

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202090495 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.05.28(51) Int. Cl. C07D 473/18 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2018.08.16(54) ПРОИЗВОДНЫЕ 6-АМИНО-7,9-ДИГИДРО-8Н-ПУРИН-8-ОНА В КАЧЕСТВЕ
ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ АГОНИСТОВ TOLL-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 7
(TLR7)

(31) 62/546,222

(32) 2017.08.16

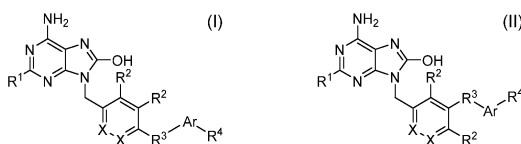
(33) US

(86) PCT/US2018/000246

(87) WO 2019/035971 2019.02.21

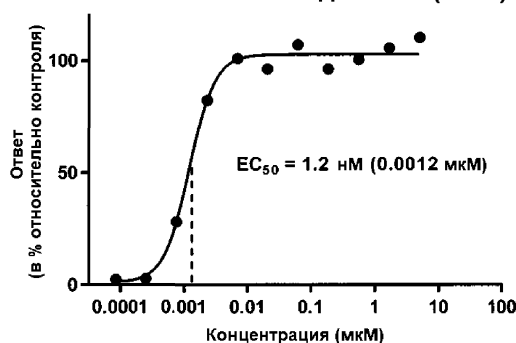
(71) Заявитель:
БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)(72) Изобретатель:
Хе Ликви, Гангвар Санджеев, Паудел
Ям Б., Сивапракасам Прасанна (US)(74) Представитель:
Гизатуллин Ш.Ф., Глухарёва А.О.,
Строкова О.В., Угрюмов В.М. (RU)

(57) Соединения, характеризующиеся структурой в соответствии с формулой (I) или (II)



в которой значения R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , Ar и X¹ определены в настоящем документе, представляют собой агонисты Toll-подобного рецептора 7 (TLR7) и могут быть применены в качестве адъювантов для стимуляции иммунной системы. Некоторые указанные соединения могут быть применены в конъюгатах для адресной доставки до органа или ткани, которым адресовано воздействие.

Агонизм TLR7 - Соединение (Ib-02)



A1

202090495

202090495

A1

ПРОИЗВОДНЫЕ 6-АМИНО-7,9-ДИГИДРО-8Н-ПУРИН-8-ОНА В КАЧЕСТВЕ
ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ АГОНИСТОВ TOLL-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА
7 (TLR7)

ОПИСАНИЕ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет согласно 35 U.S.C. § 119(e) в соответствии с предварительной заявкой на выдачу патента США № 62/546,222, поданной 16 августа 2017 года, раскрытие которой включено в настоящий документ посредством отсылки.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

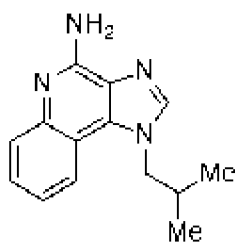
[0002] Настоящее раскрытие относится к агонистам Toll-подобного рецептора 7 (TLR7) и его конъюгатам, и к способам получения и применения указанных агонистов и их конъюгатов.

[0003] Toll-подобные рецепторы (TLR) представляют собой рецепторы клеточной поверхности, которые распознают ассоциированные с патогеном молекулярные паттерны (PAMP). Активация TLR путем связывания соответствующего PAMP сигнализирует о потенциальной инфекции патогеном и стимулирует иммунную систему на борьбу с инфекцией. У людей имеется 11 TLR, именуемых TLR1 – TLR11.

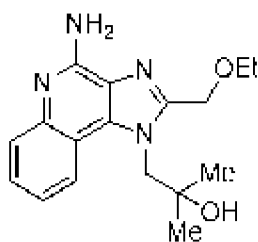
[0004] Активация TLR, из которых TLR7 является наиболее изученным, агонистом может оказывать адьювантный эффект на действие вакцин и иммунотерапевтических средств в лечении целого ряда состояний, отличных от фактической патогенной инфекции, путем стимулирования иммунного ответа.

[0005] TLR7 распознает PAMP, ассоциированные с вирусами, содержащими одноцепочечную РНК. Их активация индуцирует секрецию интерферонов I типа, таких как IFN α и IFN β (Lund *et al.* 2004). Они содержат два сайта связывания, один для одноцепочечных РНК-лигандов, таких как ssRNA40 (Berghöfer *et al.* 2007), и один для гуанозина (Zhang *et al.* 2016).

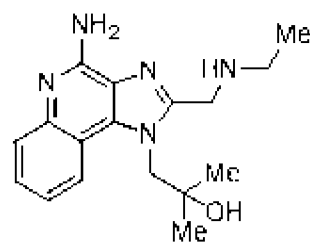
[0006] TLR7 может связываться с (или активироваться) подобными гуанозину синтетическими агонистами, такими как имиквимод, резиквимод и гардиквимод, в основе которых лежит 1*H*-имидазо[4,5-*c*]хинолиновый остов.



ИМИКВИМОД

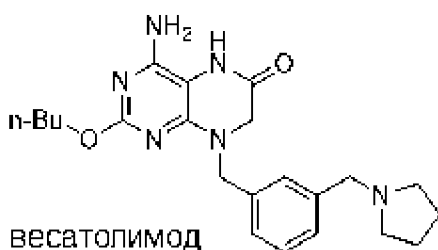


РЕЗИКВИМОД



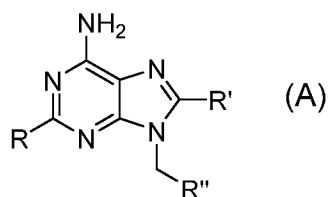
ГАРДИКВИМОД

[0007] Также известны агонисты TLR7, в основе которых лежит птеридиновый молекулярный остов, представленные на примере весатолимода (Desai *et al.* 2015), который находился на 2-ой стадии клинических испытаний. Сообщалось, что удельная активность весатолимода, измеренная по индукции IFN- α , в 100 раз меньше, чем удельная активность соответствующего пурин-8-онового соединения (Roethle *et al.* 2013).



ВЕСАТОЛИМОД

[0008] Другие синтетические агонисты TLR7 содержат в своей основе подобный пурину остов, часто соответствующий формуле (A):

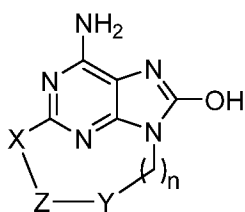


где R, R' и R'' представляют собой структурные переменные, причем R'' обычно содержит незамещенное или замещенное ароматическое или гетероароматическое кольцо.

[0009] Раскрытия биологически активных молекул, содержащих в своей основе подобный пурину остов, и их применений в лечении таких состояний, как фиброз, воспалительные нарушения, злокачественная опухоль или патогенные инфекции, включают в себя: Akinbobuyi *et al.* 2015b и 2016; Barberis *et al.* 2012; Carson *et al.* 2014; Ding *et al.* 2016, 2017a и 2017b; Graupe *et al.* 2015; Hashimoto *et al.* 2009; Holldack *et al.* 2012; Isobe *et al.* 2009a и 2012; Jin *et al.* 2017a и 2017b; Peterson 2014; Pryde 2010; и Seifert 2015.

[0010] Группа R'' может представлять собой пиридил: Bonfanti *et al.* 2015a и 2015b; Halcomb *et al.* 2015; Hirota *et al.* 2000; Isobe *et al.* 2000, 2002, 2004, 2006, 2009a, 2011 и 2012; Kasibhatla *et al.* 2007; Koga-Yamakawa *et al.* 2013; Musmuca *et al.* 2009; Nakamura 2012; Ogita *et al.* 2007; и Yu *et al.* 2013.

[0011] В документе Bonfanti *et al.* 2015b раскрыты модуляторы TLR7, в которых два кольца пуринового фрагмента соединены посредством макроцикла:



[0012] Агонист TLR7 может быть конъюгирован с молекулой-партнером, которая может представлять собой, например, фосфолипид, полиэтиленгликоль (ПЭГ) или другой TLR (обычно TLR2). Иллюстративные раскрытия включают в себя: Carson *et al.* 2013, 2015 и 2016, Chan *et al.* 2009 и 2011, Lioux *et al.* 2016, Maj *et al.* 2015, Ban *et al.* 2017; Vernejoul *et al.* 2014, и Zurawski *et al.* 2012. Также была раскрыта конъюгация с антителом: Akinbobuyi *et al.* 2013 и 2015a, и Gadd *et al.* 2015. Часто место конъюгации расположено на группе R'' формулы (A).

[0013] Также были раскрыты агонисты TLR7, в основе которых лежит 5H-пирроло[3,2-d]пиримидиновый остов (см. Cortez *et al.* 2017a и 2017b, McGowan *et al.* 2017, и Li *et al.* 2018).

[0014] В документе Jensen *et al.* 2015 раскрыто применение носителей из катионных липидов для доставки агонистов TLR7.

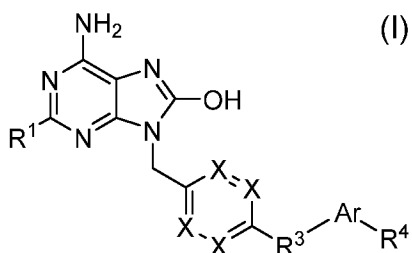
[0015] Некоторые агонисты TLR7, включая резиквимод, являются двойными агонистами TLR7/TLR8 (см., например, Beesu *et al.* 2017; Lioux *et al.* 2016; и Vernejoul *et al.* 2014).

[0016] Также были раскрыты агонисты TLR7, в основе которых лежит 5H-пирроло[3,2-d]пиримидиновый остов (см. Cortez *et al.* 2017a и 2017b, McGowan *et al.* 2017, и Li *et al.* 2018).

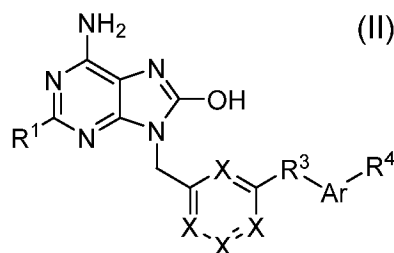
[0017] Перечень полных библиографических записей для документов, процитированных в настоящем документе по первому автору или автору изобретения и году, приведен в конце настоящего раскрытия.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

[0018] В одном аспекте настоящее раскрытие относится к соединению, характеризующемуся структурой в соответствии с формулой (I) или (II)



в которой



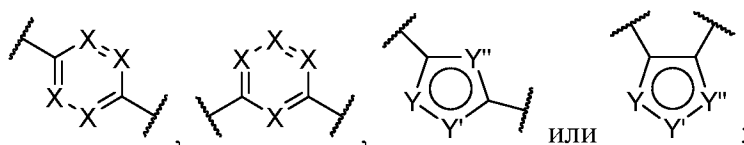
R^1 представляет собой $(C_1-C_5\text{алкил})O$, $(C_1-C_2\text{алкил})O(CH_2)_{2-3}O$, $(C_1-C_5\text{алкил})C(=O)O$, $(C_1-C_5\text{алкил})NH$, $(C_1-C_2\text{алкил})O(CH_2)_{2-3}NH$ или $(C_1-C_5\text{алкил})C(=O)NH$;

X в каждом случае независимо представляет собой CR^2 или N ;

R^2 в каждом случае независимо представляет собой H , $C_1-C_3\text{алкил}$, галоген, $O(C_1-C_3\text{алкил})$, CN или NO_2 ;

R^3 представляет собой O , S , NH или $N(C_1-C_3\text{алкил})$;

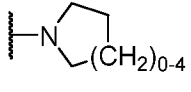
Ar представляет собой



где один из Y , Y' и Y'' выбран из $-O-$, $-S-$, $-NH-$ и $-N(C_1-C_3\text{алкил})-$, и два других из Y , Y' и Y'' выбраны из $=N-$ и $=CR^2-$;

R^4 представляет собой H , $C_1-C_3\text{алкил}$, галоген, $O(C_1-C_3\text{алкил})$, CN , NO_2 или $(CH_2)_xR^5$, где нижний индекс x равен 1, 2, 3 или 4; и

R^5 представляет собой галоген, OH , CN , NH_2 , $NH(C_1-C_5\text{алкил})$, $N(C_1-C_5\text{алкил})_2$, $NH(C_3-C_6\text{циклоалкил})$, $NH(C_4-C_8\text{бициклоалкил})$, $NH(C_6-C_{10}\text{спироциклоалкил})$, $N(C_3-C_6\text{циклоалкил})_2$, $NH(CH_2)_{1-3}(\text{арил})$, $N((CH_2)_{1-3}(\text{арил}))_2$, фрагмент циклического амина,

характеризующийся структурой , 6-членный ароматический или гетероароматический фрагмент или 5-членный гетероароматический фрагмент;

где

алкил, циклоалкил, бициклоалкил, спироциклоалкил, фрагмент циклического амина, 6-членный ароматический или гетероароматический или 5-членный гетероароматический фрагмент необязательно замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из OH , галогена, CN , $(C_1-C_3\text{алкил})$, $O(C_1-C_3\text{алкил})$, $C(=O)(C_1-C_3\text{алкил})$, $SO_2(C_1-C_3\text{алкил})$, $CO_2(C_1-C_3\text{алкил})$, NH_2 , $NH(Me)$, $N(Me)_2$, $NH(Et)$, $N(Et)_2$ и $N(C_1-C_3\text{алкил})_2$; и

CH_2 -группа циклоалкила, бициклоалкила, спироциклоалкила или фрагмента циклического амина может быть заменена O , S , NH , $N(C_1-C_3\text{алкил})$ или $N(Boc)$.

[0019] Соединения в соответствии с формулой (I) и (II) характеризуются активностью в качестве агонистов TLR7, и некоторые из них могут быть конъюгированы для адресной доставки до целевой ткани или органа, которым адресовано воздействие.

Краткое описание фигур

[0020] На Фиг. 1, Фиг. 2, Фиг. 3 и Фиг. 7 представлены схемы получения соединений согласно настоящему раскрытию.

[0021] На **Фиг. 4** и **Фиг. 5** представлены схемы присоединения линкеров к соединениям согласно настоящему раскрытию, делающего их пригодными для конъюгации.

[0022] **Фиг. 6** представляет собой типовой график, демонстрирующий активность соединения согласно настоящему изобретению в качестве агониста TLR7.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Определения

[0023] «Антитело» означает полные антитела и любой антиген-связывающий фрагмент (т.е., «антиген-связывающую часть») или их одноцепочечные варианты. Полное антитело представляет собой белок, содержащий по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, связанные между собой дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь содержит переменный участок тяжелой цепи (V_H) и константный участок тяжелой цепи, содержащий три домена, C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменный участок легкой цепи (V_L или V_k) и константный участок легкой цепи, содержащий единственный домен, C_L . Участки V_H и V_L могут далее подразделяться на участки гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность участками (CDR), чередующиеся с более консервативными каркасными участками (FR). Каждый V_H и V_L содержит три CDR и четыре FR, расположенные от N-конца до C-конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Вариабельные участки содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные участки могут опосредовать связывание антитела с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. Говорят, что антитело «специфически связывается» с антигеном X, если антитело связывается с антигеном X со значением K_D , равным или меньшим 5×10^{-8} М, более предпочтительно равным или меньшим 1×10^{-8} М, более предпочтительно равным или меньшим 6×10^{-9} М, более предпочтительно равным или меньшим 3×10^{-9} М, еще более предпочтительно равным или меньшим 2×10^{-9} М. Антитело может представлять собой химерное, гуманизированное антитело или, предпочтительно, антитело человека. Константный участок тяжелой цепи может быть сконструирован с изменением типа или степени гликозилирования с целью увеличения периода полужизни антитела, усиления или ослабления взаимодействий с эффекторными клетками или системой комплемента, или для модулирования какого-то другого свойства. Конструирование может выполняться посредством замены, добавления или делеции одной или нескольких аминокислот, или посредством замены домена доменом иммуноглобулина другого типа, или посредством сочетания вышеупомянутого.

[0024] «Антиген-связывающий фрагмент» и «антиген-связывающая часть» антитела (или просто «часть антитела» или «фрагмент антитела») означают один или несколько фрагментов антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном. Было показано, что антиген-связывающая функция антитела может осуществляться фрагментами полноразмерного антитела, такими как (i) фрагмент Fab, одновалентный фрагмент, состоящий из доменов V_L , V_H , C_L и C_{H1} ; (ii) фрагмент $F(ab')_2$, двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанные дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fab' , который по существу представляет собой Fab с частью шарнирной области (см., например, Abbas *et al.*, *Cellular and Molecular Immunology*, 6th Ed., Saunders Elsevier 2007); (iv) фрагмент Fd, состоящий из доменов V_H и C_{H1} ; (v) фрагмент Fv, состоящий из доменов V_L и V_H одного плеча антитела, (vi) фрагмент dAb (Ward *et al.*, (1989) *Nature* 341:544-546), который состоит из домена V_H ; (vii) выделенного определяющего комплементарность участка (CDR); и (viii) нанотела, варибельного участка тяжелой цепи, содержащего единственный варибельный домен и два константных домена. Предпочтительными антиген-связывающими фрагментами являются фрагменты Fab, $F(ab')_2$, Fab' , Fv и Fd. Кроме того, хотя два домена фрагмента Fv, V_L и V_H , кодируются отдельными генами, они могут быть объединены синтетическим линкером с применением рекомбинантных методов, что делает возможным их получение в виде единой белковой цепи, в которой участки V_L и V_H соединены парой с формированием одновалентных молекул (известных как одноцепочечные Fv, или scFv) (см., например, Bird *et al.* (1988) *Science* 242:423-426; и Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Такие одноцепочечные антитела также охватываются термином «антиген-связывающая часть» антитела.

[0025] Если не указано иное (например, посредством ссылки на линейную нумерацию в перечне SEQ ID NO:), то ссылки на нумерацию положений аминокислот в варибельном участке тяжелой или легкой цепи (V_H или V_L) антитела приводятся в соответствии с системой по Kabat (Kabat *et al.*, "Sequences of proteins of immunological interest, 5th ed., Pub. No. 91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, Md., 1991, здесь и далее в тексте «Kabat»), и ссылки на нумерацию положений аминокислот в константном участке тяжелой или легкой цепи (C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} или C_L) антитела приводятся в соответствии с EU-индексом в порядке, установленном в Kabat. Для примеров такого применения см. документ Lazar *et al.*, US 2008/0248028 A1, раскрытие которого включено в настоящий документ посредством ссылки. Кроме того, информационной системой ImMunoGeneTics (IMGT) на своем веб-сайте предоставлена таблица, озаглавленная «IMGT Scientific Chart: Correspondence between C Numberings», демонстрирующая соответствие

между своей системой нумерации, EU-нумерации и нумерации по Kabat для константного участка тяжелой цепи.

[0026] «Выделенное антитело» означает антитело, которое по существу свободно от других антител, характеризующихся другими видами антигенной специфичности (например, выделенное антитело, которое специфично связывает антиген X, по существу свободно от антител, которые связывают антигены, отличные от антигена X). Тем не менее, выделенное антитело, которое специфично связывает антиген X, может характеризоваться перекрестной специфичностью в отношении других антигенов, таких как молекулы антигена X от других видов. Согласно определенным вариантам осуществления, выделенное антитело специфически связывается с антигеном X человека и не взаимодействует перекрестно с другими антигенами X (не относящимися к человеку). Более того, выделенное антитело может быть по существу свободно от другого вещества клеток и/или химических веществ.

[0027] «Моноклональное антитело» или «моноклональная композиция на основе антител» означает получение антитела индивидуального молекулярного состава, которое проявляет индивидуальную специфичность связывания и аффинность в отношении конкретного эпитопа.

[0028] «Антитело человека» означает антитело, содержащее вариабельные участки, в которых каркасный и CDR участки (и, при наличии, константный участок) являются производными последовательностей зародышевого типа иммуноглобулинов человека. Антитела человека могут включать в себя поздние модификации, включая естественные и синтетические модификации. Антитела человека могут включать в себя остатки аминокислот, не кодируемых последовательностями зародышевого типа иммуноглобулинов человека (например, мутации, интродуцированные посредством неспецифического или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или в результате соматической мутации *in vivo*). Тем не менее, «антитело человека» не включает в себя антитела, в которых последовательности CDR, являющиеся производными последовательностей других видов млекопитающих, таких как мышь, были привиты на каркасные последовательности человека.

[0029] «Моноклональное антитело человека» означает антитело, проявляющее индивидуальную специфичность связывания, которое содержит вариабельные участки, в которых каркасный и CDR участки являются производными последовательностей зародышевого типа иммуноглобулинов человека. Согласно одному варианту осуществления, моноклональные антитела человека продуцируются гибридомой, которая включает в себя полученную от трансгенного отличного от человека животного, например,

трансгенной мыши, В-клетку с геномом, содержащим трансген тяжелой цепи человека и трансген легкой цепи человека, слитую с иммортализованной клеткой.

[0030] «Алифатический фрагмент» означает неразветвленный или разветвленный, насыщенный или ненасыщенный, неароматический углеводородный фрагмент, содержащий указанное число атомов углерода (например, как в выражениях «С₃алифатический фрагмент», «С₁₋₅алифатический фрагмент», «С_{1-С₅}алифатический фрагмент» или «от С₁ до С₅ алифатический фрагмент», причем последние три выражения являются синонимами для алифатического фрагмента, содержащего от 1 до 5 атомов углерода) или от 1 до 4 атомов углерода (от 2 до 4 атомов углерода в случае ненасыщенных алифатических фрагментов), если число атомов углерода точно не указано. Аналогичное толкование применяется в отношении числа атомов углерода в других типах, как в случаях С₂₋₄алкена, С_{4-С₇}циклоалифатического фрагмента, и т. д. По аналогии, термин, такой как «(СН₂)₁₋₃», следует понимать как сокращенную форму записи для нижнего индекса, равного 1, 2 или 3, поэтому такой термин представляет собой СН₂, СН₂СН₂ и СН₂СН₂СН₂.

[0031] «Алкил» означает насыщенный алифатический фрагмент с тем же правилом для указания числа применяемых атомов углерода. В качестве иллюстрации, С₁-С₄алкильные фрагменты включают в себя без ограничения метил, этил, пропил, изопропил, изобутил, *трет*-бутил, 1-бутил, 2-бутил, и т. п. «Алкилен» означает двухвалентный аналог алкильной группы, такой как СН₂СН₂, СН₂СН₂СН₂ и СН₂СН₂СН₂СН₂.

[0032] «Алкенил» означает алифатический фрагмент, содержащий по меньшей мере одну двойную углерод-углеродную связь, с тем же правилом для указания числа применяемых атомов углерода. В качестве иллюстрации, С₂-С₄алкенильные фрагменты включают в себя без ограничения этенил (винил), 2-пропенил (аллил или проп-2-енил), *цис*-1-пропенил, *транс*-1-пропенил, *Е*- (или *З*-) 2-бутенил, 3-бутенил, 1,3-бутадиенил (бут-1,3-диенил) и т. п.

[0033] «Алкинил» означает алифатический фрагмент, содержащий по меньшей мере одну тройную углерод-углеродную связь, с тем же правилом для указания числа применяемых атомов углерода. В качестве иллюстрации, С₂-С₄алкинильные группы включают в себя этинил (ацетиленил), пропаргил (проп-2-инил), 1-пропинил, бут-2-инил, и т. п.

[0034] «Циклоалифатический фрагмент» означает насыщенный или ненасыщенный неароматический углеводородный фрагмент, содержащий от 1 до 3 колец, причем каждое кольцо содержит от 3 до 8 (предпочтительно от 3 до 6) атомов углерода. «Циклоалкил» означает циклоалифатический фрагмент, в котором каждое кольцо является насыщенным. «Циклоалкенил» означает циклоалифатический фрагмент, в котором по меньшей мере одно

кольцо содержит по меньшей мере одну двойную углерод-углеродную связь. «Циклоалкинил» означает циклоалифатический фрагмент, в котором по меньшей мере одно кольцо содержит по меньшей мере одну тройную углерод-углеродную связь. В качестве иллюстрации, циклоалифатические фрагменты включают в себя без ограничения циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентенил, циклогексил, циклогексенил, циклогептил, циклооктил и адамантил. Предпочтительными циклоалифатическими фрагментами являются циклоалкильные фрагменты, в особенности циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил. «Циклоалкилен» означает двухвалентный аналог циклоалкильной группы.

[0035] «Гетероциклоалифатический фрагмент» означает циклоалифатический фрагмент, в котором по меньшей мере в одном кольце до трех (предпочтительно 1 или 2) атомов углерода заменены гетероатомом, независимо выбранным из N, O или S, где N и S могут быть необязательно окислены, и N может быть необязательно кватернизован. Предпочтительные циклоалифатические фрагменты состоят из одного кольца, 5-6-членного по размеру. По аналогии, «гетероциклоалкил», «гетероциклоалкенил» и «гетероциклоалкинил» означают циклоалкильный, циклоалкенильный или циклоалкинильный фрагмент, соответственно, в котором по меньшей мере одно кольцо было модифицировано таким образом. Иллюстративные гетероциклоалифатические фрагменты включают в себя азиридирил, азетидинил, 1,3-диоксанил, оксетанил, тетрагидрофурил, пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, тетрагидропиранил, тетрагидротиопиранил, тетрагидротиопиранилсульфон, морфолинил, тиоморфолинил, тиоморфолинилсульфоксид, тиоморфолинилсульфон, 1,3-диоксоланил, тетрагидро-1,1-диоксотииенил, 1,4-диоксанил, тиетанил, и т. п. «Гетероциклоалкилен» означает двухвалентный аналог гетероциклоалкильной группы.

[0036] «Алкокси», «арилокси», «алкилтио» и «арилтио» означают -O(алкил), -O(арил), -S(алкил) и -S(арил), соответственно. Примерами являются метокси, фенокси, метилтио и фенилтио, соответственно.

[0037] «Галоген» или «галоид» означает фтор, хлор, бром или йод, если не указано более узкое значение.

[0038] «Арил» означает углеводородный фрагмент, содержащий моно-, би- или трициклическую кольцевую систему (предпочтительно моноциклическую), в которой каждое кольцо содержит от 3 до 7 атомов углерода, и по меньшей мере одно кольцо является ароматическим. Кольца в кольцевой системе могут быть конденсированы друг с другом (как в нафтиле) или связаны друг с другом (как в бифениле), и могут быть конденсированы или связаны с неароматическими кольцами (как в инданиле или

циклогексилфениле). В качестве иллюстрации, арильные фрагменты включают в себя без ограничения фенил, нафтил, тетрагидронафтил, инданил, бифенил, фенантрил, антраценил и аценафтил. «Арилен» означает двухвалентный аналог арильной группы, например, 1,2-фенилен, 1,3-фенилен или 1,4-фенилен.

[0039] «Гетероарил» означает фрагмент, содержащий моно-, би- или трициклическую кольцевую систему (предпочтительно 5-7-членную моноциклическую), в которой каждое кольцо содержит от 3 до 7 атомов углерода, и по меньшей мере одно кольцо представляет собой ароматическое кольцо, содержащее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из N, O или S, где N и S могут быть необязательно окислены, и N может быть необязательно кватернизован. Такое ароматическое кольцо, содержащее по меньшей мере один гетероатом, может быть конденсировано с другими типами колец (как в бензофураниле или тетрагидроизохинолиле) или непосредственно связано с другими типами колец (как в фенилпиридиле или 2-циклопентилпиридиле). В качестве иллюстрации, гетероарильные фрагменты включают в себя пирролил, фуранил, тиофенил (тиенил), имидазолил, пиразолил, оксазолил, изоксазолил, тиазолил, изотиазолил, триазолил, тетразолил, пиридил, N-оксопиридил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, хинолинил, изохинолинил, хиназолинил, циннолинил, **хиноксалинил**, нафтиридирил, бензофуранил, индолил, бензотиофенил, оксадиазолил, тиадиазолил, фенотиазолил, бензимидазолил, бензотриазолил, дибензофуранил, карбазолил, дибензотиофенил, акридинил, и т. п. «Гетероарилен» означает двухвалентный аналог гетероарильной группы.

[0040] Если указано, что фрагмент может быть замещен, например, путем использования выражения «незамещенный или замещенный» или «необязательно замещенный», как в выражении «незамещенный или замещенный C₁-C₅алкил» или «необязательно замещенный гетероарил», то такой фрагмент может содержать один или несколько независимо выбранных заместителей, предпочтительно в количестве от 1 до 5, более предпочтительно в количестве 1 или 2. Заместители и паттерны заместителей могут быть выбраны средним специалистом в данной области техники с учетом фрагмента, к которому присоединен заместитель, с получением соединений, которые являются химически устойчивыми и которые могут быть синтезированы методиками, известными из уровня техники, а также способами, изложенными в настоящем документе. Если фрагмент определен как «незамещенный или замещенный» или «необязательно замещенный», то согласно предпочтительному варианту осуществления такой фрагмент является незамещенным.

[0041] «Аралкил», (гетероциклоалифатический фрагмент)алкил», «арилалкенил», «арилалкинил», «биарилалкил», и т. п., означают в соответствующих случаях алкильный,

алкенильный или алкинильный фрагмент, замещенный в соответствующих случаях арильным, гетероциклоалифатическим, биарильным, и т. д., фрагментом, характеризующимся открытой (ненасыщенной) валентностью в алкильном, алкенильном или алкинильном фрагменте, например, как в бензиле, фенэтиле, N-имидазоилэтиле, N-морфолиноэтиле, и т. п. И наоборот, «алкиларил», «алкенилциклоалкил», и т. п. означают в соответствующих случаях арильный, циклоалкильный, и т. д., фрагмент, замещенный в соответствующих случаях алкильным, алкенильным, и т. д., фрагментом, например, как в метилфениле (толиле) или аллилциклогексиле. «Гидроксикалкил», «галогеналкил», «алкиларил», «цианоарил», и т. п. означают в соответствующих случаях алкильный, арильный, и т. д., фрагмент, замещенный одним или несколькими из определенных заместителей (гидроксильной группой, галогеном, и т. д., в зависимости от обстоятельств).

