

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202091060 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.07.20(22) Дата подачи заявки
2018.10.31(51) Int. Cl. A61K 31/7088 (2006.01)
A61K 31/713 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)
C12N 15/11 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

(54) ЛИГАНДЫ ИНТЕГРИНОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/580,398; 62/646,739; 62/679,549

(32) 2017.11.01; 2018.03.22; 2018.06.01

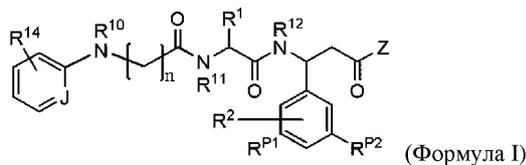
(33) US

(86) PCT/US2018/058471

(87) WO 2019/089765 2019.05.09

(71) Заявитель:
ЭРРОУХЕД ФАРМАСЬЮТИКАЛС,
ИНК. (US)(72) Изобретатель:
Ли Чжэнь, Ли Сяокай, Буш Эрик У.,
Чжу Жуй, Шу Дунсуй, Бенсон
Джонатан, Шейо Патрик, Фаулер-
Уоттерс Мэттью (US)(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Предложены синтетические лиганды интегринина $\alpha\beta6$ формулы I, обладающие стабильностью в сыворотке и аффинностью к интегрину $\alpha\beta6$, который является рецептором, экспрессируемым в различных типах клеток. Описанные лиганды полезны для доставки транспортируемых молекул, таких как средства РНКи или другие соединения на основе олигонуклеотидов, к клеткам, которые экспрессируют интегрин $\alpha\beta6$, облегчая тем самым поглощение транспортируемых молекул этими клетками. Также описаны композиции, которые включают лиганды интегринина $\alpha\beta6$, и способы их применения.



A1

202091060

202091060

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-562197EA/042

ЛИГАНДЫ ИНТЕГРИНОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США US 62/580398, поданной 1 ноября 2017 года, предварительной заявки на патент США US 62/646739, поданной 22 марта 2018 года, и предварительной заявки на патент США US 62/679549, поданной 1 июня 2018 года, содержание каждой из которых во всей их полноте включено в настоящий документ посредством ссылки.

Уровень техники

[0002] Интегрин альфа- ν бета-6 ($\alpha\nu\beta 6$), который экспрессируется в различных типах клеток, включая эпителиальные клетки, представляет собой рецептор для латентно-ассоциированного пептида (LAP) TGF-бета и для белков внеклеточного матрикса (ECM), витронектина и тенасцина. Хотя едва обнаруживаемый в эпителии у нормальных здоровых взрослых людей, интегрин $\alpha\nu\beta 6$ активируется во время заживления ран и при различных видах рака (например, раке ободочной кишки, яичника, эндометрия и желудка), и он часто ассоциируется с плохим прогнозом рака. Было показано, что интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может стимулировать инвазию и миграцию клеток при метастазировании, и он может ингибировать апоптоз. Интегрин $\alpha\nu\beta 6$ также может регулировать экспрессию матриксных металлопротеиназ (ММП) и активировать TGF- $\beta 1$. Существует все больше доказательств, в первую очередь из исследований *in vitro*, которые подтверждают, что интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может промотировать развитие рака. Таким образом, интегрин $\alpha\nu\beta 6$ является привлекательным в качестве биомаркера опухоли и в качестве потенциальной терапевтической мишени, а также из-за его роли в экспрессии матриксных металлопротеиназ (ММП) и в активации TGF- $\beta 1$.

[0003] Доставка в условиях *in vivo* терапевтически эффективных соединений, таких как лекарственные соединения, в желаемые клетки и/или ткани продолжает быть общей проблемой при разработке лекарственных продуктов. Продолжает существовать потребность в стабильных и эффективных нацеливающих лигандах, которые могут быть селективно нацелены на клетки или ткани, и которые могут быть использованы для облегчения направленной доставки транспортируемых молекул (например, терапевтически активного соединения или ингредиента) к конкретным клеткам или тканям. Действительно, существует общая потребность в нацеливающих лигандах, которые могут быть конъюгированы с одной или несколькими транспортируемыми молекулами, такими как один или несколько лекарственных продуктов или других полезных веществ, для облегчения их доставки в требуемые клетки или ткани в условиях *in vivo*. Кроме того, существует потребность в соединениях, которые продуцируют интегрин альфа- ν бета-6, которые пригодны для конъюгирования с транспортируемыми молекулами, для доставки их в клетки, экспрессирующие интегрин альфа- ν бета-6, в условиях *in vivo*. Что касается конкретных транспортируемых молекул, таких как

терапевтических олигонуклеотидных соединений (например, антисмысловых олигонуклеотидов или средств для РНК-интерференции (средства РНКи)), то существует потребность в нацеливающих лигандах, которые способны нацеливаться на мишень, такую как интегрин альфа- v бета- 6 , и которые могут быть конъюгированы с соединениями на основе олигонуклеотидов для доставки терапевтического агента к клеткам и/или тканям, экспрессирующим интегрин альфа- v бета- 6 , и облегчения введения этого терапевтического агента в клетку через рецептор-опосредованный эндоцитоз, пиноцитоз или с помощью других механизмов.

Сущность изобретения

[0004] Здесь описаны новые синтетические лиганды интегрин $\alpha v \beta 6$ (также называемые здесь лигандами $\alpha v \beta 6$). Описанные здесь лиганды интегрин $\alpha v \beta 6$ являются стабильными в сыворотке, они обладают аффинностью к интегринам $\alpha v \beta 6$, и вследствие этого они могут специфически связываться с интегрином $\alpha v \beta 6$. Лиганды интегрин $\alpha v \beta 6$ могут быть конъюгированы с транспортируемыми молекулами для облегчения доставки транспортируемых молекул в желаемые клетки или ткани, которые экспрессируют интегрин $\alpha v \beta 6$, например, в эпителиальные клетки.

[0005] Здесь также раскрыты способы доставки транспортируемых молекул к ткани и/или клетке, экспрессирующей интегрин $\alpha v \beta 6$ в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов $\alpha v \beta 6$, раскрытых здесь, которые конъюгированы с одной или несколькими транспортируемыми молекулами. Кроме того, описаны способы лечения субъекта, имеющего заболевание, симптом или расстройство, для которых доставка терапевтической транспортируемой молекулы (например, активного фармацевтического ингредиента) в клетку, экспрессирующую интегрин $\alpha v \beta 6$, способны обеспечить лечение субъекта, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов $\alpha v \beta 6$, раскрытых здесь, которые конъюгированы с одной или несколькими терапевтическими транспортируемыми молекулами.

[0006] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанных здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в клетке, где способы включают введение в клетку эффективного количества одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha v \beta 6$, которые конъюгированы с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов (например, терапевтическим средством на основе олигонуклеотида), способными ингибировать экспрессию гена-мишени в клетке, такими как средства РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанных здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в клетке субъекта, где субъекту вводят эффективное количество одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha v \beta 6$, которые конъюгированы с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов, способными ингибировать экспрессию гена-мишени в клетке, такими как средства РНКи.

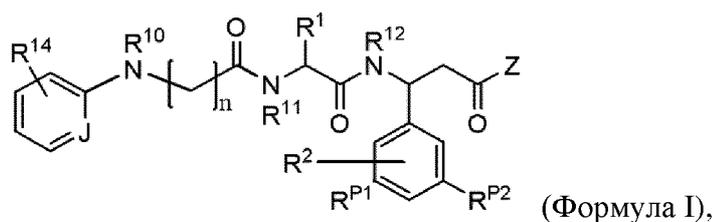
[0007] Кроме того, здесь описаны композиции, которые содержат лиганды интегрин $\alpha v \beta 6$. Описанные здесь композиции могут представлять собой

фармацевтические композиции, которые содержат один или несколько лигандов интегрин $\alpha\beta_6$, раскрытых здесь, конъюгированных с одним или несколькими терапевтическими веществами, такими как средство РНКи или другая транспортируемая молекула.

[0008] В некоторых вариантах осуществления изобретения, которые описаны здесь, представлены способы лечения субъекта, имеющего заболевание или нарушение, опосредованное, по меньшей мере частично, экспрессией гена-мишени, где способы включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества фармацевтической композиции, где фармацевтическая композиция содержит один или несколько лигандов интегрин $\alpha\beta_6$, раскрытых здесь, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов, такими как средства РНКи.

[0009] В первом аспекте настоящее изобретение относится к синтетическим лигандам интегрин $\alpha\beta_6$.

[0010] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, раскрытый здесь, представляет собой соединение со структурой, описываемой следующей формулой:



или его фармацевтически приемлемую соль,

где

n представляет собой целое число от 0 до 7;

J представляет собой C-H или N;

Z представляет собой OR^{13} , $N(R^{13})_2$ или SR^{13} ;

R^1 представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, OH, COOH, $CON(R^5)_2$, OR^6 , или R^1 включает транспортируемую молекулу, где каждый R^5 независимо представляет собой H или C_1 - C_6 алкил, и R^6 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил;

каждый R^2 , R^{P1} и R^{P2} независимо представляет собой H, галоген, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен или необязательно замещенный гетероарилен, или R^2 , R^{P1} и R^{P2} могут включать транспортируемую молекулу;

R^{10} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

R^{11} представляет собой H или необязательно замещенный алкил, или R^{11} и R^1 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенный гетероцикл;

R^{12} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

каждый R^{13} независимо представляет собой H, необязательно замещенный алкил, или R^{13} представляет собой транспортируемую молекулу;

R^{14} представляет собой необязательно замещенный алкил; и при этом по меньшей мере один из R^1 , R^2 , R^{13} , R^{P1} и R^{P2} включает транспортируемую молекулу.

[0011] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, раскрытый здесь, может быть конъюгирован с одной или несколькими (например, с 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30; или от 1 до 30, от 1 до 25, от 1 до 20, от 1 до 15, от 1 до 10, от 1 до 5, от 5 до 30, от 5 до 25, от 5 до 20, от 5 до 15, от 5 до 10, от 10 до 30, от 10 до 25, от 10 до 20, от 10 до 15, от 15 до 30, от 15 до 25, от 15 до 20, от 20 до 30, от 20 до 25 или от 25 до 30) транспортируемыми молекулами (например, любой из описанных здесь или известных в данной области техники).

[0012] В некоторых вариантах осуществления изобретения, более чем один лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, описанный здесь (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или от 1 до 8, от 1 до 7, от 1 до 6, от 1 до 5, от 1 до 4, от 1 до 3, от 1 до 2, от 2 до 8, от 2 до 7, от 2 до 6, от 2 до 5, от 2 до 4, от 2 до 3, от 3 до 8, от 3 до 7, от 3 до 6, от 3 до 5, от 3 до 4, от 4 до 8, от 4 до 7, от 4 до 6 или от 4 до 5 лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$) может быть конъюгирован с одной транспортируемой молекулой (например, с любой из описанных здесь или известных в данной области техники).

[0013] В другом аспекте настоящее изобретение относится к композициям, которые содержат один или несколько лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, описанных здесь. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения, композиции, содержащие один или несколько лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, описанных здесь, содержат одно или несколько соединений на основе олигонуклеотида, например, одно или несколько средств РНКи, которые должны доставляться в клетку в условиях *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления изобретения, композиции, описанные здесь, представляют собой композиции для доставки средства РНКи к клетке в условиях *in vivo*, где средство РНКи связано с одним или несколькими лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$.

[0014] Описаны композиции, которые содержат один или несколько лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, композиция, которая содержит один или несколько лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, также содержит одно или несколько других фармацевтических веществ или фармацевтически активных ингредиентов или соединений. В некоторых вариантах осуществления изобретения, которые описаны здесь, лекарственные средства содержат один или несколько лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$.

[0015] Композиции, которые содержат один или несколько лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, раскрытых здесь, конъюгированных с одной или несколькими транспортируемыми молекулами, могут облегчить доставку транспортируемой молекулы в условиях *in vivo* или *in vitro* к клеткам, которые экспрессируют интегрин $\alpha\upsilon\beta6$. Например, композиции, которые содержат один или несколько лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, описанных здесь, могут

доставлять транспортируемые молекулы, такие как соединения на основе олигонуклеотидов, в условиях *in vivo* или *in vitro*, в альвеолярные эпителиальные клетки I и II типа, бокаловидные клетки, секреторные эпителиальные клетки, реснитчатые эпителиальные клетки, эпителиальные клетки роговицы и конъюнктивы, эпителиальные клетки кожи, холангиоциты, энтероциты, эпителиальные клетки протоков, железистые эпителиальные клетки и эпителиальные опухоли (карциномы).

[0016] В другом аспекте настоящее изобретение относится к способам, включающим применение одного или нескольких лигандов интегринов $\alpha v \beta 6$ и/или композиций, как описано здесь, и, при необходимости, доставку раскрытых лигандов интегринов $\alpha v \beta 6$ и/или композиций в форме, подходящей для введения в качестве фармацевтического продукта. В других вариантах осуществления, изобретение относится к способам получения лигандов и композиций, например лекарственных средств, описанных здесь.

[0017] Композиции, которые содержат один или несколько лигандов интегрин $\alpha v \beta 6$, можно вводить субъектам в условиях *in vivo* с использованием способов введения, известных в данной области, которые пригодными для такого введения с точки зрения предназначенной для введения транспортируемой молекулы, включая, например, ингаляционное (для аэрозольных композиций или композиций в виде сухого порошка), интраназальное, подкожное, внутривенное, внутрибрюшинное, интрадермальное, трансдермальное, пероральное, сублингвальное, местное или внутриопухолевое введение. В некоторых вариантах осуществления изобретения, композиции, которые содержат один или несколько лигандов интегрин $\alpha v \beta 6$, можно вводить методами для системной доставки, например, путем внутривенного или подкожного введения. В некоторых вариантах осуществления изобретения, композиции, которые содержат один или несколько лигандов интегрин $\alpha v \beta 6$, можно вводить методами для локализованной доставки, например, путем ингаляционной доставки с помощью ингалятора для сухого порошка или небулайзера. В некоторых вариантах осуществления изобретения, композиции, которые содержат один или несколько лигандов интегрин $\alpha v \beta 6$, можно вводить методами для локализованной доставки путем местного введения.

