

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202090319** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2020.10.16

(22) Дата подачи заявки
2018.08.30

(51) Int. Cl. *C07C 323/58* (2006.01)
C07K 7/08 (2006.01)
C07K 1/36 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)

(54) **ПЕПТИДНЫЕ КОНЬЮГАТЫ, СПОСОБ КОНЬЮГАЦИИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ**

(31) **735008**

(32) **2017.08.30**

(33) **NZ**

(86) **PCT/IB2018/056611**

(87) **WO 2019/043604 2019.03.07**

(71) Заявитель:
**ОКЛЕНД ЮНИСЕРВИСИЗ
ЛИМИТЕД (NZ)**

(72) Изобретатель:

**Бримбл Маргарет Энн, Данбар Питер
Родерик, Уильямс Джеффри Мартин,
Вердон Дэниел (NZ)**

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

(57) Изобретение относится к пептидным конъюгатам, способам получения пептидных конъюгатов, конъюгатам, полученным данными способами, и фармацевтическим композициям, содержащим данные конъюгаты. Также предложены способы вызывания иммунного ответа у пациента и способы вакцинирования пациента, применение конъюгатов для этой цели и применение конъюгатов при изготовлении лекарственных средств.

A1

202090319

202090319

A1

ПЕПТИДНЫЕ КОНЪЮГАТЫ, СПОСОБ КОНЪЮГАЦИИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Изобретение относится к пептидным конъюгатам, способам получения пептидных конъюгатов, конъюгатам, полученными данными способами, лекарственным
5 препаратам, содержащим данные конъюгаты, способам вызывания иммунного ответа у пациента и способам вакцинирования пациента, способам использования конъюгатов для этой цели и способам использования для этой цели конъюгатов при производстве лекарственных препаратов. Настоящее изобретение также относится к
10 способам получения соединений, полезных при синтезе пептидных конъюгатов по настоящему изобретению, и к таким соединениям.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Синтетические пептидные вакцины обычно содержат синтетическую копию иммуногенной части белковых антигенов. Такой подход к разработке вакцин обладает рядом преимуществ, включая: простоту синтеза, исключение потенциально
15 биологически-токсичных побочных продуктов и непосредственное определение свойств.

Ключевой проблемой при разработке пептидных вакцин является отсутствие иммуногенности, проявляемой пептидами в качестве единственных составных частей вакцины. Обычно существует необходимость включения в вакцину адъюванта, предназначенного для активации составных частей врожденной иммунной системы (напр., адъюванта Фрейнда).

Альтернативной стратегией при разработке пептидной вакцины является создание самоадъювантных вакцин, в которых исследуемая пептидная антигенная детерминанта ковалентно связана с соответствующим адъювантом. Такие
25 самоадъювантные вакцины могут иметь улучшенное поглощение антигенов, презентирование и созревание дендритных клеток по сравнению с простым взаимодействием антигена с внешним адъювантом.

Было разработано несколько самоадъювантных вакцин, но сложность заключается в приготовлении вакцин.

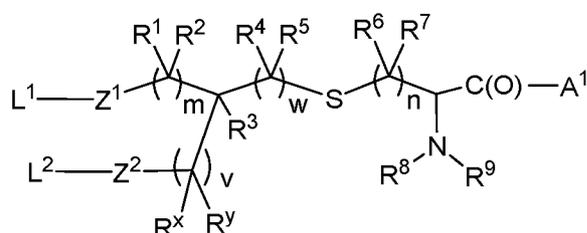
30 Существует постоянная потребность в новых самоадъювантных вакцинах и новых способах создания самоадъювантных вакцин. Целью настоящего изобретения является частичное удовлетворение этих потребностей и/или, по меньшей мере, предоставление общественности полезного выбора.

Другие цели изобретения станут очевидными из следующего описания, которое приводится только в качестве примера.

Любое рассмотрение документов, протоколов, материалов, устройств, изделий и т.п., включенное в настоящее описание, предназначено исключительно для обеспечения содержанием настоящего раскрытия. Это не следует принимать за признание, что
5 любые или все эти вопросы являются частью базы данных известного уровня техники или являются общеизвестными сведениями в области, относящейся к настоящему изобретению, как это существовало до даты приоритета.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩЕСТВА ИЗОБРЕТЕНИЯ

10 В первом аспекте, настоящее изобретение в целом выражается соединением пептидного конъюгата формулы (I):



15 (I)

где

m и w независимы и каждое представляет собой целое число от 0 до 7, а v представляет собой целое число от 0 до 5,

при условии, что:

20 сумма m, v, и w, по меньшей мере, равна 3; а

сумма m и w составляет от 0 до 7;

n равно 1 или 2;

Z1 и Z2 независимы и каждое выбирается из группы, состоящей из: -O-, -NR-,
, -S-, -S(O)-, -SO₂-, -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)NR-, -NRC(O)-, -C(O)S-, -SC(O)-, -
25 OC(O)O-, -NRC(O)O-, -OC(O)NR- и -NRC(O)NR-;

R1, R2, R_x, R_y, R4, R5, R6 и R7, при каждом конкретном m, v, w, и n, каждое независимо представляет собой водород или C1-6 алифатическую группу;

R, R3 и R8 каждое независимо представляет собой водород или C1-6 алифатическую группу;

30 R9 представляет собой водород, C1-6 алифатическую группу, аминозащитную группу, L3-C(O)- или A2;

L1 и L2 каждое независимо выбирается из C5-21 алифатической группы или C4-20 гетероалифатической группы;

L3 представляет собой C1-21 алифатическую группу или C2-20 гетероалифатическую группу;

A1 представляет собой аминокислоту, пептид, OH, OP1, NH₂ или NHP2, где P1 представляет собой карбоксильную защитную группу, и где P2 представляет собой карбоксамидзащитную группу;

A2 представляет собой аминокислоту или пептид;

где любая алифатическая или гетероалифатическая группа, присутствующая в любом из R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 и L3, необязательно, замещена;

или их фармацевтически приемлемую соль или сольват;
при условии, что

(1) по меньшей мере, одна из R9 и A1 представляет собой пептид, включающий, состоящий по существу или состоящий из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

(a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄LQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:1], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,

(b) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃LQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:2], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,

(c) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂LQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:3], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,

(d) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKLQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:4],

(e) последовательности из любой из SEQ ID NO: 1 - 4,

(f) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:5],

(g) последовательности из SEQ ID NO: 5,

(h) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQXaa₂₂FLPVF [SEQ ID NO:6],

(i) последовательности из SEQ ID NO: 6,

5 (j) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSLLMWITQXaa₂₂ [SEQ ID NO:7],

(k) последовательности из SEQ ID NO: 7,

(l) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQXaa₂₂ [SEQ ID NO:8],

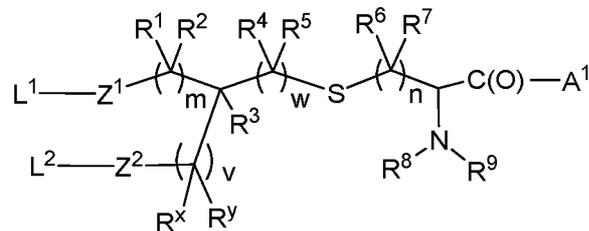
10 (m) последовательности из SEQ ID NO: 8,

(n) или любой комбинации из двух или более (a) - (m) выше,

где Xaa₂₂ в каждой последовательности независимо представляет собой любую встречающуюся в природе аминокислоту, кроме C (например, V, I или L), а любая последовательность из 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из любой
15 из вышеуказанных последовательностей включает Xaa₂₂; или

(2) m представляет собой целое число от 3 до 7, а, по меньшей мере, одно из R₉ и A₁ представляет собой аминокислоту или пептид.

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается соединением
20 пептидного конъюгата формулы (I):



(I)

25 где

m и w независимы и каждое представляет собой целое число от 0 до 7, а v представляет собой целое число от 0 до 5,

при условии, что:

сумма m, v, и w, по меньшей мере, равна 3; а

сумма m и w составляет от 0 до 7;

n равно 1 или 2;

$Z1$ и $Z2$ независимы и каждое выбирается из группы, состоящей из: $-O-$, $-NR-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-SO_2-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-C(O)NR-$, $-NRC(O)-$, $-C(O)S-$, $-SC(O)-$, $-OC(O)O-$, $-NRC(O)O-$, $-OC(O)NR-$ и $-NRC(O)NR-$;

$R1$, $R2$, R_x , R_y , R_4 , R_5 , R_6 и R_7 , при каждом конкретном m , v , w , и n , каждое независимо представляет собой водород или C1-6 алифатическую группу;

R , R_3 и R_8 каждое независимо представляет собой водород или C1-6 алифатическую группу;

R_9 представляет собой водород, C1-6 алифатическую группу, аминозащитную группу, $L3-C(O)-$ или $A2$;

$L1$ и $L2$ каждое независимо выбирается из C5-21 алифатической группы или C4-20 гетероалифатической группы;

$L3$ представляет собой C1-21 алифатическую группу или C2-20 гетероалифатическую группу;

$A1$ представляет собой аминокислоту, пептид, OH , $OP1$, NH_2 или $NHP2$, где $P1$ представляет собой карбоксильную защитную группу, и где $P2$ представляет собой карбоксамидзащитную группу;

$A2$ представляет собой аминокислоту или пептид;

где любая алифатическая или гетероалифатическая группа, присутствующая в любом из R , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_x , R_y , $L1$, $L2$ и $L3$, необязательно, замещена;

или их фармацевтически приемлемую соль или сольват;

при условии, что

(1) по меньшей мере, одна из R_9 и $A1$ представляет собой пептид, включающий, состоящий по существу или состоящий из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

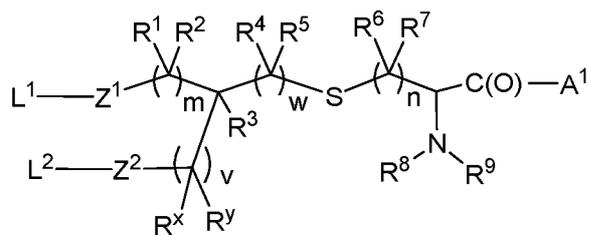
(a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности $Хаа_1Хаа_2Хаа_3Хаа_4LQQLSLLMWITQХаа_{22}FLPVFLAQPPSGQRR$ [SEQ ID NO:1], где $Хаа_1$ отсутствует или представляет собой S , $Хаа_2$ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, $Хаа_3$ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а $Хаа_4$ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,

(b) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности $Хаа_1Хаа_2Хаа_3LQQLSLLMWITQХаа_{22}FLPVFLAQPPSGQRR$ [SEQ ID NO:2], где $Хаа_1$ отсутствует или представляет собой S , $Хаа_2$ отсутствует или представляет собой

гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,

- 5 (c) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂LQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:3], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- (d) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKLQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:4],
- (e) последовательности из любой из SEQ ID NO: 1 - 4,
- 10 (f) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:5],
- (g) последовательности из SEQ ID NO: 5,
- (h) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQХаа₂₂FLPVF [SEQ ID NO:6],
- 15 (i) последовательности из SEQ ID NO: 6,
- (j) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSLLMWITQХаа₂₂ [SEQ ID NO:7],
- (k) последовательности из SEQ ID NO: 7,
- (l) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQХаа₂₂ [SEQ ID NO:8],
- 20 (m) последовательности из SEQ ID NO: 8,
- (n) или любой комбинации из двух или более (a) - (m) выше,
- где Хаа₂₂ в каждой последовательности независимо представляет собой любую встречающуюся в природе аминокислоту, кроме C (например, V, I или L), а любая последовательность из 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из любой из вышеуказанных последовательностей включает Хаа₂₂.

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается соединением пептидного конъюгата формулы (I):



(I)

5 где

m и w независимы и каждое представляет собой целое число от 0 до 7, а v представляет собой целое число от 0 до 5,

при условии, что:

сумма m , v , и w , по меньшей мере, равна 3; а

10 сумма m и w составляет от 0 до 7;

n равно 1 или 2;

$Z1$ и $Z2$ независимы и каждое выбирается из группы, состоящей из: $-O-$, $-NR-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-SO_2-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-C(O)NR-$, $-NRC(O)-$, $-C(O)S-$, $-SC(O)-$, $-OC(O)O-$, $-NRC(O)O-$, $-OC(O)NR-$ и $-NRC(O)NR-$;

15 $R1$, $R2$, R_x , R_y , $R4$, $R5$, $R6$ и $R7$, при каждом конкретном m , v , w , и n , каждое независимо представляет собой водород или C1-6 алифатическую группу;

R , $R3$ и $R8$ каждое независимо представляет собой водород или C1-6 алифатическую группу;

20 $R9$ представляет собой водород, C1-6 алифатическую группу, аминозащитную группу, $L3-C(O)-$ или $A2$;

$L1$ и $L2$ каждое независимо выбирается из C5-21 алифатической группы или C4-20 гетероалифатической группы;

$L3$ представляет собой C1-21 алифатическую группу или C2-20 гетероалифатическую группу;

25 $A1$ представляет собой аминокислоту, пептид, OH , $OP1$, NH_2 или $NHP2$, где $P1$ представляет собой карбоксильную защитную группу, и где $P2$ представляет собой карбоксамидзащитную группу;

$A2$ представляет собой аминокислоту или пептид;

30 где любая алифатическая или гетероалифатическая группа, присутствующая в любом из R , $R1$, $R2$, $R3$, $R4$, $R5$, $R6$, $R7$, $R8$, $R9$, R_x , R_y , $L1$, $L2$ и $L3$, необязательно, замещена;

или их фармацевтически приемлемую соль или сольват;

при условии, что

(2) m представляет собой целое число от 3 до 7, а, по меньшей мере, одно из R9 и A1 представляет собой аминокислоту или пептид.

Любой из вариантов осуществления или параметры, описанные здесь, могут относиться к любому из аспектов настоящего изобретения отдельно или в сочетании с любым одним или несколькими вариантами осуществления или параметрами, описанными здесь, если не указано иное или явно не противоречит контексту.

В различных вариантах осуществления,

10 R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 и R7, при каждом конкретном m , v , w , и n , каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, C2-6 алкенил, C2-6 алкинил или C3-6 циклоалкил;

R, R3 и R8 каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, C2-6 алкенил, C2-6 алкинил или C3-6 циклоалкил;

15 R9 представляет собой водород, C1-6 алкил, C2-6 алкенил, C2-6 алкинил, C3-6 циклоалкил, аминозащитную группу, L3-C(O)- или A2;

L1 и L2 каждое независимо выбирается из C5-21 алкила, C5-21 алкенила, C5-21 алкинила или C4-20 гетероалкила;

20 L3 представляет собой C1-21 алкил, C5-21 алкенил, C5-21 алкинил, C3-6 циклоалкил или C2-20 гетероалкил;

A1 представляет собой аминокислоту, пептид, OH, OP1, NH₂ или NHP2, где P1 представляет собой карбоксильную защитную группу, и где P2 представляет собой карбоксамидзащитную группу;

A2 представляет собой аминокислоту или пептид;

25 где любой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил или гетероалкил, присутствующий в любом из R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 и L3, необязательно замещен.

В различных вариантах осуществления,

30 R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 и R7, при каждом конкретном m , v , w , и n , каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, C2-6 алкенил или C3-6 циклоалкил;

R, R3 и R8 каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, C2-6 алкенил или C3-6 циклоалкил;

35 R9 представляет собой водород, C1-6 алкил, C2-6 алкенил, C3-6 циклоалкил, аминозащитную группу, L3-C(O)- или A2;

L1 и L2 каждое независимо выбирается из C5-21 алкила, C5-21 алкенила или C4-20 гетероалкила;

L3 представляет собой C1-21 алкил, C5-21 алкенил, C3-6 циклоалкил или C2-20 гетероалкил;

A1 представляет собой аминокислоту, пептид, OH, OP1, NH₂ или NHP2, где P1 представляет собой карбоксильную защитную группу, и где P2 представляет собой карбоксамидзащитную группу;

A2 представляет собой аминокислоту или пептид;

где любой алкил, алкенил, циклоалкил или гетероалкил, присутствующий в любом из R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 и L3, необязательно, замещен.

10

В различных вариантах осуществления,

R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 и R7, при каждом конкретном m, v, w, и n, каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил или C3-6 циклоалкил;

R, R3 и R8 каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил или C3-6 циклоалкил;

R9 представляет собой водород, C1-6 алкил, C3-6 циклоалкил, аминозащитную группу, L3-C(O)- или A2;

L1 и L2 каждое независимо выбирается из C5-21 алкила, C5-21 алкенила или C4-20 гетероалкила;

L3 представляет собой C1-21 алкил, C2-21 алкенил, C3-6 циклоалкил или C2-20 гетероалкил;

A1 представляет собой аминокислоту, пептид, OH, OP1, NH₂ или NHP2, где P1 представляет собой карбоксильную защитную группу, и где P2 представляет собой карбоксамидзащитную группу;

A2 представляет собой аминокислоту или пептид;

где любой алкил, алкенил, циклоалкил или гетероалкил, присутствующий в любом из R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 и L3, необязательно, замещен.

В различных вариантах осуществления,

R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 и R7, при каждом конкретном m, v, w, и n, каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил или C3-6 циклоалкил;

R, R3 и R8 каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил или C3-6 циклоалкил;

R9 представляет собой водород, C1-6 алкил, C3-6 циклоалкил, аминозащитную группу, L3-C(O)- или A2;

L1 и L2 каждое независимо выбирается из C5-21 алкила или C4-20 гетероалкила;

L3 представляет собой C1-21 алкил, C3-6 циклоалкил или C2-20 гетероалкил;

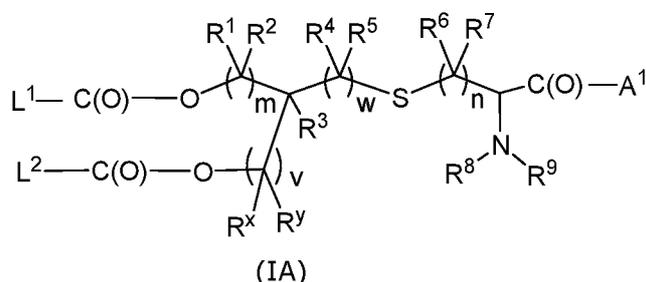
A1 представляет собой аминокислоту, пептид, OH, OP1, NH₂ или NHP2, где P1 представляет собой карбоксильную защитную группу, и где P2 представляет собой карбоксамидзащитную группу;

A2 представляет собой аминокислоту или пептид;

- 5 где любой алкил, циклоалкил или гетероалкил, присутствующий в любом из R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R_x, R_y, L1, L2 и L3, необязательно замещен.

В различных вариантах осуществления, Z1 и Z2 каждый независимо выбирается из группы, состоящей из -C(O)O-, -C(O)NR- и -C(O)S-.

- 10 В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (IA):



- 15 В различных вариантах осуществления, v составляет от 0 до 4, от 0 до 3, или от 0 до 2, или v равно 0 или 1, например, 0.

В некоторых вариантах осуществления, m составляет от 0 до 3. В примерах осуществления, v равно 0.

- 20 В различных вариантах осуществления, m и w каждое независимо составляет от 0 до 6, от 0 до 5, от 0 до 4, от 0 до 3, от 0 до 2, от 1 до 7, от 1 до 6, от 1 до 5, от 1 до 4, от 1 до 3 или от 1 до 2.

В различных вариантах осуществления, m и w каждое независимо составляет от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления, m и w каждое независимо составляет от 1 до 4.

- 25 В различных вариантах осуществления, m составляет от 1 до 6, например, от 2 до 6, от 1 до 5 или от 2 до 5. В различных вариантах осуществления, m составляет от 1 до 5. В различных вариантах осуществления, m составляет от 1 до 3. В примерах осуществления, m равно 2.

- 30 В различных вариантах осуществления, m составляет от 3 до 6. В некоторых вариантах осуществления, m составляет от 3 до 5.

В различных вариантах осуществления, w равно 1 или 2. В примерах осуществления, w равно 1.

В различных вариантах осуществления, сумма m и w составляет от 0 до 6, от 0 до 5, от 0 до 4, от 0 до 3, от 1 до 7, от 1 до 6, от 1 до 5, от 1 до 4, от 1 до 3, от 2 до 7, от 2 до 6, от 2 до 5, от 2 до 4 или от 2 до 3.

В различных вариантах осуществления, сумма m и w составляет от 2 до 7.

В некоторых вариантах осуществления, сумма m и w составляет от 2 до 5.

В примерах осуществления, сумма m и w равна 3.

В различных вариантах осуществления, v составляет от 0 до 3, m и w каждое независимо составляет от 0 до 5, а сумма m и w составляет от 2 до 7.

В различных вариантах осуществления, v составляет от 1 или 0, m и w каждое независимо составляет от 0 до 5, а сумма m и w составляет от 2 до 7.

В различных вариантах осуществления, v равно 1 или 0, m и w каждое независимо составляет от 1 до 4, а сумма m и w составляет от 2 до 7.

В различных вариантах осуществления, v равно 1 или 0, m и w каждое независимо составляет от 1 до 4, а сумма m и w составляет от 2 до 5.

В некоторых вариантах осуществления, v равно 1 или 0, m составляет от 1 до 6, а w равно 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления, v равно 1 или 0, m составляет от 1 до 5, а w равно 1 или 2.

В некоторых вариантах осуществления, v равно 0, m составляет от 1 до 6, а w равно 1.

В некоторых вариантах осуществления, v равно 0 или 1, m составляет от 1 до 3, а w равно 1 или 2.

В примерах осуществления, v равно 0, m составляет от 2 до 5, а w равно 1.

В примерах осуществления, v равно 0, m равно 2, а w равно 1.

В некоторых вариантах осуществления, v равно 0, m составляет от 3 до 5, а w равно 1.

В примерах осуществления, n равно 1.

В некоторых вариантах осуществления, L1 и L2 каждое независимо представляет собой C5-21 алифатическую группу, например, C9-21 алифатическую группу, C11-21 алифатическую группу или C11-, C13-, C15-, C17- или C19 алифатическую группу.

5 В некоторых вариантах осуществления, L1 и L2 каждое независимо представляет собой C5-21 алкил.

В некоторых вариантах осуществления, L1 и L2 каждое независимо представляет собой C9-21 алкил. В некоторых вариантах осуществления, L1 и L2 каждое независимо представляет собой C11-21 алкил.

10 В разных примерах осуществления, L1 и L2 каждое независимо представляет собой C11, C13, C15, C17, или C19 алкил, предпочтительно, н-алкил.

В различных специально рассматриваемых вариантах осуществления, L1 и L2 каждое независимо представляет собой C15 алкил.

В различных вариантах осуществления, L1 и L2 каждое независимо содержит линейную цепочку из 9-21 атомов углерода.

15 В примерах осуществления, L1 и L2 каждое независимо представляет собой линейный C15 алкил.

В некоторых вариантах осуществления, L3 представляет собой C1-21 алкил.

В различных вариантах осуществления, L3 представляет собой метил или линейный C15 алкил.

20 В примерах осуществления, L3 представляет собой метил (т.е., R9 представляет собой ацетил).

В некоторых вариантах осуществления, аминоксигруппа предоставляет собой Boc, Fmoc, Cbz (карбоксобензил), Nosyl (о- или р-нитрофенилсульфонил), Bros (2-4-бифенилизопропоксикарбонил) и Dde (1-4,4-диметил-2,6-диоксогексиденэтил).

25 В некоторых вариантах осуществления, аминоксигруппа предоставляет собой Boc или Fmoc.

В некоторых вариантах осуществления, аминоксигруппа предоставляет собой Fmoc.

30 В некоторых вариантах осуществления, карбоксильная защитная группа представляет собой трет-бутил, бензил или аллил.

В некоторых вариантах осуществления, карбоксильная защитная группа предоставляет собой Dmcp или тритил.

5 В некоторых вариантах осуществления, R1 и R2, при каждом конкретном m, каждое независимо представляет собой C1-6 алкил или водород. В различных специально рассматриваемых вариантах осуществления, R1 и R2, при каждом конкретном m, каждое независимо представляет собой водород.

В различных вариантах осуществления, R3 представляет собой C1-6 алкил или водород. В различных специально рассматриваемых вариантах осуществления, R3 представляет собой водород.

10 В различных вариантах осуществления, R4 и R5, при каждом конкретном w, каждое независимо представляет собой C1-6 алкил или водород, предпочтительно водород. В различных специально рассматриваемых вариантах осуществления, R4 и R5, при каждом конкретном w, каждое независимо представляет собой водород.

15 В различных вариантах осуществления, Rx и Ry, при каждом конкретном v, каждое независимо представляет собой C1-6 алкил или водород. В различных специально рассматриваемых вариантах осуществления, Rx и Ry, при каждом конкретном v, каждое представляет собой водород.

20 В различных вариантах осуществления, R6 и R7, при каждом конкретном n, каждое независимо представляет собой C1-6 алкил или водород. В различных специально рассматриваемых вариантах осуществления, R6 и R7 каждое представляет собой водород.

В различных вариантах осуществления, R8 независимо представляет собой C1-6 алкил или водород. В примерах осуществления, R8 представляет собой водород.

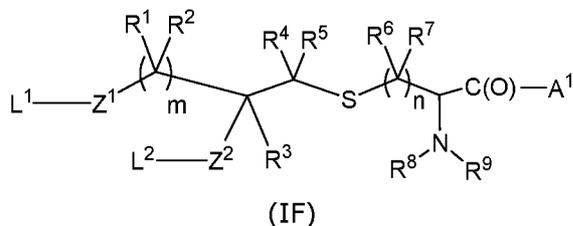
25 В различных вариантах осуществления, R9 представляет собой C1-6 алкил, водород, аминозащитную группу, L3-C(O)- или A2. В примерах осуществления, R9 представляет собой водород, аминозащитную группу, L3-C(O)- или A2.

В различных вариантах осуществления, R8 представляет собой водород, а R9 представляет собой водород, аминозащитную группу, L3-C(O)- или A2.

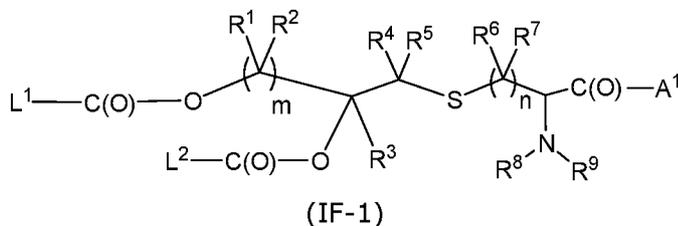
30 В различных вариантах осуществления, R8 и R9 каждое представляет собой водород; или R9 представляет собой L3-C(O) или A2.

В различных примерах осуществления, R8 представляет собой водород, а R9 представляет собой L3-C(O). В различных специально рассматриваемых вариантах осуществления, R9 представляет собой L3-C(O), где L3 представляет собой метил.

В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой
5 соединение формулы (IF):

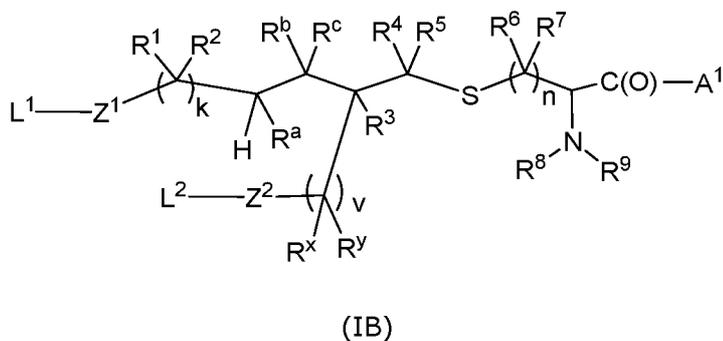


В различных вариантах осуществления соединение формулы (IF) представляет собой
соединение формулы (IF-1):



10

В различных вариантах осуществления соединение формулы (I) представляет собой
соединение формулы (IB):



15

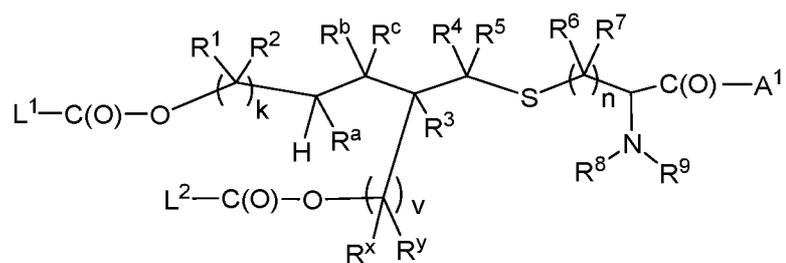
где

k представляет собой целое число от 0 до 4 (т.е. k составляет от 0 до 4, когда применяется условие (1) первого аспекта, и составляет от 1 до 4, когда применяется условие (2) первого аспекта); и

20

Ra, Rb и Rc каждое независимо представляет собой водород или C1-6 алифатическую группу.

В различных вариантах осуществления, соединение формулы (IB) представляет собой
соединение формулы (IC):



(IC)

В различных вариантах осуществления, k составляет от 0 до 3, от 0 до 2, от 0 до 1, от 1 до 4, от 1 до 3 или от 1 до 2, или k равно 0 или 1.

5 В некоторых вариантах осуществления, k составляет от 0 до 3.

В некоторых вариантах осуществления, k равно 0 или 1.

В примерах осуществления, k равно 0.

В некоторых вариантах осуществления, k равно v .

В некоторых вариантах осуществления, k составляет от 1 до 3.

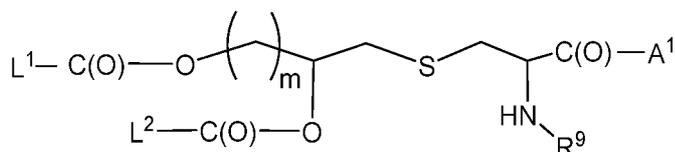
10 В различных вариантах осуществления, R_a , R_b и R_c каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, C2-6 алкенил, C2-6 алкинил или C3-6 циклоалкил.

В различных вариантах осуществления, R_a , R_b и R_c каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, C2-6 алкенил или C3-6 циклоалкил.

15 В различных вариантах осуществления, R_a , R_b и R_c каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил или C3-6 циклоалкил.

В различных вариантах осуществления, R_a , R_b и R_c каждое независимо выбирается из водорода, C1-6 алкила, предпочтительно водорода. В примерах осуществления, R_a , R_b и R_c каждое представляет собой водород.

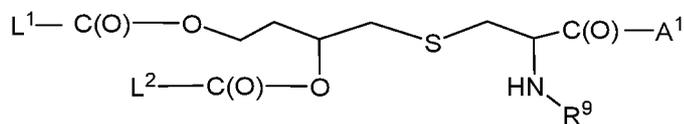
20 В различных вариантах осуществления соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (ID-1):



(ID-1)

В различных вариантах осуществления, m в соединении формулы (ID-1) составляет от 3 до 5.

В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (ID):



5

(ID)

В некоторых вариантах осуществления, соединение представляет собой соединение формулы (ID), где L_1 и L_2 каждое представляет собой линейный C15 алкил.

В различных вариантах осуществления, L_1 и L_2 каждое независимо представляет собой C11-21 алкил; m составляет от 2 до 5; v равно 0; w равно 1; R_1 и R_2 в каждом конкретном случае представляют собой водород; R_3 представляет собой водород; a R_4 и R_5 каждое представляют собой водород.

В различных вариантах осуществления, L_1 и L_2 каждое независимо представляет собой C11-21 алкил; m составляет от 3 до 5; v равно 0; w равно 1; R_1 и R_2 в каждом конкретном случае представляют собой водород; R_3 представляет собой водород; a R_4 и R_5 каждое представляют собой водород.

В различных вариантах осуществления, L_1 и L_2 каждое независимо представляет собой C11-21 алкил; m равно 2; v равно 0; w равно 1; R_1 и R_2 в каждом конкретном случае представляют собой водород; R_3 представляет собой водород; a R_4 и R_5 каждое представляют собой водород.

В различных вариантах осуществления, n равно 1; R_6 , R_7 и R_8 каждое представляют собой водород; a R_9 представляет собой водород, аминозащитную группу, $L_3-\text{C}(\text{O})-$ или A_2 .

В различных вариантах осуществления, n равно 1; R_6 , R_7 и R_8 каждое представляют собой водород; a R_9 представляет собой водород, аминозащитную группу или $L_3-\text{C}(\text{O})$, где L_3 представляет собой линейный C15 алкил или метил.

В различных вариантах осуществления, L_1 и L_2 каждое независимо представляет собой C11-21 алкил; m составляет от 2 до 5; v равно 0; w равно 1; R_1 и R_2 в каждом конкретном случае каждое представляет собой водород; R_3 представляет собой водород; R_4 и R_5 каждое представляет собой водород; n равно 1; R_6 , R_7 и R_8 каждое

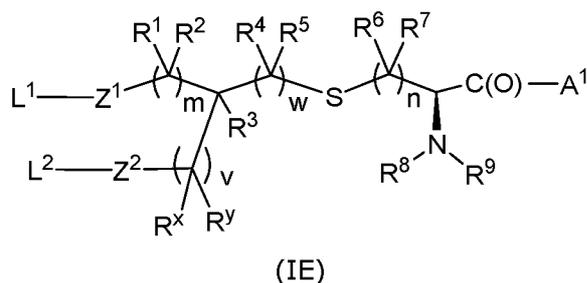
30

представляет собой водород; а R9 представляет собой водород, аминозащитную группу или L3–C(O), где L3 представляет собой линейный C15 алкил или метил.

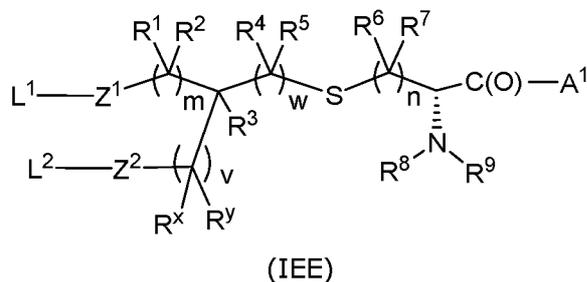
В различных вариантах осуществления, L1 и L2 каждое независимо представляет собой C11-21 алкил; m составляет от 3 до 5; v равно 0; w равно 1; R1 и R2 в каждом конкретном случае каждое представляет собой водород; R3 представляет собой водород; R4 и R5 каждое представляет собой водород; n равно 1; R6, R7 и R8 каждое представляет собой водород; а R9 представляет собой водород, аминозащитную группу или L3–C(O), где L3 представляет собой линейный C15 алкил или метил.

В различных вариантах осуществления, L1 и L2 каждое независимо представляет собой C11-21 алкил; m равно 2; v равно 0; w равно 1; R1 и R2 в каждом конкретном случае представляют собой водород; R3 представляет собой водород, R4 и R5 каждое представляет собой водород; n равно 1; R6, R7 и R8 каждое представляет собой водород; а R9 представляет собой водород, аминозащитную группу или L3–C(O), где L3 представляет собой линейный C15 алкил или метил.

В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) имеет формулу (IE):

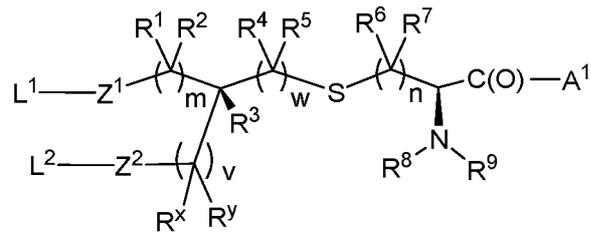


В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) имеет формулу (IEE):



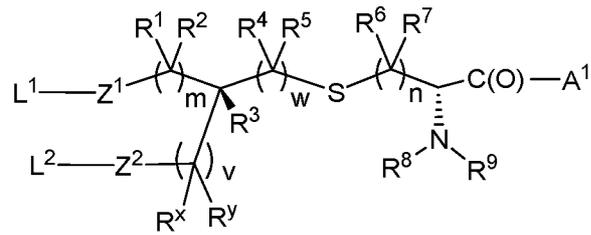
20

В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) имеет формулу (IE-1):



(IE-1)

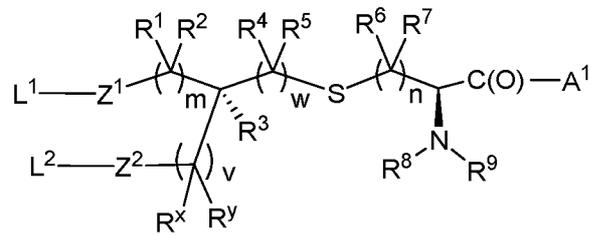
В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) имеет формулу (IEE-1):



(IEE-1)

5

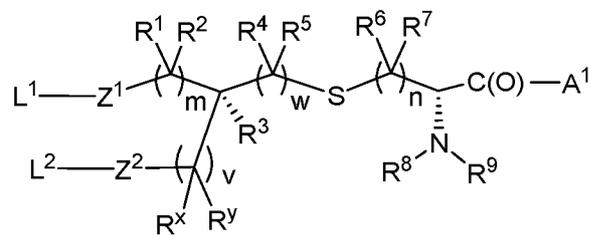
В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) имеет формулу (IE-2):



(IE-2)

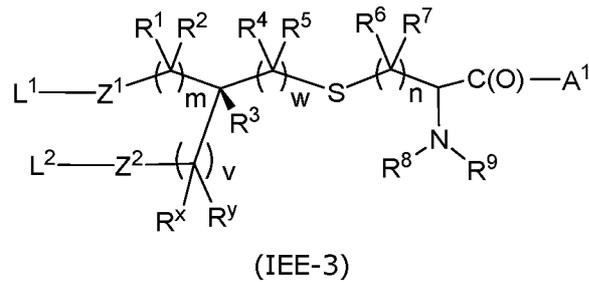
10

В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) имеет формулу (IEE-2):

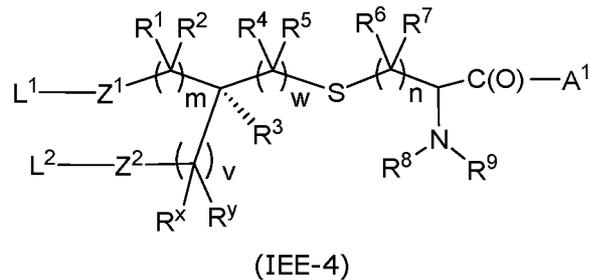


(IEE-2)

15 В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) имеет формулу (IEE-3):



В различных вариантах осуществления, соединение формулы (I) имеет формулу (IEE-4):



5

В различных вариантах осуществления, аминокислота аминокислотного или пептидного конъюгата, с которым конъюгированы липидные фрагменты, представляет собой цистеиновый остаток.

10 Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение понятно, что в некоторых вариантах осуществления фрагменты L1-Z1- и L2-Z2- могут представлять собой группы жирных кислот, например, сложные эфиры жирных кислот. В различных вариантах осуществления, фрагменты могут представлять собой насыщенные или ненасыщенные сложные эфиры жирных кислот. В некоторых вариантах осуществления жирная кислота является насыщенной.

15

В различных вариантах осуществления, жирная кислота представляет собой C4-22 жирную кислоту. В некоторых вариантах осуществления, жирная кислота представляет собой C6-22 жирную кислоту.

В некоторых вариантах осуществления, жирная кислота представляет собой C10-22 жирную кислоту. В некоторых специально рассматриваемых вариантах осуществления, жирная кислота представляет собой C12-22 жирную кислоту. В различных примерах осуществления, жирная кислота представляет собой C12, C14, C16, C18 или C20 жирную кислоту.

20

В некоторых вариантах осуществления, жирная кислота представляет собой лауриновую кислоту, миристиновую кислоту, пальмитиновую кислоту, стеариновую кислоту, арахидоновую кислоту, пальмитолеиновую кислоту, олеиновую кислоту,

25

элаидиновую кислоту, линолевую кислоту, α-линоленовую кислоту и арахидоновую кислоту.

5 В различных вариантах осуществления, жирная кислота представляет собой лауриновую кислоту, миристиновую кислоту, пальмитиновую кислоту или стеариновую кислоту.

В некоторых примерах осуществления, жирная кислота представляет собой пальмитиновую кислоту (а фрагменты L1-Z1- и L2-Z2- каждый представляет собой пальмитоильные группы).

10 В некоторых вариантах осуществления, A1 представляет собой OH, OP1, NH2 или NHP2, или R9 представляет собой водород, C1-6 алкил, C3-6 циклоалкил, аминозащитную группу или L3-C(O).

В некоторых вариантах осуществления, A1 представляет собой OP1 или OH, или R9 представляет собой водород, аминозащитную группу или L3-C(O).

15 В различных вариантах осуществления, R9 представляет собой водород, аминозащитную группу или L3-C (O). В некоторых вариантах осуществления R9 представляет собой водород или L3-C (O).

В различных вариантах осуществления соединение формулы (I) представляет собой пептидный конъюгат.

20 В различных вариантах осуществления, по меньшей мере, одна из A1 и R9 представляет собой пептид, включающий, состоящий по существу или состоящий из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из тех групп, которые определены условием (1) первого аспекта.

25 В различных вариантах осуществления, пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

(a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQXaa₂₂FLPVF [SEQ ID NO:6],

(b) последовательности из SEQ ID NO: 6,

30 (c) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSLLMWITQXaa₂₂ [SEQ ID NO:7],

(d) последовательности из SEQ ID NO: 7,

(e) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQХаа₂₂ [SEQ ID NO:8],

(f) последовательности из SEQ ID NO: 8,

(g) или любой комбинации из двух или более (a) - (f) выше,

5 В различных вариантах осуществления, пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

(a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSLLMWITQХаа₂₂ [SEQ ID NO:7],

10 (b) последовательности из SEQ ID NO: 7,

(c) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQХаа₂₂ [SEQ ID NO:8],

(d) последовательности из SEQ ID NO: 8,

или любой комбинации из двух или более (a) - (d) выше,

15 В различных вариантах осуществления, пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

(a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSLLMWITQХаа₂₂ [SEQ ID NO:7],

20 (b) последовательности из SEQ ID NO: 7.

В различных вариантах осуществления, пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

(a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQХаа₂₂ [SEQ ID NO:8],

(b) последовательности из SEQ ID NO: 8.

В различных вариантах осуществления, Хаа₂₂ в каждой последовательности независимо представляет собой V, I или L (то есть, каждая Хаа₂₂ независимо представляет собой V, I или L).

В примерах осуществления, Хаа₂₂ в каждой последовательности независимо представляет собой V (то есть, каждая Хаа₂₂ представляет собой V).

5 В различных вариантах осуществления, m составляет от 3 до 7, а, по меньшей мере, одно из A1 и R9 представляет собой аминокислоту или пептид, как определено условием (2) первого аспекта. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, одно из A1 и R9 представляет собой пептид. В различных вариантах осуществления, A1 и/или A2 представляет собой аминокислоту или пептид. То есть, в различных вариантах осуществления, A1 представляет собой аминокислоту или пептид, и/или R9 представляет собой аминокислоту или пептид.

В некоторых вариантах осуществления, A1 и/или A2 представляет собой пептид. То есть, в различных вариантах осуществления, A1 представляет собой пептид, и/или R9 представляет собой пептид.

15 В одном варианте осуществления, A1 и/или A2 представляет собой пептид, включающий антигенную детерминанту.

В некоторых вариантах осуществления, A1 и/или A2 представляет собой пептид, включающий пептидную антигенную детерминанту.

В другом варианте осуществления, A1 и/или A2 представляет собой пептид, где пептид включает пептидную антигенную детерминанту.

20 В некоторых вариантах осуществления, A1 и/или A2 представляет собой пептид, замещенный антигенной детерминантой.

В некоторых вариантах осуществления, антигенная детерминанта связывается с пептидом с помощью линкерной группы.

В некоторых вариантах осуществления, A1 представляет собой пептид.

25 В некоторых примерах осуществления, A1 представляет собой пептид, а R9 не представляет собой A2 (т.е., R9 не представляет собой аминокислоту или пептид).

В некоторых примерах осуществления, A1 представляет собой пептид, а R9 представляет собой водород или L3-C(O), например, Me-C(O).

В различных вариантах осуществления, пептид содержит антигенную детерминанту.

30 В различных вариантах осуществления, антигенная детерминанта представляет собой пептидную антигенную детерминанту.

В некоторых вариантах осуществления, антигенная детерминанта сопрягается или связывается с помощью линкерной группы.

5 В различных вариантах осуществления, аминокислота пептидного конъюгата, с которым конъюгированы липидные фрагменты, представляет собой N-концевой аминокислотный остаток.

В различных вариантах осуществления, A1 представляет собой серин или пептид, включающий серин в качестве первого N-концевого аминокислотного остатка.

В некоторых вариантах осуществления, A1 представляет собой пептид, включающий серин в качестве первого N-концевого аминокислотного остатка.

10 В различных вариантах осуществления, пептидный конъюгат включает одну или более солюбилизирующих групп.

В некоторых вариантах осуществления, солюбилизирующая группа включает аминокислотную последовательность, содержащую два или более гидрофильных аминокислотных остатков в пептидной цепи.

15 В различных вариантах осуществления, солюбилизирующая группа представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую последовательность из двух или более последовательных гидрофильных аминокислотных остатков в пептидной цепи.

20 В различных вариантах осуществления, два или более гидрофильных аминокислотных остатков примыкают к сериновому остатку.

В некоторых вариантах осуществления, A1 и/или A2 представляет собой пептид, включающий солюбилизирующую группу.

25 В различных вариантах осуществления, A1 и/или A2 представляет собой пептид, содержащий солюбилизирующую группу, содержащую аминокислотную последовательность, включающую два или более гидрофильных аминокислотных остатков в пептидной цепи.

30 В некоторых вариантах осуществления, A1 представляет собой пептид, содержащий солюбилизирующую группу, содержащую аминокислотную последовательность, включающую два или более гидрофильных аминокислотных остатков в пептидной цепи.

В некоторых вариантах осуществления, A1 представляет собой пептид, содержащий серин в качестве первого N-концевого аминокислотного остатка и солюбилизирующую

группу, содержащую аминокислотную последовательность, включающую два или более гидрофильных аминокислотных остатков в пептидной цепи, примыкающей к серину.

5 В некоторых вариантах осуществления, соединение содержит линкер или одну или более аминокислот. В некоторых вариантах осуществления, пептид содержит линкер или одну или более аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления пептид содержит пептидную антигенную детерминанту, связанную посредством линкера с аминокислотой, с которой связаны липидные фрагменты.

10 В некоторых вариантах осуществления, пептид содержит две или более антигенных детерминант.

В некоторых вариантах осуществления, пептид содержит антигенный пептид.

15 В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую примерно от 2 до 20, от 2 до 18, от 2 до 16, от 2 до 14, от 2 до 12, от 2 до 10 или от 2 до 8 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления, соединение формулы (I) содержит 3 или более, 4 или более или 5 или более примыкающих аминокислот.

В различных вариантах осуществления, пептидный конъюгат представляет собой липопептид.

20 В некоторых вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой самоадъювантный пептид.

25 В некоторых вариантах осуществления, A1 и/или A2 каждое независимо представляет собой пептид, содержащий примерно от 8 до 220, от 8 до 200, от 8 до 175, от 8 до 150, от 8 до 125, от 8 до 100, от 8 до 90, от 8 до 80, от 8 до 70, от 8 до 60, от 8 до 50, от 8 до 40, от 8 до 30, от 8 до 25, от 8 до 20 или от 8 до 15 аминокислот. В одном примерном варианте осуществления, A1 и A2 каждое независимо представляет собой пептид, содержащий примерно от 8 до 60 аминокислот.

30 В других вариантах осуществления, A1 и/или A2 каждое независимо представляет собой пептид, содержащий примерно от 8 до 220, от 8 до 200, от 8 до 175, от 8 до 150, от 8 до 125, от 8 до 100, от 8 до 90, от 8 до 80, от 8 до 70, от 8 до 60, от 8 до 50, от 8 до 40, от 8 до 30, от 8 до 25, от 8 до 20 или от 8 до 15 аминокислот.

В других вариантах осуществления, A1 и/или A2 каждое независимо представляет собой пептид, содержащий примерно от 5 до 150, от 5 до 125, от 5 до 100, от 5 до 75, от 5 до 60, от 5 до 50, от 5 до 40, от 5 до 30, от 5 до 25, от 5 до 20, от 8 до 150, от 8 до 125, от 8 до 100, от 8 до 75, от 8 до 60, от 8 до 50, от 8 до 40, от 8 до 30, от 8 до 25 или от 8 до 20 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления, A1 и/или A2 каждое независимо представляет собой пептид, где пептид содержит от 8 до 60 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления, A1 и/или A2 каждое независимо представляет собой пептид, содержащий или замещенный пептидной антигенной детерминантой, где пептидная антигенная детерминанта содержит от 8 до 60 аминокислот.

Подходящие пептидные антигенные детерминанты включают, без ограничения, детерминанты, описаны в патенте WO 2016/103192, зарегистрированном 22 декабря 2015 г., содержание которого полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

В различных вариантах осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из одной или более антигенных детерминант EBV LMP2. В различных вариантах осуществления, одна или более антигенных детерминант EBV LMP2 являются антигенными детерминантами MHC I. В различных вариантах осуществления, пептид включает одну или более антигенных детерминант EBV LMP2, выбранных из группы, состоящей из любой из SEQ ID NO: 84-109. В различных вариантах осуществления, пептид включает пептид, содержащий или состоящий из 8 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83. В различных вариантах осуществления, пептид включает пептид, содержащий или состоящий из 12 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83. В различных вариантах осуществления, пептид включает пептид, содержащий или состоящий из 15 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83, или содержащий или состоящий из 20 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83.

В различных вариантах осуществления, пептид включает рекомбинантный пептид, содержащий или состоящий из 12 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83. В различных вариантах осуществления рекомбинантный пептид включает или состоит из 15 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой

из SEQ ID NO: 9-83, или включает или состоит из 20 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83.

В различных вариантах осуществления пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной группы, состоящей из
5 любой из SEQ ID NO: 9 - 83.

В различных вариантах осуществления пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

- 10 (a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:9], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 15 (b) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:10], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных
20 аминокислот,
- (c) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:11], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных
25 аминокислот,
- (d) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:12],
- (e) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:13],
- 30 (f) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃SLYLGLQHGDNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:14], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃

отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,

- 5 (g) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:15], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 10 (h) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:16], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 15 (i) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:17],
- (j) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:18],
- 20 (k) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄SDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID NO:19], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 25 (l) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃SDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID NO:20], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 30 (m) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂SDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID NO:21], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,

- (n) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSDYQPLGTQDQSLYLGLQHHDGNDGL [SEQ ID NO:22],
- (o) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SDYQPLGTQDQSLYLGLQHHDGNDGL [SEQ ID NO:23],
- 5 (p) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:24], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 10
- (q) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:25], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 15
- (r) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:26], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 20
- (s) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:27],
- 25
- (t) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:28],
- (u) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄LLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLL [SEQ ID NO:29], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 30

- (v) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃LLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALL [SEQ ID NO:30], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 5
- (w) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂LLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALL [SEQ ID NO:31], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 10
- (x) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALL [SEQ ID NO:32],
- (y) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALL [SEQ ID NO:33],
- 15
- (z) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄LMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLA [SEQ ID NO:34], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 20
- (aa) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃LMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLA [SEQ ID NO:35], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 25
- (bb) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂LMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLA [SEQ ID NO:36], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 30

- (cc) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLA [SEQ ID NO:37],
- (dd) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLA [SEQ ID NO:38],
- 5 (ee) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄LMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILL [SEQ ID NO:39], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 10
- (ff) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃LMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILL [SEQ ID NO:40], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 15
- (gg) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂LMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILL [SEQ ID NO:41], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 20
- (hh) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILL [SEQ ID NO:42],
- (ii) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILL [SEQ ID NO:43],
- 25 (jj) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄LLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLA [SEQ ID NO:44], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 30
- (kk) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃LLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLA [SEQ ID NO:45], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃

отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,

- 5 (ll) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂LLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLA [SEQ ID NO:46], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- (mm) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLA [SEQ ID NO:47],
- 10 (nn) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLA [SEQ ID NO:48],
- (oo) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄LNLTTMFLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLASALIA GCSI [SEQ ID NO:49], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 15
- (pp) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃LNLTTMFLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLASALIAGGS I [SEQ ID NO:50], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 20
- (qq) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂LNLTTMFLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLASALIAGGSI [SEQ ID NO:51], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 25
- (rr) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKLNLTTMFLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLLASALIAGGSI [SEQ ID NO:52],
- 30

- (ss) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LNLTTMFLLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLASE [SEQ ID NO:53],
- 5 (tt) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄FLLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLASE [SEQ ID NO:54], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 10 (uu) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃FLLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLASE [SEQ ID NO:55], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 15 (vv) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂FLLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLASE [SEQ ID NO:56], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 20 (ww) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKFLLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLASE [SEQ ID NO:57],
- (xx) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности FLLMLLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARFLYALALLLASE [SEQ ID NO:58],
- 25 (yy) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄LQGIYVLMVLVLLILAYRRRWRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAVLQLSPLL [SEQ ID NO:59], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 30 (zz) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃LQGIYVLMVLVLLILAYRRRWRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAVLQLSPLL

[SEQ ID NO:60], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,

- 5 (aaa) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂LQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAVLQLSPLL [SEQ ID NO:61], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 10 (bbb) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKLQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAVLQLSPLL [SEQ ID NO:62],
- (ccc) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAVLQLSPLL [SEQ ID NO:63],
- 15 (ddd) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSTLLSAWILTAGFLIFLIGFA [SEQ ID NO:64], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 20 (eee) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSTLLSAWILTAGFLIFLIGFA [SEQ ID NO:65], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 25 (fff) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSTLLSAWILTAGFLIFLIGFA [SEQ ID NO:66], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 30

- (ggg) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSENTLLSAWILTAGFLIFLIGFA [SEQ ID NO:67],
- 5 (hhh) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSENTLLSAWILTAGFLIFLIGFA [SEQ ID NO:68],
- 10 (iii) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄SNEEPPPPYEDPYWNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPP [SEQ ID NO:69], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 15 (jjj) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃SNEEPPPPYEDPYWNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPP [SEQ ID NO:70], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 20 (kkk) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂SNEEPPPPYEDPYWNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPP [SEQ ID NO:71], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 25 (lll) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSNEEPPPPYEDPYWNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPP [SEQ ID NO:72],
- (mmm) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SNEEPPPPYEDPYWNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPP [SEQ ID NO:73],
- 30 (nnn) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIEEAGRGSMPVCLPVIVAPYLFWLAAIAA S [SEQ ID NO:74], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой

гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,

- 5 (ooo) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMPVCLPVIVAPYFLWLAAIAAS [SEQ ID NO:75], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 10 (ppp) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMPVCLPVIVAPYFLWLAAIAAS [SEQ ID NO:76], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 15 (qqq) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMPVCLPVIVAPYFLWLAAIAAS [SEQ ID NO:77],
- 20 (rrr) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMPVCLPVIVAPYFLWLAAIAAS [SEQ ID NO:78],
- 25 (sss) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLLTPVTVLT [SEQ ID NO:79], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 30 (ttt) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLLTPVTVLT [SEQ ID NO:80], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,

- (uuu) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLLTPVTVLT [SEQ ID NO:81], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S или гидрофильную аминокислоту, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 5
- (vvv) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKAAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLLTPVTVLT [SEQ ID NO:82],
- (www) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLLTPVTVLT [SEQ ID NO:83],
- 10
- (xxx) последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83,
- (yyu) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности из любой из ESNEEPPPPY [SEQ ID NO: 84],
- 15 SNEEPPPPY [SEQ ID NO: 85],
HSDYQPLGT [SEQ ID NO: 86],
PLGTQDQSL [SEQ ID NO: 87],
PLGTQDQSLY [SEQ ID NO: 88],
LGTQDQSLY [SEQ ID NO: 89],
GTQDQSLYL [SEQ ID NO: 90],
- 20 GTQDQSLYL [SEQ ID NO: 91],
GTQDQSLYLG [SEQ ID NO: 92],
QSLYLGLQH [SEQ ID NO: 93],
SLYLGLQHD [SEQ ID NO: 94],
GLQHDGNDGL [SEQ ID NO: 95],
- 25 GNDGLPPPPY [SEQ ID NO: 96],
GLPPPPYSP [SEQ ID NO: 97],
GLPPPPYSPR [SEQ ID NO: 98],
PRDDSSQHIY [SEQ ID NO: 99],
RDDSSQHIY [SEQ ID NO: 100],
- 30 HIYEEAGRG [SEQ ID NO: 101],
ILLARFLY [SEQ ID NO: 102],
SSCSCPLSKI [SEQ ID NO: 103],
LLWTLVLL [SEQ ID NO: 104],
FLYALALL [SEQ ID NO: 105],
- 35 CLGGLLTMV [SEQ ID NO: 106],
LIVDAVLQL [SEQ ID NO: 107],

LTAGFLIFL [SEQ ID NO: 108],

TVCGGIMFL [SEQ ID NO: 109],

(zzz) последовательности из любой из SEQ ID NO: 83 - 109,

(aaaa) или любой комбинации из двух или более (a) - (zzz) выше.

5 В одном примере осуществления, пептид включает одну или более антигенных детерминант, полученных из латентного мембранного белка 2 (LMP2), например, из полноразмерного EBV LMP2 (аминокислоты 1-497). В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей

10 из 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из любой из SEQ ID NO: 12, 13, 17, 18, 22, 23, 27, 28, 32, 33, 37, 38, 42, 43, 47, 48, 52, 53, 57, 58, 62, 63, 67, 68, 72, 73, 77, 78, 82 или 83.

В другом специально рассматриваемом варианте осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из

15 группы, состоящей из 12 или более примыкающих аминокислотных остатков из любой из SEQ ID NO: 12, 13, 17, 18, 22, 23, 27, 28, 32, 33, 37, 38, 42, 43, 47, 48, 52, 53, 57, 58, 62, 63, 67, 68, 72, 73, 77, 78, 82 или 83.

В другом специально рассматриваемом варианте осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из

20 группы, состоящей из 15 или более, 18 или более, 20 или более, 25 или более примыкающих аминокислотных остатков из любой из SEQ ID NO: 12, 13, 17, 18, 22, 23, 27, 28, 32, 33, 37, 38, 42, 43, 47, 48, 52, 53, 57, 58, 62, 63, 67, 68, 72, 73, 77, 78, 82 или 83.

В одном варианте осуществления, пептид включает, состоит или состоит по существу

25 из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой из SEQ ID NO: 12, 13, 17, 18, 22, 23, 27, 28, 32, 33, 37, 38, 42, 43, 47, 48, 52, 53, 57, 58, 62, 63, 67, 68, 72, 73, 77, 78, 82 или 83.

В другом специально рассматриваемом варианте осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из

30 группы, состоящей из 15 или более, 18 или более, 20 или более, 25 или более примыкающих аминокислотных остатков из любой SEQ ID NO: 9 - 83.

В одном варианте осуществления, пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой из SEQ ID NO: 9 - 83.

В одном варианте осуществления, пептид включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из любой из SEQ ID NO: 84 - 109. В одном примере осуществления, пептид включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из любой из SEQ ID NO: 84 - 101.

В одном варианте осуществления, пептид включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из любых двух или более из SEQ ID NO: 84 - 109. В одном примере осуществления, пептид включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из любых двух или более из SEQ ID NO: 84 - 101.

В различных вариантах осуществления, пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

(a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄GARGPESRLLLEFYLPMPMEAEELARRSLAQDAPPL [SEQ ID NO:110], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,

(b) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃GARGPESRLLLEFYLPMPMEAEELARRSLAQDAPPL [SEQ ID NO:111], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,

(c) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂GARGPESRLLLEFYLPMPMEAEELARRSLAQDAPPL [SEQ ID NO:112], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,

(d) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKGARGPESRLLLEFYLPMPMEAEELARRSLAQDAPPL [SEQ ID NO:113],

(e) последовательности из любой из SEQ ID NO: 110 - 113,

(f) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности GARGPESRLLLEFYLPMPMEAEELARRSLAQDAPPL [SEQ ID NO:114],

- (g) последовательности из SEQ ID NO: 114,
- (h) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LAMPFATPM [SEQ ID NO:115],
- (i) последовательности из SEQ ID NO: 115,
- 5 (j) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности FATPMEAEL [SEQ ID NO:116],
- (k) последовательности из SEQ ID NO: 116,
- (l) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID NO:117], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 10
- (m) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID NO:118], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 15
- (n) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID NO:119], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 20
- (o) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKVPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID NO:120],
- (p) последовательности из любой из SEQ ID NO: 117 - 120,
- 25
- (q) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID NO:121],
- (r) последовательности из SEQ ID NO: 121,
- (s) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности EFTVSGNIL [SEQ ID NO:122],
- 30

- (t) последовательности из SEQ ID NO: 122,
- 5 (u) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:123], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 10 (v) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:124], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 15 (w) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:125], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- (x) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKLQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:126],
- (y) последовательности из любой из SEQ ID NO: 123 - 126,
- 20 (z) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:127],
- (aa) последовательности из SEQ ID NO: 127,
- (bb) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQCFLPVF [SEQ ID NO:128],
- 25 (cc) последовательности из SEQ ID NO: 128,
- (dd) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQC [SEQ ID NO:129],
- (ee) последовательности из SEQ ID NO: 129,
- (ff) или любой комбинации из двух или более (a) - (ee) выше.