[0042] Например, разрешенные заместители включают в себя без ограничения алкил (в особенности метил или этил), алкенил (в особенности аллил), алкинил, арил, гетероарил, циклоалифатический фрагмент, гетероциклоалифатический фрагмент, галоген (в особенности фтор), галогеналкил (в особенности трифторметил), гидроксил, гидроксикалкил (в особенности гидроксиэтил), циано, нитро, алкокси, -O(гидроксикалкил), -O(галогеналкил) (в особенности -OCF₃), -O(циклоалкил), -O(гетероциклоалкил), -O(арил), алкилтио, арилтио, =O, =NH, =N(алкил), =NOH, =NO(алкил), -C(=O)(алкил), -C(=O)H, -CO₂H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(алкил), -C(=O)O(гидроксикалкил), -C(=O)NH₂, -C(=O)NH(алкил), -C(=O)N(алкил)₂, -OC(=O)(алкил), -OC(=O)(гидроксикалкил), -OC(=O)O(алкил), -OC(=O)O(гидроксикалкил), -OC(=O)NH₂, -OC(=O)NH(алкил), -OC(=O)N(алкил)₂, азидо, -NH₂, -NH(алкил), -N(алкил)₂, -NH(арил), -NH(гидроксикалкил), -NHC(=O)(алкил), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH₂, -NHC(=O)NH(алкил), -NHC(=O)N(алкил)₂, -NHC(=NH)NH₂, -OSO₂(алкил), -SH, -S(алкил), -S(арил), -S(циклоалкил), -S(=O)алкил, -SO₂(алкил), -SO₂NH₂, -SO₂NH(алкил), -SO₂N(алкил)₂, и т. п.

[0043] Если замещенный фрагмент представляет собой алифатический фрагмент, то предпочтительными заместителями являются арил, гетероарил, циклоалифатический фрагмент, гетероциклоалифатический фрагмент, галоген, гидроксил, циано, нитро, алкокси, -O(гидроксикалкил), -O(галогеналкил), -O(циклоалкил), -O(гетероциклоалкил), -O(арил), алкилтио, арилтио, =O, =NH, =N(алкил), =NOH, =NO(алкил), -CO₂H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(алкил), -C(=O)O(гидроксикалкил), -C(=O)NH₂, -C(=O)NH(алкил), -C(=O)N(алкил)₂, -OC(=O)(алкил), -OC(=O)(гидроксикалкил), -OC(=O)O(алкил), -OC(=O)O(гидроксикалкил), -OC(=O)NH₂, -OC(=O)NH(алкил), -OC(=O)N(алкил)₂, азидо, -NH₂, -NH(алкил), -N(алкил)₂, -NH(арил), -NH(гидроксикалкил), -NHC(=O)(алкил), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH₂, -NHC(=O)NH(алкил), -NHC(=O)N(алкил)₂, -NHC(=NH)NH₂, -

OSO₂(алкил), -SH, -S(алкил), -S(арил), -S(=O)алкил, -S(циклоалкил), -SO₂(алкил), -SO₂NH₂, -SO₂NH(алкил) и -SO₂N(алкил)₂. Более предпочтительными заместителями являются галоген, гидроксил, циано, нитро, алкокси, -O(арил), =O, =NOH, =NO(алкил), -OC(=O)(алкил), -OC(=O)O(алкил), -OC(=O)NH₂, -OC(=O)NH(алкил), -OC(=O)N(алкил)₂, азидо, -NH₂, -NH(алкил), -N(алкил)₂, -NH(арил), -NHC(=O)(алкил), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH₂, -NHC(=O)NH(алкил), -NHC(=O)N(алкил)₂ и -NHC(=NH)NH₂. Особенно предпочтительными являются фенил, циано, галоген, гидроксил, нитро, C₁-C₄алкокси, O(C₂-C₄алкилен)ОН и O(C₂-C₄алкилен)галоген.

[0044] Если замещенный фрагмент представляет собой циклоалифатический, гетероциклоалифатический, арильный или гетероарильный фрагмент, то предпочтительными заместителями являются алкил, алкенил, алкинил, галоген, галогеналкил, гидроксил, гидроксипалкил, циано, нитро, алкокси, -O(гидроксипалкил), -O(галогеналкил), -O(арил), -O(циклоалкил), -O(гетероциклоалкил), алкилтио, арилтио, -C(=O)(алкил), -C(=O)H, -CO₂H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(алкил), -C(=O)O(гидроксипалкил), -C(=O)NH₂, -C(=O)NH(алкил), -C(=O)N(алкил)₂, -OC(=O)(алкил), -OC(=O)(гидроксипалкил), -OC(=O)O(алкил), -OC(=O)O(гидроксипалкил), -OC(=O)NH₂, -OC(=O)NH(алкил), -OC(=O)N(алкил)₂, азидо, -NH₂, -NH(алкил), -N(алкил)₂, -NH(арил), -NH(гидроксипалкил), -NHC(=O)(алкил), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH₂, -NHC(=O)NH(алкил), -NHC(=O)N(алкил)₂, -NHC(=NH)NH₂, -OSO₂(алкил), -SH, -S(алкил), -S(арил), -S(циклоалкил), -S(=O)алкил, -SO₂(алкил), -SO₂NH₂, -SO₂NH(алкил) и -SO₂N(алкил)₂. Более предпочтительными заместителями являются алкил, алкенил, галоген, галогеналкил, гидроксил, гидроксипалкил, циано, нитро, алкокси, -O(гидроксипалкил), -C(=O)(алкил), -C(=O)H, -CO₂H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(алкил), -C(=O)O(гидроксипалкил), -C(=O)NH₂, -C(=O)NH(алкил), -C(=O)N(алкил)₂, -OC(=O)(алкил), -OC(=O)(гидроксипалкил), -OC(=O)O(алкил), -OC(=O)O(гидроксипалкил), -OC(=O)NH₂, -OC(=O)NH(алкил), -OC(=O)N(алкил)₂, -NH₂, -NH(алкил), -N(алкил)₂, -NH(арил), -NHC(=O)(алкил), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH₂, -NHC(=O)NH(алкил), -NHC(=O)N(алкил)₂ и -NHC(=NH)NH₂. Особенно предпочтительными являются C₁-C₄алкил, циано, нитро, галоген и C₁-C₄алкокси.

[0045] Если приводится диапазон, как в случае «C₁-C₅алкила» или «5-10%», то такой диапазон включает в себя крайние значения указанного диапазона, как C₁ и C₅ в первом случае, и 5% и 10% во втором случае.

[0046] Если конкретные стереоизомеры не указаны особо (например, посредством выделения в структурной формуле полужирным шрифтом или пунктиром связи в соответствующем стереоцентре, посредством отображения в структурной формуле двойной связи как характеризующейся *E*- или *Z*-конфигурацией, или посредством

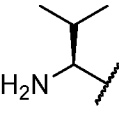
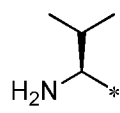
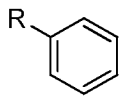
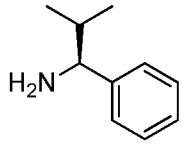
использования определяющей стереохимию номенклатуры), то все стереоизомеры подпадают под объем настоящего изобретения, как чистые соединения, так и их смеси. Если не указано иное, то все отдельные энантиомеры, диастереоизомеры, геометрические изомеры и их сочетания и смеси охватываются настоящим изобретением.

[0047] Специалистам в данной области техники следует понимать, что соединения могут иметь таутомерные формы (например, кето- и енольные формы), резонансные формы и цвиттер-ионные формы, которые эквивалентны формам, описанным в использованных в настоящем документе структурных формулах, и что структурные формулы охватывают такие таутомерные, резонансные или цвиттер-ионные формы.

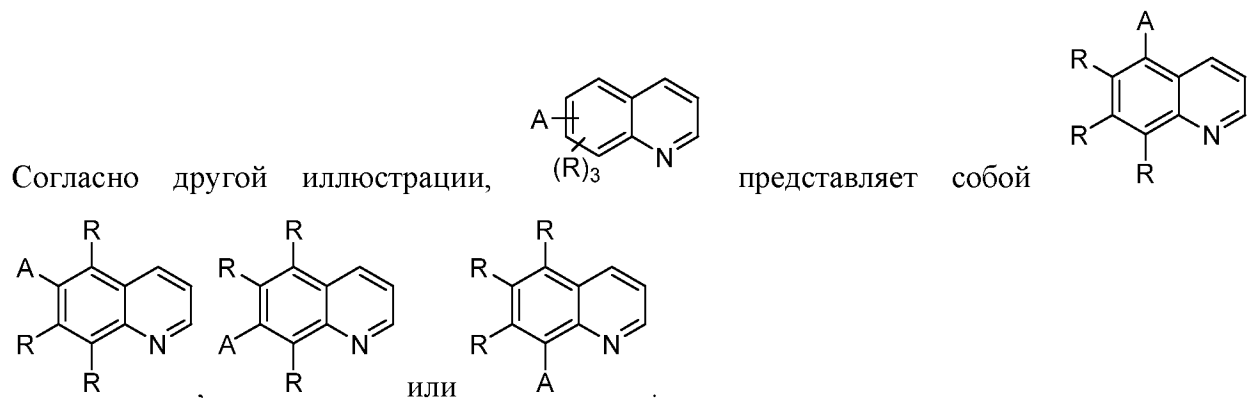
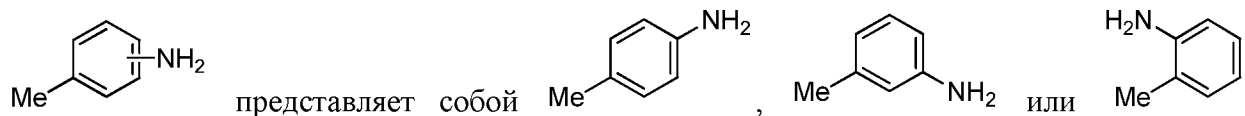
[0048] «Фармацевтически приемлемый сложный эфир» означает сложный эфир, который гидролизует *in vivo* (например, в организме человека) с получением исходного соединения или его соли, или характеризуется активностью *per se*, сходной с активностью исходного соединения. Подходящие сложные эфиры включают в себя сложные C₁-C₅алкиловые, C₂-C₅алкениловые или C₂-C₅алкиниловые эфир, в особенности метиловый, этиловый или *n*-пропиловый.

[0049] «Фармацевтически приемлемая соль» означает соль соединения, подходящую для фармацевтического состава. Если соединение содержит одну или несколько основных групп, то соль может представлять собой кислотно-аддитивную соль, такую как сульфат, гидробромид, тартрат, **мезилат**, малеат, цитрат, фосфат, ацетат, памоат (эмбонат), гидройодид, нитрат, гидрохлорид, лактат, метилсульфат, фумарат, бензоат, сукцинат, **мезилат**, лактобионат, суберат, тозилат, и т. п. Если соединение содержит одну или несколько кислотных групп, то соль может представлять собой такую соль как соль кальция, соль калия, соль магния, соль меглумина, соль аммония, соль цинка, соль пиперазина, соль трометамин, соль лития, соль холина, соль диэтиламина, соль 4-фенилциклогексиламина, соль бензатина, соль натрия, соль тетраметиламмония, и т. п. Полиморфные кристаллические формы и сольваты также охватываются объемом настоящего изобретения.

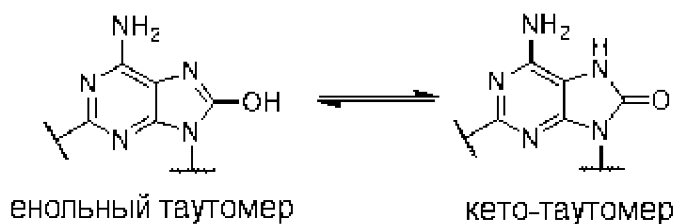
[0050] В формулах в настоящем раскрытии, волнистая линия (~~~~~), пересекающая связь, или символ звездочки (*) в конце связи обозначают место ковалентного

присоединения. Например, утверждение, что R представляет собой , или что R представляет собой , в формуле  означает .

[0051] В формулах в настоящем раскрытии, связь, пересекающая ароматическое кольцо между его двумя атомами углерода означает, что присоединенная к связи группа может быть расположена в любом из положений ароматического кольца, доступном для удаления водорода, который в нем содержится. В качестве иллюстрации, формула



[0052] Как правило, таутомерные структуры представлены в настоящем документе в енольной форме с целью последовательности и удобства.



Специалистам в данной области следует понимать, что они также могут быть представлены в эквивалентной кето-форме, и что два таутомера эквивалентны.

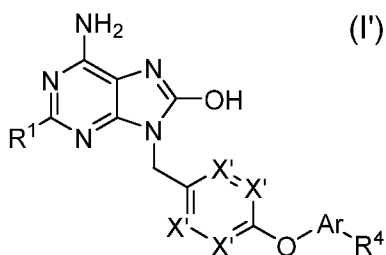
Соединения

[0053] R^1 в формулах (I) и (II) предпочтительно представляет собой *n*-BuO, *n*-BuNH, EtO, MeO или MeOCH₂CH₂O; более предпочтительно *n*-BuO или MeOCH₂CH₂O; и наиболее предпочтительно *n*-BuO.

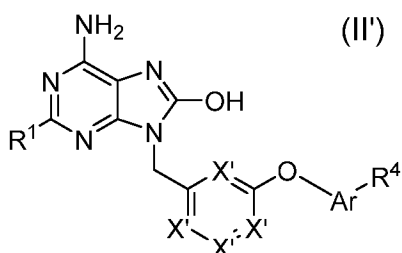
[0054] В формулах (I) и (II) каждый R^2 предпочтительно представляет собой H.

[0055] В формулах (I) и (II) R^3 предпочтительно представляет собой O.

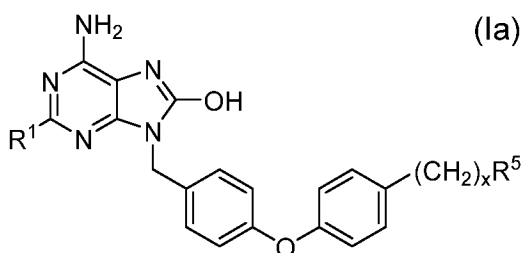
[0056] Согласно одному варианту осуществления, соединение в соответствии с формулой (I) представлено формулой (I'), в которой каждый X' независимо представляет собой CH или N, и значения R^1 , Ar и R^4 определены выше применительно к формулам (I)/(II):



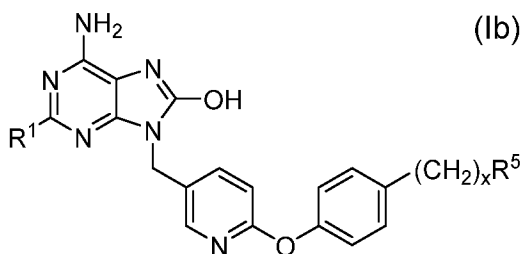
[0057] Согласно одному варианту осуществления, соединение в соответствии с формулой (II) представлено формулой (II'), в которой каждый X' независимо представляет собой CH или N, и значения R¹, Ar и R⁴ определены выше применительно к формулам (I)/(II):



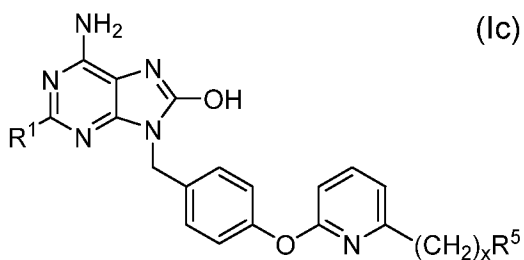
[0058] Согласно одному варианту осуществления, соединение в соответствии с формулой (I) представлено формулой (Ia), в которой значения x, R¹ и R⁵ определены выше применительно к формулам (I)/(II):



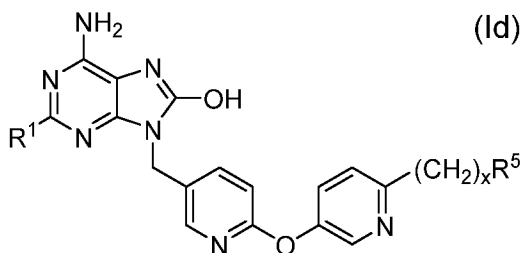
[0059] Согласно одному варианту осуществления, соединение в соответствии с формулой (I) представлено формулой (Ib), в которой значения x, R¹ и R⁵ определены выше применительно к формулам (I)/(II):



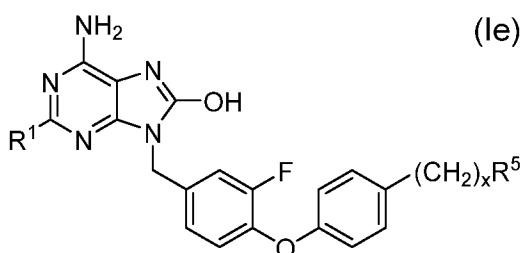
[0060] Согласно одному варианту осуществления, соединение в соответствии с формулой (I) представлено формулой (Ic), в которой значения x, R¹ и R⁵ определены выше применительно к формулам (I)/(II):



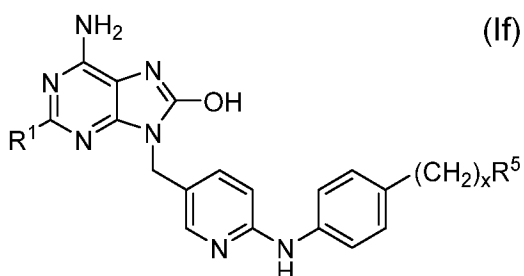
[0061] Согласно одному варианту осуществления, соединение в соответствии с формулой (I) представлено формулой (Id), в которой значения x , R^1 и R^5 определены выше применительно к формулам (I)/(II):



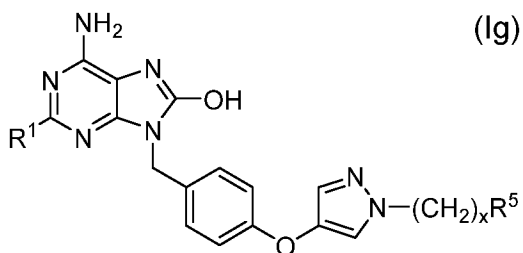
[0062] Согласно одному варианту осуществления, соединение в соответствии с формулой (I) представлено формулой (Ie), в которой значения x , R^1 и R^5 определены выше применительно к формулам (I)/(II):



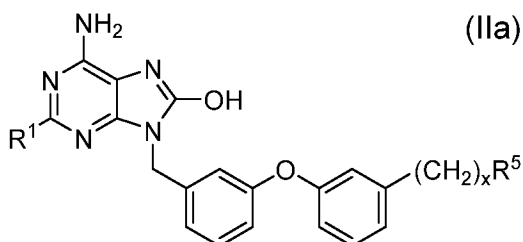
[0063] Согласно одному варианту осуществления, соединение в соответствии с формулой (I) представлено формулой (If), в которой значения x , R^1 и R^5 определены выше применительно к формулам (I)/(II):



[0064] Согласно одному варианту осуществления, соединение в соответствии с формулой (I) представлено формулой (Ig), в которой значения x , R^1 и R^5 определены выше применительно к формулам (I)/(II):

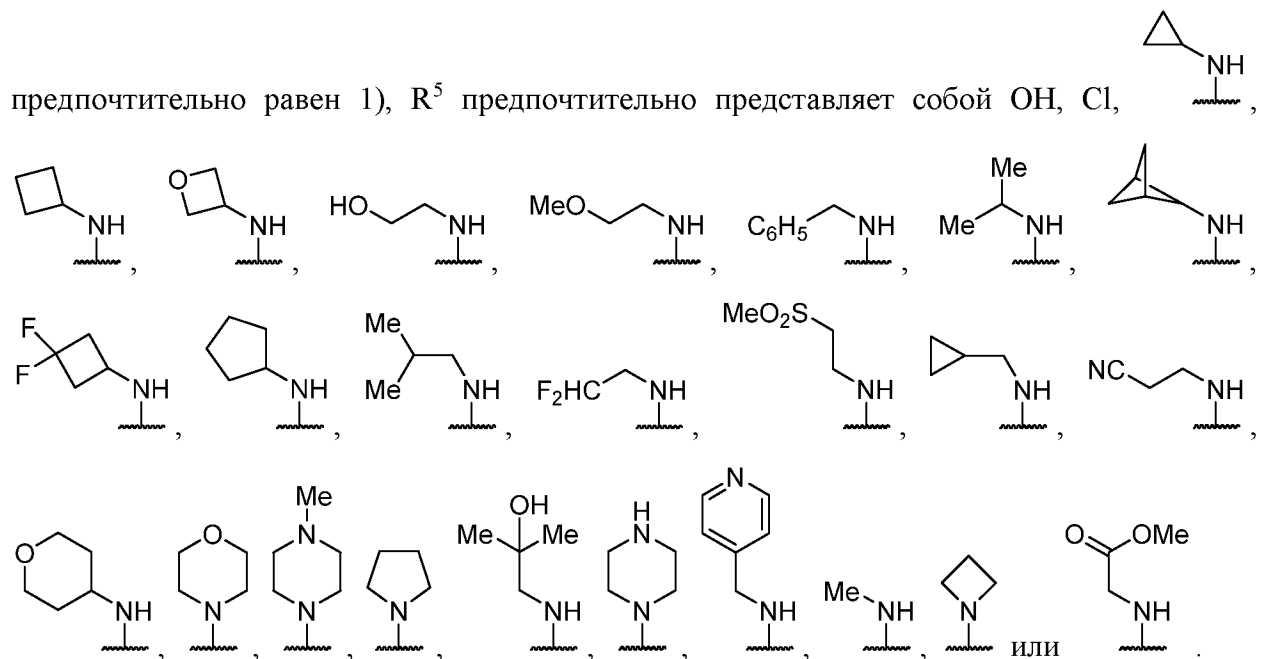


[0065] Согласно одному варианту осуществления, соединение в соответствии с формулой (II) представлено формулой (IIa), в которой значения x , R^1 и R^5 определены выше применительно к формулам (I)/(II):



[0066] В формулах (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If) и (IIa), R^1 предпочтительно представляет собой *n*-BuO, и нижний индекс x равен 1.

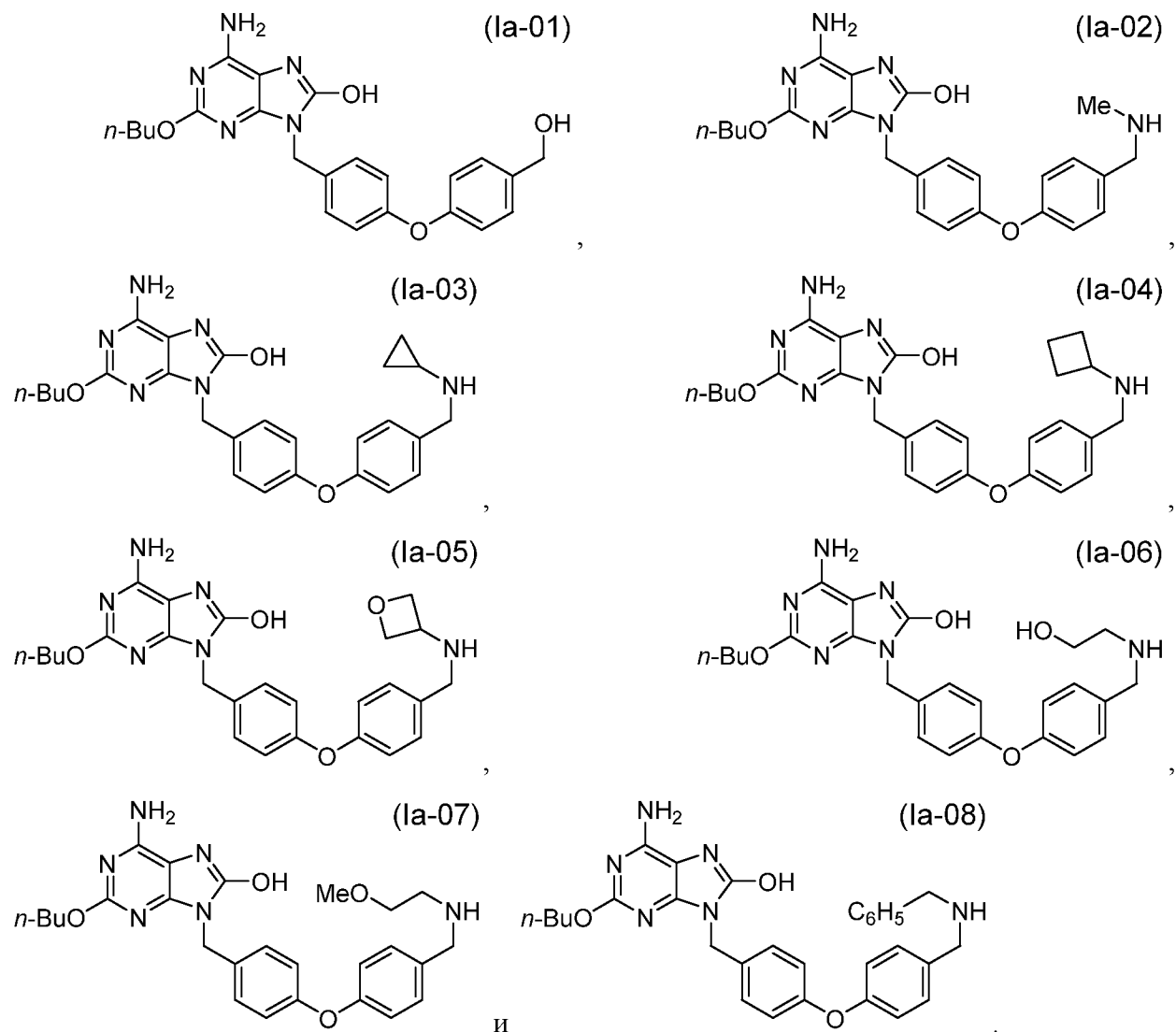
[0067] В формулах (I), (I'), (II), (II'), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If) и (IIa) (в первых четырех формулах, в том случае, когда R^4 представляет собой $(CH_2)_xR^5$, и x



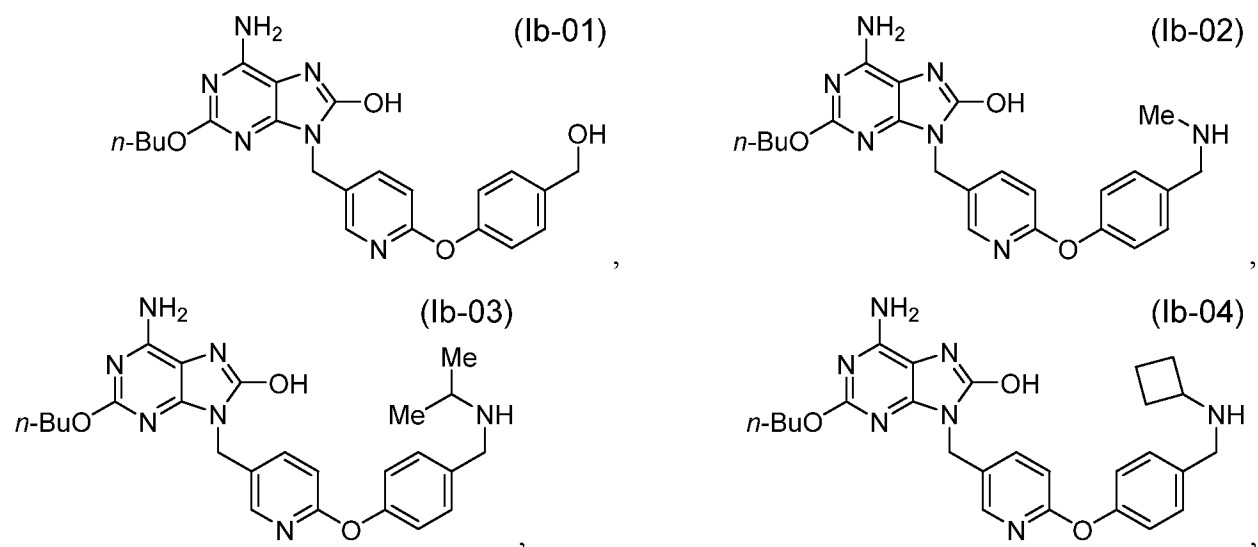
[0068] Предпочтительно, в формулах (I) и (II) не более двух X , и более предпочтительно не более одного X , в каждом отдельно взятом ароматическом кольце представляет собой N.