[0018] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки одной или нескольких желательных транспортируемых молекул в альвеолярную эпителиальную клетку типа I в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha v \beta 6$, конъюгированных с одной или несколькими транспортируемыми молекулами.

[0019] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки одной или нескольких желательных транспортируемых молекул в альвеолярную эпителиальную клетку типа II в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha v \beta 6$, конъюгированных с одной или несколькими транспортируемыми молекулами.

[0020] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь,

представлены способы доставки одной или нескольких желательных транспортируемых молекул в эпителиальную клетку протоков в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\beta_6$, конъюгированных с одной или несколькими транспортируемыми молекулами.

[0029] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки одной или нескольких желательных транспортируемых молекул в железистую эпителиальную клетку в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\beta_6$, конъюгированных с одной или несколькими транспортируемыми молекулами.

[0030] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки одной или нескольких желательных транспортируемых молекул в эпителиальную опухоль (карциному) в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\beta_6$, конъюгированных с одной или несколькими транспортируемыми молекулами.

[0031] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в альвеолярную эпителиальную клетку типа I в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\beta_6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в альвеолярную эпителиальную клетку типа I в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\beta_6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в альвеолярной эпителиальной клетке типа I в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\beta_6$.

[0032] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в альвеолярную эпителиальную клетку типа II в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\beta_6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в альвеолярную эпителиальную клетку типа II в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\beta_6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в альвеолярной эпителиальной клетке типа II в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\beta_6$.

[0033] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в бокаловидную клетку в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в бокаловидную клетку в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в бокаловидной клетке в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$.

[0034] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в секреторную эпителиальную клетку в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту соединения на основе олигонуклеотида одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в секреторную эпителиальную клетку в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в секреторной эпителиальной клетке в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$.

[0035] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в реснитчатую эпителиальную клетку в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в реснитчатую эпителиальную клетку в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в реснитчатой эпителиальной клетке в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$.

[0036] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в эпителиальную клетку роговицы оболочки в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в эпителиальную клетку роговицы в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в эпителиальной клетке роговицы в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$.

[0037] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в эпителиальную клетку конъюнктивы в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в эпителиальную клетку конъюнктивы в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в эпителиальной клетке конъюнктивы в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$.

[0038] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в эпителиальную клетку кожи в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в эпителиальную клетку кожи в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в эпителиальной клетке кожи в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$.

[0039] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь,

представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в холангиоцит в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в холангиоцит в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в холангиоцитах в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$.

[0040] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в энтероцит в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в энтероцит в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в энтероцитах в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$.

[0041] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в эпителиальную клетку протоков в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в эпителиальную клетку протока в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в эпителиальной клетке протока в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$.

[0042] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в железистую эпителиальную клетку в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, конъюгированных с одним или

несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в железистую эпителиальную клетку в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в железистой эпителиальной клетке в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\beta6$.

[0043] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки соединения на основе олигонуклеотида в эпителиальную опухоль (карциному) в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими соединениями на основе олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы доставки средства РНКи в эпителиальную опухоль (карциному) в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту одного или нескольких лигандов интегрина $\alpha\beta6$, конъюгированных с одним или несколькими средствами РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытых здесь, представлены способы ингибирования экспрессии гена-мишени в эпителиальной опухоли (карциноме) в условиях *in vivo*, где способы включают введение субъекту средства РНКи, конъюгированного с одним или несколькими лигандами, обладающими аффинностью к интегрину $\alpha\beta6$.

[0044] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном описании, имеют значения, которые обычно понимаются специалистом в области техники, к которой относится данное изобретение. Хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны здесь, могут быть использованы в практике или при тестировании настоящего изобретения, подходящие способы и материалы описаны ниже. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, упомянутые здесь, включены в настоящую заявку посредством ссылки. В случае конфликта, настоящее описание, включая определения, будет главенствовать. Кроме того, материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены для каких-либо ограничений.

[0045] Другие назначения, признаки, аспекты и преимущества изобретения будут очевидны из следующего подробного описания и формулы изобретения.

Подробное описание изобретения

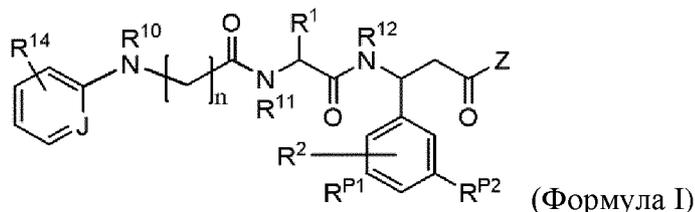
Лиганды интегрина $\alpha\beta6$

[0046] Здесь описаны синтетические лиганды интегрина $\alpha\beta6$, стабильные в сыворотке, и которые обладают аффинностью к интегрину $\alpha\beta6$. Лиганды интегрина $\alpha\beta6$ можно использовать для нацеливания на клетки-мишени, которые экспрессируют интегрин $\alpha\beta6$ в условиях *in vitro*, *in situ*, *ex vivo* и/или в условиях *in vivo*. В некоторых

вариантах осуществления изобретения, описанные здесь лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ могут быть конъюгированы с одной или несколькими транспортируемыми молекулами, чтобы предпочтительно направлять и нацеливать транспортируемые молекулы на клетки, которые экспрессируют интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ в условиях *in vitro*, *in situ*, *ex vivo* и/или в условиях *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления изобретения, транспортируемые молекулы включают или состоят из фармацевтически активных соединений. В некоторых вариантах осуществления транспортируемые молекулы включают или состоят из соединений на основе олигонуклеотида, таких как агенты РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгированы с транспортируемыми молекулами для нацеливания и направления их в эпителиальные клетки-мишени в условиях *in vivo*.

[0047] В первом аспекте настоящее изобретение относится к синтетическим лигандам интегрин $\alpha\upsilon\beta6$.

[0048] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, раскрытый здесь, включает соединение, имеющее структуру следующей формулы:



или его фармацевтически приемлемую соль,

где

n представляет собой целое число от 0 до 7;

J представляет собой С-Н или N;

Z представляет собой OR^{13} , $N(R^{13})_2$ или SR^{13} ;

R^1 представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, ОН, $COOH$, $CON(R^5)_2$, OR^6 , или R^1 включает транспортируемую молекулу, где каждый R^5 независимо представляет собой Н или C_1 - C_6 алкил, и R^6 представляет собой Н или C_1 - C_6 алкил,

каждый R^2 , R^{P1} и R^2 независимо представляет собой Н, галоген, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен или необязательно замещенный гетероарилен, или R^2 , R^{P1} и R^2 могут включать транспортируемую молекулу;

R^{10} представляет собой Н или необязательно замещенный алкил;

R^{11} представляет собой Н или необязательно замещенный алкил, или R^{11} и R^1 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенный гетероцикл;

R^{12} представляет собой Н или необязательно замещенный алкил;

каждый R^{13} независимо представляет собой Н, необязательно замещенный алкил, или R^{13} представляет собой транспортируемую молекулу;

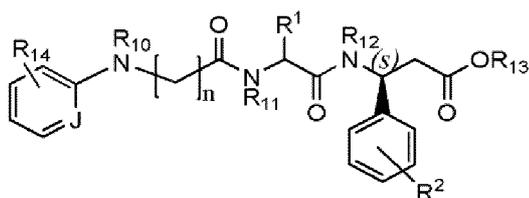
R^{14} представляет собой необязательно замещенный алкил; и

при этом по меньшей мере один из R^1 , R^2 , R^{13} , R^{P1} и R^{P2} включает транспортируемую молекулу.

[0049] В некоторых вариантах осуществления изобретения в Формуле I $n=3$. В некоторых вариантах в Формуле I $n=4$.

[0050] В некоторых вариантах осуществления изобретения R^2 в Формуле I представляет собой нафтаден. В некоторых вариантах осуществления изобретения R^2 в Формуле I представляет собой замещенный нафтил, и R^2 также содержит транспортируемую молекулу.

[0051] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, раскрытый здесь, включает соединение, имеющее структуру следующей формулы:



(Формула II)

или его фармацевтически приемлемую соль,

где

n представляет собой целое число от 0 до 7 (т.е. n равно 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7);

J представляет собой C-H или N;

R^1 представляет собой H, C_1 - C_6 алкил, $CH(R^3)(R^4)$, OH, COOH, $CH_2CH_2CH_2NH_2$, $CONHR^5$, OR^6 , где R^3 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил, R^4 представляет собой H, C_1 - C_6 алкил, R^5 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил, и R^6 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил;

R^2 представляет собой необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен или необязательно замещенный гетероарилен;

R^{10} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

R^{11} представляет собой H или необязательно замещенный алкил или R^{11} и R^1 , вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенный гетероцикл;

R^{12} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

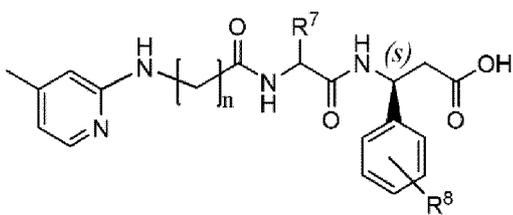
R^{13} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

R^{14} представляет собой необязательно замещенный алкил;

где по меньшей мере один из R^1 или R^2 включает транспортируемую молекулу.

[0052] В некоторых вариантах осуществления изобретения в Формуле II $n=3$. В некоторых вариантах в Формуле II $n=4$.

[0053] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, раскрытый здесь, включает соединение, имеющее структуру следующей формулы:



(Формула III)

или его фармацевтически приемлемую соль,

где

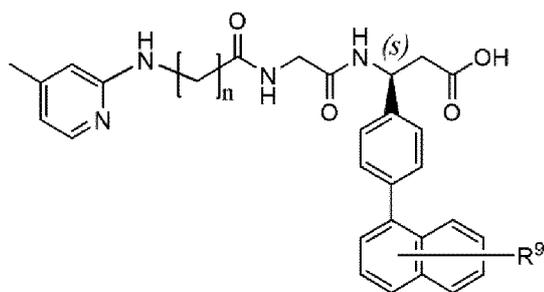
n представляет собой целое число от 1 до 7 (т.е. n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7);

R^7 включает одну или несколько транспортируемых молекул, и

R^8 представляет собой одну или несколько необязательно замещенных двухвалентных циклических групп, содержащих 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 атомов углерода, таких как циклоалкил (например, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил или циклогептил), циклоалкенил (например, циклопентенил, циклобутенил, циклопентенил, циклогексенил или циклогептенил), арил (например, фенил), гетероарил (например, пиридил, пиримидинил, пиридазинил, пиррол, пиразол, имидазол, тиофен, бензотиофен, тиазол, бензотиазол, фуран, оксазол, изоксазол, бензофуран, индол, индазол, бензимидазол, оксадиазол, 1,2,3-триазол, 1,2,4-триазол, тетразол, хинолинил, изохинолинил или хиноксалинил), или гетероциклил (например, тетрагидрофуран, тетрагидропиран, пиперидин, пирролидин, диоксан или диоксолан).

[0054] В некоторых вариантах осуществления изобретения в Формуле III $n=3$. В некоторых вариантах в Формуле III $n=4$.

[0055] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta_6$, раскрытый здесь, включает соединение, имеющее структуру следующей формулы:



(Формула IV)

или его фармацевтически приемлемую соль,

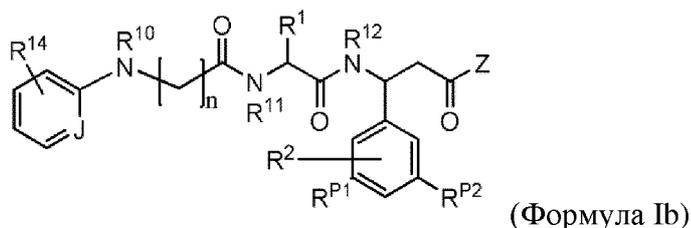
где

n представляет собой целое число от 1 до 7 (т.е. n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7); и

R^9 включает одну или несколько транспортируемых молекул.

[0056] В некоторых вариантах осуществления изобретения в Формуле IV $n=3$. В некоторых вариантах в Формуле IV $n=4$.

[0057] В некоторых вариантах изобретение относится к предшественнику нацеливающего лиганда, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли,

где

n представляет собой целое число от 0 до 7;

J представляет собой C-H или N;

Z представляет собой OR^{13} , $N(R^{13})_2$ или SR^{13} ;

R^1 представляет собой H, необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, OH, COOH, $CON(R^5)_2$, OR^6 , или R^1 включает линкерную группу, сопряженную с реакционноспособной группой, где каждый R^5 независимо представляет собой H или C_1 - C_6 алкил, и R^6 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил;

каждый R^2 , R^{P1} и R^{P2} независимо представляет собой H, галоген, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен или необязательно замещенный гетероарилен, или R^2 , R^{P1} и R^{P2} могут включать линкерную группу, сопряженную с реакционноспособной группой;

R^{10} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

R^{11} представляет собой H или необязательно замещенный алкил, или R^{11} и R^1 , вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенный гетероцикл;

R^{12} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

каждый R^{13} независимо представляет собой H, необязательно замещенный алкил, или R^{13} включает линкерную группу, сопряженную с реакционноспособной группой;

R^{14} представляет собой необязательно замещенный алкил; и

где по меньшей мере один из R^1 , R^2 , R^{13} , R^{P1} и R^{P2} включает линкерную группу, сопряженную с реакционноспособной группой.

[0058] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$, раскрытый здесь, может быть конъюгирован с одним или несколькими (например, с 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30; или от 1 до 30, от 1 до 25, от 1 до 20, от 1 до 15, от 1 до 10, от 1 до 5, от 5 до 30, от 5 до 25, от 5 до 20, от 5 до 15, от 5 до 10, от 10 до 30, от 10 до 25, от 10 до 20, от 10 до 15, от 15 до 30, от 15 до 25, от 15 до 20, от 20 до 30, от 20 до 25 или 25 до 30) транспортируемыми молекулами (например, с любой из описанных здесь или известных в данной области техники).