В одном примере осуществления, пептидную антигенную детерминанту получают из NY-ESO-1. В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из любой из SEQ ID NO: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 и 129.

В одном варианте осуществления, пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой из SEQ ID NO: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 и 129.

В одном варианте осуществления, пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой из SEQ ID NO: 114, 121 и 127.

В одном варианте осуществления, пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой из SEQ ID NO: 113, 120 и 126.

В различных вариантах осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из одной или более овальбуминных антигенных детерминант. В различных вариантах осуществления, одна или более овальбуминных антигенных детерминант являются антигенными детерминантами МНСI. В различных вариантах осуществления, одна или более овальбуминных антигенных детерминант являются антигенными детерминантами МНСII.

В различных вариантах осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из:

(a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄KISQAVHAАНАEINEAGRESIINFЕKLTEWT [SEQ ID NO:130], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,

(b) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃ KISQAVHAАНАEINEAGRESIINFЕKLTEWT [SEQ ID NO:131], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,

- (c) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂ KISQAVHAAHAEINEAGRESIINFEKLTEWT [SEQ ID NO:132], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 5 (d) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKISQAVHAAHAEINEAGRESIINFEKLTEWT [SEQ ID NO:133],
- (e) последовательности из любой из SEQ ID NO: 130 - 133,
- (f) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности KISQAVHAAHAEINEAGRESIINFEKLTEWT [SEQ ID NO:134],
- 10 (g) последовательности из SEQ ID NO: 134,
- (h) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SIINFEKL [SEQ ID NO: 135],
- (i) последовательности из SEQ ID NO: 135,
- (j) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности
- 15 ISQAVHAAHAEINEAGR [SEQ ID NO: 136],
- (k) последовательности из SEQ ID NO: 136,
- (l) или любой комбинации из двух или более (a) - (k) выше.

В различных вариантах осуществления, пептид включает одну или более овальбуминных антигенных детерминант, выбранных из группы, состоящей из любой

20 из SEQ ID NO 130-136. В различных вариантах осуществления, пептид включает пептид, содержащий или состоящий из 8 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO 130 - 136.

В различных вариантах осуществления пептид включает, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности, выбранной группы, состоящей из

25 любой из SEQ ID NO: 130 - 136.

В различных вариантах осуществления, пептид содержит одну или более иммунодоминантных рестриктированных антигенных детерминант A*0200, полученных из белка ppUL83 цитомегловируса (CMV) («пептид NLV»), состоящего из:

- (gg) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности
- 30 NLVPMVATV [SEQ ID NO:137],

(hh) последовательности из SEQ ID NO: 137,

(ii) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности CSKKKKKNLVPMTATV [SEQ ID NO:138],

(jj) последовательности из SEQ ID NO: 138.

5 В различных вариантах осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из 8 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO 9 - 129.

10 В различных вариантах осуществления, пептид включает, состоит по существу или состоит из одной или более аминокислотных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из тех групп, которые определены условием (1) первого аспекта.

В различных вариантах осуществления, Хаа₄, в упомянутых здесь последовательностях, отсутствует или состоит от 1 до 17 гидрофильных аминокислот, например, от 1 до 16, от 1 до 15, от 1 до 14, от 1 до 13, от 1 до 12, от 1 до 11 От 1 до 15 10, от 1 до 9, от 1 до 8, от 1 до 7, от 1 до 6, от 1 до 5, от 1 до 4, от 1 до 3 или от 1 до 2 гидрофильных аминокислот, или является гидрофильной аминокислотой.

В одном варианте осуществления, пептидный конъюгат включает две или более антигенных детерминант, например, две или более пептидных антигенных 20 детерминант.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат включает антигенный пептид.

В специально рассматриваемых вариантах осуществления, пептид представляет собой синтетический пептид.

25 В различных вариантах осуществления соединение формулы (I) представляет собой изолят формулы (I).

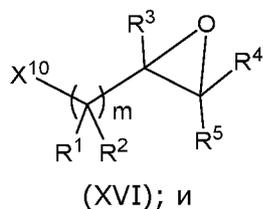
В различных вариантах осуществления соединение формулы (I) представляет собой чистое, очищенное или по существу чистое соединение формулы (I).

30

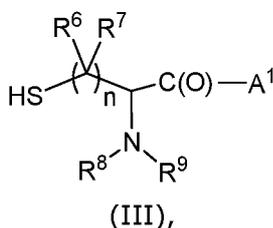
В различных вариантах осуществления, в соответствии с изобретением, соединение формулы (I), представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из соединений Примеров 910, 911, 912, 913, 930, 931 и 932.

В другом аспекте, настоящее изобретение в целом выражается в способе получения пептидного конъюгата формулы (IF) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата по настоящему изобретению; способе, включающем:

- (A) осуществление реакции
5 эпоксида формулы (XVI):

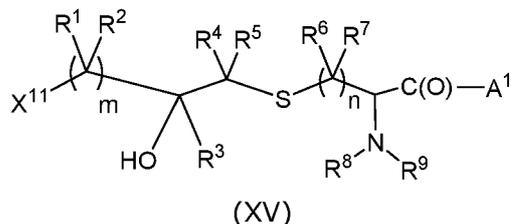


аминокислотного партнера по конъюгации, включающего тиол формулы (III):



10

в условиях, способствующих конъюгации эпоксида и аминокислотного партнера по конъюгации и получению соединения формулы (XV):



15 где

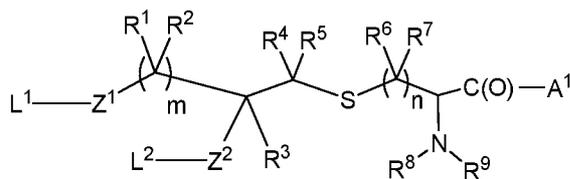
X10 представляет собой L1-Z1-, -OH, -SH, -NHR, HNRC(O)O-, P10-O-, P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-;

X11 представляет собой X10 или -OH, -SH, -NHR или HNRC(O)O-, когда X10 представляет собой P10-O-, P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-, а указанные условия
20 способствуют удалению P10, P11 или P12;

P10, P11 и P12 каждое независимо представляет собой защитную группу;

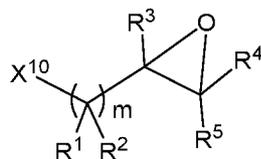
m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 и A1 соответствуют определению в соединении формулы (IF) изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта); и

25 превращение соединения формулы (XV) в пептидный конъюгат формулы (IF) изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта) или его фармацевтически приемлемую соль или сольват посредством одной или более дополнительных стадий синтеза:



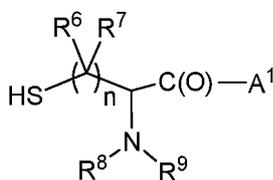
(IF); или

(B) осуществление реакции
эпоксида формулы (XVI):



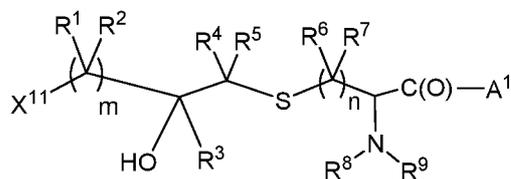
(XVI); и

аминокислотного партнера по конъюгации, включающего тиол формулы (III):



(III),

10 в условиях, способствующих конъюгации эпоксида и аминокислотного
партнера по конъюгации и получению соединения формулы (XV):



(XV)

где

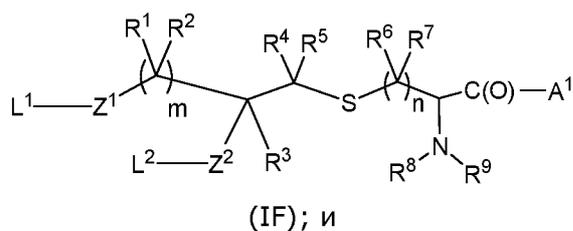
15 X10 представляет собой L1-Z1-, -OH, -SH, -NHR, HNRC(O)O-, P10-O-, P11-S-,
P12-NR- или P12-NRC(O)O-;

X11 представляет собой X10 или -OH, -SH, -NHR или HNRC(O)O-, когда X10
представляет собой P10-O-, P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-, а указанные условия
способствуют удалению P10, P11 или P12;

20 P10, P11 и P12 каждое независимо представляет собой защитную группу;

m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 и A1 соответствуют
определению в соединении формулы (IF) изобретения, но исключая условия (1) и/или
(2) первого аспекта; и

25 превращение соединения формулы (XV) в аминокислотный или пептидный
конъюгат формулы (IF), но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта или его
фармацевтически приемлемую соль или сольват посредством одной или более
дополнительных стадий синтеза:



сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида для получения пептидного конъюгата формулы (IF) по настоящему изобретению (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

В различных вариантах осуществления, m составляет от 2 до 5, от 2 до 4 или от 2 до 3. В примерах осуществления, m равно 2. В других примерах осуществления, m составляет от 3 до 5.

В различных вариантах осуществления, X_{10} представляет собой L_1-Z_1- или $-OH$, $-SH$, $-NHR$, $P_{10}-O-$, $P_{11}-S-$, или $P_{12}-NR-$; а X_{11} представляет собой X_{10} или $-OH$, $-SH$, или $-NHR$.

В различных вариантах осуществления, X_{10} представляет собой L_1-Z_1- , $-OH$, или $P_{10}-O-$; а X_{11} представляет собой X_{10} или $-OH$.

В различных вариантах осуществления, X_{10} представляет собой $L_1-C(O)O-$, OH или $P_{10}-O-$; а X_{11} представляет собой $L_1-C(O)O-$, $P_{10}-O-$ или OH .

В различных вариантах осуществления, X_{10} представляет собой $L_1-C(O)O-$ или $P_{10}-O-$; а X_{11} представляет собой $L_1-C(O)O-$, $P_{10}-O-$, или OH .

В примерах осуществления, X_{10} представляет собой $P_{10}-O-$; а X_{11} представляет собой $P_{10}-O-$ или OH .

В различных вариантах осуществления, R9 не представляет собой водород и/или A1 не представляет собой OH.

5 В различных вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации, представляет собой пептид, включающий партнер по конъюгации, содержащий 15 или менее, 14 или менее, 13 или менее, 12 или менее, 11 или менее, 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее или 3 или менее аминокислотных остатков.

10 В различных вариантах осуществления, С-конец аминокислоты, включающей партнера по конъюгации, защищен карбоксильной защитной группой или карбоксамидзащитной группой и/или Na-аминогруппа аминокислоты, включающая партнера по конъюгации, защищена аминозащитной группой.

15 В примерах осуществления, R9 представляет собой аминозащитную группу.

В различных вариантах осуществления, A1 представляет собой OP1 или NHP2. В некоторых вариантах осуществления, A1 представляет собой OP1.

20 В примерах осуществления, R9 представляет собой аминозащитную группу, а A1 представляет собой OP1 в аминокислоте, включающей партнера по конъюгации.

25 В различных вариантах осуществления, способ включает осуществление реакции эпоксида и аминокислотного партнера по конъюгации в присутствии кислоты, например сильной кислоты.

В некоторых вариантах осуществления, кислота представляет собой хлористоводородную кислоту, серную кислоту или их смесь.

30 В некоторых вариантах осуществления, кислота включает кислоту Льюиса, например, BF_3 .

В других вариантах осуществления способ включает осуществление реакции эпоксида и аминокислотного партнера по конъюгации в нейтральных условиях.

35

В различных вариантах осуществления, нейтральные условия включают протонный растворитель, такой как спирт, например этанол.

В других вариантах осуществления, способ включает осуществление реакции эпоксида и аминокислотного партнера по конъюгации в присутствии основания, например, слабого основания.

- 5 В некоторых вариантах осуществления, основание представляет собой органический амин, например триэтиламин.

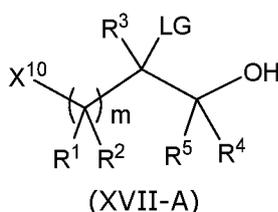
В различных вариантах осуществления, способ включает получение эпоксида путем осуществления реакции алкена формулы (XVII):



и окислителя в условиях, способствующих эпоксированию алкена.

- 15 В различных вариантах осуществления, окислитель представляет собой пероксид, такой как органический пероксид, например, *m*-хлорпероксибензойную кислоту, или органический N-оксид, например, N-оксид пиридина.

- 20 В различных вариантах осуществления, способ включает получение эпоксида путем осуществления реакции соединения формулы (XVII-A), где LG представляет собой уходящую группу:



и основания в условиях, способствующих эпоксированию.

- 25 В различных вариантах осуществления, соединение формулы (XVII-A) получают из L-аспарагиновой кислоты.

- 30 В различных вариантах осуществления, способ дополнительно включает в себя получение единственного стереоизомера или стереоизомерно обогащенной смеси эпоксида формулы (XVI).

В различных вариантах осуществления, получение единственного стереоизомера или стереоизомерно обогащенной смеси эпоксида формулы (XVI) включает разделение рацемической смеси эпоксида.

X11 представляет собой L1-Z1-, -OH, -SH, -NHR, HNRC(O)O-, P10-O-, P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-;

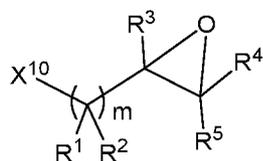
P10, P11 и P12 каждое независимо представляет собой защитную группу;

5 m представляет собой целое число от 2 до 6; и

n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 и A1 соответствуют определению в соединении формулы (I) изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта) или в любом его воплощении; или их соли или сольвату.

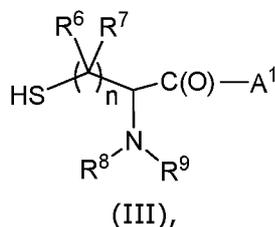
10 В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в способе получения соединения формулы (XV) или его соли или сольвата, способе включающем:

(A) осуществление реакции
эпоксида формулы (XVI):



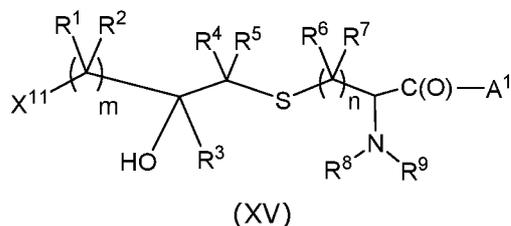
15 (XVI); и

аминокислотного партнера по конъюгации, включающего тиол формулы (III):



(III),

20 в условиях, способствующих конъюгации эпоксида и аминокислотного партнера по конъюгации и получению соединения формулы (XV):



(XV)

где

25 X10 представляет собой L1-Z1-, -OH, -SH, -NHR, HNRC(O)O-, P10-O-, P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-;

X11 представляет собой X10 или -OH, -SH, -NHR или HNRC(O)O-, когда X10 представляет собой P10-O-, P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-, а указанные условия способствуют удалению P10, P11 или P12;

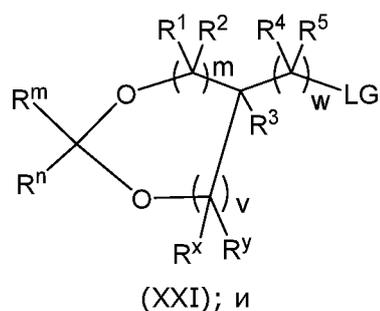
P10, P11 и P12 каждое независимо представляет собой защитную группу;

m , n , $L1$, $Z1$, R , $R1$, $R2$, $R3$, $R4$, $R5$, $R6$, $R7$, $R8$, $R9$ и $A1$ соответствуют определению в соединении формулы (IF) изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта).

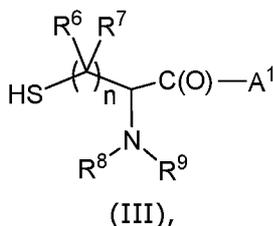
- 5 В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в использовании соединения формулы (XV) или (XVI) при синтезе аминокислотного или пептидного конъюгата формулы (IF) по настоящему изобретению (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.
- 10 В другом аспекте, настоящее изобретение в целом выражается в способе получения пептидного конъюгата формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата по настоящему изобретению; способе, включающем:

(A) осуществление реакции

- 15 соединения формулы (XXI):

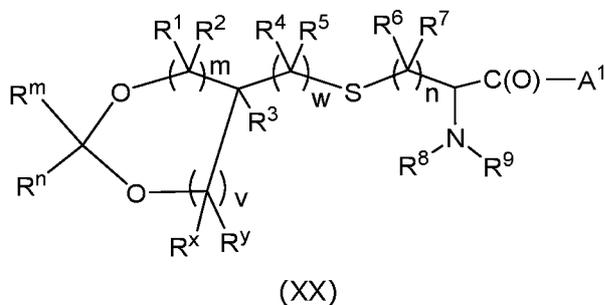


аминокислотного партнера по конъюгации, включающего тиол формулы (III):



- 20

в условиях, способствующих конъюгации соединения формулы (XXI) и аминокислотного партнера по конъюгации и получению соединения формулы (XX):

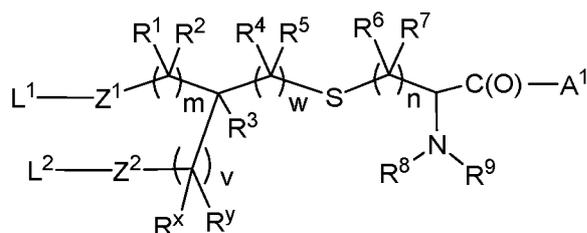


- 25 где

R^m и R^n каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, арил или гетероарил;

LG представляет собой уходящую группу; а
 m, w, v, n, R_x, R_y, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉ и A¹ соответствуют определению
 в соединении формулы (I) изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого
 аспекта); и

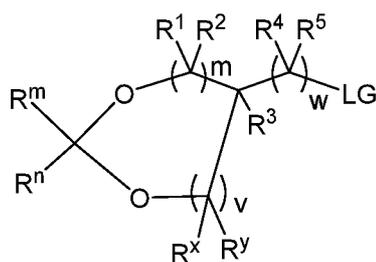
- 5 превращение соединения формулы (XX) в пептидный конъюгат формулы (I)
 изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта) или его
 фармацевтически приемлемую соль или сольват посредством одной или более
 дополнительных стадий синтеза:



10

(I); или

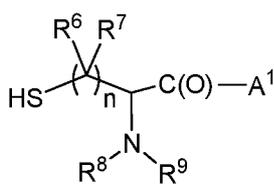
- (B) осуществление реакции
 соединения формулы (XXI):



(XXI); и

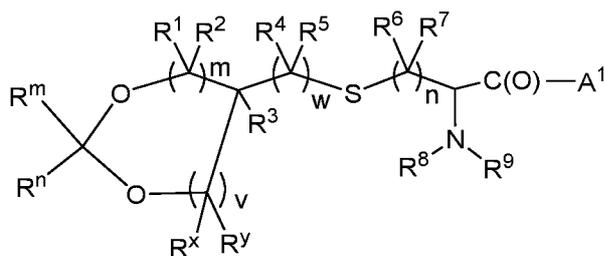
15

аминокислотного партнера по конъюгации, включающего тиол формулы (III):



(III),

в условиях, способствующих конъюгации соединения формулы (XXI) и
 аминокислотного партнера по конъюгации и получению соединения формулы (XX):



20

(XX)

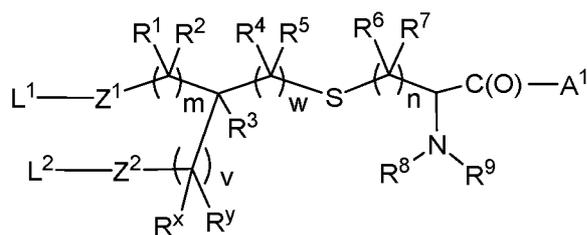
где

R_m и R_n каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, арил или гетероарил;

LG представляет собой уходящую группу; а

5 m, w, v, n, R_x, R_y, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉ и A₁ соответствуют определению в соединении формулы (I) изобретения, но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта; и

10 превращение соединения формулы (XX) в пептидный конъюгат формулы (I) изобретения, но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват посредством одной или более дополнительных стадий синтеза:



(I); и

15 сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида для получения пептидного конъюгата формулы (I) по настоящему изобретению (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

В различных вариантах осуществления, R_m и R_n каждое независимо выбирается из водорода, C1-6 алкила или арила.

20

В некоторых вариантах осуществления, R_m представляет собой водород, C1-6 алкил или арил; а R_n представляет C1-6 алкил или арил.

25 В различных вариантах осуществления, уходящая группа представляет собой галоген (например, хлора, брома или йода) или сульфонат (например, тозилат или мезилат).

В различных вариантах осуществления, значения m и v таковы, что данное соединение формулы (XXI) включает 5-7-членный циклический ацеталь.

30 В некоторых вариантах осуществления, циклический ацеталь представляет собой 6-членный циклический ацеталь.

В различных вариантах осуществления, циклический ацеталь представляет собой 5-членный циклический ацеталь, а w представляет собой целое число, больше чем 1.

35

В различных вариантах осуществления, m равно 2, а v равно 1.

В различных вариантах осуществления, R9 не представляет собой водород и/или A1 не представляет собой OH.

5

В различных вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации, представляет собой пептид, включающий партнер по конъюгации, содержащий 15 или менее, 14 или менее, 13 или менее, 12 или менее, 11 или менее, 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее или 3 или

10

менее аминокислотных остатков.

В различных вариантах осуществления, C-конец аминокислоты, включающей партнера по конъюгации, защищен карбоксильной защитной группой или карбоксамидзащитной группой и/или Na-аминогруппа аминокислоты, включающая

15

партнера по конъюгации, защищена аминозащитной группой.

В примерах осуществления, R9 представляет собой аминозащитную группу.

20

В различных вариантах осуществления, A1 представляет собой OP1 или NHP2. В некоторых вариантах осуществления, A1 представляет собой OP1.

В примерах осуществления, R9 представляет собой аминозащитную группу, а A1 представляет собой OP1 в аминокислоте, включающей партнера по конъюгации.

25

В различных вариантах осуществления, способ включает осуществление реакции соединения формулы (XXI) и аминокислотного партнера по конъюгации формулы (III) в присутствии основания.

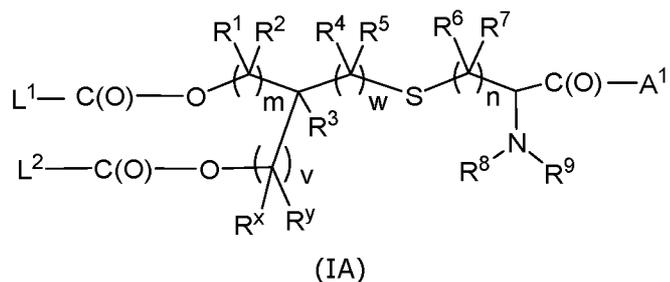
30

В некоторых вариантах осуществления, основание представляет собой органический амин, например триэтиламин, N-метилморфолин или коллидин.

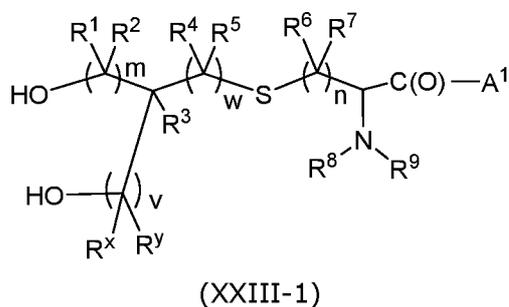
В различных вариантах осуществления, циклический ацеталь формулы (XXI) используется в виде единственного стереоизомера или смеси, обогащенной стереоизомерами.

35

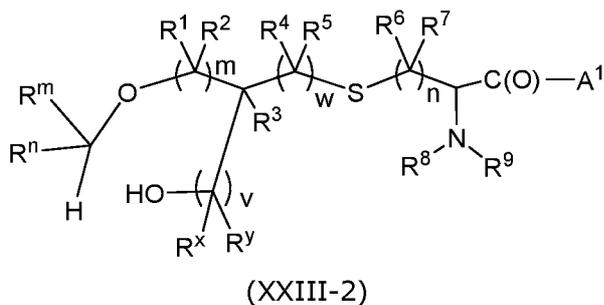
В различных вариантах осуществления, способ включает превращение соединения формулы (XX) в аминокислотный или пептидный конъюгат формулы (IA) или его фармацевтически приемлемую соль или сольват посредством одной или более дополнительных стадий синтеза:



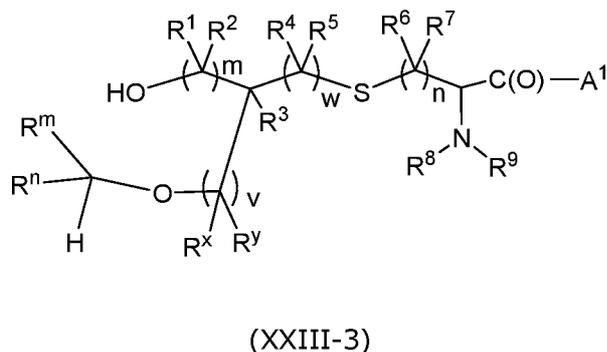
- 5 В различных вариантах осуществления, одна или более стадий синтеза включают удаление ацетала в соединении формулы (XX) с получением соединения формулы (XXIII-1):



- 10 В различных вариантах осуществления, где R^m, необязательно, замещен арилом, например, фенилом или метоксизамещенным фенилом, способ включает удаление ацетала в соединении формулы (XX) с получением соединения формулы (XXIII-2) или (XXIII-3):



15



20

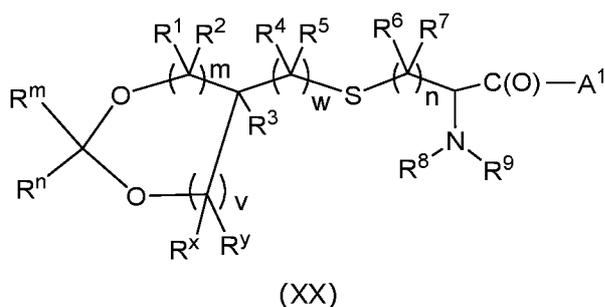
В различных вариантах осуществления, одна или более стадий синтеза включают: превращение гидроксильной группы, связанной с углеродом, к которому присоединены R1 и R2 в соединении формулы (XXIII-1), в L1-Z1-, и/или превращение гидроксильной группы, связанной с углеродом, к которому присоединены Rx и Ry, в L2-Z2.

В различных вариантах осуществления, одна или более стадий синтеза включают: превращение гидроксильной группы, связанной с атомом углерода, к которому присоединены Rx и Ry в соединении формулы (XXIII-2), в L2-Z2-; удаление группы RmRnCH- для получения гидроксильной группы и превращение гидроксильной группы в L1-Z1; или

превращение гидроксильной группы, связанной с углеродом, к которому присоединены Rx и Ry в соединении формулы (XXIII-2), в L1-Z1-; удаление группы RmRnCH- для получения гидроксильной группы и превращение гидроксильной группы в L2-Z2-.

В различных вариантах осуществления, превращение указанной гидроксильной группы в L1-Z1- или L2-Z2- включает ацилирование таким образом, чтобы заменять атом водорода гидроксильной группы на L1-C(O)- или L2-C(O)-.

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в соединении формулы (XX):



где:

Rm и Rn каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, арил или гетероарил;

m и w независимы и каждое представляет собой целое число от 0 до 7, а v представляет собой целое число от 0 до 5,

при условии, что:

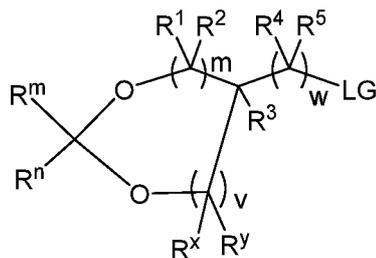
сумма m, v, и w, по меньшей мере, равна 3; а

сумма m и w составляет от 0 до 7; а

n , R_x , R_y , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , и A_1 соответствуют определению в соединении формулы (I) изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта) или в любом его воплощении; или их соли или сольвату.

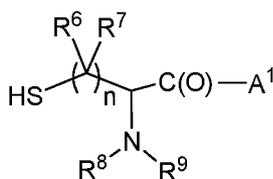
В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в способе получения соединения формулы (XX) или его соли или сольвата, способе включающем:

(A) осуществление реакции соединения формулы (XXI):



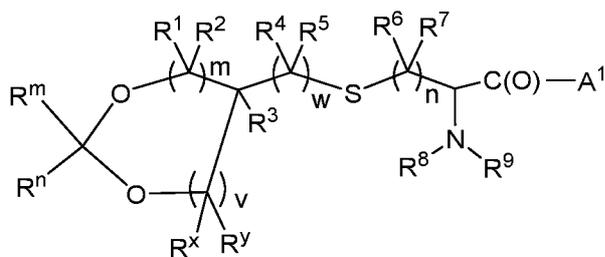
10

аминокислотного партнера по конъюгации, включающего тиол формулы (III):



(III),

в условиях, способствующих конъюгации соединения формулы (XXI) и аминокислотного партнера по конъюгации и получению соединения формулы (XX):



(XX)

где

R_m и R_n каждое независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, арил или гетероарил;

LG представляет собой уходящую группу; а

m , w , v , n , R_x , R_y , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 и A_1 соответствуют определению в соединении формулы (I) изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта).

25

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в использовании соединения формулы (XX) или (XXI) при синтезе аминокислотного или пептидного

конъюгата формулы (IA) по настоящему изобретению (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

5 В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в способе получения пептидного конъюгата формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата по настоящему изобретению; способе, включающем:

(A) осуществление реакции

первого липидсодержащего партнера по конъюгации, включающего двойную углерод-углеродную связь;

10 второго липидсодержащего партнера по конъюгации, включающего двойную углерод-углеродную связь; и

аминокислотного партнера по конъюгации, включающего тиол,

15 в условиях, способствующих конъюгации первого липидсодержащего партнера по конъюгации и второго липидсодержащего партнера по конъюгации с аминокислотным партнером по конъюгации и получения пептидного конъюгата формулы (I) или его соли или сольвата,

20 где в аминокислотном или пептидном конъюгате, атом серы из тиола аминокислотного партнера по конъюгации конъюгирует с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации, а атом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации конъюгирует с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи второго липидсодержащего партнера по конъюгации; или

(B) осуществление реакции

25 первого липидсодержащего партнера по конъюгации, включающего двойную углерод-углеродную связь;

второго липидсодержащего партнера по конъюгации, включающего двойную углерод-углеродную связь; и

аминокислотного партнера по конъюгации, включающего тиол,

30 в условиях, способствующих конъюгации первого липидсодержащего партнера по конъюгации и второго липидсодержащего партнера по конъюгации с аминокислотным партнером по конъюгации и получения аминокислотного или пептидного конъюгата,

35 где в аминокислотном или пептидном конъюгате, атом серы из тиола аминокислотного партнера по конъюгации конъюгирует с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации, а атом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации конъюгирует с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи второго липидсодержащего партнера по конъюгации; и

сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида для получения пептидного конъюгата формулы (I) или его соли или сольвата.

5 В одном варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации представляет собой пептидсодержащий партнер по конъюгации, а липидсодержащие партнеры по конъюгации сопряжены с пептидом пептидсодержащего партнера по конъюгации.

10 В некоторых вариантах осуществления, липидсодержащие партнеры по конъюгации конъюгируют с аминокислотой аминокислотного партнера по конъюгации или с пептидом пептидсодержащего партнера по конъюгации.

В некоторых вариантах осуществления, липидсодержащие партнеры по конъюгации конъюгируют с аминокислотой аминокислотного партнера по конъюгации.

15 Соответственно, в другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в способе получения пептидного конъюгата формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата по настоящему изобретению; способе, включающем осуществление реакции

20 первого липидсодержащего партнера по конъюгации, включающего двойную углерод-углеродную связь,

второго липидсодержащего партнера по конъюгации, включающего двойную углерод-углеродную связь, и

пептидсодержащего партнера по конъюгации, включающего тиол,

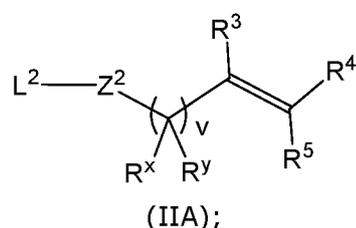
25 в условиях, способствующих конъюгации первого липидсодержащего партнера по конъюгации и второго липидсодержащего партнера по конъюгации с пептидсодержащим партнером по конъюгации и получения пептидного конъюгата формулы (I) или его соли или сольвата,

30 где в пептидном конъюгате, атом серы из тиола пептидсодержащего партнера по конъюгации конъюгирует с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации, а атом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации конъюгирует с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи второго липидсодержащего партнера по конъюгации.

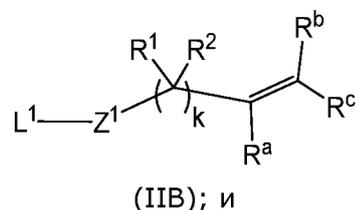
35 В различных вариантах осуществления, конъюгат представляет собой липопептид, так что способ предназначен для получения липопептида.

В различных вариантах осуществления, первый и второй липидсодержащие партнеры конъюгации имеют одинаковую структуру (то есть, первый и второй липидсодержащие партнеры по конъюгации идентичны).

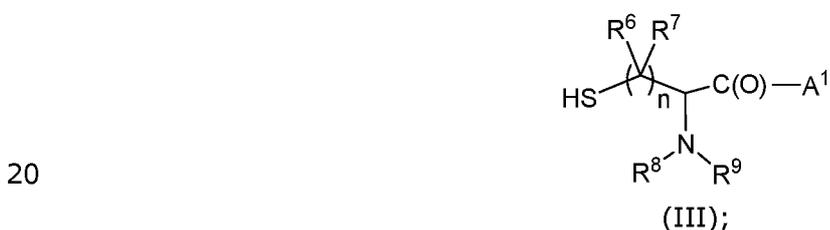
- 5 В различных вариантах осуществления, способ включает конъюгирование атома серы из тиола с атомом углерода двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации, а затем конъюгирование атома углерода из двойной углерод-углеродной связи, в которой указанный тиол конъюгирован с атомом углерода двойной углерод-углеродной связи второго липидсодержащего партнера по конъюгации.
- 10 В различных вариантах осуществления, первый липидсодержащий партнер по конъюгации представляет собой соединение формулы (IIA):



- 15 второй липидсодержащий партнер по конъюгации представляет собой соединение формулы (IIB):



аминокислотного партнера по конъюгации, включающего структуру формулы (III):



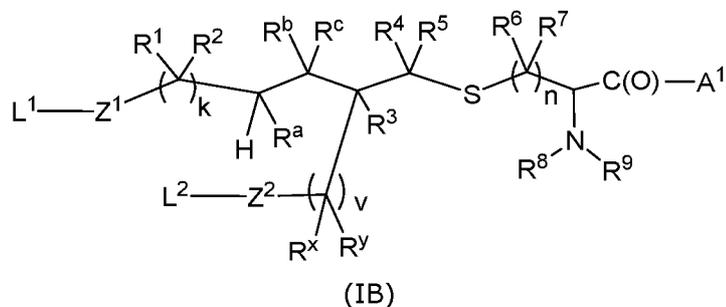
где:

- 25 если способ представляет собой (A), то Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, A1, k, v, и n соответствуют определению в соединении формулы (IB) настоящего изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта); и

если способ представляет собой (B), то Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, A1, k, v, и n соответствуют определению в соединении

формулы (IB) настоящего изобретения, но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта).

В различных вариантах осуществления, аминокислотный или пептидный конъюгат
5 представляет собой соединение формулы (IB):



10 где:

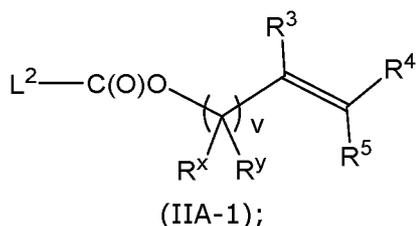
если способ представляет собой (A), то R_a , R_b , R_c , L_1 , L_2 , Z_1 , Z_2 , R_1 , R_2 , R_x , R_y , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , A_1 , k , v , и n соответствуют определению в соединении формулы (IB) настоящего изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта); и

15 если способ представляет собой (B), то R_a , R_b , R_c , L_1 , L_2 , Z_1 , Z_2 , R_1 , R_2 , R_x , R_y , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , A_1 , k , v , и n соответствуют определению в соединении формулы (IB) настоящего изобретения, но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта).

20 В различных вариантах осуществления, липидсодержащие партнеры по конъюгации находятся в стехиометрическом избытке по отношению к аминокислотному партнеру по конъюгации.

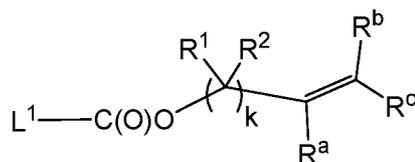
В различных вариантах осуществления, молярное соотношение липидсодержащих
25 партнеров по конъюгации (объединенных) с аминокислотным партнером по конъюгации, составляет, по меньшей мере, 7:1.

В различных вариантах осуществления, первый липидсодержащий партнер по конъюгации представляет собой соединение формулы (IIA-1):



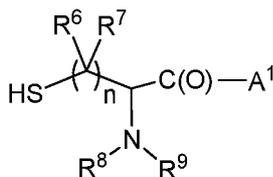
30

второй липидсодержащий партнер по конъюгации представляет собой соединение формулы (IIB):



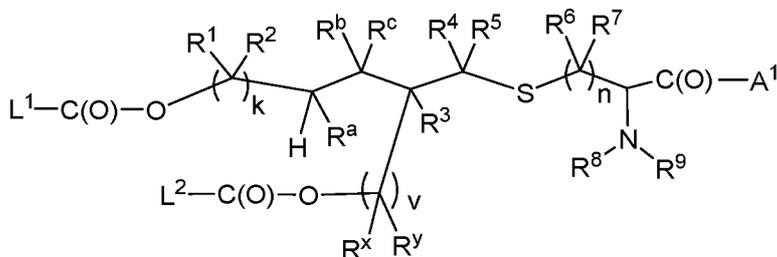
(IIB);

5 аминокислотного партнера по конъюгации, включающего структуру формулы (III):



(III); a

конъюгат представляет собой соединение формулы (IC):



(IC)

где:

15 если способ представляет собой (A), то R^a , R^b , R^c , L^1 , L^2 , R^1 , R^2 , R^x , R^y , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , A^1 , k , v и n соответствуют определению в соединении формулы (IC) настоящего изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта); и

если способ представляет собой (B), то R^a , R^b , R^c , L^1 , L^2 , R^1 , R^2 , R^x , R^y , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , A^1 , k , v и n соответствуют определению в соединении формулы (IC) настоящего изобретения, но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта).

20 В различных вариантах осуществления, L^1 представляет собой C11-21 алкил; k составляет от 0 до 3, предпочтительно 0; а каждое R^a , R^b и R^c представляет собой водород.

В различных вариантах осуществления, L^1 представляет собой C11-21 алкил; k составляет от 1 до 3; а каждое R^a , R^b и R^c представляет собой водород.

25 В различных вариантах осуществления, L^2 представляет собой C11-21 алкил; v составляет от 0 до 3, предпочтительно 0; а каждое R^3 , R^4 и R^5 представляет собой водород.

В различных вариантах осуществления, n равно 1; R6, R7 и R8 каждое представляют собой водород; а R9 представляет собой водород, аминозащитную группу, L3–C(O)– или A2.

5 В различных вариантах осуществления, n равно 1; R6, R7 и R8 каждое представляют собой водород; а R9 представляет собой водород, аминозащитную группу или L3–C(O), где L3 представляет собой линейный C15 алкил или метил.

В различных вариантах осуществления, соединения формулы (IIA) и (IIB) каждое представляют собой винилпальмитат.

10 В различных вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации представляет собой: цистеин; защищенный цистеин (включая N α -амин и/или карбоксилзащитный цистеин); или пептид, содержащий остаток цистеина (включая N α -амин или остаток карбоксилзащитного цистеина), например, N-концевой остаток цистеина (включая остаток N α -аминзащитного цистеина).

15 В некоторых вариантах осуществления, способ включает осуществление реакции винилпальмитата и N α -аминзащитного цистеина, например, Fmoc-Cys-OH, Boc-Cys-OH, Fmoc-Cys-OP1, или Boc-Cys-OP1. В некоторых вариантах осуществления, карбоксильная группа N α -аминзащитного цистеина защищена.

20 В одном варианте осуществления, условия, способствующие конъюгации липидсодержащего партнера по конъюгации с аминокислотным партнером по конъюгации, включают в себя образование одного или более свободных радикалов. В одном варианте осуществления, условия, способствующие конъюгации липидсодержащего партнера по конъюгации с пептидсодержащим партнером по конъюгации, включают в себя образование одного или более свободных радикалов.

25 В некоторых вариантах осуществления, образование одного или более свободных радикалов инициируется термически и/или фотохимически. В некоторых вариантах осуществления, образование одного или более свободных радикалов инициируется термически и/или фотохимическим разложением свободнорадикального инициатора. В некоторых вариантах осуществления, образование одного или более свободных радикалов инициируется термическим разложением термоинициатора и/или
30 фотохимическим разложением фотохимического инициатора.

В некоторых вариантах осуществления, термическое разложение свободнорадикального инициатора включает нагревание реакционной смеси до подходящей температуры. В некоторых вариантах осуществления, реакционную смесь нагревают до температуры, составляющей примерно от 40 °C до примерно 200 °C,

примерно от 50 °С до примерно 180 °С, примерно от 60 °С до примерно 150 °С, примерно от 65 °С до примерно 120 °С, примерно от 70 °С до примерно 115 °С, примерно от 75 °С до примерно 110 °С или примерно от 80 °С до примерно 100 °С. В других вариантах осуществления, реакционную смесь нагревают до температуры составляющей, по меньшей мере, около 40 °С, по меньшей мере, около 50 °С, по меньшей мере, около 60 °С или, по меньшей мере, около 65 °С. В одном специально рассматриваемом варианте осуществления реакционную смесь нагревают до температуры около 90 °С.

В некоторых вариантах осуществления, фотохимическое разложение свободнорадикального инициатора включает облучение ультрафиолетовым светом, предпочтительно имеющим частоту, совместимую с боковыми цепочками, встречающихся в природе аминокислот. В специально рассматриваемом варианте осуществления, ультрафиолетовый свет имеет длину волны, составляющую около 365 нм. В примерах осуществления, фотохимическое разложение свободнорадикального инициатора осуществляют при температуре окружающей среды.

В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, термический инициатор представляет собой 2,2'-азобисизобутиронитрил (AIBN). В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, фотоинициатор представляет собой 2,2-диметокси-2-фенилацетофенон (DMPA).

В некоторых вариантах осуществления, реакция протекает в жидкой среде. В одном варианте осуществления, жидкая среда содержит растворитель. В одном варианте осуществления, растворитель выбирается из группы, состоящей из: N-метилпирролидона (NMP), диметилсульфоксида (DMSO), N,N-диметилформаида (DMF), дихлорметана (DCM), 1,2-дихлорэтана и их смесей. В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, растворитель включает NMP, DMF, DMSO или их смесь.

В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, растворитель включает DMSO или NMP. В примерах осуществления, растворитель содержит NMP.

В некоторых вариантах осуществления, реакция протекает в присутствии одной или более добавок, которые подавляют образование побочных продуктов и/или повышают выход или глубину превращения требуемого конъюгата.

В различных вариантах осуществления, одна или более добавок представляет собой посторонний тиол, кислоту, органосилан или комбинацию любых двух или более из них.

В некоторых примерах осуществления, посторонний или экзогенный тиол выбирается из группы, состоящей из восстановленного глутатиона (GSH), 2,2'-этилендиоксидиэантиола (DODT), 1,4-дитиотреитола (DTT), белка и стерически затрудненных тиолов. В специально рассматриваемом варианте осуществления, 5 посторонний или экзогенный тиол представляет собой DTT. В некоторых примерах осуществления, посторонний или экзогенный тиол представляет собой стерически затрудненный тиол, например *трет*-бутилмеркаптан.

В различных вариантах осуществления, кислотная добавка представляет собой сильную неорганическую или органическую кислоту. В различных вариантах 10 осуществления, кислота представляет собой сильную органическую кислоту. В некоторых вариантах осуществления, кислота представляет собой TFA.

В различных вариантах осуществления, органосилан представляет собой триалкилсилан, например TIPS.

В некоторых вариантах осуществления, одна или более присадок, выбирается из 15 группы, состоящей из TFA, *трет*-бутилмеркаптана, TIPS и комбинаций любых двух или более из них.

В некоторых вариантах осуществления, одна или более добавок представляют собой комбинацию кислоты и постороннего тиола, например, TFA и *трет*-бутилмеркаптана.

В других вариантах осуществления, одна или более добавок представляют собой 20 комбинацию кислоты и органосилана, например, TFA и TIPS.

В других вариантах осуществления, одна или более добавок представляют собой комбинацию постороннего тиола и органосилана и, необязательно, кислоты, например комбинацию *t*-BuSH и TIPS, и TFA.

В некоторых вариантах осуществления, реакция протекает в течение периода 25 времени, примерно составляющего: от 5 минут до 48 часов, от 5 минут до 24 часов, от 5 минут до 12 часов, от 5 минут до 6 часов, от 5 минут до 3 часов, от 5 минут до 2 часов или от 5 минут до 1 часа. В примерах осуществления реакция протекает в течение периода времени примерно составляющего от 5 минут до 1 часа. В некоторых вариантах осуществления, реакция протекает до тех пор, пока один из партнеров по 30 конъюгации не будет поглощен, по меньшей мере, на 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 99% или 100%.

В некоторых вариантах осуществления, реакция протекает в основном без кислорода.

В различных вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации, представляет собой пептидсодержащий партнер по конъюгации.

5 В одном варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации включает антигенную детерминанту. В одном варианте осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации включает антигенную детерминанту, например, пептидную антигенную детерминанту.

10 В одном варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации включает две или более антигенных детерминант. В одном варианте осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации включает две или более антигенных детерминант.

В одном варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации состоит из пептида.

15 В одном варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации состоит из пептида, содержащего пептидную антигенную детерминанту. В одном варианте осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации состоит из пептида. В одном варианте осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации состоит из пептида, содержащего пептидную антигенную детерминанту.

20 В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации содержит антигенную детерминанту, связанную с аминокислотой аминокислотного партнера по конъюгации. В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации содержит антигенную детерминанту, связанную с пептидом пептидсодержащего партнера по конъюгации. В некоторых вариантах осуществления, антигенная детерминанта связывается с пептидом с помощью линкерной группы.

25 В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации содержит пептидную антигенную детерминанту, связанную с аминокислотой аминокислотного партнера по конъюгации с помощью линкерной группы. В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации содержит пептидную антигенную детерминанту, связанную с пептидом с помощью линкерной группы.

30 В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации и/или пептидсодержащий партнер по конъюгации включает антигенный пептид.

В одном варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации и/или пептидный конъюгат, включает синтетический пептид. В некоторых вариантах

осуществления, синтетический пептид представляет собой пептид, полученный способом твердофазного синтеза пептидов (SPPS).

- 5 В различных вариантах осуществления, способ включает сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида и получение пептидного конъюгата.
- В различных вариантах осуществления, способ включает сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида и получение пептидного конъюгата в соответствии с настоящим изобретением.
- 10 В различных вариантах осуществления, пептид содержит антигенную детерминанту.
- В различных вариантах осуществления, антигенная детерминанта представляет собой пептидную антигенную детерминанту.
- 15 В различных вариантах осуществления, способ далее включает сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида и получение пептидного конъюгата в соответствии с настоящим изобретением.
- В некоторых вариантах осуществления, сопряжение пептида включает индивидуальное сопряжение одной или более аминокислот и/или одного или более пептидов.
- 20 В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или пептидом таким образом, чтобы получать пептидный конъюгат в соответствии с изобретением, включающий линкерную группу или одну или более ее аминокислот.
- 25 В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает сопряжение аминокислоты пептидного конъюгата, включающего линкерную группу или одну или более ее аминокислот, с аминокислотой или пептидом таким образом, чтобы получать пептидный конъюгат в соответствии с изобретением, включающий пептидную антигенную детерминанту, связанную с аминокислотой, с которой, с помощью линкерной группы, конъюгированы липидные фрагменты.
- 30 В некоторых вариантах осуществления, аминокислота пептидного конъюгата, с которым конъюгированы липидные фрагменты, представляет собой N-концевой аминокислотный остаток.

В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или пептидом таким образом, чтобы получать пептидный конъюгат в соответствии с изобретением, включающий пептидную антигенную детерминанту.

- 5 В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает сопряжение антигенной детерминанты с аминокислотой аминокислотного конъюгата или аминокислотой пептидного конъюгата.

- 10 В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает сопряжение пептидной антигенной детерминанты с аминокислотой аминокислотного конъюгата или аминокислотой пептидного конъюгата.

В некоторых вариантах осуществления, антигенная детерминанта сопрягается или связывается с пептидом с помощью линкерной группы.

В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает сопряжение антигенной детерминанты с пептидом пептидного конъюгата.

- 15 В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает сопряжение пептидной антигенной детерминанты с пептидом пептидного конъюгата.

В некоторых вариантах осуществления, антигенная детерминанта связывается с пептидом с помощью линкерной группы.

- 20 В различных вариантах осуществления, способ представляет собой (B), а аминокислотный партнер по конъюгации состоит из аминокислоты, например, цистеина (включающего Na-амин и/или защищенные C-концевые цистеины).

В различных вариантах осуществления, соединение аминокислотного или пептидного конъюгата формулы (I), но исключая условия (1) и (2) первого аспекта, представляет собой аминокислотный конъюгат.

- 25 В некоторых вариантах осуществления A1 представляет собой OH, OP1, NH2 или NHP2 и/или R9 представляет собой водород, C1-6 алкил, C3-6 циклоалкил, аминозащитную группу или L3-C(O) в аминокислотном или пептидном конъюгате соединения формулы (I), но исключая условия (1) и (2) первого аспекта.

- 30 В некоторых таких вариантах осуществления A1 представляет собой OP1 или OH, и/или R9 представляет собой водород, аминозащитную группу или L3-C(O) в аминокислотном или пептидном конъюгате соединения формулы (I), но исключая условия (1) и (2) первого аспекта.

В различных таких вариантах осуществления A1 представляет собой OH, OP1, NH₂ или NHP2 и/или R9 представляет собой водород, C1-6 алкил, C3-6 циклоалкил, аминокзащитную группу, или L3-C(O) в аминокислотном или пептидном конъюгате соединения формулы (I), но исключая условия (1) и (2) первого аспекта.

- 5 В различных вариантах осуществления A1 представляет собой OH или OP1, и/или R9 представляет собой водород, аминокзащитную группу, или L3-C(O) в аминокислотном или пептидном конъюгате соединения формулы (I), но исключая условия (1) и (2) первого аспекта.

- 10 В различных вариантах осуществления, С-конец аминокислотного партнера по конъюгации, защищен защитной группой и/или Na-аминогруппа аминокислотного партнера по конъюгации, защищена защитной группой.

В различных вариантах осуществления, карбоксильная группа С-конца аминокислоты защищена карбоксильной защитной группой или карбоксамидзащитной группой и/или Na-аминогруппа аминокислоты защищена аминокзащитной группой.

- 15 В различных вариантах осуществления, карбоксильная группа С-конца аминокислоты защищена карбоксильной защитной группой и/или Na-аминогруппа аминокислоты защищена аминокзащитной группой.

- 20 В некоторых вариантах осуществления, карбоксильная группа С-конца пептида защищена карбоксильной защитной группой и/или Na-аминогруппа пептида защищена аминокзащитной группой.

В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный остаток, включающий тиол, представляет собой концевой аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный остаток, включающий тиол, представляет собой N-концевой остаток.

- 25 В некоторых вариантах осуществления, A1 и/или R9 представляют собой группу, отличную от аминокислоты или пептида, а способ включает сопряжение аминокислоты или пептида таким образом, чтобы заменять A1 и/или R9 на аминокислоту или пептид.

- 30 В некоторых вариантах осуществления, A1 представляет собой группу, отличную от аминокислоты или пептида, а способ включает сопряжение аминокислоты или пептида таким образом, чтобы заменять A1 на аминокислоту или пептид.

В некоторых вариантах осуществления, A1 представляют собой OH, OP1, NH₂ или NHP2 и/или R9 представляют собой водород, аминокзащитную группу или L3-C(O), а способ

включает сопряжение аминокислоты или пептида таким образом, чтобы заменять A1 и/или R9 на аминокислоту или пептид.

В некоторых вариантах осуществления, A1 представляют собой OH, OP1, NH₂ или NHP2, а R9 представляют собой водород, аминокзащитную группу или L3-C(O), а способ дополнительно включает сопряжение аминокислоты или пептида таким образом, чтобы заменять A1 и/или R9 на аминокислоту или пептид.

В некоторых вариантах осуществления, сопряжение пептида включает индивидуальное сопряжение одной или более аминокислот и/или одного или более пептидов.

В некоторых вариантах осуществления, сопряжение аминокислоты или пептида дает пептидный конъюгат, включающий пептидную антигенную детерминанту. В некоторых вариантах осуществления, сопряжение аминокислоты или пептида дает пептидный конъюгат, включающий линкерную группу или одну или более ее аминокислот. В некоторых вариантах осуществления, сопряжение аминокислоты или пептида дает пептидный конъюгат, включающий пептидную антигенную детерминанту, связанную с аминокислотой, с которой с помощью линкерной группы конъюгированы липидные фрагменты.

В некоторых вариантах осуществления, ацилируют содержащую тиол Na-аминогруппу аминокислоты, с которой конъюгированы липидные фрагменты. В некоторых вариантах осуществления, R9 в аминокислотном партнере по конъюгации, включающем тиол, представляет собой L3-C(O)-, например, Me-C(O)-.

В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает ацилирование Na-аминогруппы аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислотного остатка пептидного конъюгата, с которым конъюгированы липидные фрагменты. В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает ацилирование Na-аминогруппы C2-20 жирной кислотой, например, ацетиллом.

В некоторых вариантах осуществления, R9 представляет собой водород или аминокзащитную группу, а способ дополнительно включает ацилирование аминокислотного конъюгата или пептидного конъюгата таким образом, чтобы заменять водород или аминокзащитную группу в R9 на L3-C(O).

В некоторых вариантах осуществления, ацилирование аминокислотного конъюгата или пептидного конъюгата, проводимое таким образом, чтобы заменять аминокзащитную группу в R9 на L3-C(O), включает удаление аминокзащитной группы в R9 и образование водорода в R9.

В некоторых вариантах осуществления, аминокислота аминокислотного партнера по конъюгации включает тиол. В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный остаток пептидсодержащего партнера по конъюгации включает тиол.

5 В некоторых вариантах осуществления, тиол представляет собой тиол цистеинового остатка.

В некоторых вариантах осуществления, цистеиновый остаток представляет собой концевой остаток. В некоторых вариантах осуществления, цистеиновый остаток представляет собой N-концевой остаток.

10 В некоторых вариантах осуществления, ацилируется аминогруппа цистеинового остатка.

В одном варианте осуществления, аминогруппа ацилируется C2-20 жирной кислотой.

В одном примере осуществления, жирная кислота C2-20 представляет собой ацетил или пальмитоил. В другом примере осуществления, жирная кислота C2-20 представляет собой ацетил.

15 В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации и/или пептидный конъюгат содержит от 8 до 220, от 8 до 200, от 8 до 175, от 8 до 150, от 8 до 125, от 8 до 100, от 8 до 90, от 8 до 80, от 8 до 70, от 8 до 60, от 8 до 50, от 8 до 40, от 8 до 30, от 8 до 25, от 8 до 20 или от 8 до 15 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации от 8 до 220, от 20 8 до 200, от 8 до 175, от 8 до 150, от 8 до 125, от 8 до 100, от 8 до 90, от 8 до 80, от 8 до 70, от 8 до 60, от 8 до 50, от 8 до 40, от 8 до 30, от 8 до 25, от 8 до 20 или от 8 до 15 аминокислот.

25 В одном примере осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации и/или пептидный конъюгат, включает пептид, содержащий от 8 до 60 аминокислот. В одном примере осуществления, пептид содержит от 8 до 60 аминокислот.

30 В других вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации и/или пептидный конъюгат содержит от 5 до 220, от 8 до 220, от 5 до 175, от 8 до 175, от 8 до 150, от 10 до 150, от 15 до 125, от 20 до 100, от 20 до 80, от 20 до 60, от 25 до 100, от 25 до 80, от 25 до 60, от 30 до 80, от 40 до 60 или от 50 до 60 аминокислот. В других вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации содержит от 5 до 220, от 8 до 220, от 5 до 175, от 8 до 175, от 8 до 150, от 10 до 150, от 15 до 125, от 20 до 100, от 20 до 80, от 20 до 60, от 25 до 100, от 25 до 80, от 25 до 60, от 30 до 80, от 40 до 60 или от 50 до 60 аминокислот.

- В других вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации и/или пептидный конъюгат, содержат от 5 до 150, от 5 до 125, от 5 до 100, от 5 до 75, от 5 до 60, от 5 до 50, от 5 до 40, от 5 до 30, от 5 до 25, от 5 до 20, от 8 до 150, от 8 до 125, от 8 до 100, от 8 до 75, от 8 до 60, от 8 до 50, от 8 до 40, от 8 до 30, от 8 до 25 или от 8 до 20 аминокислот. В других вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации содержит от 5 до 150, от 5 до 125, от 5 до 100, от 5 до 75, от 5 до 60, от 5 до 50, от 5 до 40, от 5 до 30, от 5 до 25, от 5 до 20, от 8 до 150, от 8 до 125, от 8 до 100, от 8 до 75, от 8 до 60, от 8 до 50, от 8 до 40, от 8 до 30, от 8 до 25 или от 8 до 20 аминокислот.
- 5
- 10 В различных вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации, представляет собой короткий пептид. В некоторых вариантах осуществления, короткий пептид включает менее чем 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, и 3 аминокислот.
- В одном варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации и/или пептидный конъюгат, содержат одну или более сольбилизирующих групп. В одном варианте осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации включает одну или более сольбилизирующих групп.
- 15
- В некоторых вариантах осуществления, сольбилизирующая группа представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую два или более гидрофильных аминокислотных остатка в пептидной цепи. В различных вариантах осуществления, сольбилизирующая группа представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую последовательность из двух или более последовательных гидрофильных аминокислотных остатков в пептидной цепи. В одном варианте осуществления, гидрофильные аминокислотные остатки представляют собой катионные аминокислотные остатки. В одном варианте осуществления, катионные аминокислотные остатки представляют собой аргининовые или лизиновые остатки. В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, катионные аминокислотные остатки представляют собой лизиновые остатки. В одном варианте осуществления, последовательность содержит от 2 до 20, от 2 до 15, от 2 до 10, от 3 до 7 или от 3 до 5 аминокислот. В одном варианте осуществления, сольбилизирующая группа представляет собой три-, тетра-, пента-, гекса- или гепта- лизиновую последовательность. В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, сольбилизирующая группа представляет собой тетрализиновую последовательность.
- 20
- 25
- 30
- В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или аминокислотный партнер по конъюгации, содержит сериновый остаток, примыкающий к аминокислотному остатку, с которым конъюгированы липидные фрагменты. В
- 35

специально рассматриваемом варианте осуществления, пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации включает сериновый остаток, примыкающий к аминокислотному остатку, с которым конъюгированы липидные фрагменты. В примере осуществления, аминокислотный остаток, с которым конъюгированы липидные фрагменты, представляет собой N-конец. В специально рассматриваемом варианте осуществления, пептид дополнительно содержит естественную последовательность из двух или более гидрофильных аминокислотных остатков, примыкающих к сериновому остатку.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или аминокислотный партнер по конъюгации, содержит естественную последовательность из двух или более гидрофильных аминокислотных остатков, примыкающих к сериновому остатку.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или аминокислотный партнер по конъюгации содержит только природные аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации содержит только природные аминокислоты. В других вариантах осуществления 75% или более, 80% или более, 85% или более, 90% или более, 95% или более, 97% или более или 99% или более аминокислотных остатков в пептиде представляют собой природные аминокислоты.

