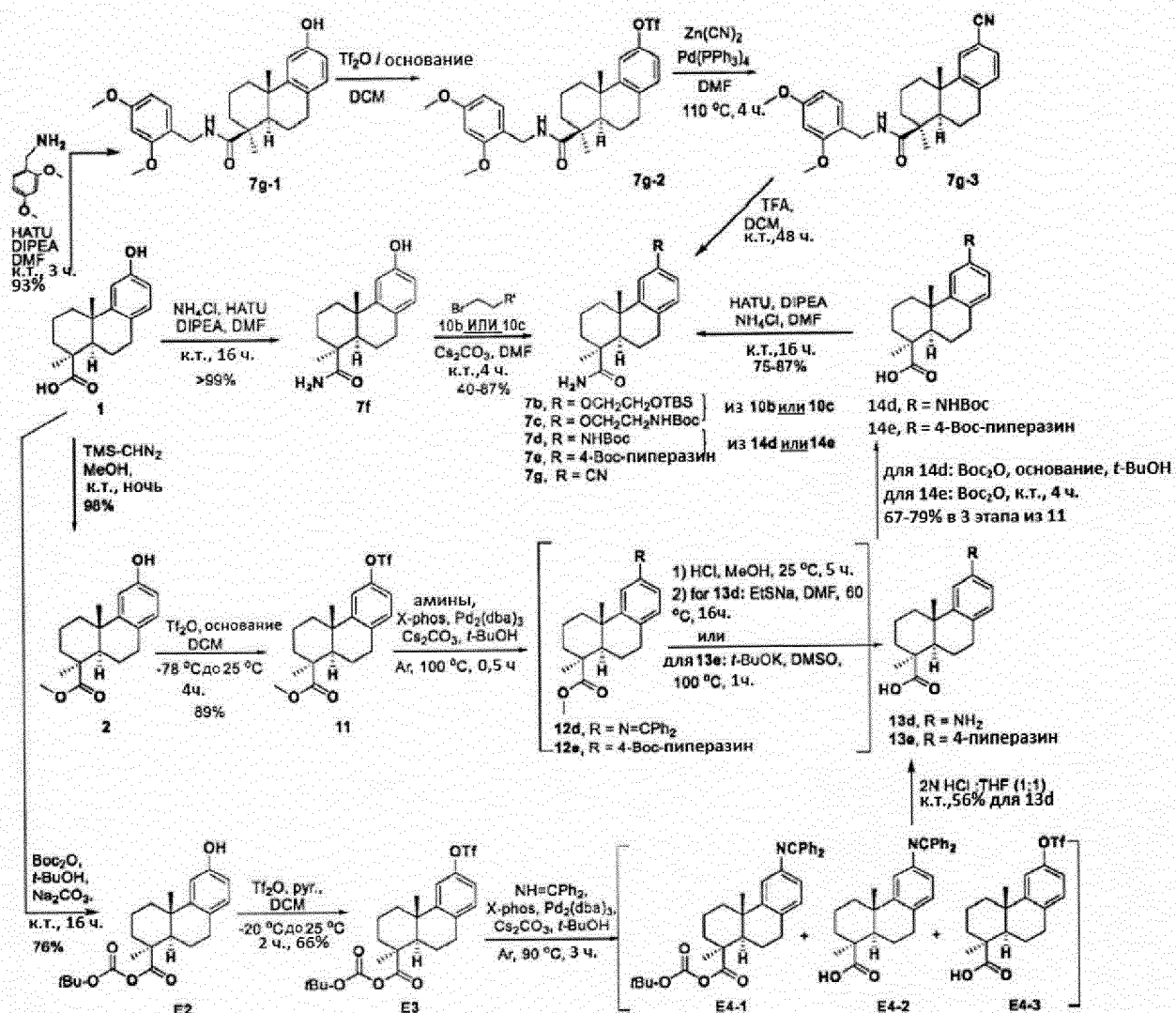


10/28

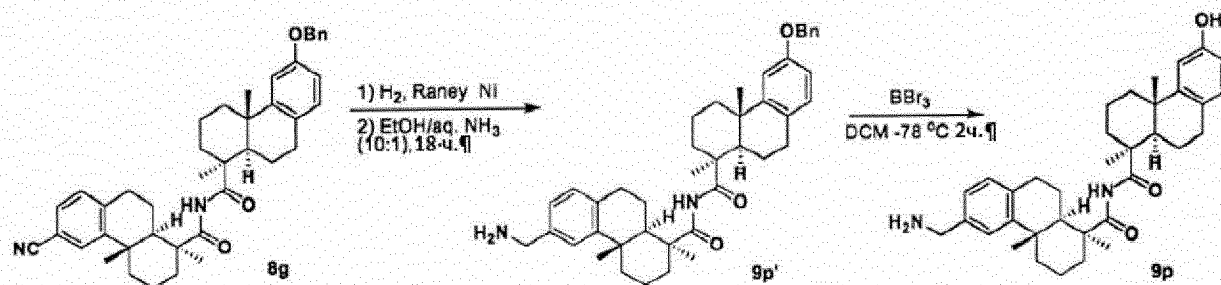
ФИГ.1і Синтез LP39



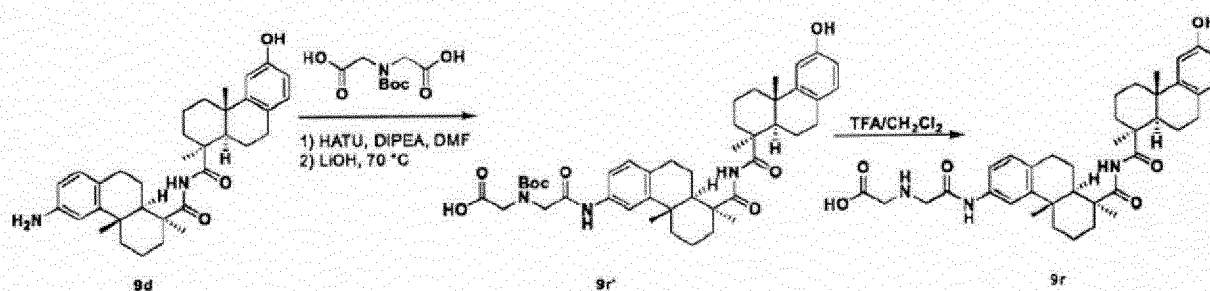