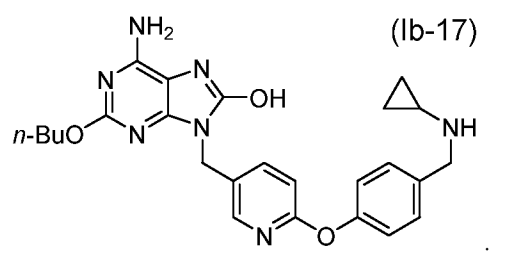
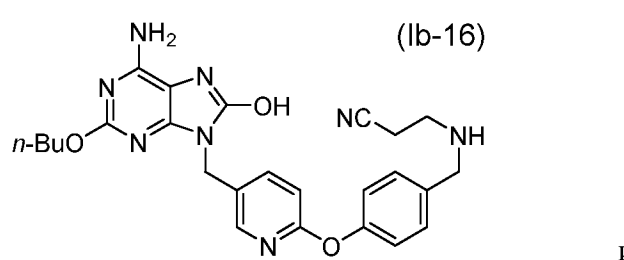
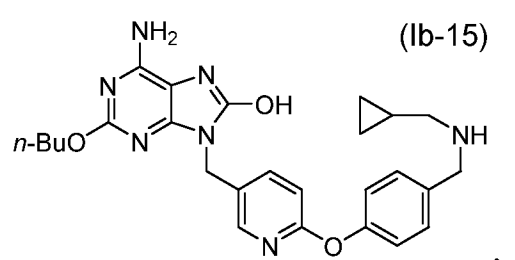
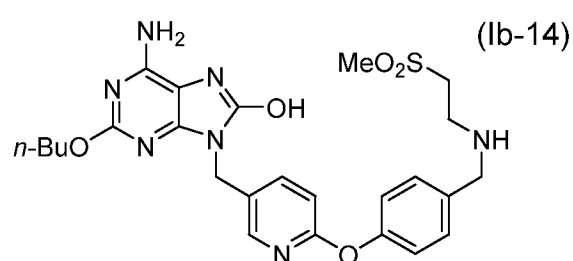
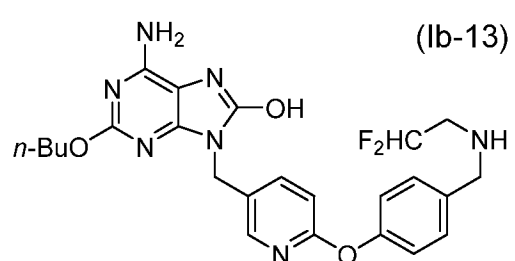
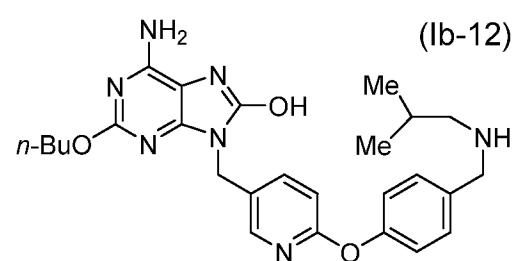
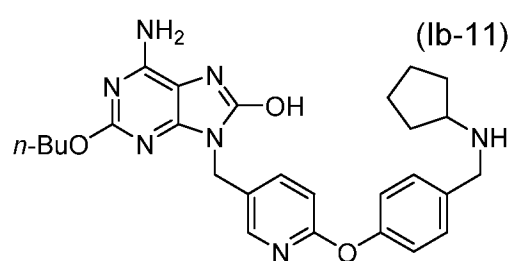
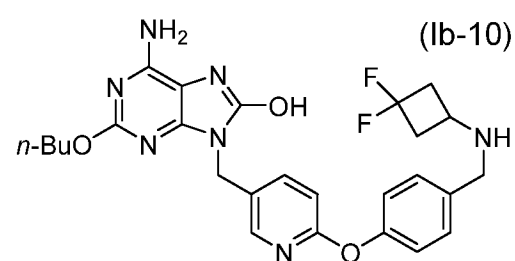
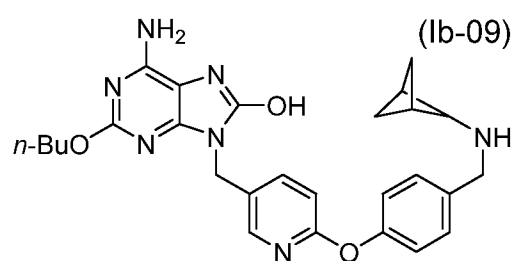
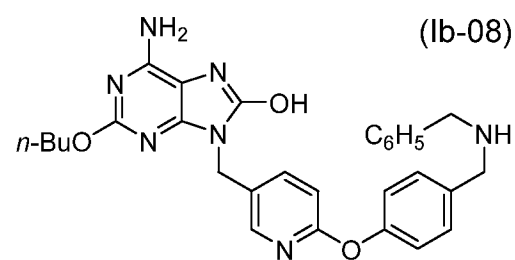
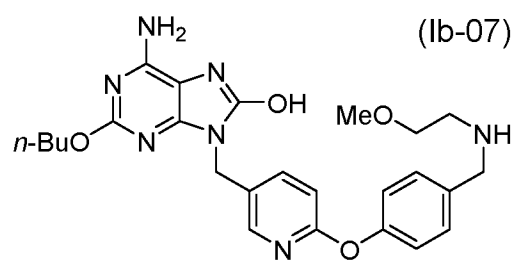
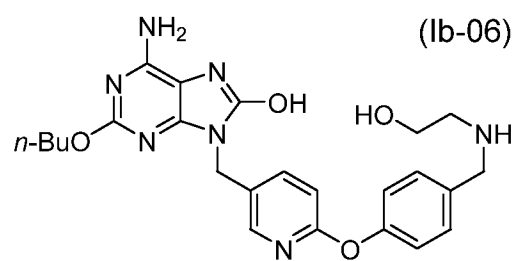
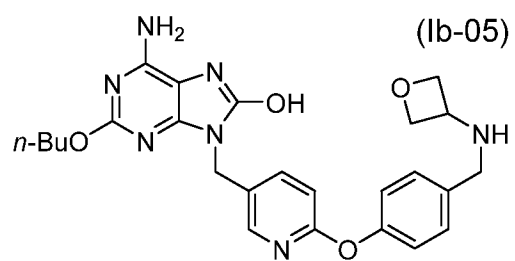
[0069] Предпочтительно, в формулах (I'), (II'), (Ia), (Ib), (IIa) и (IIb) не более двух X , и более предпочтительно не более одного X , в каждом отдельно взятом ароматическом кольце представляет собой N.

[0070] Примеры соединений в соответствии с формулой (Ia) включают в себя:

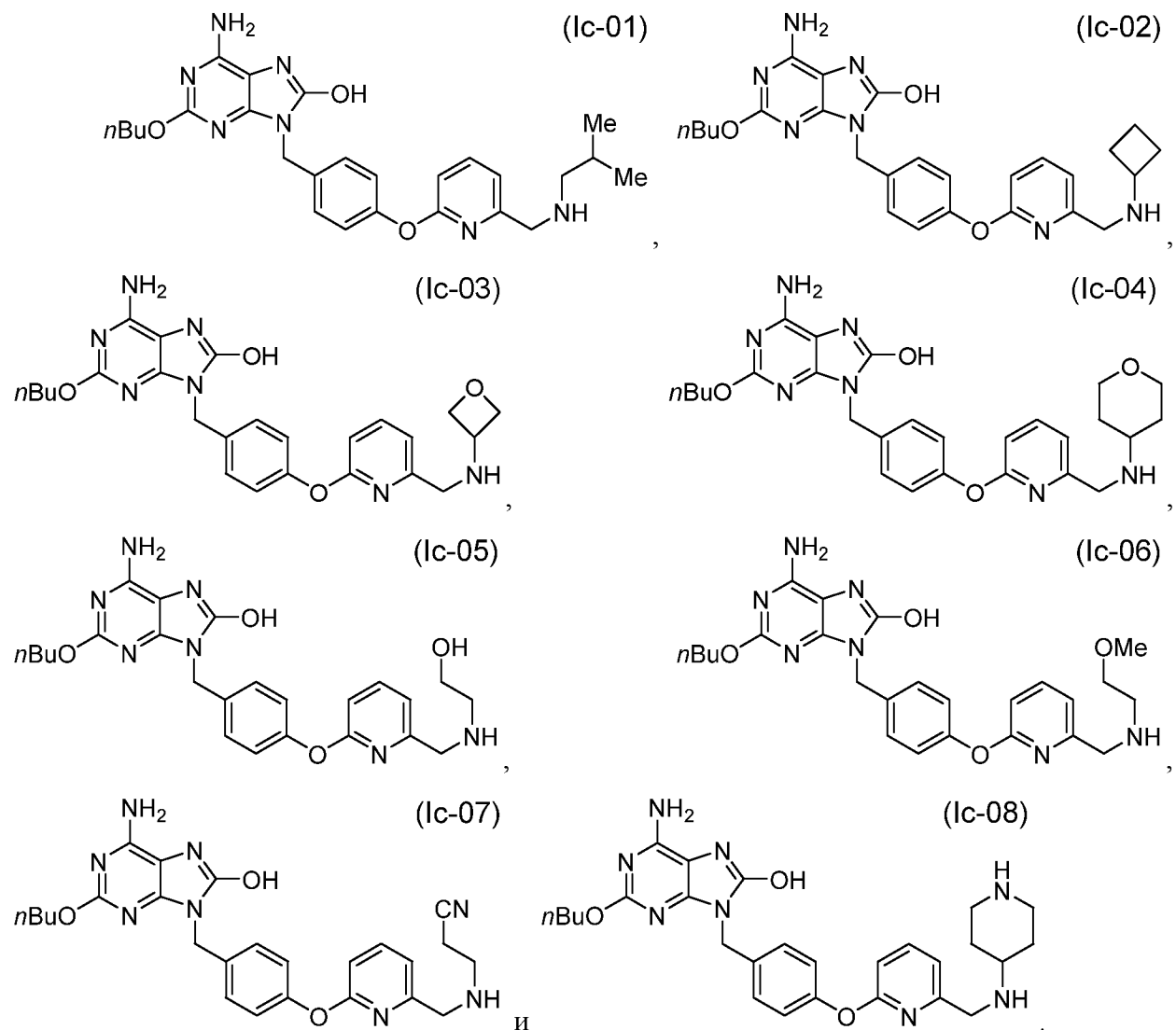


[0071] Примеры соединений в соответствии с формулой (Ib) включают в себя:

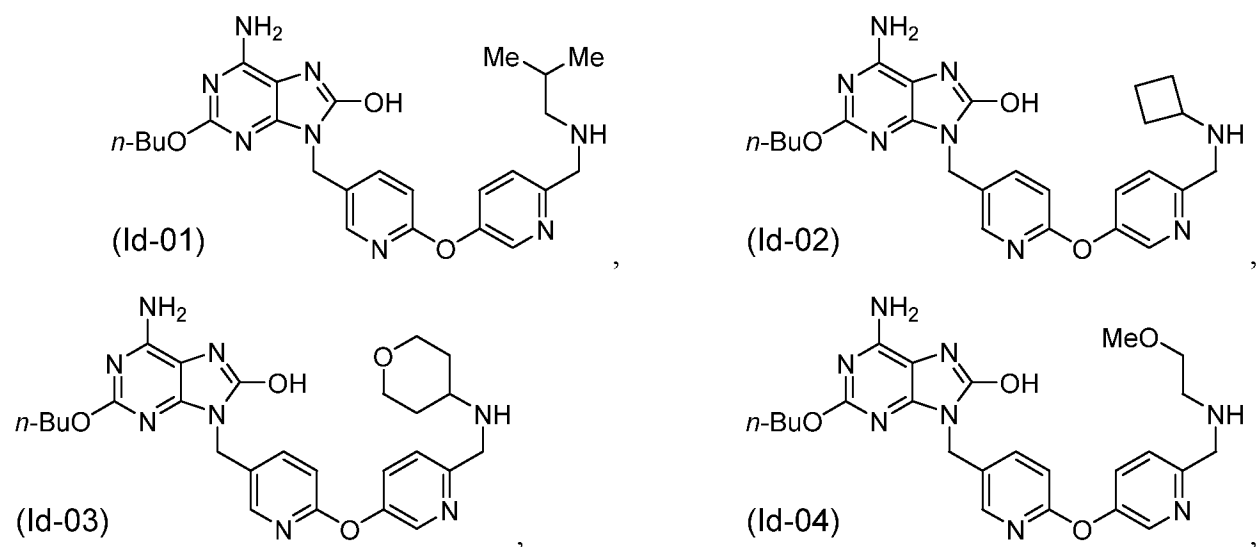


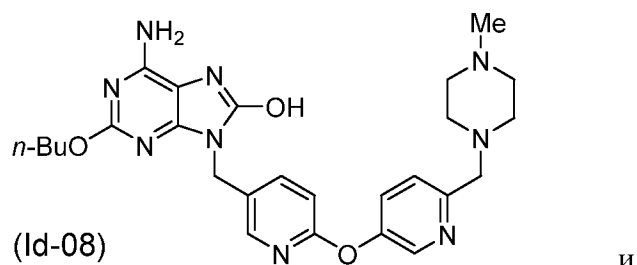
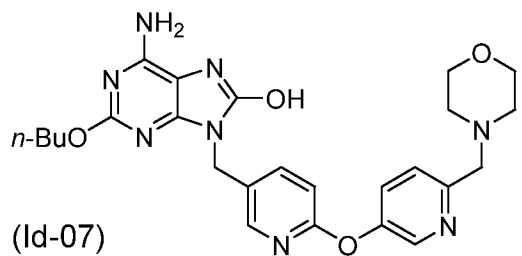
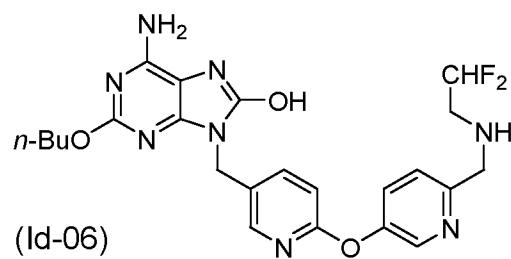
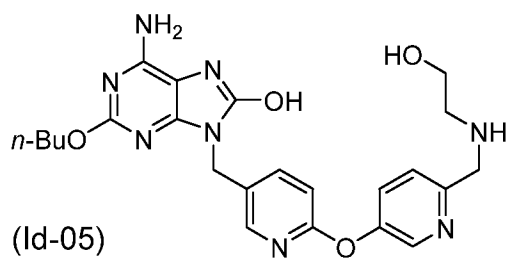


[0072] Примеры соединений в соответствии с формулой (Ic) включают в себя:

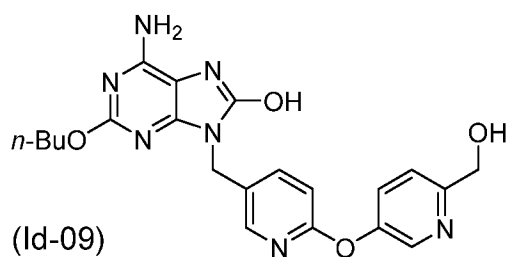


[0073] Примеры соединений в соответствии с формулой (Id) включают в себя:

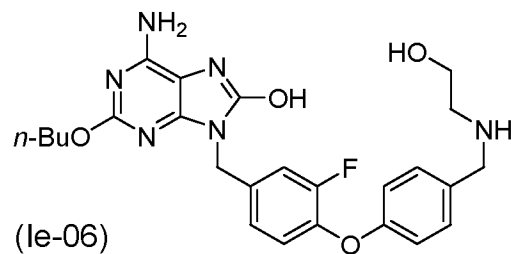
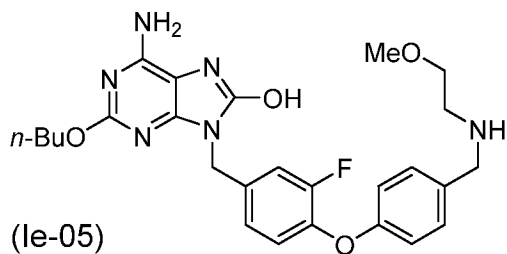
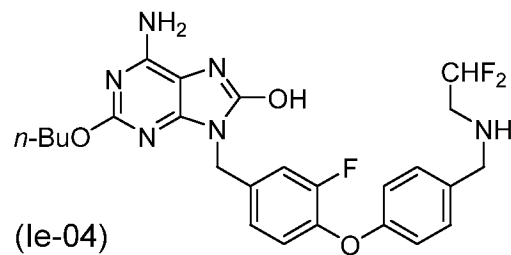
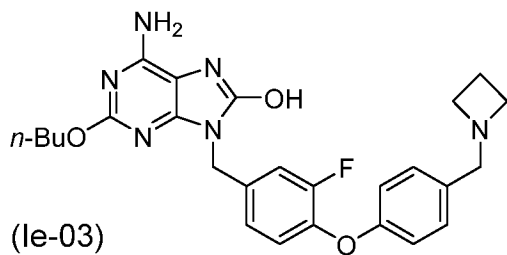
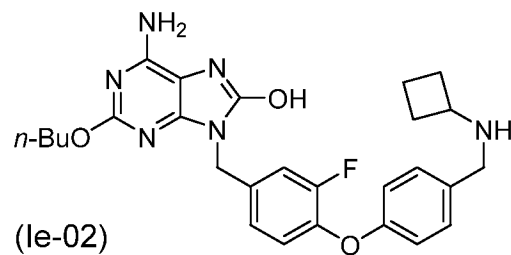
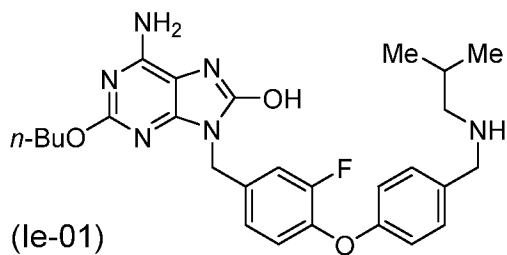


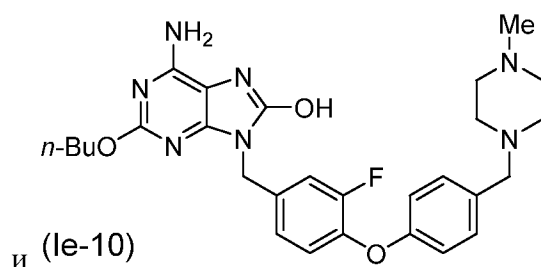
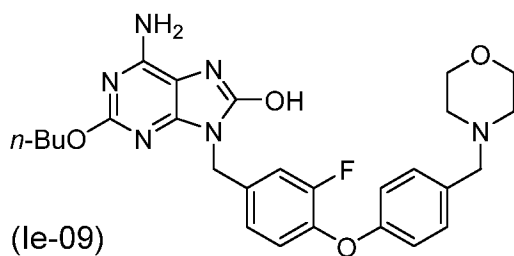
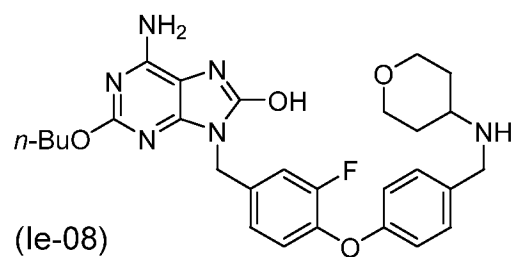
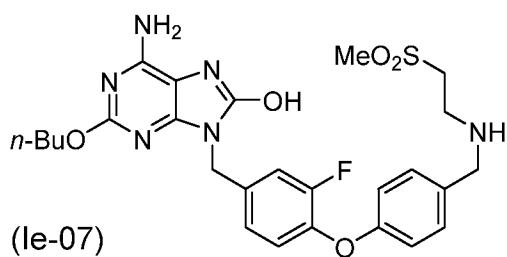


и

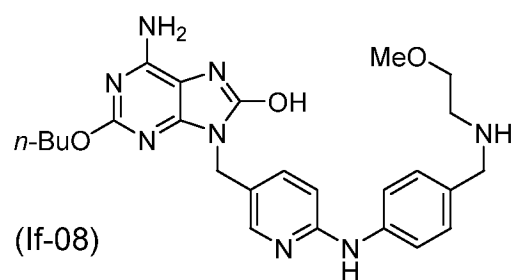
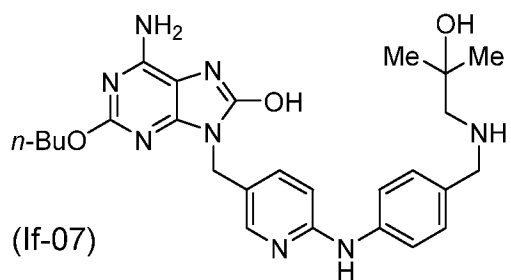
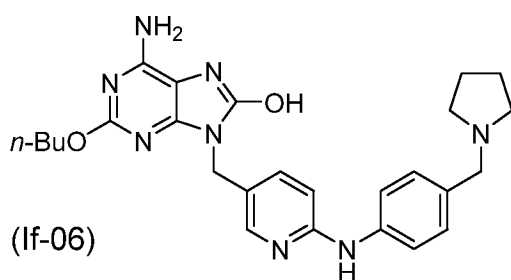
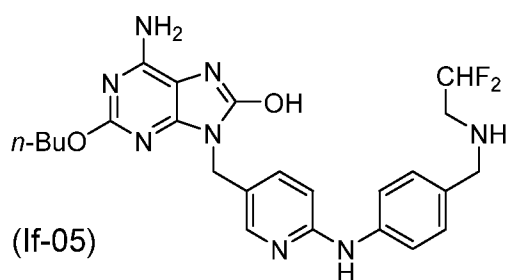
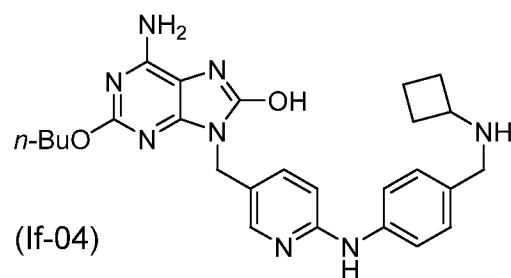
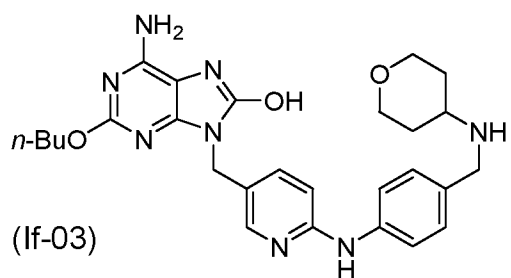
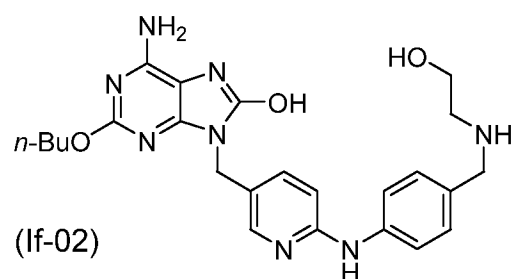
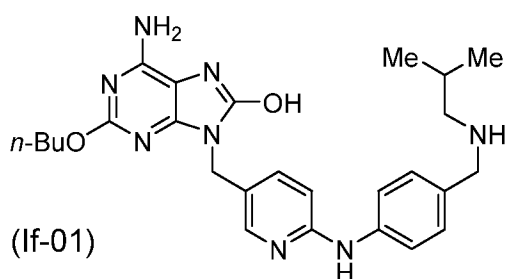


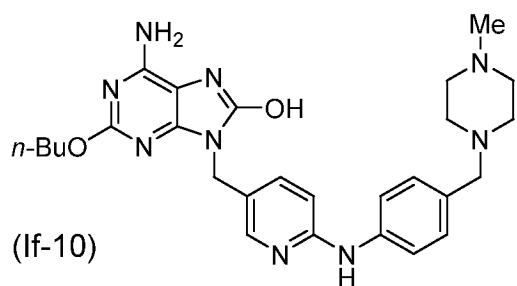
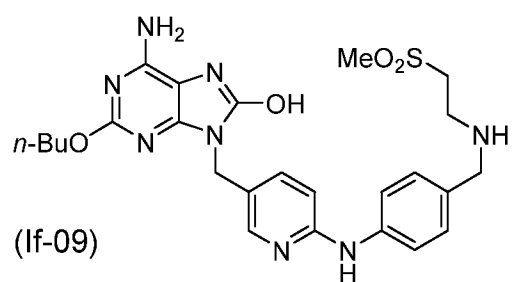
[0074] Примеры соединений в соответствии с формулой (Ie) включают в себя:



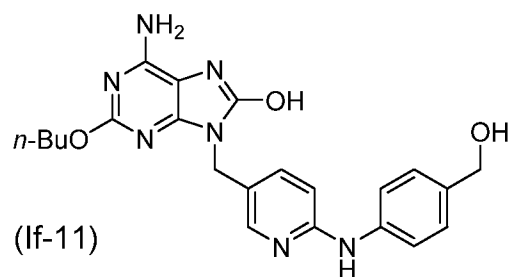


[0075] Примеры соединений в соответствии с формулой (If) включают в себя:

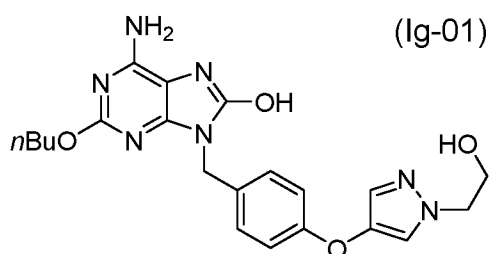




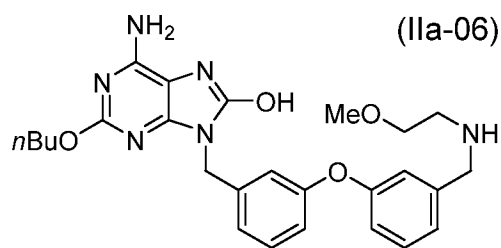
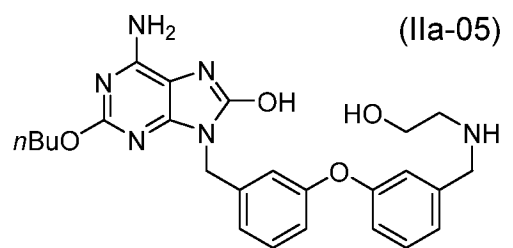
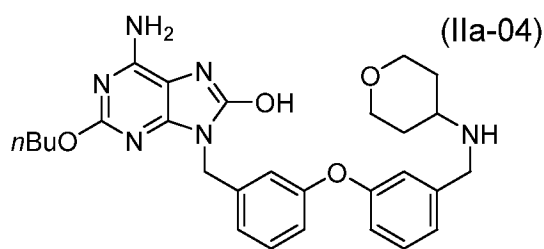
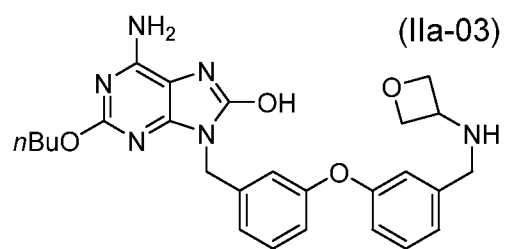
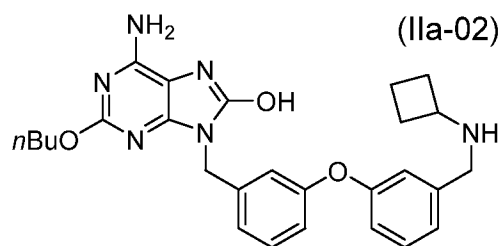
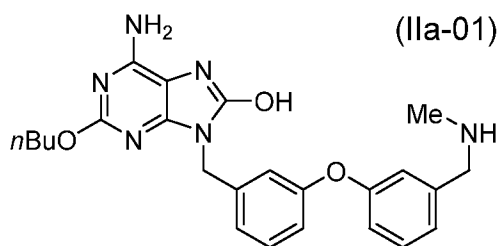
и

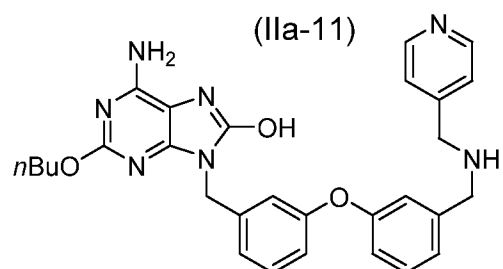
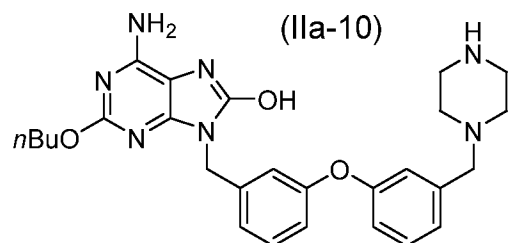
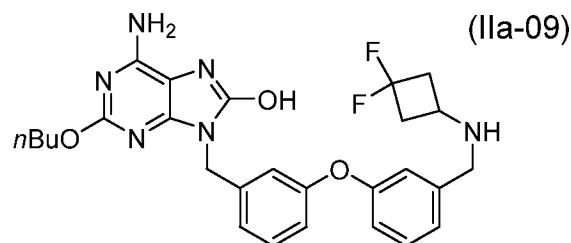
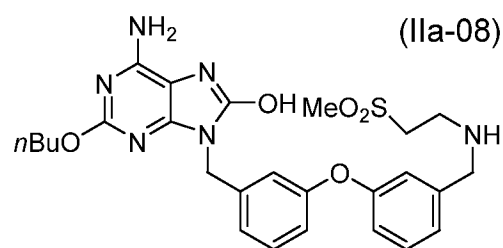
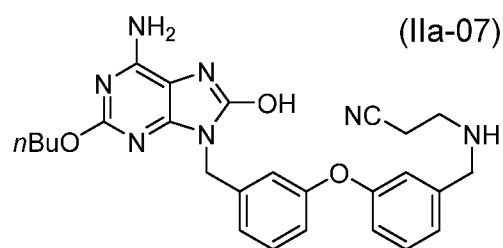


[0076] Пример соединения в соответствии с формулой (Ig) представляет собой:



[0077] Примеры соединений в соответствии с формулой (IIa) включают в себя:





[0078] В Таблице А представлены данные по биологической активности для соединений, раскрытых в настоящем документе. Одна группа данных относится к анализу активности в качестве агонистов TLR7 с применением репортерного анализа с клетками HEK-Blue™ TLR7, описанного ниже в настоящем документе. Другая группа данных относится к анализу индукции интерлейкина 6 (IL-6), цитокина, который играет важную роль в сигнальном пути TLR7. Для сравнения, также представлены данные по активности резиквимода, весатолимода, гардиквимода и Соединения В (рег. № CAS 226906-84-9).