В других вариантах осуществления, 75% или более, 80% или более, 85% или более, 90% или более, 95% или более, 97% или более, или 99% или более аминокислотных остатков в пептидном конъюгате и/или аминокислотном партнере по конъюгации представляют собой природные аминокислоты.

В примерах осуществления, пептидный конъюгат и/или аминокислотный партнер по конъюгации содержит пептид, включающий пептидную антигенную детерминанту. В примерах осуществления, пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации, содержит одну или более пептидных антигенных детерминант.

В различных вариантах осуществления, пептид включает, состоит по существу или состоит из аминокислотной последовательности, выбранных из группы, состоящей из тех групп, которые определены условием (1) первого аспекта.

В различных вариантах осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из одной или более антигенных детерминант EBV LMP2. В различных вариантах осуществления, одна или более антигенных детерминант EBV LMP2 являются антигенными детерминантами MHC I. В различных вариантах осуществления, пептид включает одну или более антигенных детерминант EBV LMP2, выбранных из группы, состоящей из любой из SEQ ID NO: 84-109. В различных вариантах

- осуществления, пептид включает пептид, содержащий или состоящий из 12 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO 9 - 83. В различных вариантах осуществления, пептид включает пептид, содержащий или состоящий из 15 или более примыкающих аминокислот из
- 5 аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83, или содержащий или состоящий из 20 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83.
- В различных вариантах осуществления, пептид включает рекомбинантный пептид, содержащий или состоящий из 12 или более примыкающих аминокислот из
- 10 аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83. В различных вариантах осуществления рекомбинантный пептид включает или состоит из 15 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9-83, или включает или состоит из 20 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 9 - 83.
- 15 В одном примере осуществления, пептидную антигенную детерминанту получают из NY-ESO-1. В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из любой из SEQ ID NO: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 и 129.
- 20 В различных вариантах осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из одной или более антигенных детерминант NY-ESO-1. В различных вариантах осуществления, одна или более антигенных детерминант NY-ESO-1 являются антигенными детерминантами MHC I. В различных вариантах осуществления, пептид включает, по существу состоит, или состоит из аминокислотной
- 25 последовательности, выбранной из группы, состоящей из 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из любой из SEQ ID NO: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 и 129. В различных вариантах осуществления, пептид включает пептид, содержащий или состоящий из 12 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 и 129.
- 30 В различных вариантах осуществления, пептид включает пептид, содержащий или состоящий из 15 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 и 129 или содержащий или состоящий из 20 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 114, 115, 116, 121, 122,
- 35 127, 128 и 129.

В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, реакционноспособные функциональные группы аминокислот пептидсодержащего партнера по конъюгации, являются незащищенными.

5 В некоторых вариантах осуществления, одна или более реакционноспособных функциональных групп одной или более аминокислот пептидного конъюгата являются незащищенными.

В некоторых вариантах осуществления, одна или более реакционноспособных функциональных групп аминокислоты аминокислотного конъюгата являются незащищенными.

10 В некоторых вариантах осуществления, одна или более реакционноспособных функциональных групп одной или более аминокислот аминокислотного партнера по конъюгации являются незащищенными.

15 В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации содержит пептид, в котором реакционноспособные функциональные группы боковых цепочек аминокислот пептида являются незащищенными, за исключением любых тиолов, отличных от тиола, который должен вступать в реакцию.

В некоторых специально рассматриваемых вариантах осуществления, реакционноспособные функциональные группы аминокислот пептида пептидсодержащего партнера по конъюгации, являются незащищенными.

20 В некоторых специально рассматриваемых вариантах осуществления, реакционноспособные функциональные группы аминокислот пептида пептидсодержащего партнера по конъюгации, являются незащищенными, за исключением любых тиолов, отличных от тиола, который должен вступать в реакцию.

25 Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение понятно, что пептид пептидного конъюгата и/или пептидсодержащего партнера конъюгации может, как описано здесь, необязательно, замещен, модифицирован или связан с различными другими фрагментами, как описано здесь, для получения пептидного конъюгата и/или пептидсодержащего партнера по конъюгации.

В некоторых вариантах осуществления, способ включает:

30 синтезирование аминокислотной последовательности пептида способом твердофазного синтеза пептидов (SPPS);

сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с пептидом, связанным способом твердофазного синтеза пептидов SPPS таким образом, чтобы получать: пептидный конъюгат, включающий

пептидную антигенную детерминанту; пептидный конъюгат, включающий линкерную группу или одну или более ее аминокислот; или пептидный конъюгат, включающий пептидную антигенную детерминанту, связанную с аминокислотой, с которой с помощью линкерной группы конъюгированы липидные фрагменты.

5 В некоторых вариантах осуществления, способ включает:

осуществление реакции липидсодержащих партнеров по конъюгации и аминокислотного партнера по конъюгации с получением аминокислотного или пептидного конъюгата;

10 синтезирование аминокислотной последовательности пептида способом твердофазного синтеза пептидов (SPPS);

15 сопряжение аминокислоты данного аминокислотного конъюгата или аминокислоты данного пептидного конъюгата с пептидом, связанным способом твердофазного синтеза пептидов SPPS, таким образом, чтобы получить: пептидный конъюгат, включающий пептидную антигенную детерминанту, пептидный конъюгат, включающий линкерную группу или одну или более ее аминокислот, или пептидный конъюгат, включающий пептидную антигенную детерминанту, связанную с аминокислотой, с которой, с помощью линкерной группы, конъюгированы липидные фрагменты.

20 В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает ацилирование N α -аминогруппы аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты, с которой конъюгированы липидные фрагменты из любых пептидных конъюгатов.

В некоторых вариантах осуществления, способ включает отщепление пептидного конъюгата от твердофазного носителя.

25 В некоторых вариантах осуществления, способ включает:

синтезирование аминокислотной последовательности пептида пептидсодержащего партнера по конъюгации способом твердофазного синтеза пептидов (SPPS); и

30 осуществление реакции липидсодержащих партнеров по конъюгации и пептидсодержащего партнера по конъюгации в соответствии с любым из описанных здесь вариантов осуществления.

В примерах осуществления, способ включает:

синтезирование аминокислотной последовательности пептида пептидсодержащего партнера по конъюгации способом SPPS;

35 отщепление пептида от твердофазного носителя; и

осуществление реакции липидсодержащих партнеров по конъюгации и пептидсодержащего партнера по конъюгации в соответствии с любым из описанных здесь вариантов осуществления.

5 В одном варианте осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации не подвергается очищению до реакции с липидсодержащими партнерами по конъюгации.

В некоторых вариантах осуществления, одна или более защитных групп удаляются при отщеплении пептида от твердофазного носителя. В некоторых вариантах осуществления, удаляются все защитные группы, присутствующие в пептиде.

В одном варианте осуществления способ SPPS представляет собой Fmoc-SPPS.

10 В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный остаток в пептиде пептидсодержащего партнера по конъюгации, включающего тиол, который должен вступать в реакцию, представляет собой N-концевой аминокислотный остаток, а данный способ включает ацилирование N-концевой аминогруппы перед отщеплением пептида от твердофазного носителя. В специально рассматриваемых вариантах
15 осуществления, N-концевой остаток представляет собой цистеиновый остаток.

В одном варианте осуществления, способ дополнительно включает отделение пептидного конъюгата от реакционной среды и, необязательно, очистку пептидного конъюгата.

20 В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в способе получения пептидного конъюгата, способе включающем:

получение аминокислотного или пептидного конъюгата формулы (I), но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, и

25 сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида для получения пептидного конъюгата формулы (I) по изобретению (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

30 В различных вариантах осуществления, продукт пептидного конъюгата представляет собой соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль в соответствии с настоящим изобретением.

В различных вариантах осуществления, аминокислота аминокислотного конъюгата сопрягается в условиях, при которых уменьшается эпитомеризация α -углерода аминокислоты. В различных вариантах осуществления, условия таковы, что происходит эпитомеризация менее чем 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 3, 2 или 1% на моль

аминокислоты. В различных вариантах осуществления, условия, при которых уменьшается эпимеризация, включают использование РуВОР или ВОР в качестве сопрягающего реагента. В различных вариантах осуществления, условия, при которых уменьшается эпимеризация, включают использование РуВОР в качестве сопрягающего реагента. В различных вариантах осуществления, условия включают использование РуВОР или ВОР и 2,4,6-триметилперидина. В различных вариантах осуществления, условия включают использование РуВОР и 2,4,6-триметилперидина.

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в использовании аминокислотного или пептидного конъюгата формулы (I) по настоящему изобретению (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата в синтезе иммуногенного пептидного конъюгата.

В различных вариантах осуществления, иммуногенный пептидный конъюгат представляет собой соединение формулы (I) в соответствии с настоящим изобретением или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в пептидном конъюгате по настоящему изобретению, полученным способом в соответствии с настоящим изобретением.

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в составе, включающем пептидный конъюгат формулы (I) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль или сольват.

В различных вариантах осуществления, состав включает изолят, чистое, очищенное или по существу чистое соединение формулы (I) по настоящему изобретению или его соль или сольват.

В различных вариантах осуществления, состав включает, по меньшей мере, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 97, 98, или 99 мас.% соединения формулы (I) по настоящему изобретению или его соли, или сольвата.

В различных вариантах осуществления, состав не содержит или по существу не содержит аминокислотные или пептидсодержащие соединения, за исключением соединений формулы (I) по настоящему изобретению.

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в фармацевтическом составе, включающем эффективное количество пептидного конъюгата формулы (I) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, и фармацевтически приемлемый носитель.

В различных вариантах осуществления, лекарственный препарат включает эффективное количество двух или более соединений пептидного конъюгата формулы (I) по настоящему изобретению.

5 В одном варианте осуществления, лекарственный препарат представляет собой иммуногенный состав.

В одном варианте осуществления, лекарственный препарат не включает внешний адъювант.

В некоторых вариантах осуществления, лекарственный препарат представляет собой вакцину.

10 В одном варианте осуществления, лекарственный препарат включает эффективное количество двух или более пептидных конъюгатов по настоящему изобретению, например, лекарственный препарат включает эффективное количество трех или более пептидных конъюгатов по настоящему изобретению.

15 В одном варианте осуществления, лекарственный препарат включает эффективное количество одного или более пептидных конъюгатов по настоящему изобретению вместе описанными здесь одним или более пептидами, или их любой комбинации. Например, лекарственный препарат включает эффективное количество двух или более пептидных конъюгатов по настоящему изобретению и один или более описанных здесь пептидов, или эффективное количество одного или более пептидных
20 конъюгатов по настоящему изобретению и два или более описанных здесь пептидов.

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в способе вакцинирования или вызывания иммунного ответа у пациента, включая введение нуждающемуся пациенту эффективного количества одного или более соединений пептидного конъюгата формулы (I) по настоящему изобретению или его
25 фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или эффективного количества фармацевтического состава по настоящему изобретению.

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в использовании одного или более соединений пептидного конъюгата формулы (I) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или фармацевтического
30 состава по настоящему изобретению в изготовлении лекарственного средства для вакцинирования или вызывания иммунного ответа у пациента.

В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в одном или более соединений пептидного конъюгата данной формулы (I) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или фармацевтического

состава по настоящему изобретению для вакцинирования или вызывания иммунного ответа у пациента.

5 В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в одном или более соединениях пептидного конъюгата данной формулы (I) по изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или фармацевтического состава по настоящему изобретению для вакцинирования или вызывания иммунного ответа у пациента.

10 В другом аспекте настоящее изобретение в целом выражается в способе активации TLR2 у пациента, способе включающем введение пациенту эффективного количества одного или более соединений пептидного конъюгата по изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или эффективного количества фармацевтического состава по изобретению.

15 Применение одного или более соединений пептидного конъюгата по изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или лекарственного препарата по изобретению при изготовлении лекарственного средства для активации TLR2 у пациента.

Применение одного или более соединений пептидного конъюгата по изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или лекарственного препарата по изобретению для активации TLR2 у пациента.

20 В различных вариантах осуществления, способ, использование, одно или более соединений или лекарственный препарат предназначены для вызывания иммунного ответа у пациента.

25 В различных вариантах осуществления, способ, использование, одно или более соединений или лекарственный препарат предназначены для вакцинирования пациента.

30 В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение пациенту одного или более описанных здесь пептидов и одного или более пептидных конъюгатов по настоящему изобретению, или двух или более пептидных конъюгатов по настоящему изобретению, например одного или более пептидов в комбинации с одним или более пептидными конъюгатами.

В некоторых вариантах осуществления, один или более описанных здесь пептидов и один или более пептидных конъюгатов по настоящему изобретению, или два или более пептидных конъюгатов по настоящему изобретению, например один или более пептидов в комбинации с одним или более пептидными конъюгатами используются

для вакцинирования или вызывания иммунного ответа у пациента или при изготовлении лекарственного средства для вакцинирования или вызывания иммунного ответа у пациента.

5 В некотором варианте осуществления, используют или вводят два или более пептидных конъюгата.

В некоторых вариантах осуществления, два или более пептидных конъюгата или один или более пептидов и один или более пептидных конъюгатов используются или вводятся одновременно, последовательно или по отдельности.

В некоторых вариантах осуществления, пациент нуждается в этом.

10 Центры асимметрии могут существовать в описанных здесь соединениях. Центры асимметрии могут быть обозначены как (*R*) или (*S*) в зависимости от конфигурации заместителей в трехмерном пространстве у хирального атома углерода. Все стереохимически изомерные формы соединений, включая диастереомерные, энантиомерные и эпимерные формы, а также *d*-изомеры и *l*-изомеры и их смеси, 15 включая энантиомерно обогащенные и диастереомерно обогащенные смеси стереохимических изомеров, входят в объем изобретения.

Отдельные энантиомеры синтезируют из имеющихся в продаже энантиомерно чистых исходных материалов или путем приготовления энантиомерных смесей и разделения смеси на отдельные энантиомеры. Способы разделения включают превращение 20 энантиомерной смеси в смесь диастереомеров и отделение диастереомеров, например, путем рекристаллизации или хроматографии и любыми другими подходящими способами, известными в отрасли техники, к которой относится данное изобретение. Исходные материалы определенной стереохимии имеются в продаже или изготавливаются, а при необходимости разделяются способами хорошо известными в 25 отрасли техники, к которой относится данное изобретение.

Описанные здесь соединения могут также существовать в виде конформационных или геометрических изомеров, включая *цис*-, *транс*-, *син*-, *анти*-, энтеген (*E*) и цузаммен (*Z*) изомеры. Все данные изомеры и любые их смеси входят в объем изобретения.

30 Также в объем изобретения входят любые таутомерные изомеры или их смеси из описанных соединений. Специалисту в данной области техники очевидно, что широкий спектр функциональных групп и других структур может демонстрировать таутомерию. Примерами являются, не ограничиваясь, кето-енольная, имин-енаминная и тиокетон- енотиольная таутомерия.

Соединения, описанные здесь, могут также существовать в виде изотопологов и изотопомеров, где один или более атомов в соединениях заменены различными изотопами. Подходящие изотопы включают, например, ^1H , ^2H (D), ^3H (T), ^{12}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{16}O и ^{18}O . Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, очевидны процедуры включения таких изотопов в описанные здесь соединения. Изотопологи и изотопомеры, описанных здесь соединений, также входят в объем изобретения.

Также в объем изобретения входят соли описанных здесь соединений, включая фармацевтически приемлемые соли. Данные соли включают соли присоединения кислоты, соли присоединения основания и четвертичные соли групп, содержащих азотистые основания.

Соли присоединения кислоты получают осуществлением реакции соединений, в форме свободного основания, с неорганическими или органическими кислотами. Примерами неорганических кислот являются, не ограничиваясь: хлористоводородная, бромистоводородная, азотная, серная и фосфорная кислота. Примерами органических кислот являются, не ограничиваясь: уксусная, трифторуксусная, пропионовая, янтарная, гликолевая, молочная, янтарная, винная, лимонная, аскорбиновая, малеиновая, фумаровая, пировиноградная, аспарагиновая, глутаминовая, стеариновая, салициловая, метансульфоновая, бензолсульфоновая, изэтиновая, сульфаниловой, адипиновая, масляная и пивалиновая.

Соли присоединения основания получают осуществлением реакций соединений, в форме свободной кислоты, с неорганическими или органическими основаниями. Примерами неорганических солей присоединения основания являются: соли щелочных металлов, соли щелочноземельных металлов и другие физиологически приемлемые соли металлов, например, соли алюминия, кальция, лития, магния, калия, натрия или цинка. Примерами органических солей присоединения основания являются: первичные, вторичные и третичные аммониевые соли, например, соли триметиламина, диэтиламина, этаноламина, диэтанолламина и этилендиамин.

Четвертичные соли групп, содержащих азотистые основания, в соединениях получают, например, осуществлением реакций соединений с галоидными алкилами, такими как метил, этил, пропил; и бутилхлоридами, бромиды и йодидами; диалкилсульфатами, такими как диметил, диэтил, дибутил; и диамилсульфатами и тому подобное.

Описанные здесь соединения могут образовываться или существовать в виде сольватов с различными растворителями. Если растворитель представляет собой воду, то сольват можно назвать гидратом, например моногидратом, дигидратом или

тригидратом. Все сольватированные формы и несольватированные формы описанных здесь соединений входят в объем изобретения.

Используемые в формулах общие химические обозначения являются обычными.

5 Термин «алифатический» охватывает насыщенные и ненасыщенные, неароматические, неразветвленные, разветвленные, ациклические и циклические углеводороды. Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение понятно, что алифатические группы включают, например, алкильную, алкенильную, алкинильную, циклоалкильную и циклоалкенильную группы и их смеси, например, циклоалкила с алкилом, циклоалкенила с алкилом и циклоалкила с алкенилом. В различных вариантах осуществления, алифатические группы включают от 1 до 12, от 1 до 8, от 1 до 6 или от 1 до 4 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления, алифатические группы включают от 5 до 21, от 9 до 21 или от 11 до 21 атомов углерода, например, 11, 13, 15, 17 или 19 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления, алифатическая группа является насыщенной.

15 Термин «гетероалифатический» охватывает алифатические группы, в которых один или более атомов углерода цепочки и/или кольца независимо заменены гетероатомом, предпочтительно гетероатомом, выбранным из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления гетероалифатическая группа является насыщенной. Примерами гетероалифатических групп являются линейные или разветвленные, гетероалкильные, гетероалкенильные и гетероалкинильные группы.

25 Термин «алкил» охватывает насыщенные углеводородные группы с неразветвленной и разветвленной цепочкой. В некоторых вариантах осуществления, алкильные группы включают от 1 до 12, от 1 до 10, от 1 до 8, от 1 до 6 или от 1 до 4 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления, алкильные группы включают от 5 до 21, от 9 до 21 или от 11 до 21 атомов углерода, например, 11, 13, 15, 17 или 19 атомов углерода. Примерами неразветвленных алкильных групп являются, не ограничиваясь, метил, этил, н-пропил, н-бутил, н-пентил, н-гексил, н-гептил и н-октил. Примерами разветвленных алкильных групп являются, не ограничиваясь, изопропил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, неопентил, изопентил и 2,2-диметилпропил.

30 Термин «алкенил» охватывает неразветвленные и разветвленные алкильные группы, имеющие, по меньшей мере, одну двойную связь между двумя атомами углерода. В некоторых вариантах осуществления, алкенильные группы включают от 2 до 12, от 2 до 10, от 2 до 8, от 2 до 6 или от 2 до 4 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления, алкенильные группы включают от 5 до 21, от 9 до 21 или от 11 до 21 атомов углерода, например, 11, 13, 15, 17 или 19 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления, алкенильные группы имеют одну, две или три двойные

углерод-углеродные связи. Примерами алкенильных групп являются, не ограничиваясь, винил, аллил, $-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)$, $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ и $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}(\text{CH}_3)$.

5 Термин «алкинил» охватывает неразветвленные и разветвленные алкильные группы, имеющие, по меньшей мере, одну тройную связь между двумя атомами углерода. В некоторых вариантах осуществления, алкинильная группа включает от 2 до 12, от 2 до 10, от 2 до 8, от 2 до 6 или от 2 до 4 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления, алкенильные группы имеют одну, две или три тройные углерод-углеродные связи. Примерами являются, не ограничиваясь, $-\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{C}\equiv\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}_3$ и $-\text{C}\equiv\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$.

10

Термин «гетероалкил» охватывает алкильные группы, в которых один или более атомов углерода цепочки заменены гетероатомом, предпочтительно гетероатомом, выбранным из группы, состоящей из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления, гетероалкил является насыщенным. Гетероалкильные группы

15 включают, например, полиэтиленгликоль и полиэтиленгликолевый эфир, и тому подобное.

Термин «циклоалкил» охватывает моно-, би- или трициклические алкильные группы. В некоторых вариантах осуществления, циклоалкинильные группы включают от 3 до 12, от 3 до 10, от 3 до 8, от 3 до 6, от 3 до 5 атомов углерода в кольце (ах). В некоторых вариантах осуществления, циклоалкильные группы имеют 5 или 6 атомов углерода в кольце. Примерами моноциклических циклоалкильных групп являются, не ограничиваясь, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил и циклооктил. В некоторых вариантах осуществления, циклоалкинильная группа

20 включает от 3 до 8, от 3 до 7, от 3 до 6, от 4 до 6, от 3 до 5 или от 4 до 5 атомов углерода в кольце. Би- и трициклические кольцевые системы охватывают мостиковые, спиро-конденсированные циклоалкильные кольцевые системы. Примерами би- и трициклических кольцевых циклоалкильных систем являются, не ограничиваясь, бицикло-2.1.1-гексанил, бицикло-2.2.1-гептанил, адамантил и декалинил.

25

Термин «циклоалкенил» охватывает неароматические циклоалкильные группы, имеющие, по меньшей мере, одну двойную связь между двумя атомами углерода. В некоторых вариантах осуществления, циклоалкенильные группы имеют одну, две или три двойные связи. В некоторых вариантах осуществления, циклоалкенильные группы

30 включает от 4 до 14, от 5 до 14, от 5 до 10, от 5 до 8, от 5 до 6 атомов углерода в кольце (ах). В некоторых вариантах осуществления, циклоалкенильные группы имеют

35 5, 6, 7 или 8 атомов углерода в кольце. Примерами циклоалкенильных групп являются

циклогексенил, циклопентенил, циклогексаденил, бутадиенил, пентадиенил и гексаденил.

Термин «арил» охватывает циклические ароматические углеводородные группы, которые не содержат каких-либо кольцевых гетероатомов. Арильные группы
5 включают моноциклические, бициклические и трициклические кольцевые системы. Примерами арильных групп являются, не ограничиваясь, фенил, азуленил, гепталенил, бифенил, флуоренил, фенантренил, антраценил, инденил, инданил, пентаниленил и нафтил. В некоторых вариантах осуществления, арильные группы
10 включает от 6 до 14, от 6 до 12 или от 6 до 10 атомов углерода в кольце (ах). В некоторых вариантах осуществления, арильные группы представляют собой фенил или нафтил. Арильные группы включают ароматические-алифатические конденсированные кольцевые системы. Примерами являются, не ограничиваясь, инданил и тетрагидронафтил.

Термин «гетероциклический» охватывает неароматические кольцевые системы,
15 содержащие 3 или более кольцевых атома, один или более из которых представляют собой гетероатом. В некоторых вариантах осуществления, гетероатом представляет собой азот, кислород или серу. В некоторых вариантах осуществления, гетероциклическая группа содержит один, два, три или четыре гетероатома. В некоторых вариантах осуществления, гетероциклические группы включают моно-, би-
20 и трициклические кольца, имеющие от 3 до 16, от 3 до 14, от 3 до 12, от 3 до 10, от 3 до 8 или от 3 до 6 кольцевых атомов. Гетероциклические группы включают частично ненасыщенные и насыщенные кольцевые системы, например, имидазолинил и имидазолонил. Гетероциклические группы включают конденсированные и мостиковые кольцевые системы, содержащие гетероатом, например хинуклидинил.
25 Гетероциклические группы включают, не ограничиваясь, азиридилил, азетидинил, азепанил, диазепанил, 1,3-диоксанил, 1,3-диоксоланил, изоксазолидинил, морфолинил, пиперазинил, пиперидинил, пиранил, пиразолидинил, пирролинил, пирролидинил, тетрагидрофуранил, тетрагидротиенил, тиadiaзолидинил и тритианил.

Термин «гетероарил» охватывает ароматические кольцевые системы, содержащие 5
30 или более кольцевых атома, один или более из которых представляют собой гетероатом. В некоторых вариантах осуществления, гетероатом представляет собой азот, кислород или серу. В некоторых вариантах осуществления, гетероарильные группы включают моно-, би- и трициклические кольцевые системы, имеющие от 5 до 16, от 5 до 14, от 5 до 12, от 5 до 10, от 5 до 8 или от 5 до 6 кольцевых атомов.
35 Гетероарильные группы включают, не ограничиваясь, пирролил, пиразолил, триазолил, тетразолил, оксазолил, изоксазолил, тиазолил, пиридилил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, тиофенил, бензотиофенил, фуранил, бензофуранил,

индолил, азандолил (пирролопиридинил), индазолил, бензимидазолил, пиразолопиридинил, триазолопиридинил, бензотриазолил, бензоксазолил, бензотиазолил, имидазопиридинил, изоксазолопиридинилксантинил, гуанинил, хинолинил, изохинолинил, тетрагидрохинолинил, хиноксалинил и хиназолинил.

- 5 Гетероарильные группы включают конденсированные кольцевые системы, в которых все кольца являются ароматическими, например, индолильными, и конденсированные кольцевые системы, в которых только одно из колец является ароматическим, например, 2,3-дигидроиндолил.

Термин «галоген» или «галоген» охватывает F, Cl, Br и I.

- 10 Термин «гетероатом» охватывает кислород, азот, серу или фосфор. В некоторых вариантах осуществления, гетероатом выбирается из группы, состоящей из кислорода, азота и серы.

- Используемый здесь термин «замещенный» означает, что один или более атомов водорода в указанной группе замещены одним или более независимо выбранными
15 подходящими заместителями при условии, что не превышает главную валентность каждого атома, к которому присоединяется заместитель (и), а замена приводит к стабильному соединению. В различных вариантах осуществления необязательные заместители в соединениях, описанных в настоящем документе, включают, не ограничиваясь, галоген, CN, NO₂, OH, NH₂, NHR₁₀, NR₁₀R₂₀, C1-6 галогеналкил, C1-6
20 галогеналкокси, C(O)NH₂, C(O)NHR₁₀, C(O)NR₁₀R₂₀, SO₂R₁₀, OR₁₀, SR₁₀, S(O)R₁₀, C(O)R₁₀ и C1-6 алифатические группы; где R₁₀ и R₂₀ каждый независимо представляет собой C1-6 алифатическую группу, например C1-6 алкил.

- Используемый здесь термин «карбоксильная защитная группа» означает группу, которая способна легко удаляться с получением OH-группы карбоксильной группы, и
25 защищает карбоксильную группу от нежелательной реакции во время синтеза. Данные защитные группы описаны в работе «Protective Groups in Organic Synthesis» под редакцией T. W. Greene и др. (John Wiley & Sons, 1999) и работе «Amino Acid-Protecting Groups» под редакцией Fernando Albericio (при участии Albert Isidro-Llobet и Mercedes Alvarez) в журнале Chemical Reviews 2009 (109) 2455-2504. Примерами
30 являются, не ограничиваясь, алкильные и силильные группы, например, метил, этил, *трет*-бутил, метоксиметил, 2,2,2-трихлорэтил, бензил, дифенилметил, триметилсилил и *трет*-бутилдиметилсилил и тому подобное.

- Используемый здесь термин «аминозащитная группа» означает группу, которая способна легко удаляться с получением NH₂-группы аминной группы, и защищает
35 аминную группу от нежелательной реакции во время синтеза. Данные защитные группы описаны в работе «Protective Groups in Organic Synthesis» под редакцией T. W.

Greene и др. (John Wiley & Sons, 1999) и работе «Amino Acid-Protecting Groups» под редакцией Fernando Albericio (при участии Albert Isidro-Llobet и Mercedes Alvarez) в журнале Chemical Reviews 2009 (109) 2455-2504. Примерами являются, не ограничиваясь, ацильные и ацилосигруппы, например, ацетил, хлорацетил, трихлорацетил, о-нитрофенилацетил, о-нитрофеноксиацетил, трифторацетил, ацетоацетил, 4-хлорбутирил, изобутирил, пиколиноил, аминокaproил, бензоил, метоксикарбонил, 9-флуоренилметоксикарбонил, 2,2,2-трифторэтоксикарбонил, 2-триметилсилилэтоксикарбонил, трет-бутилоксикарбонил, бензилоксикарбонил, п-нитробензилоксикарбонил, 2,4-дихлорбензилоксикарбонил и тому подобное. Другими примерами являются Cbz (карбоксивензил), Нозил(о- или п-нитрофенилсульфонил), Врос (2-4-бифенилизопропоксикарбонил) и Dde (1-4,4-диметил-2,6-диоксогексиденэтил).

Используемый здесь термин «карбоксамидзащитная группа» означает группу, которая способна легко удаляться с получением NH₂-группы карбоксамидной группы, и защищает карбоксамидную группу от нежелательной реакции во время синтеза. Данные защитные группы описаны в работе «Protective Groups in Organic Synthesis» под редакцией T. W. Greene и др. (John Wiley & Sons, 1999) и работе «Amino Acid-Protecting Groups» под редакцией Fernando Albericio (при участии Albert Isidro-Llobet и Mercedes Alvarez) в журнале Chemical Reviews 2009 (109) 2455-2504. Примерами являются, не ограничиваясь, 9-ксантенил (Xan), тритил (Trt), метилтритил (Mtt), циклопропилдиметилкарбинил (Cpd) и диметилциклопропилметил (Dmcp).

Используемый здесь термин «и/или» означает «и», или «или», или и то, и другое.

Окончание «(ы)» после имени существительного охватывает формы единственного и множественного числа или и то, и другое.

Термин «содержащий», используемый в этом описании, включая формулу изобретения, означает «состоящий, по меньшей мере, частично из». При интерпретации каждого утверждения в этом описании, включая формулу изобретения, которое включает термин «содержащий», могут присутствовать и другие значения, кроме тех, которые предварены этим термином. Подобные термины, такие как «содержать» и «содержит», должны интерпретироваться таким же образом. «Включающий» также следует интерпретировать подобным образом.

Изобретение в широком смысле состоит из частей, элементов и признаков, упомянутых или указанных в описании заявки по отдельности или вместе, в любых комбинациях из двух или более указанных частей, элементов или признаков и где упомянутые конкретные целые числа, которые имеют известные эквиваленты в отрасли техники,

к которой относится данное изобретение, такие известные эквиваленты считаются включенными в данное описание, как если бы они были изложены по отдельности.

Предполагается, что ссылка на раскрытый здесь диапазон чисел, (например, от 1 до 10), также включает ссылку на все рациональные числа в этом диапазоне (например, 1, 1,1, 2, 3, 3,9, 4, 5, 6, 6,5, 7, 8, 9 и 10), а также на любой диапазон рациональных чисел в этом диапазоне (например, от 2 до 8, от 1,5 до 5,5 и от 3,1 до 4,7) и, следовательно, на все поддиапазоны всех диапазонов явно раскрытых здесь. Это лишь конкретные примеры, а все возможные перечисленные комбинации числовых значений между наименьшим значением и наивысшим значением, должны рассматриваться аналогичным образом, как явно указанные в этой заявке.

Хотя настоящее изобретение в целом описано выше, специалистам в данной области техники понятно, что изобретение этим не ограничивается и что изобретение также включает в себя варианты осуществления, описание которых является примерами осуществления.

15

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ РИСУНКОВ

Изобретение описывается со ссылкой на прилагаемые рисунки.

На Рисунке 1 представлен график, показывающий результаты репрезентативного анализа агонизма TLR в клетках HEK-Blue™-hTLR2 с использованием титрованных концентраций конструкций агонистов: **910** (белые столбцы с точками); **930** (серые столбцы); **931** (столбцы с полосками); **932** (столбцы с квадратиками); и **(R)-Pam2Cys-SK₄-SLLMWITQV** (черные столбцы). Данные представлены как среднее значение +/- SD ABS или (635 нм) для трех параллельных лунок после вычитания фона. Пунктирные линии обозначают ABS только в лунке PBS.

На Рисунке 2A представлен график, показывающий результаты человеческого анализа агонизма TLR2 в клетках HEK-Blue™-hTLR2 с использованием титрованных концентраций следующих конструкций агонистов: А) (слева-направо): **45a, 45b, 46a, 46b, 47b, 910, 911, 912** и **913** (структуры, отображенные в Таблице 3); В) (слева-направо): **45b, 910** и вытянутые цепочечные структуры **930, 931** и **932** (структуры, отображенные в Таблице 4).

На Рисунке 3 представлен график, показывающий результаты анализа агонизма TLR2 мыши с использованием титрованных концентраций следующих конструкций агонистов: А) (слева-направо): **45a, 45b, 46a, 46b, 47b, 910, 911, 912** и **913** (структуры, отображенные в Таблице 3); В) (слева-направо): **45b, 910** и вытянутые цепочечные структуры **930, 931** и **932** (структуры, отображенные в Таблице 4).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к соединениям пептидного конъюгата формулы (I), как определено здесь в первом аспекте. Авторы изобретения обнаружили, что такие конъюгаты обладают удивительной иммуногенной активностью.

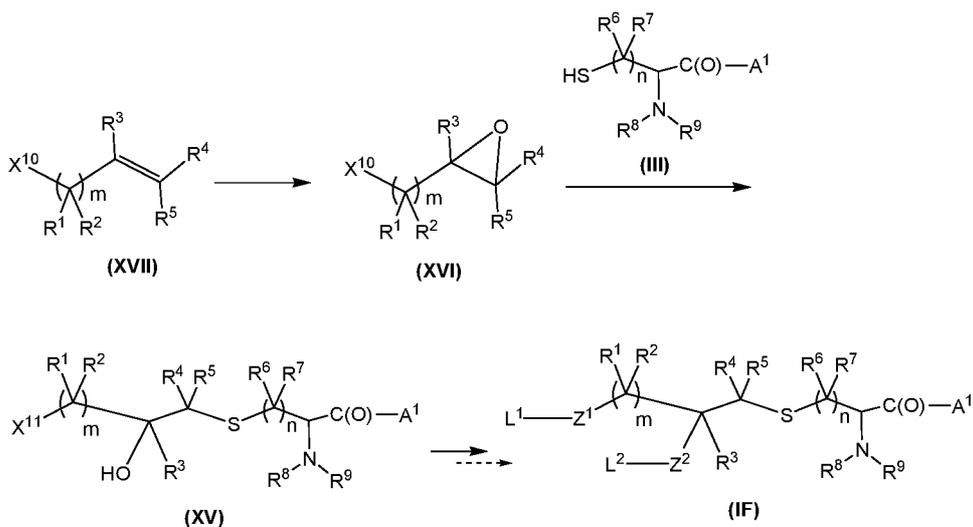
- 5 Соединения пептидного конъюгата формулы (I) получают способами и методами, описанными здесь.

Исходные материалы и/или промежуточные продукты, используемые в способах, можно получать с использованием известных методов синтетической химии (например, методов, описанных Louis F Fieser и Mary F в работе *Reagents for Organic*
10 *Synthesis* v. 1-19, Wiley, New York (1967) -1999 ed.) или Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. Ed. Springer-Verlag Berlin, включая дополнения (также доступные в онлайн базе данных Beilstein), или имеющиеся в продаже для некоторых вариантов осуществления.

Приготовление соединений может включать защиту и снятие защиты с различных
15 химических групп. Специалист в данной области способен легко определить необходимость защиты и снятия защиты, а также выбор подходящих защитных групп. Защитные группы, способы защиты и снятия защиты хорошо известны в отрасли техники, к которой относится данное изобретение (см., напр., T. W. Greene и P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., Wiley & Sons, Inc., New York (1999).

20 Как показано в Схеме A1 ниже, соединения формулы (IF), которые являются соединениями формулы (I), где w равно 1, v равно 0, а m составляет от 2 до 6, предпочтительно 2, или от 3 до 5, получают способом по настоящему изобретению, включающим конъюгацию эпоксида с аминокислотным партнером по конъюгации.

Схема A1: Получение соединений формулы (IF) путем конъюгации с эпоксидом.



Способ включает осуществление реакции эпоксида формулы (XVI) и аминокислотного партнера по конъюгации, содержащего тиол формулы (III) в условиях, способствующих получению соединения формулы (XV) путем конъюгации тиола с эпоксидом.

В одном варианте осуществления способа, способ (A), переменные $m, n, L^1, Z^1, R, R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9$ и A^1 в соединении формулы (XV) соответствуют определению в соединении формулы (IF) изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта); а способ дополнительно включает превращение соединения формулы (XV) в соединение формулы (IF) по изобретению посредством одной или более дополнительных стадий синтеза. В этом варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации может содержать пептид, который соответствует пептиду, присутствующему в соединении формулы (IF) по изобретению, полученному данным способом.

В другом варианте осуществления способа, способ (B), переменные $m, n, L^1, Z^1, R, R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9$ и A^1 в соединении формулы (XV) соответствуют определению в соединении формулы (IF), но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта; а способ дополнительно включает превращение соединения формулы (XV) в соединение формулы (IF), но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта, посредством одной или более дополнительных стадий синтеза; и сопряжение соединения с аминокислотой или пептидом для получения соединения формулы (IF) по изобретению (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта). В этом варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации может содержать аминокислоту, или может содержать пептид, который соответствует части пептида,

присутствующей в соединении формулы (IF) по изобретению, полученному данным способом.

- В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации, вступивший в реакцию с эпоксидом, может состоять из аминокислоты, например
- 5 защищенного N α -аминна и/или защищенного C-концевого цистеина. В других вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации содержит пептид, например короткий пептид. В таких вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации, может содержать около 15 аминокислотных остатков или менее, например 5, 4 или 3 аминокислотных остатка.
- 10 N α -аминогруппа аминокислотного партнера по конъюгации, предпочтительно защищена или иным образом замещена (т.е. не находится в форме свободной группы амина -NH $_2$) для предотвращения реакции во время реакции конъюгации. C-конец аминокислотного партнера по конъюгации также может быть защищен.

- X10 в соединении формулы (XVI) может представлять собой защищенную
- 15 гидроксильную, тиоловую, аминную или карбаматную группу (P10-O-, P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-, соответственно) из которых впоследствии могут быть образованы L1-Z1- и L2-Z2-. Если X10 является защищенной группой, то защитная группа может быть удалена в реакции конъюгации с получением соединения формулы (XV), где X11 представляет собой соответствующую группу со снятой защитой. Например, когда X10
- 20 представляет собой P10-O-группу, реакция конъюгации способна создать соответствующую гидроксильную группу в качестве X11 в соединении формулы (XV).

- Эпоксид формулы (XVI) содержит стереогенный центр у атома углерода, к которому присоединен R3. Таким образом, единственный стереоизомер эпоксида или стереоизомерно обогащенной смеси эпоксида может использоваться в реакции для
- 25 управления стереохимией атома углерода, к которому присоединен R3 в соединении формулы (XV) и последующим образовавшимся продуктам, включая соединение формулы (IF). В отрасли техники, к которой относится данное изобретение, известны различные способы получения энантиомерно чистых или энантиомерно обогащенных смесей эпоксидов. В различных вариантах осуществления, получение единственного
- 30 стереоизомера или стереоизомерно обогащенной смеси эпоксида формулы (XVI) включает разделение рацемической смеси эпоксида. Например, разделение рацемической смеси эпоксида с использованием кинетического гидролиза, как описано Jacobsen et al., Science, **1997**, 277, 936-938.

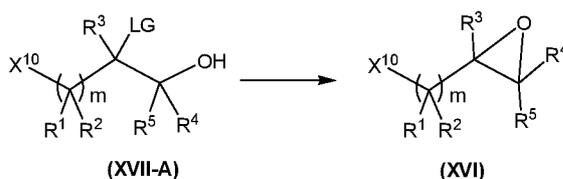
- Эпоксид формулы (XVI) получают осуществлением реакции алкена формулы (XVII) с
- 35 окислителем в условиях, способствующих эпексидированию алкена. В отрасли техники, к которой относится данное изобретение, известны многочисленные методы

эпоксицирования алкенов. В некоторых вариантах осуществления, эпоксицирование проводят осуществлением реакции алкена с пероксидом или органическим N-оксидом в качестве окислителя. Примерами подходящих пероксидов являются органические пероксиды, например, *m*-хлорпероксибензойная кислота. Примерами N-оксидов являются, например, N-оксид пиридина и тому подобное. Для специалистов в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, очевидны и другие подходящие окислители. Реакцию можно осуществлять в жидкой реакционной среде, содержащей подходящий растворитель, например, дихлорметан. Алкены формулы (XVII) имеются в продаже или получают из имеющихся в продаже прекурсоров с использованием стандартных методов синтетической химии.

Специалистам в данной области техники понятно, что некоторые группы X10 могут быть подвержены окислению в ходе реакции эпоксицирования, например, когда X10 содержит аминогруппу (которая способна образовывать N-оксид) или тиоэфирную группу (которая способна образовывать, напр., сульфоксиды или сульфоны). Такие группы могут быть защищены во время реакции для предотвращения окисления или восстановления обратно в требуемую группу в подходящей точке синтетической последовательности после проведения реакции эпоксицирования.

Кроме того, эпоксид формулы (XVI) получают обработкой соединения формулы (XVII-A), где LG представляет собой подходящую уходящую группу, например, галоген, с основанием в подходящем растворителе для вытеснения уходящей группы, как показано в Схеме A2.

Схема A2. Эпоксицирование путем вытеснения уходящей группы.



Соединения формулы (XVII-A) имеются в продаже или получают из имеющихся в продаже прекурсоров. В некоторых вариантах осуществления, соединения формулы (XVII-A) преимущественно получают из энантиомерно чистой α -аминокислоты. Реакция эпоксицирования протекает стереоспецифически со стереохимической инверсией углерода, к которому присоединяется R3.

Например, как показано в схеме A2-1, соединение формулы (XVII-A1), которое соответствует соединению формулы (XVII-A), где *m* равно 2, а R1 и R2, и R3, R4 и R5 представляют собой водород, X10 представляет собой -OH, а LG представляет собой

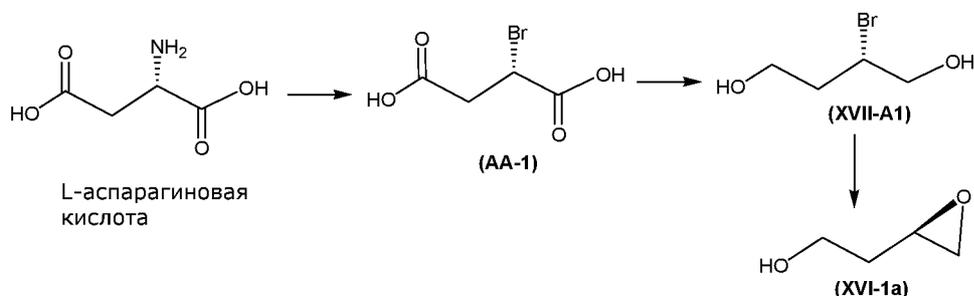
бром, получают из L-аспарагиновой кислоты (см. Volkmann, R. A. et al. *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 4352-4361).

L-аспарагиновую кислоту можно превратить в бромантарную кислоту (AA-1) при температуре от -10 до 0 °С, например, обработкой нитритом натрия и сильной кислотой, такой как серная кислота, для получения азотистой кислоты в реакционной смеси в присутствии бромида натрия. Реакция протекает стереоспецифически с полным сохранением стереохимии.

Восстановление бромантарной кислоты (AA-1) до бромдиола (XVII-A1) осуществляется с использованием подходящего восстановителя, например, путем обработки бораном или борандиметилсульфидным комплексом в THF при температуре -78 °С с нагревом реакционной смеси до комнатной температуры. Эпоксидирование с получением соединения формулы (XVI-1a) осуществляется реакцией в дихлорметане при комнатной температуре бромдиола (XVII-A1) с основанием, например карбонатом цезия. Как отмечено выше, реакция протекает стереоспецифически с полной стереохимической инверсией.

Противолежащий энантиомер эпоксида (XVI-1a) получают из D-аспарагиновой кислоты тем же способом.

Схема A2-1. Получение энантиомерно чистого эпоксида из L-аспарагиновой кислоты.



Обращаясь снова к Схеме A1, соединение формулы (XV) может быть последовательно превращено, на одной или более стадиях синтеза, в соединение формулы (IF) в соответствии с любым способом (A) или (B). На одной или более стадиях, гидроксильная группа, связанная с углеродом, к которому присоединено R₃, превращается в группу L2-Z2-.

Если X11 не представляет собой L1-Z1-, то на одной или более стадиях также осуществляется превращение X11 в L1-Z1-. Группы L1-Z1- и L2-Z2- могут вводиться одновременно или последовательно в любом порядке.

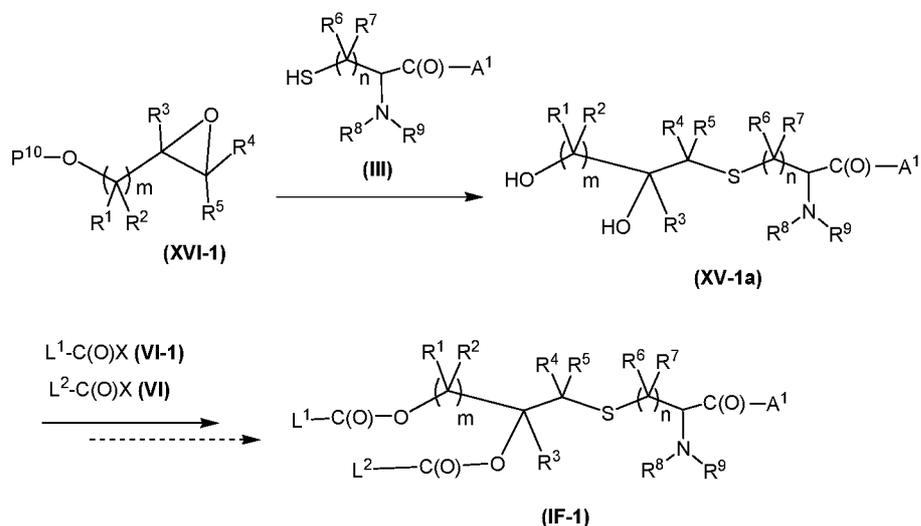
В некоторых вариантах осуществления, одна или более стадий включают ацилирование соединения формулы (XV) таким образом, чтобы заменять атом водорода гидроксильной группы, связанной с углеродом, к которому присоединено R3, на L2-C(O)-.

5 В примерах осуществления, X10 представляет собой P10-O- или OH; а X11 представляет собой P10-O- или OH.

В различных вариантах осуществления, X11 представляет собой P10-O- или OH, а одна или более стадий синтеза включают ацилирование соединения формулы (XV) таким образом, чтобы заменять P10 или атом водорода гидроксильной группы из X11 на L1-C(O)-, и/или заменять атом водорода гидроксильной группы, связанной с углеродом, к которому присоединено R3 на L2-C(O)-.

В некоторых вариантах осуществления, как показано ниже в Схеме А3 и описано в данном документе, способ включает осуществление реакции эпоксида формулы (XVI-1), имеющего защищенную гидроксильную группу, с аминокислотным партнером по конъюгации формулы (III) с получением соединения формулы (XV-1a).

Схема А3: Получение бис-сложноэфирных конъюгатов путем конъюгации эпоксида.



20

Реакцию конъюгации осуществляют в кислых условиях осуществлением реакции эпоксида и тиола в присутствии кислоты, например, хлористоводородной кислоты, серной кислоты или их смеси. Реакцию можно осуществлять в жидкой реакционной среде, включающей подходящий растворитель, например, дихлорметан, при температуре, составляющей примерно от -10 до примерно 50 °С, например, от 0 до 40 °С.

25

Гидроксильная защитная группа P10 выбирается таким образом, чтобы она удалялась в условиях, способствующих конъюгации, и поэтому удаляется во время реакции конъюгации с получением требуемого диола формулы (XV-1a). Подходящие защитные группы очевидны для специалистов в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, и могут включать, например, кислото-неустойчивые силиловые защитные группы.

Кроме того, реакцию конъюгации можно осуществлять с использованием эпоксида формулы (XVI), где X10 представляет собой гидроксильную группу, такую как у эпоксида формулы (XVI-1a).

Диол формулы (XV-1a) может быть превращен в соединение формулы (IF-1) реакцией с соединениями формулы (VI-1) и (VI) в условиях способствующих этерификации, где X представляет собой OH или подходящую уходящую группу (например галогенид, такой как хлор или бром).

Условия, способствующие этерификации, зависят от природы соединения формулы (IV) и/или (VI-1). Например, если X представляет собой OH, то реакцию проводят в жидкой среде, содержащей подходящий растворитель, такой как THF, в присутствии основания, такого как DMAP, и активирующего агента, такого как N, N'-диизопропилкарбодиимид (DIC).

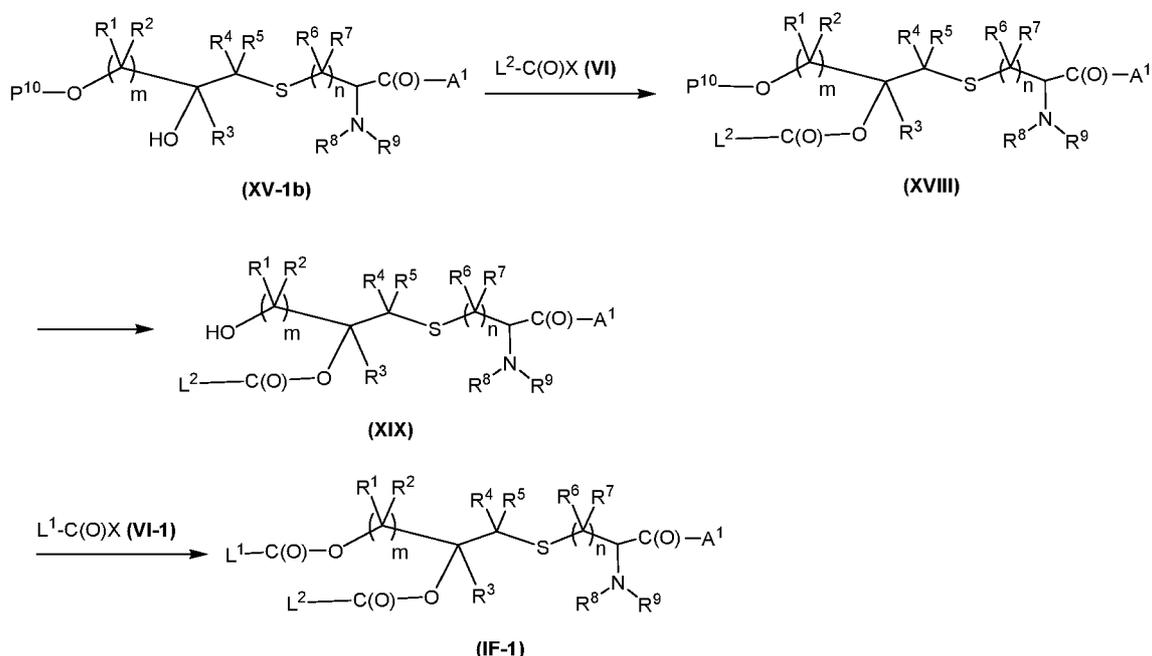
В различных вариантах осуществления, соединение формулы (VI) и (VI-1) идентичны. Например, соединение формулы (VI) и (VI-1) каждое может представлять собой пальмитиновую кислоту. В таких вариантах осуществления, превращение диола формулы (XV-1a) в соединение формулы (IF-1) может осуществляться за одну стадию.

В некоторых вариантах осуществления, могут вводиться различные группы L1 и L2 путем осуществления реакции диола со стехиометрическим количеством соединения формулы (VI-1) или (VI) для этерификации более реакционноспособного из двух спиртов и последующего осуществления реакции полученного сложного эфира с другим соединением формулы (VI) или (VI-1), чтобы эстерифицировать второй спирт диола.

В других вариантах осуществления, способ включает осуществление реакции эпоксида формулы (XVI-1) и аминокислотного партнера по конъюгации формулы (III), с получением соединения формулы (XV-1b), как показано ниже в Схеме A4. В таких вариантах осуществления, гидроксильная защитная группа P10 стабильна и не удаляется в условиях реакции конъюгации.

Защищенный спирт формулы (XV-1b) обеспечивает беспрепятственное проникновение к соединениям формулы (IF-1), где L1 и L2 различны. В некоторых вариантах осуществления, например, когда существует слабая селективность между спиртами диола формулы (XV-1a), более удобным является использование соединения формулы (XV-1b) для проникновения к таким соединениям, а не к диолу формулы (XV-1a).

Схема A4: Получение бис-сложноэфирных конъюгатов с помощью соединения формулы (XV-1b).



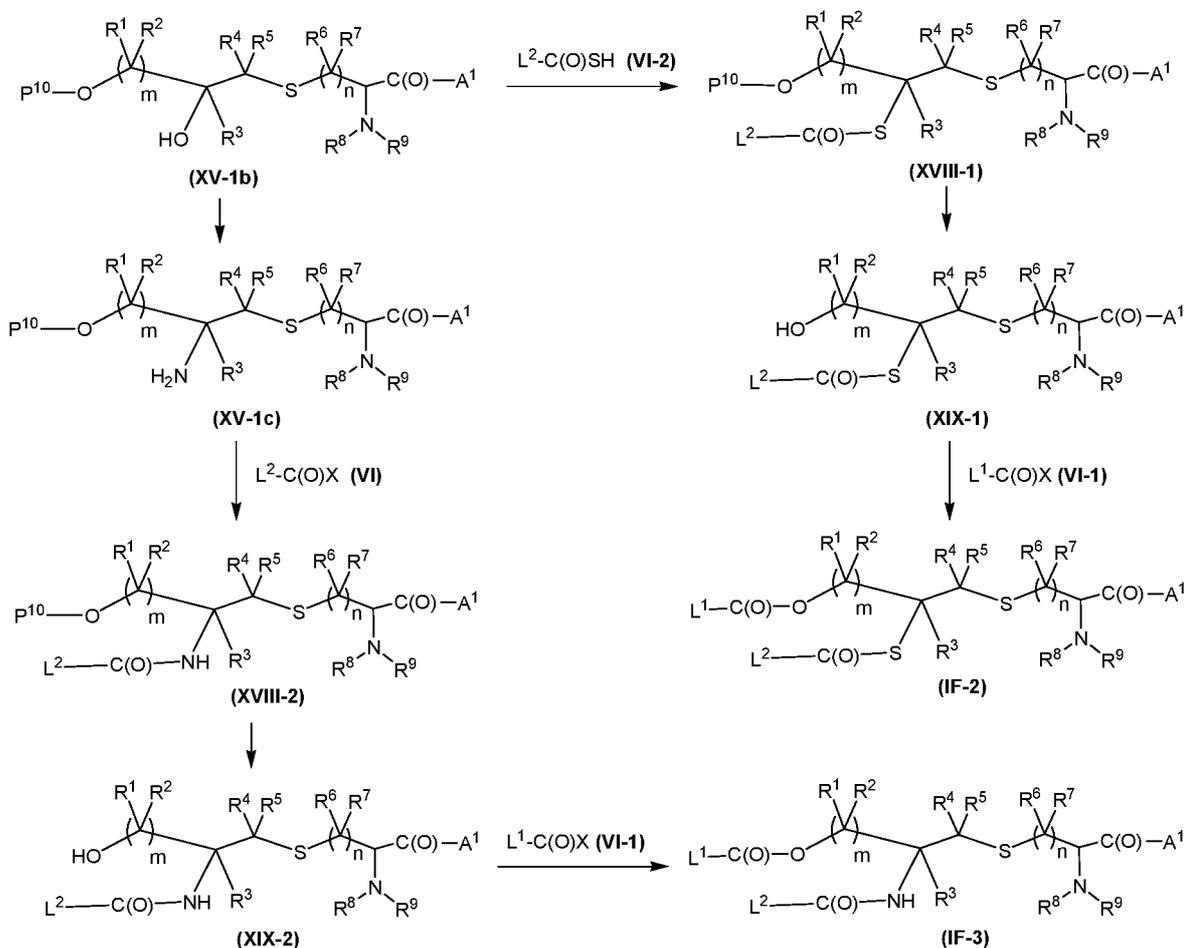
Для получения защищенного сложного эфира (XVIII) β-сульфанилгидроксильную группу соединения формулы (XV-1b) ацилируют соединением формулы (VI) в условиях способствующих этерификации, а затем защитную группу P10 удаляют с получением спирта формулы (XIX). Условия удаления защитной группы зависят от используемой защитной группы. Например, разбавленный HF можно использовать для удаления силиловых защитных групп, таких как TBDMS, TBDPS и т.п. Спирт формулы (XIX) затем ацилируют соединением формулы (VI-1) в условиях способствующих этерификации с получением требуемого соединения формулы (IF-1).

Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, очевидно, что гидроксильные группы, например, из соединений формулы (XV-1a), (XV-1b) и (XIX), могут быть превращены в различные другие функциональные группы, такие как тиолы и амины, для проникновения к соединениям формулы (I), имеющим L1-Z1- и L2-Z2- группы, отличные от сложных эфиров.

Например, соединение формулы (XV-1b) можно использовать для получения сложных тиоэфирных и амидных аналогов соединения формулы (IF-1), как показано ниже в Схеме А5. Для получения амидного аналога (IF-3) гидроксильную группу в соединении формулы (XV-1b) сначала превращают в азид и затем восстанавливают до соответствующего амина. Реакцию проводят в модифицированных условиях реакции Мицунобу (напр., L. Rokhum и др., J. Chem. Sci, **2012**, 124, 687-691), используя PPh_3 , I_2 , имидазол и NaN_3 для получения азида, а затем PPh_3 для восстановления азида до амина. Кроме того, азид можно получать сначала путем преобразования гидроксильной группы в подходящую уходящую группу, например тозилную или мезильную группу, а затем обработкой NaN_3 .

Ацилирование амина соединением формулы (VI) дает амид формулы (XVIII-2). Реакцию ацилирования осуществляют реакцией карбоновой кислоты формулы (VI) в присутствии основания, например DMAP, и активирующего агента, например DIC, в подходящем растворителе, например THF. Снятие защиты защитной группы P10 и этерификация полученного спирта (XIX-2) дает соединение формулы (IF-3).

Схема А5. Получение сложных тиоэфиров и амидов с помощью соединения формулы (XV-1b).



5

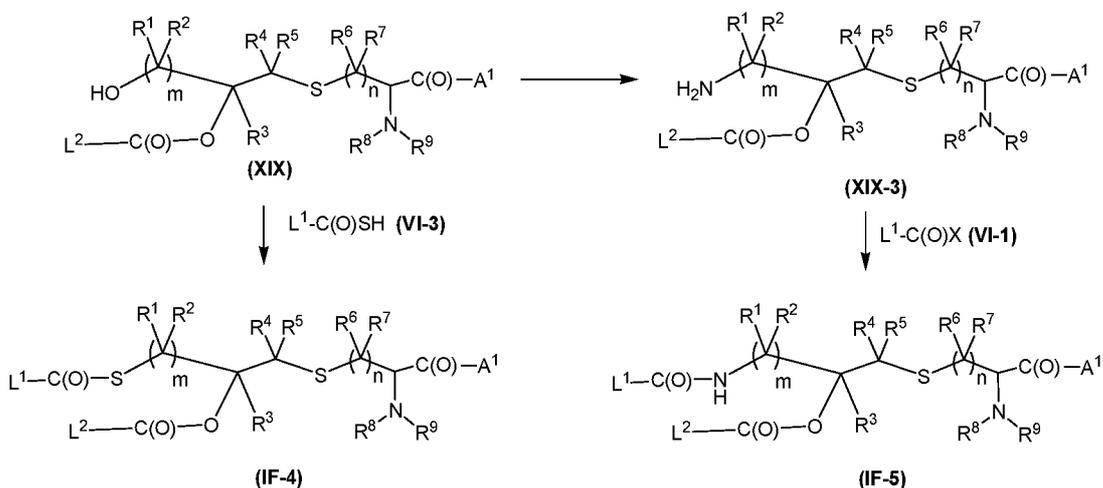
Аналог (IF-2) сложного тиоэфира можно получать сначала осуществлением реакции соединения формулы (Xv-1b) в условиях реакции Мицунобу (напр., Pph₃, диэтилазодикарбоксилата (DEAD)) и улавливанием требуемой тиокислоты формулы (VI-2), например тиопальмитиновой кислоты, с получением соединения формулы (XVIII-1) (см., напр., O. Schulze et al, Carbohydrate Res., 2004, 339, 1787-1802). Снятие защиты защитной группы P10 и этерификация полученного спирта (XIX-1) дает соединение формулы (IF-2).