ФИГ.2 Синтез Интермедиатов 7



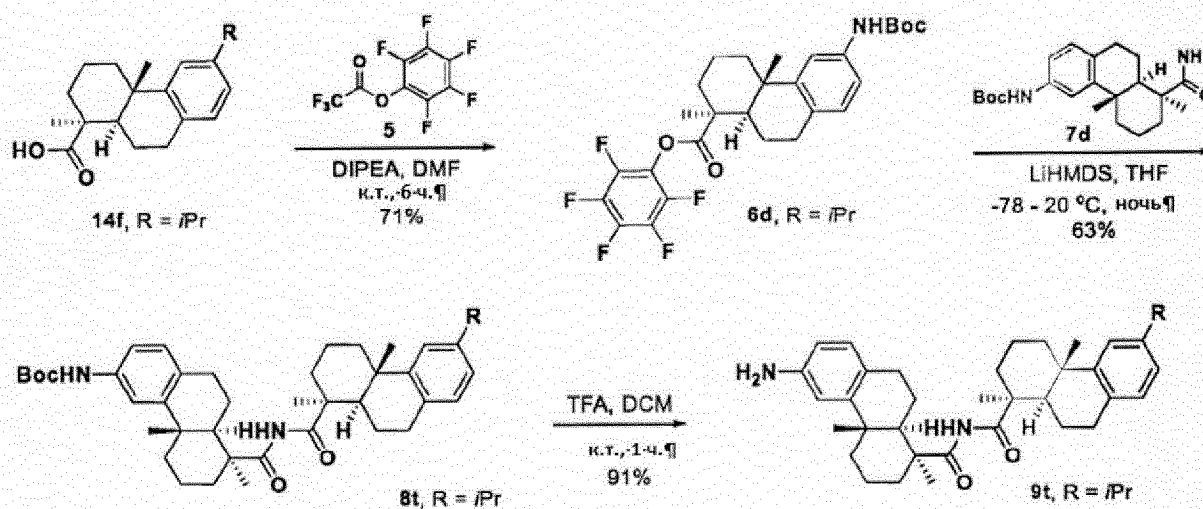
ФИГ.3а



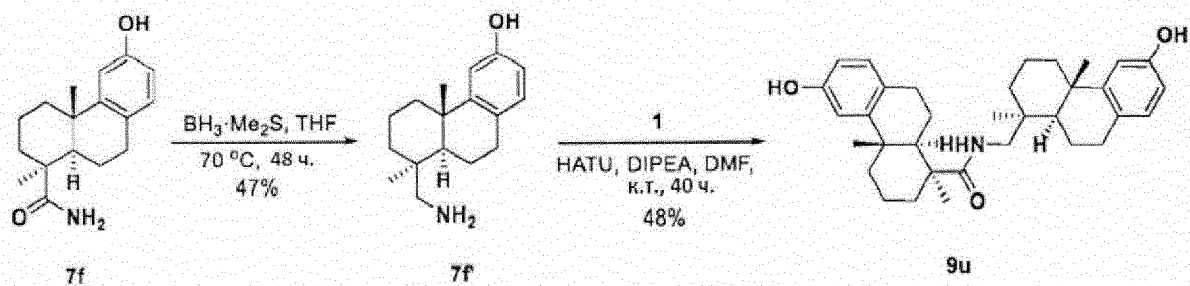
ФИГ.3b



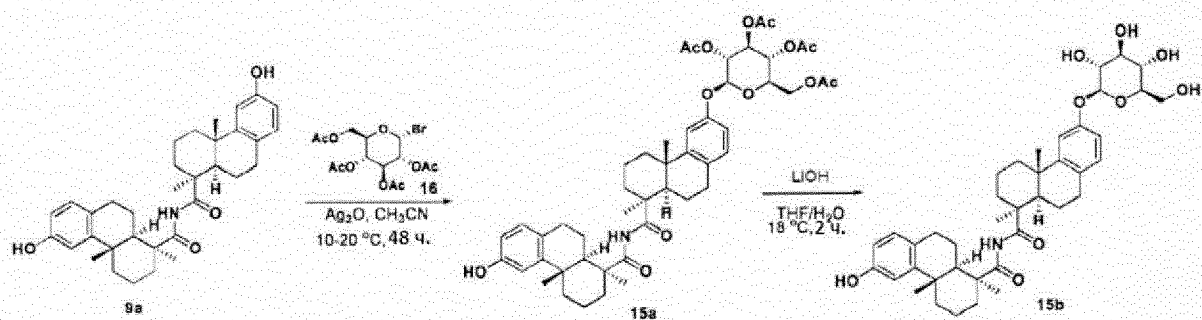