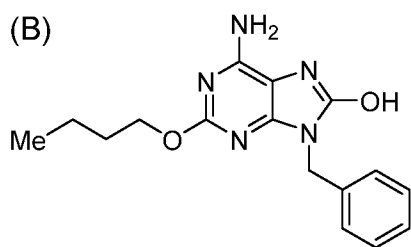


Таблица А – Биологическая активность		
Соединение	Агонизм в отношении TLR7 (EC ₅₀ , нМ)	Индукция IL6 (EC ₅₀ , мкМ)
Резиквимод	420	—
Весатолиמוד	1,200	—
Гардиквимод	3,340	—

Таблица А – Биологическая активность		
Соединение	Агонизм в отношении TLR7 (EC ₅₀ , нМ)	Индукция IL6 (EC ₅₀ , мкМ)
Соединение В	474	—
Ia-01	14	0,506
Ia-02	1,3	—
Ia-03	2,1	0,0176
Ia-04	2,6	0,0104
Ia-05	1,7	0,0310
Ia-06	1,4	0,0173
Ia-07	1,3	0,00662
Ia-08	13	0,0243
Ib-01	12	0,104
Ib-02	1,2	0,0296
Ib-03	1,1	0,00750
Ib-04	0,91	—
Ib-05	0,70	0,00957
Ib-06	0,91	0,0107
Ib-07	0,62	0,00581
Ib-08	5,3	—
Ib-09	1,3	0,00591
Ib-10	1,3	0,0143
Ib-11	1,6	0,00814
Ib-12	0,54	0,00377
Ib-13	2,9	0,0309
Ib-14	1,8	0,0189
Ib-15	1,1	0,0647
Ib-16	0,35	0,0848
Ib-17	0,83	0,00511
Ic-01	2,40	0,0101
Ic-02	2,51	0,0161
Ic-03	4,27	0,0780
Ic-04	1,82	0,0207
Ic-05	0,871	0,0442

Таблица А – Биологическая активность		
Соединение	Агонизм в отношении TLR7 (EC ₅₀ , нМ)	Индукция IL6 (EC ₅₀ , мкМ)
Ic-06	2,82	0,0280
Ic-07	3,57	0,133
Ic-08	8,02	0,232
Id-01	2,22	0,028
Id-02	2,07	0,025
Id-03	1,12	0,014
Id-04	0,96	0,013
Id-05	1,6	0,012
Id-06	1,8	0,10
Id-07	0,89	0,015
Id-08	1,77	0,021
Ie-01	0,45	0,026
Ie-02	1,38	0,019
Ie-03	1,12	0,019
Ie-04	1,8	0,46
Ie-05	1,14	0,024
Ie-06	0,46	0,029
Ie-07	1,71	0,13
Ie-08	1,2	0,0076
Ie-09	3,9	0,25
Ie-10	2,9	0,075
If-01	7,5	0,024
If-02	5,8	0,072
If-03	4,3	0,014
If-04	1,23	0,0025
If-05	7,46	0,017
If-06	1,56	0,0038
If-07	3,20	0,0078
If-08	1,19	—
If-09	0,374	0,068
If-10	4,20	—

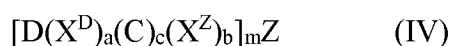
Таблица А – Биологическая активность		
Соединение	Агонизм в отношении TLR7 (EC ₅₀ , нМ)	Индукция IL6 (EC ₅₀ , мкМ)
Ig-01	72	0,31
Па-01	455,4	—
Па-02	435	—
Па-03	403	—
Па-04	113	—
Па-05	375	—
Па-06	121	—
Па-07	279	—
Па-08	154	—
Па-09	525	—
Па-10	942	—
Па-11	431	—

Конъюгаты

Общая часть

[0079] Агонисты TLR7, раскрытые в настоящем документе, могут быть доставлены до места, которому адресовано воздействие, путем локализованного введения или путем адресной доставки в конъюгате с направляющим фрагментом. Предпочтительно, направляющий фрагмент представляет собой антитело или его антиген-связывающую часть, и его антиген обнаруживают в месте, которому адресовано воздействие, например, ассоциированный с опухолью антиген, если место, которому адресовано воздействие, находится в опухоли (злокачественной опухоли). Предпочтительно, ассоциированный с опухолью антиген является уникально экспрессируемым или повышено экспрессируемым клеткой злокачественной опухоли по сравнению с нормальной клеткой. Ассоциированный с опухолью антиген может быть расположен на поверхности клетки злокачественной опухоли или может секретироваться клеткой злокачественной опухоли в окружающую ее среду.

[0080] Один аспект относится к конъюгату, включающему в себя соединение согласно настоящему изобретению и лиганд, представленный формулой (IV)



где Z представляет собой направляющий фрагмент, D представляет собой агонист согласно настоящему изобретению, и $-(X^D)_aC(X^Z)_b-$ совместно именуется «линкерным фрагментом»

или «линкером», поскольку они связывают Z и D . В составе линкера, C представляет собой расщепляемую группу, сконструированную для расщепления в месте, которому адресовано биологическое воздействие D , или рядом с ним; X^D и X^Z представляют собой спейсерные фрагменты (или «спейсеры»), которые разносят в пространстве D и C и C и Z , соответственно; нижние индексы a , b и c независимо равны 0 или 1 (т.е., наличие X^D , X^Z и C является необязательным). Нижний индекс m равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 (предпочтительно 1, 2, 3 или 4). Значения D , X^D , C , X^Z и Z более полно описаны ниже в настоящем документе.

[0081] Путем связывания с тканью или клеткой-мишенью, где расположен его антиген или рецептор, Z направляет туда конъюгат. Расщепление группы C в ткани или клетке-мишени высвобождает D для реализации его местного воздействия. Таким образом, достигается точная доставка D в место, которому адресовано воздействие, сокращающая требуемую дозировку. Кроме того, D обычно является биологически неактивным (или значительно менее активным) в своем конъюгированном состоянии, уменьшая тем самым побочные эффекты.

[0082] Как видно из нижнего индекса m , каждый Z может конъюгировать более чем с одним D , в зависимости от количества участков Z , доступных для конъюгации, и применяемых экспериментальных условий. Специалисту в данной области техники следует понимать, что хотя каждый отдельный Z конъюгирован с целым числом D , при получении конъюгата анализ может показать отличное от целого числа соотношение D и Z , отражающее статистическое среднее значение. Это соотношение называют степенью замещения («SR») или соотношением лекарство-антитело («DAR»).

Направляющий фрагмент Z

[0083] Предпочтительно, направляющий фрагмент Z представляет собой антитело. Для удобства и краткости, но не с целью ограничения, Z и его конъюгаты подробно рассматриваются в контексте настоящего раскрытия как представляющие собой антитело, но специалистам в данной области техники следует понимать, что с учетом внесения необходимых изменений могут быть конъюгированы другие типы Z . Например, конъюгаты с фолиевой кислотой в качестве направляющего фрагмента могут нацеливаться на клетки, содержащие рецептор к фолату на своих поверхностях (Leamon *et al.*, Cancer Res. **2008**, 68 (23), 9839). По тем же соображениям, подробное рассмотрение в настоящем раскрытии описано главным образом применительно к соотношению $Z/D = 1/1$ ($m = 1$).

[0084] Антитела, которые могут быть применены в конъюгатах согласно настоящему изобретению, включают в себя антитела, распознающие следующие антигены: мезотелин, простатический специфический мембранный антиген (PSMA), CD19, CD22,

CD30, CD70, B7H3, B7H4 (также известен как O8E), протеинтирозинкиназу 7 (PTK7), глипикан-3, RG1, фукозил-GM1, CTLA-4 и CD44. Антитело может быть антителом животного (например, мыши), химерным, гуманизированным, или предпочтительно антителом человека. Антитело предпочтительно является моноклональным, в особенности моноклональным антителом человека. Получение моноклональных антител против некоторых из упомянутых выше антигенов описано в документах Korman *et al.*, US 8,609,816 B2 (2013; B7H4, также известен как O8E; в частности, антитела против 2A7, 1G11 и 2F9); Rao-Naik *et al.*, 8,097,703 B2 (2012; CD19; в частности, антитела против 5G7, 13F1, 46E8, 21D4, 21D4a, 47G4, 27F3 и 3C10); King *et al.*, US 8,481,683 B2 (2013; CD22; в частности, антитела против 12C5, 19A3, 16F7 и 23C6); Keler *et al.*, US 7,387,776 B2 (2008; CD30; в частности, антитела против 5F11, 2H9 и 17G1); Terrett *et al.*, US 8,124,738 B2 (2012; CD70; в частности, антитела против 2H5, 10B4, 8B5, 18E7 и 69A7); Korman *et al.*, US 6,984,720 B1 (2006; CTLA-4; в частности, антитела против 10D1, 4B6 и 1E2); Korman *et al.*, US 8,008,449 B2 (2011; PD-1; в частности, антитела против 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 4A11, 7D3 и 5F4); Huang *et al.*, US 2009/0297438 A1 (2009; PSMA; в частности, антитела против 1C3, 2A10, 2F5, 2C6); Cardarelli *et al.*, US 7,875,278 B2 (2011; PSMA; в частности, антитела против 4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5 и 1C3); Terrett *et al.*, US 8,222,375 B2 (2012; PTK7; в частности, антитела против 3G8, 4D5, 12C6, 12C6a и 7C8); Harkins *et al.*, US 7,335,748 B2 (2008; RG1; в частности, антитела против A, B, C и D); Terrett *et al.*, US 8,268,970 B2 (2012; мезотелин; в частности, антитела против 3C10, 6A4 и 7B1); Xu *et al.*, US 2010/0092484 A1 (2010; CD44; в частности, антитела против 14G9.B8.B4, 2D1.A3.D12 и 1A9.A6.B9); Deshpande *et al.*, US 8,258,266 B2 (2012; IP10; в частности, антитела против 1D4, 1E1, 2G1, 3C4, 6A5, 6A8, 7C10, 8F6, 10A12, 10A12S и 13C4); Kuhne *et al.*, US 8,450,464 B2 (2013; CXCR4; в частности, антитела против F7, F9, D1 и E2); и Korman *et al.*, US 7,943,743 B2 (2011; PD-L1; в частности, антитела против 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 и 13G4); раскрытие которых включено в настоящий документ посредством ссылки. Предпочтительно, антитело представляет собой антитело против мезотелина.

[0085] В дополнение к тому, что Z является антителом, он также может представлять собой фрагмент антитела (такой как Fab, Fab', F(ab')₂, Fd или Fv) или миметик антитела, такой как аффитело, доменное антитело (dAb), нанотело, унитело, DARPin, антикалин, версатело, дуокалин, липокалин или авимер.

[0086] Любая из нескольких различных реакционно-способных групп на Z может представлять собой место конъюгации, включая ε-аминогруппы в остатках лизина, боковые углеводные фрагменты, карбоксикислотные группы на боковых цепях аспарагиновой или

глутаминовой кислоты, цистеин-цистеиновые дисульфидные группы и тиольные группы цистеина. Для обзора реакционно-способных групп антител, подходящих для конъюгации, см., например, документы Garnett, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, 53, 171-216 и Dubowchik and Walker, *Pharmacology & Therapeutics* **1999**, 83, 67-123, раскрытия которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

[0087] Большинство антител содержат множественные остатки лизина, которые могут быть конъюгированы посредством их ϵ -аминогрупп с формированием амидных, мочевиновых, тиомочевиновых или карбаматных связей.

[0088] Тиольная (-SH) группа в боковой цепи цистеина может быть применена для формирования конъюгата несколькими способами. Она может быть применена для формирования дисульфидной связи между ней и тиольной группой на линкере. Другой способ представляет собой присоединение по Михаэлю к малеимидной группе на линкере.

[0089] Хотя антитела содержат остатки цистеина, обычно у них отсутствуют свободные тиольные группы, поскольку все их цистеины участвуют в дисульфидных связях внутри цепи и между цепями. Для получения свободной тиольной группы, нативная дисульфидная группа может быть восстановлена (см., например, Packard *et al.*, *Biochemistry* **1986**, 25, 3548; King *et al.*, *Cancer Res.* **1994**, 54, 6176; и Doronina *et al.*, *Nature Biotechnol.* **2003**, 21, 778). В качестве альтернативы, содержащий свободную группу -SH цистеин может быть введен путем мутирования антитела, заменяя цистеином другую кислоту или вводя его в полипептидную цепь (см., например, Eigenbrot *et al.*, US 7,521,541 B2 (2009); Chilkoti *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **1994**, 5, 504; Urnovitz *et al.*, US 4,698,420 (1987); Stimmel *et al.*, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 30445; Bam *et al.*, US 7,311,902 B2 (2007); Kuan *et al.*, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 7610; Poon *et al.*, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 8571; Junutula *et al.*, *Nature Biotechnology* **2008**, 26, 925, и Rajpal *et al.*, предварительная заявка на выдачу патента США № 62/270245, поданная 21 декабря 2015 года). Согласно еще одному подходу, цистеин добавляют к C-концу тяжелой **или** легкой цепи (см., например, Liu *et al.*, US 8,865,875 B2 (2014); Cumber *et al.*, *J. Immunol.* **1992**, 149, 120; King *et al.*, *Cancer Res.* **1994**, 54, 6176; Li *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **2002**, 13, 985; Yang *et al.*, *Protein Engineering* **2003**, 16, 761; и Olafson *et al.*, *Protein Engineering Design & Selection* **2004**, 17, 21). Раскрытия документов, процитированных в этом параграфе, включены в настоящий документ посредством ссылки.

Линкеры и их компоненты

[0090] Как отмечено выше, линкер содержит до трех элементов: расщепляемую группу C и необязательные спейсеры X^Z и X^D .

[0091] Группа С расщепляется при физиологических условиях. Предпочтительно, она относительно стабильна, пока конъюгат циркулирует в крови, но легко расщепляется, когда конъюгат достигает места, которому адресовано воздействие.

[0092] Предпочтительная группа С представляет собой пептид, который избирательно расщепляется протеазой внутри клетки-мишени в отличие от протеазы в сыворотке крови. Обычно, пептид содержит от 1 до 20 аминокислот, предпочтительно от 1 до 6 аминокислот, более предпочтительно 2 или 3 аминокислоты. Аминокислота(ы) может(гут) быть встречающимися в природе и/или искусственными α -аминокислотами. Встречающимися в природе аминокислотами являются аминокислоты, кодируемые генетическим кодом, а также аминокислоты, полученные из них, например, гидроксипролин, γ -карбоксиглутамат, цитруллин и О-фосфосерин. В настоящем раскрытии термин «аминокислота» также включает в себя аналоги и миметики аминокислот. Аналогами являются соединения, характеризующиеся той же общей структурой $H_2N(R)CHCO_2H$ встречающейся в природе аминокислоты, за исключением того, что группа R не является группой, обнаруживаемой среди встречающихся в природе аминокислот. Примеры аналогов включают в себя гомосерин, норлейцин, метионинсульфоксид и метионинметилсульфоний. Миметиком аминокислоты является соединение, которое характеризуется структурой, отличной от общей химической структуры α -аминокислоты, но функционирует по аналогии с ней. Аминокислота может характеризоваться «L» стереохимией генетически кодируемых аминокислот, а также энантиомерной «D» стереохимией.

[0093] Предпочтительно, С содержит последовательность аминокислот, которая представляет собой последовательность распознавания для расщепления протеазой. Из уровня техники известно множество последовательностей распознавания для расщепления протеазой (см., например, документы Matayoshi *et al. Science* 247: 954 (1990); Dunn *et al. Meth. Enzymol.* 241: 254 (1994); Seidah *et al. Meth. Enzymol.* 244: 175 (1994); Thornberry, *Meth. Enzymol.* 244: 615 (1994); Weber *et al. Meth. Enzymol.* 244: 595 (1994); Smith *et al. Meth. Enzymol.* 244: 412 (1994); и Bouvier *et al. Meth. Enzymol.* 248: 614 (1995); раскрытия которых включены в настоящий документ посредством ссылки).

[0094] Группа С может быть выбрана таким образом, что она расщепляется протеазой, присутствующей во внеклеточном матриксе в непосредственной близости к злокачественной опухоли, например, протеазой, высвобождаемой погибающими поблизости клетками злокачественной опухоли, или ассоциированной с опухолью протеазой, высвобождаемой клетками злокачественной опухоли. Иллюстративными внеклеточными ассоциированными с опухолью протеазами являются плазмин, матриксные

металлопротеазы (MMP), тимет-олигопептидазы (TOP) и CD10 (см., например, Trouet *et al.*, US 7,402,556 B2 (2008); Dubois *et al.*, US 7,425,541 B2 (2008); и Bebbington *et al.*, US 6,897,034 B2 (2005)). Катепсин D, лизосомальный фермент, обычно обнаруживаемый внутри клеток, иногда обнаруживается в окружающей опухоль среде, предположительно высвобождаясь погибающими клетками злокачественной опухоли.

[0095] Для конъюгатов, конструируемых для расщепления ферментом, С предпочтительно содержит аминокислотную последовательность, выбранную для расщепления такими протеазами, как катепсины В, С, D, H, L и S, в особенности катепсин В. Иллюстративные расщепляемые катепсином В пептиды включают в себя Val-Ala, Val-Cit, Val-Lys, Lys-Val-Ala, Asp-Val-Ala, Val-Ala, Lys-Val-Cit, Ala-Val-Cit, Val-Gly, Val-Gln и Asp-Val-Cit. (Если контекстом прямо не указано иное, то в настоящем документе, аминокислотные последовательности записаны в направлении от N-конца к С-концу, как в $H_2N-AA^2-AA^1-CO_2H$; см., документы Dubowchik *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 3341; Dubowchik *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 3347; и Dubowchik *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **2002**, 13, 855; раскрытия которых включены в настоящий документ посредством ссылки).

[0096] Другим ферментом, который может быть применен для расщепления пептидных линкеров, является легумаин, лизосомальная протеаза, которая предпочтительно расщепляет по Ala-Ala-Asn.

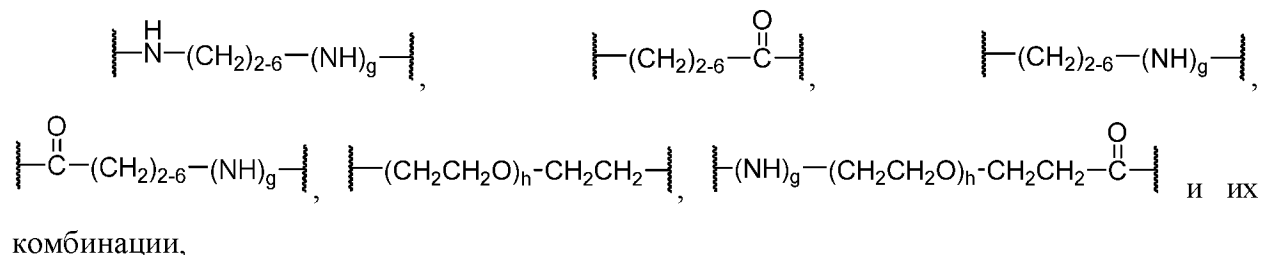
[0097] Согласно одному варианту осуществления, группа С представляет собой пептид, содержащий последовательность из двух аминокислот $-AA^2-AA^1-$, в которой AA^1 представляет собой лизин, аргинин или цитруллин, и AA^2 представляет собой фенилаланин, валин, аланин, лейцин или изолейцин. Согласно другому варианту осуществления, С состоит из последовательности из 1-3 аминокислот, выбранной из группы, состоящей из Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Cit-Cit, Val-Lys, Ala-Ala-Asn, Lys, Cit, Ser и Glu. Более предпочтительно, она представляет собой пептид из 2 или 3 аминокислот из представленной выше группы.

[0098] Получение и конструирование расщепляемых групп С, состоящих из единственной аминокислоты, раскрыто в документе Chen *et al.*, US 8,664,407 B2 (2014), раскрытие которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

[0099] Группа С может быть связана непосредственно с Z или D; т.е., в соответствующих случаях спейсеры X^Z или X^D могут отсутствовать.

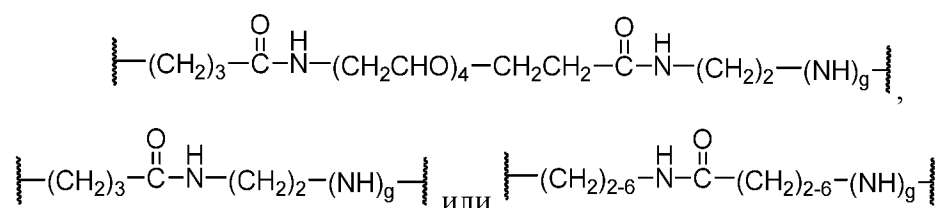
[00100] При наличии, спейсер X^Z обеспечивает разделение в пространстве С и Z, чтобы первый не затруднял стерически связывание антигена последним, или чтобы последний не затруднял стерически расщепление первого. Кроме того, спейсер X^Z может

быть применен для обеспечения конъюгатов улучшенной растворимостью или сниженной способностью к агрегации. Спейсер X^Z может включать в себя один или несколько модульных сегментов, которые могут быть собраны в любом количестве комбинаций. Примерами подходящих для спейсера X^Z сегментов являются:



где нижний индекс g равен 0 или 1, и нижний индекс h равен 1-24, предпочтительно 2-4.

Указанные сегменты могут быть объединены, как представлено ниже:



[00101] При наличии, спейсер X^D обеспечивает разделение в пространстве C и D, чтобы последний не затруднял стерически или электронно расщепление первого. Спейсер X^D может также служить для надления конъюгата дополнительной молекулярной массой и дополнительным количеством функциональных групп. Как правило, дополнительные масса и количество функциональных групп будут влиять на время полужизни в сыворотке крови и другие свойства конъюгата. Таким образом, посредством правильного выбора спейсерных групп может модулироваться время полужизни конъюгата в сыворотке крови. Спейсер X^D также может собираться из модульных сегментов, по аналогии с приведенным выше описанием для спейсера X^Z .

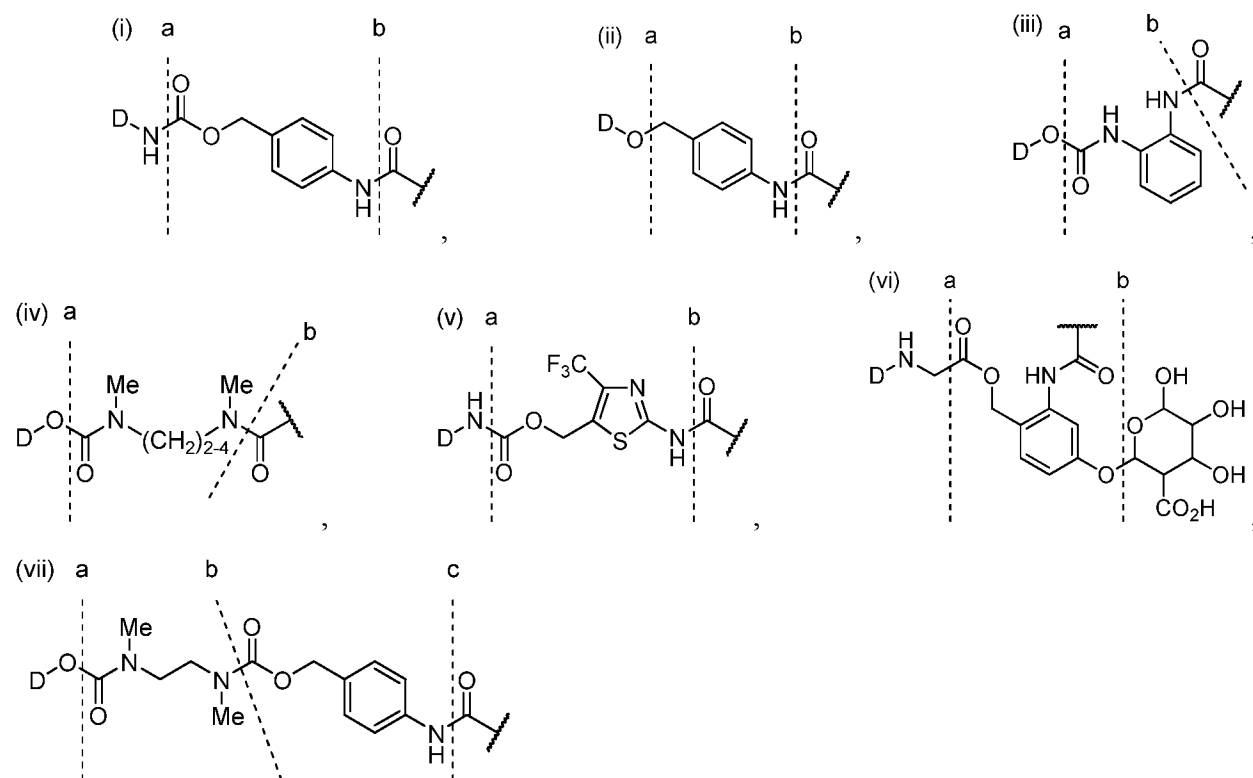
[00102] При наличии, спейсеры X^Z и/или X^D предпочтительно обеспечивают линейное разделение на расстояние от 4 до 25 атомов, более предпочтительно от 4 до 20 атомов, между Z и C или D и C, соответственно.

[00103] В дополнение к ковалентному связыванию антитела и лекарства линкер может выполнять другие функции. Например, линкер может содержать группу полиэтиленгликоля («ПЭГ»). Поскольку стадия конъюгации обычно включает в себя сочетание лекарства-линкера с антителом в водной среде, группа ПЭГ может улучшать растворимость в воде лекарства-линкера. Кроме того, группа ПЭГ может улучшать растворимость или снижать агрегацию полученного ADC. При наличии группы ПЭГ, она может быть включена в состав любого из спейсеров X^Z и X^D , либо обоих. Число

повторяющихся звеньев в группе ПЭГ может составлять от 2 до 20, предпочтительно от 4 до 10.

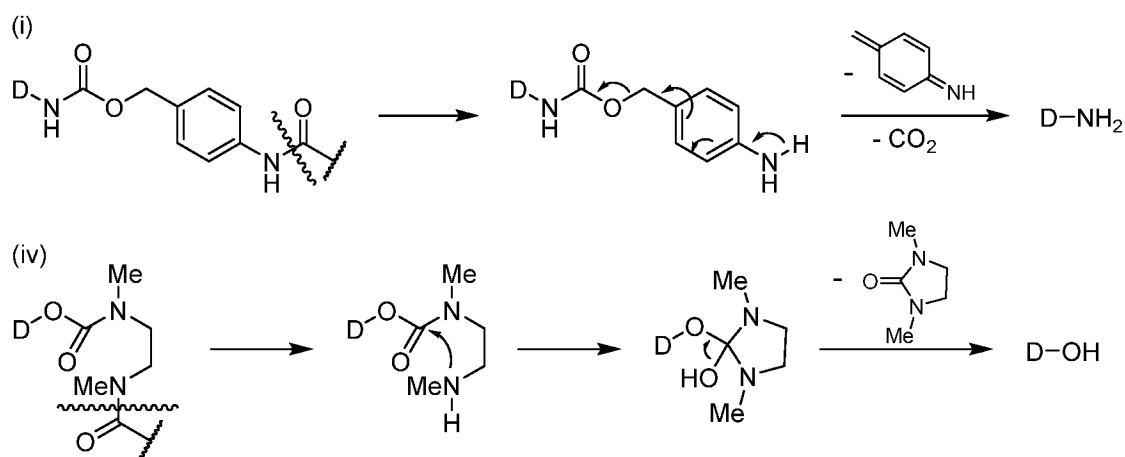
[00104] Спейсер X^Z или X^D , или оба, могут содержать саморазрушающийся фрагмент. Саморазрушающийся фрагмент представляет собой фрагмент, который (1) связан с С и либо с Z, либо с D, и (2) характеризуется такой структурой, что отщепление от группы С инициирует последовательность реакций, приводящую к отсоединению саморазрушающегося фрагмента от Z или D в соответствующих случаях. Другими словами, взаимодействие на участке, удаленном от Z или D (отщепление от группы С), также вызывает разрыв связи X^Z -Z или X^D -D. Наличие саморазрушающегося фрагмента является желательным в случае присутствия спейсера X^D , поскольку если после расщепления конъюгата спейсер X^D или его часть остаются присоединенными к D, то биологическая активность D может быть нарушена. Применение саморазрушающегося фрагмента особенно желательно, если расщепляемая группа С представляет собой полипептид; в этом случае саморазрушающийся фрагмент обычно располагают в виде прилегающего фрагмента для того, чтобы избежать стерических или электронных затруднений для D при расщеплении пептида.

[00105] Иллюстративные саморазрушающиеся фрагменты (i)-(v), присоединенные к гидроксильной или аминогруппе D представлены ниже:



[00106] Саморазрушающийся фрагмент представляет собой структуру между пунктирными линиями a и b (или пунктирными линиями b и c) со смежными структурными

признаками, представленными для обеспечения контекста. Саморазрушающиеся фрагменты (i) и (v) связаны с D-NH₂ (т.е., конъюгация осуществляется через аминогруппу), тогда как саморазрушающиеся фрагменты (ii), (iii) и (iv) связаны с D-OH (т.е., конъюгация осуществляется через карбоксильную группу). Расщепление связи по пунктирной линии b ферментом – пептидазой в случае структур (i)-(v) и β-глюкуронидазой в случае структуры (vi) – инициирует последовательность реакции саморазрушения, которая приводит к расщеплению связи по пунктирной линии a и последующему высвобождению D-OH или D-NH₂ в соответствующих случаях. В качестве иллюстрации, ниже представлены механизмы саморазрушения для структур (i) и (iv):



[00107] Другими словами, расщепление химической связи в одной части саморазрушающейся группы инициирует последовательность стадий, которые приводят к расщеплению второй химической связи, соединяющей саморазрушающуюся группу с лекарством, в другой части саморазрушающейся группы, высвобождая тем самым лекарство.