Сложные тиоэфирные и амидные аналоги бис-сложного эфира (IF-1) также получают из соединения формулы (XIX), как показано в Схеме А6. Соединение формулы (XIX) превращают в соединение формулы (IF-4) способами, аналогичными описанными выше для превращения соединения формулы (XV-1b) в соединение формулы (XVIII-1).

15

Подобным образом соединение формулы (XIX) превращают в соединение формулы (IF-5) способами, аналогичными описанными выше для превращения соединения формулы (XV-1b) в соединение формулы (XVIII-2).

5 **Схема А6.** Получение тиоэфиров и амидов с помощью соединения формулы (XIX).



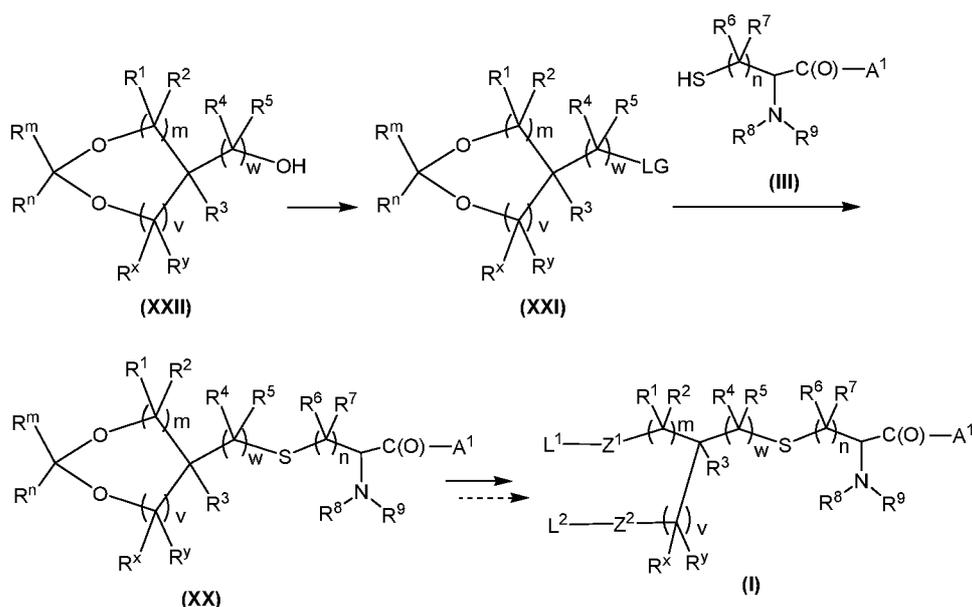
10 Другие аналоги бис-сложного эфира (IF-1) получают заменой соединения формулы (XIX) в Схеме А6 на соединение формулы (XIX-1) или (XIX-2), а затем следованием описанным синтетическим последовательностям.

Многочисленные другие соединения формулы (IF) получают аналогичными способами, что очевидно специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение.

15 Соединения формулы (VI), (VI-1), (VI-2) и (VI-3) имеются в продаже или получают из имеющихся в продаже прекурсоров с использованием стандартных методов синтетической химии.

Соединения формулы (I) также получают способом в соответствии с настоящим изобретением, включающим конъюгацию аминокислотного партнера по конъюгации, и ацеталя, как показано в Схеме В1.

Схема В1. Получение соединений формулы (I) с помощью ацетала (XXI).



Способ включает реакцию аминокислотного партнера по конъюгации формулы (III) и ацетала формулы (XXI), где LG представляет собой подходящую уходящую группу в условиях, способствующих получению соединения формулы (XX).

В одном варианте осуществления способа, способ (A), переменные $m, w, v, n, R^x, R^y, R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9$ и A^1 в соединении формулы (XX) соответствуют определению в соединении формулы (I) изобретения (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта); а способ дополнительно включает превращение соединения формулы (XX) в соединение формулы (I) по изобретению посредством одной или более дополнительных стадий синтеза. В этом варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации может содержать пептид, который соответствует пептиду, присутствующему в соединении формулы (I) по изобретению, полученному данным способом.

В другом варианте осуществления способа, способ (B), переменные $m, w, v, n, R^x, R^y, R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9$ и A^1 в соединении формулы (XX) соответствуют определению в соединении формулы (I), но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта; а способ дополнительно включает превращение соединения формулы (XX) в соединение формулы (I), но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта, посредством одной или более дополнительных стадий синтеза; и сопряжение соединения с аминокислотой или пептидом для получения соединения формулы (I) по изобретению (включая условия (1) и/или (2) первого аспекта). В этом варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации может содержать аминокислоту, или может содержать пептид, который соответствует части пептида,

присутствующему в соединении формулы (I) по изобретению, полученному данным способом.

- В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации, вступивший в реакцию с ацеталем, состоит из аминокислоты, например защищенного
- 5 N α -амина и/или защищенного C-концевого цистеина. В других вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации содержит пептид, например короткий пептид. В таких вариантах осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации, может содержать около 15 аминокислотных остатков или менее, например 5, 4 или 3 аминокислотных остатка.
- 10 N α -аминогруппа аминокислотного партнера по конъюгации, предпочтительно защищена или иным образом замещена (т.е. не находится в форме свободной группы амина -NH₂) для предотвращения реакции во время реакции конъюгации. C-конец аминокислотного партнера по конъюгации также может быть защищен.

- В ходе реакции, тиол соединения формулы (III) вытесняет уходящую группу (LG) в
- 15 ацетале формулы (XXI). Уходящая группа включает, не ограничиваясь, галоген (например, хлора, брома или йода) или сульфонат (например, тозилат или мезилат). Для специалистов в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, очевидны и другие подходящие уходящие группы.

- Размер ацетального кольца в соединении формулы (XXI) может изменяться.
- 20 Ацетальное кольцо может содержать от 5 до 7 кольцевых атомов (т.е. может быть 5-7 членным циклическим ацеталем). В некоторых вариантах осуществления, циклический ацеталь представляет собой 6 членный циклический ацеталь. Следует понимать, что если циклический ацеталь представляет собой 5 членный циклический ацеталь, то для получения соединения формулы (I), w равно, по меньшей мере, 2 (так,
- 25 чтобы сумма m, v и w составляла, по меньшей мере, 3).

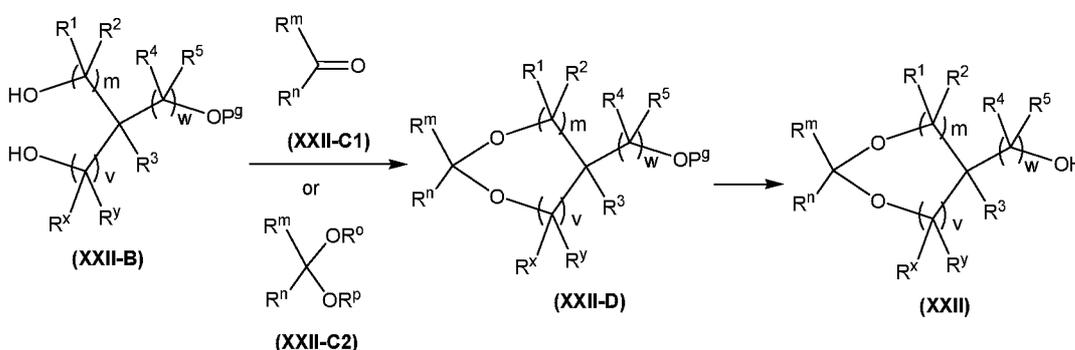
Реакцию конъюгации можно проводить в присутствии основания. Например, реакцию проводят в присутствии органического амина в подходящем растворителе, например DMF, при температуре около 50 °C. Подходящие органические амины включают, не ограничиваясь, триэтиламин, N-метилморфолин, коллидин и тому подобное.

- 30 Соединение формулы (XXI) может быть представлено в стереоизомерно чистой форме или в виде стереоизомерно обогащенной смеси путем осуществления реакции стереоизомерно чистой или стереоизомерно обогащенной смеси соединения с соединением формулы (XXII). Преимущество состоит в том, что соединения, в стереоизомерно чистой форме, формулы (XXII) имеются в продаже, например, (4R)-
- 35 или (4S)-2,2-диметил-1,3-диоксан-4-ил-метанол.

Другие соединения формулы (XXII) получают обычными способами, известными в отрасли техники, к которой относится данное изобретение. Как показано в Схеме В1-1, соединение формулы (XXII-В), где Рg представляет собой подходящую защитную гидроксильную группу, способно вступать в реакцию с соединением формулы (XXII-С1) с получением ацетала формулы (XXII- D), который затем превращается в соединение формулы (XXII) путем удаления защитной группы Рg. Кроме того, соединение формулы (XXII-В) способно вступать в реакцию с ациклическим ацеталем формулы (XXII-С2), где каждое из R_o и R_p независимо представляет собой С1-4 алкил. Реакцию ацетилирования осуществляют в подходящем растворителе, таком как дихлорметан с использованием кислоты, например, камфорсульфоновой кислоты.

Условия удаления защитной группы Рg зависят от используемой защитной группы. Например, силилэфирная защитная группа, такая как TBDMS, удаляется обработкой источником фтора, таким как фторид тетрабутиламмония (TBAF) в подходящем растворителе, таком как THF. Смотрите, например работу С. R. Reddy et al, (Tetrahedron Letters, **2010**, 51(44) 5840-5842); и Sauret-Cladière et al (Tetrahedron Asymmetry, **1997**, 8(3), 417-423).

Схема В1-1. Получение соединений формулы (XXII).



Обращаясь снова к Схеме В1, соединения формулы (XXI) получают из соединений формулы (XXII) реакцией с подходящим прекурсором уходящей группы. Например, тозилные или мезильные уходящие группы можно получать реакцией с тозилхлоридом или мезилхлоридом в присутствии основания и подходящего растворителя, а йодистые уходящие группы можно получать реакцией PPh₃ и I₂.

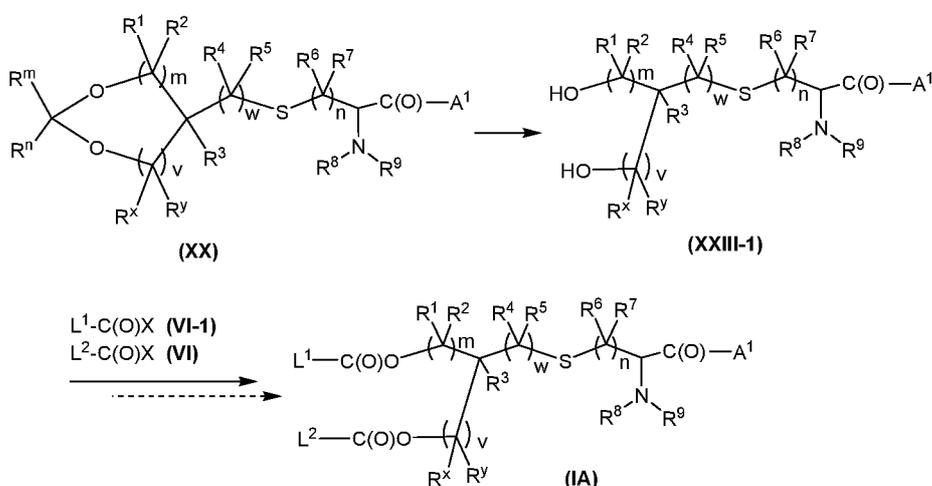
Соединение формулы (XX) может быть впоследствии превращено на одной или более стадиях синтеза в соединение формулы (I), в соответствии с любым способом (А) или (В), например соединение формулы (IA).

Одна или более стадий синтеза могут включать удаление ацетала с получением диола формулы (XXIII-1). Гидроксильная группа, связанная с углеродом, к которому присоединены R₁ и R₂ в соединении формулы (XXIII-1), может быть превращена в L1-

Z1-; и/или гидроксильная группа, связанная с углеродом, к которому присоединены R_x и R_y, может быть превращена в L2-Z2.

Например, как показано в Схеме В2, ацеталь в соединении формулы (XX) удаляется с получением диола формулы (XXIII-1) в результате обработки кислотой, такой как р-толуолсульфоновая кислота, в растворителе, таком как дихлорметан. Диол формулы (XXIII-1) может быть превращен в бис-сложноэфирное соединение формулы (IA) в результате одной или более стадий ацилирования, способом аналогичным описанному для превращения соединения формулы (XV-1a) в соединение формулы (IF-1).

Схема В2. Получение бис-сложноэфирных конъюгатов формулы (IA).



10

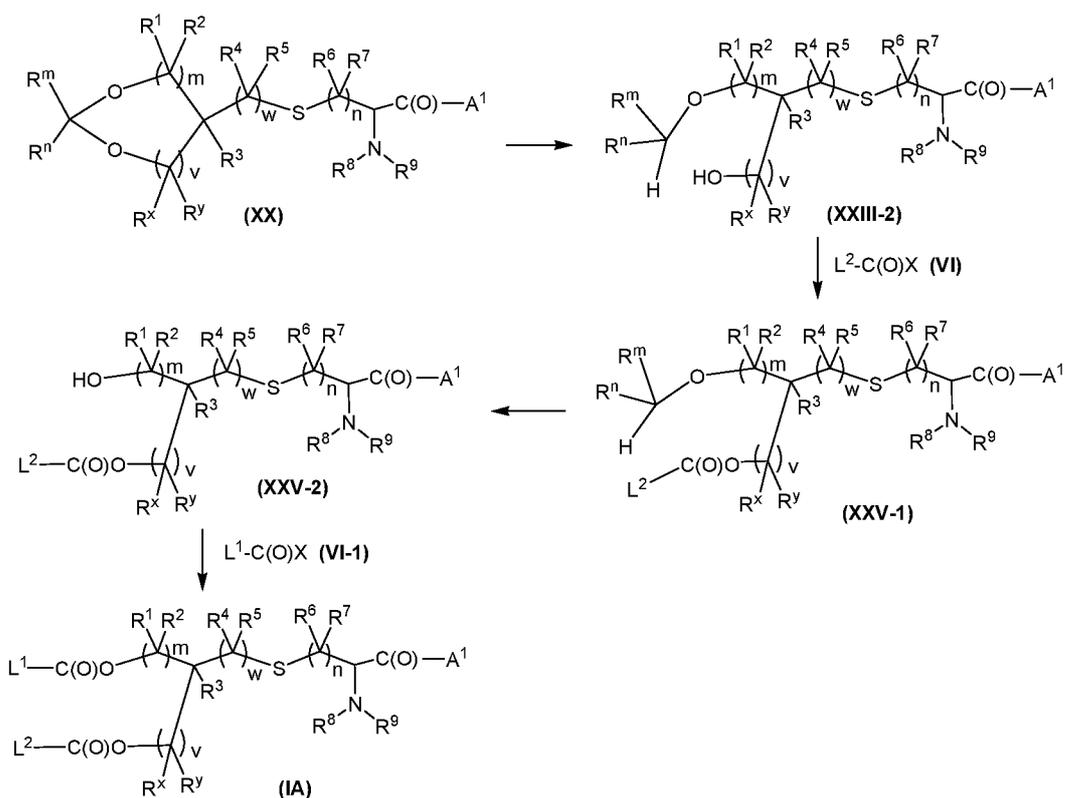
Кроме того, в различных вариантах осуществления, где R_m, необязательно, замещен арилом, например фенилом или метоксизамещенным фенилом, одна или более стадий синтеза включает удаление ацеталя с получением соединения формулы (XXIII-2) или (XXIII-3). Одна или более стадий могут включать: превращение гидроксильной группы, связанной с атомом углерода, к которому присоединены R_x и R_y в соединении формулы (XXIII-2), в L2-Z2-; удаление группы R_mR_nCH-, с получением гидроксильной группы и превращение гидроксильной группы в L1-Z1; или превращение гидроксильной группы, связанной с углеродом, к которому присоединены R_x и R_y в соединении формулы (XXIII-2), в L1-Z1-; удаление группы R_mR_nCH- с получением гидроксильной группы и превращение гидроксильной группы в L2-Z2-. Данные способы допускают введение различных групп L1-Z1 и L2-Z2-.

Как показано в Схеме В3, ацеталь в соединении формулы (XX) можно удалить, например, обработкой подходящим восстанавливающим агентом, например диизобутилалюминийгидридом (DIBAL). Полученное соединение формулы (XXIII-2) затем ацилируется соединением формулы (VI) для введения требуемой L2-C(O)O- группы. Удаление группы R_mR_nCH- для получения соединения формулы (XXV-2) осуществляется гидрогенолизом (напр., для бензильной или р-метоксибензильной

25

группы) или любым другим подходящим способом с учетом природы RmRnCH- группы. Затем соединение формулы (XXV-2) превращают в соединение формулы (IA) путем ацилирования соединением формулы (IV-1). Стадии ацилирования осуществляются описанным здесь способом в отношении получения соединения формулы (IF-1).

5 **Схема В3.** Получение бис-сложноэфирных конъюгатов с помощью соединения формулы (XXIII-2).



10 Специалистам в данной области техники очевидно, что соединения формулы (IA) можно получать из соединений формулы (XXIII-3) заменой соединений формул (XXIII-2), (VI) и (VI-1) в Схеме В3 на соединения формул (XXIII-3), (VI-1) и (VI) соответственно, а затем следованием описанным синтетическим последовательностям.

15 Гидроксильные группы, полученные при удалении ацетальной или RmRnCH-группы, такие как в соединениях формулы (XXIII-1), (XXIII-2), (XXIII-3) и (XXV-2), можно превращать в различные другие функциональные группы, например, тиолы и амины, для проникновения соединений формулы (I), имеющих другие Z1 и Z2 группы.

20 Следует понимать, что амидные и сложные тиоэфирные аналоги бис-сложноэфирного соединения формулы (IA) можно получать способами, аналогичными вышеописанным в отношении амидных и сложных тиоэфирных аналогов бис-сложноэфирного соединения формулы (IF-1).

Настоящее изобретение также предлагает способ получения соединений формулы (I) в соответствии с изобретением, посредством тиол ен-реакции. Способ включает осуществление реакции первого липидсодержащего партнера по конъюгации, включающего двойную углерод-углеродную связь, второго липидсодержащего партнера по конъюгации, включающего двойную углерод-углеродную связь, и аминокислотного партнера по конъюгации, содержащего тиол, в условиях, способствующих конъюгации первого и второго липидсодержащих партнеров по конъюгации с аминокислотным партнером по конъюгации. Каждый липидсодержащий партнер по конъюгации, включает и, следовательно, в ходе реакции обеспечивает получение соединением формулы (I) липидного фрагмента, где один содержит L1, а другой содержит L2.

Тиол ен-реакция включает добавление тиола через неароматическую двойную углерод-углеродную связь (т.е. гидротиирование двойной углерод-углеродной связи). Реакция протекает при посредстве механизма свободных радикалов. В реакции имеют место три выраженные фазы: инициирование, сопряжение и терминация.

Как правило, образование радикалов приводит к получению электрофильного тиольного радикала, который распространяется в пределах ен-группы алкена, образуя радикал с углеродом по центру, а передача цепи из дополнительной молекулы тиола подавляет радикал на углероде с получением конечного продукта.

Не вдаваясь в теорию, изобретатели считают, что в способе по настоящему изобретению тиол конъюгирует с атомом углерода двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации, с образованием радикала с углеродом по центру, и, что данный радикал с углеродом по центру вместо подавления, затем конъюгируют с атомом углерода двойной углерод-углеродной связи второго липидсодержащего партнера по конъюгации.

Таким образом, способ обеспечивает получение аминокислотных и пептидных конъюгатов, в которых атом серы из тиола конъюгируется с атомом углерода из углерод-углеродной двойной связи первого липидсодержащего партнера конъюгации, а атом углерода из углерод-углеродной двойной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации конъюгируется с атомом углерода из углерод-углеродной двойной связи второго липидсодержащего партнера по конъюгации.

В одном варианте осуществления способа, способ (A), конъюгация первого липидсодержащего партнера по конъюгации и второго липидсодержащего партнера по конъюгации с аминокислотным партнером по конъюгации обеспечивает получение пептидного конъюгата формулы (I) в соответствии с изобретением. В этом варианте

осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации может содержать пептид, который соответствует пептиду, присутствующему в пептидном конъюгате формулы (I) по изобретению, полученному данным способом.

5 В другом варианте осуществления способа, способ (B), конъюгация первого и второго липидсодержащих партнеров по конъюгации с аминокислотным партнером по конъюгации обеспечивает получение аминокислотного или пептидного конъюгата (формулы (I), но исключая условия (1) и (2) первого аспекта); и способ дополнительно включает сопряжение аминокислотного или пептидного конъюгата с аминокислотой или пептидом для получения пептидного конъюгата формулы (I) по изобретению (включая условие (1) и/или (2) первого аспекта). В этом варианте осуществления, аминокислотный партнер по конъюгации может содержать аминокислоту, или может содержать пептид, который соответствует части пептида, присутствующему в соединении формулы (I) по изобретению, полученному данным способом.

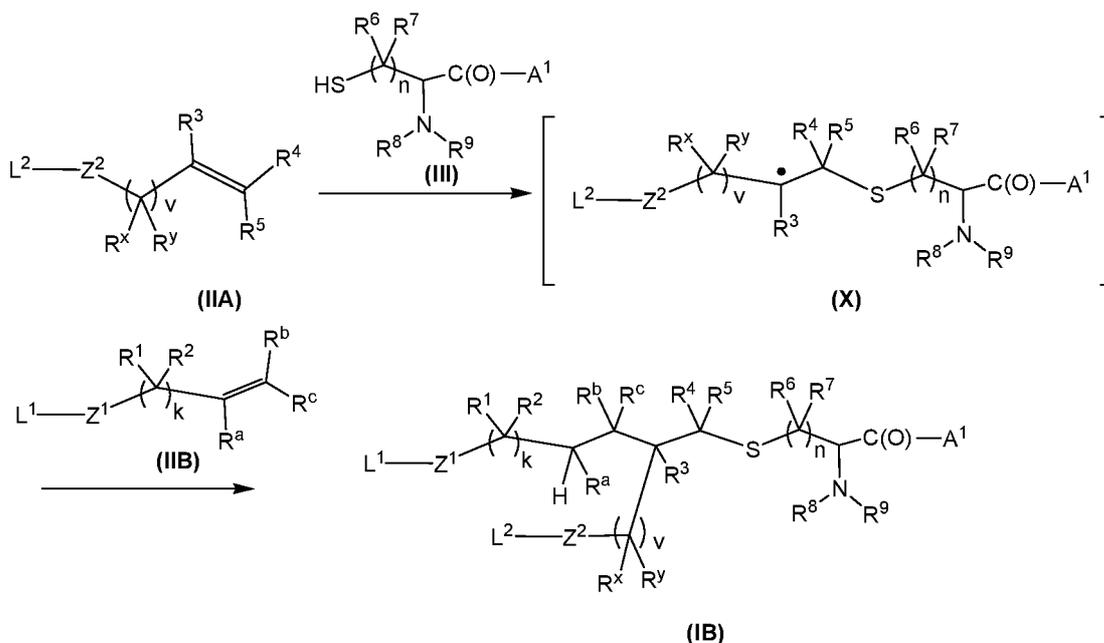
15 Первый и второй липидсодержащие партнеры конъюгации могут быть одинаковы или отличны друг от друга. Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение очевидно, что одновременное осуществление реакции липидсодержащих партнеров по конъюгации способно дать смесь (потенциально до четырех различных) конъюгатов. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, первый и второй липидсодержащие партнеры конъюгации одинаковы.

25 Тиол е_n-реакция может представлять собой региоселективную реакцию, по отношению к которой атом углерода двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации конъюгируется с тиолом, а также по отношению к которой атом углерода двойной углерод-углеродной связи второго липидсодержащего партнера по конъюгации конъюгируется с атомом углерода двойной углерод-углеродной связи от первого липидсодержащего партнера конъюгации. Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение очевидно, что в ходе реакции могут образовываться различные региоизомеры.

30 В некоторых вариантах осуществления, способ включает осуществление реакции первого липидсодержащего партнера по конъюгации формулы (IIA) и второго липидсодержащего партнера по конъюгации формулы (IIB) с тиолсодержащим аминокислотным партнером по конъюгации (III) в условиях способствующих получению соединения формулы (IB) (Схема C1). Когда метод представляет собой (A), то R_a, R_b, R_c, L₁, L₂, Z₁, Z₂, R₁, R₂, R_x, R_y, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, A₁, k, v, и n соответствуют определению в соединении формулы (IB) по настоящему изобретению

(включая условия (1) и/или (2) первого аспекта); а когда используется метод (B), то Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, A1, k, v и n соответствуют определению в соединении формулы (IB), но исключая условия (1) и (2) первого аспекта.

5 **Схема С1.** Получение соединений формулы (IB) с помощью тиол ен-реакции.



Условия, способствующие образованию соединения формулы (IB) могут изменяться. В различных вариантах осуществления условия, способствующие образованию соединения формулы (IB), могут включать реакцию с тиолом стехиометрически избыточного липидсодержащего партнера для конъюгации, где, например, стехиометрическое соотношение липидсодержащих партнеров по конъюгации (IIA) и (IIB) (объединенных) с аминокислотным партнером по конъюгации составляет, по меньшей мере, 7:1, например, 8:1, 9:1, 10:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1 или 70:1.

Глубина превращения аминокислотного партнера по конъюгации в ингредиент формулы (IB) может меняться. Предпочтительным является превращение, по меньшей мере, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60 или 70% аминокислотного партнера по конъюгации в соединение формулы (IB). Глубина превращения определяется методом ВЭЖХ.

Как отмечено выше, не вдаваясь в теорию, изобретатели считают, что при таких условиях реакция алкена формулы (IA) с тиолом формулы (III) приводит к образованию радикала с углеродом по центру формулы (X), который улавливается вторым алкеном формулы (IIB), а не подавляется отщеплением протона из тиола

другой молекулы формулы (III), чтобы получить требуемый аминокислотный или пептидный конъюгат.

В ходе реакции получают смесь стереоизомеров, поскольку невозможно контролировать или влиять на стереохимию образования связи между атомом углерода, с которым связан R3, и атомом углерода, с которым связаны Rb и Rc, вследствие образующегося промежуточного радикала. В ходе реакции обычно получают смесь эимеров относительно атома углерода, с которым связан R3.

В некоторых вариантах осуществления, Z1 и Z2 в липидсодержащих партнерах по конъюгации каждое представляют собой $-C(O)O-$, а соединение формулы (I), образованное способом тиол ен-реакции, представляет собой соединение формулы (IC), как определено в данном документе.

В примерных вариантах осуществления, способ тиол ен-реакции по настоящему изобретению включает осуществление реакции аминокислотного партнера по конъюгации, включающего структуру формулы (III), с липидсодержащими партнерами по конъюгации формулы (IIA) и (IIB), которые представляют собой сложные виниловые эфиры, с получением соединения формулы (ID). Реакцию проводят, например, в соответствии с описанием в данном документе, путем облучения реакционной смеси, включающей: аминокислотного партнера по конъюгации; липидсодержащие партнеры по конъюгации; фотохимический инициатор, например DMPA. Допускается включение одной или более добавок, которые уменьшают образование побочных продуктов, таких как стерически затрудненный тиол (например, трет-бутилмеркаптан), кислота (например, TFA) или органосилан (например, триизопропилсилан) или комбинацию любых двух или более из них. Реакцию осуществляют при температуре окружающей среды в подходящем растворителе, например NMP, в течение требуемого периода времени, например 30 минут.

Реакцию обычно инициируют посредством образования одного или более свободных радикалов в реакционной смеси. Один или более свободных радикалов получают любым способом, известным в отрасли техники, к которой относится данное изобретение. Свободные радикалы генерируют термическим и/или фотохимическим способом. Один или более инициаторов свободных радикалов могут использоваться для инициирования образования свободных радикалов. Подходящие свободнорадикальные инициаторы включают термические инициаторы и фотоинициаторы.

Свободные радикалы генерируются термическими инициаторами в результате нагревания. Скорость разложения термического инициатора и образование свободных

радикалов зависит от инициатора и температуры нагрева инициатора. Более высокие температуры обычно приводят к более быстрому разложению. Специалист в данной области техники способен подобрать подходящую температуру для нагревания инициатора без ненужного экспериментирования.

- 5 Многочисленные термические инициаторы имеются в продаже. Примерами термических инициаторов являются, не ограничиваясь, *трет*-амилпероксибензоат, 1,1'-азобисциклогексанкарбонитрил, 2,2'-азобисизобутиронитрил (AIBN), бензоилпероксид, *трет*-бутилгидропероксид, *трет*-бутилперацетат, *трет*-бутилпероксид, *трет*-бутилпероксибензоат, *трет*-бутилпероксиизопропилкарбонат, лауроилпероксид, перуксусная кислота и персульфат калия.

Свободные радикалы получают из фотоинициаторов в результате облучения светом. Частота света, необходимая для стимулирования разложения фотоинициаторов и образования свободных радикалов, зависит от инициатора. Многие фотоинициаторы иницируются ультрафиолетом.

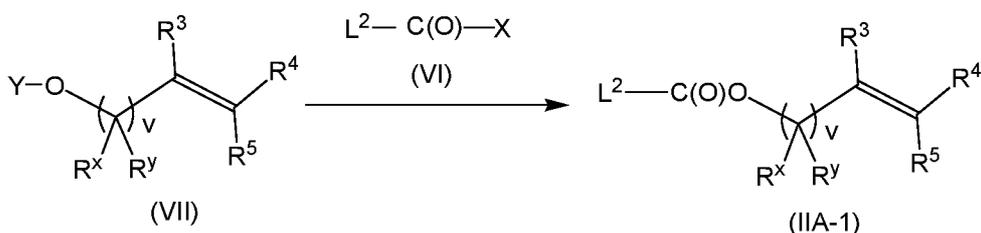
- 15 Свет конкретной длины волны или диапазона длины волны может использоваться для избирательного облучения инициатора, где липидсодержащие партнеры по конъюгации или аминокислотный партнер по конъюгации, например, пептидсодержащий партнер по конъюгации, содержат фоточувствительные группы. В некоторых вариантах осуществления, используется длина волны (частота) излучения около 365 нм. Свет данной частоты обычно совместим с боковыми цепочками, встречающихся в природе аминокислот.

- В продаже имеется разнообразный ассортимент фотоинициаторов. Примерами фотоинициаторов являются, не ограничиваясь, ацетофенон, анизоин, антрахинон, антрахинон-2-сульфоновая кислота, бензил, бензоин, бензоин-этиловый эфир, бензоин-изобутиловый эфир, бензоин-метиловый эфир, бензофенон, 3,3', 4,4'-бензофенонететракарбонныйдиангидрид, 4-бензоилбифенил, 2-бензил-2-диметиламино-4'-морфолинобутирофенон, 4'-бис-диэтиламинобензофенон, 4,4'-бис-диметиламинобензофенон, камфорхинон, 2-хлортиоксантен-9-он, дибензосуберенон, 2,2-диэтоксацетофенон, 4,4'-дигидроксибензофенон, 2,2-диметокси-2-фенилацетофенон (DMPA), 4-диметиламинобензофенон, 4,4'-диметилбензил, 2,5-диметилбензофенон, 3,4-диметилбензофенон, 4'-этоксацетофенон, 2-этилантрахинон, 3'-гидроксиацетофенон, 4'-гидроксиацетофенон, 3-гидроксибензофенон, 4-гидроксибензофенон, 1-гидроксициклексилфенилкетон, 2-гидрокси-2-метилпропиофенон 2-метилбензофенон, 3-метилбензофенон, метилбензоилформиат, 2-метил-4'-метилтио-2-морфолинопропиофенон, фенантренхинон, 4'-феноксацетофенон и тиоксантен-9-он.

- Специалист в данной области техники способен выбрать подходящие свободнорадикальные инициаторы для использования в данном способе с учетом природы, например, липидсодержащих партнеров по конъюгации, аминокислотного партнера по конъюгации, например, пептидсодержащего партнера по конъюгации и
- 5 любых других компонентов, присутствующих в реакционной смеси. В некоторых вариантах осуществления, инициатор присутствует в реакции в стехиометрическом отношении относительно исходного материала, содержащего тиол, составляющем примерно от 20:1 до 0,05:1, примерно от 10:1 до 0,05:1, примерно от 5:1 до 0,05:1, примерно от 3:1 до 0,5:1.
- 10 Липидсодержащие партнеры по конъюгации аминокислотный партнер по конъюгации, например, пептидсодержащий партнер по конъюгации можно получать с использованием известных методов синтетической химии (например, методов, описанных Louis F Fieser и Mary F в работе *Reagents for Organic Synthesis* v. 1-19, Wiley, New York (1967 -1999 ed.) или Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. Ed.
- 15 Springer-Verlag Berlin, включая дополнения (также доступные в онлайн базе данных Beilstein), или имеющиеся в продаже для некоторых вариантов осуществления.

- Например, соединения формулы (IIA-1) липидсодержащих партнеров по конъюгации получают осуществлением реакции соединения формулы (VI), где X представляет собой OH или подходящую уходящую группу, с соединением формулы (VII), где Y
- 20 представляет собой H, металл или металлоид или ацил (например, алкилкарбонил) в условиях, способствующих этерификации (или трансэтерификации, где Y представляет собой ацильную группу) (Схема C2).

Схема C2. Получение соединений формулы (IIA-1).



- 25 Способы этерификации (или трансэтерификации) хорошо известны в отрасли техники, к которой относится данное изобретение. Например, если X представляет собой хлор, а Y представляет собой H, реакцию осуществляют в присутствии основания, например пиридина или триэтиламина, в подходящем растворителе. Хлорангидрид способен превращаться в реакционной смеси в более реакционноспособный вид (напр., в
- 30 соответствующий йодид с использованием йодида натрия). Температура, при которой осуществляется реакция, зависит от реакционной способности кислотных видов и используемого растворителя.

Например, сложные виниловые эфиры формулы (IIA-1) получают в результате трансэтерификации с винилацетатом (который получают в промышленном масштабе в результате реакции уксусной кислоты и ацетиленового этилена или уксусной кислоты и этилена с подходящим катализатором) с использованием кислотного или металлического катализатора. Смотрите, например, патент EP0376075A2 и работу S. K. Karmee, *J. Oil Palm Res.*, **2012**, 1518-1523.

Виниловые сложные эфиры формулы (IIA-1) также получают добавлением карбоновой кислоты к концевой ацетиленовой связи в присутствии катализатора (обычно комплекса палладия или рутения). Смотрите, например, работы V. Cadierno, J. Francos, J. Gimeno *Organometallics*, **2011**, 30, 852-862; S. Wei, J. Pedroni, A. Meissner, A. Lumbroso, H.-J. Drexler, D. Heller, B. Breit, *Chem. Eur. J.*, **2013**, 19, 12067-12076. Ацетилены без концевой связи также могут вступать в реакцию. Смотрите, например, работы N. Tsukada, A. Takahashi, Y. Inoue, *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 52, 248-250 и M. Rotem, Y. Shvo, *J. Organometallic Chem.* **1993**, 448, 159-204.

Дополнительными примерами способов получения виниловых сложных эфиров формулы (IIA-1) являются: реакция дивиниловой ртути с ароматической и алифатической кислотами [см., например, D. J. Foster, E. Tobler, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 851]; катализируемая Cu(II) этерификация арен-карбоновых кислот с триметоксивинилсиланом в присутствии AgF [см., например, F. Luo, C. Pan, P. Qian, J. Cheng, *Synthesis* **2010**, 2005]; реакция переноса винила от винилацетата к первичным и вторичным спиртам, а также к карбоновым кислотам с каталитической системой, состоящей из 2 мол.% [AuCl(PPh₃)] и 2 мол.% AgOAc [см., например, A. Nakamura, M. Tokunaga, *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 3729]; и катализируемое перевинилирование комплекса Ir ([Ir(cod)Cl]₂/P (Ome)₃) [см., например, H. Nakagawa, Y. Okimoto, S. Sakaguchi, Y. Ishii, *Tetrahedron Lett.* 2003, 44, 103].

Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение очевидны другие подходящие способы получения соединений формулы (II-A).

Соединения формулы (IIB-1) липидсодержащего партнера по конъюгации получают аналогичным образом, где соединения формулы (IIA-1) и (IIB-1) различны.

В продаже имеются многочисленные соединения формулы (VI). Другие соединения получают с использованием стандартных методов синтетической химии из имеющихся в продаже прекурсоров. Например, соединения формулы (VI), где X представляет собой хлор, получают обработкой тионилхлоридом соответствующей карбоновой кислоты в подходящем растворителе или смеси растворителей.

Аналогично, соединения формулы (VII) также имеются в продаже или получают из имеющихся в продаже прекурсоров с использованием стандартных методов синтетической химии.

5 Порядок введения в реакционный сосуд липидсодержащих партнеров по конъюгации и аминокислотного партнера по конъюгации, например, пептидсодержащего партнера по конъюгации и любых других компонентов, присутствующих в реакционной смеси, может меняться. Реакцию можно осуществлять в виде однореакторной процедуры.

10 В реакции может меняться соотношение липидсодержащих партнеров конъюгации к аминокислотному партнеру по конъюгации, например пептидсодержащему партнеру по конъюгации. В некоторых вариантах осуществления, молярное соотношение первого липидсодержащего партнера по конъюгации и второго липидсодержащего партнера по конъюгации объединенных (т.е. общее) с аминокислотным партнером по конъюгации, составляет, по меньшей мере, 7:1, например, 8:1, 9:1, 10:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1 или 70:1.

15 Реакцию можно осуществлять при любой подходящей температуре. В некоторых вариантах осуществления, реакцию осуществляют при температуре примерно от -25 °C до 200 °C, примерно от -10 °C до 150 °C, примерно от 0 °C до 125 °C, примерно от комнатной температуры до 100 °C. В некоторых вариантах осуществления, реакцию осуществляют при температуре менее чем 200 °C, менее чем 175 °C, менее чем 150
20 °C, менее чем 125 °C или менее чем 100 °C.

В некоторых вариантах осуществления, реакцию осуществляют при температуре выше температуры окружающей среды. В одном варианте осуществления, реакцию осуществляют при температуре, составляющей от 40 до 200 °C, от 50 до 150 °C, от 60 до 100 °C, от 65 до 90 °C или от 70 до 80 °C. В некоторых вариантах осуществления, реакцию осуществляют при температуре выше чем 40 °C, выше чем 50 °C, выше чем
25 75 °C, выше чем 100 °C или выше чем 150 °C.

Температура реакции может зависеть от образования свободных радикалов в ходе реакции. Для контроля скорости реакции подбирается соответствующая температура. В ходе реакции температуру можно регулировать для контроля скорости реакции.

30 Если свободные радикалы генерируются термически (напр., с использованием термического инициатора), то реакцию обычно осуществляют при температуре выше температуры окружающей среды. Температура будет зависеть от реакционной способности видов, из которых образуются свободные радикалы.

Если свободные радикалы генерируются фотохимически, то реакция осуществляется преимущественно при температуре окружающей среды. В некоторых вариантах осуществления, представляется желательным охлаждение реакционной смеси для замедления скорости реакции или, наоборот, нагревания реакционной смеси для увеличения скорости реакции.

Специалист в данной области техники способен подобрать подходящие температуры для осуществления способа с учетом реакционной способности исходных материалов и других присутствующих реагентов.

Температуру, при которой осуществляют реакцию, можно регулировать путем нагревания или охлаждения реакционной смеси подходящим способом, известным в отрасли техники, к которой относится данное изобретение. Реакционную смесь можно подогреть, например, теплообменником, находящимся внутри реакционного сосуда, обогреванием при подаче теплоносителя в рубашку, окружающую реакционный сосуд, или погружением реакционного сосуда в нагретую жидкость (напр., масляную или песчаную баню). В некоторых примерах осуществления, реакционную смесь нагревают микроволновым излучением.

Прогресс реакции контролируется любыми подходящими средствами, например, способом тонкослойной хроматографии (ТСХ) или способом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Реакция продолжается до полного завершения, что контролируется поглощением, по меньшей мере, одного из исходных материалов. В некоторых вариантах осуществления, реакция продолжается от 1 минуты до 7 дней, от 5 минут до 72 часов, от 10 минут до 48 часов, от 10 минут до 24 часов. В других вариантах осуществления реакция продолжается менее чем 72 часа, менее чем 48 часов, менее чем 24 часа, менее чем 12 часов, менее чем 6 часов, менее чем 4 часа, менее чем 2 часа, или менее чем 1 час.

В некоторых вариантах осуществления, реакцию проводят до поглощения, по меньшей мере, около 50%, по меньшей мере, около 60%, по меньшей мере, около 70%, по меньшей мере, около 75%, по меньшей мере, около 80%, по меньшей мере, около 85%, по меньшей мере, около 90 %, по меньшей мере, около 95%, по меньшей мере, около 97%, по меньшей мере, около 99% аминокислотного партнера по конъюгации. Поглощение исходных материалов контролируется любым подходящим способом, например ВЭЖХ.

Реакционную смесь смешивают любым подходящим способом, известным в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, например, с помощью магнитной или механической мешалки. Используемый способ зависит от масштаба реакции.

Реакцию обычно осуществляют в жидкой реакционной среде. Жидкая реакционная среда может содержать растворитель. Примерами подходящих растворителей являются: N-метилпирролидон (NMP), диметилформамид, дихлорметан, 1,2-дихлорэтан, хлороформ, четыреххлористый углерод, вода, метанол, этанол, диметилсульфоксид, трифторуксусная кислота, уксусная кислота, ацетонитрил и их смеси.

Растворитель выбирают исходя из растворимости исходных материалов и других присутствующих реагентов, например, инициатора свободных радикалов. В некоторых вариантах осуществления, липидсодержащие партнеры по конъюгации являются гидрофобными. Гидрофобность или гидрофильность аминокислотного партнера по конъюгации меняется в зависимости, например, от аминокислотной последовательности пептида пептидсодержащего партнера по конъюгации. Присутствие солюбилизирующей группы в пептидсодержащем партнере по конъюгации, может повысить растворимость в полярных растворителях, например воде. Специалист в данной области техники способен подобрать подходящий растворитель без ненужного экспериментирования.

Реакцию можно осуществлять по существу без присутствия кислорода. Кислород способен подавлять свободные радикалы, образовавшиеся в ходе реакции. Реакционную смесь можно дегазировать инертным газом (например, азотом или аргоном), который по существу не содержит кислорода, для удаления любого растворенного кислорода до образования свободных радикалов. Кроме того, отдельные компоненты реакционной смеси могут быть дегазированы инертным газом, который по существу не содержит кислорода, до их объединения в реакционном сосуде. Реакцию можно осуществлять в атмосфере инертного газа, который по существу не содержит кислорода.

Способ по настоящему изобретению можно осуществлять при давлении окружающей среды.

Добавка, подавляющая образование нежелательных побочных продуктов и/или увеличивающая выход или глубину превращения в требуемый продукт, может включаться в реакционную смесь способа тиол ен-реакции по настоящему изобретению. Одна или более добавок могут представлять собой посторонний тиол, кислоту, органосилан или комбинацию любых двух или более из них.

Авторы изобретения обнаружили, что в некоторых вариантах осуществления включение постороннего или экзогенного тиола в качестве добавки в реакционную смесь снижает образование нежелательных продуктов. В некоторых вариантах осуществления посторонний тиол способен повысить эффективность или глубину

преобразования требуемой тиол-ен реакции. Примерами подходящих посторонних тиолов являются, не ограничиваясь, восстановленный глутатион, DODT, DTT, белок, стерически затрудненные тиолы и тому подобное.

В некоторых вариантах осуществления, посторонний тиол представляет собой DTT.

- 5 В других вариантах осуществления, посторонний тиол представляет собой стерически затрудненный тиол. Не ограничивающими примерами подходящего стерически затрудненного постороннего тиола являются *трет*-бутилмеркаптан и 1 метилпропилмеркаптан.

10 Не вдаваясь в теорию, изобретатели считают, что в некоторых вариантах осуществления посторонний тиол, например, *трет*-бутилмеркаптан, может создавать протон для подавления промежуточного радикала, образованного при распространении радикала формулы (X) с алкеном формулы (IIB), чтобы получить требуемое соединение формулы (IB), а полученный тиольный радикал может распространять реакцию, генерируя еще один моль тиольного радикала из
15 аминокислоты, содержащей партнера по конъюгации формулы (III).

Очевидно, что в определенных вариантах осуществления, посторонние тиолы способны преждевременно подавлять реакцию путем образования протона радикала формулы (X). В таких вариантах осуществления, посторонний тиол и объемная доля, в которой он используется, выбираются таким образом, чтобы оптимизировался выход
20 или глубина превращения в (определено способом ВЭЖХ), соединение формулы (IB).

В различных вариантах осуществления, посторонний тиол присутствует в реакции в стехиометрическом отношении относительно аминокислотного партнера по конъюгации, составляющем примерно от 200:1 до примерно 0,05:1, от 100:1 до 0,05:1, от 80:1 до 0,05:1, от 60:1 до 0,05:1, от 40:1 до 0,05:1, от 20:1 до примерно
25 0,05:1, от 10:1 до примерно 0,5:1, от 5:1 до примерно 1:1 или от 3:1 до примерно 1:1. В некоторых вариантах осуществления, стерически затрудненный тиол, например *t*-BuSH, присутствует в реакции в стехиометрическом отношении относительно аминокислотного партнера по конъюгации, составляющем от примерно 100:1 до 0,05:1, например, примерно 80:1, примерно 40:1 или примерно 3:1.

30 В некоторых вариантах осуществления, включение кислоты способно также уменьшить образование нежелательных побочных продуктов. Кислота может представлять собой сильную неорганическую кислоту, например HCl, или органическую кислоту, например TFA. В некоторых вариантах осуществления, добавка представляет собой TFA. Не вдаваясь в теорию, изобретатели считают, что снижение
35 pH реакционной смеси способно привести к протонированию богатых электронами

остатков боковых цепей, например лизина и т. д., которые в противном случае могли бы участвовать в переносах одного электрона и образовывать радикальные виды в ходе реакции. В различных вариантах осуществления, реакционная смесь содержит от примерно 0,01 до 25, от 0,01 до 15, от 0,01 до 10 или от 1 до 10% об/об кислотной
5 добавки. В некоторых вариантах осуществления, реакционная смесь содержит от 1 до 10% об/об TFA, например 5% об/об TFA.

Авторы изобретения обнаружили, что, в некоторых вариантах осуществления, включение и *трет*-бутилмеркаптана и TFA в качестве добавок в реакционную смесь способно снизить образование нежелательных побочных продуктов и увеличить
10 глубину превращения исходного вещества в требуемый продукт. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, реакционная смесь содержит смесь кислоты и постороннего тиола, например, смесь сильной органической кислоты и стерически затрудненного тиола, например, смесь TFA и *трет*-бутилмеркаптана.

В качестве добавки в тиол еп-реакцию также может использоваться органосилан.
15 Органосиланы представляют собой восстанавливающие агенты на основе радикалов, активность которых может модулироваться путем изменения заместителей на атоме кремния. В различных вариантах осуществления, органосилан представляет собой соединение формулы $(R^q)_3SiH$, где R^q в каждом конкретном случае независимо представляет собой водород или органическую группу, например, алкил или арил, при
20 условии, что, по меньшей мере, одно R^q не является водородом. Примерами органосиланов являются, не ограничиваясь, триэтилсилан (TES), трифенилсилан, дифенилсилан, триизопропилсилан (TIPS) и тому подобное. В различных вариантах осуществления, органосилан представляет собой триалкилсилан, например TIPS или TES.

25 Не вдаваясь в теорию, изобретатели считают, что, как и в случае с посторонним тиолом, в некоторых вариантах осуществления органосилан, например TIPS, способен действовать как донор водорода для получения требуемого соединения формулы (IB) и способствовать воспроизведению реакции.

В различных вариантах осуществления, органосилан тиол присутствует в реакции в
30 стехиометрическом отношении относительно аминокислотного партнера по конъюгации, составляющем примерно от 200:1 до примерно 0,05:1, от 100:1 до 0,05:1, от 80:1 до 0,05:1, от 60:1 до 0,05:1, от 40:1 до 0,05:1, от 20:1 до 0,05:1, от 10:1 до 0,5:1, от 5:1 до примерно 1:1 или от 3:1 до примерно 1:1. В некоторых вариантах осуществления, триалкилсилан, например TIPS, присутствует в реакции в
35 стехиометрическом отношении относительно аминокислотного партнера по

конъюгации, составляющем от примерно 100:1 до 0,05:1, например, примерно 80:1 или примерно 40:1.

Органосилан может использоваться в качестве добавки в сочетании с посторонним тиолом. Кроме того, органосилан может использоваться взамен постороннего тиола.

- 5 Также допускается присутствие кислоты, например TFA. Авторы изобретения обнаружили, что в некоторых вариантах осуществления, использование в ходе реакции TIPS вместе с TFA, но без какого-либо постороннего тиола, способно обеспечить более высокую глубину превращения в требуемое соединение формулы (IB), чем при использовании комбинации TIPS, t-BuSH и TFA.
- 10 Добавка обычно используется в количестве, достаточном для минимизации образования нежелательных продуктов, без неблагоприятного воздействия на ход реакции или на любые, необязательные, последующие стадии способа.

Продукты, образующиеся в ходе реакции и превращенные в требуемый продукт, определяются, например, способом ВЭЖХ.

- 15 Концентрация в реакционной смеси липидсодержащих партнеров по конъюгации и аминокислотного партнера по конъюгации, например, пептидсодержащего партнера по конъюгации способна, соответственно, влиять на ход реакции. Специалисты в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, способны менять концентрацию липидсодержащих партнеров по конъюгации и пептидсодержащего
- 20 партнера по конъюгации в реакционной смеси, например, для оптимизации выхода и чистоты без ненужного экспериментирования.

- В некоторых вариантах осуществления, исходное вещество, содержащее тиол, присутствует в концентрации, составляющей от примерно 0,05 мМ до примерно 1 М, от примерно 0,5 мМ до примерно 1 М, от примерно 1 мМ до примерно 1 М. В некоторых
- 25 вариантах осуществления, концентрация составляет, по меньшей мере, примерно 0,05 мМ, 0,5 мМ или 1 мМ.

В некоторых вариантах осуществления, концентрация исходных материалов, содержащих алкены, составляет, по меньшей мере, примерно 0,05 мМ, 0,5 мМ или 1 мМ.

- 30 В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный конъюгат или пептидный конъюгат отделяют от реакционной среды после реакции и, необязательно, очищают. Конъюгат отделяют от реакционной среды любым подходящим способом, известным в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, например, путем осаждения.

В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный или пептидный конъюгат очищают после отделения его от реакционной среды. Например, конъюгат очищают с использованием ВЭЖХ и одного или более подходящих растворителей.

5 Настоящее изобретение также предлагает способ получения пептидного конъюгата, способ включающий:

получение аминокислотного или пептидного конъюгата формулы (I), но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, и

10 сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида для получения пептидного конъюгата формулы (I) по изобретению или его соли или сольвата.

Аминокислотный или пептидный конъюгат формулы (I), но исключая условия (1) и/или (2) первого аспекта, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват может быть получен способами, описанными в данном документе.

15 Полученный пептидный конъюгат и/или пептидсодержащий партнер по конъюгации, и/или пептиды, сопряженные способами по настоящему изобретению, могут содержать синтетический пептид. Синтетические пептиды получают способом твердофазного пептидного синтеза (SPPS).

Основным принципом твердофазного пептидного синтеза (SPPS) является ступенчатое
20 добавление аминокислот к наращиваемой полипептидной цепи, прикрепленной посредством молекулы линкера к твердофазному носителю, обычно частице смолы, которая позволяет осуществлять отщепление и очищение после завершения наращивания полипептидной цепи. Вкратце, твердофазный носитель смолы и исходная аминокислота соединяются друг с другом с помощью молекулы линкера.

25 Такие смоло-линкерно-кислотные матрицы имеются в продаже.

Аминокислота, подлежащая сопряжению со смолой, защищена на своем N-конце химической защитной группой.

Аминокислота может также иметь защитную группу боковой цепи. Данные защитные группы предотвращают нежелательные или вредные реакции в процессе
30 формирования новой пептидной связи между подлежащей сопряжению карбоксильной группой аминокислоты и незащищенной N-аминогруппой пептидной цепи, присоединенной к смоле.

Подлежащую сопряжению аминокислоту подвергают реакции с незащищенной N-аминогруппой N-концевой аминокислоты пептидной цепи, увеличивая длину

пептидной цепи на одну аминокислоту. Подлежащая сопряжению карбоксильная группа аминокислоты активируется подходящим химическим активирующим агентом для стимулирования хода реакции с Na-аминогруппой пептидной цепи. При получении Na-защитную группу N-концевой аминокислоты пептидной цепи удаляют для
5 сопряжения со следующим аминокислотным остатком. Этот метод состоит из множества повторяющихся стадий, позволяющих при возможности применять автоматизацию. Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение очевидно, что пептиды способны сопрягаться с Na-аминогруппой, связанной с твердой фазой аминокислоты или пептидом, вместо отдельной
10 аминокислоты, например, когда требуется конвергентный пептидный синтез.

По достижении требуемой последовательности аминокислот, пептид отщепляется от твердофазного носителя молекулы линкера.

SPPS может осуществляться методом непрерывного потока или методом дозированного потока. Непрерывный поток позволяет в реальном времени
15 контролировать спектрофотометром ход реакции, но имеет два отличительных недостатка: реагенты, контактирующие с пептидом на смоле, разбавляются, а масштаб ограничивается сильнее из-за физических ограничений размера твердофазной смолы. Метод дозированного потока осуществляют в реакционном сосуде с фильтром, и он является более полезным, поскольку реагенты доступны и
20 могут добавляться вручную или автоматически.

Для защиты N-альфа-аминоконца обычно используются два типа защитных групп: "Boc" (*трет*-бутилоксикарбонил) и "Fmoc" (9-флуоренилметилоксикарбонил). Реагенты для метода Boc относительно недороги, но сильно коррозионноактивны и требуют дорогостоящего оборудования и более строгих мер предосторожности.
25 Обычно более предпочтительным является метод Fmoc, который использует менее коррозионноактивные, хотя и более дорогостоящие реагенты.

Для способа SPPS имеется широкий ассортимент твердофазных носителей. Используемая для синтеза твердофазный носитель представляет собой синтетическую смолу, синтетическую полимерную пленку или кремниевую или силикатную
30 поверхность (например, стекло с контролируемым размером пор), подходящую для целей синтеза. Обычно используют смолу, обычные полистирольные суспензии, полистирол-полиэтиленгликоль или полимерные носители, например полиамид. Примерами смол, функционализированных линкерами, подходящими для метода Boc, является смола PAM, оксимова смола SS, фенольная смола, бромированную смола Ванга и бромированная смола PPOA. Примерами смол, подходящих для способа Fmoc,
35 являются amino-метилполистирольные смолы, смола AMPB-BHA, амидная смола Sieber

amide, смола Ринка, смола TentaGel S AC, 2-хлортритилхлоридная смола, спиртовая 2-хлортритильную смола, смола TentaGel S Trt-OH, Knorr-2-хлортритильная смола, гидразин-2-хлортритильная смола, смола ANP, фотолabile смола Fmoc, смола HMBA-MBHA, смола TentaGel S HMB, смола Aromatic Safety Catch, смола BAI и

5 хлортритильная смола Fmoc-гидроксиламин 2. Другими примерами смол являются: смола PL Cl-Trt, PL-оксимовая смола и смола PL-HMBA. Обычно смолы взаимозаменяемы.

В литературе для каждой смолы описаны подходящие условия сопряжения для прикрепления исходного мономера или субъединицы.

10 Приготовление твердофазного носителя включает сольватирование носителя в подходящем растворителе (например, диметилформамиде). Твердая фаза обычно увеличивается в объеме во время сольватации, что в свою очередь увеличивает удельную площадь поверхности, доступную для осуществления синтеза пептида.

Затем линкерную молекулу присоединяют к носителю для соединения пептидной цепи

15 с твердофазным носителем. Молекулы линкера обычно сконструированы таким образом, что последующее отщепление образует либо свободную кислоту, либо амид на C-конце. В общем, линкеры не являются специфическими по отношению к смоле. Примерами линкеров являются пептидные кислоты, например, 4-гидроксиметилфеноксиацетил-4'-метилбензгидриламин (HMP) или пептидные амиды,

20 например производные бензгидриламина, или линкер гидроксиметилфеноксипропионил (HMPP).

Первая аминокислота пептидной последовательности может быть присоединена к линкеру после присоединения линкера к твердофазному носителю или присоединена к твердофазному носителю с использованием линкера, который включает в себя

25 первую аминокислоту пептидной последовательности. Линкеры, которые включают аминокислоты, имеются в продаже.

Следующей стадией является снятие защиты с N α -аминогруппы первой аминокислоты. Снятие защиты с N α -аминогруппы для Fmoc SPPS осуществляется обработкой слабым основанием (например, пиперазином или пиперидином). Защитные группы боковой

30 цепи удаляются умеренным ацидолизом (например, трифторуксусной кислотой (TFA)). Снятие защиты с N α -аминогруппы для Boc SPPS осуществляется с использованием, например, TFA.

После снятия защиты, удлинение аминокислотной цепи или сопряжение происходит за счет образования пептидных связей. Данный процесс требует активации,

35 подлежащей сопряжению C- α -карбоксильной группы аминокислоты. Это

осуществляется путем использования в реакционной смеси, например, реагентов, предварительно сформированных симметричных ангидридов, активных сложных эфиров, галогенангидридов или защищенных уретаном N-карбоксиангидридов. Метод использования в реакционной смеси позволяет одновременно осуществлять активирование и сопряжение. Сопрягающие реагенты включают производные карбодиимида, например, N,N'-дициклогексилкарбодиимид или N,N-диизопропилкарбодиимид. Сопрягающие реагенты также включают производные солей урония или фосфония из бензотриазола. Примерами таких солей урония и фосфония являются: HBTU O-1H-бензотриазол-1-ил-N,N,N', N'-тетраметилуронийгексафторфосфат, BOP бензотриазол-1-ил-окси-трисдиметиламинофосфонийгексафторфосфат, PyBOP бензотриазол-1-ил-окси-трипирролидинофосфонийгексафторфосфат, PyAOP, HCTU O-1H-6-хлорбензотриазол-1-ил-1,1,3,3-тетраметилурониумгексафторфосфат, TCTU O-1H-6-хлорбензотриазол-1-ил-1,1,3,3-тетраметилурониумтетрафторборат), HATU O-7-азабензотриазол-1-ил-1,1,3,3-тетраметилурониумгексафторфосфат, TATU O-7-азабензотриазол-1-ил-1,1,3,3-тетраметилурониумтетрафторборат, TOTU O-цианозтоксикарбонилметиленамино-N,N,N',N''-тетраметилурониумтетрафторборат и HAPyU O-бензотриазол-1-ил-оксибиспирролидиноурониумгексафторфосфат. В некоторых вариантах осуществления, сопрягающий реагент представляет собой HBTU, HATU, BOP или PyBOP.

После синтеза требуемой аминокислотной последовательности от смолы отщепляется пептид. Условия, используемые в этом процессе, зависят от чувствительности аминокислотного состава пептида и защитных групп боковой цепи. Как правило, отщепление проводят в среде, содержащей множество поглощающих веществ для подавления реакционноспособных ионов карбония, производных от защитных групп и линкеров. Обычными отщепляющими агентами являются, например, TFA и фтористый водород (HF). В некоторых вариантах осуществления, где пептид связан с твердофазным носителем посредством линкера, пептидная цепь отщепляется от твердофазного носителя путем отщепления пептида от линкера.

Условия, используемые для отщепления пептида от смолы, позволяют попутно удалять одну или более защитных групп боковой цепи.