ФИГ.3с



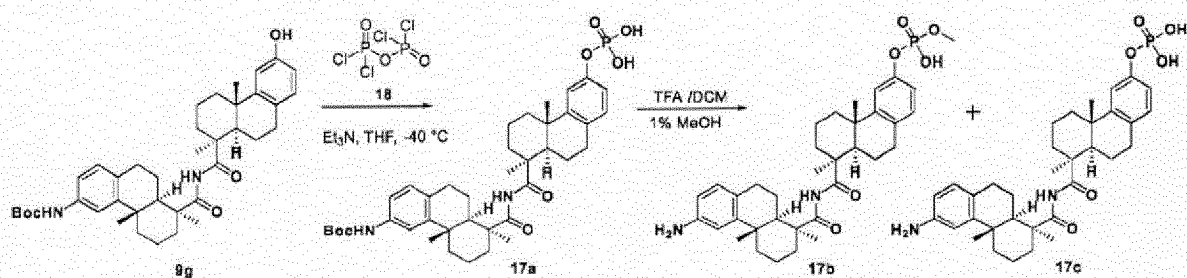
ФИГ.3d



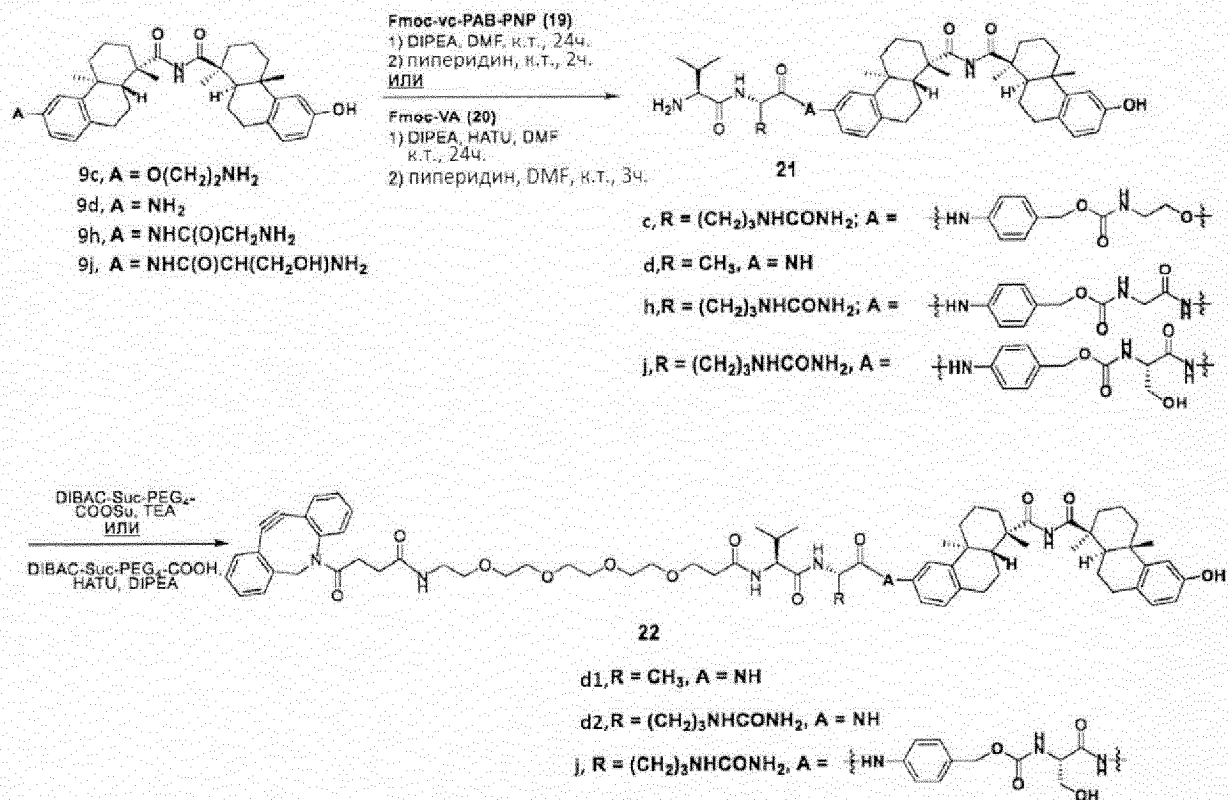
ФИГ.3e



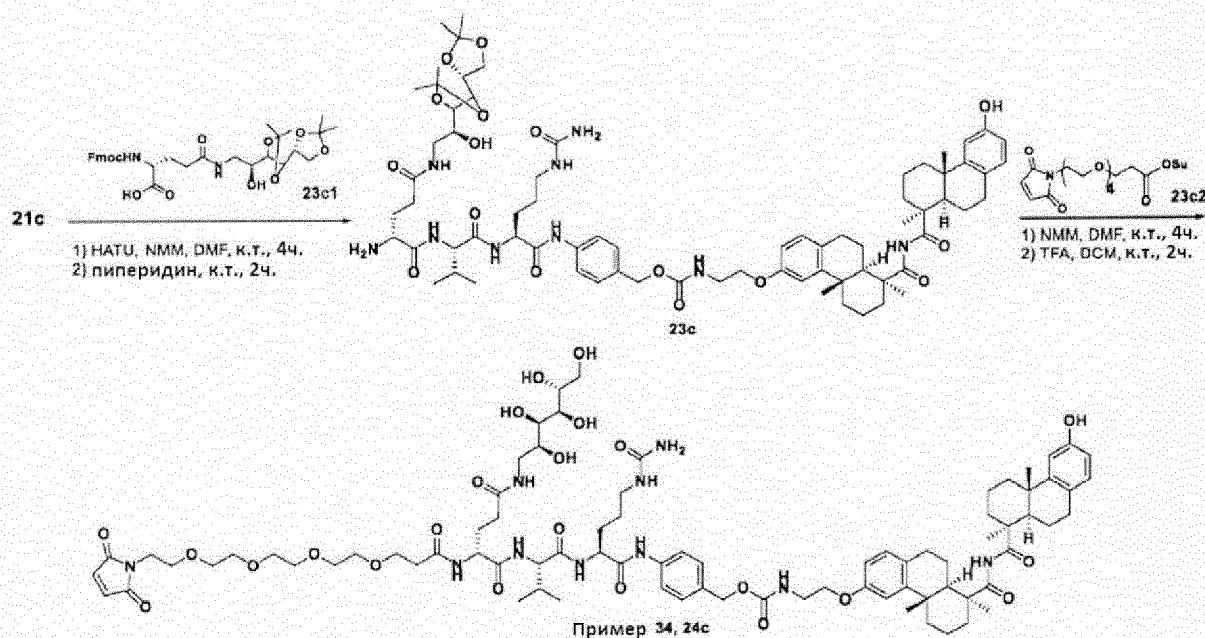
ФИГ.4