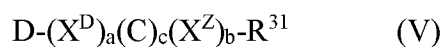
[00108] В некоторых случаях, саморазрушающиеся группы могут быть применены в тандеме, как представлено структурой (vii). В этом случае, расщепление по пунктирной линии c запускает процесс саморазрушения фрагмента между пунктирными линиями b и c посредством реакции 1,6-элиминирования с последующим саморазрушением фрагмента между пунктирными линиями a и b посредством реакции циклизации-элиминирования. Для дополнительных раскрытий, касающихся саморазрушающихся фрагментов, см. документы Carl *et al.*, *J. Med. Chem.* **1981**, 24, 479; Carl *et al.*, WO 81/01145 (1981); Dubowchik *et al.*, *Pharmacology & Therapeutics* **1999**, 83, 67; Firestone *et al.*, US 6,214,345 B1 (2001); Toki *et al.*, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 1866; Doronina *et al.*, *Nature Biotechnology* **2003**, 21, 778 (erratum, p. 941); Boyd *et al.*, US 7,691,962 B2; Boyd *et al.*, US 2008/0279868 A1; Sufi *et al.*, WO 2008/083312 A2; Feng, US 7,375,078 B2; Jeffrey *et al.*, US

8,039,273; и Senter *et al.*, US 2003/0096743 A1; раскрытия которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

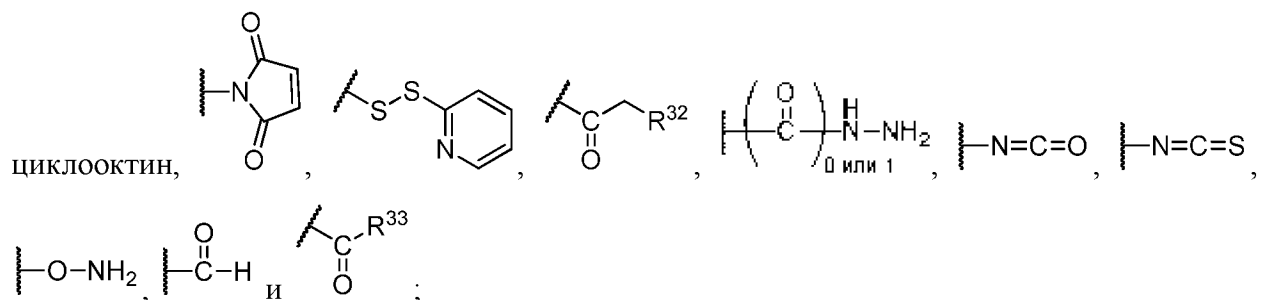
[00109] Согласно другому варианту осуществления, Z и D связаны посредством нерасщепляемого линкера, т.е., C отсутствует. В конечном итоге метаболизм D редуцирует линкер до небольшого присоединенного фрагмента, который не влияет на биологическую активность D.

Методики конъюгации

[00110] Конъюгаты агонистов TLR7, раскрытых в настоящем документе, предпочтительно получают путем получения соединения, содержащего D и линкер $(X^D)_a(C)_c(X^Z)_b$ (где значения X^D , C, X^Z , a, b и c определены для формулы (II)), с формированием соединения лекарство-линкер, представленного формулой (V):

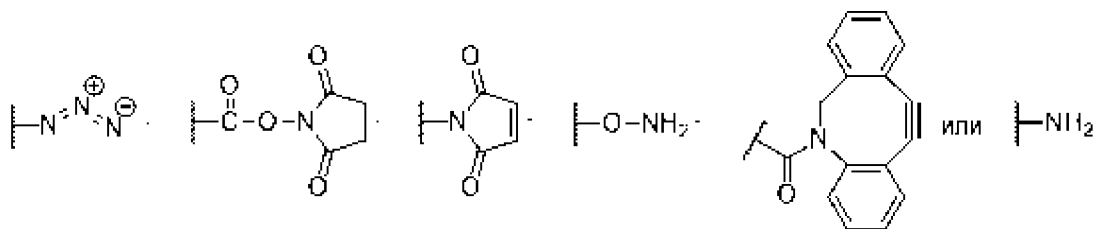


в которой R^{31} представляет собой функциональную группу, подходящую для взаимодействия с комплементарной функциональной группой на Z с формированием конъюгата. Примеры подходящих групп R^{31} включают в себя amino, azido, thiol,



где R^{32} представляет собой Cl, Br, F, мезилат или тозилат, и R^{33} представляет собой Cl, Br, I, F, OH, -O-N-сукцинимидил, -O-(4-нитрофенил), -O-пентафторфенил или -O-тетрафторфенил. Химия, как правило используемая для получения подходящих фрагментов $D-(X^D)_a(C)_c(X^Z)_b-R^{31}$, раскрыта в документах Ng *et al.*, US 7,087,600 B2 (2006); Ng *et al.*, US 6,989,452 B2 (2006); Ng *et al.*, US 7,129,261 B2 (2006); Ng *et al.*, WO 02/096910 A1; Boyd *et al.*, US 7,691,962 B2; Chen *et al.*, US 7,517,903 B2 (2009); Gangwar *et al.*, US 7,714,016 B2 (2010); Boyd *et al.*, US 2008/0279868 A1; Gangwar *et al.*, US 7,847,105 B2 (2010); Gangwar *et al.*, US 7,968,586 B2 (2011); Sufi *et al.*, US 8,461,117 B2 (2013); и Chen *et al.*, US 8,664,407 B2 (2014); раскрытия которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

[00111] Предпочтительной реакционно-способной функциональной группой - R^{31} является -NH₂, -OH, -CO₂H, -SH, малеимино, циклооктин, азидо (-N₃), гидроксиламино (-ONH₂) или N-гидроксисукцинимидо. Особенно предпочтительными функциональными группами - R^{31} являются:



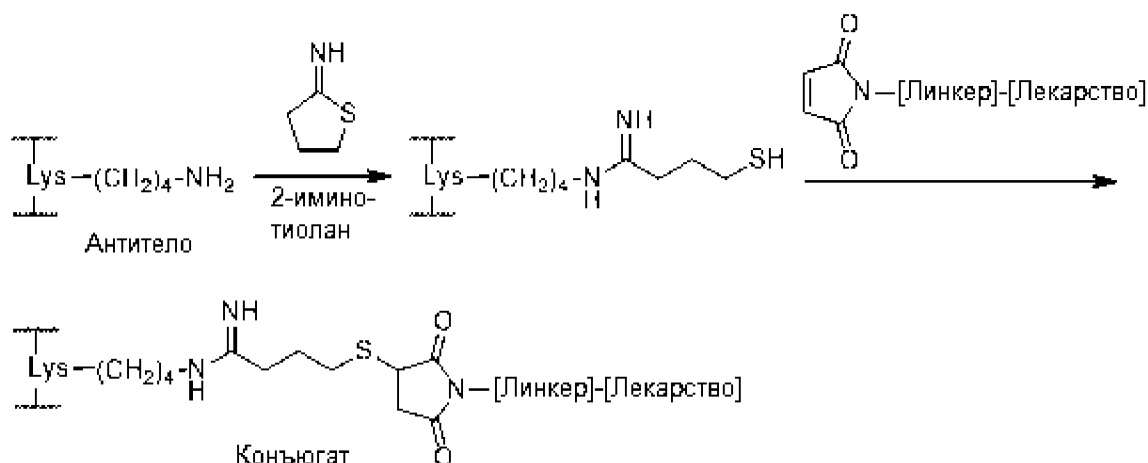
[00112] Группа -ОН может быть эстерифицирована карбоксигруппой на антителе, например, на боковой цепи аспарагиновой или глутаминовой кислоты.

[00113] Группа -CO₂H может быть эстерифицирована группой -ОН или амидирована аминогруппой (например, на боковой цепи лизина) на антителе.

[00114] N-гидроксисукцинимидная группа функционально представляет собой активированную карбоксильную группу и может быть легко амидирована посредством реакции с аминогруппой (например, на лизине).

[00115] Малеимидная группа может быть конъюгирована с группой -SH на антителе (например, на цистеине или на химически модифицированном антителе с введением сульфгидрильной функциональной группы) в реакции присоединения по Михаэлю.

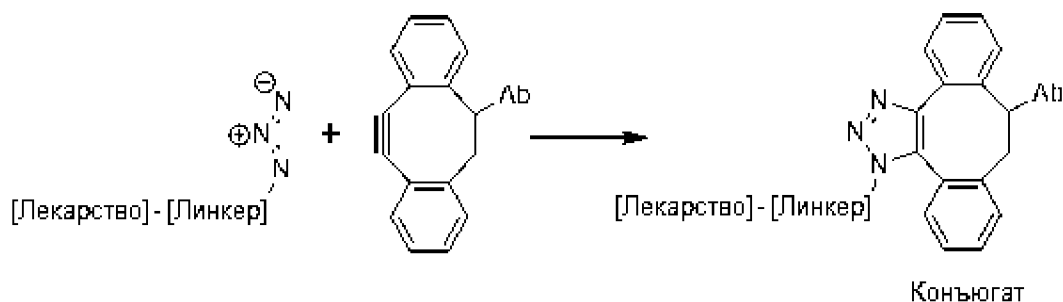
[00116] Если антитело не содержит группы -SH цистеина, доступной для конъюгации, то может быть осуществлено взаимодействие ε-аминогруппы на боковой цепи остатка лизина с 2-иминотиолом или N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)-пропионатом («SPDP») для введения свободной тиольной группы (-SH), конструируя фигурально выражаясь, суррогат цистеина. Тиольная группа может взаимодействовать с малеимидом или другой нуклеофильной акцепторной группой с осуществлением конъюгации. Механизм проиллюстрирован ниже с 2-иминотиолом.



[00117] Обычно, достигается степень тиолирования, равная двум или трем тиолам на антитело. Для типовой методики, см. документ Cong *et al.*, US 8,980,824 B2 (2015), раскрытие которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00118] При обратной схеме, для введения в него малеимидной группы антитело Z может быть модифицировано N-сукцинимидил-4-(малеимидометил)-циклогексанкарбоксилатом («SMCC») или его сульфонированным вариантом сульфо-SMCC, которые оба доступны от Sigma-Aldrich. Затем, может быть осуществлена конъюгация с соединением лекарство-линкер, содержащем на линкере группу -SH.

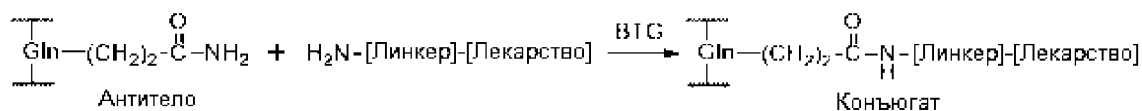
[00119] В альтернативном способе конъюгации применяют подход «клик-химии» без применения меди, при котором азидную группу сочетают с напряженным циклооктином с формированием 1,2,3-триазольного кольца (см., например, документы Agard *et al.*, *J. Amer. Chem. Soc.* **2004**, 126, 15046; Best, *Biochemistry* **2009**, 48, 6571, раскрытия которых включены в настоящий документ посредством ссылки). Азид может быть расположен на антителе, а циклооктин – на фрагменте лекарство-линкер, или наоборот. Предпочтительная циклооктиновая группа представляет собой дибензоциклооктин (DIBO). Различные реагенты, содержащие группу DIBO, доступны от Invitrogen/Molecular Probes, Eugene, Oregon. Представленная ниже реакция иллюстрирует конъюгацию посредством клик-химии для случая, при котором группа DIBO присоединена к антителу (Ab):



[00120] Еще одна методика конъюгации включает в себя введение в антитело не встречающейся в природе аминокислоты, причем не встречающаяся в природе аминокислота обеспечивает функциональную группу для конъюгации с реакционно-способной функциональной группой на фрагменте лекарства. Например, не встречающаяся в природе аминокислота *para*-ацетилфенилаланин может быть включена в состав антитела или пептида, как обсуждается в документе Tian *et al.*, WO 2008/030612 A2 (2008). Кетонная группа в *para*-ацетилфенилаланине может служить местом конъюгации посредством формирования оксима с гидроксиламиногруппой на фрагменте линкер-лекарство. В качестве альтернативы, не встречающаяся в природе аминокислота *para*-азидофенилаланин может быть включена в состав антитела для обеспечения азидной функциональной группой для конъюгации посредством клик-химии, как рассматривалось выше. Не встречающаяся в природе аминокислоты также могут быть включены в состав антитела или другого пептида с применением бесклеточных способов, как обсуждается в документах Goerke *et al.*, US

2010/0093024 A1 (2010) и Goerke *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.* **2009**, 102 (2), 400-416. Приведенные выше раскрытия включены в настоящий документ посредством ссылки. Таким образом, согласно одному варианту осуществления, антитело, которое используется для получения конъюгата, характеризуется одной или несколькими аминокислотами, замененными не встречающимися в природе аминокислотами, которые предпочтительно представляют собой *para*-ацетилфенилаланин или *para*-азидофенилаланин, более предпочтительно *para*-ацетилфенилаланин.

[00121] В еще одной методике конъюгации используется фермент трансглутаминаза (предпочтительно бактериальная трансглутаминаза из *Streptomyces mobaraensis* или BTG) согласно Jeger *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 9995. BTG формирует амидную связь между находящимся в боковой цепи карбоксамидом глутамина (акцептор амина) и алкиленаминогруппой (донор амина), которой может являться, например, ϵ -аминогруппа лизина или 5-амино-*n*-пентильная группа. В типичной реакции конъюгации, остаток глутамина расположен на антителе, тогда как алкиленаминогруппа расположена на фрагменте линкер-лекарство, как представлено ниже:



[00122] Размещение остатка глутамина на полипептидной цепи оказывает большое влияние на его восприимчивость к BTG-опосредованному трансамидированию. Ни один из остатков глутамина на антителе не является обычно субстратом для BTG. Однако если антитело дегликозилировано, и местом гликозилирования является аспарагин 297 (N297; нумерация согласно EU-индексу, представленному в документе Kabat *et al.*, «Sequences of proteins of immunological interest,» 5th ed., Pub. No. 91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, Md., 1991; здесь и далее в тексте «Kabat») на тяжелой цепи, то расположенный поблизости глутамин 295 (Q295) становится восприимчивым к воздействию BTG. Антитело может быть дегликозилировано ферментативно посредством обработки ПНГазой F (пептид-N-гликозидазой F). В качестве альтернативы, антитело может синтезировано не содержащим гликозида путем введения мутации N297A в константный участок для удаления сайта гликозилирования N297. Кроме того, было показано, что замена N297Q не только устраняет гликозилирование, но и вводит второй остаток глутамина (в положение 297), который также является акцептором амина. Таким образом, согласно одному варианту осуществления, антитело является дегликозилированным. Согласно другому варианту осуществления, антитело содержит замену N297Q. Специалистам в данной области техники следует понимать, что дегликозилирование посредством постсинтетической модификации или посредством

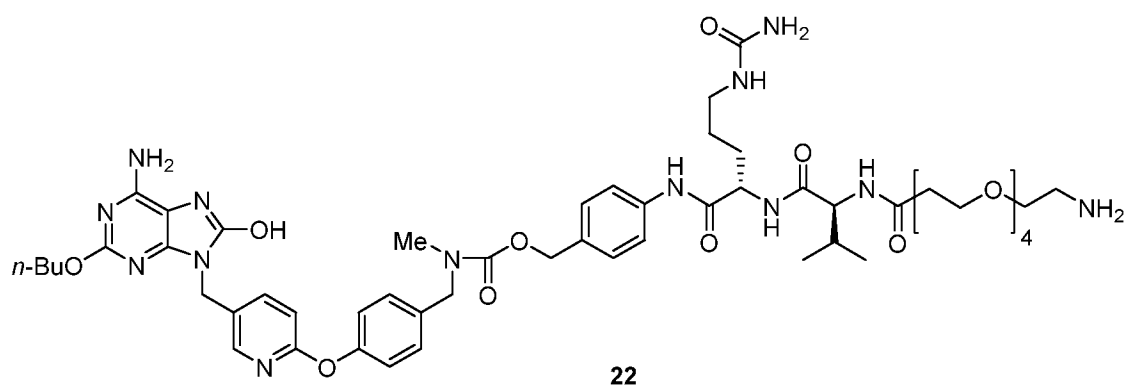
введения мутации N297A формирует два реагирующих на воздействие BTG остатка глутамина на антитело (одно на тяжелую цепь, в положении 295), тогда как антитело с заменой N297Q будет содержать четыре реагирующих на воздействие BTG остатка глутамина (два на тяжелую цепь, в положениях 295 и 297).

[00123] Антитело может быть также наделено восприимчивостью к BTG-опосредованной конъюгации путем введения в него глутамин-содержащего пептида, или «метки», как обсуждается, например, в документах Pons *et al.*, US 2013/0230543 A1 (2013) и Rao-Naik *et al.*, WO 2016/144608 A1.

[00124] Согласно дополнительному подходу, субстратная специфичность BTG может быть изменена путем варьирования ее аминокислотной последовательности, так что она становится способна взаимодействовать с глутамином 295 в немодифицированном антителе, как обсуждается в документе Rao-Naik *et al.*, WO 2017/059158 A1 (2017).

[00125] Хотя наиболее общедоступной бактериальной трансглутаминазой является трансглутаминаза из *S. mobaraensis*, также может быть рассмотрена трансглутаминаза от других бактерий, характеризующаяся несколько иной субстратной специфичностью, такая как трансглутаминаза из *Streptoverticillium ladakamum* (Hu *et al.*, US 2009/0318349 A1 (2009), US 2010/0099610 A1 (2010) и US 2010/0087371 A1 (2010)).

[00126] Агонисты TLR7 согласно настоящему раскрытию, содержащие первичный или вторичный алкиламин, являются особенно подходящими для применения в конъюгатах, поскольку вторичный амин обеспечивает функциональную группу для присоединения линкера. Примером такого соединения агонист TLR7-линкер является соединение **22**, которое содержит ферментативно расщепляемый линкер. На **Фиг. 5** представлена схема, в соответствии с которой может быть получено соединение **22**.

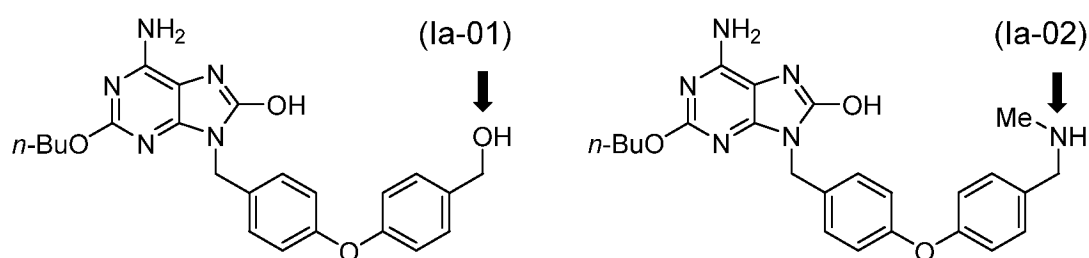


[00127] Примером соединения агонист TLR7-линкер, которое содержит неферментативно расщепляемый линкер, является соединение **24**. На **Фиг. 6** представлена схема для синтеза соединения **24**.

полужизни лекарства в циркулирующей крови возрастает, иногда более чем на порядок, одновременно снижая дозировку, необходимую для достижения целевого терапевтического эффекта. ПЭГилирование также может снижать деградацию лекарства в ходе метаболизма и снижать его иммуногенность (для обзора, см. Kolate *et al.*, *J. Controlled Release* **2014**, 192, 167).

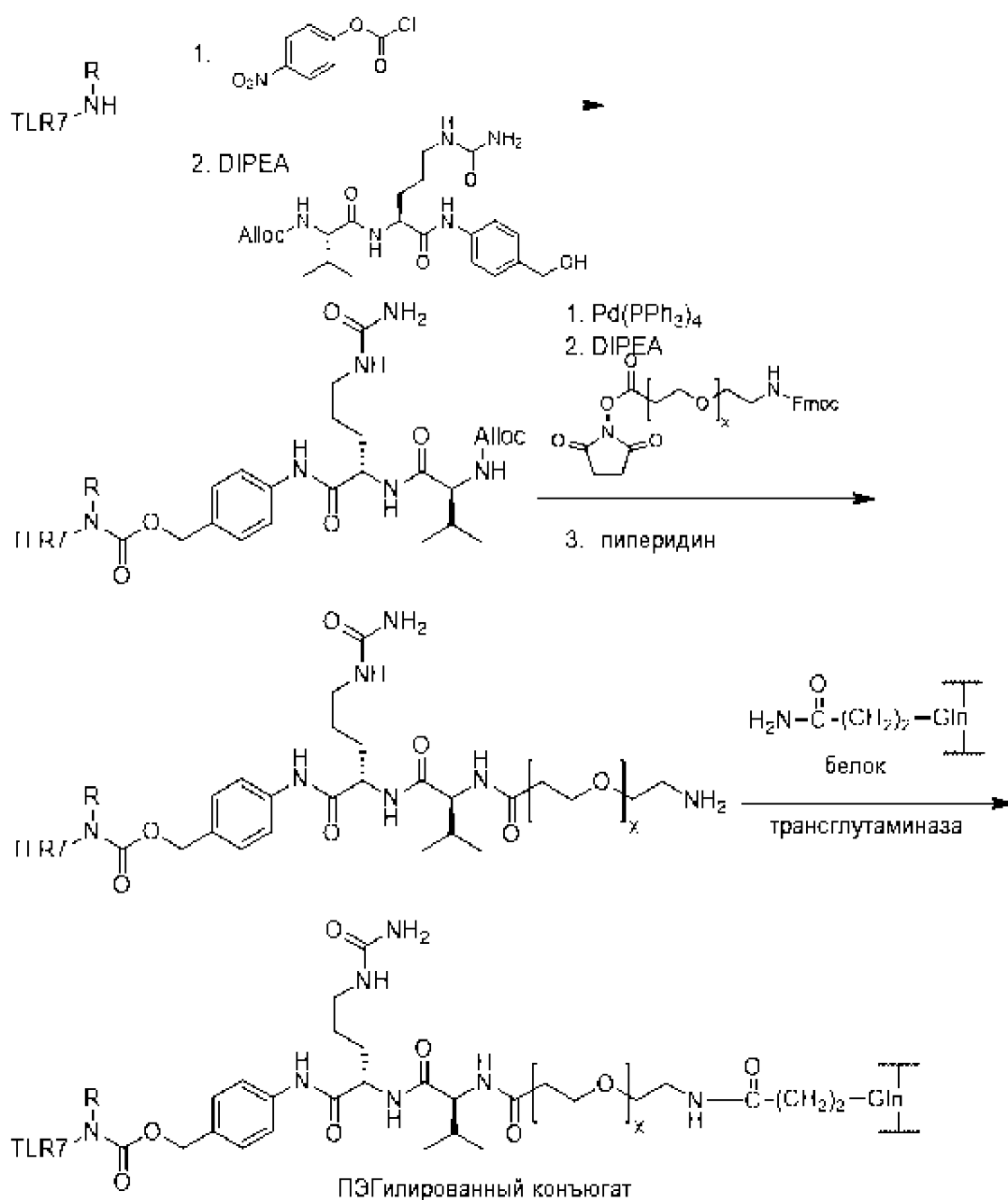
[00132] Изначально, ПЭГилирование применялось к биологическим препаратам. По состоянию на 2016 год, было одобрено более десяти ПЭГилированных биологических препаратов (Turecek *et al.*, *J. Pharmaceutical Sci.* **2016**, 105, 460). В последнее время, стимулированное успешным применением подхода к биологическим препаратам внимание обратилось к его применению в отношении низкомолекулярных лекарств. В дополнение к упомянутым выше преимуществам, ПЭГилированные низкомолекулярные лекарства могут характеризоваться улучшенной растворимостью и вызывать меньше токсических эффектов (Li *et al. Prog. Polymer Sci.* **2013**, 38, 421).

[00133] Соединения, раскрытые в настоящем документе могут быть ПЭГилированы. Если соединение содержит алифатический гидроксил или алифатический первичный или вторичный амин, как в случае соединения **Ia-01** или **Ia-02** (стрелки), то с применением общепризнанных методик оно может быть ПЭГилировано посредством сложноэфирной, амидной, карбонатной или карбаматной группы карбокси-содержащей молекулы ПЭГ, например, с применением дициклогексилкарбодиимида, HATU, сложных N-гидроксисукцинимидных эфиров, и т. п. Различные другие способы ПЭГилирования фармацевтических молекул раскрыты в документе Alconcel *et al.*, *Polymer Chem.* **2011**, 2, 1442, раскрытие которого включено в настоящий документ посредством ссылки.



[00134] В случае необходимости, раскрытый в настоящем документе агонист TLR7 может быть ПЭГилирован ферментативно расщепляемым линкером, содержащим саморазрушающийся фрагмент, для обеспечения высвобождения неПЭГилированного агониста предусмотренным способом. Кроме того, ПЭГилирование может быть сочетано с конъюгацией с белком, таким как антитело, если ПЭГ-содержащая молекула содержит подходящую функциональную группу, такую как амин, для присоединения белка. Белок может обеспечивать дополнительную терапевтическую функцию, или, будучи антителом, может обеспечивать направляющую функцию. Указанные подходы проиллюстрированы на

следующей последовательности реакций, где TLR7-NH-R представляет собой агонист TLR7 в общем случае:

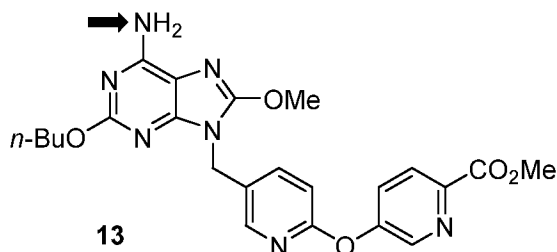


[00135] В представленной выше последовательности реакций, дипептид валин-цитруллин (Val-Cit) является расщепляемым ферментом катепсин В, причем группа *пара*-аминобензилоксикарбонил (PABC) служит в качестве саморазрушающегося спейсера. Функциональной группой для конъюгации является аминогруппа, которая временно защищена группой Fmoc. Конъюгация осуществляется ферментом трансглутаминазой, причем боковая цепь глутамина (Gln) действует в качестве акцептора ацила. Нижний индекс x , обозначающий число повторяющихся звеньев ПЭГ, может широко варьировать, в зависимости от цели ПЭГилирования, рассматриваемой ниже. Для некоторых целей x

может быть относительно мал, например, равен 2, 4, 8, 12 или 24. Для других целей x велик, например, равен приблизительно от 45 приблизительно до 910.

[00136] Специалистам в данной области техники следует понимать, что указанная последовательность является иллюстративной, и что могут применяться другие элементы (пептид, саморазрушающаяся группа, способ конъюгации, длина ПЭГ, и т. д.), хорошо известные из области техники. Им также следует понимать, что хотя указанная выше последовательность сочетает в себя ПЭГилирование и конъюгацию, ПЭГилирование не требует конъюгации, и наоборот.

[00137] Если соединение не содержит алифатический гидроксил или алифатический первичный или вторичный амин, как в случае соединения **13** (Фиг. 2), оно все еще может быть ПЭГилировано по ароматическому амину (стрелка). Способ ПЭГилирования по этому положению раскрыт в документе Zarraga, US 2017/0166384 A1 (2007), раскрытие которого включено в настоящий документ посредством ссылки.



[00138] Согласно некоторым вариантам осуществления, может быть желательно, чтобы множество ПЭГилированных агонистов были связаны с одной молекулой. Например, на пентаэритрите ($C(CH_2OH)_4$) могут быть сконструированы четыре ПЭГилированных плеча, и агонист TLR7 может быть присоединен к каждому ПЭГилированному плечу (см. документ Gao *et al.*, US 2013/0028857 A1 (2013), раскрытие которого включено в настоящий документ посредством ссылки).

[00139] Для модулирования фармакокинетики, как правило предпочтительно, чтобы фрагмент ПЭГ характеризовался молекулярной массой по формуле приблизительно от 2 кДа (соответствует приблизительно 45 повторяющимся звеньям $-(CH_2CH_2O)-$) и приблизительно до 40 кДа (соответствует приблизительно 910 повторяющимся звеньям $-(CH_2CH_2O)-$), более предпочтительно приблизительно от 5 кДа и приблизительно до 20 кДа. То есть, диапазон значений нижнего индекса x в представленных выше формулах составляет приблизительно от 45 приблизительно до 910. Следует понимать, что композиция ПЭГ не гомогенна на 100%, а скорее представляет собой некое распределение молекулярных масс. Таким образом, ссылка, например, на «20 кДа ПЭГ» означает ПЭГ, характеризующийся средней молекулярной массой 20 кДа.

[00140] ПЭГилирование также может быть применено для улучшения растворимости агониста. В таких случаях может быть применен ПЭГ с более коротко цепью, например, содержащей 2, 4, 8, 12 или 24 повторяющихся звена.

Примеры

[00141] Практика применения настоящего изобретения может быть дополнительно рассмотрена со ссылкой на последующие примеры, которые представлены в качестве иллюстрации, но не ограничения.

Пример 1 – Соединения серий (Ia) и (Ib)

[00142] Данный пример и **Фиг. 1** относятся к синтезу соединений серий (Ia) и (Ib), где в качестве образца используется соединение (Ib-02).