Использование защитных групп в SPPS хорошо себя зарекомендовало. Примерами общих защитных групп являются, не ограничиваясь: ацетамидометил (Acm), ацетил (Ac), адамантилокси (AdaO), бензоил (Bz), бензил (Bzl), 2-бромбензил, бензилокси (BzlO), бензилоксикарбонил (Z), бензилоксиметил (Bom), 2-бромбензилоксикарбонил (2-Br-Z), трет-бутокси (tBuO), трет-бутоксикарбонил (Boc), трет-бутоксиметил (Bum), трет-бутил (tBu), трет-бутилтио (tButhio), 2-хлорбензилоксикарбонил (2-Cl-Z),

циклогексилокси (сНхО), 2,6-дихлорбензил (2,6-DiCl-Bzl), 4,4'-диметоксибензгидрил (Mbh), 1-4,4-диметил-2,6-диоксоциклогексалиден-3-метилбутил (ivDde), 4-N-1-4,4-диметил-2,6-диоксоциклогексалиден-3-метилбутиламинобензилокси (ODmab), 2,4-динитрофенил (Dnp), флуоренилметоксикарбонил (Fmoc), формил (For), мезитилен-2-сульфонил (Mts), 4-метоксибензил (MeOBzl), 4-метокси-2,3,6-триметилбензолсульфонил (Mtr), 4-метокситритил (Mmt), 4-метилбензил (MeBzl), 4-метилтритил (Mtt), 3-нитро-2-пиридинсульфенил (Npys), 2,2,4,6,7-пентаметилдигидробензофуран-5-сульфонил (Pbf), 2,2,5,7,8-пентаметилхроман-6-сульфонил (Pmc), тозил (Tos), трифторацетил (Tfa), триметилацетамидометил (Tasm), тритил (Trt) и ксантил (Xan).

Когда одна или более боковых цепей аминокислот пептида содержат функциональные группы, например, дополнительные карбоксильные группы, аминогруппы, гидроксигруппы или тиольные группы, то могут потребоваться дополнительные защитные группы. Например, если используется методика Fmoc, то для защиты Arg могут использоваться Mtr, Pmc, Pbf; для защиты Asn и Gln могут использоваться Trt, Tmob; для защиты Trp и Lys может использоваться Boc; для защиты Asp, Glu, Ser, Thr и Tyr может использоваться tBu; а для защиты Cys могут использоваться AcM, tBu, tButhio, Trt и Mmt. Специалисту в данной области техники очевидно, что существует множество других подходящих комбинаций.

Способы SPPS, описанные выше, хорошо известны в отрасли техники, к которой относится данное изобретение. См., например, Atherton and Sheppard, «Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach» New York: IRL Press, 1989; Stewart and Young: "Solid-Phase Peptide Synthesis 2nd Ed.," Rockford, Illinois: Pierce Chemical Co., 1984; Jones, "The Chemical Synthesis of Peptides," Oxford: Clarendon Press, 1994; Merrifield, *J. Am. Soc.* 85:2146-2149 (1963); Marglin, A. and Merrifield, R.B. *Annu. Rev. Biochem.* 39:841-66 (1970); and Merrifield R.B. *JAMA.* 210(7):1247-54 (1969); and "Solid Phase Peptide Synthesis – A Practical Approach" (W.C. Chan и P.D. White, eds. Oxford University Press, 2000). Оборудование для автоматического синтеза пептидов или полипептидов свободно продается, например, компанией Perkin Elmer/Applied Biosystems (Foster City, CA) и его можно использовать в соответствии с инструкциями производителя.

После отщепления от смолы пептид может быть отделен от реакционной среды, например, центрифугированием или фильтрацией. Затем пептид можно очищать, например, с помощью ВЭЖХ и использованием одного или более подходящих растворителей.

Авторы изобретения обнаружили, что в некоторых вариантах осуществления пептидсодержащий партнер по конъюгации, обеспечивает преимущество, состоящее

в способах по настоящему изобретению без очистки после отщепления пептида от смолы.

Авторы изобретения обнаружили, что в некоторых вариантах осуществления способ тиол ен-реакции по настоящему изобретению обеспечивает преимущество, состоящее в использовании пептидсодержащего партнера по конъюгации, где пептид не содержит защитную группу Na-аминогруппы или любые защитные группы боковой цепи. Реакция обычно является селективной для реакции тиола и неароматической двойной углерод-углеродной связи.

В способах по настоящему изобретению существует необходимость защиты защитной группой тиольных групп, присутствующих в пептидсодержащем партнере по конъюгации (напр., в цистеиновых остатках пептида) для предотвращения нежелательных параллельных реакций. Тиоловые группы защищаются защитной группой, которая не удаляется в условиях, используемых для удаления одной или более других защитных групп, присутствующих в пептиде, или для отщепления пептида от смолы.

Как правило, пептид синтезируется с использованием аминокислот, содержащих соответствующие защитные группы. Специалист в данной области техники способен подобрать подходящие защитные группы без ненужного экспериментирования.

Аминокислотный партнер по конъюгации и/или липидсодержащие партнеры по конъюгации могут содержать одну или более ненасыщенных углерод-углеродных связей в дополнение к двойным углерод-углеродным связям липидсодержащих партнеров по конъюгации, которые должны вступать в реакцию. Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение очевидно, что в таких вариантах осуществления селективность, вступающего в реакцию тиола с двойной углерод-углеродной связью может зависеть, например, от стерического и/или электронного окружения двойной углерод-углеродной связи относительно одной или более дополнительных ненасыщенных углерод-углеродных связей. В некоторых вариантах осуществления, вступающие в реакцию двойные углерод-углерод связи активируются, по отношению к любым другим ненасыщенным углерод-углеродным связям, в аминокислотном партнере по конъюгации и липидсодержащем партнере по конъюгации. В некоторых вариантах осуществления, вступающие в реакцию двойные углерод-углерод связи активируются, по отношению к любым другим ненасыщенным углерод-углеродным связям, в пептидсодержащем партнере по конъюгации и липидсодержащем партнере по конъюгации.

В некоторых вариантах осуществления, Na-аминогруппа аминокислоты содержащего тиол аминокислотного партнера по конъюгации ацилируется, например

ацетируется. В некоторых вариантах осуществления, способы по настоящему изобретению могут включать ацилирование, например ацетилирование, Na-аминогруппы аминокислоты аминокислотного партнера по конъюгации, включающего двойную углерод-углеродную связь или тиол, которые должны вступать в реакцию.

- 5 Если пептидсодержащий партнер по конъюгации синтезируется способом SPPS, то ацилирование может осуществляться до или после отщепления от смолы. В некоторых вариантах осуществления, аминокислотный остаток пептидсодержащего партнера по конъюгации, включающего тиол, который должен вступать в реакцию, представляет собой N-концевой аминокислотный остаток, например цистеин, а данный способ
- 10 включает ацилирование N-концевой аминогруппы перед отщеплением пептида.

В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает ацилирование, например ацетилирование, Na-аминогруппы аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислотного остатка пептидного конъюгата, с которым конъюгированы липидные фрагменты.

- 15 Ацилирование Na-аминогруппы аминокислоты осуществляют реакцией аминокислоты или пептида с ацилирующим реагентом в присутствии основания и в подходящем растворителе, например DMF. Неограничивающими примерами ацилирующих реагентов являются: галоидангидриды, например хлорангидриды, такие как ацетилхлорид, и кислотные ангидриды, например уксусный ангидрид. Данные
- 20 реагенты имеются в продаже или получают способами, хорошо известными в отрасли техники, к которой относится данное изобретение. Неограничивающими примерами подходящих оснований являются: триэтиламин, диизопропилэтиламин, 4-метилморфолин и тому подобное.

- В других вариантах осуществления, синтез пептида пептидсодержащего партнера по конъюгации, включает сопряжение аминокислоты или пептида, содержащего аминокислоту, которая ацилирована, например ацетилирована, в Na-аминогруппе и
- 25 включает тиол, который должен вступать в реакцию с одной или более аминокислотами и/или одним или более пептидами.

- В некоторых вариантах осуществления, способ включает сопряжение аминокислоты
- 30 аминокислотного конъюгата с аминокислотой или пептидом и получение пептидного конъюгата. В некоторых вариантах осуществления, способ включает сопряжение с помощью SPPS аминокислоты аминокислотного конъюгата с аминокислотой или пептидом, связанными с твердофазным носителем смолы. В некоторых вариантах осуществления, способ включает сопряжение с помощью SPPS аминокислоты
- 35 аминокислотного конъюгата с пептидом, связанными с твердофазным носителем

смолы. Способ может включать синтез с помощью SPPS пептида, связанного с твердофазным носителем смолы.

5 В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или пептидом таким образом, чтобы получать пептидный конъюгат, включающий пептидную антигенную детерминанту. В некоторых вариантах осуществления, подлежащий сопряжению пептид включает пептидную антигенную детерминанту. Других вариантах осуществления, пептидная антигенная детерминанта образуется при сопряжении. Спряжение можно осуществлять описанным здесь 10 способом SPPS.

В некоторых вариантах осуществления, способ включает сопряжение с помощью SPPS аминокислоты аминокислотного конъюгата с пептидом, связанным с твердофазным носителем смолы, таким образом, чтобы получать пептидный конъюгат, включающий пептидную антигенную детерминанту.

15 В одном варианте осуществления, пептид пептидного конъюгата, который подлежит сопряжению, связан с твердофазным носителем смолы, а способ включает сопряжение аминокислоты пептидного конъюгата, подлежащей сопряжению с аминокислотой или пептидом таким образом, чтобы получать пептидный конъюгат, включающий пептидную антигенную детерминанту.

20 В некоторых вариантах осуществления, способ включает сопряжение с помощью SPPS аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или пептидом, связанным с твердофазным носителем смолы, таким образом, чтобы получать пептидный конъюгат, включающий пептидную антигенную детерминанту.

25 В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает сопряжение антигенной детерминанты, например с пептидной антигенной детерминанты с аминокислотным конъюгатом или пептидным конъюгатом. Если способ включает сопряжение пептидной антигенной детерминанты, то сопряжение осуществляется описанным здесь способом SPPS.

30 В некоторых вариантах осуществления, антигенная детерминанта, например пептидная антигенная детерминанта, сопрягается или связывается с помощью линкерной группы. В некоторых вариантах осуществления, линкерная группа представляет собой аминокислотную последовательность, например последовательность из двух или более, трех или более или четырех или более примыкающих аминокислот. В некоторых вариантах осуществления, линкер содержит

от 2 до 20, от 2 до 18, от 2 до 16, от 2 до 14, от 2 до 12, от 2 до 10, от 4 до 20, от 4 до 18, от 4 до 16, от 4 до 14, от 4 до 12 или от 4 до 10 аминокислот.

5 Специалисту в данной области техники, очевидно, что сопряжение аминокислоты или пептида с другой аминокислотой или пептидом, как описано здесь, может включать образование пептидной связи между N α -концом аминокислоты или аминокислоты пептида одного партнера по сопряжению и C-концом аминокислоты или аминокислоты пептида другого партнера по сопряжению.

10 В некоторых вариантах осуществления, способ по настоящему изобретению включает синтез с помощью SPPS аминокислотной последовательности пептида пептидсодержащего партнера по конъюгации и осуществление реакции пептидсодержащего партнера по конъюгации.

15 В некоторых вариантах осуществления, способ по настоящему изобретению включает синтез с помощью SPPS аминокислотной последовательности пептида пептидсодержащего партнера по конъюгации и осуществление реакции липидсодержащих партнеров по конъюгации с пептидсодержащим партнером по конъюгации.

20 В некоторых вариантах осуществления, синтез аминокислотной последовательности пептида пептидсодержащего партнера по конъюгации с помощью SPPS, включает сопряжение аминокислоты или пептида с аминокислотой или пептидом, связанным с твердофазным носителем смолы, с получением аминокислотной последовательности пептида или ее части. В некоторых вариантах осуществления, синтезирование аминокислотной последовательности всего пептида пептидсодержащего партнера по конъюгации осуществляется способом SPPS.

25 Пептидсодержащий партнер по конъюгации, можно подвергнуть реакции, например, со связанными с твердофазным носителем смолы липидсодержащими партнерами по конъюгации способом тиол е n -реакции. Кроме того, пептид может быть отщеплен от твердофазного носителя смолы и, необязательно, очищен до вступления в реакции, например, с липидсодержащими партнерами по конъюгации.

30 Пептидный конъюгат и/или аминокислотный партнер по конъюгации, например, пептидсодержащий партнер по конъюгации, может содержать одну или более солюбилизирующих групп. Одна или более солюбилизирующих групп повышают растворимость, например, пептидсодержащего партнера по конъюгации в полярных растворителях, таких как вода. В примерах осуществления, солюбилизирующая группа не оказывает неблагоприятного воздействия на биологическую активность пептидного конъюгата.

35

Присутствие солюбилизирующей группы дает определенное преимущество при приготовлении и/или введении пептидного конъюгата в качестве лекарственного препарата.

5 В некоторых вариантах осуществления, солюбилизирующая группа связана с пептидом пептидного конъюгата и/или пептидсодержащего партнера по конъюгации. В некоторых вариантах осуществления, солюбилизирующая группа связана с пептидом пептидсодержащего партнера по конъюгации. В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидного конъюгата и/или пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации включают солюбилизирующую группу. В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации включает солюбилизирующую группу.

15 В некоторых вариантах осуществления, солюбилизирующая группа связана с боковой цепью аминокислоты в пептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления, солюбилизирующая группа связана с С-концом или N-концом пептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления, солюбилизирующая группа связана между двумя аминокислотными остатками в пептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления, солюбилизирующая группа связана с Na-аминогруппой одного аминокислотного остатка в пептидной цепи и карбоксильной группой другого аминокислотного остатка в пептидной цепи.

20 Примерами подходящих солюбилизирующих групп являются, не ограничиваясь: гидрофильные аминокислотные последовательности или полиэтиленгликоли (PEG).

25 В одном варианте осуществления, солюбилизирующая группа представляет собой гидрофильную аминокислотную последовательность, содержащую два или более гидрофильных аминокислотных остатка в пептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления, солюбилизирующая группа представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую последовательность из двух или более последовательных гидрофильных аминокислотных остатков в пептидной цепи. Данные солюбилизирующие группы образуются путем добавления каждой аминокислоты солюбилизирующей группы к пептидной цепи с помощью SPPS.

30 В другом варианте осуществления, солюбилизирующая группа представляет собой полиэтиленгликоль. В некоторых вариантах осуществления, полиэтиленгликоль связан с Na-аминогруппой одного аминокислотного остатка в пептидной цепи и карбоксильной группой другого аминокислотного остатка в пептидной цепи.

35 В некоторых вариантах осуществления, полиэтиленгликоль содержит примерно: от 1 до 100, от 1 до 50, от 1 до 25, от 1 до 20, от 1 до 15, от 1 до 15, от 1 до 10, от 2 до 10

или от 2 до 4 мономерных звеньев этиленгликоля. Способы сопряжения полиэтиленгликолей с пептидами широко известны.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или пептидсодержащий партнер по конъюгации включает антиген, например антигенный пептид. В одном варианте осуществления пептид пептидного конъюгата или пептидсодержащий партнер по конъюгации, представляет собой или включает антиген, или антиген, связанный с пептидом, необязательно, с помощью линкера. В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации включает антиген, например антигенный пептид. В одном варианте осуществления, пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации, представляет собой или включает антиген, или антиген, связанный с пептидом, необязательно, с помощью линкера.

В одном варианте осуществления, антиген содержит пептид, включающий антигенную детерминанту. В одном варианте осуществления, пептид, включающий антигенную детерминанту, представляет собой гликопептид, включающий антигенную детерминанту. В одном варианте осуществления, антиген содержит гликопептид, включающий антигенную детерминанту.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или пептидсодержащий партнер по конъюгации включает антигенную детерминанту. В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидного конъюгата и/или пептидсодержащего партнера по конъюгации включает антигенную детерминанту. В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации включает антигенную детерминанту. В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации включает антигенную детерминанту.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или пептидсодержащий партнер по конъюгации включает две или более антигенных детерминанты, например, пептид пептидного конъюгата и/или пептидсодержащего партнера по конъюгации включает две или более антигенных детерминанты.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или пептидсодержащий партнер по конъюгации представляет собой или включает гликопептид, включающий антигенную детерминанту. В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидного конъюгата и/или пептидсодержащего партнера по конъюгации представляет собой гликопептид. В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или пептидсодержащий партнер по конъюгации включает гликопептид, включающий антигенную детерминанту, связанную с пептидом пептидного конъюгата и/или пептидсодержащего партнера по конъюгации. В

некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации представляет собой или включает гликопептид, включающий антигенную детерминанту. В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации представляет собой гликопептид. В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации содержит гликопептид, включающий антигенную детерминанту, связанную с пептидом пептидсодержащего партнера по конъюгации.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или пептидсодержащий партнер по конъюгации включает участок протеолитического расщепления. В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидного конъюгата и/или пептидсодержащего партнера по конъюгации включает участок протеолитического расщепления. В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации включает участок протеолитического расщепления. В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации включает участок протеолитического расщепления.

В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидного конъюгата и/или пептидсодержащего партнера по конъюгации включает одну или более линкерных групп. В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации включает одну или более линкерных групп.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или пептидсодержащий партнер по конъюгации включает линкерную группу. В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации включает линкерную группу.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат и/или пептидсодержащий партнер по конъюгации включает антигенную детерминанту, связанную с пептидом пептидного конъюгата и/или пептидсодержащего партнера по конъюгации с помощью линкерной группы. В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации включает антигенную детерминанту, связанную с пептидом пептидсодержащего партнера по конъюгации с помощью линкерной группы.

Примерами линкерных групп являются, не ограничиваясь: аминокислотные последовательности (например, пептид), полиэтиленгликоль, алкильные аминокислоты и тому подобное. В некоторых вариантах осуществления, линкер представляет собой или включает участок протеолитического расщепления. В некоторых вариантах осуществления, линкер представляет собой или включает солибилизирующую группу.

В некоторых вариантах осуществления, линкер связывается между двумя аминокислотными остатками пептидной цепи.

В некоторых вариантах осуществления, линкерная группа связывается с Nα-аминогруппой одного аминокислотного остатка в пептидном конъюгате и/или пептидсодержащем партнере по конъюгации и карбоксильной группой другого аминокислотного остатка в пептидсодержащем партнере по конъюгации. В некоторых вариантах осуществления, линкерная группа связывается с Nα-аминогруппой одного аминокислотного остатка в пептидсодержащем партнере по конъюгации и карбоксильной группой другого аминокислотного остатка в пептидсодержащем партнере по конъюгации.

В некоторых вариантах осуществления, линкерная группа отщепляется *in vivo* от аминокислот, с которыми она связана. В некоторых вариантах осуществления, линкерная группа отщепляется *in vivo* путем гидролиза. В некоторых вариантах осуществления, линкерная группа отщепляется *in vivo* путем ферментативного гидролиза. Линкерные группы вводятся любым подходящим способом известным в отрасли техники, к которой относится данное изобретение.

Способ дополнительно включает сопряжение антигенной детерминанты с аминокислотой аминокислотного конъюгата или пептидом пептидного конъюгата. Антигенная детерминанта может связываться с помощью линкерной группы, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления, антигенная детерминанта представляет собой пептидную антигенную детерминанту. В некоторых вариантах осуществления, способ включает сопряжение гликопептида, включающего антигенную детерминанту.

Следует понимать, что в соответствии с настоящим изобретением в некоторых желательных вариантах осуществления пептидные конъюгаты поддерживают соответствующее поглощение, обработку и презентирование антигенпрезентирующими клетками. Желательно, чтобы липидсодержащий конъюгат не мешал презентированию антигенпрезентирующими клетками какого-либо антигенного пептида, присутствующего в конъюгате.

Подтверждение идентичности синтезированных пептидов достигается, например, анализом аминокислот, масс-спектрометрией, расщеплением по Эдману и тому подобное.

Способ по настоящему изобретению дополнительно включает отделение аминокислотного конъюгата от жидкой реакционной среды. Кроме того, способ по настоящему изобретению дополнительно включает отделение пептидного конъюгата

от жидкой реакционной среды. Могут использоваться любые подходящие способы отделения, известные в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, например, осаждение и фильтрация. Затем конъюгат можно очищать, например, с помощью ВЭЖХ и использованием одного или более подходящих растворителей.

- 5 Настоящее изобретение также относится к пептидным конъюгатам, полученным способами в соответствии с настоящим изобретением.

Пептидные конъюгаты могут быть чистыми, очищенными или в целом чистыми.

Используемый здесь термин «очищенный» не подразумевает абсолютную чистоту, скорее, он является относительным термином, который описывает рассматриваемый материал более чистым, чем в той среде, в которой он находился ранее. Например, на 10 практике материал обычно, подвергают фракционированию для удаления различных других компонентов, а полученный материал по существу сохраняет требуемую биологическую активность или активности. Термин «по существу очищенный» относится к материалам, которые, по меньшей мере, на 60% без примесей, 15 предпочтительно, по меньшей мере, на 75% без примесей и наиболее предпочтительно, по меньшей мере, на 90% без примесей, по меньшей мере, на 95% без примесей, по меньшей мере, около 98% без примесей или более, других компонентов, с которыми они могут быть связаны во время производства.

Термин « α -аминокислота» или «аминокислота» относится к молекуле, содержащей как 20 аминокислотную группу, так и карбоксильную группу, связанную с углеродом, которому дано название α -углерод. Подходящие аминокислоты включают, без ограничения, как D-, так и L-изомеры природных аминокислот, а также неприродные аминокислоты, полученные органическим синтезом или другими путями метаболизма. Если в контексте явно не указано иное, то используемый здесь термин аминокислота 25 охватывает аналоги аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления, пептидсодержащий партнер по конъюгации содержит только природные аминокислоты. Термин «природная аминокислота» относится к любой из двадцати аминокислот, обычно встречающихся в пептидах, синтезированных в природе, и известных под сокращением в виде одной буквы: A, R, 30 N, C, D, Q, E, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y и V.

Термин «аналог аминокислоты» или «неприродная аминокислота» относится к молекуле, которая структурно сходна с аминокислотой и которая может быть замещена аминокислотой. Аминокислотные аналоги включают, без ограничения, соединения, которые, как определено здесь, структурно идентичны аминокислоте, 35 если не считать включения одной или более дополнительных метиленовых групп

между аминогруппой и карбоксильной группой (напр., α -амино- β -карбоксикислотами), или замещения аминогруппы или карбоксильной группы аналогичной реакционноспособной группой (напр., замещение первичного амина вторичным или третичным амином или замещение карбоксильной группы сложным эфиром или карбоксамидом).

Если не указано иное, то специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение очевидно, что при осуществлении описанных здесь способов могут использоваться обычные методы молекулярной биологии, микробиологии, клеточной биологии, биохимии и иммунологии. Данные методы подробно описаны в литературе, например, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, second edition (Sambrook *et al.*, 1989); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait, изд., 1984); *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, и изд., 1987); *Handbook of Experimental Immunology* (D.M. Weir & C.C. Blackwell, изд.); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J.M. Miller & M.P. Calos, изд., 1987); *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel *et al.*, eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis *et al.*, eds., 1994); *Current Protocols in Immunology* (J.E. Coligan *et al.*, eds., 1991); *The Immunoassay Handbook* (David Wild, ed., Stockton Press NY, 1994); *Antibodies: A Laboratory Manual* (Harlow *et al.*, eds., 1987); and *Methods of Immunological Analysis* (R. Masseyeff, W.H. Albert, и N.A. Staines, изд., Weinheim: VCH Verlags gesellschaft mbH, 1993).

Термин «пептид» и тому подобное используют здесь для обозначения любого полимера аминокислотных остатков любой длины. Полимер может быть линейным или нелинейным (напр., разветвленным) и может содержать модифицированные аминокислоты или аминокислотные аналоги. Термин также охватывает аминокислотные полимеры, которые были модифицированы естественным путем или путем вмешательства, например, путем образования дисульфидной связи, гликозилирования, липидизации, ацетилирования, фосфорилирования или любой другой модификации или манипуляции, например, конъюгации с мечением биоактивными компонентами.

Авторы изобретения обнаружили, что пептидные конъюгаты по настоящему изобретению обладают иммунологической активностью.

Клеточно-опосредованный иммунитет в первую очередь обусловлен воздействием Т-лимфоцитов. Патогенные антигены локализуются на поверхности антигенпрезентирующих клеток (таких как макрофаги, В-лимфоциты и дендритные клетки), связанных с молекулами главного комплекса гистосовместимости ГКГС класса I или ГКГС класса II. Презентация патогенного антигена, сопряженного с ГКГС класса II, активирует ответ клетки-помощника (CD4+) Т-клетки. При связывании Т-клетки с

комплексом антиген - ГКГС класса II, CD4+ Т-клетки выделяют цитокины и индуцируют пролиферацию.

- Презентация патогенных антигенов, связанных с молекулами ГКГС класса I, активирует цитотоксический ответ (CD8+) Т-клетки. При связывании Т-клетки с комплексом антиген-ГКГС класса I клетки CD8+ выделяют перфорин и другие медиаторы, что приводит к гибели клеток-мишеней. Не вдаваясь в теорию, изобретатели считают, что в некоторых вариантах осуществления усиленный ответ с помощью клеток CD8+ достигается в присутствии одной или более антигенных детерминант, распознаваемых клетками CD4+.
- 5
- 10 Способы оценки и контроля начала или прогрессирования клеточно-опосредованной реакции у пациента хорошо известны в отрасли техники, к которой относится данное изобретение. Удобные примерные способы представляют собой способы, например, указанные здесь, в которых оценивается присутствие или уровень одного или более цитокинов, связанных с клеточной реакцией. Подобным образом, клеточные способы
- 15 оценки или контроля начала и прогрессирования клеточной реакции могут применяться в настоящем изобретении и могут включать анализ пролиферации или активации клетки, включая анализ, нацеленный на идентификацию активации или расширения одной или более популяций иммунных клеток, например Т-лимфоцитов.
- В некоторых вариантах осуществления, способы по изобретению вызывают клеточно-опосредованный иммунный ответ и гуморальный ответ.
- 20 Гуморальный иммунный ответ опосредуется секретлируемыми антителами, продуцируемыми В-клетками. Секретлируемые антитела связываются с антигенами, представленными на поверхности инвазивных агентов, помечая их для уничтожения.
- Вновь, способы оценки и контроля начала или прогрессирования гуморального ответа хорошо известны в отрасли техники, к которой относится данное изобретение. Сюда относятся анализы связывания антител, ELISA, кожная инъекционная проба и тому подобное.
- 25 Не вдаваясь в теорию, изобретатели считают, что в некоторых вариантах осуществления пептидные конъюгаты стимулируют толл-подобные рецепторы (TLR).
- 30 Toll-подобные рецепторы (TLR) являются высококонсервативными рецепторами распознавания образов (PRR), которые распознают связанные с патогеном молекулярные структуры и передают сигналы опасности в клетку (Kawai, T., Akira, S., *Immunity* **2011**, *34*, 637-650). TLR2 представляет собой рецептор клеточной поверхности, экспрессированный на ряде различных типов клеток, включая

дендритные клетки, макрофаги и лимфоциты (Coffman, R. L., Sher, A., Seder, R. A., *Immunity* **2010**, *33*, 492-503).

TLR2 распознает широкий спектр микробных компонентов, включая липополисахариды, пептидогликаны и липотейхоевую кислоту. Он уникален среди TLR тем, что он образует гетеродимеры с TLR1 или TLR6, а способность образовывать комплексы с другими PRR может объяснить широкий спектр агонистов TLR2 (Feldmann, M., Steinman, L., *Nature* **2005**, *435*, 612-619). При связывании лиганда и гетеродимеризации, передача сигналов происходит по пути MyD88, что приводит к активации NFκB и последующему продуцированию воспалительных и эффекторных цитокинов.

Ди- и триацилированные липопептиды, полученные из бактериальных компонентов клеточной оболочки, были тщательно изучены как агонисты TLR2 (Eriksson, E. M. Y., Jackson, D. C., *Curr. Prot. and Pept. Sci.* **2007**, *8*, 412-417). Было констатировано, что липопептиды способствуют созреванию дендритных клеток, вызывая позитивную регуляцию костимулирующих молекул на поверхности клетки и улучшенную презентацию антигена. Также было констатировано, что липопептиды стимулируют высвобождение макрофагами цитокинов и способствуют активации лимфоцитов, включая В-клетки и CD8+ Т-клетки.

В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат обладает активностью агониста TLR2. S-2,3-бис-пальмитилокси-2RS-пропил-N-пальмитоил-R-Cys-Lys-Lys-Lys-Lys-OH (Pam3CSK4) является активным агонистом TLR2 и может выбираться в качестве эталона, с которым можно сравнивать агонизм TLR2 соединений пептидного конъюгата по изобретению. В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат имеет активность агониста TLR2, составляющую от 1000, 100 или 10 раз меньше, чем активность Pam3CSK4, до 1000, 100 или 10 раз больше, чем активность Pam3CSK4. В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат обладает активностью агониста TLR2, сравнимой с Pam3CSK4. В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат обладает активностью агониста TLR2, составляющей, по меньшей мере, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90% по сравнению с Pam3CSK4. В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат обладает активностью агониста TLR2, которая больше чем у Pam3CSK4. Например, в некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат обладает активностью агониста TLR2, большей чем 100%, 150%, 200%, 500%. В некоторых вариантах осуществления, пептидный конъюгат обладает активностью агониста TLR2, большей чем в 10 раз или в 100 раз чем у Pam3CSK4. В некоторых вариантах осуществления, например, в вариантах осуществления, в которых желателен модулированный иммунный ответ, пептидный конъюгат обладает

меньшей активностью агониста TLR2, по сравнению с активностью Pam3CSK4. Например, пептидный конъюгат обладает активностью агониста TLR2, составляющей менее примерно 50%, менее примерно 40%, менее примерно 30%, менее примерно 20%, менее примерно 10%, менее примерно 1% или менее примерно 0,1%, по сравнению с активностью Pam3CSK4.

В некоторых вариантах осуществления, активность агониста TLR2 определяют с использованием анализа клеток HeK-Blue™ (например, следуя аналогичной процедуре, описанной в приведенных здесь Примерах).

В некоторых вариантах осуществления, TLR2 представляет собой TLR2 мыши или TLR2 человека. В некоторых примерных вариантах осуществления, TLR2 (mTLR2) представляет собой человеческий TLR2 (hTLR2).

В некоторых вариантах осуществления пептидный конъюгат имеет EC₅₀ для агонизма TLR2 (предпочтительно hTLR2) примерно менее чем 500 нМ, как определено с использованием анализа клеток HEK-Blue™ (например, следуя аналогичной процедуре, описанной в приведенных здесь примерах), например, примерно менее чем 400, 300, 250, 200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2,5, 2, 1,5, 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 или 0,1 нМ, а предпочтительные диапазоны могут выбираться из любых двух из этих значений, например, от примерно 0,1 нМ до 500 нМ, от 0,1 нМ до 150 нМ или от 0,1 нМ до 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления пептидный конъюгат имеет EC₅₀ для агонизма TLR2 (предпочтительно hTLR2), по меньшей мере, примерно 0,01 нМ, как определено с использованием анализа клеток HEK-Blue™ (например, следуя аналогичной процедуре, описанной в приведенных здесь примерах), например, по меньшей мере, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 1,5 или 2 нМ, а предпочтительные диапазоны могут выбираться из любых двух из этих значений, например, примерно от 0,01 нМ до 2 нМ, от 0,01 нМ до 1,5 нМ или от 0,01 нМ до 1 нМ. В некоторых вариантах осуществления, пептид пептидного конъюгата и/или аминокислотного партнера по конъюгации, включает аминокислотный сериновый остаток, примыкающий к аминокислоте, с которым в пептид конъюгируются липидные фрагменты. В некоторых вариантах осуществления, серин связан с С-концом аминокислоты. Присутствие серинового аминокислотного остатка в этом положении способно усилить связывание TLR2.

Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение очевидно, что пептидный конъюгат может включать антигенную детерминанту, например, две или более антигенных детерминанты. Антигенная детерминанта сопрягается или связывается с пептидом с помощью линкерной группы. В некоторых вариантах осуществления, антигенная детерминанта представляет собой пептидную антигенную

детерминанту. Специалисту в данной области техники очевидно, что в настоящем изобретении может применяться разнообразный ассортимент пептидных антигенных детерминант.

Антигены

- 5 Следует понимать, что было описано и пригодно для использования в настоящем изобретении большое количество антигенов, например опухолевых антигенов или антигенов из различных патогенных организмов. Предметом рассмотрения являются все способные вызывать иммунный ответ антигены, независимо от того, описаны они сейчас или нет.
- 10 Соответственно, в зависимости от выбора антигена, конъюгаты по настоящему изобретению находят применение в иммунотерапии, включая, не ограничиваясь, лечение и профилактику инфекционных заболеваний, лечение и профилактику рака, а также лечение повторных вирусных заболеваний во время или после иммуносупрессии, например, у пациентов, перенесших трансплантацию костного
- 15 мозга или трансплантацию гематопозитических стволовых клеток.

Также предметом рассмотрения являются антигены, включающие одну или более аминокислотных замен, например, одну или более консервативных аминокислотных замен.

- «Консервативная аминокислотная замена» представляет собой консервативную
- 20 аминокислотную замену, в которой аминокислотный остаток заменен другим остатком, имеющим химически подобную или дериватизированную боковую цепь. Например, в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, были определены семейства аминокислотных остатков, имеющих похожие боковые цепи. Эти семейства включают, например, аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин,
- 25 аргинин, гистидин), кислые боковые цепи (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженные полярные боковые цепи (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярные боковые цепи (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин,
- 30 триптофан), бета-разветвленные боковые цепи (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). В настоящем изобретении также рассматриваются аминокислотные аналоги (например, фосфорилированные или гликозилированные аминокислоты), а также пептиды, замещенные неприродными аминокислотами, включая, не ограничиваясь, N-алкилированные аминокислоты (напр., N-
- 35 метиламинокислоты), D-аминокислоты, β -аминокислоты и γ -аминокислоты.

Специальным предметом рассмотрения являются фрагменты и варианты антигенов.

«Фрагмент» пептида представляет собой субпоследовательность пептида, которая выполняет функцию необходимую для ферментативной или связывающей активности и/или обеспечивает трехмерную структуру пептида, например, трехмерную структуру полипептида.

Используемый здесь термин «вариант» относится к пептидным последовательностям, включая, например, пептидные последовательности, отличные от специфично идентифицированных последовательностей, где один или более аминокислотных остатков удаляются, замещаются или добавляются. Варианты представляют собой природные варианты или неприродные варианты. Варианты представляют собой варианты из одного и того же или других видов и могут охватывать гомологи, паралоги и ортологи. В некоторых вариантах осуществления варианты пептидов, включая пептиды, обладающие биологической активностью, которые являются такими же или похожими на пептиды дикого типа. Термин «вариант» со ссылкой на пептиды охватывает, как определено здесь, все формы пептидов.

Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение очевидно, что конъюгаты по настоящему изобретению в определенных вариантах осуществления особенно подходят для стимулирования ответов Т-клеток, например, при лечении неопластических заболеваний, включая рак. Специальным предметом рассмотрения являются конъюгаты по настоящему изобретению, включающие один или более опухолевых антигенов. Следует понимать, что опухолевые антигены, являющиеся предметом рассмотрения при получении пептидных конъюгатов в соответствии с изобретением, обычно включают один или более пептидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, включая, например, лекарственные препараты в соответствии с изобретением, может присутствовать один или более дополнительных опухолевых антигенов, где один или более опухолевых антигенов не содержат пептида. Опухолевые антигены обычно классифицируются как уникальные антигены, так и общие антигены, причем последняя группа включает дифференцировочные антигены, специфические противораковые антигены и сверхэкспрессирующие антигены. Примеры каждого класса антигенов подлежат использованию в настоящем изобретении. Ниже обсуждаются типичные опухолевые антигены, используемые при лечении, например, при иммунотерапевтическом лечении или вакцинации против неопластических заболеваний, включая рак. В частности специальным предметом рассмотрения являются соединения, вакцины и композиции, включающие один или более полученных антигенов, использующие данные способы иммунизации.

В некоторых вариантах осуществления, опухолевый антиген представляет собой пептидсодержащий опухолевый антиген, такой как полипептидный опухолевый антиген или гликопротеиновые опухолевые антигены. В некоторых вариантах осуществления, опухолевый антиген представляет собой сахаридсодержащий
5 опухолевый антиген, такой как гликолипидный опухолевый антиген или ганглиозидный опухолевый антиген. В некоторых вариантах осуществления, опухолевый антиген представляет собой полинуклеотидсодержащий опухолевый антиген, который экспрессирует полипептидсодержащий опухолевый антиген, например, векторную конструкцию РНК или векторную конструкцию ДНК, например,
10 плазмидную ДНК.

Опухолевые антигены, подходящие для использования в настоящем изобретении, охватывают широкий спектр молекул, таких как (а) пептидсодержащие опухолевые антигены, включая пептидные антигенные детерминанты (которые могут варьироваться по длине, например, от 8 до 20 аминокислот в длину, хотя длины вне
15 этого диапазона также распространены), липополипептиды и гликопротеины, (b) сахаридсодержащие опухолевые антигены, включая полисахариды, муцины, ганглиозиды, гликолипиды и гликопротеины, включая и (с) полинуклеотиды, которые экспрессируют антигенные полипептиды. Вновь, специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение очевидно, что опухолевый антиген,
20 присутствующий в конъюгате или композиции по настоящему изобретению, обычно будет содержать пептид. Однако предметом рассмотрения являются варианты осуществления изобретения, где один или более конъюгатов содержат опухолевый антиген, который сам по себе не содержит пептид, но, например, связан с аминокислотным партнером по конъюгации или пептидсодержащим партнером по
25 конъюгации. Аналогичным образом предметом рассмотрения являются композиции по настоящему изобретению, в которых присутствует один или более опухолевых антигенов, которые сами по себе не содержат пептид.

В некоторых вариантах осуществления опухолевые антигены представляют собой, например, (а) полноразмерные молекулы, связанные с раковыми клетками, (b) их
30 гомологи и модифицированные формы, включая молекулы с удаленными, добавленными и/или замещенными частями, и (с) их фрагменты, при условии, что указанные фрагменты остаются антигенными или иммуногенными. В некоторых вариантах осуществления, опухолевые антигены получают в рекомбинантной форме. В некоторых вариантах осуществления, опухолевые антигены включают, например,
35 антигены, рестриктированные по главному комплексу гистосовместимости Класса I, распознаваемые CD8+ лимфоцитами или антигены рестриктированные по главному комплексу гистосовместимости Класса II, распознаваемые CD4+ лимфоцитами. В некоторых вариантах осуществления, опухолевые антигены включают синтетические

пептиды, включающие антигены, рестриктированные по главному комплексу гистосовместимости Класса I, распознаваемые CD8+ лимфоцитами или антигены рестриктированные по главному комплексу гистосовместимости Класса II, распознаваемые CD4+ лимфоцитами.

- 5 Общие опухолевые антигены, как правило, считаются нативными, не мутированными последовательностями, которые экспрессируются опухолями из-за эпигенетических изменений, которые допускают дерепрессию находящихся в процессе развития репрессированных генов. Соответственно, общие антигены обычно являются предпочтительными для сверхэкспрессированных или дифференцированно-
10 ассоциированных антигенов, поскольку в здоровых тканях отсутствует экспрессия. Кроме того, одни и те же антигены могут воздействовать на нескольких больных раком пациентов. Например, раково-тестикулярный антиген NY-ESO-1 присутствует у большинства пациентов со многими опухолями и у значительно меньшего числа пациентов с другими опухолями. В другом примере, опухолевые антигены молочной
15 железы NYBR-1 и NYBR-1.1 встречаются у части пациентов с раком молочной железы. Таким образом, общие опухолевые антигены представляют собой привлекательную задачу для разработки.

Предметом рассмотрения является использование в конъюгатах, в соответствии с настоящим изобретением, общих опухолевых антигенов, например, раково-
20 тестикулярных антигенов, включая NY-ESO-1, CTSP-1, CTSP-2, CTSP-3, CTSP-4, SSX2 и SCP1, и антигенов рака молочной железы NYBR-1 и NYBR-1.1.

В одном примере осуществления, пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации, или пептидный конъюгат включает одну или более антигенных детерминант, полученных из NY-ESO-1. В одном варианте осуществления, пептид
25 включает одну или более антигенных детерминант, полученных из остатков NY-ESO-1 79-116. В одном варианте осуществления, пептид включает одну или более антигенных детерминант, полученных из остатков NY-ESO-1 118-143. В одном варианте осуществления, пептид включает одну или более антигенных детерминант, полученных из остатков NY-ESO-1 153-180.

30 В одном специально рассматриваемом варианте осуществления, пептид пептидсодержащего партнера по конъюгации или пептидный конъюгат, включает, по существу состоит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из 8 или более примыкающих, 10 или более примыкающих, 12 или более примыкающих, 15 или более примыкающих, 20 или более примыкающих или 25
35 или более примыкающих аминокислот из любой из SEQ ID NO: 9 - 28.

В различных вариантах осуществления, пептид включает более чем одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из любой из SEQ ID NO: 9 - 28. В одном варианте осуществления, пептид включает одну или более аминокислотных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12 - 15, 20, 21 и 26-28.

Аналогично, вакцина Sipuleucel-T (APC8015, Provenge™) для предстательной железы, которая включает антиген простатической кислой фосфатазы (PAP), присутствует в 95% клеток рака предстательной железы. Благодаря этому, по меньшей мере, частичному потенциалу действенности у значительной части больных раком предстательной железы, вакцина Sipuleucel-T была одобрена FDA в 2010 году для использования в лечении бессимптомного, гормонорезистентного рака предстательной железы. Предметом специального рассмотрения является использование PAP-антигена в конъюгатах по настоящему изобретению.

Уникальными антигенами считаются антигены, которые уникальны для индивидуума или приемлемы для небольшой части раковых пациентов и, как правило, являются результатом мутаций, ведущих к уникальным белковым последовательностям. Типичными примерами уникальных опухолевых антигенов являются мутированные антигены Ras и мутированные антигены p53. Специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение очевидно, что способы по настоящему изобретению допускают использование готового препарата конъюгатов, содержащего один или более уникальных опухолевых антигенов, например, для вызова специфического ответа Т-клетки на один или более уникальных опухолевых антигенов, например, в препаратах персонифицированной терапии.

Соответственно, репрезентативные опухолевые антигены включают, не ограничиваясь: (a) антигены семейства полипептидов RAGE, BAGE, GAGE и MAGE, например GAGE-1, GAGE-2, MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6 и MAGE-12 (которые могут использоваться, например, для лечения меланомы легких, головы и шеи, НМРЛ, опухолей молочной железы, желудочно-кишечного тракта и мочевого пузыря); (b) мутированные антигены, например p53 (связанные с различными твердыми опухолями, например, раком толстой и прямой кишки, раком легких, раком головы и шеи), p21/Ras (связанные, например, с меланомой, раком поджелудочной железы и раком толстой и прямой кишки), CDK4 (связанные с меланомой), MUM1 (связанные, например, с меланомой), каспазу-8 (связанную, например, с раком головы и шеи), CIA 0205 (связанные, например, с раком мочевого пузыря), HLA-A2-R1701, бета-катенин (связанный, например, с меланомой), TCR (связанный, например, с Т-клеточной неходжкинской лимфомой), BCR-abl (связанный, например, с хроническим миелолейкозом), триозофосфатизомераза, MA 0205, CDC-27

и LDLR-FUT; (с) сверхэкспрессированные антигены, например, Galectin 4 (связанный, например, с раком толстой и прямой кишки), Galectin 9 (связанный, например, с болезнью Ходжкина), протеиназа 3 (связанная, например, с хронической гранулоцитной лейкемией), антиген-1 опухоли Вильма (WT 1, связанный, например, с различными лейкозами), карбоангидраза (связанная, например, с раком почки), альдолаза А (связанная, например, с раком легких), PRAME (связанная, например, с меланомой), HER-2/позитив (связанный, например, с раком молочной железы, толстой кишки, легкого и яичников), альфа-фетопроtein (связанный, например, с гепатомой), KSA (связанный, например, с раком толстой и прямой кишки), гастрин (связанный, например, с раком поджелудочной железы и желудка), теломеразный каталитический белок, MUC-1 (связанный, например, с раком молочной железы и яичников), G-250 (связанный, например, с почечно-клеточной карциномой), p53 (связанный, например, с раком молочной железы, толстой кишки) и карциноэмбриональный антиген (связанный, например, с раком молочной железы, раком легкого и раком желудочно-кишечного тракта, таким как рак толстой и прямой кишки); (d) общие антигены, например меланома-меланоцитарный дифференцировочный антиген, такой как MART-1/Melan A, gp100, MC1R, рецептор меланоцитостимулирующего гормона, тирозиназа, родственная тирозиназе белок-1/TRP1 и родственная тирозиназе белок-2/TRP2 (связанный, например, с меланомой); (e) ассоциированные с предстательной железой антигены, такие как PAP, антиген простатической сыворотки (PSA), PSMA, PSH-P1, PSM-P1, PSM-P2, ассоциированный, например, с раком предстательной железы; (f) идиотипы иммуноглобулина (связанные, например, с миеломой и лимфомами В-клеток); и (g) другие опухолевые антигены, такие как полипептид- и сахаридсодержащие антигены, включающие (i) гликопротеины, такие как сиалил Tn и сиалил Le.sup.x (связанный, например, с раком молочной железы и раком толстой и прямой кишки), а также различные муцины; гликопротеины сопряжены с белком носителем (например, MUC-1 сопряжены с KLH); (ii) липополипептиды (например, MUC-1, связаны с липидным фрагментом); (iii) полисахариды (например, синтетический гексасахарид Globo H), которые сопряжены с белками носителями (например, с KLH), (iv) ганглиозиды, такие как GM2, GM12, GD2, GD3 (ассоциированные, например, с опухолью мозга, раком легких, меланомой), которые также сопряжены с белками носителями (например, KLH).

Другие репрезентативные опухолевые антигены, пригодные для использования в настоящем изобретении, включают TAG-72 (См., напр., патент США № 5 892 020; антиген карциномы человека (См., напр., патент США № 5 808 005); антигены TP1 и TP3 из клеток остеоканциномы (См., напр., патент США № 5 855 866); антиген Томсона-Фриденрайха (TF) из клеток аденокарциномы (См., напр., патент США № 5 110 911); антиген KC-4 из аденокарциномы предстательной железы человека (См.,

напр., патент США № 4 743 543); антиген рака толстой и прямой кишки человека (См., напр., патент США № 4 921 789); антиген CA125 из цистаденокарциномы (См., напр., патент США № 4 921 790); антиген DF3 из карциномы молочной железы человека (См., напр., патент США № 4 963 484 и 5 053 489); антиген опухоли молочной железы человека (См., напр., патент США № 4 939 240); антиген p97 меланомы человека (См., напр., патент США № 4 918 164); антиген карциномы или родственного орозомукоида (CORA) (см., например, патент США № 4 914 021); Т и Тn гаптены в гликопротеинах карциномы молочной железы человека, гликопротеин карциномы молочной железы MSA; антиген MFGM карциномы молочной железы; антиген DU-PAN-2 карциномы поджелудочной железы; антиген CA125 карциномы яичников; антиген YH206 карциномы легкого, альфафетопротеиновый (AFP) антиген гепатоцеллюлярной карциномы; карциноэмбриональный антиген (CEA) антигена рака толстой и прямой кишки; эпителиальный опухолевый антиген (ETA) антигена рака молочной железы; тирозиназа; продукт онкогена белка-регулятора экспрессии альфа-фетопротеина; gp75; gp100; EBV-LMP 1 и 2; EBV-EBNA 1, 2 и 3С; HPV-E4, 6, 7; CO17-1A; GA733; gp72; p53; протеиназа 3; теломераза; и ганглиозиды. Предметом рассмотрения являются эти и другие опухолевые антигены, независимо от того, были ли они описаны в настоящее время, которые предназначены для использования в настоящем изобретении.

В некоторых вариантах осуществления, опухолевые антигены получают из мутированных или измененных клеточных компонентов. Типичные примеры измененных клеточных компонентов включают, не ограничиваясь: ras, p53, Rb, измененный белок, кодируемый геном опухоли Вильмса, убиквитин, муцин, белок кодируемый генами DCC, APC и MCC, а также рецепторы или рецептор-подобные структуры с «ней», рецептор тиреоидного гормона, рецептор фактора роста тромбоцитов (PDGF), рецептор инсулина, рецептор фактора роста эпидермиса (EGF) и рецептор колониестимулирующего фактора (CSF).

Полинуклеотидсодержащие антигены, используемые в настоящем изобретении, включают полинуклеотиды, которые кодируют перечисленные выше полипептидные опухолевые антигены. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотидсодержащие антигены включают, не ограничиваясь, векторные конструкции ДНК или РНК, например, плазмидные векторы (напр., pCMV), которые способны экспрессировать полипептидные опухолевые антигены *in vivo*.

В настоящем изобретении также рассматривается получение конъюгатов, содержащих вирусные антигены, которые способны стимулировать Т-клетку, чтобы вызывать эффективный противовирусный иммунитет у пациентов, которые имеют или имели подавленный иммунитет, например, у пациентов, которые перенесли трансплантацию

костного мозга, трансплантацию гематopoэтических стволовых клеток или подвергаются иммуносупрессии иным образом.

Аналогично, предметом рассмотрения являются предназначенные для использования в настоящем изобретении антигены, полученные из вирусов связанных с увеличением
5 числа случаев рака, или как считается, вызывают рак, например, вируса папилломы человека, вируса гепатита А и вируса гепатита В.

Например, в некоторых вариантах осуществления, опухолевые антигены включают, не ограничиваясь, антигены вируса p15, Hom/Mel-40, H-Ras, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, вируса Эпштейна Барра, антигены вируса папилломы человека (HPV),
10 включая E6 и E7, антигены вируса гепатита В и С, антигены лимфотропного Т-клеточного вируса, TSP-180, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, mn-23H1, TAG-72- 4, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, p16, TAGE, PSCA, CT7, 43-9F, 5T4, 791 Tgp72, бета-HCG, BSA225, BTAA, CA 125, CA 15-3 (CA 27,29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68\KP1, CO-029, FGF-5, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag,
15 MOV18, NB/70K, NY-CO-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90 (белок связывания Mac-2\C-ассоциированный белок циклофилина), TAAL6, TAG72, TLP, TPS и тому подобное.

В некоторых вариантах осуществления, опухолевые антигены включают вирусные белки, вовлеченные в онкогенез, такие как антигены: вируса Эпштейна Барра, вируса папилломы человека (HPV), включая E6 и E7 и гепатита В и С, и лимфотропного Т-
20 клеточного вируса.

Следует понимать, что такие вирусные белки, а также различные другие вирусные белки могут являться мишенями для активности Т-клеток, например, при лечении вирусных заболеваний. Настоящее изобретение, фактически, полезно при любой инфекции, когда известно, что активность Т-клеток играет роль в иммунитете
25 (эффективно при всех вирусных инфекциях и многих бактериальных инфекциях, например туберкулезе). Описанные здесь инфекционные болезни приведены только в качестве примера и никоим образом не предназначены для ограничения объема изобретения. Следует понимать, что настоящее изобретение полезно при лечении различных других заболеваний и состояний.

30 Типичные антигены, используемые при вакцинации против патогенных организмов, обсуждаются ниже. В частности специальным предметом рассмотрения являются соединения, вакцины и композиции, включающие один или более полученных антигенов, использующие данные способы иммунизации.

Антигены туберкулеза

Следует понимать, что было описано и пригодно для использования в настоящем изобретении большое количество антигенов *M. tuberculosis*. Предметом рассмотрения являются все способные вызывать иммунный ответ антигены *M. tuberculosis*, независимо от того, описаны они сейчас или нет.

- 5 Примерами антигенов *M. Tuberculosis*, пригодных к использованию, являются ранние секреторные антиген клетки-мишени (ESAT) -6, Ag85A, Ag85B (MPT59), Ag85B, Ag85C, MPT32, MPT51, MPT59, MPT63, MPT64, MPT83, MPB5, MPB59, MPB64, MTC28, Mtb2, Mtb8.4, Mtb9.9, Mtb32A, Mtb39, Mtb41, TB10.4, TB10C, TB11B, TB12.5, TB13A, TB14, TB15, TB15A, TB16, TB16A, TB17, TB18, TB21, TB20.6, TB24, TB27B, TB32, TB32A, TB33, TB38, TB40.8, TB51, TB54, TB64, CFP6, CFP7, CFP7A, CFP7B, CFP8A, CFP8B, CFP9, CFP10, CFP11, CFP16, CFP17, CFP19, CFP19A, CFP19B, CFP20, CFP21, CFP22, CFP22A, CFP23, CFP23A, CFP23B, CFP25, CFP25A, CFP27, CFP28, CFP28B, CFP29, CFP30A, CFP30B, CFP50, CWP32, hspX (альфа-кристаллин), APA, сухой туберкулин, очищенный от белков среды (PPD), ST-CF, PPE68, LppX, PstS-1, PstS-2, PstS-3, HBHA, GroEL, GroEL2, GrpES, LHP, 19kDa липопротеин, 71kDa, RD1-ORF2, RD1-ORF3, RD1-ORF4, RD1-ORF5, RD1-ORF8, RD1-ORF9A, RD1-ORF9B, Rv1984c, Rv0577, Rv1827, BfrB, Tpx. Rv1352, Rv1810, PpiA, Cut2, FbpB, FbpA, FbpC, DnaK, FecB, Ssb, RplL, FixA, FixB, AhpC2, Rv2626c, Rv1211, Mdh, Rv1626, Adk, ClpP, SucD (Belisle et al, 2005; US 7 037 510; US 2004/0057963; US 2008/0 199 493; US 2008/0 267 990), или, по меньшей мере, одной антигенной части, или антигенной детерминанты Т-клетки любого из вышеупомянутых антигенов.

Антигены гепатита

- Был описан ряд антигенов гепатита, подходящих для использования в настоящем изобретении. Примерами антигенов гепатита С являются: С - p22, E1 - gp35, E2 - - gp70, NS1 - p7, NS2 - p23, NS3 - p70, NS4A - p8, NS4B - p27, NS5A - p56/58 и NS5B - p68, подходящие для применения в настоящем изобретении, вместе с одной или более антигенными частями или полученными из них антигенными детерминантами (по одному или в комбинации). Предметом рассмотрения являются все способные вызывать иммунный ответ антигены гепатита, независимо от того, описаны они сейчас или нет.

Антигены гриппа

- Был описан ряд антигенов гриппа, подходящих для использования в настоящем изобретении. Типичные антигены гриппа, подходящие для использования в настоящем изобретении, включают PB, PB2, PA, любой из белков гемагглютинаина (HA) или нейраминидазы (NA), NP, M и NS, вместе с одной или более антигенными частями или полученными из них антигенными детерминантами (по одному или в комбинации).

Предметом рассмотрения являются все способные вызывать иммунный ответ антигены гриппа, независимо от того, описаны они сейчас или нет.

Антигены сибирской язвы

Ряд антигенов *B. anthracis* идентифицированы как потенциальные кандидаты для разработки вакцины и полезны в настоящем изобретении. Например, PA83 является одним из таких антигенов для разработки вакцин. В настоящее время доступна только одна лицензированная FDA вакцина против сибирской язвы, называемая «Адсорбированная сибиреязвенная вакцина» (AVA) или BioThrax®. Эта вакцина получена из бесклеточного супернатанта неинкапсулированного штамма *B. anthracis*, адсорбированного на алюминиевый адъювант. PA является основным иммуногеном в AVA. Другими примерами антигенов сибирской язвы, подходящими для использования в настоящем изобретении, являются: защитный антиген (PA или PA63), LF и EF (белки), капсула полигамма- D-глутамата, споровый антиген (специфические компоненты эндоспоры), VclA (специфические белки экзоспория), VxpB (споро-ассоциированный белок) и секретируемые белки. Предметом рассмотрения являются все способные вызывать иммунный ответ антигены сибирской язвы вместе с одной или более антигенными частями или полученными из них антигенными детерминантами, независимо от того, описаны они сейчас или нет.

Антигены туляремии

Ряд антигенов *F. tularensis* идентифицированы как потенциальные кандидаты для разработки вакцины и полезны в настоящем изобретении. Например, AspA и IgIC представляют собой антигены, подходящие для разработки вакцины. Другими примерами антигенов туляремии, подходящих для использования в настоящем изобретении, являются: O-антиген, CPS, белки наружной мембраны (напр., ForA), липопротеины (напр., Tul4), секретируемые белки и липополисахарид. Предметом рассмотрения являются все способные вызывать иммунный ответ антигены туляремии вместе с одной или более антигенными частями или полученными из них антигенными детерминантами, независимо от того, описаны они сейчас или нет.

Антигены бруцеллеза

Ряд антигенов *B. abortus* идентифицированы как потенциальные кандидаты для разработки вакцины и полезны в настоящем изобретении. Например, Omp16 является одним из таких антигенов для разработки вакцин. Другими примерами антигенов бруцеллеза, подходящих для использования в настоящем изобретении, являются: O-антиген, липополисахарид, белки наружной мембраны (напр., Omp16), секретируемые белки, рибосомные белки (напр., L7 и L12), бактериоферритин, р39

(предполагаемый периплазматический связывающий белок), groEL (белок теплового шока), люмазинсинтаза, поверхностный белок BCSP31, липопротеин PAL16.5 OM, каталаза, периплазматический белок 26 kDa, 31 kDa Omp31, 28 kDa Omp, 25 kDa Omp и липопротеин 10 kDa. Предметом рассмотрения являются все способные вызывать

5 иммунный ответ антигены бруцеллеза вместе с одной или более антигенными частями или полученными из них антигенными детерминантами, независимо от того, описаны они сейчас или нет.

Антигены менингита

Ряд антигенов *N. meningitidis* идентифицированы как потенциальные кандидаты для

10 разработки вакцины и полезны в настоящем изобретении. Например, Cys6, PorA, PorB, FetA и ZnuD представляют собой антигены, подходящими для разработки вакцин. Другими примерами антигенов менингита, подходящих для использования в настоящем изобретении, являются: O-антиген, связывающий белок фактора H (fHbp), TbpB, NspA, NadA, белки наружной мембраны, CPS группы B, секретируемые белки и

15 липополисахарид. Предметом рассмотрения являются все способные вызывать иммунный ответ антигены менингита вместе с одной или более антигенными частями или полученными из них антигенными детерминантами, независимо от того, описаны они сейчас или нет.

Антигены лихорадки Денге

Ряд антигенов флавивируса идентифицированы как потенциальные кандидаты для

20 разработки вакцины при лечении лихорадки Денге и полезны в настоящем изобретении. Например, белки оболочки вируса Денге E1 - E4 и мембранные белки M1 - M4 являются антигенами, подходящими для разработки вакцины. Другие примеры антигенов лихорадки Денге, подходящие для использования в настоящем

25 изобретении, включают: C, prE, 1, 2A, 2B, 3, 4A, 4B и 5. Предметом рассмотрения являются все способные вызывать иммунный ответ антигены лихорадки Денге вместе с одной или более антигенными частями или полученными из них антигенными детерминантами, независимо от того, описаны они сейчас или нет.

Антигены лихорадки Эбола

Ряд антигенов вируса Эбола идентифицированы как потенциальные кандидаты на

30 разработку вакцины для лечения лихорадки Эбола и полезны в настоящем изобретении. Например, антигены гликопротеина шиповидных отростков филовируса Заирского эболовируса и вириона Судана ZEBOV-GP и SEBOV-GP, соответственно, пригодны для разработки вакцины. Другими примерами антигенов вируса Эбола,

35 подходящих для использования в настоящем изобретении, являются: NP, gp35, gp40,

GP, vp30, vp24 и L. Предметом рассмотрения являются все способные вызывать иммунный ответ антигены вируса Эбола вместе с одной или более антигенными частями или полученными из них антигенными детерминантами, независимо от того, описаны они сейчас или нет.

5 Антигены лихорадка Западного Нила

Ряд антигенов лихорадки Западного Нила идентифицированы как потенциальные кандидаты для разработки вакцины для лечения инфекции и полезны в настоящем изобретении. Например, антиген (E) флавивирусной оболочки вируса Западного Нила (WNV) представляет собой нетоксичный белок, экспрессируемый на поверхности вирионов WNV (WNVE) и пригоден для разработки вакцины. Другими примерами антигенов WNV, подходящими для использования в настоящем изобретении, являются: Сp, Pm, NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B и NS5.