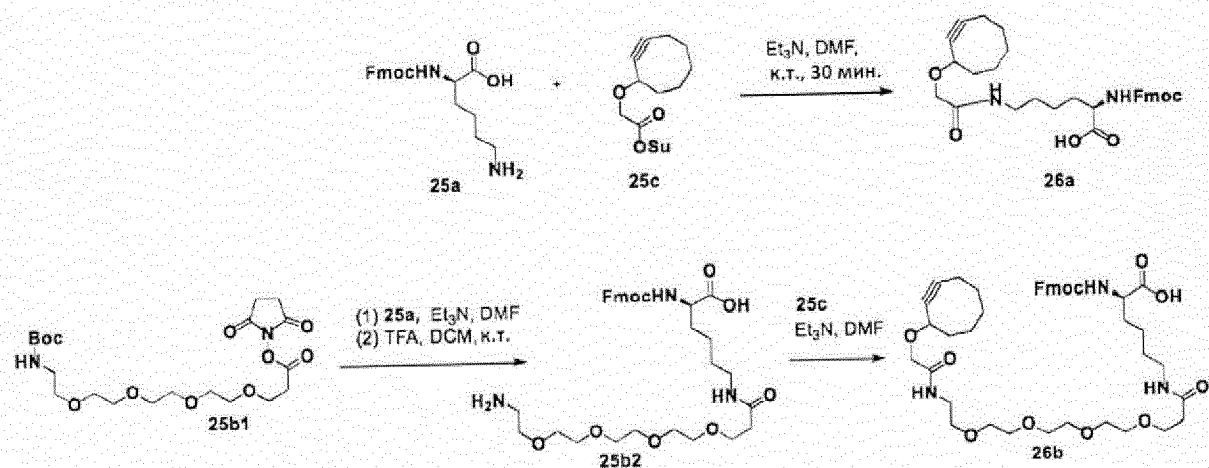
ФИГ.5



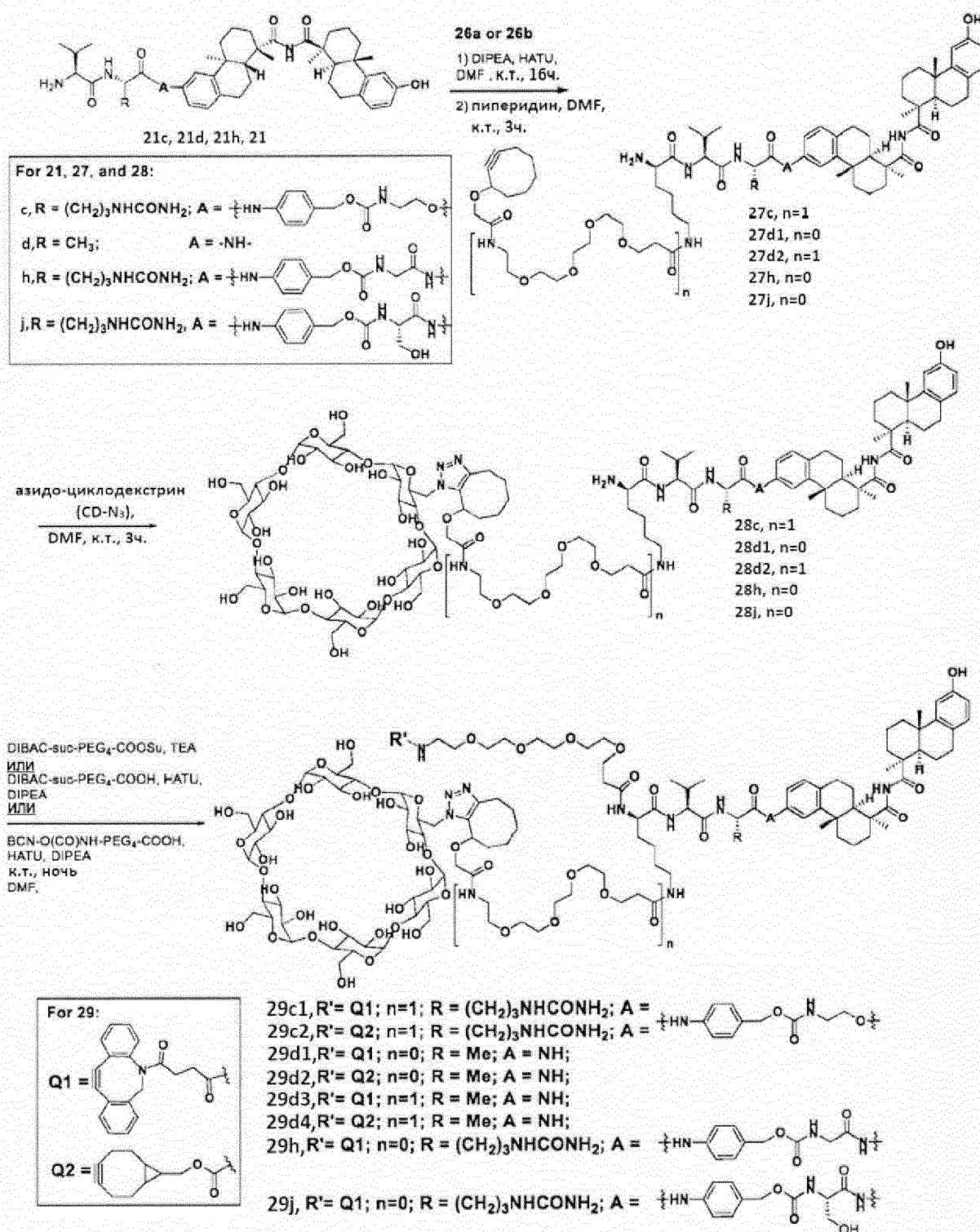
ФИГ.6



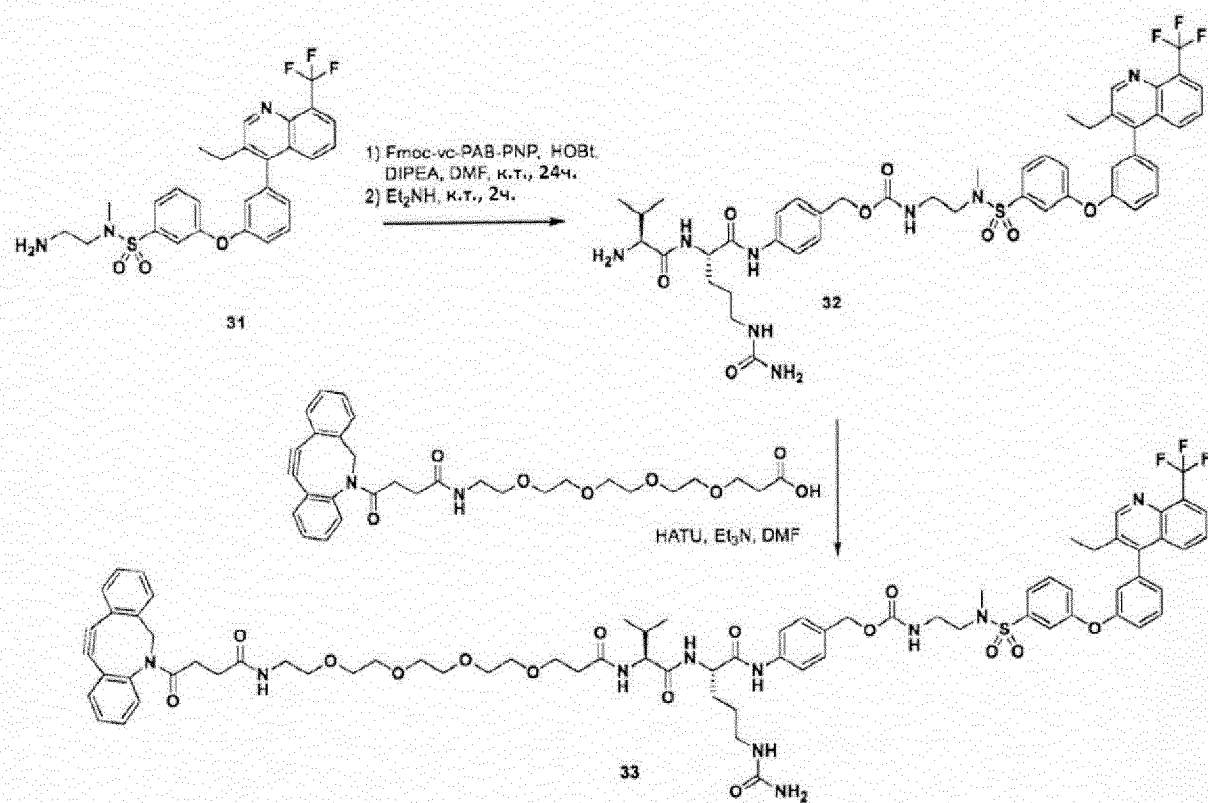
ФИГ.7