[0059] В некоторых вариантах осуществления изобретения, более чем один лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$, описанный здесь (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, или 1 до 8, от 1 до 7, от 1 до 6, от 1 до 5, от 1 до 4, от 1 до 3, от 1 до 2, от 2 до 8, от 2 до 7, от 2 до 6, от 2 до 5, от 2 до 4,

от 2 до 3, от 3 до 8, от 3 до 7, от 3 до 6, от 3 до 5, от 3 до 4, от 4 до 8, от 4 до 7, от 4 до 6 или 4 до 5 лигандов интегринина $\alpha\beta6$) может быть конъюгирован с одной транспортируемой молекулой (например, с любой из описанных здесь или известных в данной области техники).

[0060] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанных здесь, лиганды интегринина $\alpha\beta6$ необязательно конъюгированы с одной или несколькими транспортируемыми молекулами через линкерную группу, например такую, как группа полиэтиленгликоля (ПЭГ, PEG).

[0061] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанных здесь, лиганды интегринина $\alpha\beta6$ необязательно конъюгированы с одной или несколькими транспортируемыми молекулами через каркас, который включает, по меньшей мере, одну точку присоединения для каждого лиганда и, по меньшей мере, одну точку присоединения для каждой транспортируемой молекулы. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганды интегринина $\alpha\beta6$ содержат, состоят или по существу состоят из одной транспортируемой молекулы. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганды интегринина $\alpha\beta6$ содержат, состоят или по существу состоят более чем из одной транспортируемой молекулы.

[0062] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегринина $\alpha\beta6$ содержит, состоит из или по существу состоит из любой из Структуры 1, Структуры 2, Структуры 5, Структуры 5.1, Структуры 5.2, Структуры 6, Структуры 6.1, Структуры 6.2, Структуры 6.3, Структуры 6, Структуры 7, Структуры 8, Структуры 9, Структуры 10, Структуры 11, Структуры 12, Структуры 13, Структуры 14, Структуры 15, Структуры 16, Структуры 17, Структуры 18, Структуры 19, Структуры 20, Структуры 22, Структуры 23, Структуры 24, Структуры 19, Структуры 20, Структуры 22, Структуры 23, Структуры 24, Структуры 25, Структуры 27, Структуры 29, Структуры 30, Структуры 31, Структуры 32, Структуры 33, Структуры 34, Структуры 35, Структуры 36 или Структуры 37, каждая из которых описана здесь.

[0063] Любой из раскрытых здесь лигандов интегринина $\alpha\beta6$ может быть соединен или связан с транспортируемой молекулой, реакционноспособной группой и/или защищенной реакционноспособной группой. Реакционноспособная группа может быть использована для облегчения конъюгации лиганда интегринина $\alpha\beta6$ с транспортируемой молекулой. Описанные здесь лиганды интегринина $\alpha\beta6$ могут улучшать нацеливание и направление транспортируемых молекул на интегрин $\alpha\beta6$ или в клетку, экспрессирующую интегрин $\alpha\beta6$. Транспортируемая молекула может представлять собой, без ограничения, фармацевтически активный ингредиент или соединение, пролекарство или другое вещество с известным терапевтическим или диагностическим действием. В некоторых вариантах осуществления изобретения транспортируемая молекула может представлять собой, без ограничения, малую молекулу, антитело, фрагмент антитела, иммуноглобулин, моноклональное антитело, метку или маркер, липид, природное или модифицированное соединение на основе олигонуклеотида

(например, антисмысловой олигонуклеотид или средство РНКи), природную или модифицированную нуклеиновую кислоту, пептид, аптамер, полимер, полиамин, белок, токсин, витамин, полиэтиленгликоль, гаптен, дигоксигенин, биотин, радиоактивный атом или молекулу, или флуорофор. В некоторых вариантах осуществления изобретения транспортируемая молекула включает фармацевтически активный ингредиент или пролекарство. В некоторых вариантах осуществления изобретения транспортируемая молекула включает соединение на основе олигонуклеотида в качестве фармацевтически активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления изобретения транспортируемая молекула включает средство РНКи в качестве фармацевтически активного ингредиента.

[0064] Используемый здесь термин "алкил" относится к насыщенной алифатической углеводородной группе с неразветвленной или разветвленной цепью, имеющей от 1 до 10 атомов углерода, если не указано иное. Например, "C₁-C₆ алкил" включает алкильные группы, содержащие 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода с линейной или разветвленной структурой. Неограничивающие примеры алкильных групп включают метил, этил, изопропил, трет-бутил, n-гексил. Используемый здесь термин "аминоалкил" относится к алкильной группе, как определено выше, замещенной в любом положении одной или несколькими аминогруппами, как допускает нормальная валентность. Аминогруппы могут быть незамещенными, монозамещенными или дизамещенными. Неограничивающие примеры аминоалкильных групп включают аминометил, диметиламинометил и 2-аминопроп-1-ил.

[0065] Используемый здесь термин "циклоалкил" означает насыщенную или ненасыщенную неароматическую углеводородную кольцевую группу, содержащую от 3 до 14 атомов углерода, если не указано иное. Неограничивающие примеры циклоалкильных групп включают, без ограничения, циклопропил, метилциклопропил, 2,2-диметилциклобутил, 2-этилциклопентил и циклогексил. Циклоалкилы могут содержать множество спиро- или сочлененных колец. Циклоалкильные группы необязательно являются моно-, ди-, три-, тетра- или пента-замещенными в любом положении, как допускает нормальная валентность.

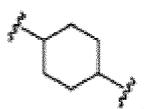
[0066] Используемый здесь термин "циклоалкилен" относится к двухвалентному радикалу циклоалкильной группы, как описано здесь. Циклоалкилен представляет собой подгруппу циклоалкила, относящейся к таким же остаткам, как и циклоалкил, но с двумя

точками замещения. Примеры циклоалкилена включают циклопропилен,

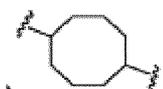


, 1,4-

циклогексилен,



и 1,5-циклоксилен



. Циклоалкиленовые группы

представляют собой необязательно замещенные моно-, ди-, три-, тетра- или пента-

замещенные группы, которые замещены в любом положении, как допускает нормальная валентность. Циклоалкиленовые группы могут быть моно-, ди- или три-циклическими.

[0067] Используемый здесь термин "алкенил" относится к неароматическому углеводородному радикалу, неразветвленному или разветвленному, содержащему по меньшей мере одну двойную связь углерод-углерод и содержащему от 2 до 10 атомов углерода, если не указано иначе. В таких группах может присутствовать до пяти углерод-углеродных двойных связей. Например, "C₂-C₆" алкенил определяется, как алкенильный радикал с 2-6 атомами углерода. Примеры алкенильных групп включают, без ограничения, этенильную, пропенильную, бутенильную и циклогексенильную. Неразветвленная, разветвленная или циклическая часть алкенильной группы может содержать двойные связи, и она необязательно является моно-, ди-, три-, тетра- или пента-замещенной в любом положении, как допускает нормальная валентность. Термин "циклоалкенил" означает моноциклическую углеводородную группу, имеющую определенное количество атомов углерода и по меньшей мере одну двойную связь углерод-углерод.

[0068] Используемый здесь термин "алкинил" относится к углеводородному радикалу, неразветвленному или разветвленному, содержащему от 2 до 10 атомов углерода, если не указано иное, и содержащему по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь. Могут присутствовать до 5 углерод-углеродных тройных связей. Таким образом, "C₂-C₆ алкинил" означает алкинильный радикал, содержащий от 2 до 6 атомов углерода. Примеры алкинильных групп включают, но без ограничения, этинил, 2-пропинил и 2-бутинил. Неразветвленная или разветвленная часть алкинильной группы может быть необязательно моно-, ди-, три-, тетра- или пента-замещенной в любом положении, как допускает нормальная валентность.

[0069] Используемый здесь термин "алкоксил" или "алкокси" относится к -О-алкильному радикалу, содержащему указанное количество атомов углерода. Например, подразумевается, что C₁₋₆ алкокси включает C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ или C₆ алкокси группы. Например, подразумевается, что C₁₋₈ алкокси включает C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇ и C₈ алкокси группы. Примеры алкокси включают, без ограничения, метокси, этокси, n-пропокси, i-пропокси, n-бутокси, втор-бутокси, трет-бутокси, n-пентокси, втор-пентокси, n-гептокси и n-октокси.

[0070] Используемый здесь термин "кето" относится к любой алкильной, алкенильной, алкинильной, циклоалкильной, циклоалкенильной, гетероциклической, гетероарильной или арильной группе, как определено здесь, присоединенной через карбонильный мостик. Примеры кето групп включают, без ограничения, алканоильную (например, ацетильную, пропиоильную, бутаноильную, пентаноильную или гексаноильную группы), алкеноильную (например, акрилоильную группу) алкиноильную (например, этиноильную, пропиоильную, бутиноильную, пентиноильную или гексиноильную группы), арилоильную (например, бензоильную группу), гетероарилоильную (например, пирролоильную, имидазоильную, квинолиноильную

или пиридиноильную группы) группы.

[0071] Используемый здесь термин "алкоксикарбонил" относится к любой алкокси группе, как определено выше, присоединенной через карбонильный мостик (т.е. -C(O)O-алкил). Примеры алкоксикарбонильных групп включают, без ограничения, метоксикарбонильную, этоксикарбонильную, изопропоксикарбонильную, n-пропоксикарбонильную, трет-бутоксикарбонильную, бензилоксикарбонильную или n-пентоксикарбонильную группы.

[0072] Используемый здесь термин "арилоксикарбонил" относится к любой арильной группе, как определено здесь, присоединенной через оксикарбонильный мостик (т.е. -C(O)O-арил). Примеры арилоксикарбонильных групп включают, без ограничения, феноксикарбонил и нафтилоксикарбонил.

[0073] Используемый здесь термин "гетероарилоксикарбонил" относится к любой гетероарильной группе, определенной здесь, присоединенной через оксикарбонильный мостик (т.е. -C(O)O-гетероарил). Примеры гетероарилоксикарбонильных групп включают, без ограничения, 2-пиридилоксикарбонил, 2-оксазолоксикарбонил, 4-тиазолоксикарбонил или пиримидинилоксикарбонил.

[0074] Используемый здесь термин "арил" или "ароматический" означает любое стабильное моноциклическое или полициклическое углеродное кольцо, содержащее до 6 атомов в каждом кольце, где по меньшей мере одно кольцо является ароматическим. Примеры арильных групп включают, без ограничения, фенильную, нафтильную, антраценильную, тетрагидронафтильную, инданильную и бифенильную группы. В случаях, когда арильный заместитель бициклический, а одно кольцо неароматическое, понятно, что присоединение происходит через ароматическое кольцо. Арильные группы необязательно являются моно-, ди-, три-, тетра- или пента-замещенными в любом положении, как допускает нормальная валентность.

[0075] Используемый здесь термин "арилен" относится к двухвалентному радикалу арильной группы, как описано здесь. Арилен представляет собой подгруппу арила, имеющего такие же группы как и арил, но с двумя точками замещения. Примеры арилена включают фенилен, который относится к двухвалентной фенильной группе. Ариленовые группы необязательно являются моно-, ди-, три-, тетра- или пента-замещенными в любом положении, как допускает нормальная валентность.

[0076] Используемый здесь термин "галоген" относится к радикалу галогена. Например, "галоген" может относиться к радикалу фтора (F), хлора (Cl), брома (Br) или йода (I).

[0077] Используемый здесь термин "гетероарил" относится к стабильному моноциклическому или полициклическому кольцу, которое содержит до 7 атомов в каждом кольце, где по меньшей мере одно кольцо является ароматическим, и содержащим от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N и S. Примеры гетероарильных групп включают, без ограничения, акридинилкарбазолил, циннолинил, хиноксалинил, пиразолил, индолил, фуранил, тиенил, бензотиенил, бензофуранил,

бензимидазолил, бензоксазолонил, хинолинил, изохинолинил, дигидроизоиндонил, имидазопиридинил, изоиндолинил, индазолил, оксазолил, оксадиазолил, изоксазолил, индолил, пиразинил, пиридазинил, пиридинил, пиримидинил, пирролил и тетрагидрохинолин. Термин "гетероарил" также относится к N-оксидному производному любого азотсодержащего гетероарила. В тех случаях, когда гетероарильный заместитель является бициклическим, и одно кольцо является неароматическим или не содержащим гетероатомов, понятно, что присоединение осуществляется через ароматическое кольцо или через кольцо, содержащее гетероатом. Гетероарильные группы необязательно являются моно-, ди-, три-, тетра- или пента-замещенными в любом положении, как допускает нормальная валентность.

[0078] Используемый здесь термин "гетероарилен" относится к двухвалентному радикалу гетероарильной группы, как описано здесь. Гетероарилен представляет собой подгруппу гетероарила, имеющего такие же группы как и гетероарил, но с двумя точками замещения. Примеры гетероарила включают пиридинил, пиримидинил и пирролил. Гетероариленовые группы необязательно являются моно-, ди-, три-, тетра- или пента-замещенными в любом положении, как допускает нормальная валентность.