[00143] *Соединение 3.* Суспензию метил-4-гидроксibenзоата **2** (2 г, 13,15 ммоль), 6-фторникотинальдегида **1** (1,809 г, 14,46 ммоль) и K_2CO_3 (1,998 г, 14,46 ммоль) в DMF (26,3 мл) перемешивали при 110°C в течение 4 ч. Методом LCMS обнаруживали завершение реакции. После охлаждения, реакционную смесь гасили добавлением воды, полученное твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой и сушили в условиях вакуума с получением соединения **3** (3,30 г, 12,84 ммоль, выход 95,1%). LCMS ESI: рассчит. для $C_{14}H_{11}NO_4 = 258,1$ ($M+H^+$), обнаруж. 258,0 ($M+H^+$). 1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 10,01 (с, 1H), 8,63 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,23 (дд, $J=8,6, 2,4$ Гц, 1H), 8,17 - 7,97 (м, 2H), 7,27 - 7,22 (м, 2H), 7,10 (д, $J=8,6$ Гц, 1H), 3,93 (с, 3H)

[00144] *Соединение 4.* Раствор соединения **3** (3,76 г, 14,62 ммоль) в MeOH (100 мл) при 0°C порциями обрабатывали $NaBH_4$ (0,553 г, 14,62 ммоль), а затем перемешивали в течение 10 мин, оставляя на месте баню. Методом LCMS обнаруживали завершение реакции. Реакционную смесь гасили путем медленного добавления полунасыщенного NH_4Cl . Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при к.т. и экстрагировали EtOAc. Органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенное твердое вещество суспендировали в воде, собирали путем фильтрования и сушили в условиях вакуума с получением соединения **4** (3,37 г, 13,00 ммоль, выход 89%). LCMS ESI: рассчит. для $C_{14}H_{13}NO_4 = 260,1$ ($M+H^+$), обнаруж. 260,0 ($M+H^+$). 1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 8,21 (д, $J=2,2$ Гц, 1H), 8,12 - 8,04 (м, 2H), 7,81 (дд, $J=8,4, 2,4$ Гц, 1H), 7,21 - 7,13 (м, 2H), 6,99 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 4,71 (с, 2H), 3,91 (с, 3H)

[00145] *Соединение 5.* Суспензию соединения **4** (0,2 г, 0,771 ммоль) в THF (3,86 мл) обрабатывали трифенилфосфином (0,223 г, 0,849 ммоль), а затем N-бромсукцинимидом (NBS, 0,165 г, 0,926 ммоль). После перемешивания при к.т. в течение 60 мин реакция была завершена. Реакционную смесь гасили добавлением воды, и экстрагировали реакционную смесь EtOAc. Органические экстракты сушили над Na_2SO_4 ,

фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на колонке с 12 г силикагеля, элюируя 0-80% EtOAc в гексане с получением соединения **5** (0,15 г, 0,466 ммоль, выход 60,4%). LCMS ESI: рассчит. для $C_{14}H_{12}BrNO_3 = 322,0$ ($M+H^+$), обнаруж. 321,9 ($M+H^+$). 1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ 8,21 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,15 - 8,01 (м, 2H), 7,80 (дд, $J=8,5, 2,5$ Гц, 1H), 7,23 - 7,13 (м, 2H), 6,97 (д, $J=8,6$ Гц, 1H), 4,47 (с, 2H), 3,92 (с, 3H).

[00146] *Соединение 7.* Суспензию 2-бутоксид-8-метоксид-9H-пурина-6-амин **6** (рег. № CAS 866268-31-7, в TFA, 562 мг, 1,600 ммоль) и карбоната цезия (1,67 г, 5,12 ммоль) в DMF (20 мл) обрабатывали соединением **5** (567 мг, 1,760 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 3 ч. Методом LCMS обнаруживали завершение реакции. Реакционную смесь гасили добавлением насыщенного NH_4Cl и экстрагировали EtOAc. Органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на колонке с 40 г силикагеля, элюируя 20% MeOH в DCM (градиент 0-40%). Целевые фракции концентрировали с получением соединения **7** (478 мг, 0,999 ммоль, выход 62,4%). LCMS ESI: рассчит. для $C_{24}H_{26}N_6O_5 = 479,2$ ($M+H^+$), обнаруж. 479,1 ($M+H^+$). 1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ 8,25 (д, $J=2,2$ Гц, 1H), 8,11 - 8,01 (м, 2H), 7,78 (дд, $J=8,4, 2,4$ Гц, 1H), 7,17 - 7,06 (м, 2H), 6,91 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 5,06 (с, 2H), 4,32 (т, $J=6,6$ Гц, 2H), 4,11 (с, 3H), 3,95 - 3,84 (м, 3H), 3,49 (с, 2H), 1,89 - 1,70 (м, 2H), 1,63 - 1,34 (м, 2H), 0,97 (т, $J=7,4$ Гц, 3H).

[00147] *Соединение 8.* Перемешанный раствор сложного эфира **7** (0,46 г, 0,934 ммоль) в THF (10 мл) при 0°C по каплям обрабатывали $LiAlH_4$ (1,0 М в THF; 1,401 мл, 1,401 ммоль). После перемешивания в течение 3 ч, методом LCMS обнаруживали завершение реакции. Медленно добавляли $Na_2SO_4 \cdot 10 H_2O$. После перемешивания в течение 1 ч, твердое вещество отфильтровывали и промывали MeOH. Фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали на колонке с 40 г силикагеля, элюируя 20% MeOH в DCM (градиент 0-40%). Целевые фракции концентрировали с получением соединения **8** (363 мг, 0,806 ммоль, выход 86%). LCMS ESI: рассчит. для $C_{24}H_{26}N_6O_5 = 451,2$ ($M+H^+$), обнаруж. 451,1 ($M+H^+$). 1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ 8,22 (д, $J=2,2$ Гц, 1H), 7,73 (дд, $J=8,5, 2,5$ Гц, 1H), 7,40 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,10 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,86 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 5,82 - 5,39 (м, 1H), 5,04 (с, 2H), 4,70 (с, 2H), 4,33 (т, $J=6,7$ Гц, 2H), 4,10 (с, 3H), 1,86 - 1,73 (м, 2H), 1,50 (д.кв, $J=15,0, 7,5$ Гц, 2H), 1,01 - 0,87 (м, 3H).

[00148] *Соединение Ib-01.* Суспензию соединения **8** (363 мг, 0,806 ммоль) в THF (10 мл) обрабатывали HCl (1,0 М в воде, 2 мл, 2,000 ммоль). После перемешивания при 60°C в течение 4 ч, методом LCMS обнаруживали завершение реакции. После охлаждения, в осадок выпадало белое твердое вещество. Вещество собирали путем фильтрования, промывали водой и сушили в условиях вакуума с получением соединения **Ib-01** (263,6 мг,

0,598 ммоль, выход 74,2%). LCMS ESI: рассчит. для $C_{22}H_{24}N_6O_4 = 437,2$ ($M+H^+$), обнаруж. 437,1 ($M+H^+$). 1H -ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ 8,28 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,94 (дд, $J=8,6, 2,4$ Гц, 1H), 7,42 (д, $J=8,6$ Гц, 2H), 7,08 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,94 (д, $J=8,6$ Гц, 1H), 5,06 (с, 2H), 4,63 (с, 2H), 4,54 (т, $J=6,5$ Гц, 2H), 1,99 - 1,61 (м, 2H), 1,64 - 1,34 (м, 2H), 1,01 (т, $J=7,4$ Гц, 3H).

[00149] Соединение **Ib-02**. Раствор соединения **Ib-01** (100 мг, 0,229 ммоль) в THF (10 мл) при к.т. обрабатывали тионилхлоридом (0,334 мл, 4,58 ммоль) и перемешивали в течение 3 ч, после чего реакция была завершена согласно LCMS. Избыток тионила удаляли путем азеотропной перегонки с DCM. Полученное хлорметил-соединение переносили непосредственно на следующую стадию без очистки.

[00150] Перемешанный раствор хлорметил-соединения (15 мг, 0,033 ммоль) в DMF (0,5 мл) обрабатывали метиламином (2,0 М в THF, 0,165 мл, 0,330 ммоль) и перемешивали при к.т. в течение ночи, после чего реакция была завершена. Реакционную смесь разбавляли 50% MeOH в DMF, и отфильтровывали выпавшее в осадок твердое вещество. Неочищенный фильтрат очищали методом препаративной LC/MS в следующих условиях: колонка: XBridge C18, 19×200 мм, частицы 5 мкм; подвижная фаза А: ацетонитрил:вода = 5:95 с 10 mM ацетат аммония; подвижная фаза В: ацетонитрил:вода = 95:5 с 10 mM ацетат аммония; градиент: 7-47% В в течение 20 минут, затем выдерживание в течение 4 мин при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. Фракции, содержащие целевой продукт, собирали и сушили методом центробежного упаривания с получением соединения **Ib-02** (3,7 мг, 7,08 мкмоль, выход 21,47%). LCMS ESI: рассчит. для $C_{23}H_{27}N_7O_3 = 450,2$ ($M+H^+$), обнаруж. 450,2 ($M+H^+$). 1H -ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,15 (с, 1H), 7,80 (дд, $J=8,4, 2,0$ Гц, 1H), 7,37 (д, $J=8,2$ Гц, 2H), 7,07 (д, $J=8,3$ Гц, 2H), 6,97 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 6,36 (с, 2H), 4,86 (с, 2H), 4,18 (т, $J=6,6$ Гц, 2H), 3,77 (с, 2H), 2,37 (с, 3H), 1,71 - 1,56 (м, 2H), 1,47 - 1,34 (м, 2H), 0,92 (т, $J=7,4$ Гц, 3H).

[00151] Следуя в общем случае предшествующим методикам, с применением альтернативных аминов получали дополнительные соединения серии (Ib), представленные ниже в Таблице В.

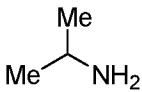
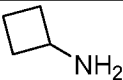
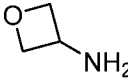
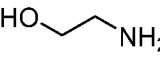
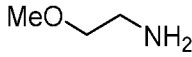
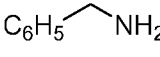
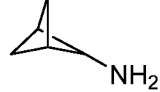
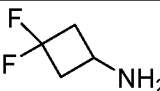
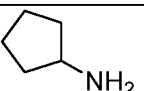
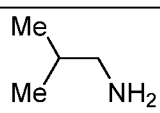
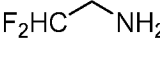
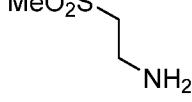
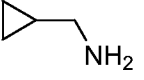
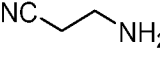
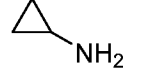
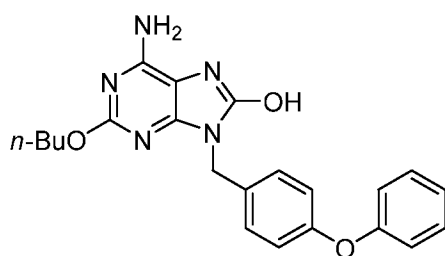
Таблица В – Дополнительные соединения (Ib)			
Соединение №	Амин	Масс-спектр	
		Расчетн. масса ($M+H$)	Получен. масса ($M+H$)
Ib-03		478,2	478,1
Ib-04		490,2	490,0

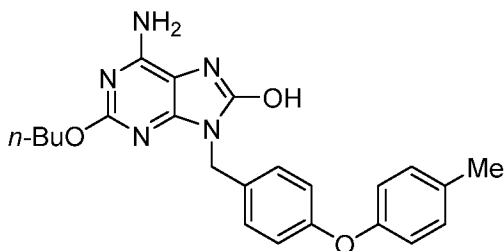
Таблица В – Дополнительные соединения (Ib)			
Соединение №	Амин	Масс-спектр	
		Расчетн. масса (M+H)	Получен. масса (M+H)
Ib-05		492,2	492,1
Ib-06		480,2	480,3
Ib-07		494,2	494,1
Ib-08		526,2	526,1
Ib-09		502,2	502,3
Ib-10		526,2	526,3
Ib-11		504,3	504,2
Ib-12		492,3	492,3
Ib-13		500,2	500,2
Ib-14		542,2	542,0
Ib-15		490,2	490,3
Ib-16		489,2	489,3
Ib-17		476,2	476,1

[00152] Специалистам в данной области техники следует понимать, что в соответствующих случаях с применением описанных выше методик могут быть получены дополнительные соединения. Например, соединение



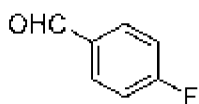
может быть получено с применением исходного фенола вместо метил-4-гидроксibenзоата на схеме, представленной на **Фиг. 1**.

[00153] Соединение



может быть получено путем полного восстановления группы сложного метилового эфира с соединении 7 на **Фиг. 1**.

[00154] Соединения серии Ia получали с применением 4-фторбензальдегида вместо 6-фторникотинальдегида на схеме, представленной на **Фиг. 1**, и следуя в общем случае представленным выше методикам.



4- фторбензальдегид

[00155] Полученные тем самым соединения (Ia) перечислены в Таблице С.

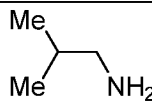
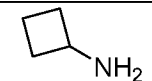
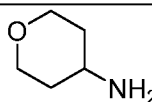
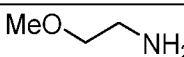
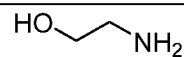
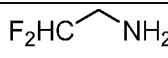
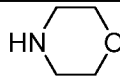
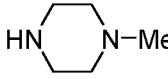
Таблица С - Соединения (Ia)			
Соединение №	Амин	Масс-спектр	
		Расчетн. масса (M+H)	Получен. масса (M+H)
Ia-01	нет данных	434,2 (M-H)	434,2 (M-H)
Ia-02	MeNH ₂	449,2	449,1
Ia-03		475,2	475,3
Ia-04		489,3	489,1
Ia-05		491,2	491,1
Ia-06	HOCH ₂ CH ₂ NH ₂	479,2	479,1
Ia-07	MeOCH ₂ CH ₂ NH ₂	493,2	493,2
Ia-08	C ₆ H ₅ CH ₂ NH ₂	525,3	525,1

Пример 2 – Соединения серий (Ic), (Id), (Ie) и (IIa)

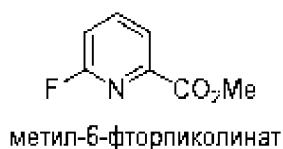
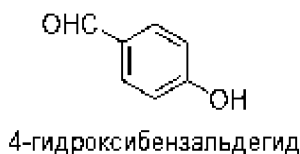
[00156] Данный пример и **Фиг. 2** относится к синтезу серий соединений (Ic), (Id), (Ie) и (IIa), где в качестве образца используется соединение (**Id-02**).

[00157] За единственным исключением, представленные на **Фиг. 2** стадии параллельны стадиям, представленным на **Фиг. 1**, и в настоящем примере в соответствующих случаях может быть применен предыдущий пример и описанные выше методики. Единственное исключение состоит в том, что на третьей стадии получают бензилхлорид **12** вместо бензилбромиды **5** (на **Фиг. 1**). Подробная методика для этой стадии представляет собой следующее: К перемешанному раствору соединения **11** (1,28 г, 4,92 ммоль) в DCM (20 мл) при 0°C добавляли DIPEA (0,988 мл, 5,66 ммоль), а затем Ms-Cl (0,422 мл, 5,41 ммоль), а затем перемешивали при к.т. в течение 16 ч, после чего реакция была завершена. Реакционную смесь гасили добавлением воды и трижды экстрагировали DCM. Объединенные органические экстракты сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением соединения **12** (1,35 г, 4,84 ммоль, выход 98%), которое переносили на следующую стадию без очистки.

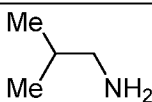
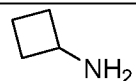
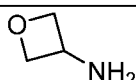
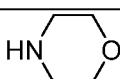
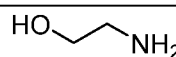
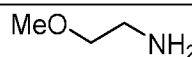
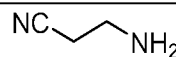
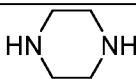
[00158] В Таблице D представлены соединения серии (Id), полученные в соответствии с методикой, представленной на **Фиг. 2**, и с применением на конечной стадии указанных аминов.

Таблица D - Соединения (Id)			
Соединение №	Амин	Масс-спектр	
		Расчетн. масса (M+H)	Получен. масса (M+H)
(Id-01)		493,3	493,1
(Id-02)		491,2	490,9
(Id-03)		521,3	521,3
(Id-04)		495,2	495,1
(Id-05)		481,2	481,3
(Id-06)		501,2	501,2
(Id-07)		507,2	506,9
(Id-08)		520,3	520,0

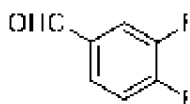
[00159] Соединения серии (Ic) получали, следуя в общем случае методикам представленным на **Фиг. 2** для соединений серии (Id), за исключением того, что в качестве исходных веществ вместо 6-фторникотинальдегида **1** и метил-5-гидроксипиколината **9** использовали 4-гидроксibenзальдегид и метил-6-фторпиколонат.



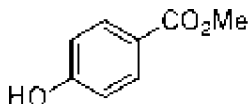
[00160] В Таблице E представлены соединения серии (Ic), полученные данным способом.

Таблица E - Соединения (Ic)			
Соединение №	Амин	Масс-спектр	
		Расчетн. масса (M+H)	Получен. масса (M+H)
(Ic-01)		492,2	492,3
(Ic-02)		490,2	490,3
(Ic-03)		492,2	492,3
(Ic-04)		520,3	520,1
(Ic-05)		480,2	480,3
(Ic-06)		494,2	494,3
(Ic-07)		489,2	489,2
(Ic-08)		505,3	505,2

[00161] Соединения серии (Ie) получали, следуя в общем случае методикам представленным на **Фиг. 2** для соединений серии (Id), за исключением того, что в качестве исходных веществ вместо 6-фторникотинальдегида **1** и метил-5-гидроксипиколината **9** использовали 3,4-дифторбензальдегид и метил-4-гидроксibenзоат.



3,4-дифторбензальдегид

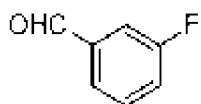


метил-4-гидроксibenзоат

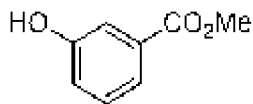
[00162] В Таблице F представлены соединения серии (Ie), полученные данным способом.

Таблица F - Соединения (Ie)			
Соединение №	Амин	Масс-спектр	
		Расчетн. масса (M+H)	Получен. масса (M+H)
(Ie-01)		509,3	509,1
(Ie-02)		507,2	507,1
(Ie-03)		493,2	493,1
(Ie-04)		517,2	517,3
(Ie-05)		511,3	511,0
(Ie-06)		497,2	497,3
(Ie-07)		559,2	559,1
(Ie-08)		537,3	537,1
(Ie-09)		523,2	523,3
(Ie-10)		536,3	536,0

[00163] Соединения серии (IIa) получали, следуя в общем случае методикам представленным на **Фиг. 2** для соединений серии (Id), за исключением того, что в качестве исходных веществ вместо 6-фторникотинальдегида **1** и метил-5-гидроксипиколината **9** использовали 3-фторбензальдегид и метил-3-гидроксibenзоат.



3-фторбензальдегид



метил-3-гидроксибензоат

[00164] В Таблице G представлены соединения серии (IIa), полученные данным способом.

Таблица G - Соединения (IIa)			
Соединение №	Амин	Масс-спектр	
		Расчетн. масса (M+H)	Получен. масса (M+H)
(IIa-01)	<chem>CCN</chem>	449,2	449,3
(IIa-02)	<chem>C1CCCN1</chem>	489,2	489,3
(IIa-03)	<chem>C1CCOC1N</chem>	491,2	491,3
(IIa-04)	<chem>C1CCNCCO1</chem>	519,3	519,4
(IIa-05)	<chem>OCCN</chem>	479,2	479,3
(IIa-06)	<chem>COCCN</chem>	493,2	493,3
(IIa-07)	<chem>NCN</chem>	488,2	488,3
(IIa-08)	<chem>COSSN</chem>	541,2	541,4
(IIa-09)	<chem>F[C@H]1CC(F)N1</chem>	525,2	525,3
(IIa-10)	<chem>C1CCNCCN1</chem>	504,3	504,3
(IIa-11)	<chem>Nc1cccnc1</chem>	526,2	526,4

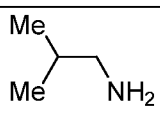
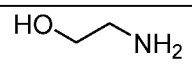
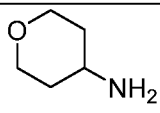
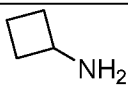
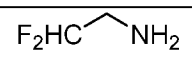
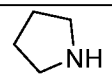
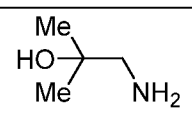
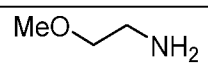
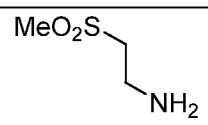
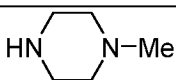
Пример 3 – Соединения серии (If)

[00165] Данный пример и **Фиг. 3** относятся к синтезу серий соединений (If), где в качестве образца используется соединение (If-04).

[00166] Соединения **6** и **16** сочетали с Cs_2CO_3 с получением соединения **17**.

[00167] Смесь соединения **17** (1,05 г, 2,58 ммоль), метил 4-аминобензоата **18** (0,468 г, 3,09 ммоль), аддукта $\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \cdot \text{CHCl}_3$ (0,264 г, 0,258 ммоль), BINAP (0,321 г, 0,516 ммоль) и Cs_2CO_3 (2,52 г, 7,73 ммоль) в диоксане (15 мл) барботировали N_2 в течение 5 мин, затем герметизировали, перемешивали при 100°C в течение 5 ч, после чего реакция была завершена. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом, и удаляли твердое вещество путем фильтрования. Фильтрат концентрировали. Неочищенный продукт очищали на колонке ISCO с 12 г силикагеля, элюируя 20% MeOH в DCM (градиент DCM 0-20%). Целевые фракции концентрировали с получением соединения **19** (342,7 мг, 0,718 ммоль, 27,8%).

[00168] Следуя в общем случае предшествующим методикам и схеме на **Фиг. 3**, соединение **19** использовали для получения соединений серии (If) с применением аминов, представленных в Таблице Н.

Таблица Н - Соединения (If)			
Соединение №	Амин	Масс-спектр	
		Расчетн. масса (M+H)	Получен. масса (M+H)
(If-01)		491,3	491,0
(If-02)		479,2	479,0
(If-03)		519,3	519,0
(If-04)		489,3	489,4
(If-05)		499,2	499,1
(If-06)		489,3	489,1
(If-07)		507,3	507,2
(If-08)		493,3	493,5
(If-09)		541,2	541,1
(If-10)		518,3	518,0

Пример 4 – Соединения серии (Ig)

[00169] Данный пример и **Фиг. 7** относятся к получению соединения **Ig-01**.

[00170] Смесь соединения **25** (рег. № CAS 1394947-77-3, 2,36 г, 12,81 ммоль) и соединения **1** (1,923 г, 15,38 ммоль) в DMF (25,6 мл) обрабатывали K₂CO₃ (2,125 г, 15,38 ммоль) и затем перемешивали при 50°C в течение ночи. Реакционную смесь гасили добавлением воды и перемешивали в течение 1 ч. Полученное твердое вещество кремового цвета собирали путем фильтрования и сушили на воздухе с получением соединения **26** (3,51 г, 12,13 ммоль, выход 95%). ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 10,03 (с, 1H), 8,69 (д, J=2,0 Гц, 1H), 8,36 (д, J=0,7 Гц, 1H), 8,21 (дд, J=8,6, 2,4 Гц, 1H), 7,81 (д, J=0,7 Гц, 1H), 7,09 (д, J=8,8 Гц, 1H), 1,70 - 1,65 (м, 9H)

[00171] К перемешанной смеси соединения **26** (1,0 г, 3,46 ммоль) в DCM (5 мл) добавляли TFA (2,66 мл, 34,6 ммоль), и после перемешивания при к.т. в течение 5 ч реакционную смесь концентрировали досуха. Неочищенный продукт затем переносили в DCM и осторожно нейтрализовали добавлением насыщенного NaHCO₃. Два слоя разделяли. Водный слой обратно экстрагировали DCM (2×). Объединенные органические экстракты сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на колонке ISCO с силикагелем (40 г), элюируя 20% MeOH в DCM (градиент DCM 0-30%). Целевые фракции концентрировали с получением соединения **27** (490 мг, 2,59 ммоль, выход 74,9%). LCMS ESI: рассчит. для C₉H₈N₃O₂ = 190,1 (M+H⁺), обнаруж. 190,1 (M+H⁺).

[00172] Смесь соединения **27** (243 мг, 1,285 ммоль) в DMF (5 мл) обрабатывали K₂CO₃ (231 мг, 1,670 ммоль), а затем соединением **28** (461 мг, 1,927 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение ночи. Реакционную смесь гасили добавлением воды и экстрагировали этилацетатом (3×). Объединенные органические экстракты сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на колонке ISCO с силикагелем (24 г), элюируя градиентом 0-80% этилацетат в гексанах. Целевые фракции концентрировали с получением соединения **29** (230 мг, 0,662 ммоль, выход 51,5%). LCMS ESI: рассчит. для C₁₇H₂₆N₃O₃Si = 348,2 (M+H⁺), обнаруж. 348,2 (M+H⁺). ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 10,01 (с, 1H), 8,65 (д, J=2,0 Гц, 1H), 8,20 - 8,16 (м, 1H), 7,79 (с, 1H), 7,61 (с, 1H), 7,06 (д, J=8,6 Гц, 1H), 4,28 (т, J=5,2 Гц, 2H), 3,99 (т, J=5,1 Гц, 2H), 0,87 (с, 6H), 0,00 (д, J=2,9 Гц, 9H).

[00173] Раствор соединения **29** (100 мг, 0,288 ммоль) в MeOH (3 мл) обрабатывали NaBH₄ (10,89 мг, 0,288 ммоль), а затем перемешивали при к.т. в течение 2 ч. Реакционную смесь гасили добавлением воды и экстрагировали этилацетатом (3×).

Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на колонке ISCO с силикагелем (24 г), элюируя градиентом 0-100% этилацетат в гексанах. Целевые фракции концентрировали с получением соединения **30** (70 мг, 0,200 ммоль, выход 69,6%). LCMS ESI: расчит. для $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3\text{Si}$ = 350,2 ($\text{M}+\text{H}^+$), обнаруж. 350,4 ($\text{M}+\text{H}^+$). ^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ 8,18 (д, $J=1,8$ Гц, 1H), 7,74 (дд, $J=8,4, 2,4$ Гц, 1H), 7,68 (с, 1H), 7,51 (с, 1H), 6,94 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 4,69 (с, 2H), 4,22 (т, $J=5,3$ Гц, 2H), 3,98 (т, $J=5,3$ Гц, 2H), 0,88 (с, 9H), 0,03 - 0,01 (м, 3H), 0,00 (с, 3H).

[00174] Соединение **30** (110 мг, 0,315 ммоль) в DCM (3 мл) при перемешивании обрабатывали основанием Хунига (0,060 мл, 0,346 ммоль), затем при 0°C медленно добавляли Ms-Cl (0,026 мл, 0,330 ммоль), а затем перемешивали при к.т. в течение 14 ч. Реакционную смесь гасили добавлением воды и экстрагировали DCM (3×). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением соединения **31** (110 мг, 0,353 ммоль, выход 94%), которое переносили непосредственно на следующую стадию без дополнительной очистки. LCMS ESI: расчит. для $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{Si}$ = 368,1 ($\text{M}+\text{H}^+$), обнаруж. 368,2 ($\text{M}+\text{H}^+$). ^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ 8,21 (д, $J=2,0$ Гц, 1H), 7,80 (дд, $J=8,6, 2,6$ Гц, 1H), 7,74 (с, 1H), 7,63 (с, 1H), 7,00 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 4,57 (с, 2H), 4,37 - 4,28 (м, 2H), 4,05 (дд, $J=5,5, 4,2$ Гц, 2H), 0,92 (с, 9H), 0,10 (с, 6H).

[00175] Соединение **31** затем преобразовывали до соединения **Ig-01** с применением методик предшествующих примеров в соответствующих случаях. LCMS ESI: расчит. для $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_8\text{O}_4$ = 441,2 ($\text{M}+\text{H}^+$), обнаруж. 441,0 ($\text{M}+\text{H}^+$). ^1H -ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10,10 (с, 1H), 8,15 (д, $J=1,8$ Гц, 1H), 7,81 (с, 1H), 7,76 (дд, $J=8,5, 2,4$ Гц, 1H), 7,41 (с, 1H), 6,97 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 6,48 (ушир. с, 2H), 4,84 (с, 2H), 4,15 (т, $J=6,6$ Гц, 2H), 4,08 (т, $J=5,6$ Гц, 2H), 2,91 (ушир. д, $J=6,4$ Гц, 2H), 1,71 - 1,54 (м, 2H), 1,46 - 1,28 (м, 2H), 0,90 (т, $J=7,3$ Гц, 3H).

Пример 5 – Анализа активности в качестве агониста TLR7

[00176] В этом примере описан способ анализа активности соединений, раскрытых в настоящем документе, в качестве агонистов TLR7.

[00177] Генно-инженерные клетки мезонефроса человека (клетки HEK-Blue™ TLR; Invivogen), содержащие зависимый от TLR7 человека репортерный трансген секретируемой эмбриональной щелочной фосфатазы (SEAP), суспендировали в неселективной культуральной среде (DMEM с высоким содержанием глюкозы (Invitrogen) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (Sigma)). Клетки HEK-Blue™ TLR7 добавляли в каждую лунку 384-луночного планшета для тканевых культур (15000 клеток на лунку) и инкубировали в течение 16-18 ч при 37°C , 5% CO_2 . Соединения (100 нл) вносили

в лунки с клетками HEK-Blue™ TLR, и инкубировали обработанные клетки при 37°C, 5% CO₂. После обработки в течение 18 ч, в каждую лунку добавляли 10 мкл свежеприготовленного реагента Quanti-Blue™ (Invivogen), инкубировали в течение 30 мин (37°C, 5% CO₂), и измеряли содержание SEAP с применением планшетного ридера Envision (оптическая плотность при 620 нм). Рассчитывали значения полумаксимальной эффективной концентрации (EC₅₀; концентрация соединения, которая индуцирует ответ, лежащий посередине между значениями базовой линии и максимума ответа).