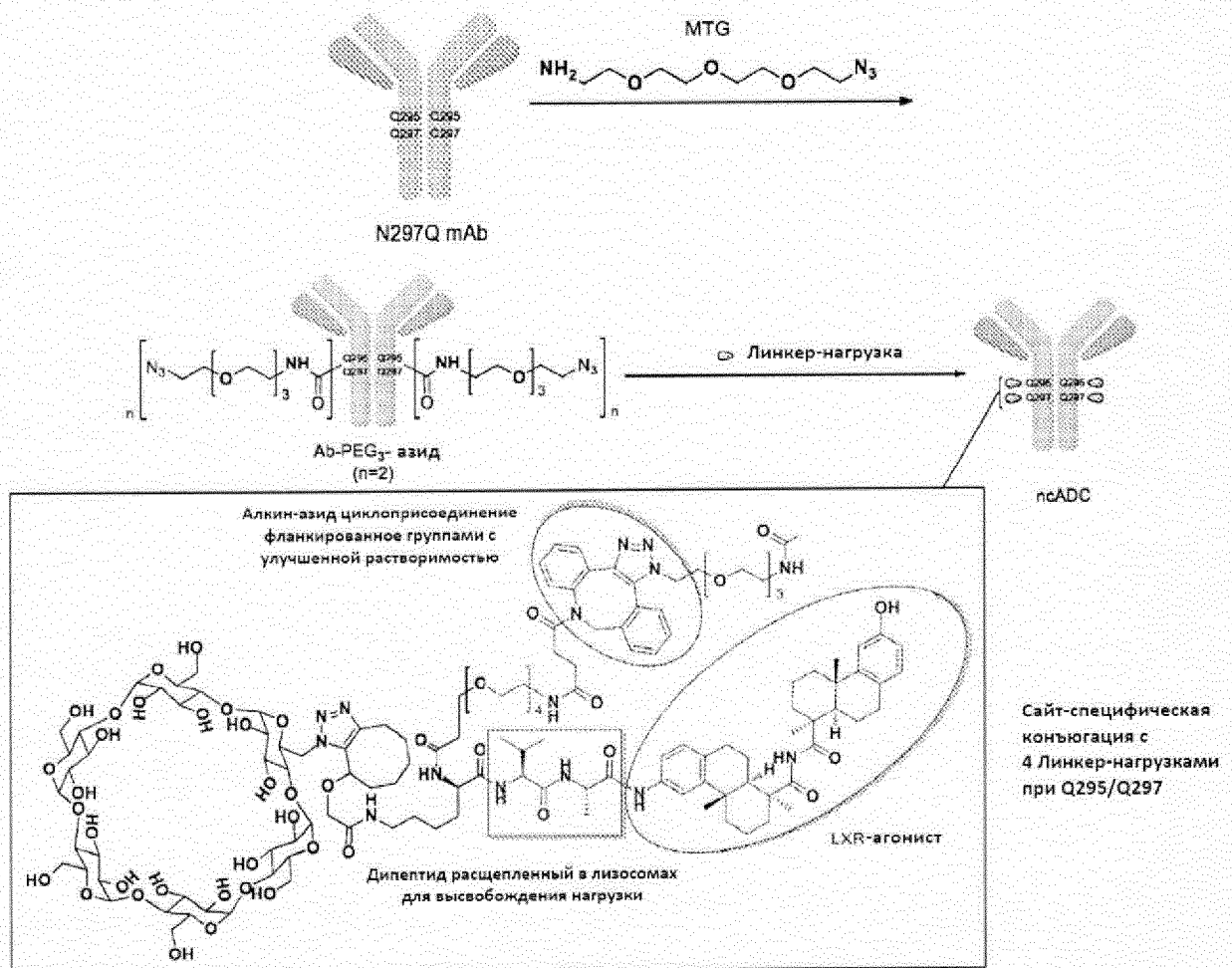
ФИГ.8



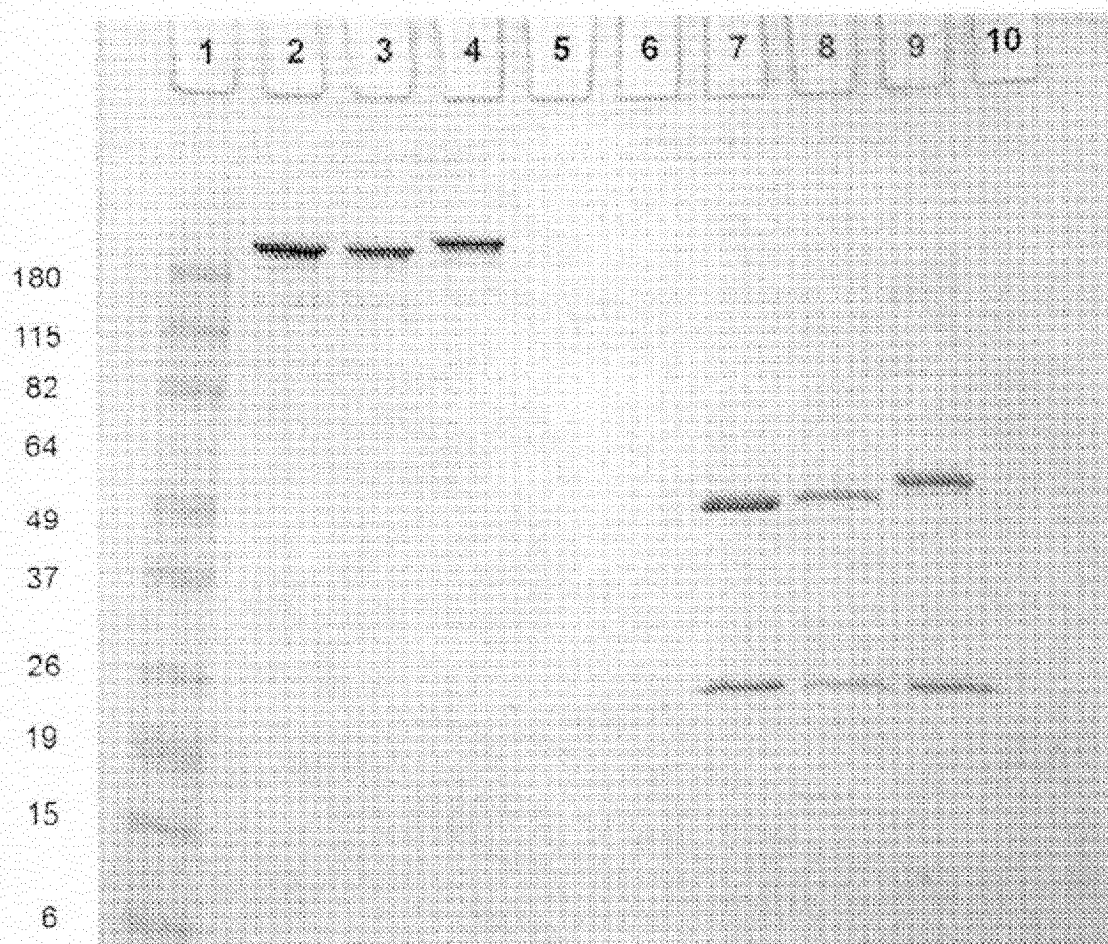
ФИГ.9

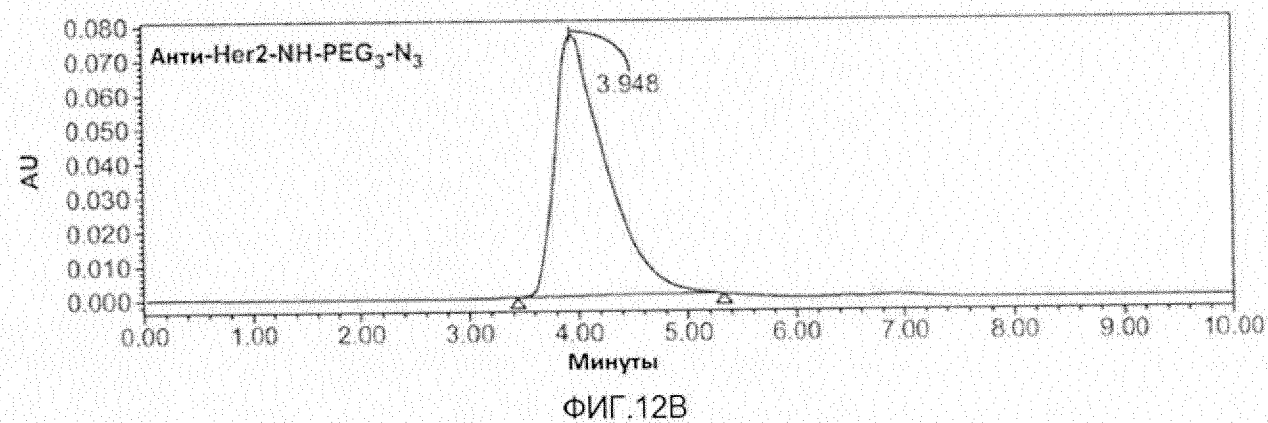
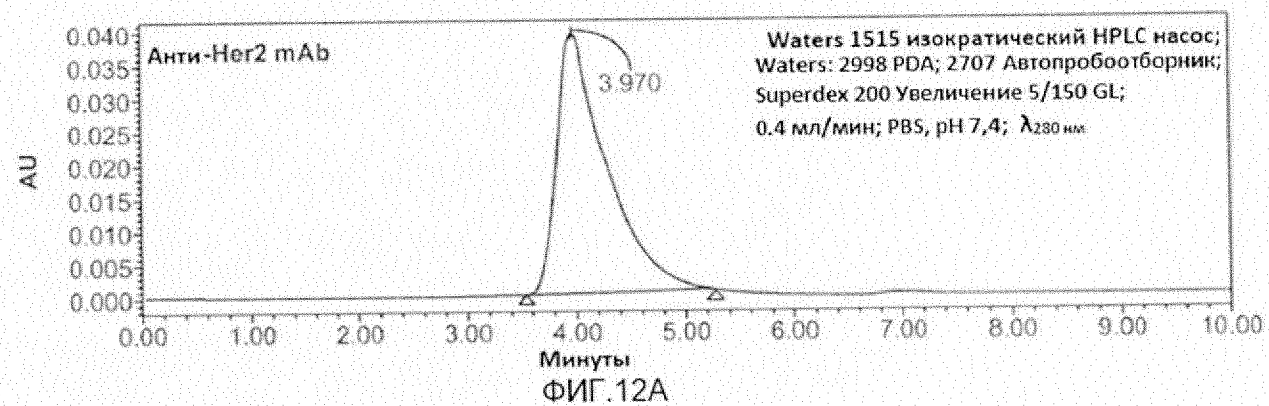