Предметом рассмотрения являются все способные вызывать иммунный ответ антигены лихорадки Западного Нила вместе с одной или более антигенными частями или полученными из них антигенными детерминантами, независимо от того, описаны они сейчас или нет.

Вышеуказанные или родственные антигены являются примерными, а не ограничивающими объем настоящего изобретения.

Настоящее изобретение также относится к лекарственному препарату, содержащему эффективное количество пептидного конъюгата по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или растворителя и фармацевтически приемлемый носитель.

В соответствии с настоящим изобретением лекарственные препараты могут содержать эффективное количество двух или более пептидных конъюгатов или их смесь. В некоторых вариантах осуществления, лекарственные препараты могут содержать один или более пептидных конъюгатов и один или более пептидов, как описано здесь.

Термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к носителю (адъюванту или несущей лекарственное вещество среде), который может вводиться пациенту вместе с пептидным конъюгатом по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой солью или растворителем и фармацевтически приемлемым носителем.

Фармацевтически приемлемые носители, которые могут использоваться в композициях, включают, не ограничиваясь: ионообменные смолы, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, самоэмульгирующиеся системы лекарственной доставки

- (SEDDS), такие как сукцинат d- α -токоферол полиэтиленгликоля 1000, поверхностно-активные вещества, используемые в фармацевтических лекарственных формах, например Твин, или другие аналогичные полимерные матрицы доставки, сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные
- 5 вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, неполные глицеридные смеси насыщенных растительных жирных кислот, вода, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, натрия моногидрофосфат, дикалия гидрофосфат, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль,
- 10 натрий-карбоксиметилцеллюлоза, полиакрилаты, воски, полиэтиленполиоксипропиленовый блок-полимеры, полиэтиленгликоль и ланолин. Также для усиления доставки могут с успехом использоваться: циклодекстрины, такие как α -, β - и γ -циклодекстрин, или их химически модифицированные производные, такие как гидроксилалкилциклодекстрины, включая 2- и 3-гидроксипропил- β -циклодекстрины
- 15 или другие солюбилизованные производные. Масляные растворы или суспензии могут также содержать длинноцепочечный спиртовой разбавитель или диспергирующее вещество, или карбоксиметилцеллюлозу, или аналогичные диспергирующие реагенты, которые обычно используются в составе фармацевтически приемлемых лекарственных форм, таких как эмульсии и суспензии.
- 20 Композиции составлены таким образом, чтобы их можно было вводить пациенту по любому выбранному пути введения, включая, не ограничиваясь, пероральный прием или парентеральное введение (включая местное, подкожное, внутримышечное и внутривенное).
- Например, композиции могут быть составлены с соответствующим фармацевтически
- 25 приемлемым носителем (включая эксципиенты, разбавители, вспомогательные вещества и их комбинации), выбранным с учетом предполагаемого пути введения и обычной фармацевтической практики. Например, композиции вводятся перорально в виде порошка, жидкости, таблетки или капсулы или местно в виде мази, крема или лосьона. Подходящие составы могут содержать по мере необходимости
- 30 дополнительные реагенты, включая: эмульгирующие, антиоксидантные, ароматизирующие или красящие реагенты, и могут адаптироваться для немедленного, замедленного, модифицированного, устойчивого, импульсного или контролируемого высвобождения.
- Композиции составляются с целью оптимизации биодоступности, иммуногенности или
- 35 для сохранения концентрации плазмы, крови или ткани в иммуногенном или терапевтическом диапазоне, в том числе в течение длительного периода времени.

Контролируемые препараты доставки также могут использоваться для оптимизации концентрации антигена, например в месте действия.

5 Композиции могут составляться для периодического введения, например для обеспечения непрерывного воздействия. Стратегии для вызова полезного иммунологического ответа представляют собой стратегии, которые используют одну или более «бустерных» вакцинаций, и они хорошо известны и одобрены в отрасли техники, к которой относится данное изобретение.

10 Композиции могут вводиться парентерально. Примеры парентеральных лекарственных форм включают: водные растворы, изотонический раствор или 5% раствор активного реагента в глюкозе, или другие хорошо известные фармацевтически приемлемые эксципиенты. В качестве фармацевтических эксципиентов для доставки терапевтического реагента могут использоваться, например, циклодекстрины или другие солюбилизующие агенты, хорошо известные специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение.

15 Примеры лекарственных форм, подходящих для перорального введения, включают, не ограничиваясь: таблетки, капсулы, пастилки для рассасывания или подобные формы, или любые жидкие формы, такие как сиропы, водные растворы, эмульсии и тому подобное, способные создать терапевтически эффективное количество композиции. Капсулы могут содержать любые типичные фармацевтически приемлемые материалы, например, желатин или целлюлозу. Таблетки состоят в соответствии с обычными процедурами путем прессования смесей активных ингредиентов с твердым носителем и скользящим веществом. Примерами твердых носителей являются крахмал и сахарный бентонит. Активные ингредиенты также вводятся в виде таблетки с твердой оболочкой или капсулы, содержащей связующее
20 вещество, например лактозу или маннитол, обычный наполнитель и таблетирующий агент.

Примерами лекарственных форм, подходящих для трансдермального введения, являются, не ограничиваясь: трансдермальные пластыри, трансдермальные бинты и тому подобное.

30 Примерами лекарственных форм, подходящих для местного введения композиций, являются: любой лосьон, ватная палочка, спрей, мазь, паста, крем, гель и т. д., независимо от того, наносятся ли они непосредственно на кожу или через посредника, например с помощью ватного диска, пластыря и тому подобное.

Примерами лекарственных форм, подходящих для введения суппозиториев композиций, являются: любая твердая лекарственная форма, вставленная в отверстие тела, в частности, вставленная ректально, вагинально и уретрально.

- 5 Примерами лекарственных форм, подходящих для инъекции композиций, являются: болюсное введение, например однократное или многократное введение путем внутривенной инъекции, подкожного и внутримышечного введения или перорального введения.

- 10 Примерами лекарственных форм, подходящих для введения композиций длительного действия являются: гранулы пептидных конъюгатов или твердых форм, в которых пептидные конъюгаты заключены в матрицу биоразлагаемых полимеров, микроэмульсий, липосом или микрокапсулированы.

Примерами инфузионных устройств для композиций являются: инфузионные насосы для подачи требуемого количества доз или равновесного введения и имплантируемые дозаторы лекарственных средств.

- 15 Примерами имплантируемых инфузионных устройств для композиций являются: любая твердая форма, в которую инкапсулированы пептидные конъюгаты, или диспергированная по всему биоразлагаемому полимеру или синтетическому полимеру, например, силикону, силиконовому каучуку, силикастике или аналогичному полимеру.

- 20 Примерами лекарственных форм, подходящих для трансмукозального введения композиции являются: растворы длительного действия для клизмы, вагинальные суппозитории, тампоны, кремы, гели, пасты, пены, аэрозоли, порошки и аналогичные препараты, содержащие в дополнение к активным ингредиентам такие носители, которые известны и соответствуют отрасли техники, к которой относится данное
- 25 изобретение. Такие лекарственные формы включают формы, подходящие для ингаляции или инсуффляции композиций, включая композиции, содержащие растворы и/или суспензии в фармацевтически приемлемых, водных или органических растворителях или их смесях, и/или порошках. Для трансмукозального введения композиций используется любая слизистая оболочка, но обычно используют носовые,
- 30 внутриротовые, вагинальные и ректальные ткани. Препараты, подходящие для назального введения композиций, вводятся в жидкой форме, например, в виде назального спрея, назальных капель или путем аэрозольного введения с помощью ингалятора, включая водные или масляные растворы полимерных частиц. Препараты получают в виде водных растворов, например, растворе хлорида натрия, растворах
- 35 бензилового спирта или других подходящих консервантов, стимуляторов абсорбции для повышения биодоступности, фторуглеродов и/или других солюбилизирующих или

диспергирующих агентов, известных в отрасли техники, к которой относится данное изобретение.

5 Примерами лекарственных форм, подходящих для внутриворотного или подязычного введения композиций являются: пастилки для рассасывания, таблетки и тому подобное. Примерами лекарственных форм, подходящих для офтальмологического введения композиций, являются вставки и/или композиции, содержащие растворы и/или суспензии в фармацевтически приемлемых, водных или органических растворителях.

10 Примеры препаратов композиций, включая вакцины, можно найти, например, у Sweetman, S. C. (Ed.). Martindale. The Complete Drug Reference, 33rd Edition, Pharmaceutical Press, Chicago, 2002, 2483 pp.; Aulton, M. E. (Ed.) *Pharmaceutics. The Science of Dosage Form Design*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 2000, 734 pp.; и, Ansel, H. C., Allen, L. V. и Popovich, N. G. *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th Ed., Lippincott 1999, 676 pp. Эксципиенты, используемые в производстве систем доставки лекарств, описаны в различных публикациях, известных 15 специалистам в отрасли техники, к которой относится данное изобретение, включая, например, Kibbe, E. H. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3rd Ed., American Pharmaceutical Association, Washington, 2000, 665 pp. USP также предоставляет примеры пероральных лекарственных форм с модифицированным высвобождением, включая препараты, приготовленные в виде таблеток или капсул. См., например, The 20 United States Pharmacopeia 23/National Formulary 18, The United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville MD, 1995 (здесь и далее "USP"), где также описаны испытания лекарственного средства, оказывающего специфический лечебный эффект при конкретной болезни для определения способности его высвобождения из таблеток и капсул с продленным высвобождением активного вещества и его замедленным высвобождением. Испытание USP для определения способности высвобождения из 25 таблеток и капсул с продленным высвобождением активного вещества и замедленным высвобождением основано на растворении единицы дозирования лекарственного средства относительно истекшего времени испытания. Описания различной аппаратуры для испытания и порядок проведения можно найти в USP. Дальнейшие 30 указания относительно анализа лекарственных форм с продленным высвобождением предоставлены F.D.A. (См., *Guidance for Industry. Extended release oral dosage forms: development, evaluation, and application of in vitro/in vivo correlations*. Rockville, MD: Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, 1997).

35 Хотя композиция может содержать один или более внешних адъювантов, но в некоторых вариантах осуществления это необязательно. В некоторых вариантах

осуществления, пептидный конъюгат включает антигенную детерминанту и является самоадъювантным.

5 Настоящее изобретение относится к способу вакцинации или способу вызывания иммунного ответа у пациента, включающему введение пациенту эффективного количества пептидного конъюгата в соответствии с настоящим изобретением. Настоящее изобретение также относится к пептидному конъюгату для вакцинации или вызывания иммунного ответа у пациента и использованию пептидного конъюгата при изготовлении лекарственного средства для вакцинации или вызывания иммунного ответа у пациента.

10 Настоящее изобретение также относится к способу вакцинации или способу вызывания иммунного ответа у пациента, включающему введение пациенту эффективного количества лекарственного препарата в соответствии с настоящим изобретением. Настоящее изобретение также относится к лекарственному препарату для вакцинации или вызывания иммунного ответа у пациента и к использованию
15 одного или более пептидных конъюгатов при изготовлении лекарственного средства для вакцинации или вызывания иммунного ответа у пациента.

Настоящим изобретением также предлагается способ активации TLR2 у пациента, включающий введение пациенту эффективного количества одного или более соединений пептидного конъюгата по изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или эффективного количества фармацевтического
20 состава по изобретению. Настоящим изобретением также предлагается использование одного или более соединений пептидного конъюгата в соответствии с изобретением или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или лекарственного препарата по изобретению при изготовлении лекарственного средства для активации
25 TLR2 у пациента и одного или более соединений пептидного конъюгата по изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или лекарственного препарата по изобретению для активации TLR2 у пациента. Активация TLR2 может стимулировать и/или вызывать иммунный ответ у пациента и, в некоторых вариантах осуществления, создавать иммунитет.

30 Предметом рассмотрения является введение или использование описанных здесь одного или более пептидов и/или одного или более пептидных конъюгатов, например одного или более пептидов, описанных здесь, вместе с одним или более пептидными конъюгатами для вакцинации или вызывания иммунного ответа у пациента.

35 Если вводятся или используются два или более пептидных конъюгата или один или более пептидов и один или более пептидных конъюгата, то два или более пептидных конъюгата или один или более пептидов и один или более пептидных конъюгатов

могут вводиться или использоваться одновременно, последовательно, или по отдельности.

«Пациент» относится к позвоночному млекопитающему, например человеку. Млекопитающие включают, не ограничиваясь: людей, сельскохозяйственных животных, животных используемых в спорте, домашних животных, приматов, мышей и крыс. Пациент может нуждаться в указанной вакцинации, вызывании иммунного ответа или активации TLR2.

«Эффективное количество» представляет собой количество, достаточное для получения целительных или требуемых результатов, включая клинические результаты. Эффективное количество вводится одним или несколькими различными путями введения.

Эффективное количество будет варьироваться в зависимости, среди прочих факторов, от обнаруженного заболевания, тяжести заболевания, возраста и относительного здоровья пациента, действенности вводимого соединения, способа введения и требуемого лечения. Специалист в данной области способен определить соответствующие дозировки с учетом любых других соответствующих факторов.

Эффективность композиции можно оценить как *in vitro*, так и *in vivo*. Например, композицию можно испытывать *in vitro* или *in vivo* на ее способность вызывать клеточно-опосредованный иммунный ответ. Для исследований *in vivo* композицию можно вводить животному (напр., мыши) или вводить его инъекцией, и затем оценивать ее влияние на вызывание иммунного ответа. На основании результатов можно определить соответствующий диапазон доз и путь введения.

Композицию можно вводить в виде разовой дозы или по схеме введения многократных доз. Схема введения многократных доз может использоваться в режиме первичной иммунизации и/или в режиме бустерной иммунизации.

В некоторых вариантах осуществления, вызывание иммунного ответа приводит к повышению или усилению иммунного ответа. В примерах осуществления, вызывание иммунного ответа активирует гуморальный и клеточно-опосредованный ответ.

В некоторых вариантах осуществления, вызывание иммунного ответа создает иммунитет.

Иммунный ответ вызывается для лечения заболевания или состояния. Специалисту в данной области техники очевидно, что описанные здесь пептидные конъюгаты полезны для лечения множества заболеваний и состояний, в зависимости, например, от природы антигенной детерминанты.

В некоторых вариантах осуществления, заболевания или состояния выбраны из тех из них, которые связаны с различными описанными здесь антигенами.

5 В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние представляет собой инфекционное заболевание, рак или повторное вирусное заболевание после трансплантации костного мозга или последующую индукцию глубокой иммуносупрессии связанную с любой другой причиной.

Используемый здесь термин «лечение» и связанные с ним термины, такие как «ход лечения» и «проведение лечения» относятся в целом к лечению человека или животного, у которых достигается требуемый терапевтический эффект.
10 Терапевтический эффект может представлять собой, например, ингибирование, снижение, аугментацию, прекращение или профилактику заболевания или состояния.

Композиции могут использоваться для вызывания общего и/или мукозного иммунитета. Повышенный общий и/или мукозный иммунитет отражается в усиленном иммунном ответе TH1 и/или TH2. Усиленный иммунный ответ может включать
15 увеличение продуцирования IgG1 и/или IgG2a, и/или IgA.

20

25

5

ПРИМЕРЫ

1. Пример 1

Данный пример описывает синтез диастереомерночистых аминокислотных конъюгатов **6A** и **6B**.

10 1.1 Получение и использование энантиомерночистых эпоксидов **102A** и **102B**

15 Диастереомерночистые аминокислотные конъюгаты **6A** и **6B** получают с использованием энантиомерночистого эпоксида **102A** или энантиомерноистого эпоксида **102B**, полученных стереоспецифически из энантиомерночистого исходного материала.

Энантиомерночистый эпоксид **102A** или энантиомерночистый эпоксид **102B** получали из L-аспарагиновой кислоты и D-аспарагиновой кислоты, соответственно, следуя процедуре, описанной в работе Volkman, R. A. et al. *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 4352-4361 для получения R-2-гидроксиэтилоксирана (**102A**) из L-аспарагиновой кислоты.

20 (S)-2-бромянтарная кислота

К раствору бромида натрия (15,46 г, 150,24 ммоль) в 6N H₂SO₄ (33 мл) при 0 °C добавляли L-аспарагиновую кислоту (5,00 г, 37,56 ммоль). К полученной смеси порциями добавляли нитрит натрия (3,11 г, 45,07 ммоль) в течение 90 минут. Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение еще 2 часов. Затем смесь
25 разбавляли H₂O (17 мл) и экстрагировали Et₂O (100 мл). Водный слой разбавляют соляным раствором (20 мл), а затем экстрагируют Et₂O (3 × 100 мл). Объединенные органические экстракты сушат над безводным Na₂SO₄ и концентрируют в вакууме, получая (S)-2-бромянтарную кислоту (2,98 г, 41%) в виде белого твердого вещества. Неочищенный продукт использовали на последующих стадиях синтеза без
30 дополнительной очистки. $[\alpha]_D^{19,7}$ -71,5 (с 0,46 в EtOAc) (lit -73,5 (с 6,0 в EtOAc); δ_H (400 МГц; DMSO) 12,8 (2H, br s, 2 × CO₂H), 4,54 (1H, dd, J = 8,5, 6,4 Гц, H-1), 3,10

(1H, dd, $J = 17.2, 8.6$ Гц, H-2), 2,90 (1H, dd, $J = 17.1, 6.4$ Гц, H-2); δ_c (100 МГц; DMSO) 171,0 (C, CO₂H), 170,1 (C, CO₂H), 40,5 (CH, C-1), 39,5 (CH₂, C-2). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

(R)-2-бромянтарная кислота

- 5 (R)-2-бромянтарную кислоту получали следуя процедуре, описанной выше для получения (S) -2-бромянтарной кислоты, но используя D-аспарагиновую кислоту вместо L-аспарагиновой кислоты. $[\alpha]_D^{20,2} +66,5$ (с 0,2 в EtOAc). Остальные спектроскопические данные были идентичны данным, которые наблюдались для (S)-2-бромянтарной кислоты.

10 **(S)-2-бromo-1,4-бутандиол**

- К раствору (S)-2-бромянтарной кислоты (2,98 г, 15,20 ммоль) в THF (35 мл) при -78 °C по каплям добавляли комплекс BH₃ • DMS (4,33 мл, 45,61 ммоль) в течение 90 минут. Реакционную смесь перемешивали при -78 °C в течение 2 часов, а затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 60 часов. Затем реакционную смесь охлаждали до 0 °C и медленно добавляли MeOH (15 мл). Затем смесь концентрировали *в вакууме*, а остаток разбавляли MeOH (15 мл). Этот процесс повторяли 3 раза и получали 2-бром-1,4-бутандиол (2,55 г, кол.) в виде желтого масла. Неочищенный продукт использовали на последующих стадиях синтеза без дополнительной очистки. $[\alpha]_D^{19,6} -36,8$ (с 0,5 в CHCl₃); δ_H (400 МГц, CDCl₃) 4,34 (1H, dq, $J = 7,7, 5,3$ Гц, H-2), 3,92-3,78 (4H, m, H-1, H-4), 2,40 (2H, br s, 2 × OH), 2,20-2,06 (2H, m, H-3); δ_c (100 МГц; CDCl₃) 67,1 (CH₂, C-1), 60,1 (CH₂, C-4), 55,2 (CH, C-2), 37,8 (CH₂, C-3). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

(R)-2-бromo-1,4-бутандиол

- 25 (R)-2-бromo-1,4-бутандиол получали, следуя процедуре, описанной выше для получения (S) -2-бromo-1,4-бутандиола, но используя (R)-2-бромянтарную кислоту вместо (S)-2-бромянтарной кислоты. $[\alpha]_D^{21,3} +20,0$ (с 0,17 в CHCl₃). Остальные спектроскопические данные были идентичны данным, которые наблюдались для (S)-2-бromo-1,4-бутандиола.

30 **(R)-2-гидроксиэтилоксиран (102A)**

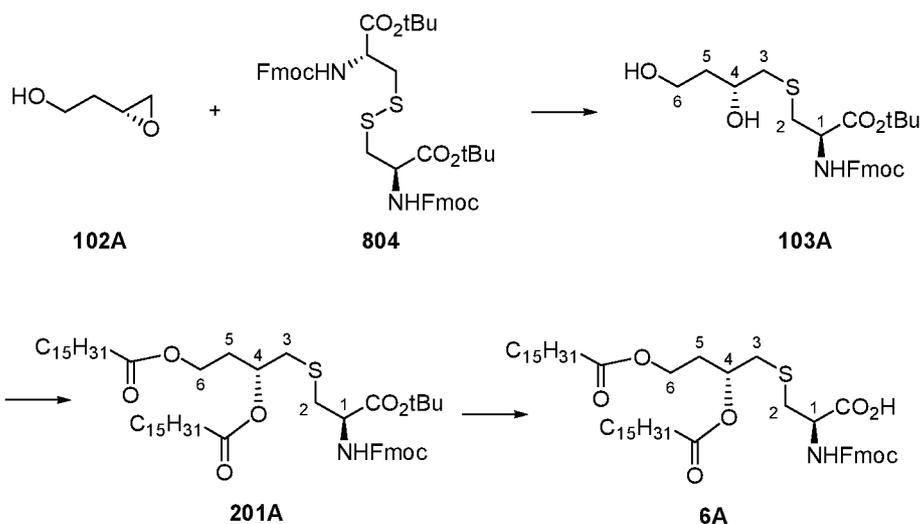
К раствору (S)-2-бromo-1,4-бутандиола (2,31 г, 13,76 ммоль) в CH₂Cl₂ (46 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (8,74 г, 24,77 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 72 ч. Затем реакционную смесь фильтровали через слой Celite® и концентрировали *в вакууме*, получая (R)-2-

гидроксиэтилоксиран (102A) в виде желтого масла с количественно оцениваемой глубиной превращения. Неочищенный продукт использовали на последующих стадиях синтеза без дополнительной очистки. $[\alpha]_D^{22,9} +35,0$ (с 0,61 в CHCl_3); δ_{H} (400 МГц; CDCl_3) 3,83-3,79 (2H, m, H-1), 3,12-3,08 (1H, m, H-3), 2,81 (1H, dd, $J = 4,8, 4,1$ Гц, H-4), 2,60 (1H, dd, $J = 4,8, 2,8$ Гц, H-4), 2,03-1,95 (1H, m, H-2), 1,78 (1H, t, $J = 5,4$ Гц, OH), 1,71 (1H, dq, $J = 14,6, 5,9$ Гц, H-2); δ_{C} (100 МГц; CDCl_3) 60,0 (CH_2 , C-1), 50,5 (CH, C-3), 46,5 (CH_2 , C-4), 34,6 (CH_2 , C-2). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

(S)-2-гидроксиэтилоксиран (102B)

10 (S)-2-гидроксиэтилоксиран (**102B**) получали, следуя процедуре, описанной выше для получения (R)-2-гидроксиэтилоксирана (**102A**), но используя (R)-2-бromo-1,4-бутандиол вместо (S)-2-бromo-1,4-бутандиола. $[\alpha]_D^{22,9} -35,2$ (с 0,23 в CHCl_3). Остальные спектроскопические данные были идентичны данным, которые наблюдались для (S)-2-бromo-1,4-бутандиола.

15 Получение диастереомерночистого 6A



К перемешиваемому раствору дисульфида **804** (1,59 г, 2,06 ммоль) в CH_2Cl_2 (10 мл) при 0 °С добавляли порошок цинка (0,94 г, 14,42 ммоль) и свежеприготовленную смесь метанола, конц. соляной кислоты и конц. серной кислоты (100:7:1, 5 мл).

20 Полученную смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 мин, после чего добавляли эпоксид **102A** (0,73 г, 8,24 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 55 °С или нагревали с обратным холодильником при 70 °С в течение 17 часов. Затем смесь разбавляли CH_2Cl_2 (30 мл), фильтровали через слой Celite® и промывали соляным раствором (50 мл). Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (3 × 50 мл) и объединенные

25 органические экстракты сушили над безводным MgSO_4 и концентрировали в вакууме.

Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 1:3) и получали **103A** (1,72 г, 88%) в виде бесцветного масла.

R_f 0,15 (гексан-EtOAc 1:3); **[α]_D^{20,2}** -3,5 (с 0,32 в CHCl₃); **v_{max}**(безпримесный)/cm⁻¹ 3347, 2976, 1703, 1518, 1449, 1413, 1369, 1335, 1249, 1151; **δ_H** (400 МГц; CDCl₃) 7,77 (2H, d, *J* = 7,5, FmocH), 7,61 (2H, d, *J* = 7,2 Гц, FmocH), 7,40 (2H, t, *J* = 7,4 Гц, FmocH), 7,32 (2H, t, *J* = 7,5 Гц, FmocH), 5,81 (1H, d, *J* = 8,0 Гц, NH), 4,53-4,50 (1H, m, H-1), 4,40 (2H, d, *J* = 6,8 Гц, FmocCH₂), 4,23 (1H, t, *J* = 7,0 Гц, FmocCH), 3,94-3,88 (1H, m, H-4), 3,85-3,81 (2H, m, H-6), 3,03 (1H, dd, *J* = 14,0, 4,2 Гц, H-2), 2,94 (1H, dd, *J* = 14,3, 6,1 Гц, H-2), 2,82 (1H, dd, *J* = 14,0, 2,9 Гц, H-3), 2,56 (1H, dd, *J* = 14,0, 9,0 Гц, H-3), 1,74-1,71 (1H, m, H-5), 1,50 (9H, s, C(CH₃)₃); **δ_C** (100 МГц; CDCl₃) 169,7 (C, COOtBu), 156,0 (C, C(O)Fmoc), 143,6 (C, Fmoc), 141,0 (C, Fmoc), 127,5 (CH, Fmoc), 126,9 (CH, Fmoc), 125,0 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 82,6 (C, C(CH₃)₃), 69,5 (CH, C-4), 67,2 (CH₂, FmocCH₂), 60,2 (CH₂, C-6), 54,5 (CH, C-1), 46,9 (CH, FmocCH), 40,5 (CH₂, C-3), 37,5 (CH₂, C-5), 35,2 (CH₂, C-2), 27,8 (3 × CH₃, C(CH₃)₃); **HRMS** (ESI+) [M + Na]⁺ 510,1921 рассчитано для C₂₆H₃₃NNaO₆S 510,1921.

Синтез соединения 6A (Процедура A):

К перемешиваемому раствору диола **103A** (1,52 г, 3,12 ммоль) и пальмитиновой кислоты (2,40 г, 9,35 ммоль) в THF (45 мл) при комнатной температуре добавляли N,N'-диизопропилкарбодиимид (1,93 мл, 12,46 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (0,04 г, 0,31 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 19 часов. Затем смесь фильтровали через слой Celite®, разбавляли EtOAc (50 мл), промывали 1M водн. раств. лимонной кислоты (30 мл) и соляным раствором (30 мл) и концентрировали *в вакууме*. Затем остаток повторно растворяли в TFA (3 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь снова концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 9:1 → 0:1) и получали *указанное в заголовке* соединение **6A** (1,98 г, 70%) в виде бесцветного масла. **[α]_D^{23,9}** +8,4 (с 0,44 в CHCl₃); **v_{max}**(безпримесный)/cm⁻¹ 2922, 2852, 1733, 1525, 1450, 1168, 1110; ¹H NMR (400 МГц, CDCl₃) δ 7,75 (2H, d, *J* = 7,5 Гц), 7,61 (2H, d, *J* = 7,2 Гц), 7,38 (2H, t, *J* = 7,4 Гц), 7,30 (2H, t, *J* = 7,4 Гц), 5,89 (1H, d, *J* = 7,8 Гц), 5,13-5,06 (1H, m), 4,69-4,63 (1H, m), 4,39 (2H, d, *J* = 6,5 Гц), 4,23 (1H, t, *J* = 7,0 Гц), 4,16-4,06 (2H, m), 3,16 (1H, dd, *J* = 13,8, 4,0 Гц), 3,03 (1H, dd, *J* = 13,8, 6,1 Гц), 2,81-2,70 (2H, m), 2,33-2,26 (4H, m), 2,10-1,89 (2H, m), 1,60-1,58 (4H, m), 1,35-1,20 (48H, m), 0,89 (6H, t, *J* = 6,8 Гц); ¹³C NMR (100 МГц, CDCl₃) δ 174,0, 173,6, 156,0, 143,6, 141,2, 127,6, 127,0, 125,1, 120,0, 69,5, 67,3, 60,3, 53,6, 47,0, 36,3, 34,5, 34,3, 34,1, 32,0, 31,8, 29,6, 29,4, 29,3, 29,2, 29,1, 25,0, 22,6, 14,0; **HRMS** (ESI+) [M + H]⁺ 908,6069 рассчитано для C₅₄H₈₆NO₆S 908,6065, [M + Na]⁺ 930,5888 рассчитано для C₅₄H₈₅NNaO₈S 930,5875.

Синтез соединения **6A** (Процедура B):

Диастереомерночистый диол **103A** также превращали в диастереомерночистый конъюгат **6A** следуя процедурам, аналогичным репрезентативным процедурам, описанным ниже.

5 Репрезентативная процедура превращения **103A** в **201A**

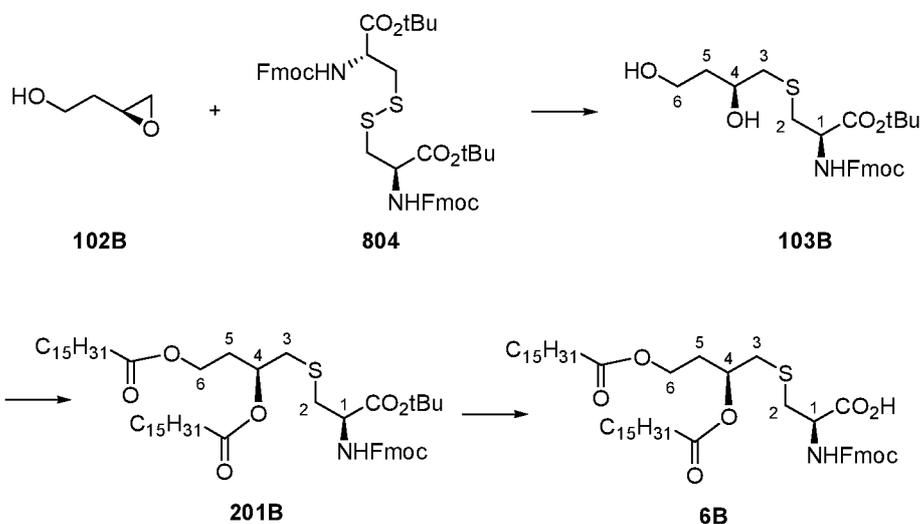
К перемешиваемому раствору диола **103A** (0,327 г, 0,67 ммоль) и пальмитиновой кислоты (0,516 г, 2,01 ммоль) в THF (9 мл) при комнатной температуре добавляют диизопропилкарбодиимид (0,414 мл, 2,68 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (0,01 г, 0,07 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 19 часов. Затем смесь разбавляют EtOAc (30 мл), фильтруют через слой Celite® и концентрируют *in vacuo*. Неочищенный продукт очищают колоночной флэш-хроматографией (CH₂Cl₂) и получают **201A** в виде желтого масла.

Репрезентативная процедура превращения **201A** в **6A**

Раствор сложного диэфира **201A** (0,35 г, 0,364 ммоль) в трифторуксусной кислоте (2 мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 1 часа, после чего смесь концентрируют *in vacuo*. Неочищенный продукт очищают колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 9:1 → 0:1) и получают **6A** в виде бесцветного масла.

Соединение Fmoc-Cys-OH описывается в литературе: H.-K. Cui, Y. Guo, Y. He, F.-L. Wang, H.-H. Chang, Y. J. Wang, F.-M. Wu, C.-L. Tian, L. Lu, *Angew. Chem. Int. Eng.*, **2013**, 52(36), 9558-9562.

Получение диастереомерночистого **6B**



Синтез соединения **103B**:

К перемешиваемому раствору дисульфида **804** (2,01 г, 2,53 ммоль) в CH₂Cl₂ (14 мл) при 0 °С добавляли порошок цинка (1,15 г, 17,51 ммоль) и свежеприготовленную смесь метанола, конц. соляной кислоты и конц. серной кислоты (100:7:1, 7 мл). Полученную смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 мин, после чего добавляли

5 эпоксид **102B** (0,89 г, 10,11 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 55 °С или нагревали с обратным холодильником при 70 °С в течение 17 часов. Затем смесь разбавляли CH₂Cl₂ (30 мл), фильтровали через слой Celite® и промывали соляным раствором (50 мл). Водный слой экстрагировали CH₂Cl₂ (3 × 50 мл) и объединенные органические экстракты сушили над безводным MgSO₄ и концентрировали *в вакууме*.

10 Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 3:1) и получали **103B** (2,17 г, 88%) в виде бесцветного масла.

R_f 0,15 (гексан-EtOAc 1:3); **[α]_D²²** +8,5 (с 0,3 в CHCl₃); **v_{max}**(безпримесный)/cm⁻¹ 3347, 2976, 1703, 1518, 1449, 1413, 1369, 1335, 1249, 1151; **δ_H** (400 МГц; CDCl₃) 7,77 (2H, d, *J* = 7,5 Гц, FmocH), 7,61 (2H, d, *J* = 7,4 Гц, FmocH), 7,40 (2H, t, *J* = 7,4 Гц, FmocH),

15 7,32 (2H, t, *J* = 7,5 Гц, FmocH), 5,74 (1H, d, *J* = 7,0 Гц, NH), 4,51-4,47 (1H, m, H-1), 4,42-4,39 (2H, m, FmocCH₂), 4,24 (1H, t, *J* = 7,0 Гц, FmocCH), 3,93 (1H, br s, H-4), 3,85-3,81 (2H, m, H-6), 3,31 (1H, br s, OH-4), 3,00-2,78 (2H, m, H-2), 2,80 (1H, dd, *J* = 13,5, 3,2 Гц, H-3), 2,55 (1H, dd, *J* = 13,8, 8,4, Гц, H-3), 2,36 (1H, br s, OH-6) 1,73 (2H, q, *J* = 5,3, H-5), 1,50 (9H, s, C(CH₃)₃); **HRMS δ_c** (100 МГц; CDCl₃) 169,8 (C, COOtBu), 156,1 (C, C(O)Fmoc), 143,8 (C, Fmoc), 141,3 (C, Fmoc), 127,7 (CH, Fmoc), 127,1 (CH, Fmoc),

20 125,1 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 83,0 (C, C(CH₃)₃), 69,9 (CH, C-4), 67,2 (CH₂, FmocCH₂), 60,7 (CH₂, C-6), 54,7 (CH, C-1), 47,1 (CH, FmocCH), 40,9 (CH₂, C-3), 37,6 (CH₂, C-5), 35,5 (CH₂, C-2), 28,0 (3 × CH₃, C(CH₃)₃); **HRMS (ESI+)** [M + Na]⁺ 510,1921 рассчитано для C₂₆H₃₃NNaO₆S 510,1921.

25 *Синтез соединения **6B** (Процедура А):*

К перемешиваемому раствору диола **103B** (1,68 г, 3,44 ммоль) и пальмитиновой кислоты (2,65 г, 10,31 ммоль) в THF (50 мл) при комнатной температуре добавляли N,N'-диизопропилкарбодиимид (2,13 мл, 13,75 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (0,04 г, 0,34 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в

30 течение 19 часов. Затем смесь фильтровали через слой Celite®, разбавляли EtOAc (50 мл), промывали 1M водн. раств. лимонной кислоты (30 мл) и соляным раствором (30 мл) и концентрировали *в вакууме*. Затем остаток повторно растворяли в TFA (3 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь снова концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-

35 хроматографией (гексан-EtOAc, 9:1 → 0:1) и получали *указанное в заголовке соединения **6B*** (2,02 г, 65%) в виде бесцветного масла. **[α]_D^{23,4}** -4,0 (с 0,2 в CHCl₃); **v_{max}**(безпримесный)/cm⁻¹ 2922, 2852, 1733, 1525, 1450, 1168, 1110; ¹H NMR (400 МГц,

CDCl₃) δ 7,75 (2H, d, J = 7,5 Гц), 7,61 (2H, d, J = 7,4 Гц), 7,39 (2H, t, J = 7,4 Гц), 7,40 (2H, t, J = 7,4 Гц), 5,86 (1H, d, J = 7,5), 5,13-5,03 (1H, m), 4,72-4,62 (1H, m), 4,40 (2H, d, J = 6,9 Гц), 4,24 (1H, t, J = 7,0 Гц), 4,11 (2H, t, J = 6,5 Гц), 3,14 (1H, dd, J = 12,9, 3,5 Гц), 3,08 (1H, dd, J = 13,8, 4,4 Гц), 2,82-2,69 (2H, m), 2,31-2,26 (4H, m), 2,10-1,87 (2H, m), 1,65-1,54 (4H, m), 1,33-1,22 (48H, m), 0,89 (6H, t, J = 6,8 Гц); ¹³C NMR (100 МГц, CDCl₃) δ 174,1, 173,7, 155,0, 143,7, 141,3, 127,8, 127,1, 125,2, 120,0, 69,7, 67,5, 60,5, 53,7, 47,1, 36,5, 34,8, 34,4, 34,3, 32,2, 32,0, 29,8, 29,7, 29,6, 29,4, 29,2, 25,0, 22,8, 14,1; **HRMS** (ESI+) [M + H]⁺ 908,6069 рассчитано для C₅₄H₈₆NO₆S 908,6065, [M + Na]⁺ 930,5888 рассчитано для C₅₄H₈₅NNaO₈S 930,5875.

10 **Синтез соединения 6B (Процедура B):**

Диастереомерночистый диол **103B** также превращали в диастереомерночистый конъюгат **6B** следуя процедурам, аналогичным репрезентативным процедурам, описанным ниже.

Репрезентативная процедура превращения 103B в 201B

15 К перемешиваемому раствору диола **103B** (0,327 г, 0,67 ммоль) и пальмитиновой кислоты (0,516 г, 2,01 ммоль) в THF (9 мл) при комнатной температуре добавляют диизопропилкарбодиимид (0,414 мл, 2,68 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (0,01 г, 0,07 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 19 часов. Затем смесь разбавляют EtOAc (30 мл), фильтруют через слой Celite® и
20 концентрируют *в вакууме*. Неочищенный продукт очищают колоночной флэш-хроматографией (CH₂Cl₂) и получают **201B** в виде желтого масла.

Репрезентативная процедура превращения 201B в 6B

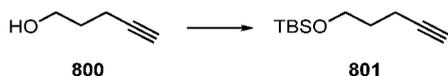
25 Раствор сложного диэфира **201B** (0,35 г, 0,364 ммоль) в трифторуксусной кислоте (2 мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 1 часа, после чего смесь концентрируют *в вакууме*. Неочищенный продукт очищают колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 9:1 → 0:1) и получают **6B** в виде бесцветного масла.

2. Пример 2

Данный пример описывает синтез аминокислотных конъюгатов из различных исходных материалов

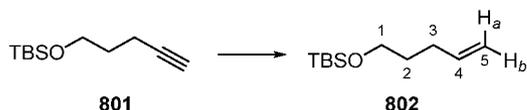
30 **7.1 Синтез аминокислотного конъюгата 806 из спирта 800**

Стадия i



К перемешиваемому раствору 4-пентин-1-ола **800** (5 мл, 53,72 ммоль) в CH_2Cl_2 (150 мл) при комнатной температуре добавляли имидазол (3,66 г, 53,72 ммоль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (8,10 г, 53,72 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Затем смесь разбавляли Et_2O (200 мл) и промывали водой (3 × 100 мл) и соляным раствором (100 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали фильтрованием через силикагель и получали **801** (10,64 г, кол.) в виде бесцветной жидкости. Алкин **801** использовался на последующих этапах синтеза без описания свойств.

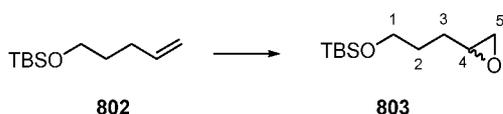
Стадия ii



К перемешиваемому раствору алкина **801** (14,08 г, 70,00 ммоль) в гексане (150 мл) при комнатной температуре добавляли хинолин (11,75 мл, 100,00 ммоль) и катализатор Линдара (1,408 г). Реакционную смесь соединяли с баллоном, заполненным H_2 (1 атм), и перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Затем смесь фильтровали через слой Celite® и концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир- EtOAc , 9:1) и получали **802** (14,09 г, 99%) в виде бесцветного масла.

\mathbf{R}_f 0,88 (петролейный эфир- EtOAc 9:1); δ_{H} (400 МГц; CDCl_3) 5,82 (1H, ddt, $J = 17,0, 10,2, 6,7$ Гц, H-4), 5,02 (1H, d, $J = 17,1$ Гц, H_a -5), 4,95 (1H, d, $J = 10,4$ Гц, H_b -5), 3,62 (2H, t, $J = 6,5$ Гц, H-1), 2,10 (2H, q, $J = 7,2$ Гц, H-3), 1,61 (2H, p, $J = 7,0$ Гц, H-2), 0,90 (9H, s, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,05 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); δ_{C} (100 МГц; CDCl_3) 138,6 (CH, C-4), 114,5 (CH₂, C-5), 62,6 (CH₂, C-1), 32,0 (CH₂, C-2), 30,5 (CH₂, C-3), 26,0 (3 × CH₃, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18,4 (C, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -5,3 (2 × CH₃, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

Стадия iii



К перемешиваемому раствору алкена **802** (8,646 г, 43,16 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл) при комнатной температуре добавляли *m*CPBA (8,191 г, 47,47 ммоль). Реакционную смесь

перемешивали при комнатной температуре в течение 15 часов. Затем смесь фильтровали через Celite®, разбавляли Et₂O (100 мл) и промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ (3 × 100 мл) и соляным раствором (100 мл). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир-EtOAc, 9:1) и получали **803** (8,09 г, 87%) в виде бесцветного масла.

R_f 0,51 (петролейный эфир-EtOAc 9:1); **δ_H** (400 МГц; CDCl₃) 3,70-3,60 (2H, m, H-1), 2,96-2,92 (1H, m, H-4), 2,75 (1H, dd, *J* = 5,0, 4,0 Гц, H-5), 2,47 (1H, dd, *J* = 5,0, 2,8 Гц, H-5), 1,73-1,53 (4H, m, H-2, H-3), 0,89 (9H, s, SiC(CH₃)₃), 0,04 (6H, s, Si(CH₃)₂); **δ_C** (100 МГц; CDCl₃) 62,7 (CH₂, C-1), 52,2 (CH, C-4), 47,1 (CH₂, C-5), 29,1 (CH₂, C-2), 29,0 (CH₂, C-3), 25,9 (3 × CH₃, SiC(CH₃)₃), 18,3 (C, SiC(CH₃)₃), -5,3 (2 × CH₃, Si(CH₃)₂). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

Стадия iv

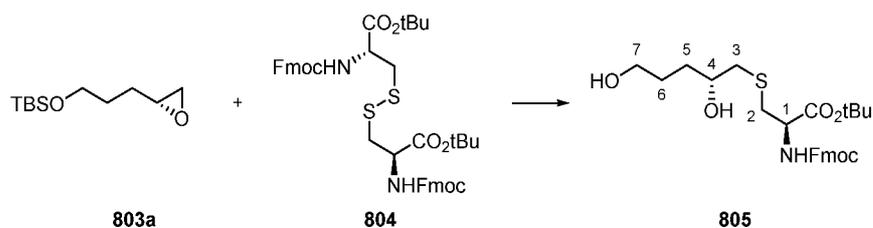


К перемешиваемому раствору рацемического эпоксида **803** (8,272 г, 38,24 ммоль), (R,R)-(+)-N,N'-бис-3,5-ди-трет-бутилсалицилиден-1,2-циклогександиаминокобальта (II) (0,121 г, 0,19 ммоль) и ледяной уксусной кислоты (0,04 мл, 0,76 ммоль) в THF (0,35 мл) при 0 °C и по каплям добавляли воду (0,38 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов. Затем смесь концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир-EtOAc, 9:1) и получали **803a** (4,12 г, 49%) в виде желтого масла.

R_f 0,51 (петролейный эфир-EtOAc 9:1); **[α]_D^{21,4}** +4,65 (с 1,15 в CHCl₃); **δ_H** (400 МГц; CDCl₃) 3,61 (2H, t, *J* = 6,0 Гц, H-1), 2,93-2,88 (1H, m, H-4), 2,74 (1H, dd, *J* = 5,0, 4,0 Гц, H-5), 2,46 (1H, dd, *J* = 5,0, 3,0 Гц, H-5), 1,63-1,46 (4H, m, H-2, H-3), 0,89 (9H, s, SiC(CH₃)₃), 0,04 (6H, s, Si(CH₃)₂); **δ_C** (100 МГц; CDCl₃) 63,0 (CH₂, C-1), 52,3 (CH, C-4), 47,1 (CH₂, C-5), 32,6 (CH₂, C-2), 32,3 (CH₂, C-3), 26,0 (3 × CH₃, SiC(CH₃)₃), 18,4 (C, SiC(CH₃)₃), -5,3 (2 × CH₃, Si(CH₃)₂). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

30

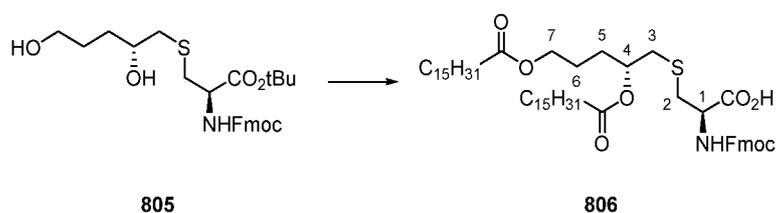
Стадия v



К перемешиваемому раствору дисульфида **804** (0,751 г, 0,94 ммоль), который имеется в продаже, в CH_2Cl_2 (5 мл) при 0 °С добавляли порошок цинка (0,508 г, 7,78 ммоль) и свежеприготовленную смесь метанола, конц. соляной кислоты и конц. серной кислоты (100:7:1, 2 мл). Полученную смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 мин. Затем смесь перемешивали при 70 °С или 65 °С в течение 5 минут, после чего добавляли эпоксид **803a** (0,839 г, 3,88 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 65 °С в течение 19 часов. Затем смесь разбавляли EtOAc (50 мл), фильтровали через слой Celite® и промывали соляным раствором (50 мл). Водный слой экстрагировали EtOAc (3 × 50 мл) и объединенные органические экстракты сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 1:3) и получали **805** (0,568 г, 60%) в виде бесцветного масла.

R_f 0,34 (гексан-EtOAc 1:3); $[\alpha]_D^{21,0}$ -26,7 (с 0,03 в CHCl_3); ν_{max} (безпримесный)/ cm^{-1} 3321, 2931, 1706, 1532, 1450, 1369, 1248, 1152, 1050; δ_{H} (400 МГц; CHCl_3) 7,76 (2H, d, $J = 7,5$ Гц, FmocH), 7,61 (2H, d, $J = 7,2$ Гц, FmocH), 7,40 (2H, t, $J = 7,4$ Гц, FmocH), 7,31 (2H, t, $J = 7,4$ Гц, FmocH), 5,90 (1H, d, $J = 7,8$ Гц, NH), 4,51 (1H, dd, $J = 12,3, 5,2$ Гц, H-1), 4,39 (2H, d, $J = 7,1$ Гц, FmocCH₂), 4,23 (1H, t, $J = 7,1$ Гц, FmocCH), 3,73-3,58 (3H, m, H-4, H-7), 3,03 (1H, dd, $J = 13,9, 4,4$ Гц, H-2), 2,95 (1H, dd, $J = 13,9, 5,7$ Гц, H-2), 2,80 (1H, dd, $J = 13,6, 2,9$ Гц, H-3), 2,53 (1H, dd, $J = 13,6, 8,9$ Гц, H-3), 1,72-1,61 (4H, m, H-5, H-6), 1,49 (9H, s, C(CH₃)₃); δ_{C} (100 МГц; CHCl_3) 169,8 (C, CO₂tBu), 156,1 (C, FmocCO), 143,9 (C, Fmoc), 141,1 (C, Fmoc), 127,9 (CH, Fmoc), 127,2 (CH, Fmoc), 125,3 (CH, Fmoc), 120,1 (CH, Fmoc), 83,2 (C, C(CH₃)₃), 70,1 (CH, C-4), 67,3 (CH₂, FmocCH₂), 62,8 (CH₂, C-7), 54,7 (CH, C-1), 47,2 (CH, FmocCH), 41,2 (CH₂, C-3), 35,5 (CH₂, C-2), 33,4 (CH₂, C-5), 29,2 (CH₂, C-6), 28,1 (3 × CH₃, C(CH₃)₃); **HRMS** (ESI+) $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 524,2077 рассчитано для C₂₇H₃₅NNaO₆S 524,2075.

Стадия vi

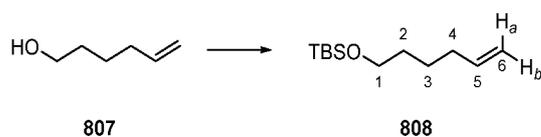


К перемешиваемому раствору диола **805** (0,114 г, 0,243 ммоль) и пальмитиновой кислоты (0,180 г, 0,702 ммоль) в THF (3 мл) при комнатной температуре добавляли N,N'-диизопропилкарбодиимид (0,145 мл, 0,936 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (0,011 г, 0,094 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 часов. Затем смесь фильтровали через слой Celite®, разбавляли EtOAc (30 мл), промывали 1М водн. раств. лимонной кислоты (30 мл) и соляным раствором (30 мл) и концентрировали *in vacuo*. Затем остаток повторно растворяли в TFA (3 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 45 мин. Реакционную смесь снова концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 9:1 → 0:1) и получали **806** (0,220 г, 98%) в виде бесцветного масла.

R_f 0,15 (петролейный эфир-EtOAc 1:1); $[\alpha]_D^{21,3} +10,0$ (с 0,08 в $CHCl_3$); ν_{max} (безпримесный)/ cm^{-1} 2919, 2851, 1723, 1521, 1521, 1221, 1108, 1054; δ_H (400 МГц; $CHCl_3$) 7,76 (2H, d, $J = 7,5$ Гц, FmocH), 7,62 (2H, d, $J = 7,4$ Гц, FmocH), 7,39 (2H, t, $J = 7,4$ Гц, FmocH), 7,30 (2H, td, $J = 11,2, 0,9$ Гц, FmocH), 5,78 (1H, d, $J = 7,6$ Гц, NH), 5,04-4,95 (1H, m, H-4), 4,60 (1H, dd, $J = 12,2, 5,2$ Гц, H-1), 4,38 (2H, d, $J = 7,2$ Гц, FmocCH₂), 4,24 (2H, t, $J = 7,1$ Гц, FmocCH), 4,13-3,99 (2H, m, H-7), 3,16 (1H, dd, $J = 13,9, 4,5$ Гц, H-2), 3,04 (1H, dd, $J = 14,0, 5,3$ Гц, H-2), 2,78-2,70 (2H, m, H-3), 2,34-2,25 (4H, m, 2 × PамCH₂αалкил), 1,74-1,56 (8H, m, 2 × PамCH₂βалкил, H-5, H-6), 1,32-1,22 (48H, m, 24 × PамCH₂alkyl), 0,88 (6H, t, $J = 6,9$ Гц, 2 × PамCH₃алкил); δ_C (100 МГц; $CHCl_3$) 174,3 (C, CO₂H), 174,0 (C, PамCO₂), 173,5 (C, PамCO₂), 156,0 (C, FmocCO), 143,7 (C, Fmoc), 141,3 (C, Fmoc), 127,8 (CH, Fmoc), 127,1 (CH, Fmoc), 121,2 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 72,1 (CH, C-4), 67,5 (CH₂, FmocCH₂), 63,8 (CH₂, C-7), 53,6 (CH, C-1), 47,1 (CH, FmocCH), 36,5 (CH₂, C-3), 34,6 (CH₂, PамCH₂αалкил), 34,5 (CH₂, PамCH₂αалкил), 34,3 (CH₂, C-2), 31,9 (2 × CH₂, PамCH₂алкил), 29,7-29,2 (21 × CH₂, PамCH₂алкил, C-5), 25,0 (2 × CH₂, PамCH₂βалкил), 24,6 (CH₂, C-6), 22,7 (2 × CH₂, PамCH₂алкил), 14,1 (2 × CH₃, PамCH₃алкил); **HRMS** (ESI+) $[M + Na]^+$ 944,6045 рассчитано для C₅₅H₈₇NNaO₈S 944,6028.

30 7.1.2 Синтез аминокислотного конъюгата **811** из спирта **807**

Стадия *i*

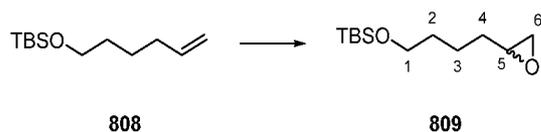


К перемешиваемому раствору 5-гексен-1-ола **807** (5 мл, 41,64 ммоль) в CH_2Cl_2 (150 мл) при комнатной температуре добавляли имидазол (2,86 г, 43,06 ммоль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (6,34 г, 42,06 ммоль). Реакционную смесь перемешивали

при комнатной температуре в течение 19 часов. Затем смесь разбавляли EtOAc (400 мл), промывали водой (200 мл) и соляным раствором (200 мл), и сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир) и получали **808** (8,846 г, кол.) в виде бесцветного масла.

R_f 0,90 (петролейный эфир-EtOAc 9:1); **δ_H** (400 МГц; CDCl₃) 5,81 (1H, ddt, *J* = 17,1, 10,1, 6,7 Гц, H-5), 5,00 (1H, dq, *J* = 17,2, 1,7 Гц, H_a-6), 4,94 (1H, d, *J* = 10,5 Гц, H_b-6), 3,61 (2H, t, *J* = 6,2 Гц, H-1), 2,06 (2H, q, *J* = 7,1 Гц, H-4), 1,59-1,50 (2H, m, H-2), 1,47-1,39 (2H, m, H-3), 0,89 (9H, s, SiC(CH₃)₃), 0,05 (6H, s, Si(CH₃)₂); **δ_C** (100 МГц; CDCl₃) 139,0 (CH, C-5), 114,3 (CH₂, C-6), 63,1 (CH₂, C-1), 33,5 (CH₂, C-4), 32,3 (CH₂, C-2), 26,0 (3 × CH₃, SiC(CH₃)₃), 25,2 (CH₂, C-3), 18,4 (C, SiC(CH₃)₃), -5,3 (2 × CH₃, Si(CH₃)₂). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

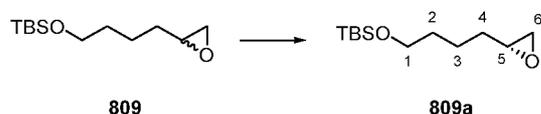
Стадия ii



К перемешиваемому раствору алкена **808** (7,58 г, 35,35 ммоль) в CH₂Cl₂ (150 мл) при комнатной температуре порциями добавляли *m*CPBA (9,15 г, 53,05 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. Затем смесь разбавляли Et₂O (200 мл), фильтровали через слой Celite[®], промывали 2М водным раствором NaOH (200 мл) и соляным раствором (200 мл), сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир-EtOAc, 9:1) и получали **809** (6,91 г, 85%) в виде бесцветного масла.

R_f 0,60 (петролейный эфир-EtOAc 9:1); **δ_H** (400 МГц; CDCl₃) 3,61 (2H, t, *J* = 6,0 Гц, H-1), 2,93-2,88 (1H, m, H-5), 2,74 (1H, dd, *J* = 5,0, 4,0 Гц, H-6), 2,46 (1H, dd, *J* = 5,0, 3,0 Гц, H-6), 1,63-1,46 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0,89 (9H, s, SiC(CH₃)₃), 0,04 (6H, s, Si(CH₃)₂); **δ_C** (100 МГц; CDCl₃) 63,0 (CH₂, C-1), 52,3 (CH, C-5), 47,1 (CH₂, C-6), 32,6 (CH₂, C-4), 32,3 (CH₂, C-2), 26,0 (3 × CH₃, SiC(CH₃)₃), 22,3 (CH₂, C-3), 18,4 (C, SiC(CH₃)₃), -5,3 (2 × CH₃, Si(CH₃)₂). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

30 Стадия iii



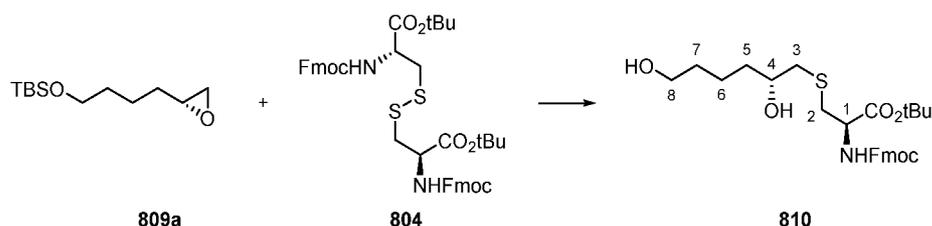
К перемешиваемому раствору рацемического эпоксида **809** (5,887 г, 25,56 ммоль), (R,R)-(+)-N,N'-бис-3,5-ди-трет-бутилсалицилиден-1,2-циклогександиаминокобальта (II) (0,083 г, 0,13 ммоль) и ледяной уксусной кислоты (0,03 мл, 0,51 ммоль) в THF (0,3 мл) при 0 °С и по каплям добавляли воду (0,253 мл). Реакционную смесь

5 перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов. Затем смесь концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир-EtOAc, 9:1) и получали **809a** (2,913 г, 49%) в виде желтого масла.

R_f 0,60 (петролейный эфир-EtOAc 9:1); **[α]_D^{20,4}** +5,0 (с 0,02 в CHCl₃); **δ_H** (400 МГц; CDCl₃) 3,61 (2H, t, *J* = 6,0 Гц, H-1), 2,93-2,88 (1H, m, H-5), 2,74 (1H, dd, *J* = 5,0, 4,0 Гц, H-6), 2,46 (1H, dd, *J* = 5,0, 3,0 Гц, H-6), 1,63-1,46 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0,89 (9H, s, SiC(CH₃)₃), 0,04 (6H, s, Si(CH₃)₂); **δ_C** (100 МГц; CDCl₃) 63,0 (CH₂, C-1), 52,3 (CH, C-5), 47,1 (CH₂, C-6), 32,6 (CH₂, C-4), 32,3 (CH₂, C-2), 26,0 (3 × CH₃, SiC(CH₃)₃), 22,3 (CH₂, C-3), 18,4 (C, SiC(CH₃)₃), -5,3 (2 × CH₃, Si(CH₃)₂). Спектроскопические данные

15 согласуются с данными, приведенными в литературе.

Стадия iv



К перемешиваемому раствору дисульфида **804** (0,500 г, 0,649 ммоль) в CH₂Cl₂ (5 мл) при 0 °С добавляли порошок цинка (0,300 г, 4,54 ммоль) и свежеприготовленную

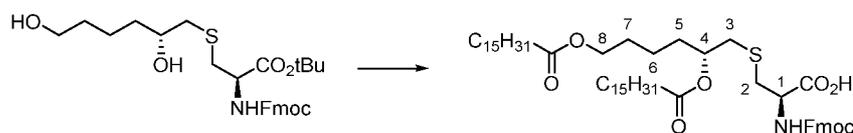
20 смесь метанола, конц. соляной кислоты и конц. серной кислоты (100:7:1, 2 мл). Полученную смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 мин. Затем смесь перемешивали при 65 °С в течение 5 минут, после чего добавляли эпоксид **809a** (0,600 г, 2,60 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 65 °С в течение 19 часов. Затем смесь разбавляли EtOAc (50 мл), фильтровали через слой Celite® и промывали

25 соляным раствором (50 мл). Водный слой экстрагировали EtOAc (3 × 50 мл) и объединенные органические экстракты сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 4:1 → 1:3) и получали **810** (0,553 г, 83%) в виде бесцветного масла.