[0079] Термин "гетероцикл", "гетероциклический" или "гетероциклил" означает 3-14-членный ароматический или неароматический гетероцикл, содержащий от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N и S, включая полициклические группы. Используемый здесь термин "гетероциклический" также считается синонимом терминов "гетероцикл" и "гетероциклил", и понимается как также имеющий такие же определения, которые указаны здесь. "Гетероциклил" включает указанные выше гетероарилы, а также их дигидро- и тетрагидро- аналоги. Примеры гетероциклильных групп включают, без ограничения, азетидинил, бензоимидазолил, бензофуранил, бензофуразанил, бензопиразолил, бензотриазолил, бензотиофенил, бензоксазолил, карбазолил, карболинил, циннолинил, фуранил, имидазолил, индолинил, индолил, индолинил, индазолил, изохинолил, изотиазолил, изоксазолил, нафтипиридинил, оксадиазолил, оксооксазолидинил, оксазолил, оксазолин, оксопиперазинил, оксопирролидинил, оксоморфолинил, изоксазолин, оксетанил, пиранил, пиразинил, пиразолил, пиридазинил, пиридилпиридинил, пиридазинил, пиридил, пиридинил, пиримидил, пиримидинил, пирролил, хиназолинил, хинолил, хиноксалинил, тетрагидропиранил, тетрагидрофуранил, тетрагидротиопиранил, тетрагидроизохинолинил, тетразолил, тетразопиридилтиадиазолил, тиазолил, тиенил, триазолил, 1,4-диоксанил, гексагидроазепинил, пиперазинил, пиперидинил, пиридин-2-ил, пирролидинил, морфолинил, тиоморфолинил, дигидробензоимидазолил, дигидробензофуранил, дигидробензотиофенил, дигидробензоксазолил, дигидрофуранил, дигидроимидазолил, дигидроиндолил, дигидроизооксазолил, дигидроизотиазолил, дигидрооксадиазолил, дигидрооксазолил, дигидропиразинил, дигидропиразолил, дигидропиридинил, дигидропиримидинил, дигидропирролил, дигидрохинолинил, дигидротетра/олеил, дигидротиадиазолил, дигидротиазолил,

дигидротиенил, дигидротриазолил, дигидроазетидинил, диоксидтиоморфолинил, метилendiоксибензоил, тетрагидрофуранил и тетрагидротиенил, а также их N-оксиды. Присоединение гетероциклического заместителя может происходить через атом углерода или через гетероатом. Гетероциклические группы необязательно являются моно-, ди-, три-, тетра- или пента-замещенными в любом положении, как допускает нормальная валентность.

[0080] Используемый здесь термин "гетероциклоалкил" означает 3-14-членный неароматический гетероцикл, содержащий от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N и S, включая полициклические группы. Примеры гетероциклических групп включают, без ограничения, азетидинил, оксопиперазинил, оксопирролидинил, оксоморфолинил, оксетанил, пиранил, пиридинил, пиримидинил, тетрагидропиранил, тетрагидрофуранил, тетрагидротиопиранил, тетрагидроизохинолинил, 1,4-диоксанил, тетрагидроазепинил, пиперазинил, пиперидинил, пирролидинил, морфолинил, тиоморфолинил, дигидрофуранил, дигидроимидазолил, дигидроизооксазолил, дигидроизотиазолил, дигидрооксадиазолил, дигидрооксазолил, дигидропиразинил, дигидропиразолил, дигидропиридинил, дигидропиримидинил, дигидропирролил, дигидротетразолил, дигидротиадиазолил, дигидротиазолил, дигидротиенил, дигидротриазолил, диоксидтиоморфолинил и тетрагидротиенил, и их N-оксиды. Присоединение гетероциклоалкильного заместителя может происходить через атом углерода или через гетероатом. Гетероциклические группы необязательно являются моно-, ди-, три-, тетра- или пента-замещенными в любом положении, как допускает нормальная валентность.

[0081] Используемый здесь термин "гетероциклоалкилен" относится к двухвалентному радикалу гетероциклоалкильной группы, как описано здесь. Гетероциклоалкилен представляет собой подгруппу гетероциклоалкила, имеющий такие же остатки, как гетероциклоалкил, но имеющий две точки замещения. Примеры гетероциклоалкилена включают пиперидинилен. Азетидинилен. И тетрагидрофураниленовую. Гетероциклоалкиленовые группы необязательно являются моно-, ди-, три-, тетра- или пента-замещенными в любом положении, как допускает нормальная валентность.

[0082] Используемые здесь термины "лечить", "лечение" и т.п. означают способы или этапы, предназначенные для обеспечения ослабления или облегчения количества, тяжести и/или частоты одного или нескольких симптомов заболевания у субъекта. Используемый здесь термин "лечить" и "лечение" может включать предотвращение, лечение, профилактическое лечение и/или ингибирование количества, тяжести и/или частоты одного или нескольких симптомов заболевания у субъекта.

[0083] Как используется здесь, указание "введение в клетку" при ссылке на средство РНКи, означает функциональную доставку средства РНКи в клетку. Указание "функциональная доставка" означает, что доставка средства РНКи в клетку осуществляется таким образом, что позволяет средству РНКи проявлять ожидаемую

биологическую активность, например, последовательность-специфичное ингибирование экспрессии гена.

[0084] Если не указано иное, использование здесь символа  подразумевает, что любая группа или группы могут быть связаны или соединены с указанным фрагментом, который охватывается объемом изобретения, как описано здесь.

[0085] Используемый здесь термин "изомеры" относится к соединениям, которые имеют идентичные молекулярные формулы, но которые различаются по свойствам или по последовательности связывания атомов в них, или по расположению атомов в пространстве. Изомеры, которые различаются по расположению атомов в пространстве, называются "стереоизомерами". "Стереоизомеры", которые не являются зеркальными изображениями друг друга, обозначают как "диастереоизомеры", а стереоизомеры, которые являются несовпадающими при наложении зеркальных отображений, называются "энантиомерами" или, иногда, оптическими изомерами. Атом углерода, соединенный с четырьмя неидентичными заместителями, называется "хиральным центром". Когда соединения, описанные здесь, содержат олефиновые двойные связи или другие центры геометрической асимметрии, для которых изомерная структура не определена специально, подразумевается, что соединения могут включать как E, так и Z геометрические изомеры, как по-отдельности, так и в виде смеси. Подразумевается, что соединения Формулы I или их фармацевтически приемлемые соли включают все возможные изомеры, а также их рацематы и оптически чистые формы. Подобным образом, если не указано иное, все таутомерные формы также включены в объем изобретения.

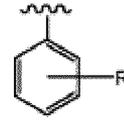
[0086] Как используется здесь, линкерная группа представляет собой один или несколько атомов, которые соединяют одну молекулу или часть молекулы с другой молекулой или второй частью молекулы. В данной области техники термины линкерная группа и спейсеры иногда используются взаимозаменяемо. Подобным образом, как используется в данной области техники, термин "каркас" иногда используется взаимозаменяемо с линкерной группой. В некоторых вариантах осуществления линкерная группа может включать пептид-расщепляемую линкерную группу. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкерная группа может содержать или состоять из пептида фенилаланин-цитруллин-фенилаланин-пролин. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкерная группа может содержать или состоять из группы ПЭГ.

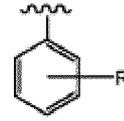
[0087] Используемый здесь термин "связанный" или "соединенный", при ссылке на соединение между двумя молекулами, означает, что две молекулы соединены ковалентной связью или что две молекулы связаны через нековалентные связи (например, водородными связями или ионными связями). В некоторых примерах, где термин "связанный" относится к ассоциации между двумя молекулами посредством нековалентных связей, связь между двумя различными молекулами имеет K_D менее чем

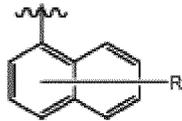
1×10^{-4} M (например, менее чем 1×10^{-5} M, менее чем 1×10^{-6} M или менее чем 1×10^{-7} M) в физиологически приемлемом буфере (например, в фосфатном буферном солевом растворе). Если не указано, термин "связанный" или "соединенный" в рамках настоящего изобретения может относиться к связи между первым соединением и вторым соединением или с любыми промежуточными атомами или группами атомов, либо без них.

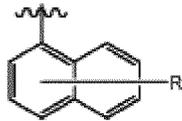
[0088] Обычный специалист в данной области техники понимает и принимает во внимание, что соединения и композиции, описанные здесь, могут включать некоторые атомы (например, атомы N, O или S) в протонированном или депротонированном состоянии, в зависимости от среды, в которой находится соединение или композиция. Соответственно, раскрытые здесь структуры предусматривают, что некоторые функциональные группы, такие как, например, OH, SH или NH, могут быть протонированы или депротонированы. Раскрытие изобретения предназначено для охвата раскрытых соединений и композиций вне зависимости от их состояния протонирования на основе pH среды, что понятно специалисту в данной области.

[0089] Структуры могут быть представлены как имеющие "плавающую" связь для кольцевых структур, указывающие на связь с любым атомом углерода или гетероатомом



кольце, как допускается валентностью. Например, структура  указывает, что R может заменять любой атом водорода в любом из пяти доступных положений кольца. "Плавающие" связи также могут быть использованы для бициклических структур при указании связи с любым положением на любом бициклическом кольце, как допускается валентностью. В случае бициклических колец связь, показанная как "плавающая" для



обоих колец, например, как , указывает на то, что R может заменять любой атом водорода в любом из семи доступных положений кольца.

[0090] При использовании в формуле изобретения указание "состоящий из" исключает любой признак, стадию или ингредиент, не определенный конкретно в формуле изобретения. При использовании в формуле изобретения указания "состоящий по существу из", оно ограничивает объем формулы изобретения указанными материалами или стадиями, и включает таковые, которые не оказывают существенного влияния на основные и новые характеристики заявленного изобретения.

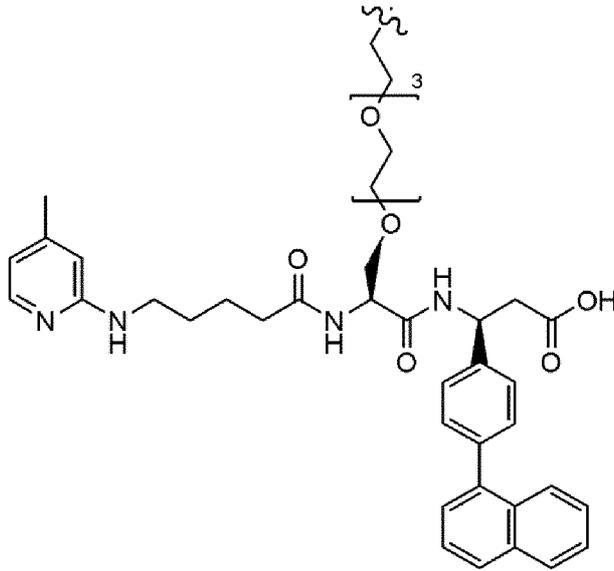
[0091] Здесь описано применение лигандов интегрин $\alpha\beta_6$ для нацеливания и доставки транспортируемых молекул в клетку, которая экспрессирует интегрин $\alpha\beta_6$. Транспортируемая молекула может доставляться в клетку в условиях *in vitro*, *in situ*, *ex vivo* или *in vivo*.

[0092] В некоторых вариантах осуществления изобретения, линкерная группа в

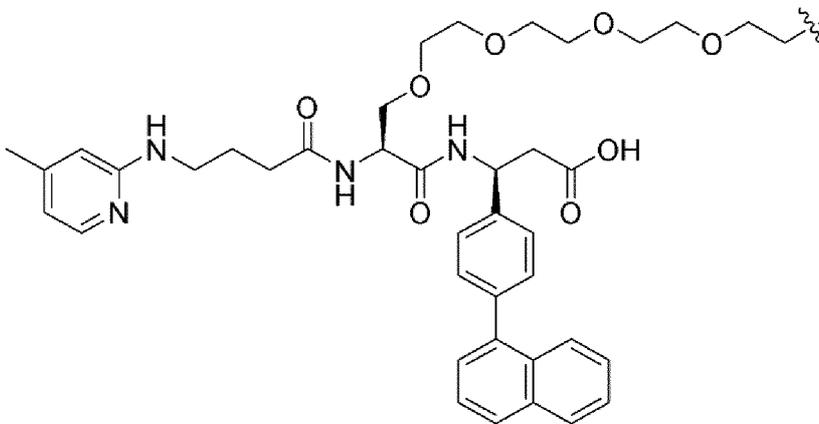
Формуле Ib представляет собой группу ПЭГ, содержащую 2-20 этиленгликолевых звеньев.

[0093] В некоторых вариантах осуществления изобретения, реакционноспособная группа в Формуле Ib представляет собой азид.

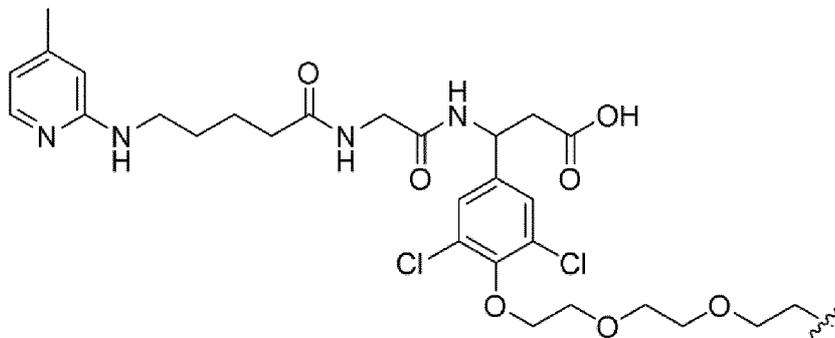
[0094] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha v\beta$ имеет структуру, которая включают, состоит или по существу состоит из любой структуры, представленной следующими формулами:



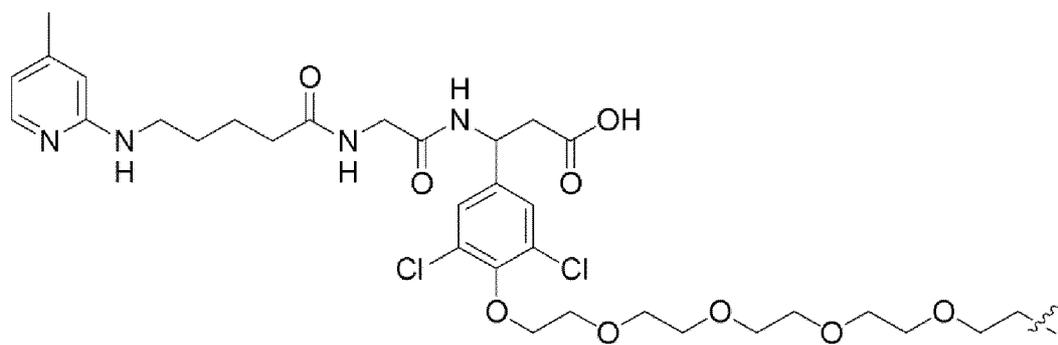
(Структура 1);