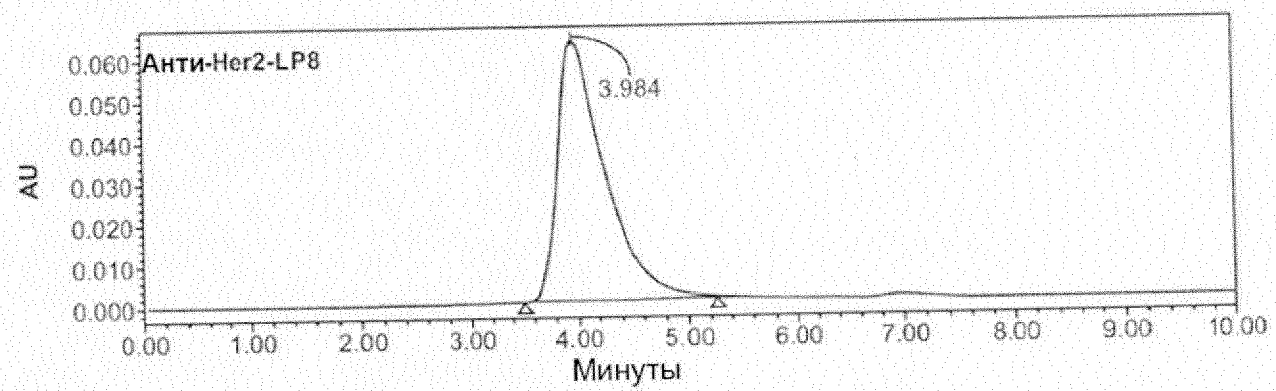
ФИГ.10



ФИГ.11

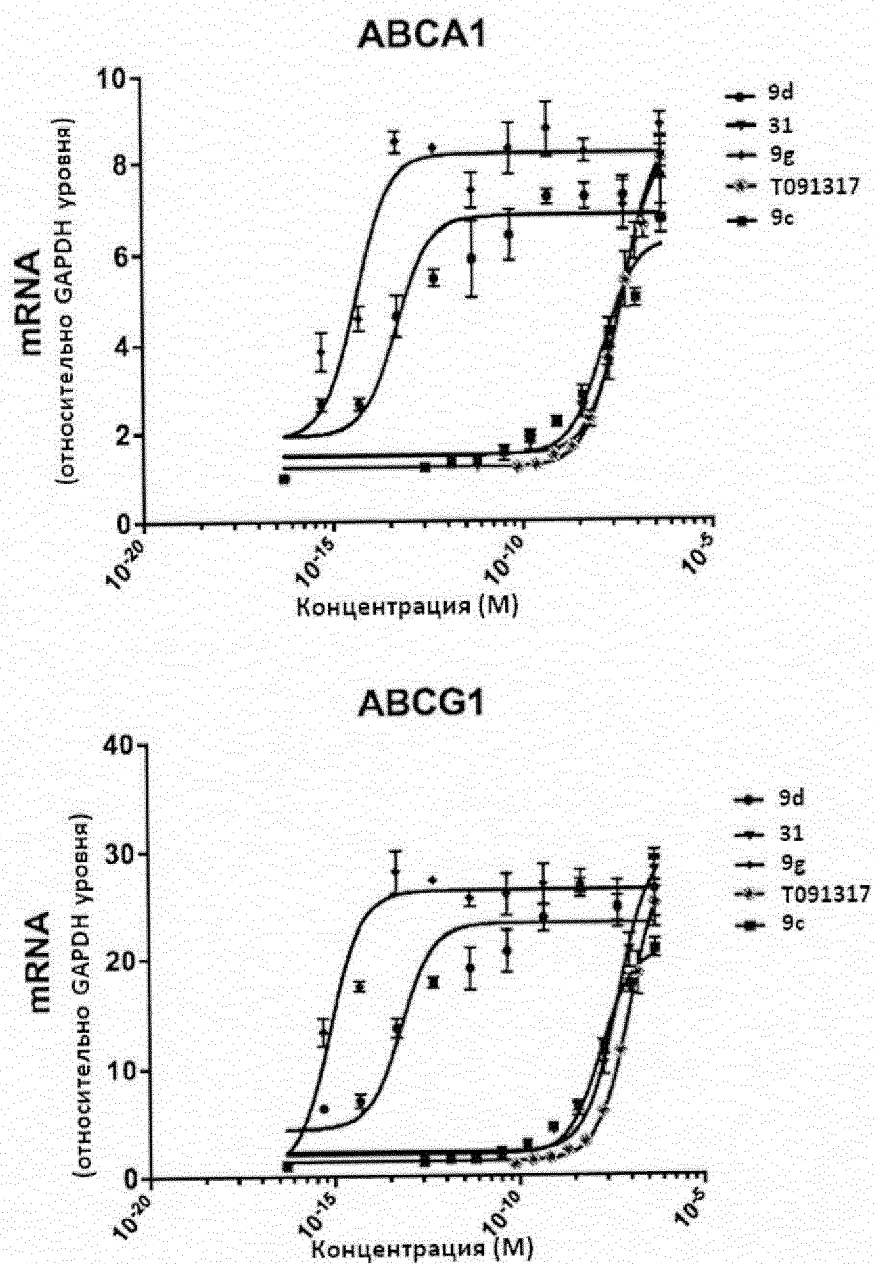




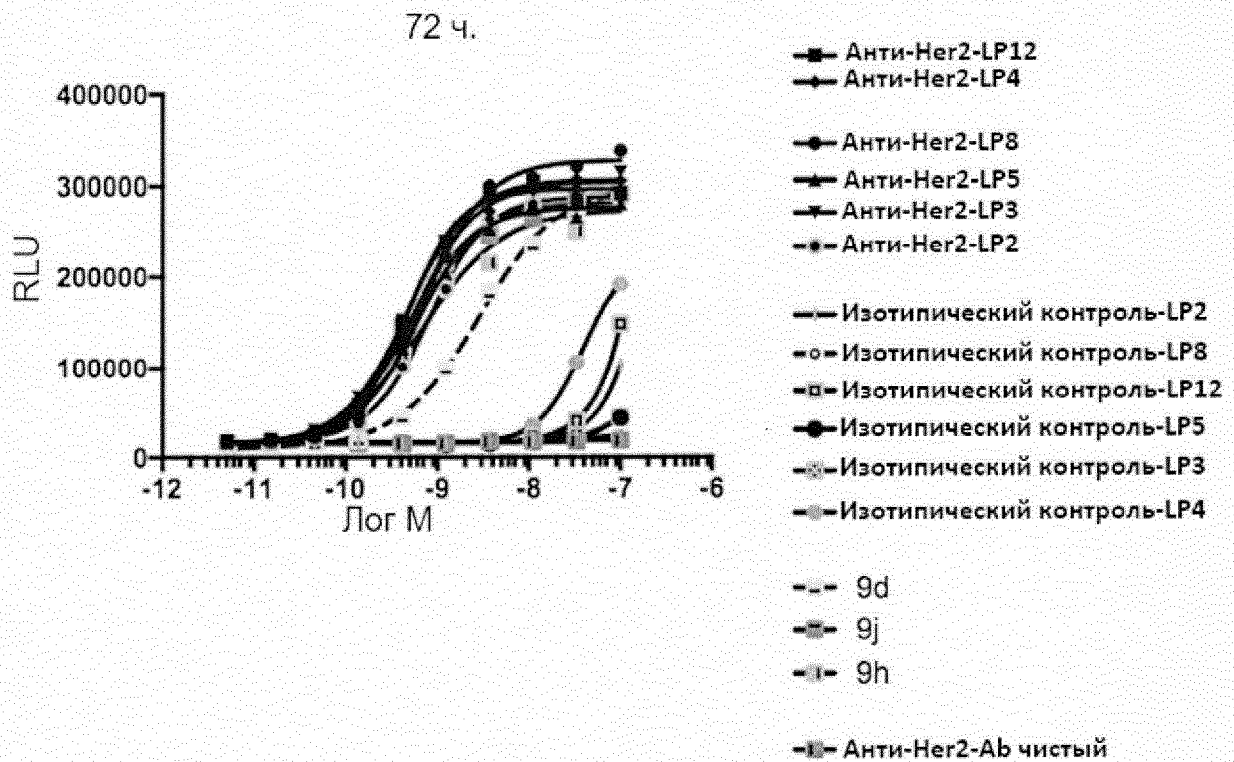
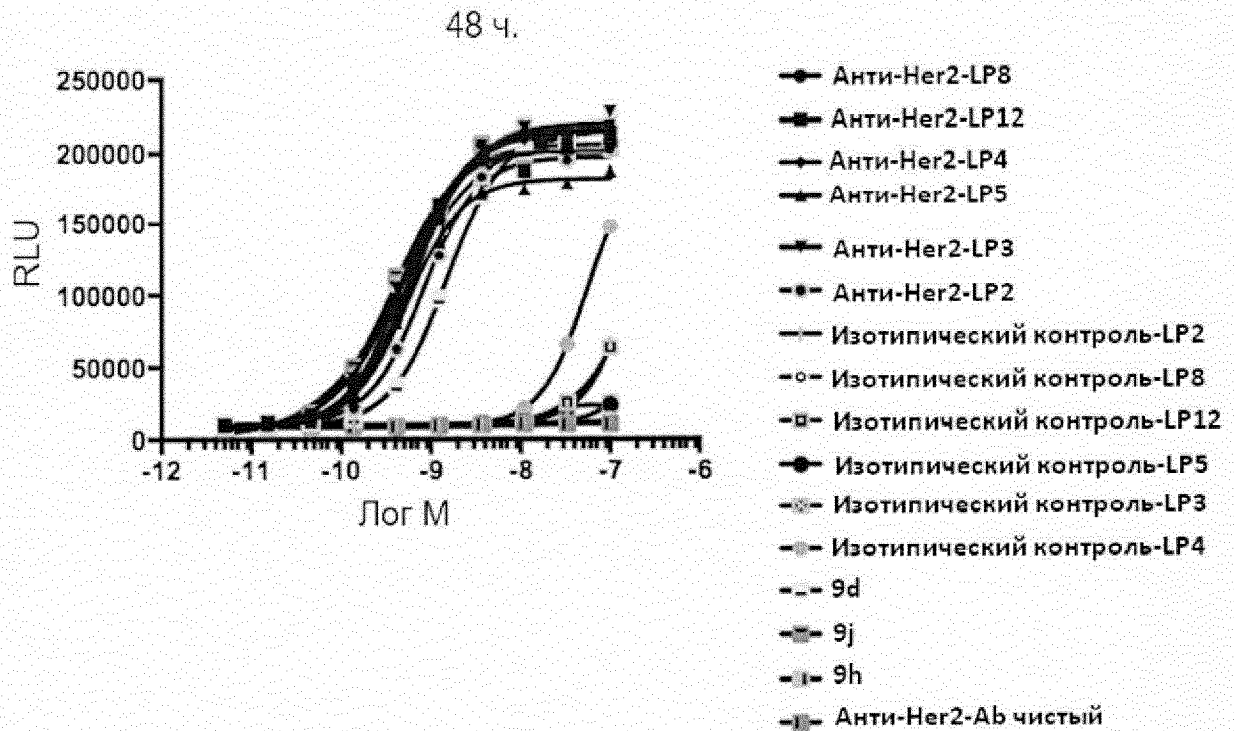