30 **R_f** 0,39 (гексан-EtOAc 1:3); **[α]_D^{21,2}** -25,0 (с 0,07 в CHCl₃); **v_{max}**(безпримесный)/cm⁻¹ 3343, 2934, 2862, 1705, 1513, 1450, 1369, 1344, 1248, 1152; **δ_H** (400 МГц; CHCl₃) 7,76 (2H, d, *J* = 7,5 Гц, FmocH), 7,61 (2H, d, *J* = 7,0 Гц, FmocH), 7,40 (2H, t, *J* = 7,4 Гц, FmocH), 7,30 (2H, td, *J* = 11,2, 1,1 Гц, FmocH), 5,88 (1H, d, *J* = 7,8 Гц, NH), 4,52 (1H, dd, *J* = 12,5, 5,2 Гц, H-1), 4,39 (2H, d, *J* = 8,1 Гц, FmocCH₂), 4,23 (1H, t, *J* = 7,1 Гц,

FmocCH), 3,70-3,59 (3H, m, H-4, H-8), 3,03 (1H, dd, $J = 13,7, 4,7$ Гц, H-2), 2,94 (1H, dd, $J = 13,7, 5,4$ Гц, H-2), 2,80 (1H, dd, $J = 13,6, 3,4$ Гц, H-3), 2,51 (1H, dd, $J = 13,4, 8,7$ Гц, H-3), 1,60-1,38 (15H, m, H-5, H-6, H-7, C(CH₃)₃); δ_c (100 МГц; CHCl₃) 169,7 (C, CO₂tBu), 156,0 (C, FmocCO), 143,8 (C, Fmoc), 141,3 (C, Fmoc), 127,8 (CH, Fmoc), 127,1 (CH, Fmoc), 125,2 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 83,1 (C, C(CH₃)₃), 69,8 (CH, C-4), 67,2 (CH₂, FmocCH₂), 62,5 (CH₂, C-8), 54,6 (CH, C-1), 47,1 (CH, FmocCH), 41,1 (CH₂, C-3), 35,8 (CH₂, C-5), 35,4 (CH₂, C-2), 32,4 (CH₂, C-7), 28,0 (3 × CH₃, C(CH₃)₃), 21,9 (CH₂, C-6); **HRMS** (ESI+) [M + Na]⁺ 538,2226 рассчитано для C₂₈H₃₇NNaO₆S 538,2234.

Стадия v



10

810

811

К перемешиваемому раствору диола **810** (0,190 г, 0,370 ммоль) и пальмитиновой кислоты (0,284 г, 1,10 ммоль) в THF (3 мл) при комнатной температуре добавляли N,N'-диизопропилкарбодиимид (0,226 мл, 1,47 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (0,018 г, 0,147 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 часов. Затем смесь фильтровали через слой Celite®, разбавляли EtOAc (50 мл), промывали 1М водн. раств. лимонной кислоты (30 мл) и соляным раствором (30 мл) и концентрировали *in vacuo*. Затем остаток повторно растворяли в TFA (3 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 45 мин. Реакционную смесь снова концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 9:1 → 0:1) и получали **811** (0,301 г, кол.) в виде бесцветного масла.

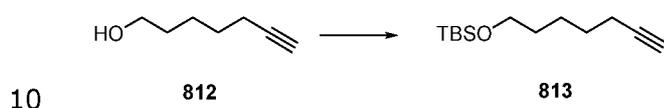
R_f 0,20 (петролейный эфир-EtOAc 1:1); **[α]_D^{21,2}** +10,0 (с 0,07 в CHCl₃); **v_{max}**(безпримесный)/cm⁻¹ 3331, 2917, 2850, 1728, 1692, 1532, 1467, 1451, 1244, 1221, 1198, 1175; **δ_H** (400 МГц; CHCl₃) 7,76 (2H, d, $J = 7,5$ Гц, FmocH), 7,62 (2H, d, $J = 7,2$ Гц, FmocH), 7,40 (2H, t, $J = 7,4$ Гц, FmocH), 7,30 (2H, td, $J = 11,2, 1,0$ Гц, FmocH), 5,82 (1H, d, $J = 7,9$ NH), 5,03-4,92 (1H, m, H-4), 4,71-4,60 (1H, m, H-1), 4,40 (2H, d, $J = 7,0$ Гц, FmocCH₂), 4,24 (1H, t, $J = 7,1$ Гц, FmocCH), 4,11-4,00 (2H, m, H-8), 3,15 (1H, dd, $J = 13,9, 4,4$ Гц, H-2), 3,04 (1H, dd, $J = 13,8, 5,8$ Гц, H-2), 2,78-2,65 (2H, m, H-3), 2,31 (2H, t, $J = 7,6$ Гц, РамCH_{2α}алкил), 2,28 (2H, t, $J = 7,6$ Гц, РамCH_{2α}алкил), 1,74-1,55 (8H, m, 2 × РамCH_{2β}алкил, H-5, H-7), 1,45-1,17 (50H, m, 24 × РамCH₂алкил, H-6), 0,88 (6H, t, $J = 6,8$ Гц, 2 × РамCH₃алкил); **δ_c** (100 МГц; CHCl₃) 174,3 (C, CO₂H), 174,0 (C, РамCO₂), 173,9 (C, РамCO₂), 156,1 (C, FmocCO), 143,7 (C, Fmoc), 141,3 (C, Fmoc), 127,8 (CH, Fmoc), 127,1 (CH, Fmoc), 125,2 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 72,4 (CH, C-4), 67,4 (CH₂, FmocCH₂), 64,0 (CH₂, C-8), 53,6 (CH, C-1), 47,1 (CH, FmocCH), 36,6 (CH₂,

C-3), 34,6 (CH₂, РамСН_{2α}алкил), 34,5 (CH₂, РамСН_{2α}алкил), 34,4 (CH₂, C-2), 32,7 (CH₂, C-5), 32,0 (2 × CH₂, РамСН₂алкил), 29,7-29,3 (20 × CH₂, РамСН₂алкил), 28,3 (CH₂, C-7), 25,0 (2 × CH₂, РамСН_{2β}алкил), 25,0 (2 × CH₂, РамСН_{2β}алкил), 22,7 (2 × CH₂, РамСН₂алкил), 21,7 (CH₂, C-6), 14,4 (2 × CH₃, РамСН₃алкил); **HRMS** (ESI+) [M + Na]⁺ 958,6239 рассчитанный для C₅₆H₈₉NNaO₈S 958,6238.

7.1.3 Синтез аминокислотного конъюгата **820** из алкена **814**

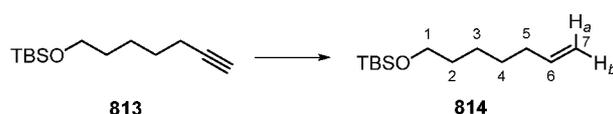
А) Синтез алкена **814** из спирта **812**

Стадия i



К перемешиваемому раствору 6-гептин-1-ола **812** (3,33 мл, 26,75 ммоль) в CH₂Cl₂ (80 мл) при комнатной температуре добавляли имидазол (1,76 г, 27,01 ммоль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (4,07 г, 27,01 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Затем смесь разбавляли Et₂O (100 мл) и промывали водой (3 × 100 мл) и соляным раствором (100 мл). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали фильтрованием через силикагель и получали алкин **813** (5,68 г, кол.) в виде бесцветной жидкости. Алкин **813** использовался на последующих этапах синтеза без описания свойств.

20 Стадия ii



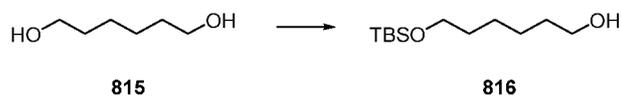
К перемешиваемому раствору алкина **813** (5,34 г, 25,18 ммоль) в гексане (140 мл) при комнатной температуре добавляли хинолин (4,18 мл, 35,26 ммоль) и катализатор Линдара (0,53 г). Реакционную смесь соединяли с баллоном, заполненным H₂ (1 атм), и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем смесь фильтровали через слой Celite® и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир-EtOAc, 9:1) и получали **814** (5,34 г, кол.) в виде бесцветного масла.

R_f 0,91 (петролейный эфир-EtOAc 9:1); **δ_H** (400 МГц; CDCl₃) 5,81 (1H, ddt, *J* = 17,0, 10,3, 6,7 Гц, H-6), 4,99 (1H, dd, *J* = 17,0 Гц, H_a-7) 4,93 (1H, dd, *J* = 10,1 Гц, H_b-7), 3,60 (2H, t, *J* = 6,6 Гц, H-1), 2,05 (2H, q, *J* = 7,0 Гц, H-5), 1,56-1,31 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0,89 (9H, s, SiC(CH₃)₃), 0,05 (6H, s, Si(CH₃)₂); **δ_C** (100 МГц; CDCl₃) 139,1 (CH, C-6), 114,2 (CH₂, C-7), 63,2 (CH₂, C-1), 33,8 (CH₂, C-5), 33,7 (CH₂, C-4), 28,7 (CH₂, C-3), 26,0

(3 × CH₃, SiC(CH₃)₃), 25,3 (CH₂, C-2), 18,4 (C, SiC(CH₃)₃), -5,3 (2 × CH₃, Si(CH₃)₂). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

A) Синтез алкена **814** из спирта **815**

Стадия i



5 К перемешиваемому раствору 1,6-гександиола (**815**) (16,00 г, 135,39 ммоль) в CH₂Cl₂ (150 мл) при комнатной температуре добавляли имидазол (9,22 г, 135,39 ммоль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (20,41 г, 135,39 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 19 часов. Затем смесь

10 фильтровали, промывали H₂O (100 мл) и соляным раствором (100 мл), и сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир-EtOAc, 4:1) и получали **816** (25,13 г, 80%) в виде бесцветного масла. Спирт **816** использовался на последующих этапах синтеза без описания свойств.

15 Стадия ii

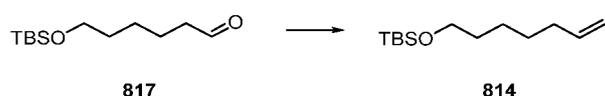


К перемешиваемому раствору спирта **816** (4,90 г, 21,10 ммоль) в CH₂Cl₂ (11 мл) при 0 °C добавляли диметилсульфоксид (11,08 мл, 154,05 ммоль), Et₃N (14,71 мл, 105,52 ммоль) и комплекс трехоксида серы и пиридина (9,89 г, 63,31 ммоль). Реакционную

20 смесь перемешивали при 0 °C в течение 30 минут. Смесь затем охлаждали водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (2 × 50 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (50 мл) и соляным раствором (50 мл), сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир-EtOAc, 9:1) и получали **817** (4,71 г, 97%) в виде

25 бесцветного масла. Альдегид **817** использовался на последующих этапах синтеза без описания свойств.

Стадия iii



К перемешиваемому раствору метилтрифенилфосфонийбромида (4,60 г, 12,89 ммоль) в THF (30 мл) при -78 °C по каплям добавляли раствор н-бутиллития (7,16 мл, 1,8 М,

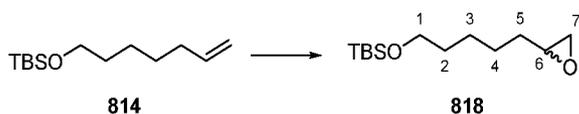
30

12,89 ммоль). Полученную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. Затем реакционную смесь охлаждали до $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ и по каплям добавляли альдегид **817** (2,56 г, 11,21 ммоль) в THF (6 мл). Реакционную смесь перемешивали при $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 3 часов и затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали еще 15 часов. Затем смесь охлаждали насыщенным водным раствором NH_4Cl (10 мл) и экстрагировали EtOAc (3 \times 70 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (2 \times 50 мл) и соляным раствором (50 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир- EtOAc , 99:1) и получали **814** (2,50 г, 98%) в виде бесцветного масла.

R_f 0,91 (петролейный эфир- EtOAc 9:1); **δ_{H}** (400 МГц; CDCl_3) 5,81 (1H, ddt, $J = 17,0, 10,3, 6,7$ Гц, H-6), 4,99 (1H, dd, $J = 17,0$ Гц, H_a-7), 4,93 (1H, dd, $J = 10,1$ Гц, H_b-7), 3,60 (2H, t, $J = 6,6$ Гц, H-1), 2,05 (2H, q, $J = 7,0$ Гц, H-5), 1,56-1,31 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0,89 (9H, s, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,05 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); **δ_{C}** (100 МГц; CDCl_3) 139,1 (CH, C-6), 114,2 (CH₂, C-7), 63,2 (CH₂, C-1), 33,8 (CH₂, C-5), 33,7 (CH₂, C-4), 28,7 (CH₂, C-3), 26,0 (3 \times CH₃, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25,3 (CH₂, C-2), 18,4 (C, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -5,3 (2 \times CH₃, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

C) Синтез аминокислотного конъюгата **820** из алкена **814**

Стадия i

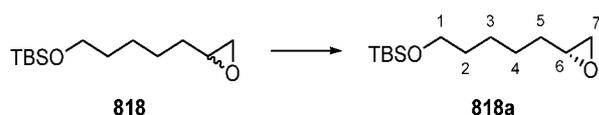


К перемешиваемому раствору алкена **814** (4,30 г, 18,40 ммоль) в CH_2Cl_2 (40 мл) при комнатной температуре добавляли *m*CPBA (4,46 г, 25,84 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 7 часов. Затем смесь фильтровали через Celite[®], разбавляли Et_2O (60 мл) и промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 (3 \times 100 мл) и соляным раствором (100 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир- EtOAc , 9:1) и получали **818** (4,30 г, 96%) в виде бесцветного масла.

R_f 0,63 (петролейный эфир- EtOAc 9:1); **δ_{H}** (400 МГц; CDCl_3) 3,60 (2H, t, $J = 6,5$ Гц, H-1), 2,92-2,88 (1H, m, H-6), 2,74 (1H, t, $J = 4,5$ Гц, H-7), 2,46 (1H, dd, $J = 5,0, 2,8$ Гц, H-7), 1,56-1,36 (8H, m, H-2, H-3, H-4, H-5), (9H, s, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,04 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); **δ_{C}** (100 МГц; CDCl_3) 63,1 (CH₂, C-1), 52,3 (CH, C-6), 47,1 (CH₂, C-7), 32,8 (CH₂, C-5), 32,5 (CH₂, C-2), 26,0 (3 \times CH₃, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25,8 (CH₂, C-4), 25,7 (CH₂, C-3), 18,4 (C, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -5,3 (2 \times CH₃, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

35

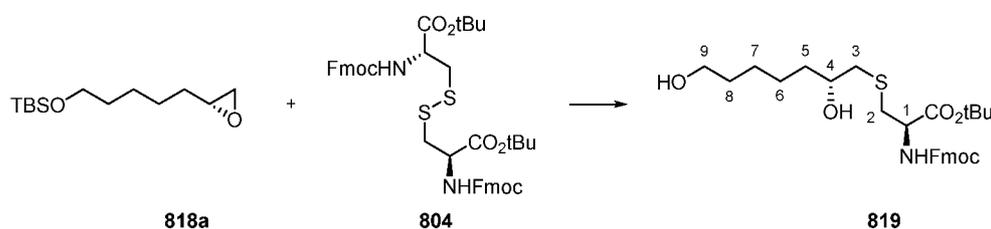
Стадия ii



К перемешиваемому раствору рацемического эпоксида **818** (2,23 г, 9,13 ммоль), (R,R)-(+)-N,N'-бис-3,5-ди-трет-бутилсалицилиден-1,2-циклогександиаминокобальта (II) (0,03 г, 0,05 ммоль) и ледяной уксусной кислоты (0,01 мл, 0,18 ммоль) в THF (0,1 мл) при 0 °C и по каплям добавляли воду (0,09 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов. Затем смесь концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (петролейный эфир-EtOAc, 9:1) и получали **818a** (1,09 г, 49%) в виде желтого масла.

R_f 0,63 (петролейный эфир-EtOAc 9:1); $[\alpha]_D^{21,3} +4,2$ (с 0,90 в CHCl_3); δ_H (400 МГц; CDCl_3) 3,60 (2H, t, $J = 6,5$ Гц, H-1), 2,92-2,88 (1H, m, H-6), 2,74 (1H, t, $J = 4,5$ Гц, H-7), 2,46 (1H, dd, $J = 5,0, 2,8$ Гц, H-7), 1,56-1,36 (8H, m, H-2, H-3, H-4, H-5), (9H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,04 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); δ_C (100 МГц; CDCl_3) 63,1 (CH_2 , C-1), 52,3 (CH, C-6), 47,1 (CH_2 , C-7), 32,8 (CH_2 , C-5), 32,5 (CH_2 , C-2), 26,0 (3 \times CH_3 , $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 25,8 (CH_2 , C-4), 25,7 (CH_2 , C-3), 18,4 (C, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), -5,3 (2 \times CH_3 , $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$). Спектроскопические данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

Стадия iii

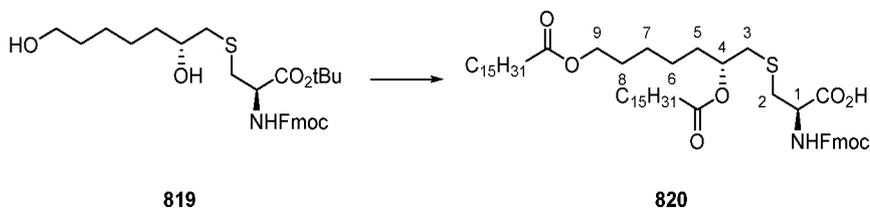


К перемешиваемому раствору дисульфида **804** (0,30 г, 0,375 ммоль) в CH_2Cl_2 (1 мл) при 0 °C добавляли порошок цинка (0,20 г, 3,01 ммоль) и свежеприготовленную смесь метанола, конц. соляной кислоты и конц. серной кислоты (100:7:1, 1 мл). Полученную смесь перемешивали при 0 °C в течение 30 мин, после чего добавляли эпоксид **818a** (0,344 г, 1,13 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 70 °C в течение 17 часов. Затем смесь разбавляли EtOAc (30 мл), фильтровали через слой Celite® и промывали соляным раствором (30 мл). Водный слой экстрагировали EtOAc (3 \times 30 мл) и объединенные органические экстракты сушили над безводным MgSO_4 и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 1:3) и получали **819** (0,350 г, 88%) в виде бесцветного масла.

R_f 0,4 (гексан-EtOAc 1:3); $[\alpha]_D^{20,8} -20,0$ (с 0,03 в EtOAc); ν_{max} (безпримесный)/ cm^{-1} 3365, 3933, 1703, 1514, 1450, 1369, 1343, 1248, 1151, 1046; δ_H (400 МГц; MeOD) 7,79

(2H, d, $J = 7,5$ Гц, FmocH), 7,68 (2H, d, $J = 7,4$ Гц, FmocH), 7,39 (2H, t, $J = 7,4$ Гц, FmocH), 7,31 (2H, t, $J = 4,7$ Гц, FmocH), 4,34 (2H, d, $J = 7,1$ Гц, FmocCH), 4,28 (1H, dd, $J = 8,2, 5,1$ Гц, H-1), 4,23 (1H, t, $J = 7,0$ Гц, FmocCH₂), 3,72-3,61 (1H, m, H-4), 3,57-3,79 (2H, m, H-9), 3,01 (1H, dd, $J = 13,8, 5,0$ Гц, H-2), 2,86 (1H, dd, $J = 13,7, 8,3$ Гц, H-2), 2,69 (1H, dd, $J = 13,4, 4,9$ Гц, H-3), 2,60 (1H, dd, $J = 13,4, 7,0$ Гц, H-3), 1,57-1,34 (17H, m, H-5, H-6, H-7, H-8, C(CH₃)₃); δ_c (100 МГц; MeOD) 171,8 (C, CO₂tBu), 158,1 (C, FmocCO), 145,3 (C, Fmoc), 142,6 (C, Fmoc), 128,8 (CH, Fmoc), 128,2 (CH, Fmoc), 126,4 (CH, Fmoc), 121,0 (CH, Fmoc), 83,3 (C, C(CH₃)₃), 71,9 (CH, C-4), 68,2 (CH₂, FmocCH₂), 62,9 (CH₂, C-9), 56,5 (CH, C-1), 50,2 (CH, FmocCH), 40,8 (CH₂, C-3), 37,3 (CH₂, C-5), 35,5 (CH₂, C-2), 33,6 (CH₂, C-8), 28,3 (3 × CH₃, C(CH₃)₃), 26,9 (CH₂, C-7), 26,6 (CH₂, C-6); **HRMS** (ESI+) [M + Na]⁺ 552,2390 рассчитано для C₂₉H₃₉NNaO₆S 552,2393.

Стадия iv



15 К перемешиваемому раствору диола **819** (0,168 г, 0,317 ммоль) и пальмитиновой кислоты (0,244 г, 0,951 ммоль) в THF (4,6 мл) при комнатной температуре добавляли N,N'-диизопропилкарбодиимид (0,191 мл, 1,269 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (0,016 г, 0,127 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 часов. Затем смесь фильтровали через слой Celite®, разбавляли EtOAc

20 (30 мл), промывали 1М водн. раств. лимонной кислоты (30 мл) и соляным раствором (30 мл) и концентрировали *в вакууме*. Затем остаток повторно растворяли в TFA (3 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 45 мин. Реакционную смесь снова концентрировали *в вакууме*. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (гексан-EtOAc, 9:1 → 0:1) и получали **820** (0,301 г, кол.) в виде

25 бесцветного масла.

R_f 0,21 (петролейный эфир-EtOAc 1:1); **[α]_D^{20,8}** +7,5 (с 0,24 в CHCl₃); **v_{max}**(безпримесный)/cm⁻¹ 3319, 2919, 2851, 1722, 1521, 1471, 1450, 1221, 1055; **δ_H** (400 МГц; CDCl₃) 7,76 (2H, d, $J = 7,6$ Гц, FmocH), 7,61 (2H, d, $J = 7,3$ Гц, FmocH), 7,40 (2H, t, $J = 7,7$ Гц, FmocH), 7,30 (2H, td, $J = 11,2, 1,1$ Гц, FmocH), 5,82, (1H, d, $J = 7,7$ Гц, NH), 5,00-4,94 (1H, m, H-4), 4,64 (1H, dd, $J = 12,3, 5,6$ Гц, H-1), 4,40 (2H, d, $J = 7,1$ Гц, FmocCH₂), 4,24 (1H, t, $J = 7,1$ Гц, FmocCH), 4,10-4,00 (2H, m, H-9), 3,14 (1H, dd, $J = 13,8, 4,3$ Гц, H-2), 3,04 (1H, dd, $J = 13,8, 5,6$ Гц, H-2), 2,76-2,67 (2H, m H-3), 2,31 (2H, t, $J = 7,6$ Гц, РамCH₂алкил), 2,28 (2H, t, $J = 7,6$ Гц, РамCH₂алкил), 1,65-1,56 (8H, m, 2 × РамCH₂алкил, H-8, H-5), 1,39-1,18 (52H, m, 24 × РамCH₂алкил, H-

30

6, H-7), 0,88 (6H, t, $J = 6,9$ Гц, 2 × PamCH₃алкил); δ_c (100 МГц; CDCl₃) 174,4 (C, CO₂H), 156,1 (C, FmocCO), 143,7 (C, Fmoc), 141,3 (C, Fmoc), 127,8 (CH, Fmoc), 127,1 (CH, Fmoc), 125,2 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 72,4 (CH, C-4), 67,5 (CH₂, FmocCH₂), 64,2 (CH₂, C-9), 53,6 (CH, C-1), 47,1 (CH, FmocCH), 36,5 (CH₂, C-3), 34,6 (CH₂, C-2), 34,3 (2 × CH₂, PamCH₂алкил), 33,0 (CH₂, C-5), 31,9 (2 × CH₂, PamCH₂алкил) 29,7-28,4 (21 × CH₂, PamCH₂алкил, C-8), 25,5 (CH₂, C-7), 25,0 (2 × CH₂, PamCH₂алкил), 24,8 (CH₂, C-6), 22,7 (2 × CH₂, PamCH₂алкил), 14,1 (2 × CH₃, PamCH₃алкил); **HRMS** (ESI+) [M + Na]⁺ 972,6358 рассчитано для C₅₇H₉₁NNaO₈S 972,6392.

10 3. Пример 3

В этом примере исследуется агонизм TLR2 человека соединений по настоящему изобретению по сравнению с конъюгатом известного агониста TLR2 ((R)-Pam2Cys).

3.1 Синтез пептидного конъюгата

3.1.1 Синтез соединений 910, 911, 912 и 913

15 Процедура А

Пептидные конъюгаты, в соответствии с изобретением, **910, 911, 912 и 913** (изображенные в Таблице 1), содержащие пептидную последовательность SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID No: **139**] были приготовлены, как описано и изображено ниже (**Схема 1**).

20 Пептидная последовательность SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID No: **139**] включает иммуногенную пептидную антигенную детерминанту (подчеркнуто), которая является аналогом последовательности, полученной из белка NY-ESO-1 (NY-ESO-1 157-165), и может использоваться для стимуляции человеческой специфической NY-ESO-1 CD8+ Т-клетки, как описано в работе Chen, JL et al. *The Journal of Immunology*, **2000**, 165, 25 948-955.

Считается, что солюбилизирующая метка SKKKK улучшает обработку и облегчает очистку потенциального липофильного пептида.

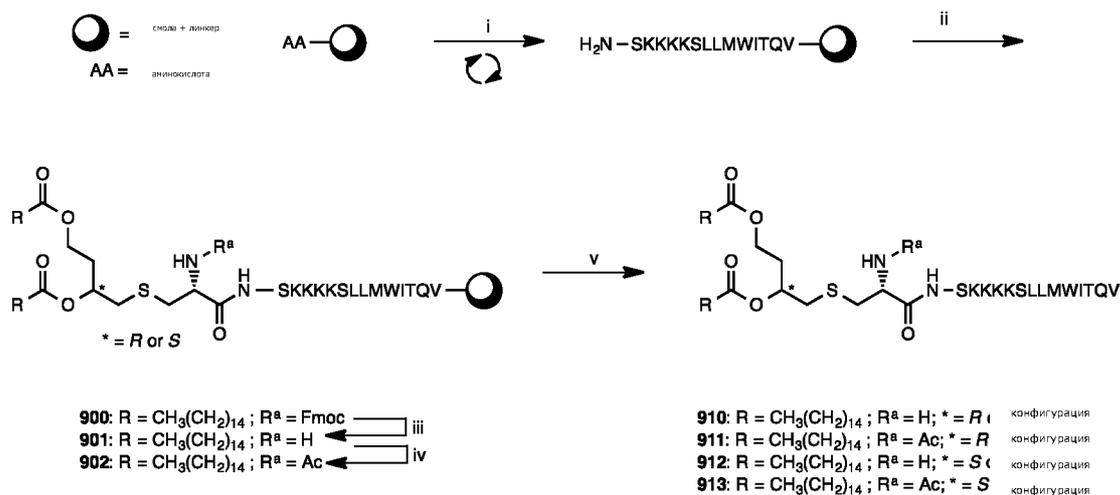


Схема 1. (i) Итеративный Fmoc-SPPS; (ii) (R)- или (S) - бис-палмитоилированный Fmoc-Cys-OH **6**, PyBOP, коллидин, DMF; (iii) 20% пиперидин/DMF; (iv) Ac₂O/DMF/N-метилморфолин; (v) TFA/EDT/вода.

5 Требуемая пептидная последовательность была синтезирована с использованием стандартных итерационных методик твердофазного пептидного синтеза Fmoc на синтезаторе пептидов компании Tribute (Protein Technologies International, Tucson, AZ).

Типичный цикл снятия защиты и сопряжения, проведенный по шкале 0,1 ммоль, привел к удалению защитной группы Fmoc из связанной со смолой аминокислоты после двух обработок 20% пиперидином в DMF (4 мл x 5 мин), а затем промывкой смолы DMF. В отдельном сосуде аминокислоту Fmoc (0,5 ммоль) и связующий агент (1-бисдиметиламинометил-1H-1,2,3-триазоло-4,5-б-пиридиновый-3-оксид гексафторфосфат (HATU)), (0,45 ммоль) растворяли в DMF (1,5 мл) и добавляли основание (4-метилморфолин (NMM)), (1 ммоль). После перемешивания в течение 1 минуты данный раствор переносили в смолу, которую перемешивали при комнатной температуре (RT) в течение 1 часа, сушили и промывали.

Обращение фазы (RP)-HPLC осуществляли в системе ВЭЖХ Dionex Ultimate 3000 с УФ-детектированием при длине волны 210 нм или 225 нм. Для полупрепаративной очистки образец пептида вводили в колонку с обращенной фазой Phenomenex Gemini C18 (5 мкм, 110Å; 10x250 мм), уравновешенную в подходящей смеси элюента А (вода/0,1% TFA) и элюента В (MeCN/0,1% TFA), а затем, для элюирования составляющих компонентов, генерировали увеличивающийся градиент элюента В. Анализ ВЭЖХ проводили аналогичным образом на колонке Phenomenex Gemini C18 (3 мкм, 110Å; 4,6x150 мм). Масс-спектры с низким разрешением получали на масс-спектрометре Agilent Technologies 6120 Quadrupole. После сопряжения предпоследнего аминокислотного остатка, пептидную цепь, связанную со смолой, затем дериватизировали с требуемым диастереомером аминокислотного конъюгата **6**

с использованием BOP (бензотриазол-1-ил-окси-трис-диметиламинофосфонийгексафторфосфат) и коллидина в DMF. Условия сопряжения аминокислотного конъюгата снижают склонность α -углерода аминокислоты к эимеризации при активации. Аминокислотный конъюгат (0,1 ммоль) и BOP (0,095 ммоль) объединяли и растворяли в DMF (1,0 мл). Добавляли безпримесный 2,4,6-триметилпиридин (0,2 ммоль). После перемешивания в течение 30 секунд раствор переносили на смолу (0,02 ммоль), затем перемешивали в течение 60 минут, сушили и промывали (DMF) для получения **900**.

Затем группу Fmoc удаляли, используя 20% пиперидин в DMF, чтобы получить **901**.

Затем концевую аминогруппу ацетилировали, используя уксусный ангидрид в DMF, чтобы получить **902**. Смолу (0,01 ммоль) суспендировали в DMF (2 мл) с добавлением уксусного ангидрида (0,1 мл) и N-метилморфолина (0,1 мл), а смесь перемешивали в течение 5 минут. Затем смолу сливали и тщательно промывали DMF.

Пептид **901** отщепляли от смолы для получения пептидного конъюгата **910** с R конфигурацией в указанном положении и $R^a = H$, или пептидного конъюгата **912** с S конфигурацией в указанном положении и $R^a = H$ (**Схема 1**). Пептид **902** отщепляли от смолы для получения пептидного конъюгата **911** с R конфигурацией в указанном положении и $R^a = \text{Ацетил}$, или пептидного конъюгата **913** с S конфигурацией в указанном положении и $R^a = \text{Ацетил}$ (**Схема 1**). Смолу (0,01 ммоль) в 1,0 мл трифторуксусной кислоты, содержащей 5% (об/об) 2,2'-этилендиоксидиэтантола, перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем надосадочную жидкость сливали через спекшийся материал в охлажденный диэтиловый эфир (10 мл). Смолу затем дополнительно промывали в 1 мл TFA, который также добавляли к эфиру. Осажденный материал осаждали центрифугированием, осадок один раз промывали эфиром (5 мл) до растворения в 1:1 MeCN/вода (+ 0,1% tfa) и лиофилизировали.

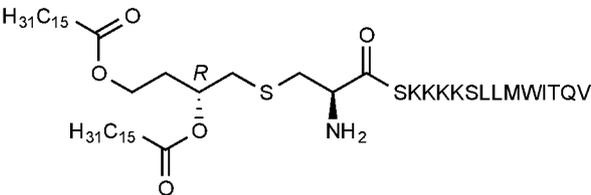
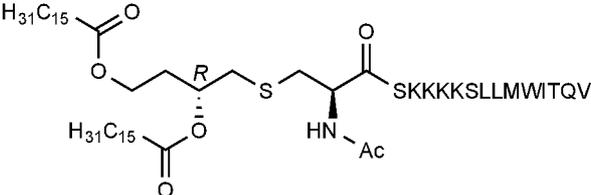
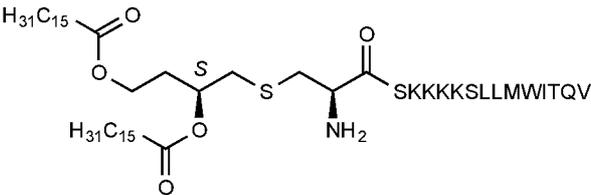
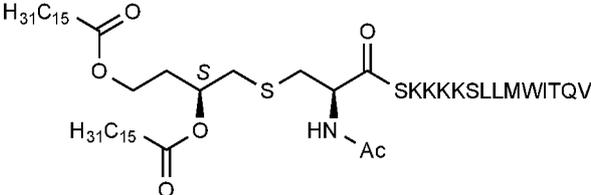
Очистку **910**, **911**, **912** и **913** проводили способом полупрепаративной ВЭЖХ с использованием колонки Phenomenex Gemini C18 (5 мкм, 110Å) 10x250 мм с элюентом А, представляющим собой воду (+0,1% tfa), и элюентом В, представляющим собой MeCN (+0,1% tfa). После впрыска неочищенного образца пептида в колонку получали градиент: от 5% В до 50% В в течение 1,5 минут и последующий градиент от 50% В до 100% В в течение 23,5 минут при скорости потока 4 мл/мин. Требуемое вещество продукта собирали из колонки при элюировании и сушили вымораживанием.

910: m/z (ESI) 1179,9 $[M+2H^+]$. ВЭЖХ анализ: Колонка: Phenomenex Jupiter C18 (3μ, 110Å, 4,6 x 150 мм); элюент А, вода/0,1%TFA; элюент В: MeCN/0,1% TFA; градиент: 5-100%В более 25 мин при 1 мл/мин. Время удержания: 22,9 мин.

911: m/z (ESI) 1201,0 $[M+2H^+]$. ВЭЖХ анализ: Колонка: Phenomenex Jupiter C18 (3 μ , 110 \AA , 4,6 x 150 мм); элюент А, вода/0,1%TFA; элюент В: MeCN/0,1% TFA; градиент: 5-100%В более 25 мин при 1 мл/мин. Время удержания: 24,3 мин.

912: m/z (ESI) 1179,9 $[M+2H^+]$. ВЭЖХ анализ: Колонка: Phenomenex Jupiter C18 (3 μ , 110 \AA , 4,6 x 150 мм); элюент А, вода/0,1%TFA; элюент В: MeCN/0,1% TFA; градиент: 5-100%В более 30 мин при 1 мл/мин. Время удержания: 22,8 мин.

913: m/z (ESI) 1200,9 $[M+2H^+]$. ВЭЖХ анализ: Колонка: Phenomenex Jupiter C18 (3 μ , 110 \AA , 4,6 x 150 мм); элюент А, вода/0,1%TFA; элюент В: MeCN/0,1% TFA; градиент: 5-100%В более 30 мин при 1 мл/мин. Время удержания: 24,1 мин.

№	Структура
910	
911	
912	
913	

10 **Таблица 1: Структуры пептидных конъюгатов 910-913** Все структуры содержат пептидную последовательность SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID No: 139]

Процедура В

Пептидные конъюгаты, в соответствии с изобретением, **910**, **911**, **912** и **913** (изображенные в Таблице 1), также получали, следуя альтернативной процедуре.

Аминокислоты Fmoc получали с помощью следующей защиты боковой цепи: Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH,
 5 Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(*t*Bu)-OH, Fmoc-Thr(*t*Bu)-OH, Fmoc-Tyr(OtBu)-OH, Fmoc-Val-OH.

Очистку осуществляли способом полупрепаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в колонке с обращенной фазой (RP) и выполняли градиентное
 10 элюирование, как описано для каждой процедуры для каждого пептида. Полупрепаративную и аналитическую RP-ВЭЖХ проводили с использованием системы Dionex Ultimate 3000 HPLC с описанной системой растворителей. Самые чистые фракции объединяли и лиофилизировали. Хроматограммы жидкостной хромато-
 масс-спектрометрии (LC-MS) получали на системе Agilent 1120 Compact LC с масс-
 15 спектрометром Hewlett Packard серии 1100 MSD.

*Получение пептидильной смолы **390**, включающей аминокислотный остаток:*



Смола Tentagel (0,581 г, 0,25 ммоль) набухала в DMF (6 мл) в течение 10 минут. Fmoc-L-Val-OCH₂-*p*C₆H₄-OCH₂CH₂CO₂H (0,155 г, 0,30 ммоль) и HATU (0,114 г, 0,30 ммоль)
 20 растворяли в DMF (3 мл) и активировали *N*-метилморфолином (0,055 мл, 0,50 ммоль) в течение минимум 1 часа. Полученную смесь добавляли к смоле и перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Смолу сливали и промывали DMF (2 × 3 мл). Затем смолу обрабатывали 20% (об/об) пиперидином в DMF (2 мл) и перемешивали в течение 10 минут при комнатной температуре. Смолу сливали и процесс повторяли. Смолу сливали и промывали DMF (4 × 3 мл). Смолу переносили в
 25 реакционный сосуд автоматического пептидного синтезатора Tribute®. Затем пептид удлиняли с использованием автоматического пептидного синтезатора Tribute®. Автоматический синтез осуществляли путем чередования циклов сопряжения Fmoc-AA-OH и снятия защиты Fmoc. Смолу промывали DMF (5 × 4 мл) перед добавлением
 30 смеси для сопряжения, которая состояла из Fmoc-AA-OH (5 экв.) и HATU (4,75 экв.) в DMF (2,5 мл) и 2М *N*-метилморфолина в DMF (1,5 мл). После завершения сопряжения, после перемешивания в течение 1 часа при комнатной температуре, смолу сливали и промывали DMF (5 × 4 мл). Смолу обрабатывали Ac₂O (4 мл) и перемешивали в течение 10 минут при комнатной температуре. Смолу сливали, промывали DMF (5 × 4

мл), обрабатывали 20% об/об пиперидина в DMF (4 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Смолу сливали и процесс повторяли. Следующий цикл промывания, сопряжения и снятия защиты повторяли до тех пор, пока все аминокислоты в последовательности не были сопряжены. Затем смолу промывали DMF (2 × 4 мл) и CH₂Cl₂ (2 × 4 мл) и
5 получали пептидильную смолу **390** (0,957 г, 0,261 ммоль загрузка г⁻¹).

*Синтез липидных пептидов **910**, **911**, **912** и **913**:*

Пептидильная смола **390** (0,038 г, 0,01 ммоль) набухала в DMF (2 мл) в течение 10 минут. Fmoc-(S)-*homo*Pam₂Cys-OH (**6B**), для приготовления **910** и **911**, или Fmoc-(R)-
10 *homo*Pam₂Cys-OH (**6A**), для приготовления **912** и **913** (0,045 г, 0,5 ммоль) и PyBOP (0,025 г, 0,0475 ммоль) растворяли в DMF (1 мл) и активировали 2,4,6-коллидином (0,013 мл, 0,10 ммоль) в течение 1 мин. Полученную смесь добавляли к смоле и перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре, чтобы получить защищенную пептидильную смолу. Смолу сушили и промывали DMF (3 × 2 мл), а
15 последующая реакция с нингидрином была отрицательная. Затем смолу обрабатывали 20% (об/об) пиперидином в DMF (2 мл) и перемешивали в течение 10 минут при комнатной температуре. Смолу сливали и процесс повторяли. Смолу сливали, промывали в DMF (3 × 2 мл) и CH₂Cl₂ (3 × 2 мл). Затем смолу или: (а) для приготовления **911** и **913** обрабатывали Ac₂O (2 мл) и перемешивали в течение 10
20 минут при комнатной температуре, затем сушили и промывали CH₂Cl₂ (2 мл); или (b), для приготовления **910** и **913**, сливали и промывали CH₂Cl₂ (2 мл).

Пептидильную смолу отщепляли и осаждали следующим образом, получая неочищенный пептид. Связанный со смолой пептид обрабатывали смесью для расщепления, состоящей из 5% DODT: TFA и перемешивали в течение 3 часов при
25 комнатной температуре. Смолу отделяли от смеси для расщепления путем фильтрования, а фильтрат обрабатывали холодным диэтиловым эфиром для осаждения неочищенного пептида с последующим центрифугированием при 4000 об/мин в течение 5 минут. Надосадочную жидкость отделяли, крупинки промывали диэтиловым эфиром, и центрифугирование повторяли еще раз. После отделения
30 надосадочной жидкости полученные крупинки пептида сушили в потоке N₂ и лиофилизировали из MeCN:H₂O (1:1) + 0,1% TFA.

Неочищенный пептид очищали способом полупрепаративной RP-ВЭЖХ с использованием колонки Phenomenex Gemini C18 (5 мкм, 110Å) 10x250 мм с градиентом 5-50% (45% MeCN в минуту), а затем 50-100% (2% MeCN в минуту),
35 используя MeCN в H₂O + 0,1% TFA при комнатной температуре. Очищенные пептиды **910**, **911**, **912** и **913** получали в виде аморфных твердых веществ.

910: (6 мг, 22% при чистоте >98%). R_t 22,9 мин в колонке Phenomenex Gemini C18 3 мкм 110Å 4,6 × 150 мм, используя 5-100% MeCN:H₂O + 0,1% TFA, с градиентом 3,8% MeCN в минуту; **LRMS** (ESI +) [M + 2H]²⁺ 1179,8 рассчитано для C₁₁₇H₂₁₀N₂₁O₂₄S₂ 1179,9.

5 **911:** (3 мг, 12% при чистоте >98%). R_t 24,2 мин в колонке Phenomenex Gemini C18 3 мкм 110Å 4,6 × 150 мм, используя 5-100% MeCN:H₂O + 0,1% TFA, с градиентом 3,8% MeCN в минуту; **LRMS** (ESI +) [M + 2H]²⁺ 1201,1 рассчитано для C₁₁₉H₂₁₂N₂₁O₂₅S₂ 1201,3.

10 **912:** (5 мг, 26% при чистоте >98%). R_t 22,7 мин в колонке Phenomenex Gemini C18 3 мкм 110Å 4,6 × 150 мм, используя 5-100% MeCN:H₂O + 0,1% TFA, с градиентом 3,8% MeCN в минуту; **LRMS** (ESI +) [M + 2H]²⁺ 1179,8 рассчитано для C₁₁₇H₂₁₀N₂₁O₂₄S₂ 1179,9.

15 **913:** (3 мг, 12% при чистоте >98%). R_t 24,2 мин в колонке Phenomenex Gemini C18 3 мкм 110Å 4,6 × 150 мм, используя 5-100% MeCN:H₂O + 0,1% TFA, с градиентом 3,8% MeCN в минуту; **LRMS** (ESI +) [M + 2H]²⁺ 1201,1 рассчитано для C₁₁₉H₂₁₂N₂₁O₂₅S₂ 1201,3.

3.1.2 Синтез соединений 930, 931 и 932

Процедура А

20 Пептидные конъюгаты, в соответствии с изобретением, **930**, **931** и **932** (изображенные в Таблице 2), содержащие пептидную последовательность SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID No **139**] были приготовлены, как описано и изображено ниже (**Схема 2**).

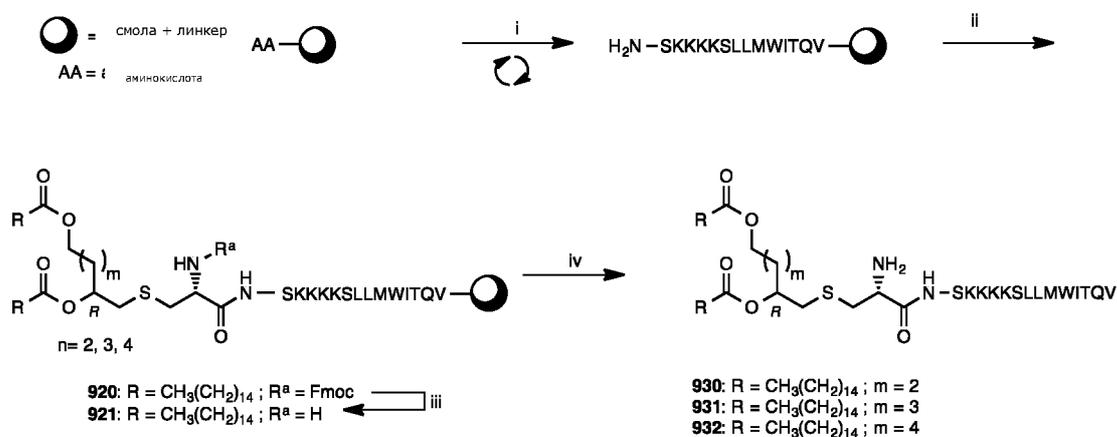


Схема 2. (i) Итеративный Fmoc-SPPS; (ii) (R)-бис-памитоилированный Fmoc-Cys-OH **806** (m=2) или **811** (m=3) или **820** (m=4) PyBOP, коллидин, DMF; (iii) 20% пиперидин/DMF; (iv) TFA/EDT/вода.

5 Целевую последовательность пептида синтезировали с использованием стандартных методов итерации Fmoc SPPS, как описано выше.

10 После сопряжения предпоследнего аминокислотного остатка, пептидную цепь, связанную со смолой, затем дериватизировали с конъюгатом **806**, **811** или **820**, используя PyBOP (бензотриазол-1-ил-окситрипирролидинофосфоний) и коллидин в DMF. Условия сопряжения аминокислотного конъюгата снижают склонность α -углерода аминокислоты к эимеризации при активации. Аминокислотный конъюгат (0,1 ммоль) и BOP (0,095 ммоль) объединяли и растворяли в DMF (1,0 мл). Добавляли безпримесный 2,4,6-триметилпиридин (0,2 ммоль). После перемешивания в течение 60 секунд раствор переносили на смолу (0,02 ммоль), затем перемешивали в течение 60 минут, сушили и промывали (DMF) для получения **920** (m = 2, 3 или 4).

15 Затем группу Fmoc удаляли, используя 20% пиперидин в DMF, чтобы получить **921** (m = 2, 3 или 4).

20 Пептид **921** (m = 2, 3 или 4) отщепляли от смолы для получения пептидного конъюгата **930** (m = 2) с R-конфигурацией в указанном положении (**Схема 2**), пептидного конъюгата **931** (m = 3) с R-конфигурацией в указанном положении или пептидный конъюгат **932** (m = 4) с R-конфигурацией в указанном положении. Смолу (0,01 ммоль) в 1,0 мл трифторуксусной кислоты, содержащей 5% (об/об) 2,2'-этилендиоксидиэтантола, перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем надосадочную жидкость сливали через спекшийся материал в охлажденный диэтиловый эфир (10 мл). Смолу затем дополнительно промывали в 1
25 мл TFA, который также добавляли к эфиру. Осажденный материал осаждали центрифугированием, осадок один раз промывали эфиром (5 мл) до растворения в 1:1 MeCN/вода (+ 0,1% tfa) и лиофилизировали.

30 Очистку **930**, **931** и **932** проводили способом полупрепаративной ВЭЖХ с использованием колонки Phenomenex Gemini C18 (5 мкм, 110Å) 10x250 мм с элюентом А, представляющим собой воду (+0,1% tfa), и элюентом В, представляющим собой MeCN (+0,1% tfa). После впрыска неочищенного образца пептида в колонку получали градиент: от 5% В до 45% В в течение 3 минут и последующий градиент от 45% В до 65% В в течение 16 минут при скорости потока 4 мл/мин. Требуемое вещество продукта собирали из колонки при элюировании и сушили вымораживанием.

930: m/z (ESI) 1186,6 $[M+2H^+]$. ВЭЖХ анализ: Колонка: Phenomenex Jupiter C18 (5 μ , 300Å, 4,6 x 150 мм); элюент А, вода/0,1%TFA; элюент В: MeCN/0,1% TFA; градиент: 5-95%В более 30 мин при 1 мл/мин. Время удержания: 25,3 мин.

931: m/z (ESI) 1193,6 $[M+2H^+]$. ВЭЖХ анализ: Колонка: Phenomenex Jupiter C18 (5 μ , 300Å, 4,6 x 150 мм); элюент А, вода/0,1%TFA; элюент В: MeCN/0,1% TFA; градиент: 5-95%В более 30 мин при 1 мл/мин. Время удержания: 25,7 мин.

932: m/z (ESI) 1200,8 $[M+2H^+]$. ВЭЖХ анализ: Колонка: Phenomenex Jupiter C18 (5 μ , 300Å, 4,6 x 150 мм); элюент А, вода/0,1%TFA; элюент В: MeCN/0,1% TFA; градиент: 5-95%В более 30 мин при 1 мл/мин. Время удержания: 26,2 мин.

№	Структура
930	
931	
932	

10 **Таблица 2: Структуры пептидных конъюгатов 930-932** Все структуры содержат пептидную последовательность **SKKKKSLLMWITQV** [SEQ ID No: 139]

Процедура В

Пептидные конъюгаты, в соответствии с изобретением **930**, **931** и **932** (изображенные в Таблице 2), также получали, следуя альтернативной процедуре.

15 Аминокислоты Fmoc, очистка и LCMS соответствовали описанию в Процедуре В раздела 3.1.1 данного Примера.

Синтез липидных пептидов 930, 931 и 932:

Пептидильная смола **390**, полученная в соответствии с Процедурой В раздела 3.1.1 данного Примера, (0,083 г, 0,02 ммоль) набухала в ДМФА (2 мл) в течение 10 минут. Аминокислоту **806** (0,092 г, 0,10 ммоль), **811** (0,093 г, 0,10 ммоль) или **820** (0,095 г, 0,10 ммоль) для приготовления **930**, **931** или **932**, соответственно, и BOP (0,042 г, 0,095) ммоль) растворяли в DMF (2 мл) и активировали коллидином (0,026 мл, 0,20 ммоль) в течение 1 мин. Полученную смесь добавляли к смоле и перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре, чтобы получить защищенную пептидильную смолу. Смолу сушили и промывали DMF (3 × 2 мл), а последующая реакция с нингидрином была отрицательная. Затем смолу обрабатывали 20% (об/об) пиперидином в DMF (2 мл) и перемешивали в течение 10 минут при комнатной температуре. Смолу сливали и процесс повторяли. Смолу сливали, промывали в DMF (3 × 2 мл) и CH₂Cl₂ (3 × 2 мл).

Пептидильную смолу отщепляли и осаждали следующим образом, получая неочищенный пептид. Связанный со смолой пептид обрабатывали смесью для расщепления, состоящей из 5% DODT: TFA и перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Смолу отделяли от раствора смеси для расщепления путем фильтрования. Все летучие вещества удаляли, используя поток N₂, а полученный остаток лиофилизировали из MeCN:H₂O (1:1) + 0,1% TFA.

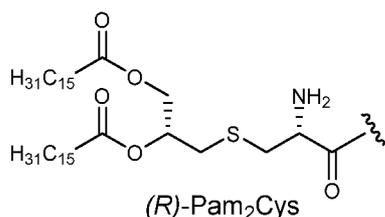
Неочищенный пептид очищали способом полупрепаративной RP-ВЭЖХ с использованием колонки Phenomenex Gemini C18 (5 мкм, 110Å) 10x250 мм с градиентом 5-50% (45% MeCN в минуту), а затем 50-100% (2% MeCN в минуту), используя MeCN в H₂O + 0,1% TFA при комнатной температуре. Очищенные пептиды **930**, **931** и **932** получали в виде аморфных твердых веществ.

930: (8 мг, 17% при чистоте >98%). R_t 20,9 мин в колонке Phenomenex Gemini C18 3 мкм 110Å 4,6 × 150 мм, используя 5-100% MeCN:H₂O + 0,1% TFA, с градиентом 3,8% MeCN в минуту; **LRMS** (ESI +) [M + 2H]²⁺ 1187,1 рассчитано для C₁₁₈H₂₁₃N₂₁O₂₄S₂ 1186,6.

931: (9 мг, 19% при чистоте >98%). R_t 25,7 мин в колонке Phenomenex Gemini C18 3 мкм 110Å 4,6 × 150 мм, используя 5-100% MeCN:H₂O + 0,1% TFA, с градиентом 3,8% MeCN в минуту; **LRMS** (ESI +) [M + 2H]²⁺ 1194,1 рассчитано для C₁₁₉H₂₁₅N₂₁O₂₄S₂ 1193,6.

932: (9 мг, 19% при чистоте >98%). R_t 25,7 мин в колонке Phenomenex Gemini C18 3 мкм 110Å 4,6 × 150 мм, используя 5-100% MeCN:H₂O + 0,1% TFA, с градиентом 3,8% MeCN в минуту; **LRMS** (ESI +) [M + 2H]²⁺ 1201,1 рассчитано для C₁₂₀H₂₁₇N₂₁O₂₄S₂ 1200,8.

3.1.3 (R)-Pam2Cys-SK4-SLLMWITQV



Пептидный конъюгат (R)-Pam2Cys-SK4-SLLMWITQV получали способами, аналогичными вышеописанным.

5 3.2 Агонизм толл-подобного рецептора 2 (TLR2) в клетках HEK-Blue

Среда обнаружения HEK-Blue™ и клетки HEK-Blue™-hTLR2 приобретались у компании Invivogen. Клетки HEK-Blue™ экспрессируют эндогенные уровни человеческого (h)TLR1 и hTLR6 и демонстрируют котрансфекцию hTLR2 и гена репортера SEAP (секретируемой эмбриональной щелочной фосфатазы). Ген-репортер SEAP находится под регуляцией минимальным стимулятором IFN-β, слитым с пятью AP-1 и пятью NFκB сайтами связывания. Клетки культивировали в соответствии с инструкциями изготовителя.

В день анализа агонисты TLR: **910**; **930**; **931**; **932**; **(R)-Pam2Cys-SK4-SLLMWITQV**; или **PBS** (отрицательный контроль) высевали в 96-луночный планшет с 20 мкл воды, свободной от эндотоксина. Все испытываемые конструкции получали на месте, как описано выше. Клетки HEK-Blue™-hTLR2 ресуспендировали при $\sim 2,78 \times 10^5$ клеток/мл в среде обнаружения HEK-Blue™, а в каждую лунку ($\sim 5 \times 10^4$ клеток) добавляли 180 мкл клеточной суспензии для получения конечных концентраций агониста, как указано для 7-log₁₀ серии разбавлений (от 10⁻⁶ М до 10⁻¹² М). Клетки инкубировали в течение 16 часов при 37 °С в 5% CO₂. Уровень экспрессии SEAP определяли количественно с использованием спектрофотометра для прочтения планшетов EnSpire (PerkinElmer) при длине волны 635 нм. Данные представлены как среднее значение +/- SD ABS или (635 нм) для трех параллельных лунок после вычитания фона.

25 Результаты исследования

Результаты приведены на Рисунке 1. Все проанализированные конструкции демонстрировали агонизм hTLR2 в концентрациях от 10⁻⁶ до 10⁻¹¹ М. Конструкции **930** (серые столбцы), **931** (столбцы с полосками) и **932** (столбцы с квадратиками) демонстрировали сопоставимый агонизм TLR2 человека с **910** (белые столбцы с

точками), а **Pam2Cys-SK₄LLMWITQV** (черные столбцы) при каждой концентрации (от 10^{-6} до 10^{-11} М), демонстрировали, что гомологизация удлиняющего сегмента не подавляет связывание или передачу сигналов через TLR2 человека с помощью диацилированных липопептидных конструкций.

5 4. Пример 4

В этом примере исследуется агонизм TLR2 человека, соединений по настоящему изобретению, по сравнению с конъюгатом известных агонистов TLR2 ((R)-Pam2Cys, (S)-Pam2Cys, (R)-Pam3Cys и (S)-Pam3Cys).

4.1 Пептидные конъюгаты

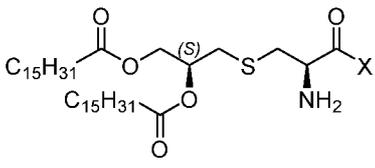
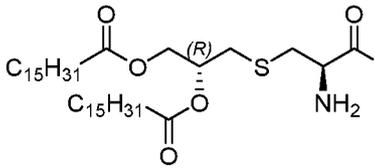
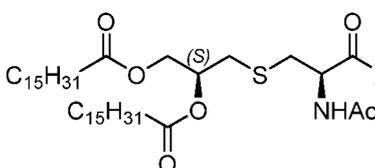
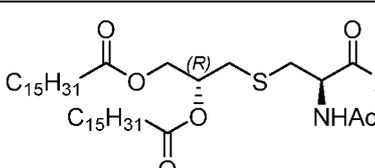
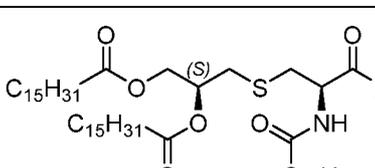
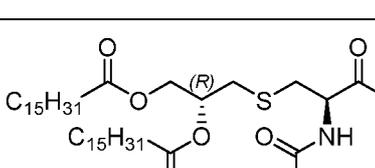
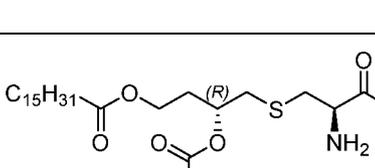
10 Испытанные пептидные конъюгаты приведены в Таблице 3 и 4 ниже. Пептидные конъюгаты **910, 911, 912, 913, 930, 931** и **932** получали способом, описанным выше в Примере 3. Пептидные конъюгаты **45a, 45b, 46a, 46b, 47a, 47b** получали способами, аналогичными вышеописанным.

4.2 Агонизм толл-подобного рецептора 2 (TLR2) в клетках HEK-Blue

15 Агонизм TLR2 человека на пептидные конъюгаты исследовали с использованием клеток HEK-Blue™-hTLR2 и среды обнаружения Hek-Blue™ (Invivogen) в серии разбавлений 8-log_{10} (от 10^9 fM до 10^2 fM). Агонисты разбавляли и инкубировали с клетками HEK-Blue™-hTLR2 в течение 16 часов, а затем определяли поглощение (ABS) в лунках при 655 нм, используя микропланшетный ридер (BioRad) компании
20 Ultramark™. Значения EC_{50} (нМ) определяли путем подбора кривой нелинейной регрессии нормализованных значений ABS (655nm) с использованием программного обеспечения Prism 7 (GraphPad).

Результаты исследования

25 Значения EC_{50} определяли для конструкций *homo*Pam2Cys **910, 911, 912** и **913** и сравнивали со значениями EC_{50} для соответствующих конструкций Pam2Cys **45a** и **45b**, N-ацетилированных конструкций Pam2Cys **46a** и **46b** и конструкций Pam3Cys **47a** и **47b** (Таблица 3). Результаты анализа агонизма hTLR показаны на Рисунке 2A. Все конструкции демонстрировали агонизм hTLR2. Конструкции *Homo*Pam2Cys продемонстрировали сравнимую активность с соответствующими конструкциями
30 Pam2Cys и Pam3Cys. Конструкции (S)-*homo*Pam2Cys **912** и **913** показали улучшенную активность по сравнению с конструкциями (S)-Pam2Cys **45a** и **46a**, а также сопоставимую активность с конструкцией (R)-Pam3Cys **47b**.

№	Структура	EC ₅₀ (нМ)
45a		155,693
45b		0,468
46a		150,598
46b		0,281
47a		161,006
47b		22,959
910		0,609

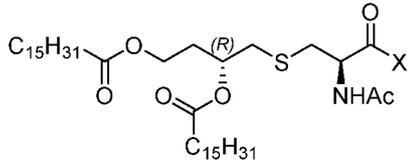
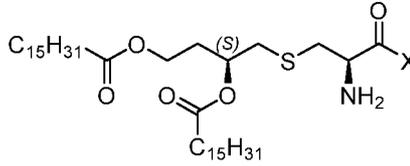
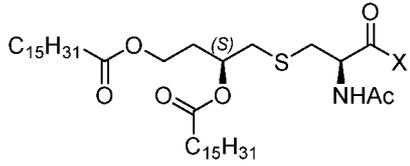
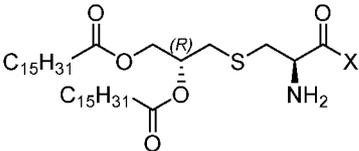
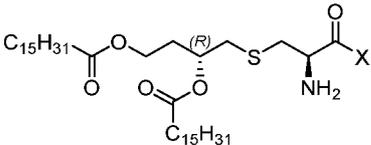
911		1,162
912		46,156
913		17,381

Таблица 3: Структуры пептидных конъюгатов 45a, 45b, 46a, 46b, 47a, 47b, 910-913 и EC₅₀ для агонизма TLR2 человека, как определено с использованием анализа клеток HEK-Blue™ X = -SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID No: 139].

- 5 Значения EC₅₀ затем определяли для конструкций с удлиненной цепью **930**, **931** и **932** и сравнивали со значениями EC₅₀ для конструкции *homo*Pam2Cys **910** и соответствующей конструкции Pam2Cys **45b** (Таблица 4). Результаты анализа агонизма hTLR показаны на Рисунке 2B. Все проанализированные конструкции продемонстрировали значительный агонизм hTLR2. Конструкции **930** и **931** имели значения EC₅₀, похожие на **910** и **45b**. Конструкция **932** продемонстрировала слегка пониженную активность по сравнению с конструкцией **910**.