[00178] **Фиг. 6** представляет собой типовой график, демонстрирующий данные, полученные таким образом для соединения **(Ib-02)**.

Пример 6 – Анализ индукции интерлейкина 6

[00179] В этом примере описан способ анализа индукции интерлейкина 6 соединениями, раскрытыми в настоящем документе.

[00180] Соединения, разбавленные DMSO, переносили в отдельные лунки прозрачного 384-луночного планшета с V-образным дном (Matrix Technologies) с применением акустической технологии дозирования жидкостей ECHO (25 нл на лунку). В каждую лунку с применением устройства для дозирования жидкостей CyBio FeliX добавляли образцы цельной крови человека (25 мкл). Планшеты перемешивали встряхиванием на планшетном шейкере в течение 3 мин, после чего инкубировали реакционные смеси при 37°C в течение 20 ч. Затем, в каждую лунку добавляли минимальную среду RPMI 1640 (с добавлением L-глутамина) (25 мкл на лунку), после чего в каждом образце отделяли плазму путем центрифугирования (450g, 5 мин, температура окружающей среды). Затем, с применением устройства для дозирования жидкостей FeliX обработанные образцы плазмы (3 мкл) переносили в отдельные лунки белого 384-луночного планшета с приподнятым дном ProxiPlate (Perkin Elmer), и измеряли в них содержание интерлейкина 6 с применением технологии AlphaLISA, как описано производителем PerkinElmer. Для определения значений EC₅₀ соединений использовали программное обеспечение для анализа данных, принимая за значение базовой линии среднее значение образца с DMSO, и за 100% - значения для соединения сравнения в концентрации, наибольшей из тестируемых. Значения EC₅₀ могут быть определены с применением программного обеспечения Graphpad Prism™.

Пример 7 – Опосредованная транслугтаминазой конъюгация

[00181] Следующая методика может быть применена для опосредованной транслугтаминазой конъюгации соединений агонист-линкер, где линкер содержит аминокислотную группу, которая может действовать в качестве донора амина. Антитело может представлять собой антитело, которое содержит способный к взаимодействию с

трансглютаминазой глутамин, например, антитело с заменой N297A или N297Q. Конъюгацию проводят с помощью рекомбинантной бактериальной трансглютаминазы с молярным соотношением антитело/фермент = 5/1. Конъюгацию проводят с применением стандартных протоколов в 50 мМ Tris-буфере с pH 8,0 с инкубированием в течение ночи при 37°C. Полученный конъюгат очищали на колонке Protein A, предварительно уравновешенной 50 мМ Tris-буфером с pH 8,0. Конъюгат элюировали буфером с 0,1 М цитрата натрия с pH 3,5. Элюируемые фракции нейтрализовали добавлением 1 М Tris-буфера с pH 9,0. Конъюгат может быть включен в состав с 20 мг/мл сорбита и 10 мг/мл глицина с pH 5,0.

[00182] Специалистам в данной области техники следует понимать, что условия и методологии в данном примере являются иллюстративными и неограничивающими, и что их вариации и другие подходы к конъюгации известны в данной области техники и применимы в настоящем изобретении.

[00183] Предшествующее подробное раскрытие настоящего изобретения включает в себя фрагменты текста, которые имеют отношение, преимущественно или исключительно, к конкретным частям или аспектам настоящего изобретения. Следует понимать, что это сделано для лучшего понимания и удобства, что характерный признак может быть более значим, чем фрагмент текста, в котором он раскрыт, и что представленное в настоящем документе раскрытие включает в себя все соответствующие комбинации информации, обнаруживаемой в различных фрагментах текста. По аналогии, хотя различные представленные в настоящем документе фигуры и описания относятся к определенным вариантам осуществления настоящего изобретения, следует понимать, что если определенный признак раскрыт в контексте конкретной фигуры или варианта осуществления, то такой признак может быть также применен, до определенной степени, в контексте другой фигуры или варианта осуществления, в комбинации с другим признаком, или в настоящем изобретении в целом.

[00184] Кроме того, хотя настоящее изобретение было подробно описано с точки зрения определенных вариантов осуществления, настоящее изобретение не ограничивается таким предпочтительными вариантами осуществления. Предпочтительнее, объем настоящего изобретения определяется прилагаемой формулой изобретения.

Ссылки

[00185] Ниже представлены полные библиографические записи для следующих ссылок, процитированных ранее в настоящем раскрытии в сокращенном варианте по первому автору (или автору изобретения) и году. Каждая из указанных ссылок включена в настоящий документ посредством ссылки для любых целей.

[00186] Akinbobuyi *et al.*, ACS 2013 69th Southwest Regional Meeting, Abstract SWRM-70, «Synthesis and evaluation of purine-based toll-like receptor 7 agonists and their antibody conjugates.»

[00187] Akinbobuyi *et al.*, ACS 2015 Joint Southeastern/Southwest Regional Meeting, Abstract 392, «Synthesis of functionalized purine analogs for antibody conjugation» [2015a].

[00188] Akinbobuyi *et al.*, *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 458, «Facile syntheses of functionalized toll-like receptor 7 agonists» [2015b].

[00189] Akinbobuyi *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, 26, 4246, «Synthesis and immunostimulatory activity of substituted TLR7 agonists.»

[00190] Barberis *et al.*, US 2012/0003298 A1 (2012).

[00191] Beesu *et al.*, *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 2084, «Identification of High-Potency Human TLR8 and Dual TLR7/TLR8 Agonists in Pyrimidine-2,4-diamines.»

[00192] Berghöfer *et al.*, *J. Immunol.* **2007**, 178, 4072, «Natural and Synthetic TLR7 Ligands Inhibit CpG-A- and CpG-C-Oligodeoxynucleotide-Induced IFN- α Production.»

[00193] Bonfanti *et al.*, US 2014/0323441 A1 (2015) [2015a].

[00194] Bonfanti *et al.*, US 2015/0299221 A1 (2015) [2015b].

[00195] Carson *et al.*, US 2013/0202629 A1 (2013).

[00196] Carson *et al.*, US 8,729,088 B2 (2014).

[00197] Carson *et al.*, US 9,050,376 B2 (2015).

[00198] Carson *et al.*, US 2016/0199499 A1 (2016).

[00199] Chan *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **2009**, 20, 1194, «Synthesis and Immunological Characterization of Toll-Like Receptor 7 Agonistic Conjugates.»

[00200] Chan *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **2011**, 22, 445, «Synthesis and Characterization of PEGylated Toll Like Receptor 7 Ligands.»

[00201] Cortez *et al.*, US 2017/0044168 A1 (2017). [2017a].

[00202] Cortez *et al.*, US 2017/0121421 A1 (2017). [2017b].

[00203] Desai *et al.*, US 9,127,006 B2 (2015).

[00204] Ding *et al.*, WO 2016/107536 A1 (2016).

[00205] Ding *et al.*, US 2017/0273983 A1 (2017) [2017a].

[00206] Ding *et al.*, WO 2017/076346 A1 (2017) [2017b].

[00207] Gadd *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **2015**, 26, 1743, «Targeted Activation of Toll-Like Receptors: Conjugation of a Toll-Like Receptor 7 Agonist to a Monoclonal Antibody Maintains Antigen Binding and Specificity.»

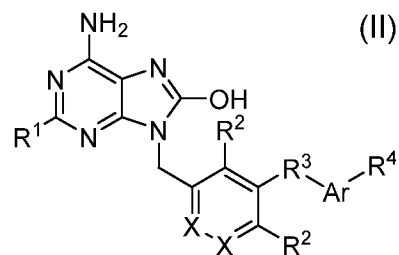
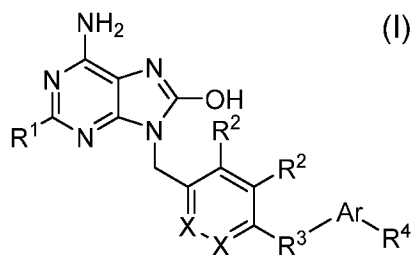
[00208] Graupe *et al.*, US 8,993,755 B2 (2015).

- [00209] Halcomb *et al.*, US 9,161,934 B2 (2015).
- [00210] Hashimoto *et al.*, US 2009/0118263 A1 (2009).
- [00211] Hirota *et al.*, US 6,028,076 (2000).
- [00212] Holldack *et al.*, US 2012/0083473 A1 (2012).
- [00213] Isobe *et al.*, US 6,376,501 B1 (2002).
- [00214] Isobe *et al.*, JP 2004137157 (2004).
- [00215] Isobe *et al.*, *J. Med. Chem.* **2006**, 49 (6), 2088, «Synthesis and Biological Evaluation of Novel 9-Substituted-8-Hydroxyadenine Derivatives as Potent Interferon Inducers.»
- [00216] Isobe *et al.*, US 7,521,454 B2 (2009) [2009a].
- [00217] Isobe *et al.*, US 2009/0105212 A1 (2009) [2009b].
- [00218] Isobe *et al.*, US 2011/0028715 A1 (2011).
- [00219] Isobe *et al.*, US 8,148,371 B2 (2012).
- [00220] Jensen *et al.*, WO 2015/036044 A1 (2015).
- [00221] Kasibhatla *et al.*, US 7,241,890 B2 (2007).
- [00222] Koga-Yamakawa *et al.*, *Int. J. Cancer* **2013**, 132 (3), 580, «Intratracheal and oral administration of SM-276001: A selective TLR7 agonist, leads to antitumor efficacy in primary and metastatic models of cancer.»
- [00223] Li *et al.*, US 9,902,730 B2 (2018).
- [00224] Lioux *et al.*, US 9,295,732 B2 (2016).
- [00225] Lund *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci (USA)* **2004**, 101 (15), 5598, «Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7.»
- [00226] Maj *et al.*, US 9,173,935 B2 (2015).
- [00227] McGowan *et al.*, *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 6137, «Identification and Optimization of Pyrrolo[3,2-d]pyrimidine Toll-like Receptor 7 (TLR7) Selective Agonists for the Treatment of Hepatitis B.»
- [00228] Musmuca *et al.*, *J. Chem. Information & Modeling* **2009**, 49 (7), 1777, «Small-Molecule Interferon Inducers. Toward the Comprehension of the Molecular Determinants through Ligand-Based Approaches.»
- [00229] Ogita *et al.*, US 2007/0225303 A1 (2007).
- [00230] Peterson, Rachel; Honor Program Thesis, «Synthesis of Sulfur and Amino-8-Substituted Adenine Derivatives as TLR7 Agonists,» Baylor University (2014).
- [00231] Pryde, US 7,642,350 B2 (2010).
- [00232] Roethle *et al.*, *J. Med. Chem* **2013**, 56, 7324, «Identification and Optimization of Pteridinone Toll-like Receptor 7 (TLR7) Agonists for the Oral Treatment of Viral Hepatitis.»

- [00233] Seifert, Zacharie; Master of Science Thesis, «Synthesis and Evaluation of 8-Substituted Adenine Derivatives as Toll-like Receptor 7 Agonists,» Baylor University (2015).
- [00234] Vernejoul *et al.*, US 2014/0141033 A1 (2014).
- [00235] Yu *et al.*, *PLoS One* **2013**, 8 (3), e56514, «Toll-Like Receptor 7 Agonists: Chemical Feature Based Pharmacophore Identification and Molecular Docking Studies.»
- [00236] Zhang *et al.*, *Immunity* **2016**, 45, 737, «Structural Analysis Reveals that Toll-like Receptor 7 Is a Dual Receptor for Guanosine and Single-Stranded RNA.»
- [00237] Zurawski *et al.*, US 2012/0231023 A1 (2012).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, представленное формулой (I) или (II)



в которой

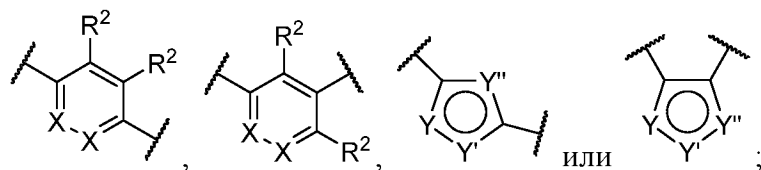
R^1 представляет собой $(C_1-C_5\text{алкил})O$, $(C_1-C_2\text{алкил})O(CH_2)_{2-3}O$, $(C_1-C_5\text{алкил})C(=O)O$, $(C_1-C_5\text{алкил})NH$, $(C_1-C_2\text{алкил})O(CH_2)_{2-3}NH$ или $(C_1-C_5\text{алкил})C(=O)NH$;

R^2 в каждом случае независимо представляет собой H, $C_1-C_3\text{алкил}$, галоген, $O(C_1-C_3\text{алкил})$, CN или NO_2 ;

X в каждом случае независимо представляет собой CR^2 или N;

R^3 представляет собой O, S, NH или $N(C_1-C_3\text{алкил})$;

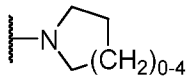
Ar представляет собой



где один из Y, Y' и Y'' выбран из -O-, -S-, -NH- и $-N(C_1-C_3\text{алкил})-$, и два других из Y, Y' и Y'' выбраны из $=N-$ и $=CR^2-$;

R^4 представляет собой H, $C_1-C_3\text{алкил}$, галоген, $O(C_1-C_3\text{алкил})$, CN, NO_2 или $(CH_2)_xR^5$, где нижний индекс x равен 1, 2, 3 или 4; и

R^5 представляет собой H, галоген, OH, CN, NH_2 , $NH(C_1-C_5\text{алкил})$, $N(C_1-C_5\text{алкил})_2$, $NH(C_3-C_6\text{циклоалкил})$, $NH(C_4-C_8\text{бициклоалкил})$, $NH(C_6-C_{10}\text{спироциклоалкил})$, $N(C_3-C_6\text{циклоалкил})_2$, $NH(CH_2)_{1-3}(\text{арил})$, $N((CH_2)_{1-3}(\text{арил}))_2$, фрагмент циклического амина,

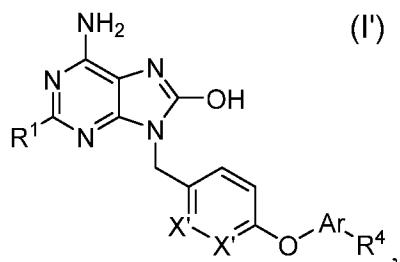
характеризующийся структурой , 6-членный ароматический или гетероароматический фрагмент или 5-членный гетероароматический фрагмент;

где

алкил, циклоалкил, бициклоалкил, спироциклоалкил, фрагмент циклического амина, 6-членный ароматический или гетероароматический или 5-членный гетероароматический фрагмент необязательно замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из OH, галогена, CN, $(C_1-C_3\text{алкил})$, $O(C_1-C_3\text{алкил})$, $C(=O)(Me)$, $SO_2(C_1-C_3\text{алкил})$, $C(=O)(Et)$, NH_2 , $NH(Me)$, $N(Me)_2$, $NH(Et)$, $N(Et)_2$ и $N(C_1-C_3\text{алкил})_2$; и

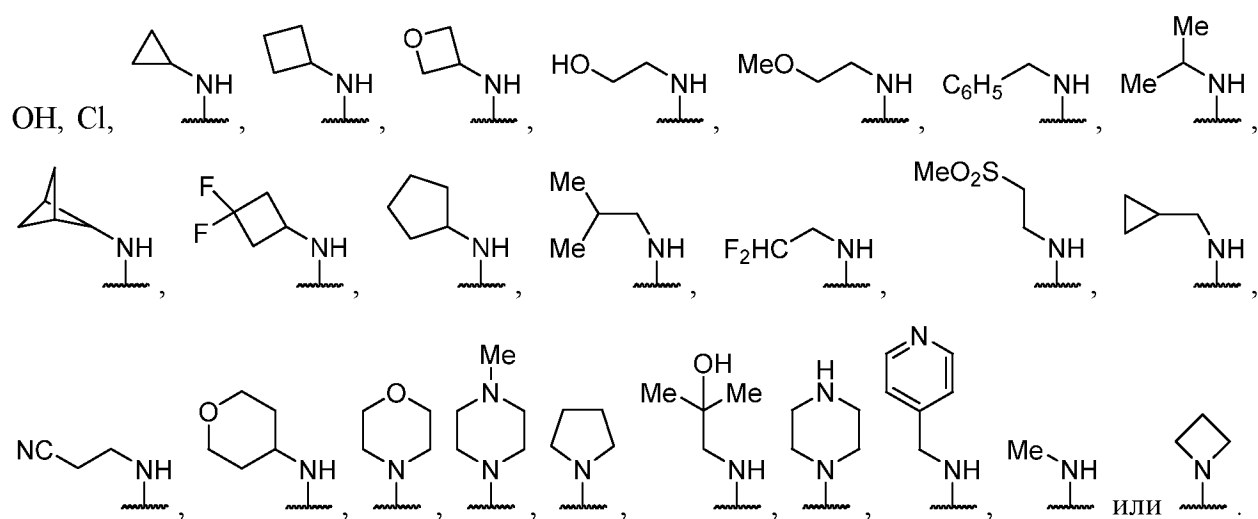
CH₂-группа циклоалкила, бициклоалкила, спироциклоалкила или фрагмента циклического амина может быть заменена O, S, NH, N(C₁-C₃алкил) или N(Вос).

2. Соединение по п. 1, представленное формулой (Г')

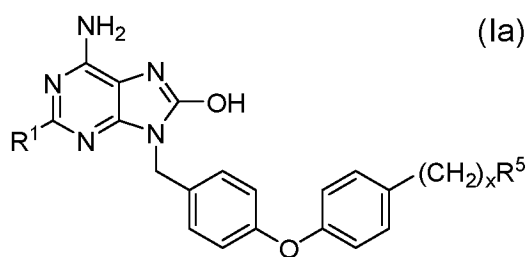


в которой каждый X' независимо представляет собой СН или N.

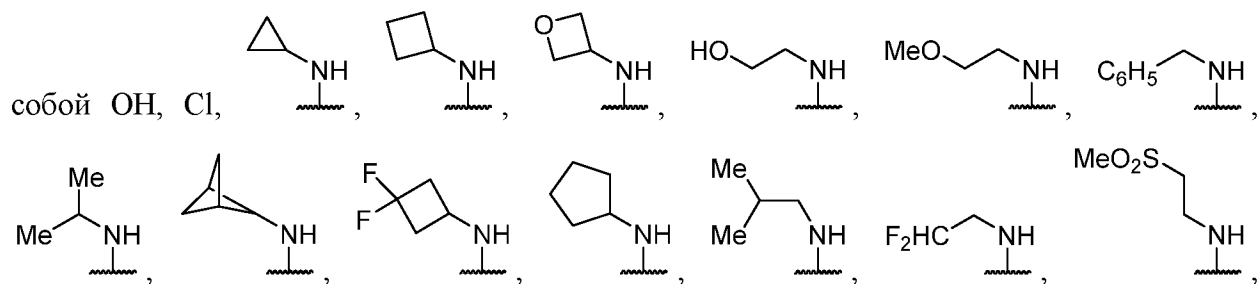
3. Соединение по п. 2, где R^4 представляет собой CH_2R^5 , и R^5 представляет собой

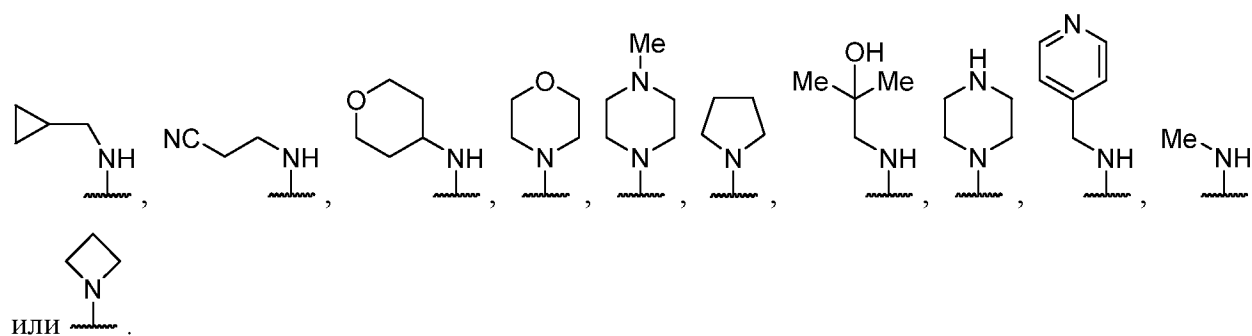


4. Соединение по п. 1, представленное формулой (Ia)

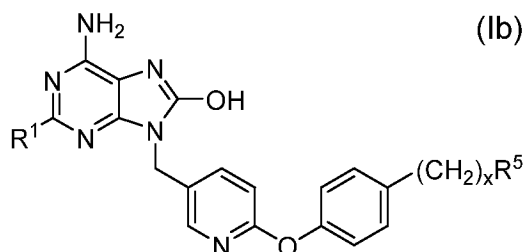


5. Соединение по п. 4, где R¹ представляет собой *n*-BuO, *x* равен 1, и R⁵ представляет

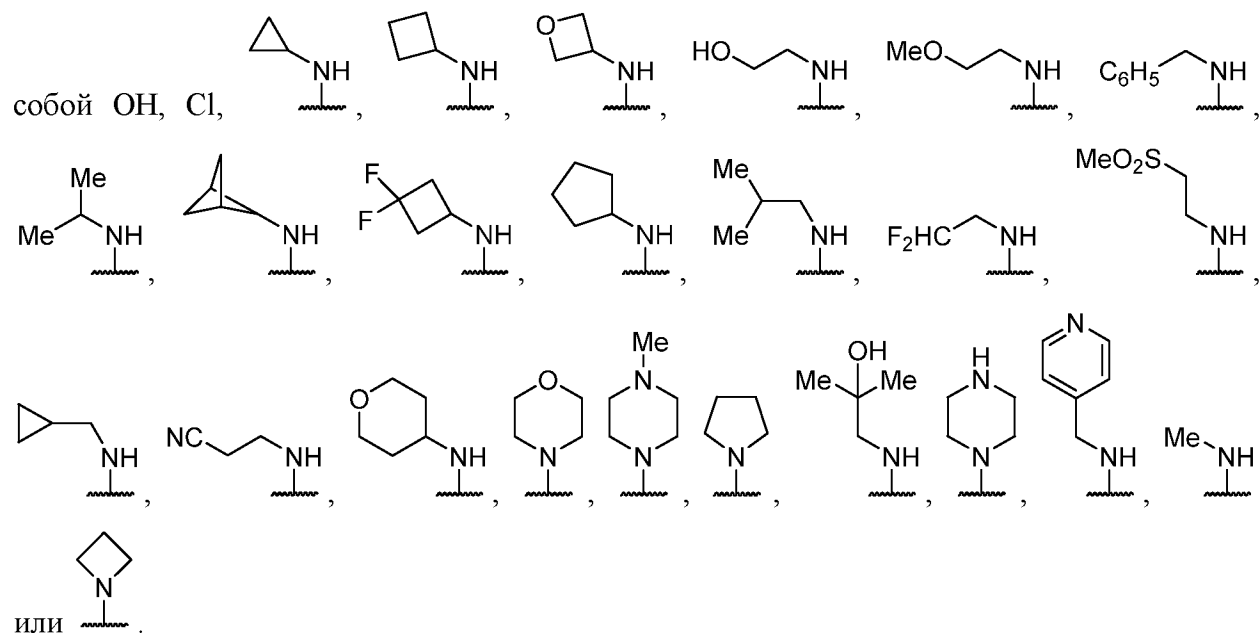




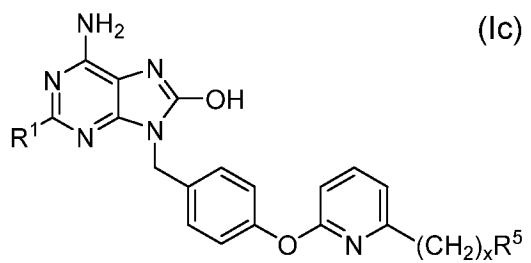
6. Соединение по п. 1, представленное формулой (Ib)



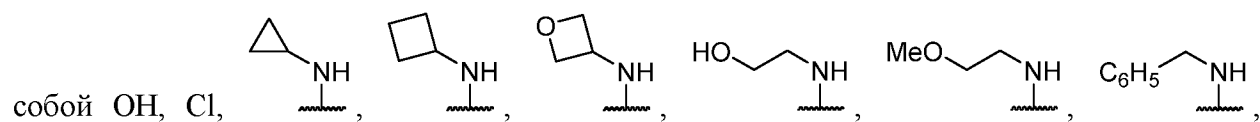
7. Соединение по п. 6, где R^1 представляет собой *n*-BuO, x равен 1, и R^5 представляет

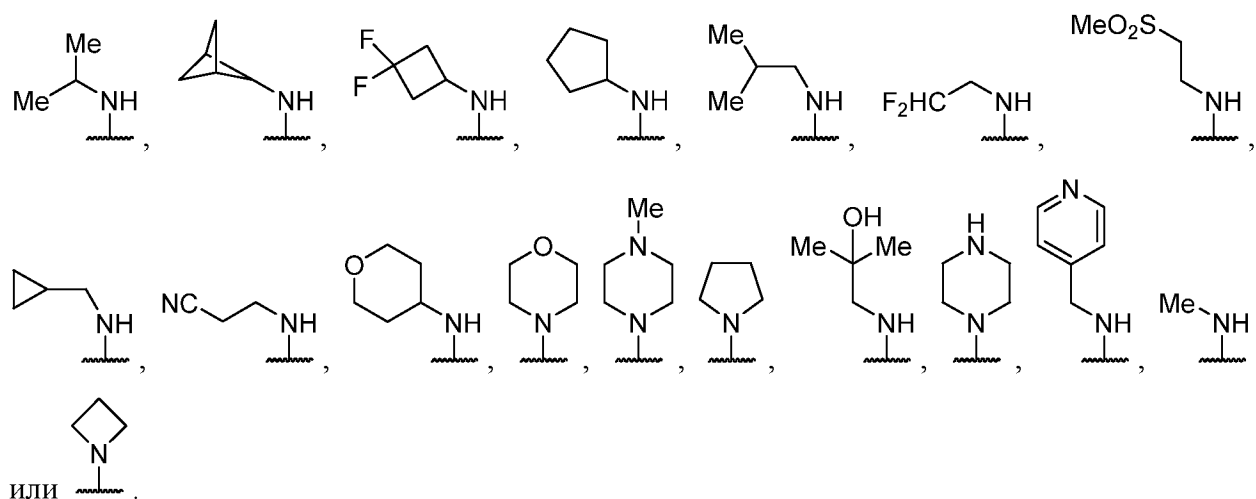


8. Соединение по п. 1, представленное формулой (Ic)

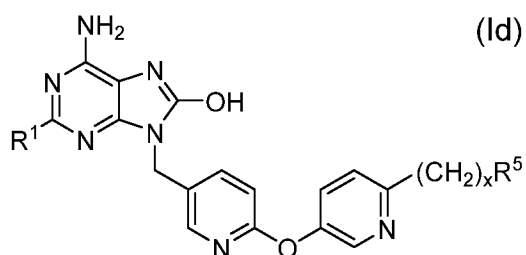


9. Соединение по п. 8, где R^1 представляет собой *n*-BuO, x равен 1, и R^5 представляет

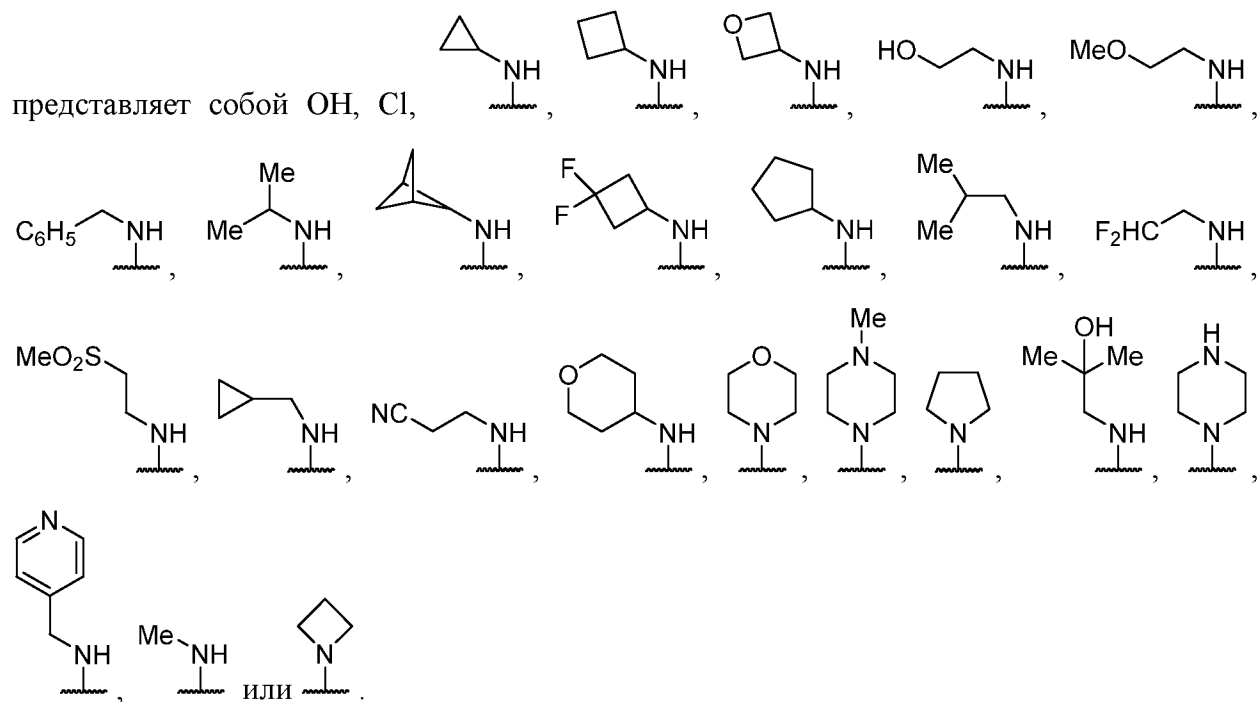




10. Соединение по п. 1, представленное формулой (Id)

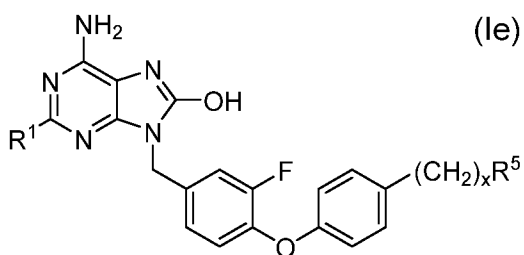


11. Соединение по п. 10, где R¹ представляет собой *n*-BuO, *x* равен 1, и R⁵

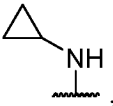
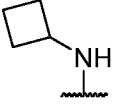
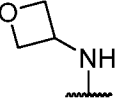
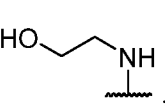
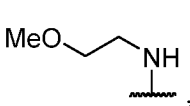


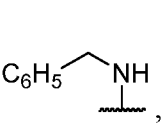
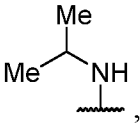
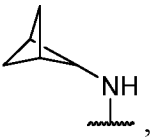
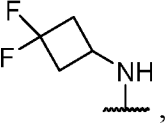
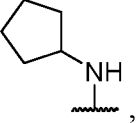
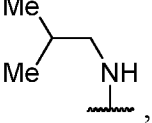
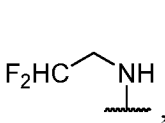
12. Соединение по п. 1, представленное формулой (Ie)

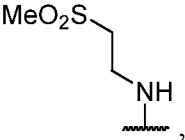
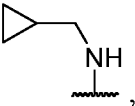
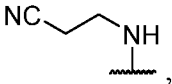
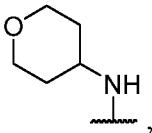
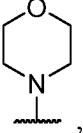
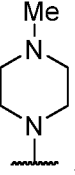
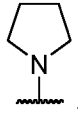
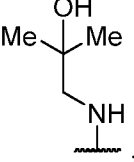
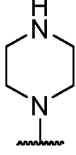
(le)

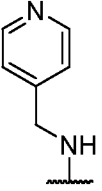
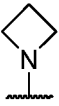


13. Соединение по п. 12, где R¹ представляет собой *n*-BuO, *x* равен 1, и R⁵

представляет собой OH, Cl, , , , , ,

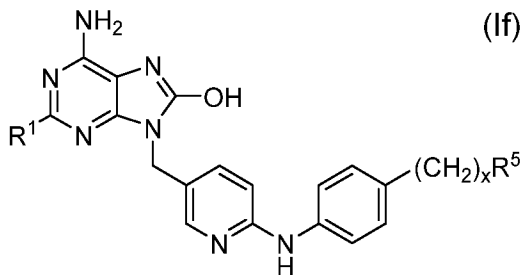
, , , , , , ,

, , , , , , , , ,

,  или .