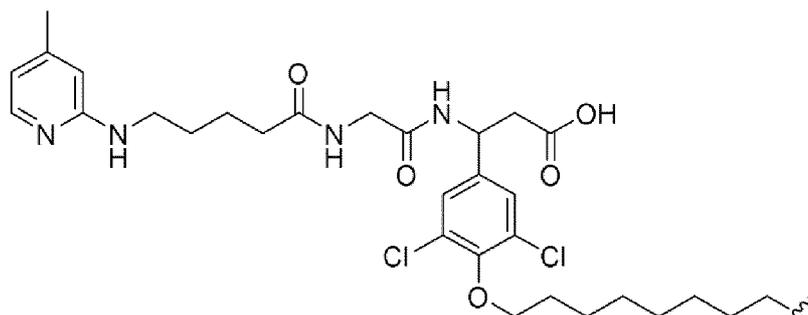
(Структура 2);



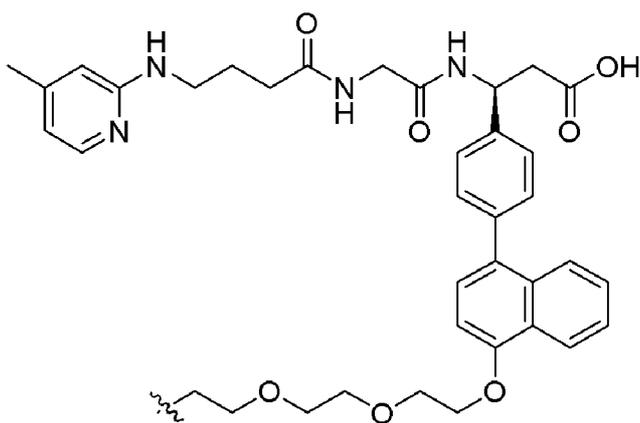
(Структура 5);



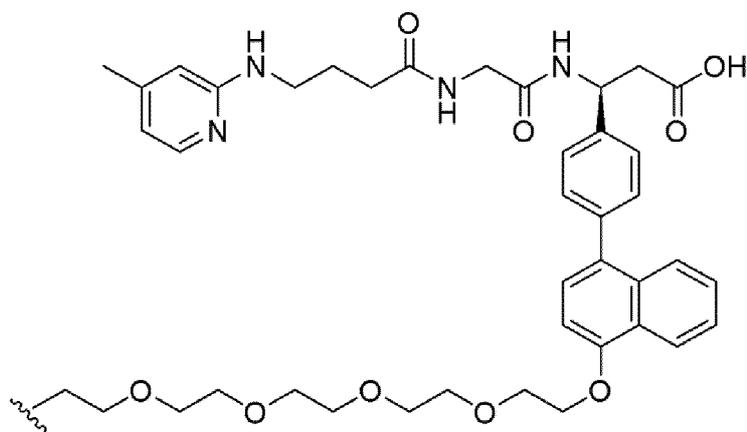
(Структура 5.1);



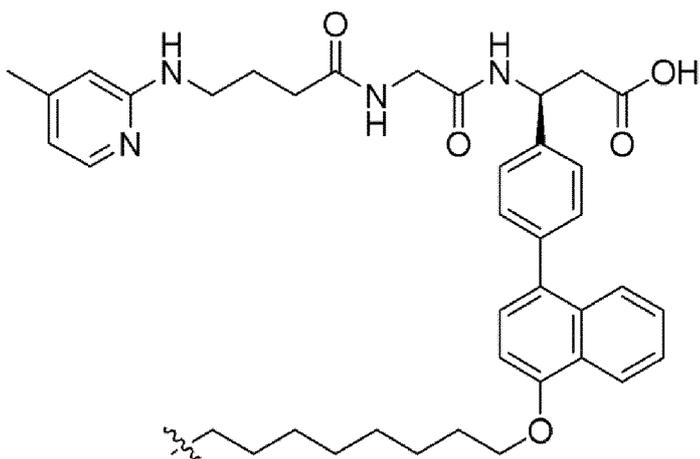
(Структура 5.2);



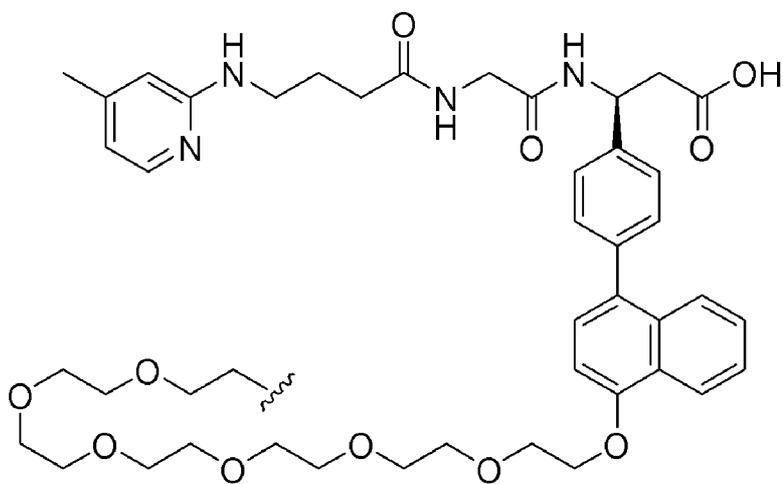
(Структура 6);



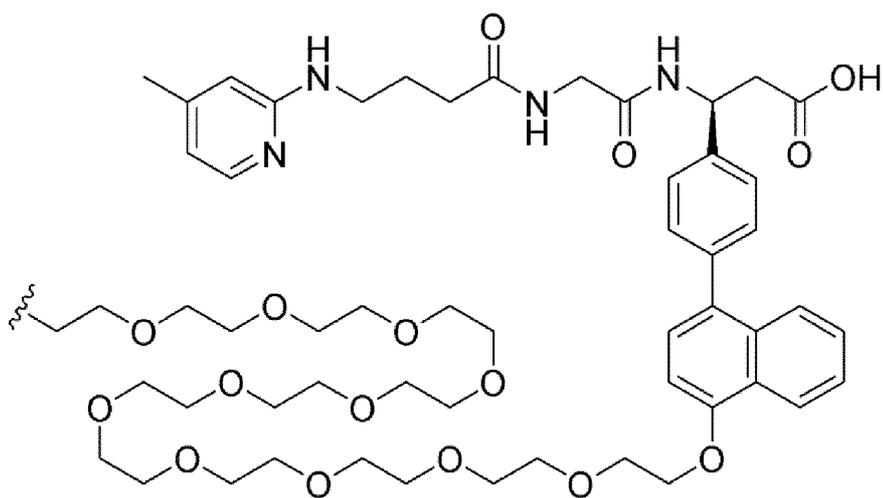
(Структура 6.1);



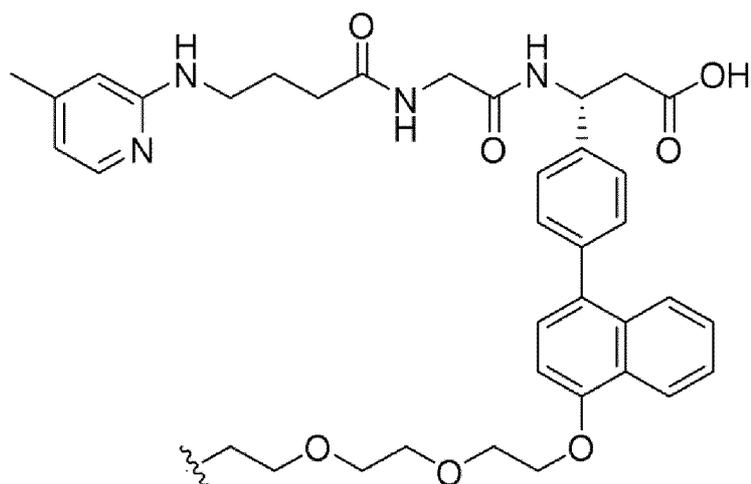
(Структура 6.2);



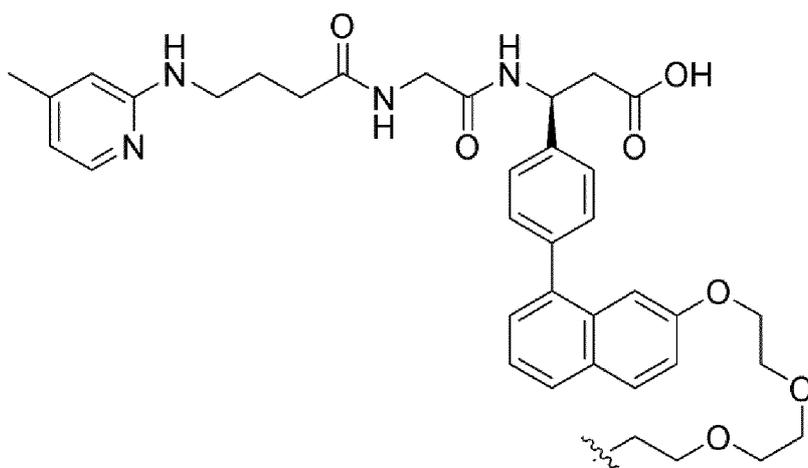
(Структура 6.3);



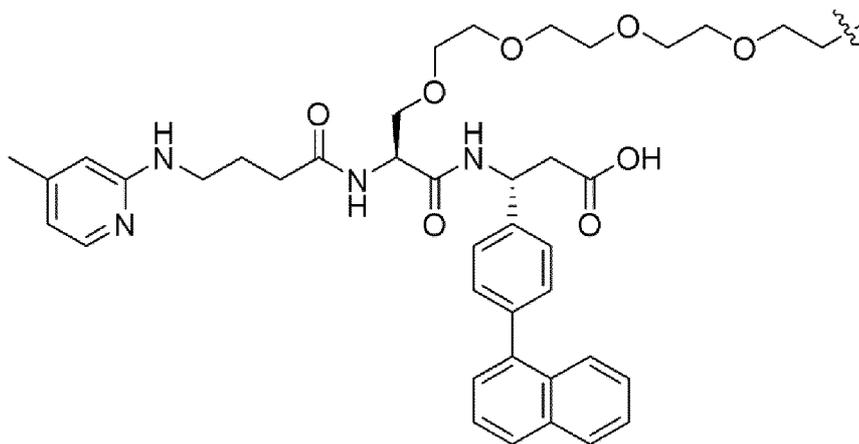
(Структура 6.4);



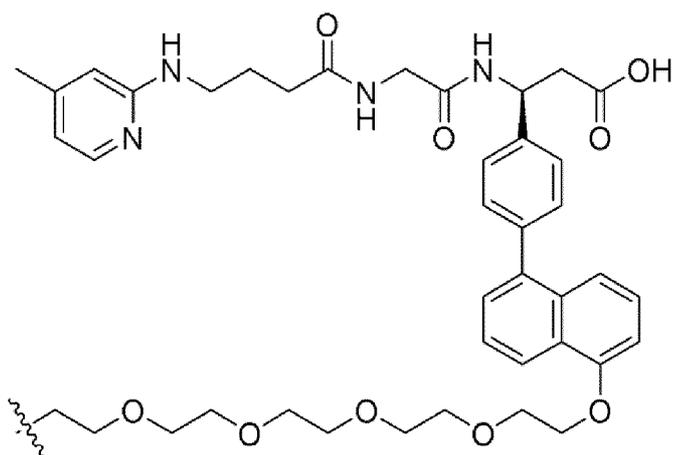
(Структура 7);



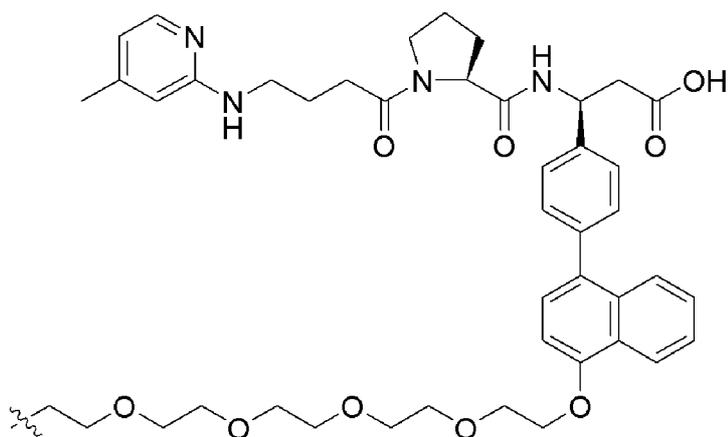
(Структура 8);



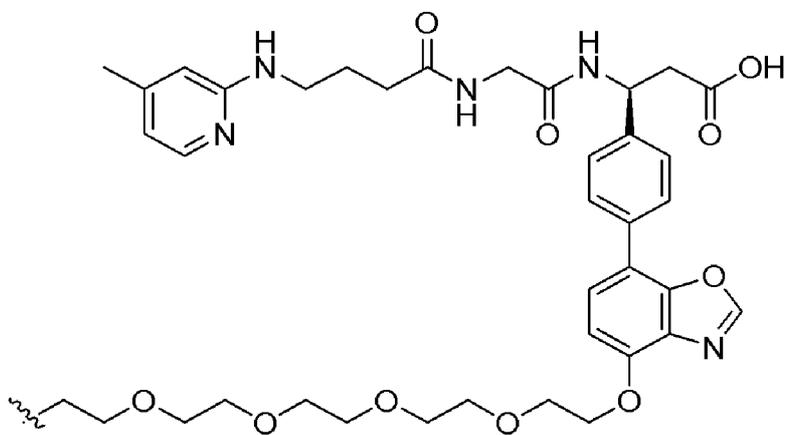
(Структура 9);



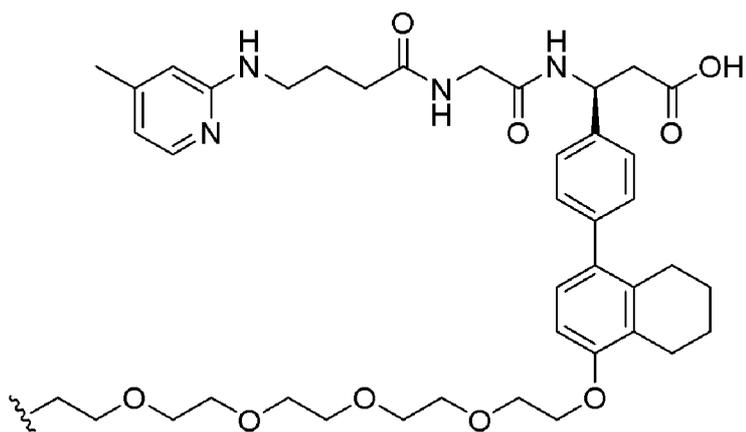
(Структура 10);