№	Структура	EC ₅₀ (нМ)
45b		0,468
910		0,609

930		0,383
931		0,304
932		4,445

Таблица 4: Структуры пептидных конъюгатов 45b, 910, 930-932 и EC₅₀ для агонизма TLR2 человека, как определено с использованием анализа клеток HEK-Blue™ X = -SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID No: 139].

5. Пример 5

- 5 В этом примере исследуется агонизм TLR2 мыши, соединений по настоящему изобретению, по сравнению с конъюгатом известных агонистов TLR2 ((R)-Pam2Cys, (S)-Pam2Cys, (R)-Pam3Cys и (S)-Pam3Cys).

5.1 Пептидные конъюгаты

10 Испытанные пептидные конъюгаты приведены в Таблице 3 и 4 ниже. Пептидные конъюгаты **910, 911, 912, 913, 930, 931 и 932** получали способом, описанным выше в Примере 3. Пептидные конъюгаты **45a, 45b, 46a, 46b, 47a, 47b** получали способами, аналогичными вышеописанным.

5.2 Агонизм толл-подобного рецептора 2 (TLR2) в клетках HEK-Blue

15 Агонизм TLR2 мыши на пептидные конъюгаты исследовали с использованием клеток HEK-Blue™-mTLR2 и среды обнаружения HeK-Blue™ (Invivogen) в серии разбавлений 8-log₁₀(от 10⁹ fM до 10² fM), как описано выше в Примере 4.

Результаты исследования

20 Результаты для конструкций homoPam2Cys **910, 911, 912 и 913** по сравнению с соответствующими конструкциями Pam2Cys **45a** и **45b** N-ацетилированными конструкциями Pam2Cys **46a** и **46b** и конструкциями Pam3Cys **47a** и **47b** (структуры,

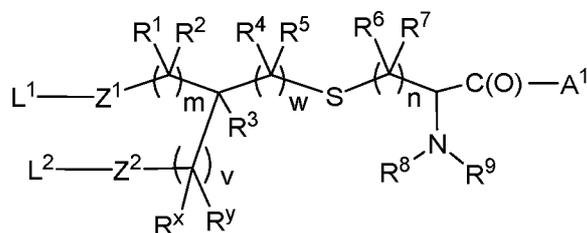
изображены в Таблице 3) представлены на Рисунке 3А. Все конструкции продемонстрировали агонизм TLR2 мыши.

Результаты для конструкций с удлиненной цепью **930**, **931** и **932** по сравнению с конструкцией *homo*Ram2Cys **910** и соответствующей конструкцией Ram2Cys **45b** (структуры, изображены в Таблице 4) представлены на Рисунке 3В. Все проанализированные конструкции продемонстрировали агонизм TLR2 мыши.

Объем изобретения не ограничивается только вышеупомянутыми примерами. Специалисту в данной области техники очевидно, что возможно много вариантов, не выходящих за пределы объема изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I):



(I)

5

где

каждый из m и w независимо представляет собой целое число от 0 до 7,
а v представляет собой целое число от 0 до 5,

при условии, что:

10

сумма m , v , и w равна по меньшей мере 3; а

сумма m и w составляет от 0 до 7;

n равно 1 или 2;

каждый $Z1$ и $Z2$ независимо выбран из группы, состоящей из: $-O-$, $-NR-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-SO_2-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-C(O)NR-$, $-NRC(O)-$, $-C(O)S-$,
15 $-SC(O)-$, $-OC(O)O-$, $-NRC(O)O-$, $-OC(O)NR-$, и $-NRC(O)NR-$;

каждый $R1$, $R2$, R_x , R_y , $R4$, $R5$, $R6$ и $R7$, при каждом конкретном m , v , w ,
и n , независимо представляет собой водород или C1-6 алифатическую группу;

каждый R , $R3$ и $R8$ независимо представляет собой водород или C1-6
алифатическую группу;

20

$R9$ представляет собой водород, C1-6 алифатическую группу,
аминозащитную группу, $L3-C(O)-$ или $A2$;

каждый $L1$ и $L2$ независимо выбран из C5-21 алифатической группы или
C4-20 гетероалифатической группы;

25

$L3$ представляет собой C1-21 алифатическую группу или C2-20
гетероалифатическую группу;

$A1$ представляет собой аминокислоту, пептид, OH , $OP1$, NH_2 или $NHP2$,
где $P1$ представляет собой карбоксизащитную группу, и где $P2$ представляет
собой карбоксамидзащитную группу;

$A2$ представляет собой аминокислоту или пептид;

30

где любая алифатическая или гетероалифатическая группа,
присутствующая в любом из R , $R1$, $R2$, $R3$, $R4$, $R5$, $R6$, $R7$, $R8$, $R9$, R_x , R_y , $L1$, $L2$
и $L3$, необязательно, замещена;

или его фармацевтически приемлемую соль или сольват;

при условии, что

(1) по меньшей мере один из R9 и A1 представляет собой пептид, включающий, состоящий по существу или состоящий из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

- 5 (a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃Хаа₄LQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:1], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, Хаа₃ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₄ отсутствует или представляет собой одну или более гидрофильных аминокислот,
- 10 (b) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂Хаа₃LQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:2], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, Хаа₂ отсутствует или представляет собой гидрофильную аминокислоту, а Хаа₃ отсутствует или представляет собой от одной до десяти гидрофильных аминокислот,
- 15 (c) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности Хаа₁Хаа₂LQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:3], где Хаа₁ отсутствует или представляет собой S, а Хаа₂ отсутствует или представляет собой от одной до четырех гидрофильных аминокислот,
- 20 (d) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKLQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:4],
- (e) последовательности из любой из SEQ ID NO: 1 - 4,
- (f) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности LQQLSLLMWITQХаа₂₂FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:5],
- (g) последовательности SEQ ID NO: 5,
- 25 (h) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQХаа₂₂FLPVF [SEQ ID NO:6],
- (i) последовательности SEQ ID NO: 6,
- (j) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSLLMWITQХаа₂₂ [SEQ ID NO:7],
- 30 (k) последовательности SEQ ID NO: 7,
- (l) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQХаа₂₂ [SEQ ID NO:8],

(m) последовательности SEQ ID NO: 8,

(n) или любой комбинации из двух или более (a) - (m) выше,

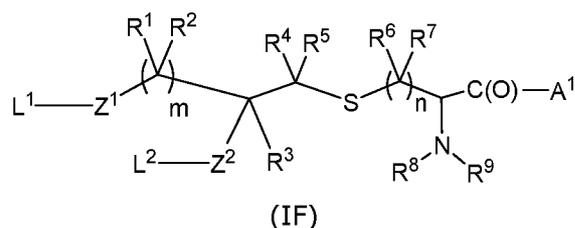
где Хаа₂₂ в каждой последовательности независимо представляет собой любую встречающуюся в природе аминокислоту, кроме С (например, V, I или L), а любая последовательность из 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из любой из вышеуказанных последовательностей содержит Хаа₂₂; или

(2) m представляет собой целое число от 3 до 7, и по меньшей мере один из R9 и A1 представляет собой аминокислоту или пептид.

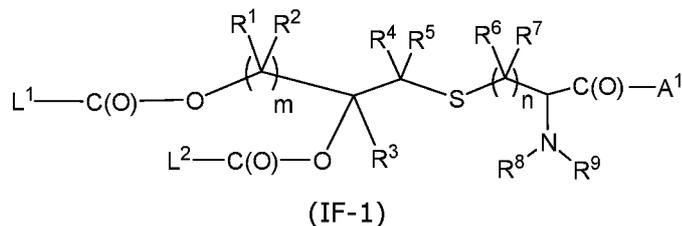
- 5
2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что по меньшей мере один из R9 и A1 представляет собой пептид, содержащий, состоящий по существу или состоящий из одной или более аминокислотных последовательностей, выбранных из группы как определено условием (1) в п. 1.
- 15
3. Соединение по п.2, отличающееся тем, что каждый m и w независимо составляет от 0 до 5.
4. Соединение по п.2 или 3, отличающееся тем, что каждый m и w независимо составляет от 1 до 4.
5. Соединение по любому из пп. 2-4, отличающееся тем, что сумма m и w составляет от 2 до 7.
- 20
6. Соединение по любому из пп. 2-5, отличающееся тем, что сумма m и w составляет от 2 до 5.
7. Соединение по любому из пп. 2-6, отличающееся тем, что сумма m и w равна 3.
- 25
8. Соединение по любому из пп. 2-7, отличающееся тем, что m составляет от 1 до 6.
9. Соединение по любому из пп. 2-8, отличающееся тем, что m составляет от 1 до 5.
10. Соединение по любому из пп. 2-9, отличающееся тем, что m составляет от 1 до 3.
- 30
11. Соединение по любому из пп. 2-10, отличающееся тем, что m равно 2.

12. Соединение по п.1, отличающееся тем, что m представляет собой целое число от 3 до 7, и по меньшей мере один из R9 и A1 представляет собой аминокислоту или пептид, как определено условием (2) п. 1.
- 5 13. Соединение по п.12, отличающееся тем, что по меньшей мере один из R9 и A1 представляет собой пептид.
- 10 14. Соединение по п. 12 или 13, отличающееся тем, что пептид содержит, по существу состоит, или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из 8 или более примыкающих аминокислот аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 8 – 129.
15. Соединение по п. 12 или 13, отличающееся тем, что, пептид содержит, состоит по существу или состоит из одной или более аминокислотных последовательностей, выбранных из группы, как определено условием (1) п.1.
- 15 16. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что Хаа₂₂ в каждой последовательности представляет собой V.
17. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что m составляет от 3 до 6.
18. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что m составляет от 3 до 5.
- 20 19. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что
каждый R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 и R7, при каждом конкретном m , v , w ,
и n , независимо представляет собой водород, C1-6 алкил или C3-6 циклоалкил;
каждый R, R3 и R8 независимо представляет собой водород, C1-6 алкил
или C3-6 циклоалкил;
- 25 R9 представляет собой водород, C1-6 алкил, C3-6 циклоалкил,
аминозащитную группу, L3-C(O)- или A2;
каждый L1 и L2 независимо выбран из C5-21 алкила, C5-21 алкенила
или C4-20 гетероалкила;
- 30 L3 представляет собой C1-21 алкил, C2-21 алкенил, C3-6 циклоалкил
или C2-20 гетероалкил;
- A1 представляет собой аминокислоту, пептид, OH, OP1, NH₂ или NHP2,
где P1 представляет собой карбоксизащитную группу, и где P2 представляет
собой карбоксамидзащитную группу;
- A2 представляет собой аминокислоту или пептид;

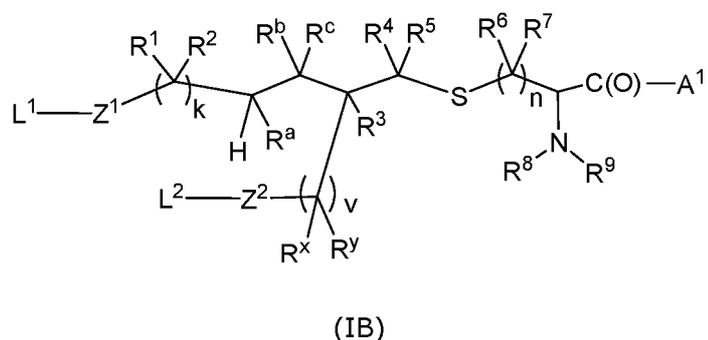
30. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что L3 представляет собой метил.
31. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что аминозащитная группа представляет собой Boc или Fmoc.
- 5 32. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что каждый R1 и R2 при каждом конкретном m, независимо представляет собой C1-6 алкил или водород, предпочтительно водород.
33. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что R3 представляет собой C1-6 алкил или водород, предпочтительно водород.
- 10 34. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что каждый R4 и R5 при каждом конкретном w, независимо представляет собой C1-6 алкил или водород, предпочтительно водород.
35. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что каждый Rx и Ry при каждом конкретном v, независимо представляет собой C1-6 алкил или водород, предпочтительно водород.
- 15 36. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что каждый R6 и R7 при каждом конкретном n, независимо представляет собой C1-6 алкил или водород, предпочтительно водород.
37. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что R8 независимо представляет собой C1-6 алкил или водород, предпочтительно водород.
- 20 38. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что R9 представляет собой C1-6 алкил, водород, аминозащитную группу, L3-C(O) или A2, предпочтительно, водород, аминозащитную группу, L3-C(O) или A2.
- 25 39. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что соединение представляет собой соединение формулы (IF):



40. Соединение по п.39, отличающееся тем, что соединение представляет собой соединение формулы (IF-1):



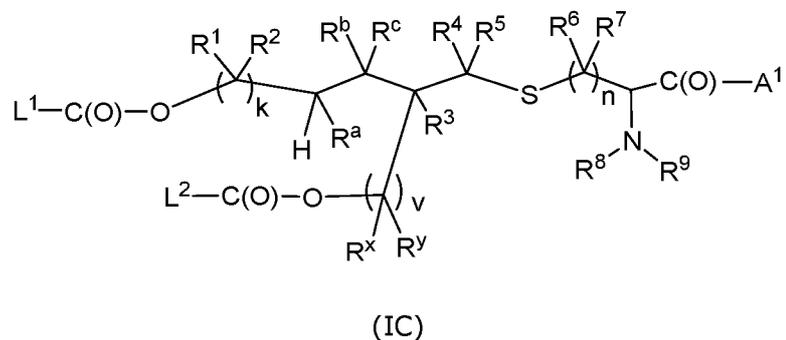
- 5 41. Соединение по любому из пп. 1-38, отличающееся тем, что соединение представляет собой соединение формулы (IB):



где

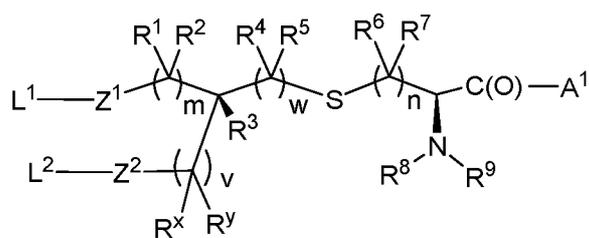
- 10 k представляет собой целое число от 0 до 4; и
каждый Ra, Rb и Rc независимо представляет собой водород или C1-6 алифатическую группу.

42. Соединение по п.41, отличающееся тем, что соединение формулы (IB) представляет собой соединение формулы (IC):



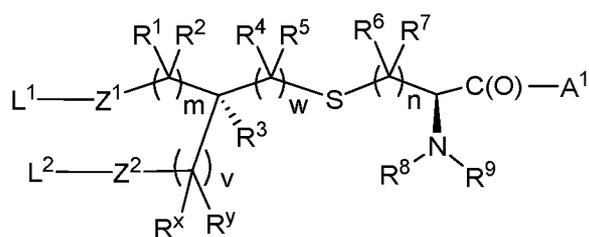
15

43. Соединение по п. 41 или 42, отличающееся тем, что k составляет от 0 до 3.
44. Соединение по любому из пп. 41-43, отличающееся тем, что k равно 0.
45. Соединение по любому из пп. 41-43, отличающееся тем, что k составляет от 1 до 3.
- 20



(IE-1)

53. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что соединение имеет формулу (IE-2):



(IE-2)

5

54. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что пептид содержит эпитоп.

10

55. Соединение по п. 54, отличающееся тем, что эпитоп представляет собой пептидный эпитоп.

56. Соединение по п. 54 или 55, отличающееся тем, что эпитоп сопрягается или связывается с помощью линкерной группы.

15

57. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что аминокислота пептидного конъюгата, с которой конъюгированы липидные фрагменты, представляет собой N-концевой аминокислотный остаток.

58. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что A1 представляет собой серин или пептид, включающий серин в качестве первого N-концевого аминокислотного остатка.

20

59. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что A1 и/или A2 представляют собой пептид, содержащий солюбилизующую группу.

60. Соединение по п.59, отличающееся тем, что солюбилизующая группа содержит аминокислотную последовательность, содержащую два или более гидрофильных аминокислотных остатка в пептидной цепи.

61. Соединение по п.60, отличающееся тем, что два или более гидрофильных аминокислотных остатков примыкают к сериновому остатку.
62. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что A1 представляет собой пептид, а R9 представляет собой водород, или L3-C(O), например, Me-C(O).
63. Соединение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что необязательные заместители выбраны из группы, состоящей из галогена, CN, NO₂, OH, NH₂, NHR₁₀, NR₁₀R₂₀, C1-6 галогеналкила, C1-6 галогеналкокси, C(O)NH₂, C(O)NHR₁₀, C(O)NR₁₀R₂₀, SO₂R₁₀, OR₁₀, SR₁₀, S(O)R₁₀, C(O)R₁₀ и C1-6 алифатической группы; где каждый R₁₀ и R₂₀ независимо представляет собой C 1-6 алифатическую группу, например C 1-6 алкил.
64. Способ получения пептидного конъюгата формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата по любому из предшествующих пунктов; включающий:
- (A) осуществление реакции
первого липидсодержащего партнера по конъюгации, содержащего двойную углерод-углеродную связь,
второго липидсодержащего партнера по конъюгации, содержащего двойную углерод-углеродную связь, и
аминокислотного партнера по конъюгации, содержащего тиол,
в условиях, способствующих конъюгации первого липидсодержащего партнера по конъюгации и второго липидсодержащего партнера по конъюгации с аминокислоту-содержащим партнером по конъюгации и получения пептидного конъюгата формулы (I) или его соли или сольвата,
где в аминокислотном или пептидном конъюгате, атом серы из тиола аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации соединяется с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации, а атом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации соединяется с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи второго липидсодержащего партнера по конъюгации; или
- (B) осуществление реакции
первого липидсодержащего партнера по конъюгации, содержащего двойную углерод-углеродную связь,
второго липидсодержащего партнера по конъюгации, содержащего двойную углерод-углеродную связь, и

аминокислотну-содержащего партнера по конъюгации, содержащего тиол,

в условиях, способствующих конъюгации первого липидсодержащего партнера по конъюгации и второго липидсодержащего партнера по конъюгации с аминокислоту-содержащим партнером по конъюгации и получения аминокислотного или пептидного конъюгата,

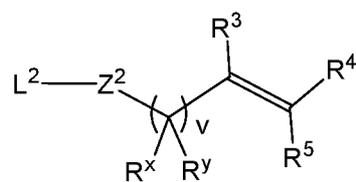
где в аминокислотном или пептидном конъюгате атом серы из тиола аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации соединяется с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации, а атом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации соединяется с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи второго липидсодержащего партнера по конъюгации; и

сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида для получения пептидного конъюгата формулы (I) или его соли или сольвата.

65. Способ по п. 64, отличающийся тем, что первый и второй липидсодержащие партнеры конъюгации имеют одинаковую структуру.

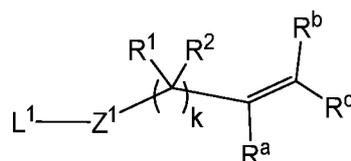
66. Способ по п. 64 или 65, отличающийся тем, что способ включает конъюгирование атома серы из тиола с атомом углерода из двойной углерод-углеродной связи первого липидсодержащего партнера по конъюгации, а затем конъюгирование атома углерода из двойной углерод-углеродной связи, в которой указанный тиол конъюгирован с атомом углерода двойной углерод-углеродной связи второго липидсодержащего партнера по конъюгации.

67. Способ по любому из пп. 64-66, отличающийся тем, что: первый липидсодержащий партнер по конъюгации представляет собой соединение формулы (IIA):



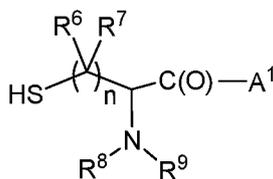
(IIA);

второй липидсодержащий партнер по конъюгации представляет собой соединение формулы (IIB):



(IIB); и

аминокислоту-содержащий партнер по конъюгации, включает структуру формулы (III):



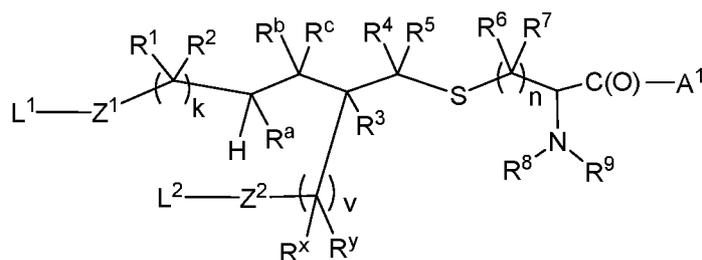
(III);

где:

когда способ представляет собой (A), то Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, A1, k, v и n соответствуют определению в соединении формулы (IB) по любому из предшествующих пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п.1); и

когда способ представляет собой (B), то Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, A1, k, v и n соответствуют определению в соединении формулы (IB) по любому из предшествующих пунктов, но исключая условия (1) и/или (2) согласно п.1.

68. Способ по любому из пп. 64-67, отличающийся тем, что аминокислотный или пептидный конъюгат представляет собой соединение формулы (IB):



(IB)

где:

когда способ представляет собой (A), то Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, A1, k, v и n соответствуют определению в соединении формулы (IB) по любому из предшествующих пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п.1); и

когда способ представляет собой (B), то Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, A1, k, v и n соответствуют определению

в соединении формулы (IB) по любому из предшествующих пунктов, но исключая условия (1) и/или (2) согласно п.1.

- 5 69. Способ по любому из пп. 64-68, отличающийся тем, что липидсодержащие партнеры по конъюгации находятся в стехиометрическом избытке по отношению к аминокислоту-содержащему партнеру по конъюгации.
- 10 70. Способ по любому из пп. 64-69, отличающийся тем, что условия, способствующие конъюгации липидсодержащего партнера по конъюгации с аминокислоту-содержащим партнером по конъюгации, включают образование одного или более свободных радикалов, инициируемых термическим разложением термического инициатора и/или фотохимическим разложением фотохимического инициатора.
71. Способ по п. 70, отличающийся тем, что термический инициатор представляет собой AIBN, а фотохимический инициатор представляет собой DMPA.
- 15 72. Способ по п. 70 или 71, отличающийся тем, что фотохимическое разложение свободнорадикального инициатора включает облучение ультрафиолетовым светом, предпочтительно имеющим частоту, совместимую с боковыми цепочками встречающихся в природе аминокислот, предпочтительно составляющую 365 нм.
- 20 73. Способ по любому из пп. 64-72, отличающийся тем, что реакция осуществляется в жидкой среде, содержащей растворитель, где растворитель включает NMP, DMF, DMSO или их смесь.
74. Способ по п. 73, отличающийся тем, что растворитель выключает NMP.
- 25 75. Способ по любому из пп. 64-74, отличающийся тем, что реакция протекает в присутствии одной или более добавок, которые подавляют образование побочных продуктов и/или повышают выход или глубину превращения требуемого конъюгата.
- 30 76. Способ по п. 74, отличающийся тем, что одна или более добавок представляет собой посторонний тиол, кислоту, органосилан или комбинацию любых двух или более из них.
77. Способ по п.75, отличающийся тем, что посторонний тиол представляет собой стерически затрудненный тиол, например трет-бутилмеркаптан.

78. Способ по п. 75 или 76, отличающийся тем, что кислота представляет собой сильную органическую кислоту, например TFA.

79. Способ по любому из пп. 75-77, отличающийся тем, что органосилан представляет собой триалкилсилан, например, TIPS.

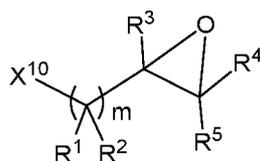
5

80. Способ по любому из пп. 75-78, отличающийся тем, что аминокислотный конъюгат или пептидный конъюгат выделяют из реакционной среды после реакции и, необязательно, очищают.

10

81. Способ получения пептидного конъюгата формулы (IF) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата по любому из предшествующих пунктов, включающий:

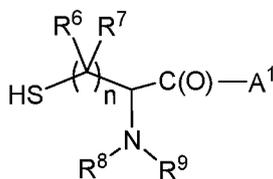
(A) осуществление реакции эпоксида формулы (XVI):



15

(XVI); и

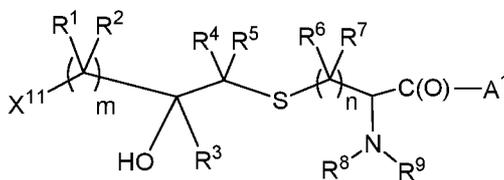
Аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации, содержащего тиол формулы (III):



(III)

20

в условиях, способствующих конъюгации эпоксида и аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации и получению соединения формулы (XV):



(XV)

где

25

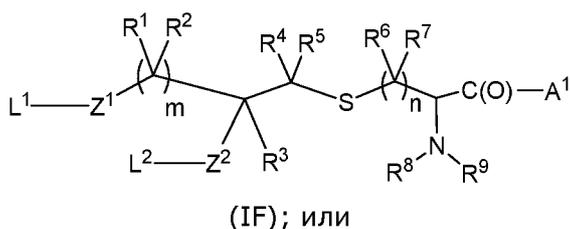
X¹⁰ представляет собой L1-Z1-, -OH, -SH, -NHR, HNRC(O)O-, P10-O-, P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-;

X¹¹ представляет собой X¹⁰ или -OH, -SH, -NHR или HNRC(O)O-, когда X¹⁰ представляет собой P10-O-, P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-, и указанные условия способствуют удалению P10, P11 или P12;

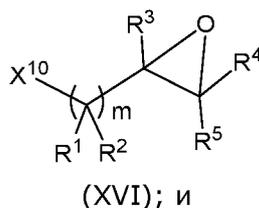
каждый P10, P11 и P12 независимо представляет собой защитную группу;

m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 и A1 соответствуют определению в соединении формулы (IF) по любому из предшествующих пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п. 1); и

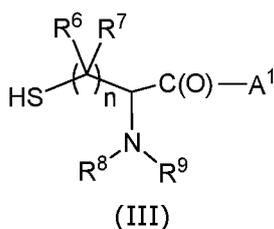
превращение соединения формулы (XV) в пептидный конъюгат формулы (IF) по любому из предшествующих пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п. 1) или его фармацевтически приемлемую соль или сольват посредством одной или более дополнительных стадий синтеза:



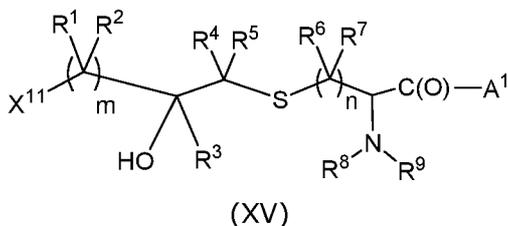
(B) осуществление реакции эпоксида формулы (XVI):



Аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации, содержащего тиол, формулы (III):



в условиях, способствующих конъюгации эпоксида и аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации и получению соединения формулы (XV):



где

X10 представляет собой L1-Z1-, -OH, -SH, -NHR, HNRC(O)O-, P10-O-, P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-;

X11 представляет собой X10 или –OH, –SH, –NHR или HNRC(O)O–, когда X10 представляет собой P10–O–, P11–S–, P12–NR– или P12–NRC(O)O–, и указанные условия способствуют удалению P10, P11 или P12;

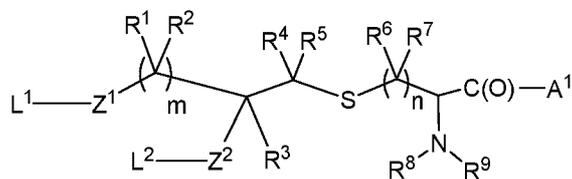
P10, P11 и P12 каждое независимо представляет собой защитную группу;

5

m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 и A1 соответствуют определению в соединении формулы (IF) по любому из предшествующих пунктов, но исключая условия (1) и/или (2) согласно п.1; и

10

превращение соединения формулы (XV) в аминокислотный или пептидный конъюгат формулы (IF), по любому из предшествующих пунктов, но исключая условия (1) и/или (2) согласно п.1, или его соль или сольват посредством одной или более дополнительных стадий синтеза:



(IF); и

15

сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида для получения пептидного конъюгата формулы (IF) по любому из предшествующих пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п.1) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

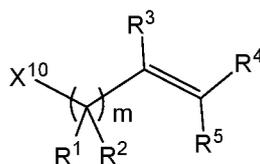
20

82. Способ по п.81, отличающийся тем, что X10 представляет собой L1–C(O)O–, OH или P10–O–; а X11 представляет собой L1–C(O)O–, P10–O– или OH.

83. Способ по п. 81 или 82, отличающийся тем, что указанный способ включает осуществление реакции эпоксида и аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации в присутствии кислоты.

25

84. Способ по любому из пп. 81-83, отличающийся тем, что указанный способ включает получение эпоксида путем осуществления реакции алкена формулы (XVII):

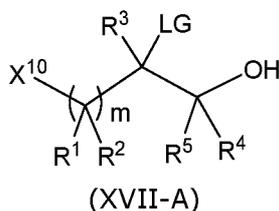


(XVII)

30

и окислителя в условиях, способствующих эпексидированию алкена.

85. Способ по любому из пп. 81-83, отличающийся тем, что указанный способ включает получение эпоксида путем осуществления реакции соединения формулы (XVII-A), где LG представляет собой уходящую группу:



5

и основания в условиях, способствующих эпексидированию.

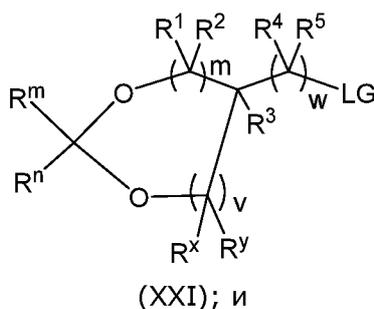
86. Способ по любому из пп. 81-85, отличающийся тем, что X11 представляет собой P10-O- или OH, а одна или более стадий синтеза включают ацилирование соединения формулы (XV) таким образом, что происходит замена P10 или атома водорода гидроксильной группы из X11 на L1-C(O)-, и/или ацилирование соединения формулы (XV) таким образом, чтобы происходит замена атома водорода гидроксильной группы, связанного с углеродом, к которому присоединен R3, на L2-C(O)-.

10

87. Способ получения пептидного конъюгата формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата по любому из предшествующих пунктов, включающий:

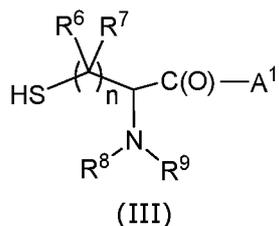
15

- (A) осуществление реакции соединения формулы (XXI):



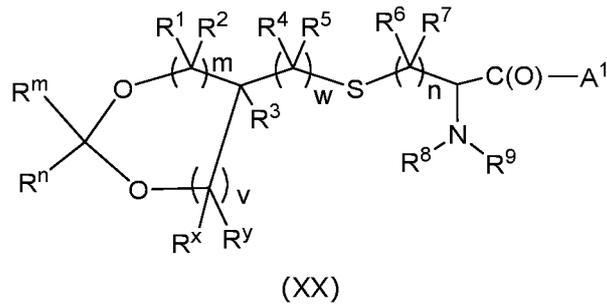
20

Аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации, содержащего тиол, формулы (III):



25

в условиях, способствующих конъюгации соединения формулы (XXI) и аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации и получению соединения формулы (XX):



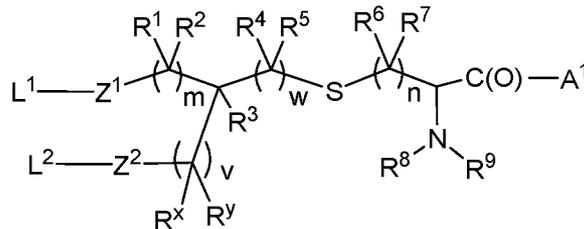
где

каждый R_m и R_n независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, арил или гетероарил;

LG представляет собой уходящую группу; а

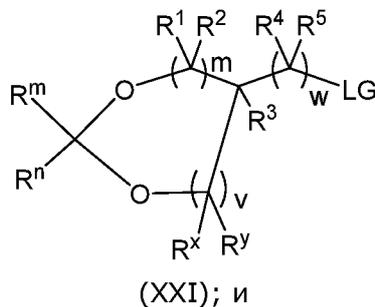
m, w, v, n, R_x, R_y, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉ и A₁ соответствуют определению в соединении формулы (I) по любому из предшествующих пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п. 1); и

превращение соединения формулы (XX) в пептидный конъюгат формулы (I) по любому из предшествующих пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п. 1) или его фармацевтически приемлемую соль или сольват посредством одной или более дополнительных стадий синтеза:

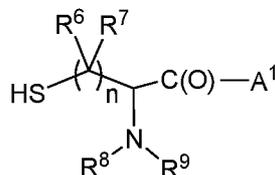


(I); или

(B) осуществление реакции соединения формулы (XXI):

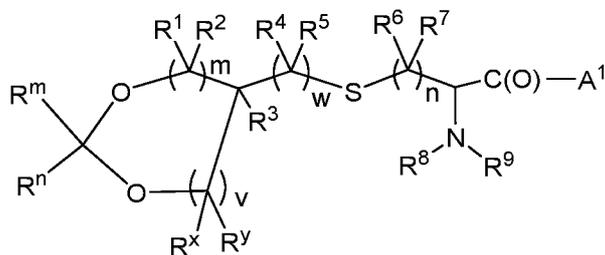


Аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации, содержащего тиол, формулы (III):



(III)

в условиях, способствующих конъюгации соединения формулы (XXI) и аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации и получению соединения формулы (XX):



(XX)

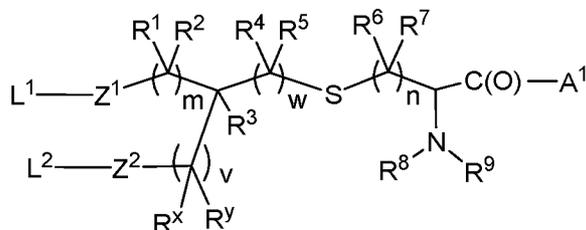
где

каждый Rm и Rn независимо представляет собой водород, C1-6 алкил, арил или гетероарил;

10 LG представляет собой уходящую группу; а

m, w, v, n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 и A1 соответствуют определению в соединении формулы (I) по любому из предшествующих пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п.1); и

15 превращение соединения формулы (XX) в аминокислотный или пептидный конъюгат формулы (I), по любому из предшествующих пунктов, но исключая условия (1) и/или (2) согласно п.1, или его соль или сольват посредством одной или более дополнительных стадий синтеза:



(I); и

20 сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида для получения пептидного конъюгата формулы (I) по любому из предшествующих пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п.1) или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

25 88. Способ по п.87, отличающийся тем, что каждый Rm и Rn независимо выбран из водорода, C1-6 алкила или арила.

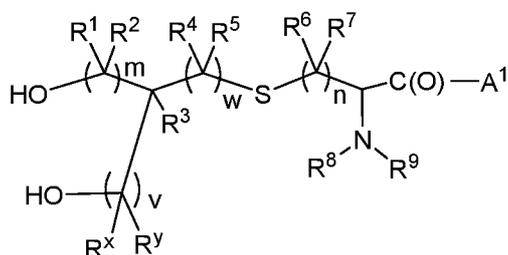
89. Способ по п.87 или 88, отличающийся тем, что Rm представляет собой водород, C1-6 алкил или арил, а Rn представляет C1-6 алкил или арил.

90. Способ по любому из пп. 87-89, отличающийся тем, что значения m и v таковы, что данное соединение (XXI) включает 5-7-членный циклический ацеталь.

91. Способ по п. 90, отличающийся тем, что циклический ацеталь представляет собой 6-членный циклический ацеталь.

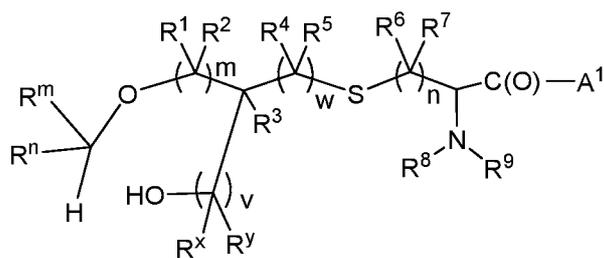
5 92. Способ по любому из пп.87-91, отличающийся тем, что указанный способ включает осуществление реакции соединения формулы (XXI) и аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации формулы (III) в присутствии основания.

93. Способ по любому из пп.87-92, отличающийся тем, что одна или более стадий синтеза включают удаление ацеталя в соединении формулы (XX) с получением соединения формулы (XXIII-1):



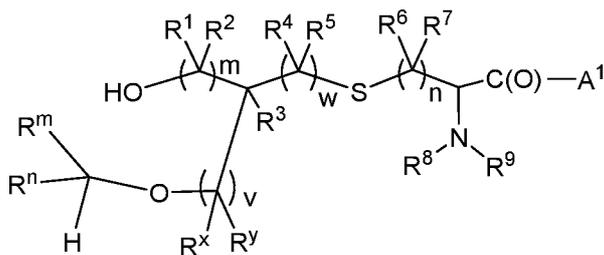
(XXIII-1).

94. Способ по любому из пп.87-92, отличающийся тем, что R^m необязательно замещен арилом, например фенилом или метоксизамещенным фенилом, а способ включает удаление ацеталя в соединении формулы (XX) с получением соединения формулы (XXIII-2) или (XXIII-3):



(XXIII-2)

20



(XXIII-3)

95. Способ по п. 93, отличающийся тем, что одна или более стадий синтеза включают превращение гидроксильной группы, связанной с углеродом, к которому присоединены R1 и R2 в соединении формулы (XXIII-1), в L1-Z1-, и/или превращение гидроксильной группы, связанной с углеродом, к которому присоединены Rx и Ry, в L2-Z2.
- 5
96. Способ по п. 94, отличающийся тем, что одна или более стадий синтеза включают:
- 10 превращение гидроксильной группы, связанной с атомом углерода, к которому присоединены Rx и Ry в соединении формулы (XXIII-2), в L2-Z2-; удаление группы RmRnCH- для получения гидроксильной группы и превращение гидроксильной группы в L1-Z1; или
- 15 превращение гидроксильной группы, связанной с углеродом, к которому присоединены Rx и Ry в соединении формулы (XXIII-2), в L1-Z1-; удаление группы RmRnCH- для получения гидроксильной группы и превращение гидроксильной группы в L2-Z2-.
97. Способ по п. 95 или 96 отличающийся тем, что превращение указанной гидроксильной группы в L1-Z1- или L2-Z2- включает ацилирование таким образом, что происходит замена атома водорода гидроксильной группы на L1-C(O)- или L2-C(O)-.
- 20
98. Способ по любому из пп. 64-97, отличающийся тем, что аминокислоту-содержащий партнер по конъюгации представляет собой пептидсодержащий партнер по конъюгации.
99. Способ по п. 98, отличающийся тем, что пептидсодержащий партнер по конъюгации содержит эпитоп.
- 25
100. Способ по любому из пп. 64-99, отличающийся тем, что аминокислоту-содержащий партнер по конъюгации состоит из пептида.
101. Способ по любому из пп. 64-100, отличающийся тем, что аминокислоту-содержащий партнер по конъюгации представляет собой пептидсодержащий партнер по конъюгации, содержащий 15 или менее, 14 или менее, 13 или менее, 12 или менее, 11 или менее, 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее или 3 или менее аминокислотных остатков.
- 30

102. Способ по любому из пп. 64-97, отличающийся тем, что указанный способ представляет собой (В), а аминокислоту-содержащий партнер по конъюгации состоит из аминокислоты.
- 5 103. Способ по любому из пп. 64-102, отличающийся тем, что С-конец аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации защищен защитной группой, и/или N α -аминогруппа аминокислоту-содержащего партнера по конъюгации защищена защитной группой.
- 10 104. Способ по любому из пп. 64-101 и п. 103, отличающийся тем, что аминокислотный остаток, содержащий тиол, представляет собой N-концевой аминокислотный остаток.
105. Способ по любому из пп. 64-104, отличающийся тем, что тиол представляет собой тиол цистеинового остатка.
- 15 106. Способ по любому из пп.64-105, отличающийся тем, что R 9 в аминокислоту-содержащем партнере по конъюгации, содержащем тиол, представляет собой L3-C(O)-, например, Me-C(O)-.
107. Способ по любому из пп. 64-106, отличающийся тем, что указанный способ представляет собой (В).
- 20 108. Способ получения пептидного конъюгата, включающий:
получение аминокислотного или пептидного конъюгата формулы (I) по любому из предшествующих пп.1-63, но исключая условия (1) и/или (2) согласно п. 1, или его соли или сольвата, и
сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида для получения пептидного конъюгата формулы (I) по любому из
25 предшествующих пунктов 1-63 (включая условия (1) и/или (2) согласно п.1) или его соли или сольвата.
109. Способ по п.107 или 108, отличающийся тем, что указанный способ включает сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата с аминокислотой или аминокислотой пептида и получение пептидного конъюгата.
- 30 110. Способ по любому из пп. 107-109 отличающийся тем, что указанный способ включает сопряжение аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислоты пептидного конъюгата с аминокислотой или пептидом таким образом, чтобы получить пептидный конъюгат, содержащий пептидный эпитоп.

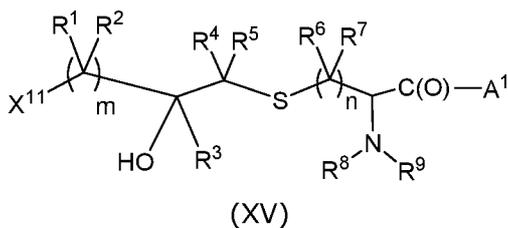
111. Способ по любому из пп. 107-110 отличающийся тем, что указанный способ включает сопряжение эпитопа с аминокислотой аминокислотного конъюгата или аминокислотой пептидного конъюгата.
112. Способ по п. 108 или 109, отличающийся тем, что пептид содержит эпитоп.
- 5 113. Способ по любому из пп. 99, 111 и 112, отличающийся тем, что эпитоп представляет собой пептидный эпитоп.
114. Способ по п. 113, отличающийся тем, что сопряжение или связывание эпитопа происходит с помощью линкерной группы.
- 10 115. Способ по любому из пп. 107-114, отличающийся тем, что аминокислота пептидного конъюгата, с которым конъюгированы липидные фрагменты, представляет собой N-концевой аминокислотный остаток.
116. Способ по любому из пп. 64-115, отличающийся тем, что способ дополнительно включает ацилирование N α -аминогруппы аминокислоты аминокислотного конъюгата или аминокислотного остатка пептидного конъюгата, с которым конъюгированы липидные фрагменты.
- 15 117. Способ по п.116, отличающийся тем, что аминогруппу ацилируют C2-20 жирной кислотой, такой как ацетил.
118. Способ по любому из пп.64-117, отличающийся тем, что пептидный конъюгат или аминокислоту-содержащий партнер по конъюгации содержит одну или более солюбилизирующих групп.
- 20 119. Способ по п. 118, отличающийся тем, что солюбилизирующая группа представляет собой аминокислотную последовательность, включающую последовательность из двух или более последовательных гидрофильных аминокислотных остатков в пептидной цепи.
- 25 120. Способ по любому из пп. 64-118, отличающийся тем, что пептидный конъюгат и/или аминокислоту-содержащий партнер по конъюгации содержит сериновый остаток, примыкающий к аминокислотному остатку, с которым конъюгированы липидные фрагменты.
- 30 121. Аминокислотный или пептидный конъюгат формулы (I) по любому из пп.1-63 или его соль или сольват, полученные способом по любому из пп. 64-120.
122. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество соединения пептидного конъюгата по любому из пп.1-63 и 121 или его

фармацевтически приемлемой соли или сольвата и фармацевтически приемлемый носитель.

123. Фармацевтическая композиция по п.122, содержащая эффективное количество двух или более соединений пептидного конъюгата по любому из пп.1-63 и 121.
- 5 124. Способ вакцинирования или вызывания иммунного ответа у пациента, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества одного или более соединений пептидного конъюгата по любому из пп. 1-63 и 121 или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или эффективного количества фармацевтической композиции по п. 122 или 123.
- 10 125. Применение одного или более соединений пептидного конъюгата по любому из пп. 1-63 и 121 или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата или фармацевтической композиции по п. 122 или 123 при изготовлении лекарственного средства для вакцинации или вызывания иммунного ответа у пациента.
- 15 126. Одно или более соединений пептидного конъюгата по любому из пп.1-63 и 121 или его фармацевтически приемлемая соль или сольват или фармацевтическая композиция по п.122 или 123 для вакцинации или вызывания иммунного ответа у пациента.
- 20 127. Способ активации TLR2 у пациента, включающий введение пациенту эффективного количества одного или более пептидного конъюгата по любому из пп. 1-63 или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или эффективного количества фармацевтической композиции по п. 122 или 123.
- 25 128. Применение одного или более соединений пептидного конъюгата по любому из пп. 1-63 и 121 или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата или фармацевтической композиции по п. 122 или 123 при изготовлении лекарственного средства для активации TLR2 у пациента.
129. Одно или более соединений пептидного конъюгата по любому из пп.1-63 и 121 или его фармацевтически приемлемая соль или сольват или фармацевтическая композиция по п.122 или 123 для активации TLR2 у пациента.
- 30 130. Соединение по любому из пп.1-63 и 121, способ по любому из пп. 64-120, фармацевтическая композиция по п. 122 или 123, способ по п. 124 или 127, применение по п. 125 или 128 или пептидный конъюгат по п. 126 или 129, где соединение пептидного конъюгата формулы (I) соответствует определению по любому из пунктов 1-63 и 121, и имеет EC₅₀ для агонизма TLR2

(предпочтительно hTLR2) менее чем около 500 нМ, как определено с использованием анализа клеток HEK-Blue™.

131. Соединение по любому из пп.1-63 и 121, способ по любому из пп. 64-120, фармацевтическая композиция по п. 122 или 123, способ по п. 124 или 127, применение по п. 125 или 128 или пептидный конъюгат по п. 126 или 129, где соединение пептидного конъюгата формулы (I) соответствует определению по любому из пунктов 1-63 и 121, и включает пептид, содержащий, состоящий, состоящий по существу из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из:
- (a) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SKKKKSLLMWITQXaa₂₂ [SEQ ID NO:7],
- (b) последовательности SEQ ID NO: 7,
- (c) 8 или более примыкающих аминокислотных остатков из последовательности SLLMWITQXaa₂₂ [SEQ ID NO:8],
- (d) последовательности SEQ ID NO: 8,
- (e) или любой комбинации из двух или более (a) - (d) выше.
132. Соединение по любому из пп.1-63 и 121, способ по любому из пп. 64-120, фармацевтическая композиция по п. 122 или 123, способ по п. 124 или 127, применение по п. 125 или 128 или пептидный конъюгат по п. 126 или 129, где соединение пептидного конъюгата формулы (I) соответствует определению по любому из пунктов 1-63 и 121, и представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из соединений 910, 911, 912, 913, 930, 931 и 932 из приведенных в заявке Примеров.
133. Соединение по любому из пп.1-63 и 121, способ по любому из пп. 64-120, фармацевтическая композиция по п. 122 или 123, способ по п. 124 или 127, применение по п. 125 или 128 или пептидный конъюгат по п. 126 или 129, где соединение пептидного конъюгата формулы (I) соответствует определению по любому из пунктов 1-63 и 121, и включает пептид, содержащий, состоящий по существу, состоящий, или из аминокислотной последовательности, выбранной из группы состоящей из 8 или более примыкающих аминокислот из аминокислотной последовательности из любой из SEQ ID NO: 1 – 139.
134. Соединение формулы (XV):



где

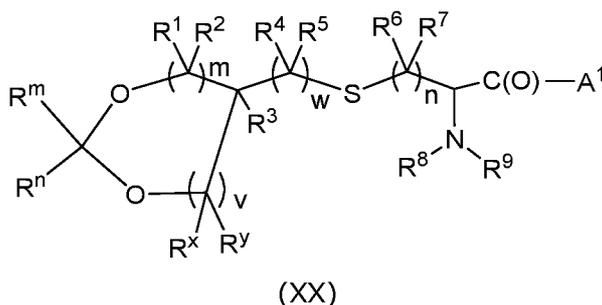
X11 представляет собой L1-Z1-, -OH, -SH, -NHR, HNRC(O)O-, P10-O-,
 5 P11-S-, P12-NR- или P12-NRC(O)O-;

каждый P10, P11 и P12 независимо представляет собой защитную
 группу;

m представляет собой целое число от 2 до 6; а

10 n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 и A1 соответствуют
 определению в соединении формулы (I) по любому из предшествующих
 пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п.1); или их соли или
 сольвату.

135. Соединение формулы (XX):



где:

каждый Rm и Rn независимо представляет собой водород, C1-6 алкил,
 арил или гетероарил;

каждый m и w независимо представляет собой целое число от 0 до 7, а
 20 v представляет собой целое число от 0 до 5,

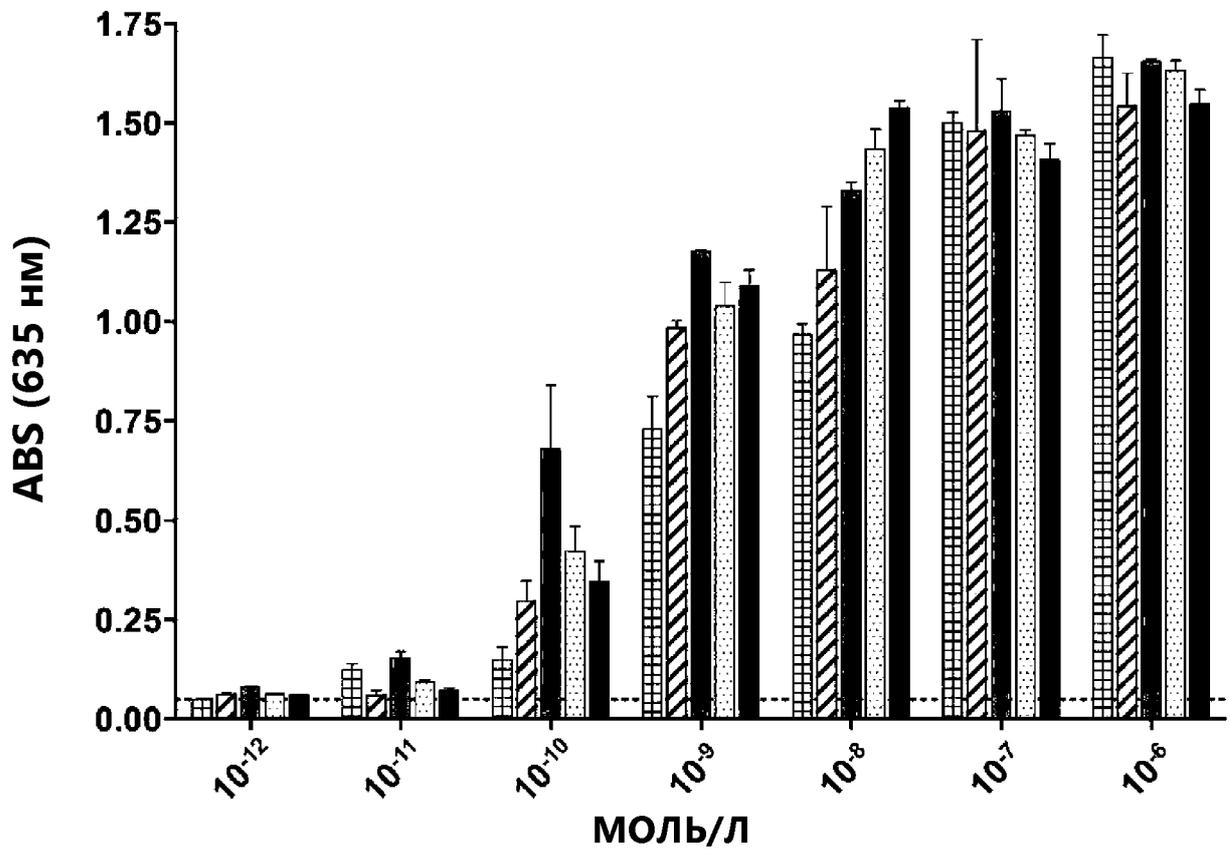
при условии, что:

сумма m, v, и w по меньшей мере равна 3; а

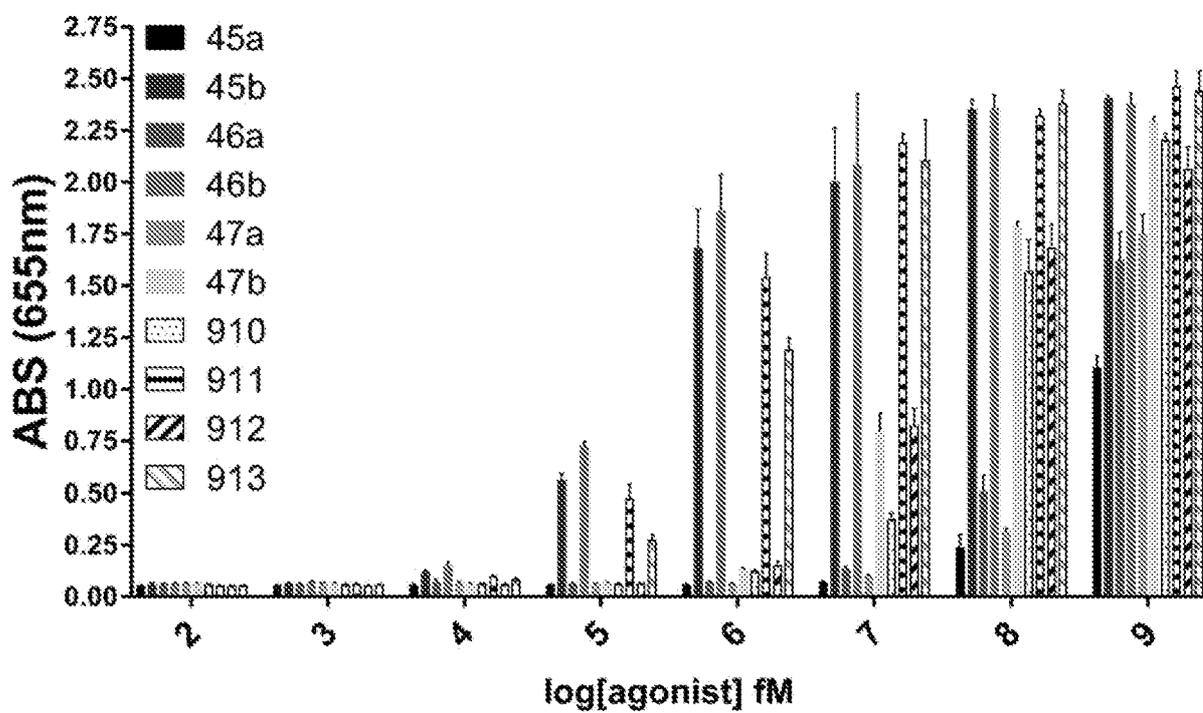
сумма m и w составляет от 0 до 7; а

25 n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 и A1 соответствуют
 определению в соединении формулы (I) по любому из предшествующих
 пунктов (включая условия (1) и/или (2) согласно п. 1); или их соли или
 сольвату.

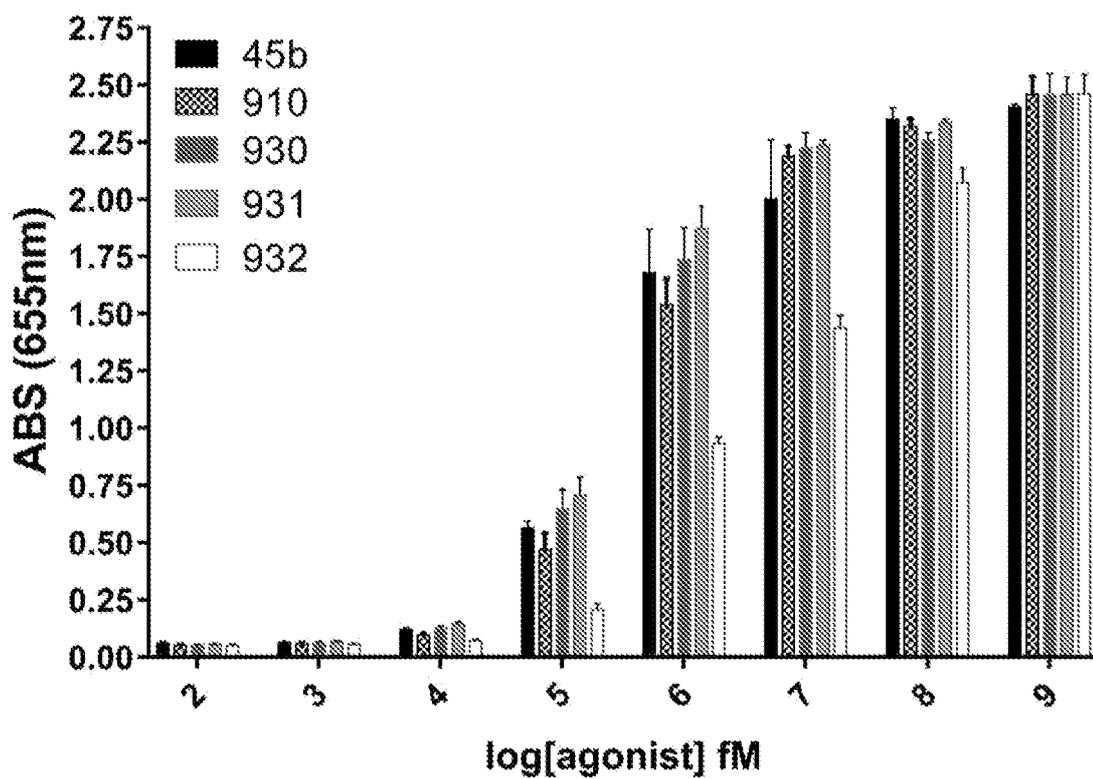
ФИГУРА 1



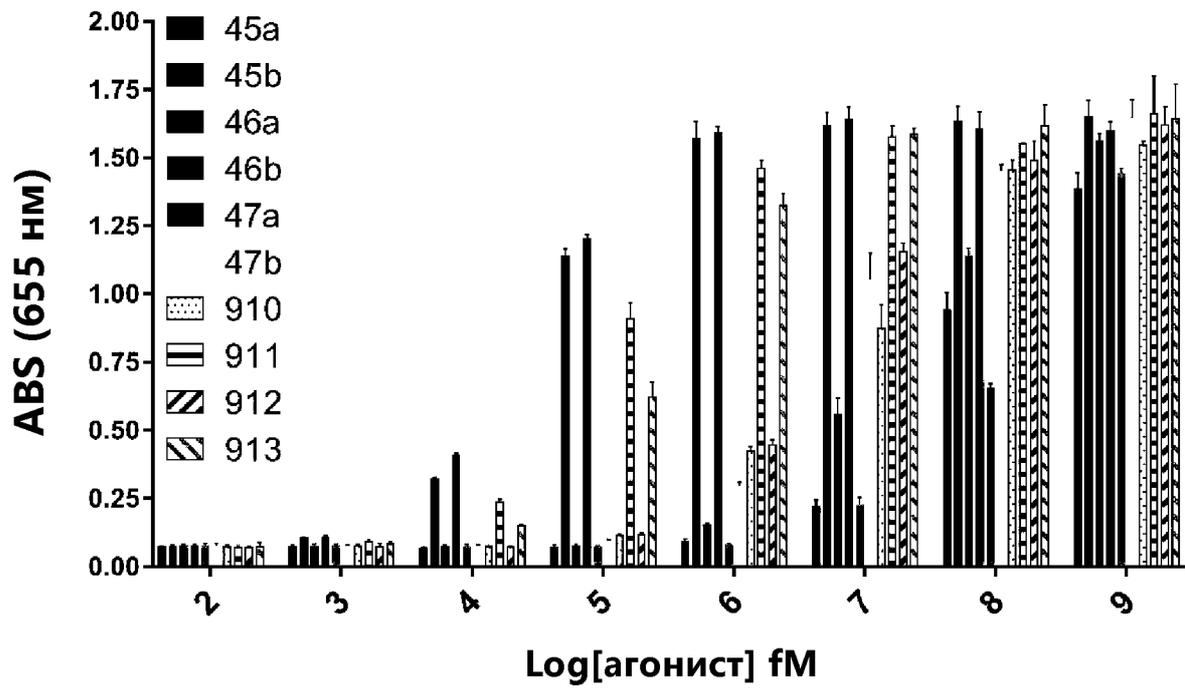
ФИГУРА 2А



ФИГУРА 2В



ФИГУРА 3А



ФИГУРА 3В