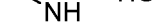
14. Соединение по п. 1, представленное формулой (If)

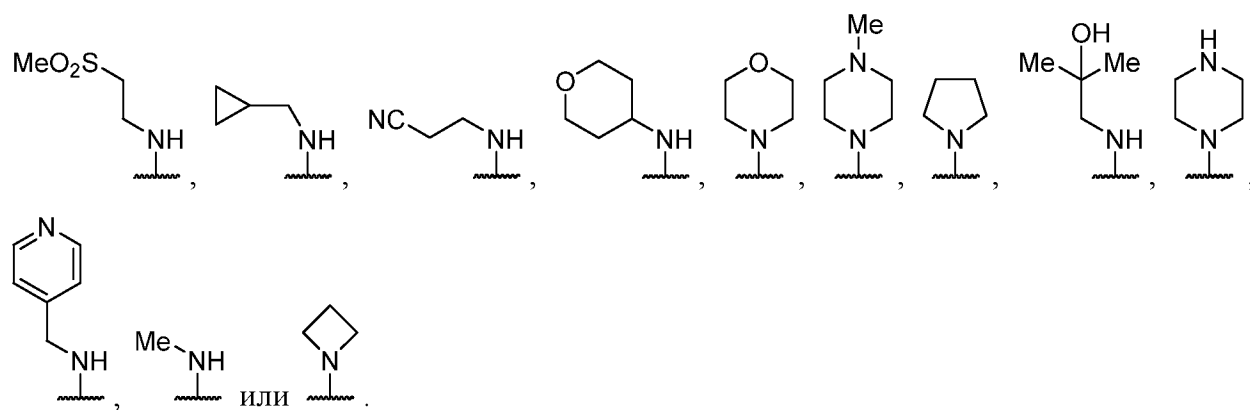
(If)



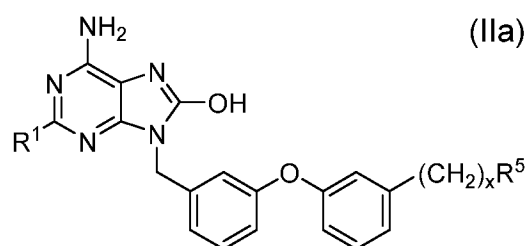
15. Соединение по п. 14, где R¹ представляет собой *n*-BuO, *x* равен 1, и R⁵

представляет собой OH, Cl, , , , , ,

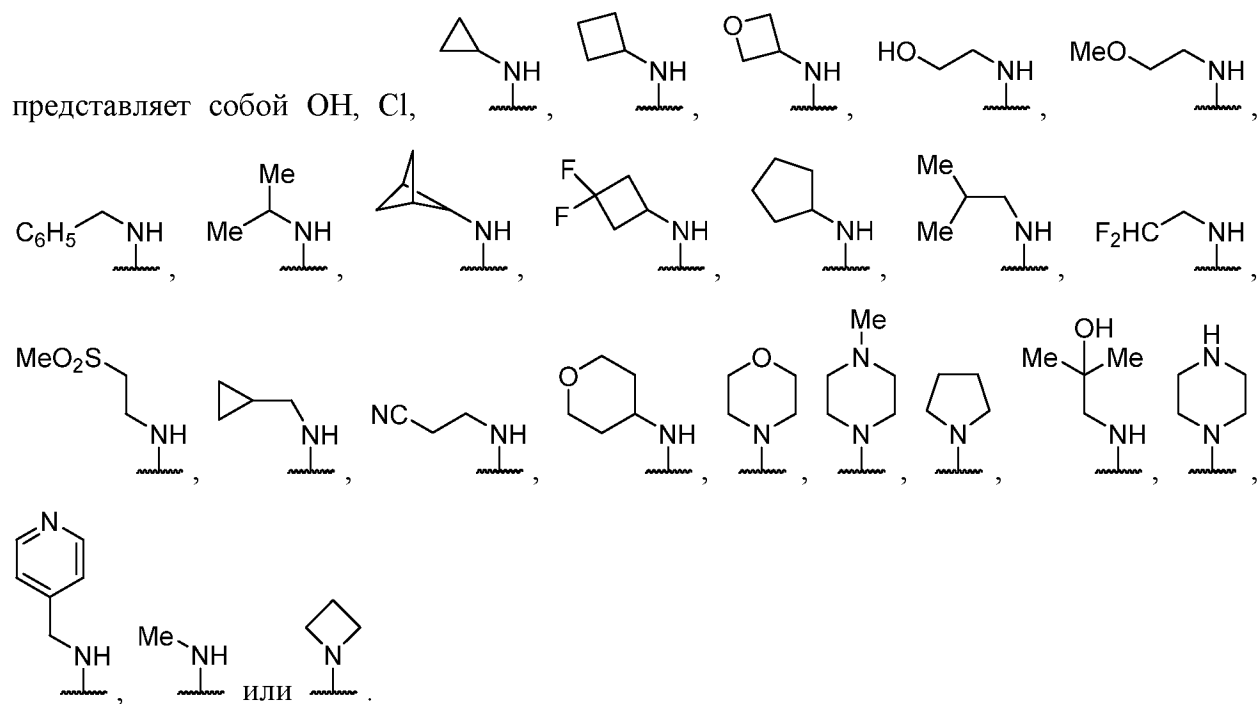
, , , , , , 



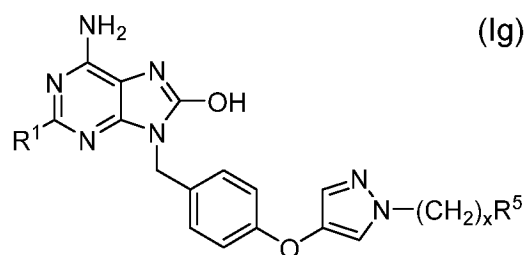
16. Соединение по п. 1, представленное формулой (IIa)



17. Соединение по п. 16, где R^1 представляет собой *n*-BuO, x равен 1, и R^5



18. Соединение по п. 1, характеризующееся структурой, представленной формулой (Ig):

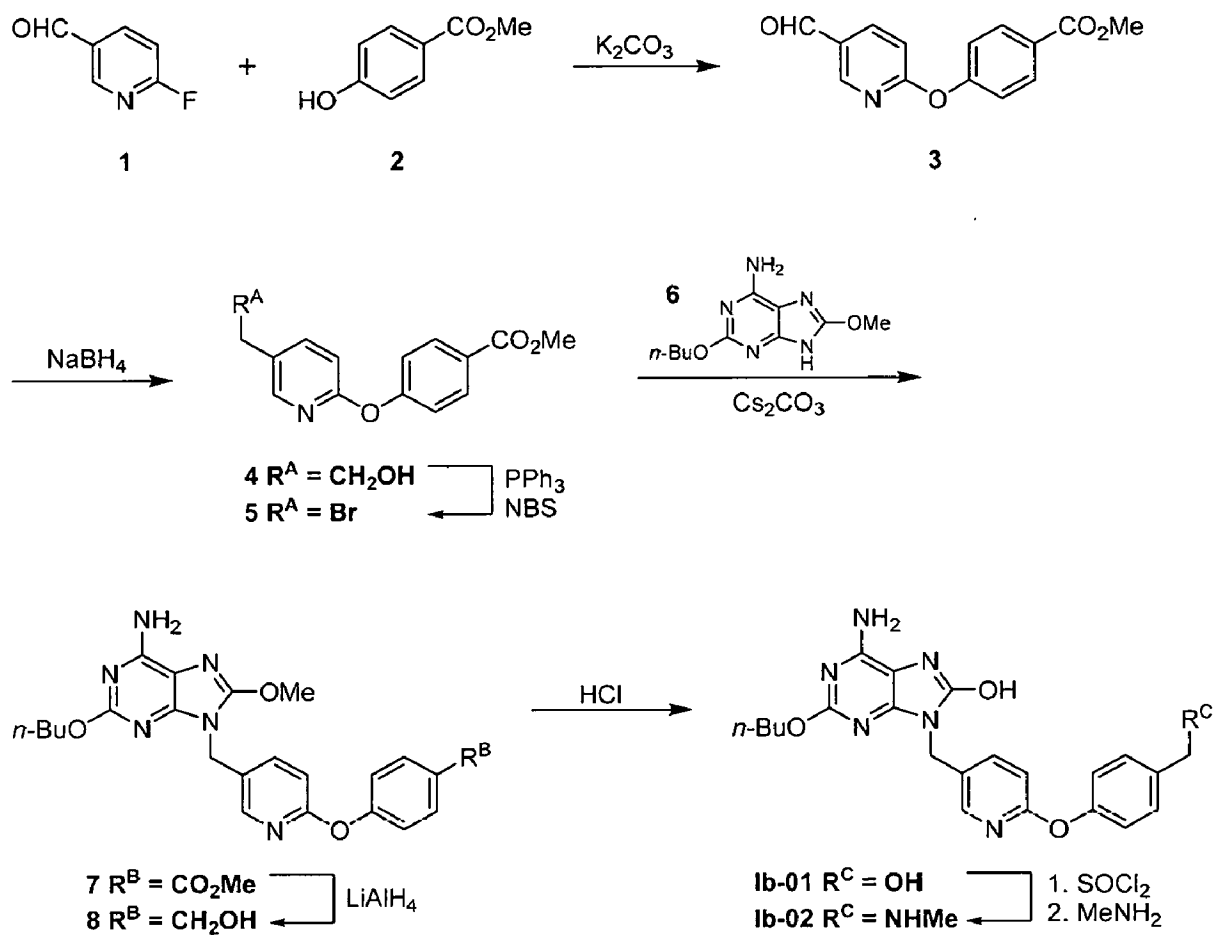


19. Соединение по п. 1, конъюгированное с антителом.

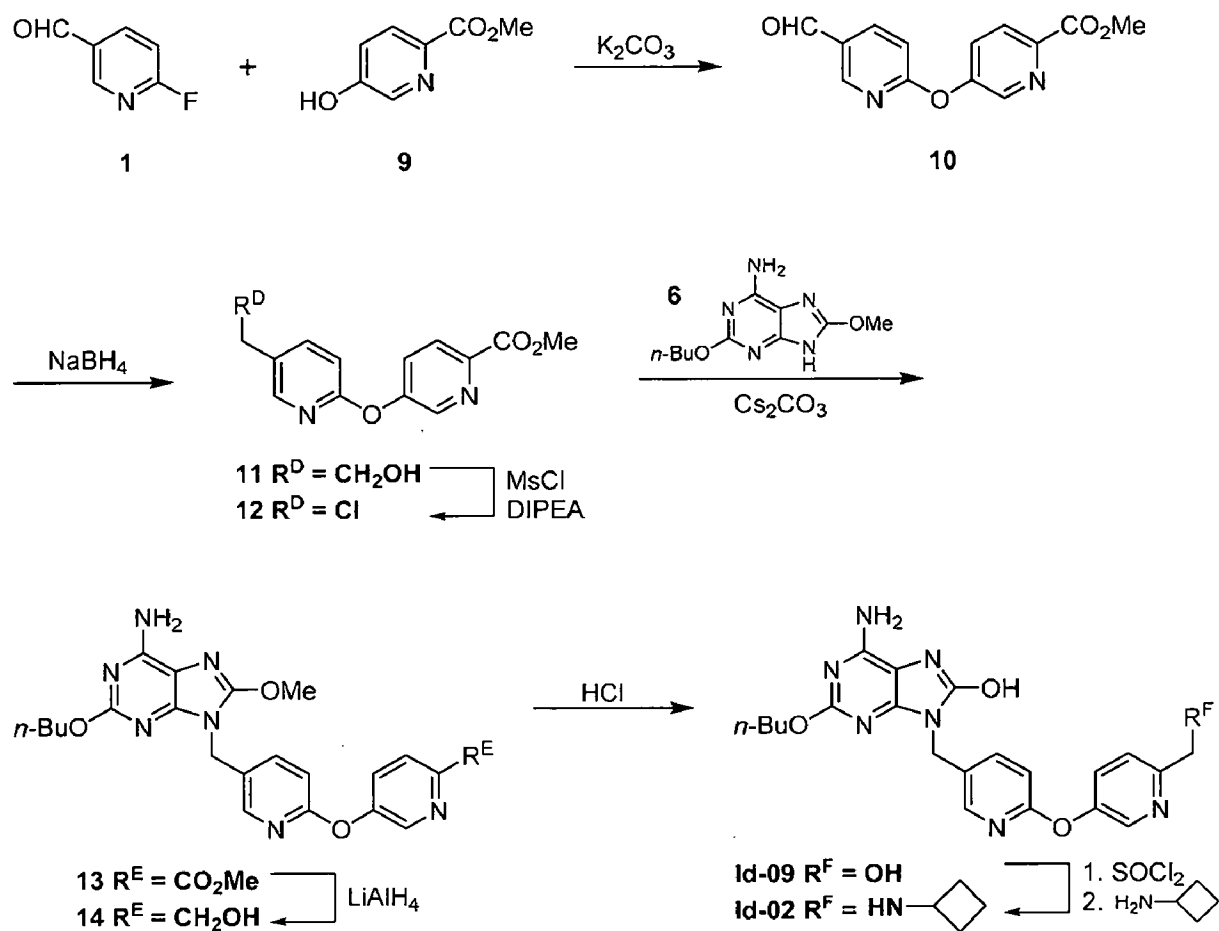
20. Соединение по п. 1, которое ковалентно связано с фрагментом полиэтиленгликоля весом от 2 кДа до 40 кДа.

21. Соединение по п. 1 для применения в лечении состояния, подлежащего лечению путем активации Toll-подобного рецептора 7.

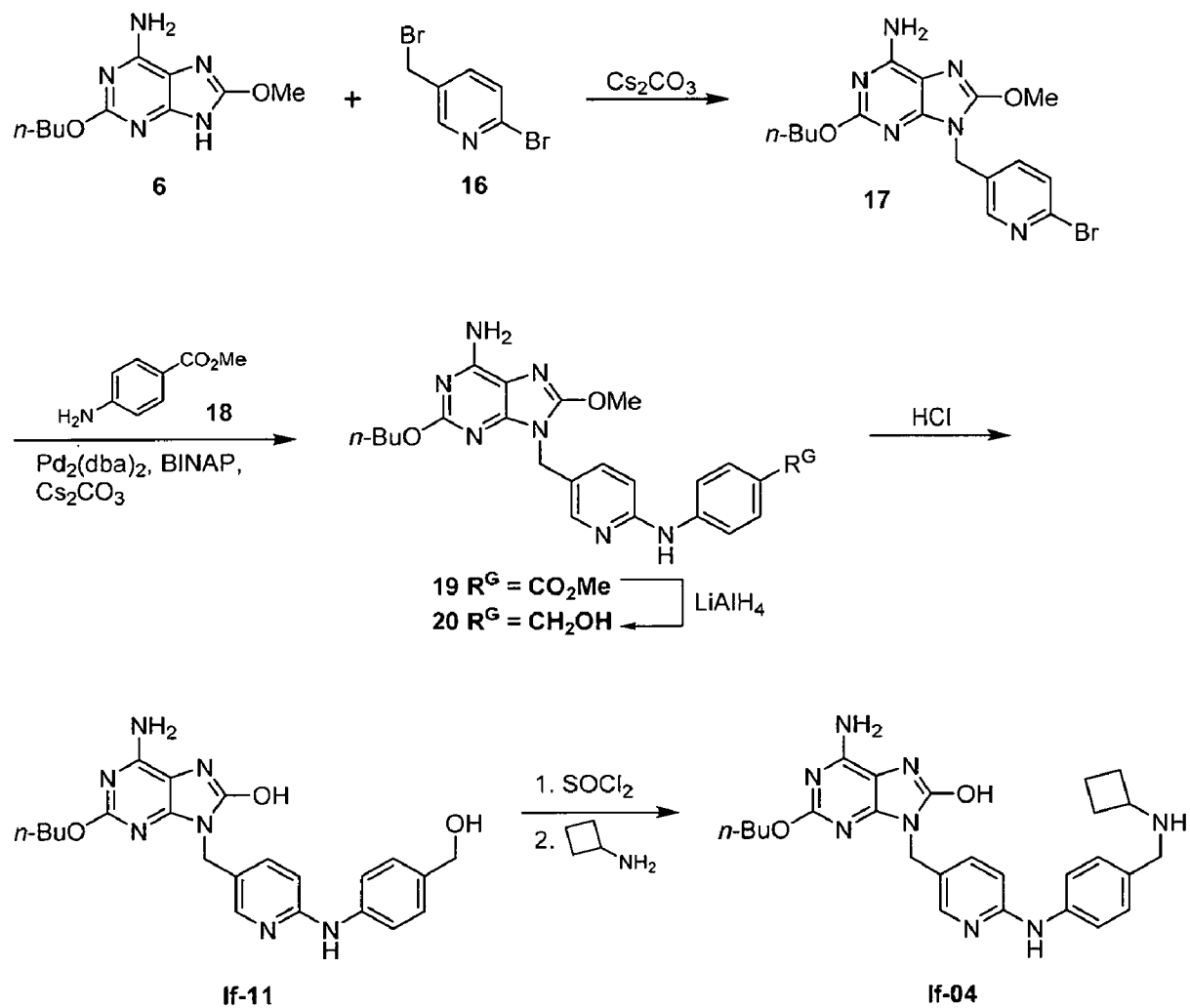
Фиг. 1



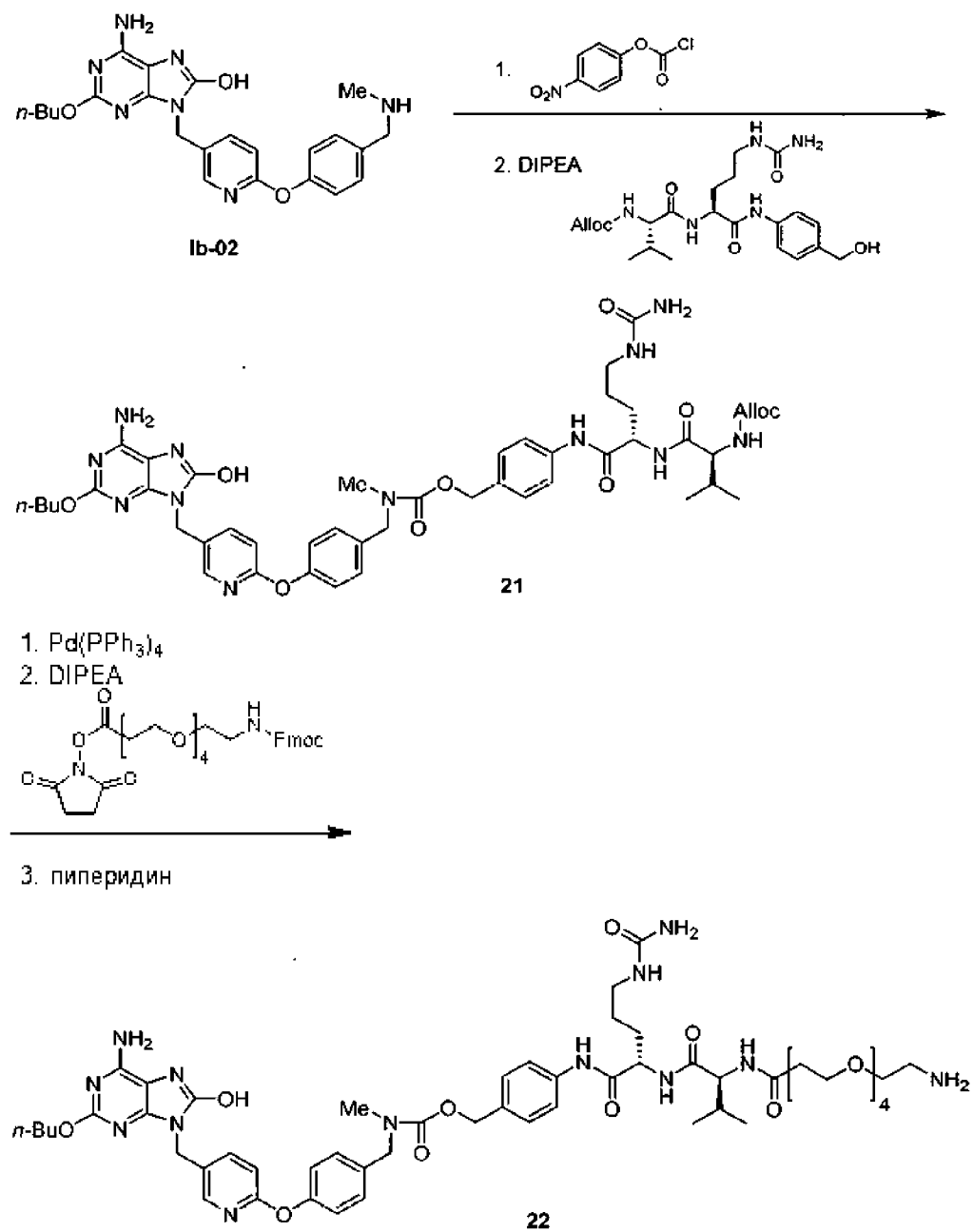
Фиг. 2



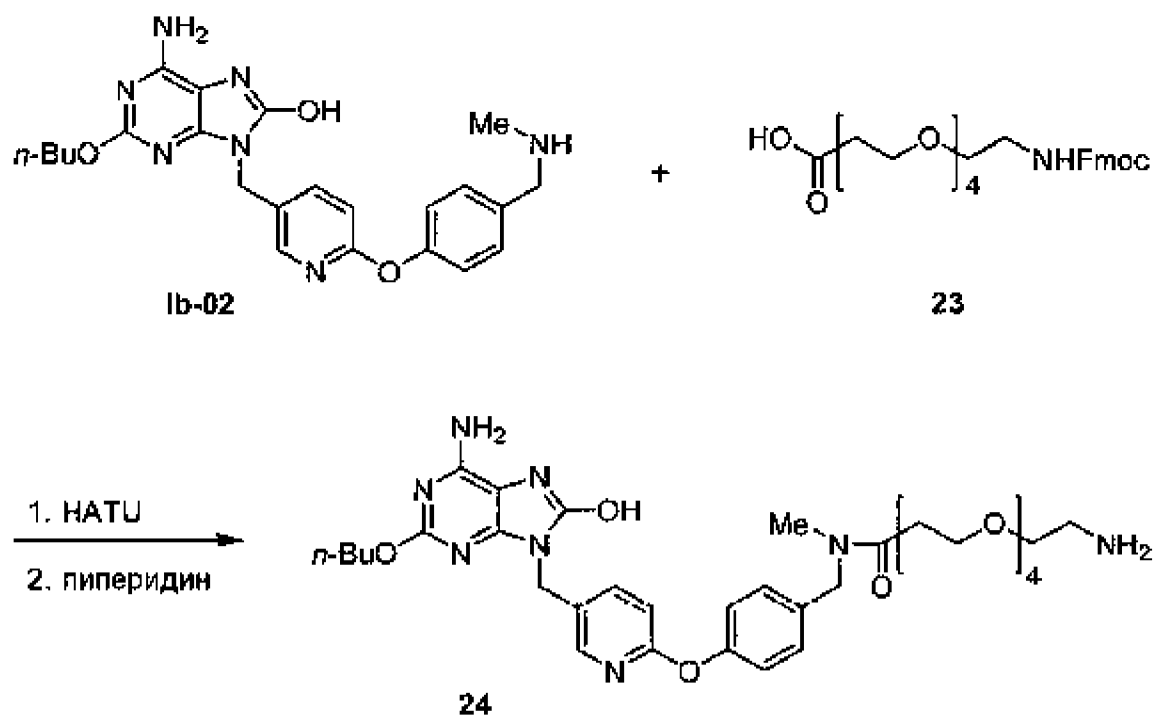
Фиг. 3



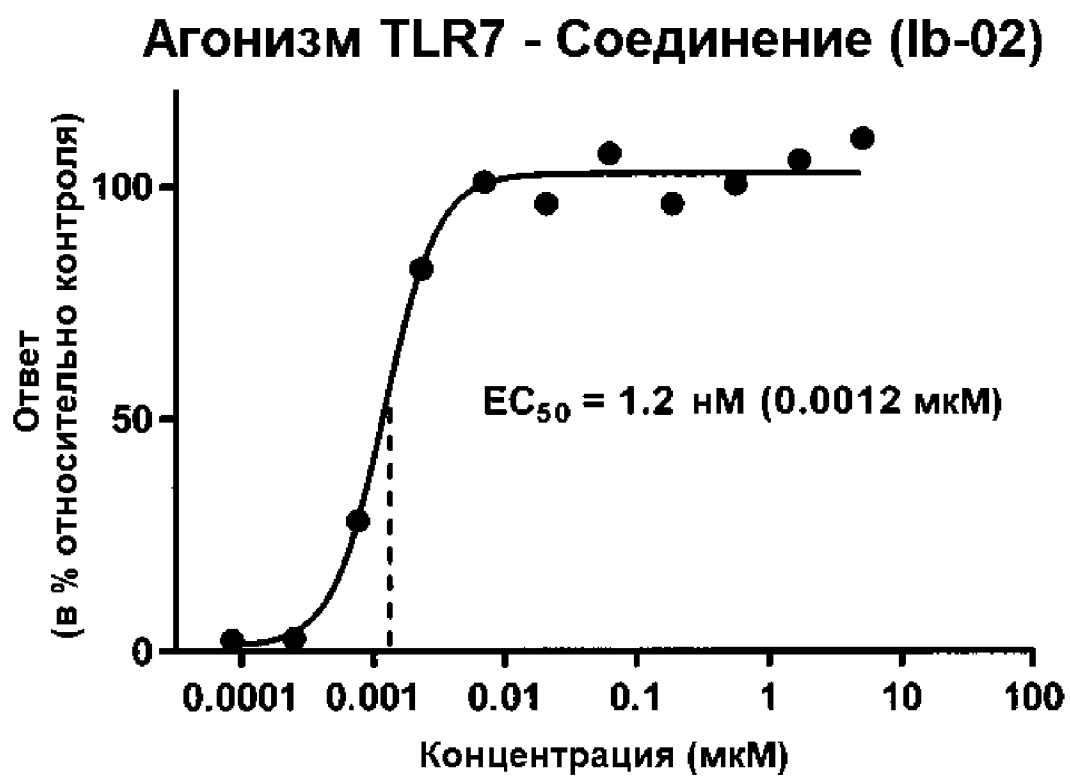
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7