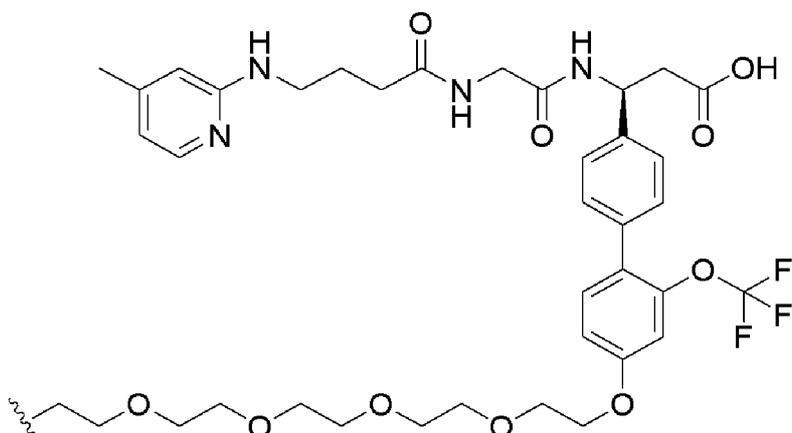
(Структура 11);



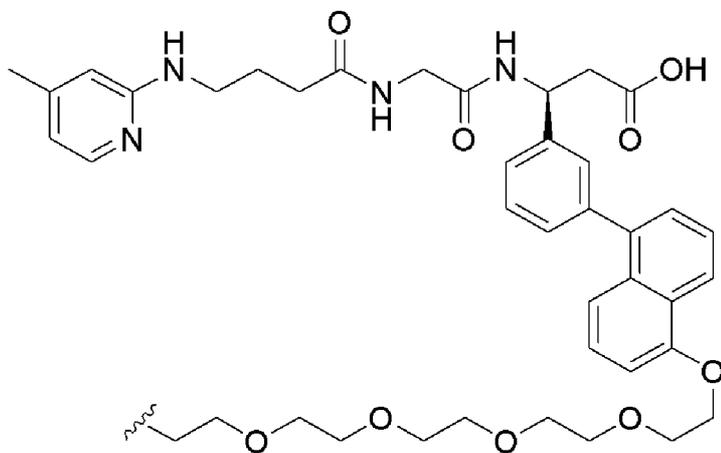
(Структура 12);



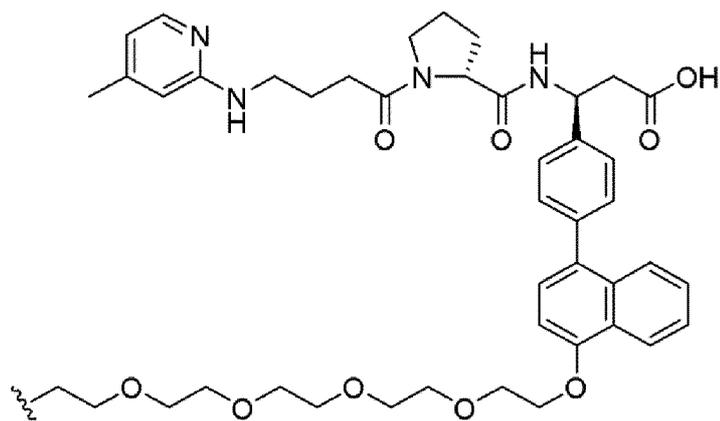
(Структура 13);



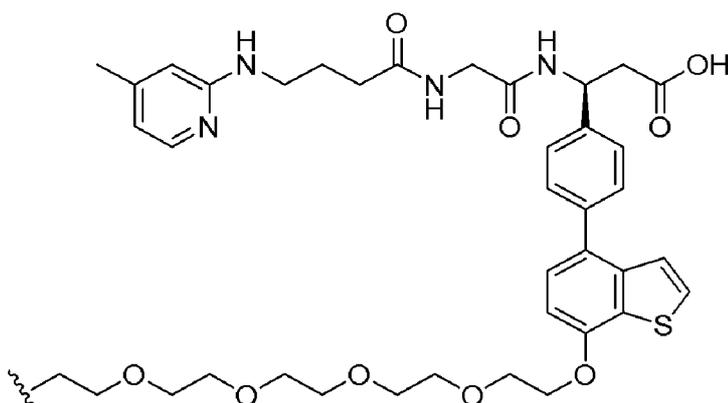
(Структура 14);



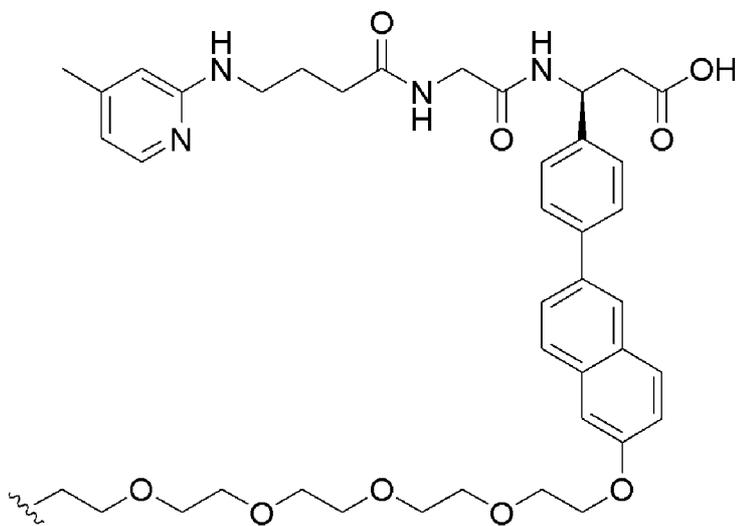
(Структура 15);



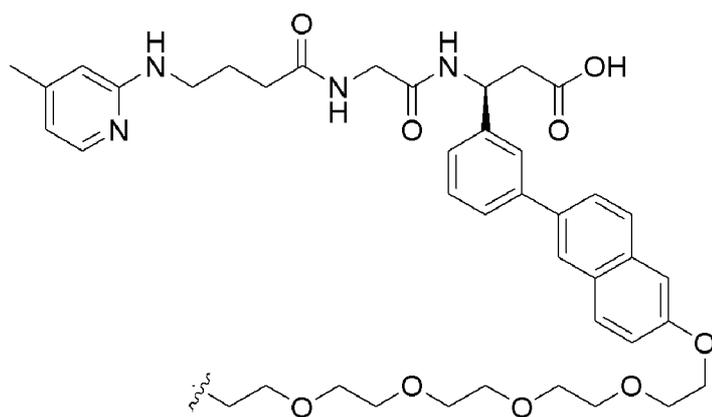
(Структура 16);



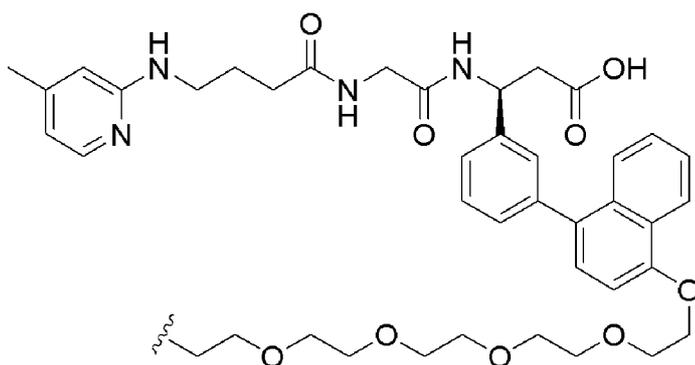
(Структура 17);



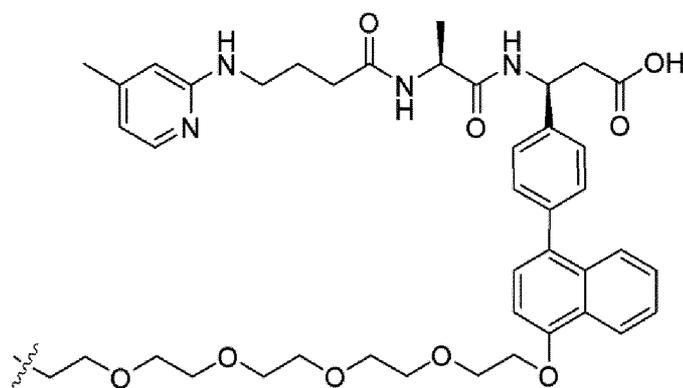
(Структура 18);



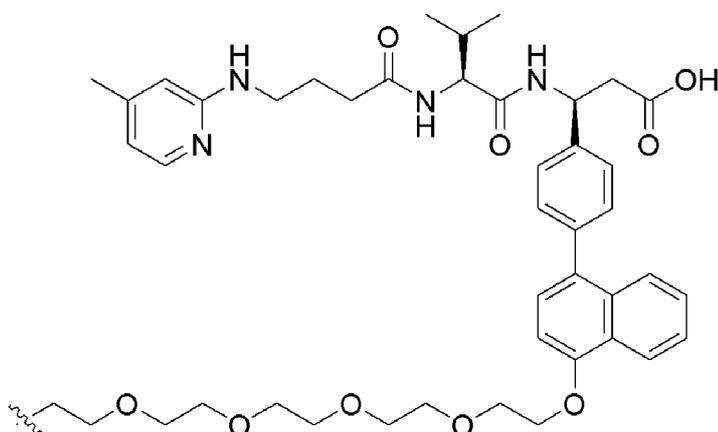
(Структура 19);



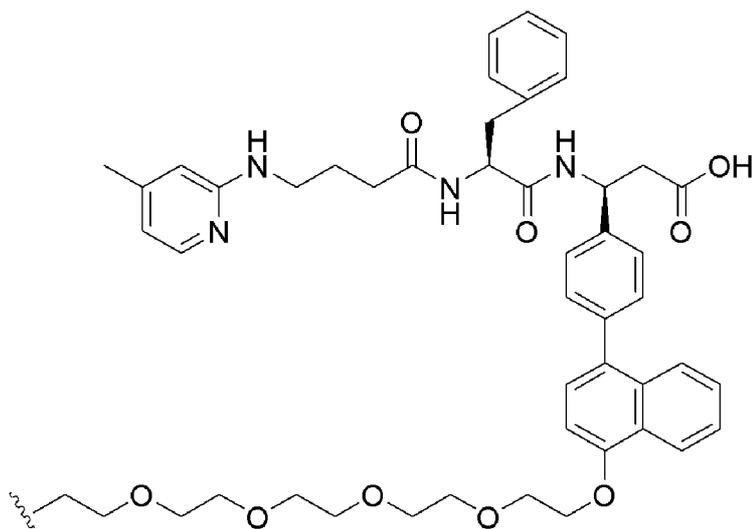
(Структура 20);



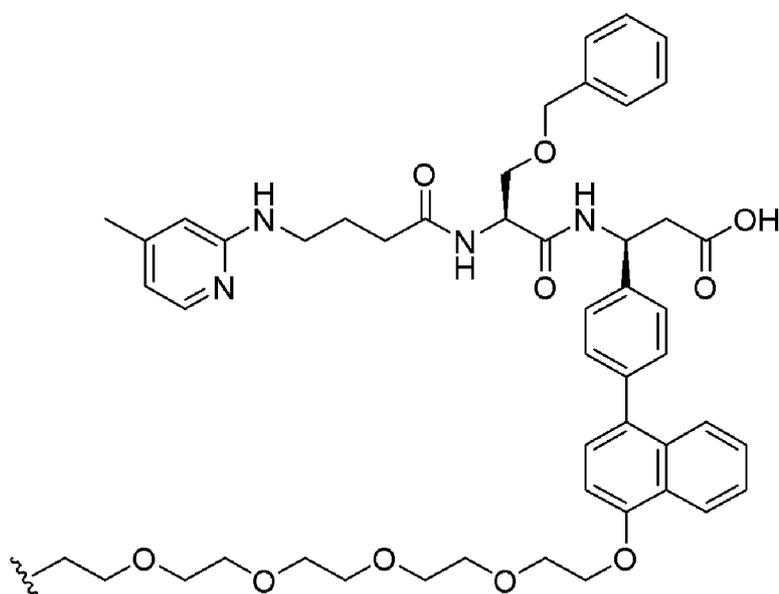
(Структура 22);



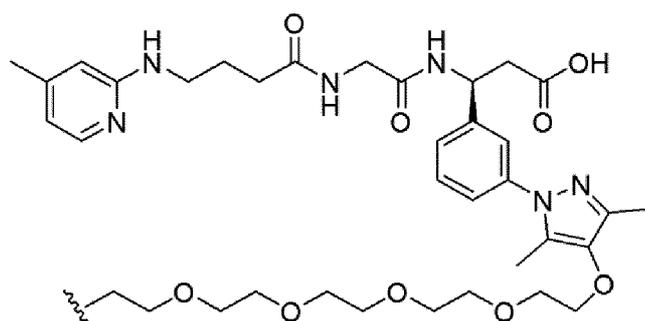
(Структура 23);



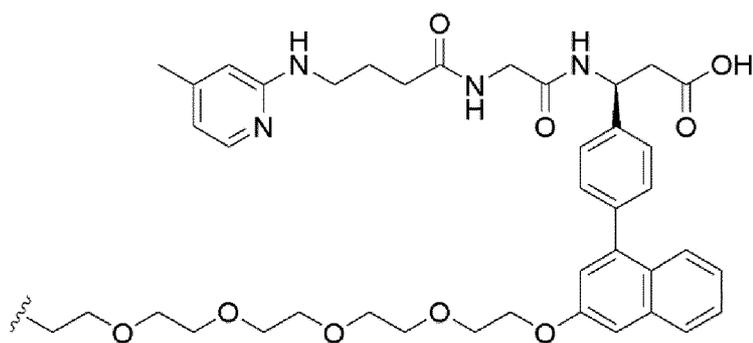
(Структура 24);