ФИГ.12С

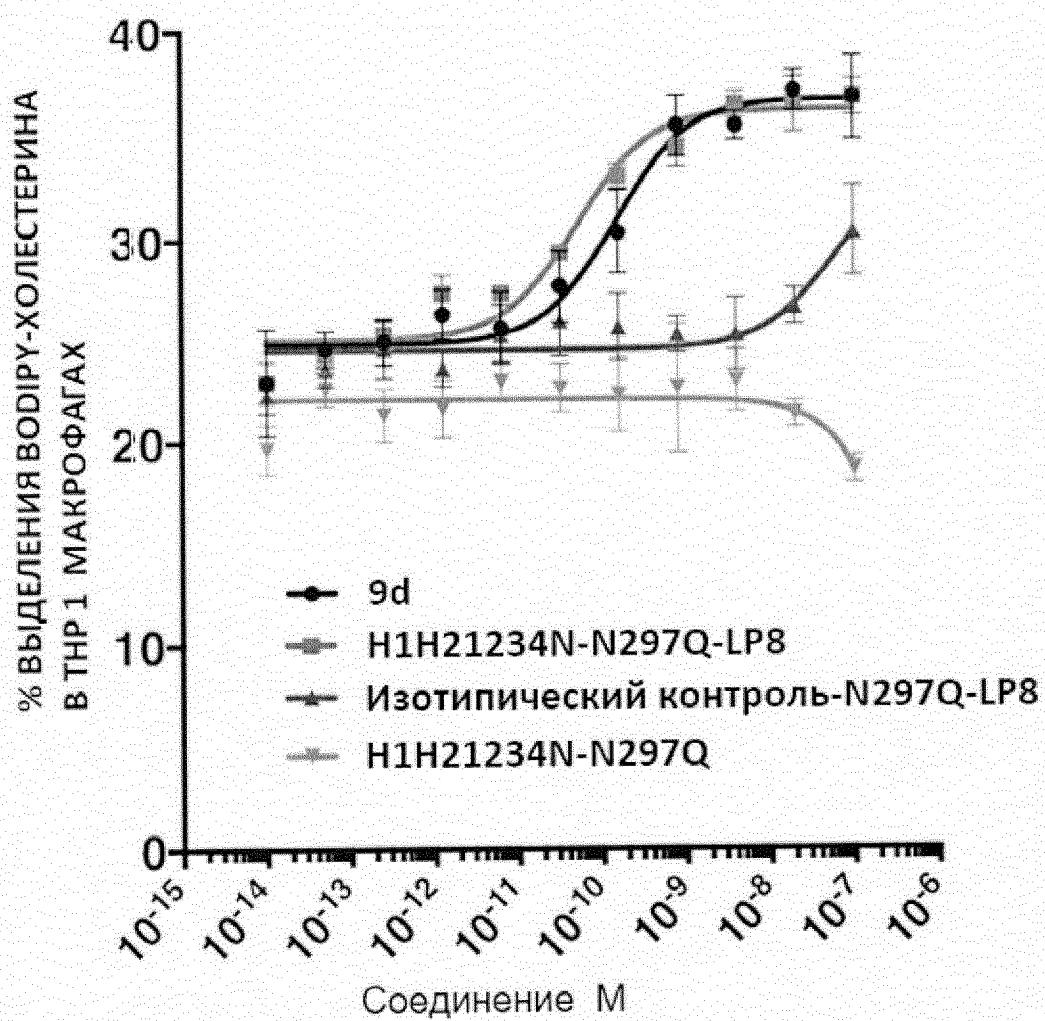
ФИГ.13



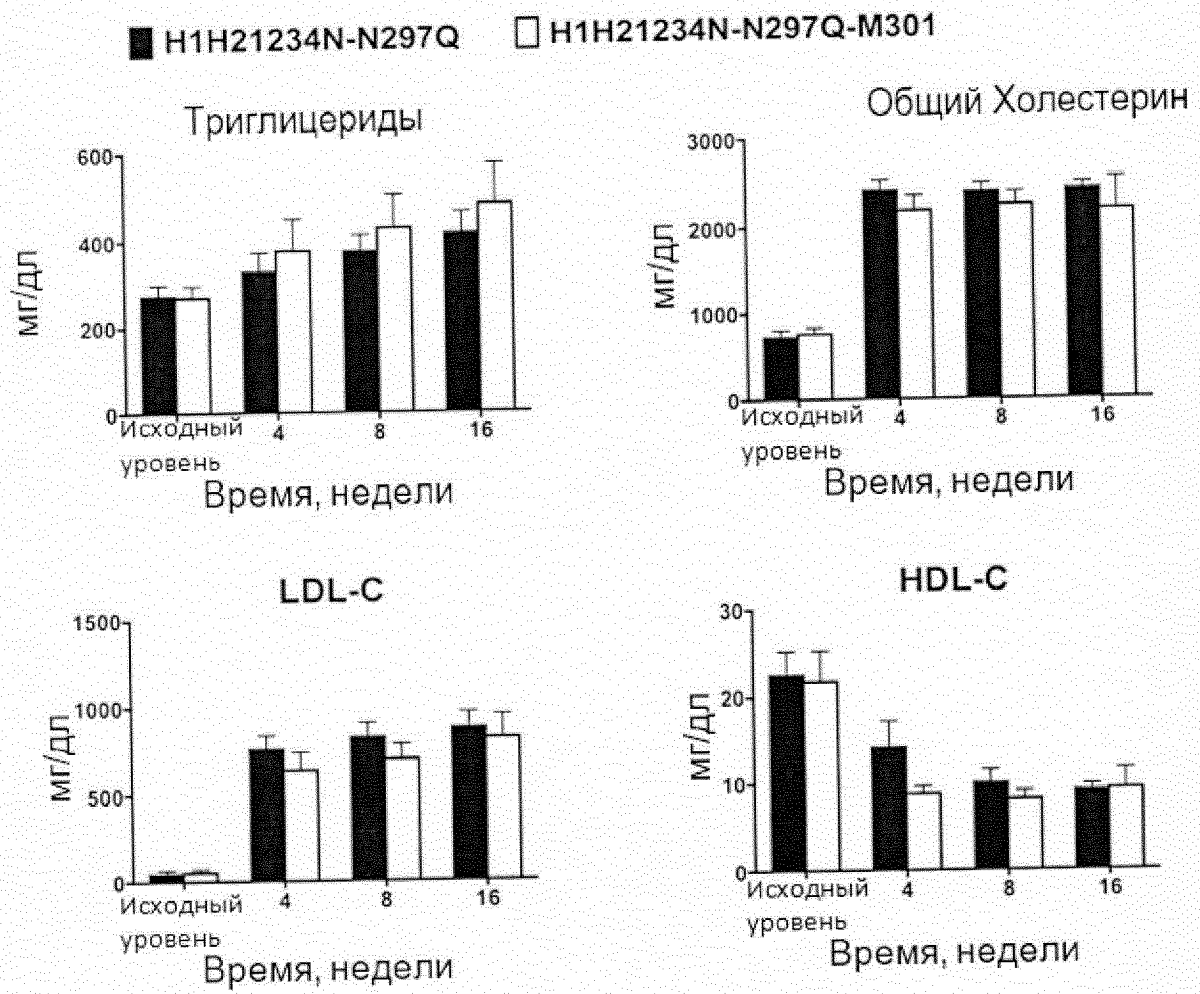
Соединение	ABCA1 индукция EC ₅₀ (M)	ABCG1 индукция EC ₅₀ (M)
9d	4.9E-14	6.6E-14
9c	1.5E-08	1.5E-08
31	4.6E-08	4.8E-08
9h	4.3E-15	8.0E-16
T091317	3.8E-08	1.0E-07