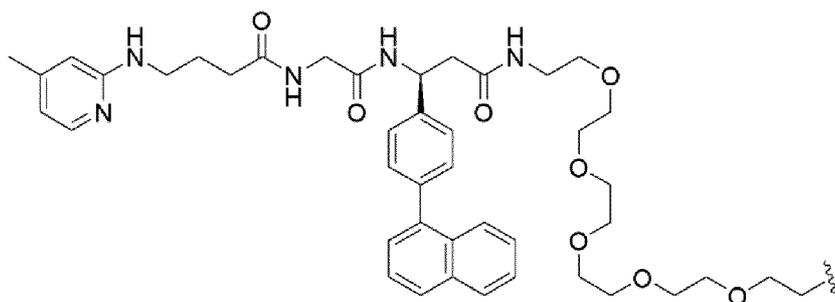
(Структура 25);



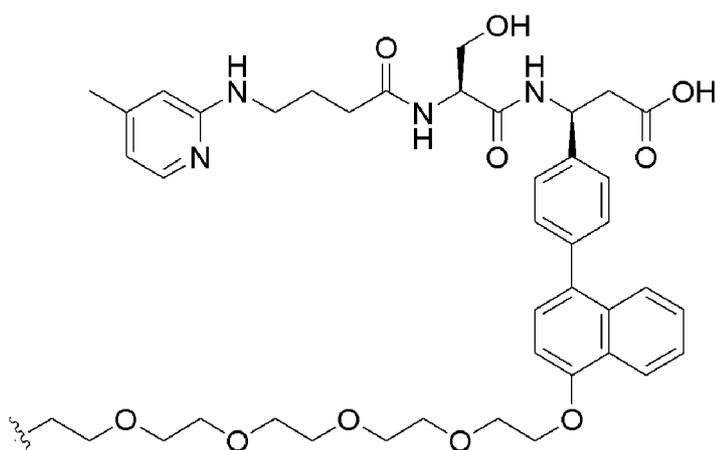
(Структура 27);



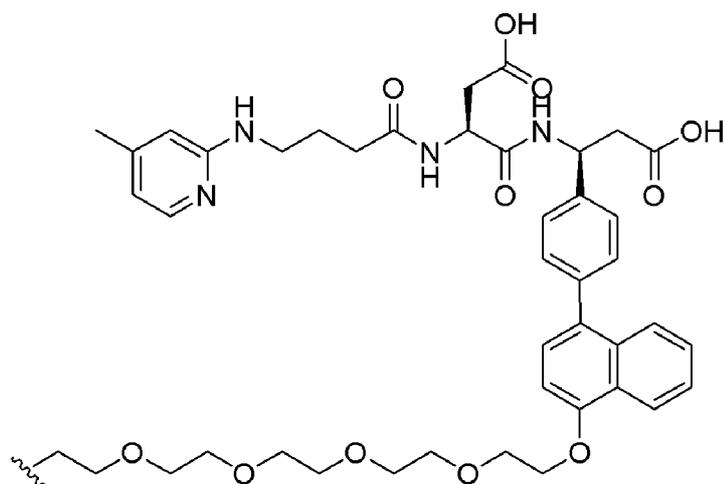
(Структура 29);



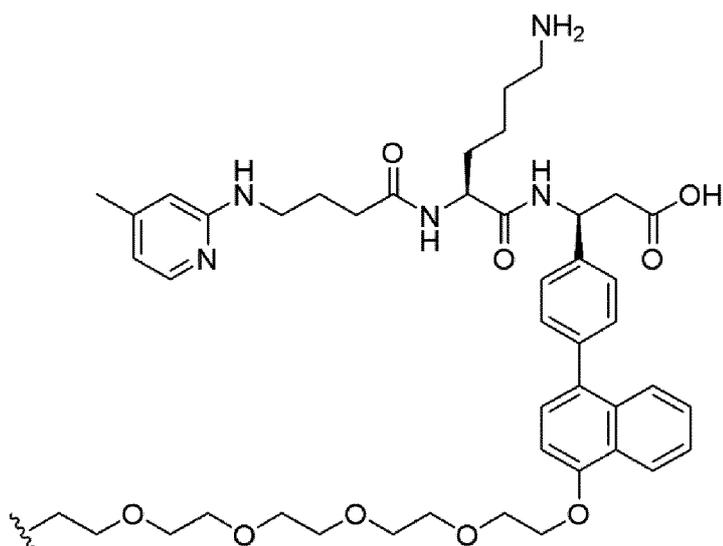
(Структура 30);



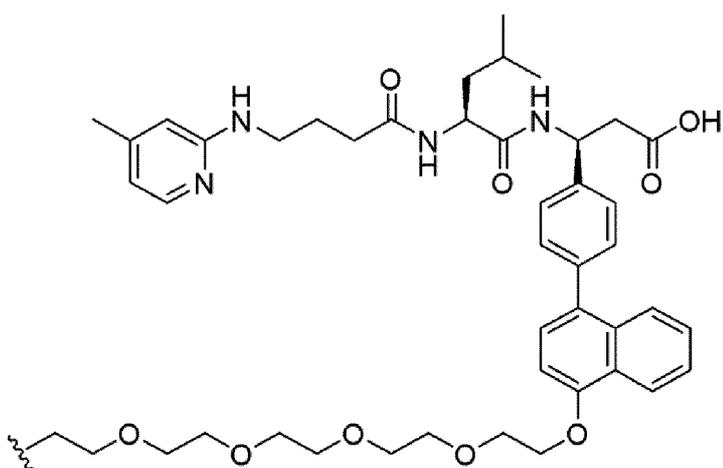
(Структура 31);



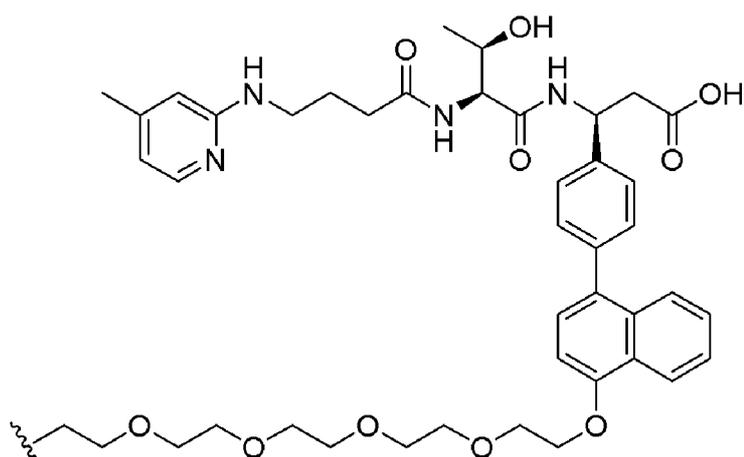
(Структура 32);



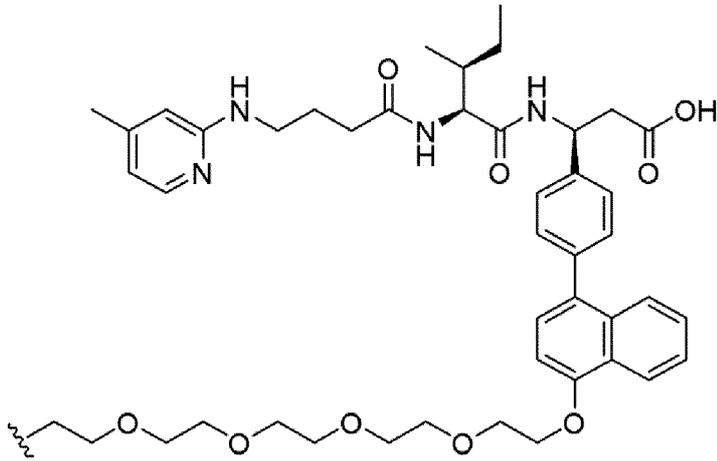
(Структура 33);



(Структура 34);

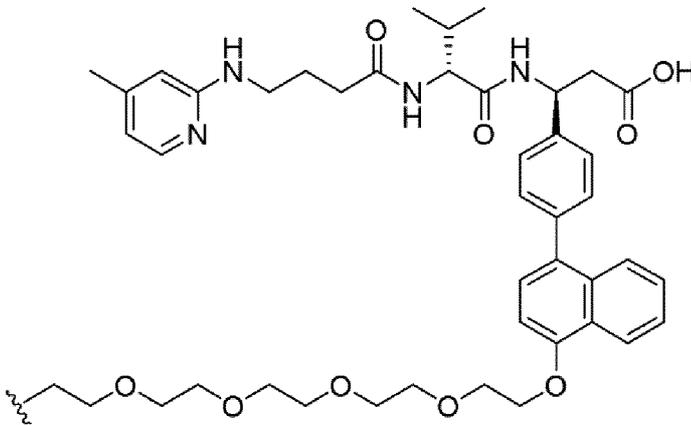


(Структура 35);



(Структура 36);

и



(Структура 37),

или их фармацевтически приемлемыми солями, где  указывает точку присоединения к части, содержащей транспортируемую молекулу.

[0095] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$, раскрытый здесь, может быть конъюгирован с одной или несколькими (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30; или от 1 до 30, от 1 до 25, от 1 до 20, от 1 до 15, от 1 до 10, от 1 до 5, от 5 до 30, от 5 до 25, от 5 до 20, от 5 до 15, от 5 до 10, от 10 до 30, от 10 до 25, от 10 до 20, от 10 до 15, от 15 до 30, от 15 до 25, от 15 до 20, от 20 до 30, от 20 до 25 или от 25 до 30) транспортируемыми молекулами (например, с любой из описанных здесь или известных в данной области техники).

[0096] В некоторых вариантах осуществления изобретения, более чем один лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$, описанный здесь (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или от 1 до 8, от 1 до 7, от 1 до 6, от 1 до 5, от 1 до 4, от 1 до 3, от 1 до 2, от 2 до 8, от 2 до 7, от 2 до 6, от 2 до 5, от 2 до 4, от 2 до 3, от 3 до 8, от 3 до 7, от 3 до 6, от 3 до 5, от 3 до 4, от 4 до 8, от 4 до 7, от 4 до 6 или от 4 до 5 лигандов интегрин $\alpha\nu\beta 6$) может быть конъюгирован с одной транспортируемой молекулой (например, с любой из описанных здесь или известных в данной области техники).

[0097] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанных здесь, лиганды интегрин $\alpha\beta6$ необязательно конъюгированы с одной или несколькими транспортируемыми молекулами через линкерную группу, такую как, например, группа полиэтиленгликоля (ПЭГ).

[0098] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанных здесь, лиганды интегрин $\alpha\beta6$ необязательно конъюгированы с одной или несколькими транспортируемыми молекулами через каркас, который включает, по меньшей мере, одну точку присоединения для каждого лиганда и, по меньшей мере, одну точку присоединения для каждой транспортируемой молекулы. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганды интегрин $\alpha\beta6$ содержат, состоят или по существу состоят из одной транспортируемой молекулы. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганды интегрин $\alpha\beta6$ содержат, состоят или по существу состоят из более чем одной транспортируемой молекулы.

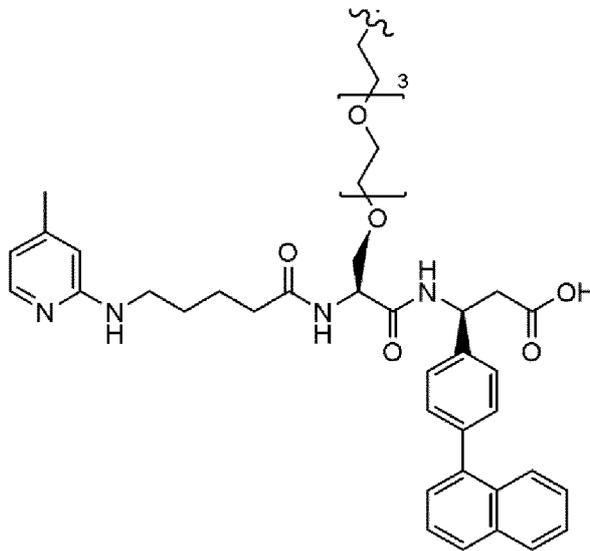
[0099] В некоторых вариантах осуществления изобретения, $\alpha\beta6$ интегрин-лиганд содержит, состоит или по существу состоит из Структуры 1, Структуры 2, Структуры 5, Структуры 5.1, Структуры 5.2, Структуры 6, Структуры 6.1, Структуры 6.2, Структуры 6.3, Структуры 6.4, Структуры 7, Структуры 8, Структуры 9, Структуры 10, Структуры 11, Структуры 12, Структуры 13, Структуры 14, Структуры 15, Структуры 16, Структуры 17, Структуры 18, Структуры 19, Структуры 20, Структуры 22, Структуры 23, Структуры 24, Структуры 25, Структуры 27, Структуры 29, Структуры 30, Структуры 31, Структуры 32, Структуры 33, Структуры 34, Структуры 35, Структуры 36 или Структуры 37, каждая из которых описана здесь.

[0100] Любой из раскрытых здесь лигандов интегрин $\alpha\beta6$ может быть соединен или связан с транспортируемой молекулой, реакционноспособной группой и/или защищенной реакционноспособной группой. Реакционноспособная группа может быть использована для облегчения конъюгации лиганда интегрин $\alpha\beta6$ с транспортируемой молекулой. Описанные здесь лиганды интегрин $\alpha\beta6$ могут улучшать нацеливание транспортируемых молекул на интегрин $\alpha\beta6$ или на клетку, экспрессирующую интегрин $\alpha\beta6$. Транспортируемая молекула может представлять собой, без ограничения, фармацевтически активный ингредиент или соединение, пролекарство или другое вещество с известным терапевтическим действием. В некоторых вариантах осуществления изобретения транспортируемая молекула может представлять собой, без ограничения, малую молекулу, антитело, фрагмент антитела, иммуноглобулин, моноклональное антитело, метку или маркер, липид, природное или модифицированное соединение на основе олигонуклеотида (например, антисмысловый олигонуклеотид или средство РНКи), природную или модифицированную нуклеиновую кислоту, пептид, аптамер, полимер, полиамин, белок, токсин, витамин, полиэтиленгликоль, гаптен, дигоксигенин, биотин, радиоактивный атом или молекулу, или флуорофор. В некоторых вариантах осуществления изобретения транспортируемая молекула включает фармацевтически активный ингредиент или пролекарство. В некоторых вариантах

осуществления изобретения транспортируемая молекула включает соединение на основе олигонуклеотида в качестве фармацевтически активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления изобретения транспортируемая молекула включает средство РНКи в качестве фармацевтически активного ингредиента.