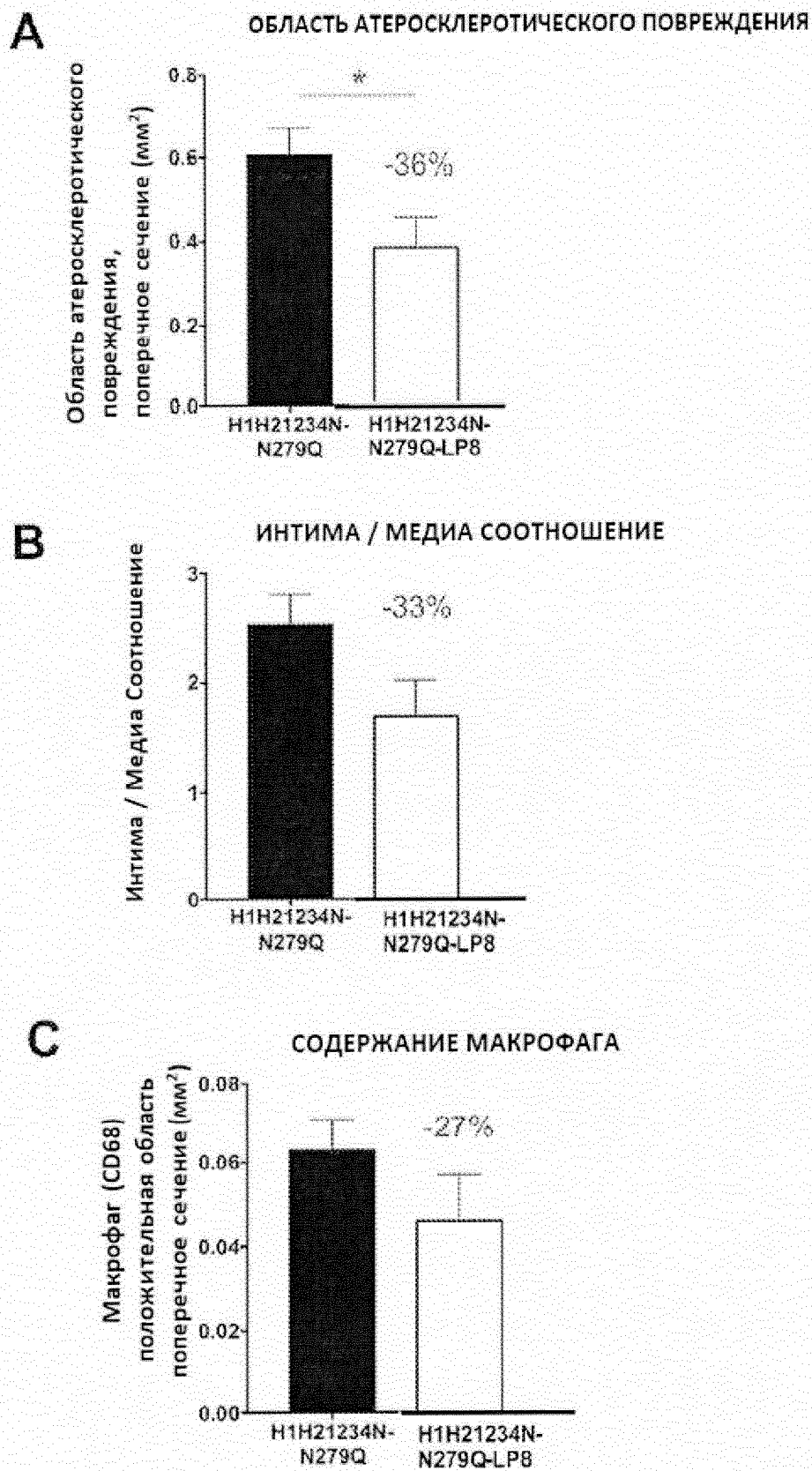
ФИГ.15



ФИГ.16

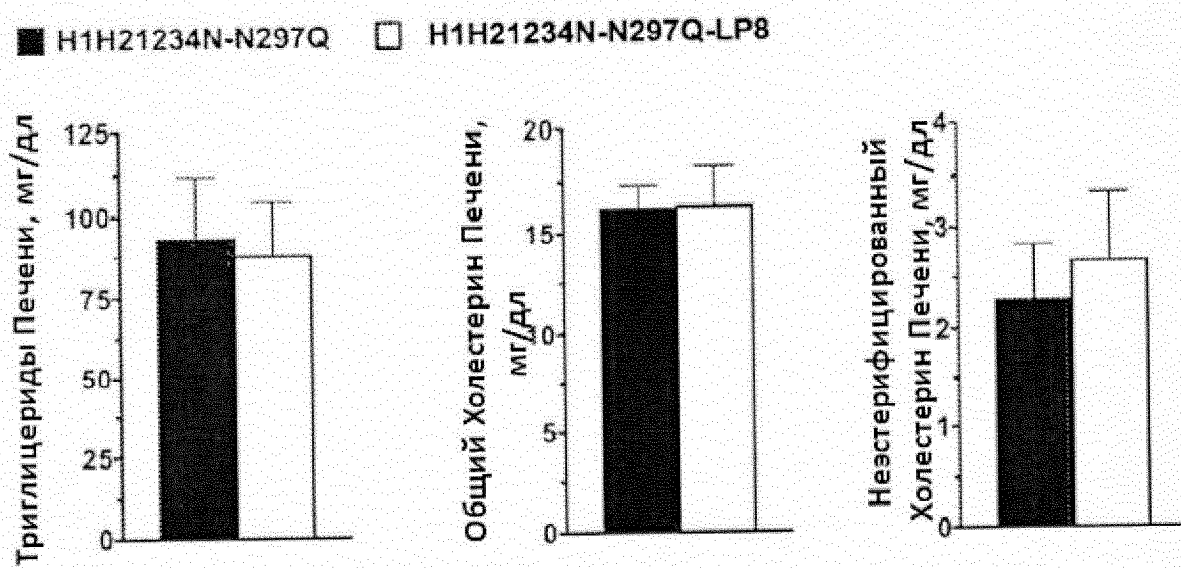


ФИГ.17



Статистическое сравнение по t-критерию Уэлча, * $p < 0,05$

ФИГ.18



ФИГ.19