[0101] В одном аспекте изобретение относится к структуре, содержащей лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$, как описано здесь, линкерную группу и каркас, где каркас соединен с транспортируемой молекулой. В некоторых вариантах осуществления структура может содержать лиганд в монодентатной форме. В некоторых вариантах осуществления структура может содержать лиганд в бидентатной форме. В некоторых вариантах осуществления структура может содержать лиганд в тридентатной форме. В некоторых вариантах осуществления структура может содержать лиганд в тетрадентатной форме.

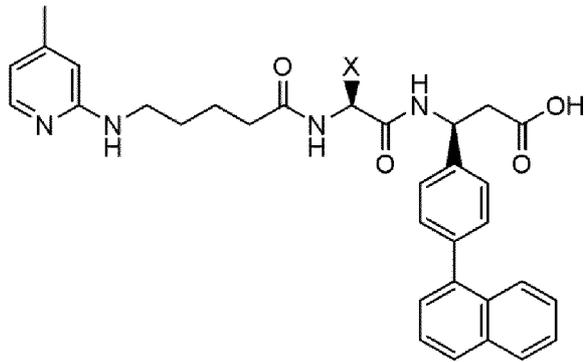
[0102] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 1).

[0103] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 1 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

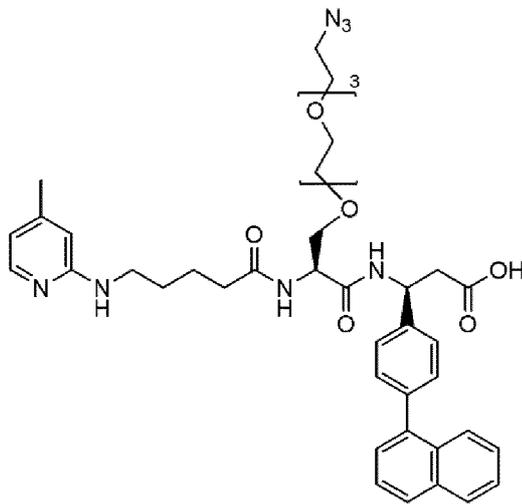
[0104] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 1a),

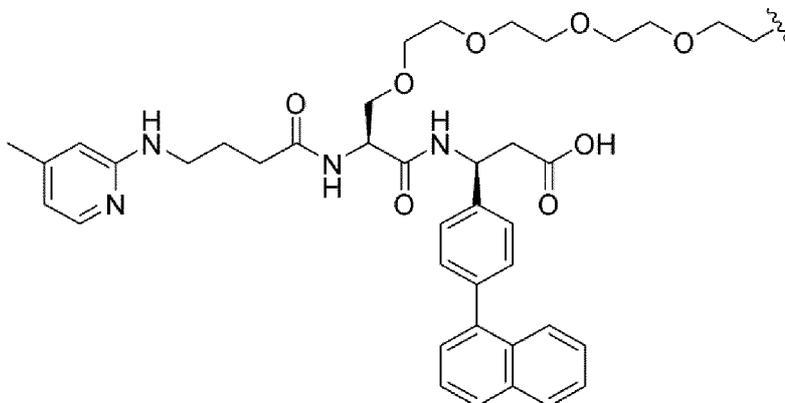
где X включает реакцию способную группу, защищенную реакцию способную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0105] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакцию способную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 1b).

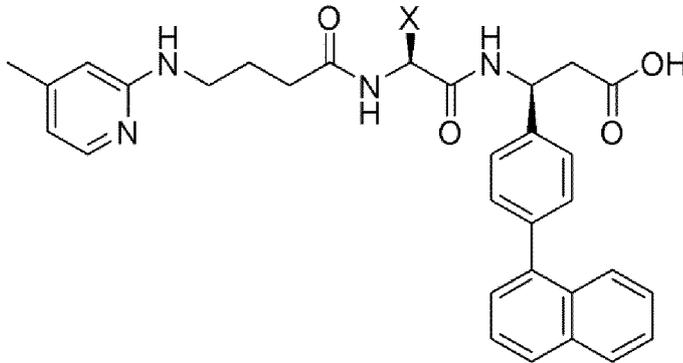
[0106] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 2).

[0107] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ Структуры 2 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

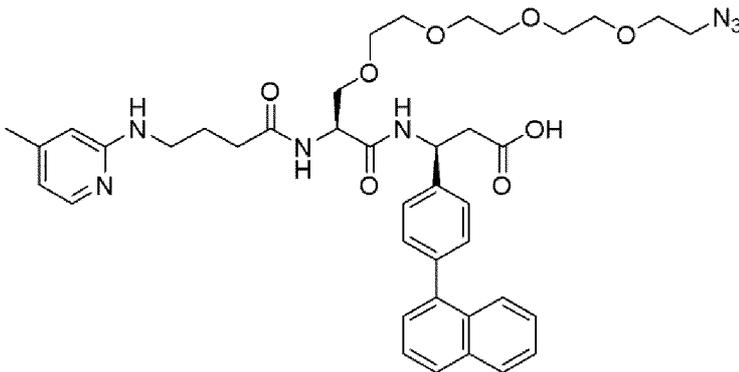
[0108] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 2а),

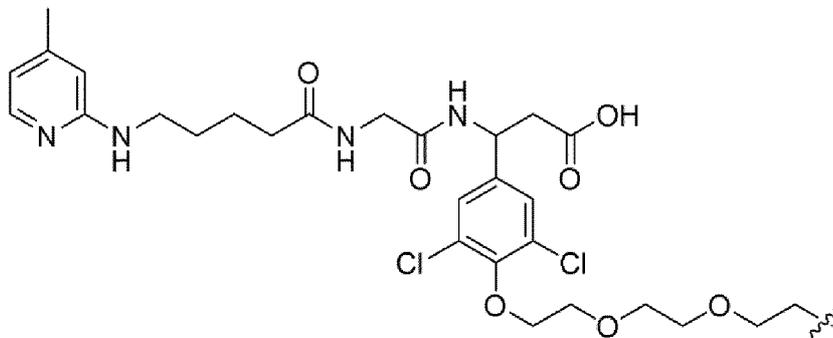
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0109] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 2b).

[0110] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:

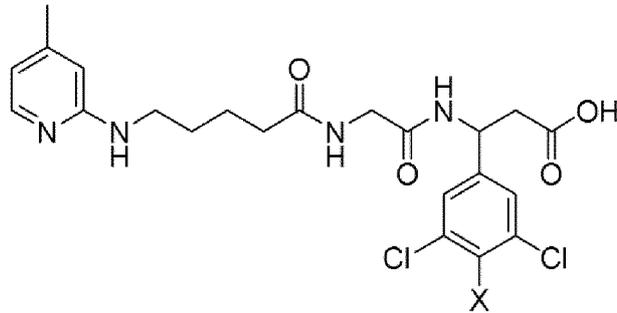


(Структура 5).

[0111] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ Структуры 5 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами

(например, средством РНКи (средствами РНКи)).

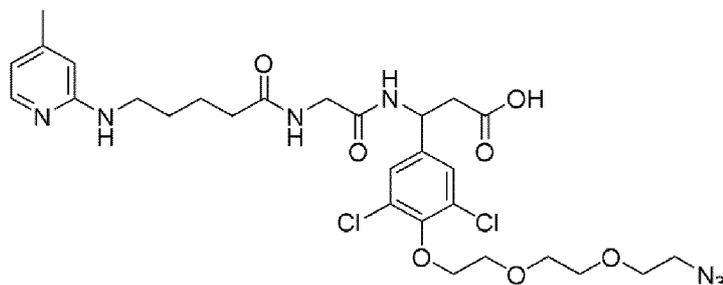
[0112] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 5a),

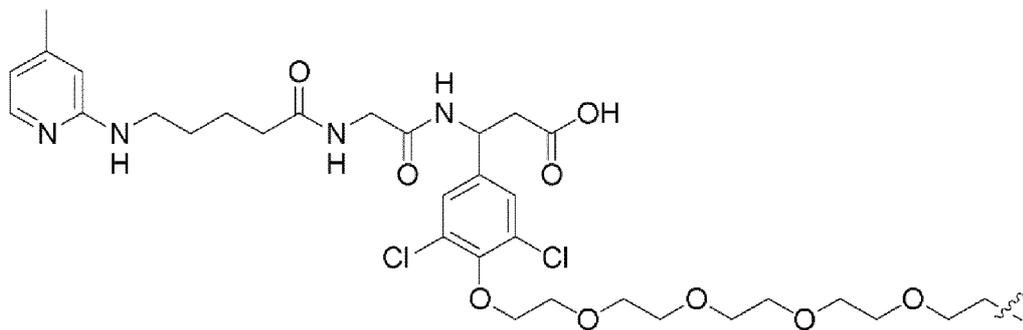
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0113] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



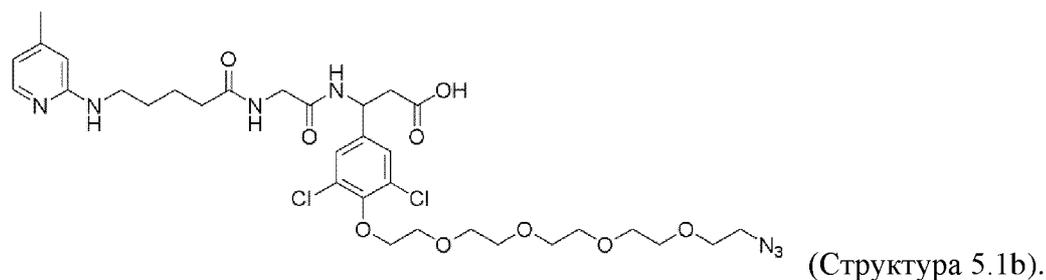
(Структура 5b).

[0114] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ имеет следующую структуру:



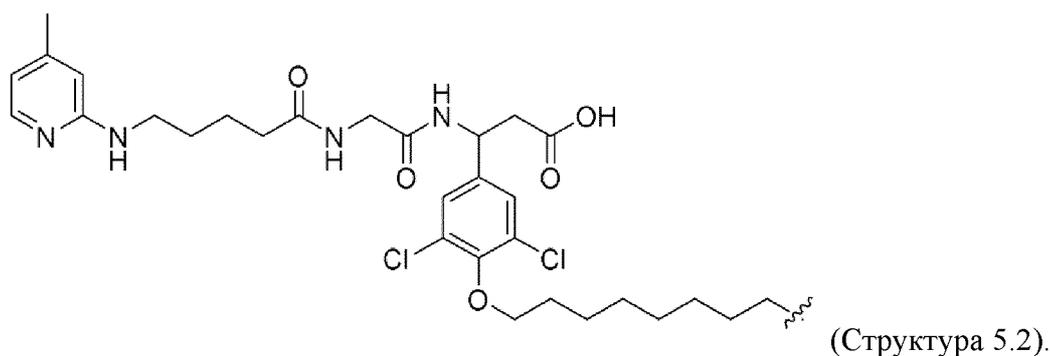
(Структура 5.1).

[0115] В некоторых вариантах осуществления изобретения длина ПЭГ в ПЭГ-азидной реакционноспособной группе может варьироваться. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ Структуры 5.1 может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



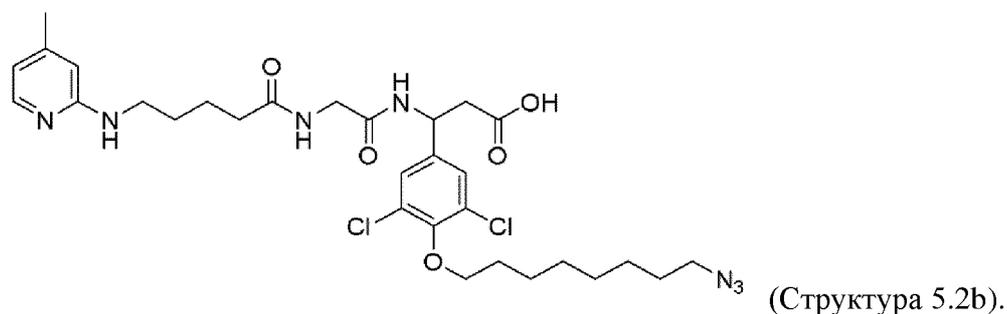
[0116] Реакционноспособная группа (или защищенная реакционноспособная группа) может быть использована для облегчения конъюгации лиганда интегрин $\alpha\beta_6$ с представляющей интерес молекулой, например, с транспортируемой молекулой (либо непосредственно, либо через один или несколько каркасов и/или линкеров).

[0117] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ имеет следующую структуру:

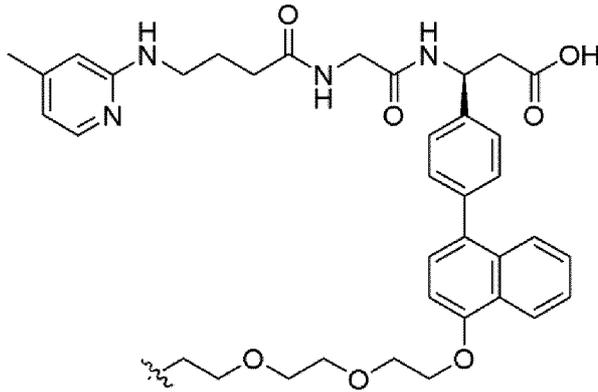


[0118] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ Структуры 5.2 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

[0119] В некоторых вариантах ПЭГ-азидная реакционноспособная группа может быть замещена алкил-азидной реакционноспособной группой. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал алкил-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



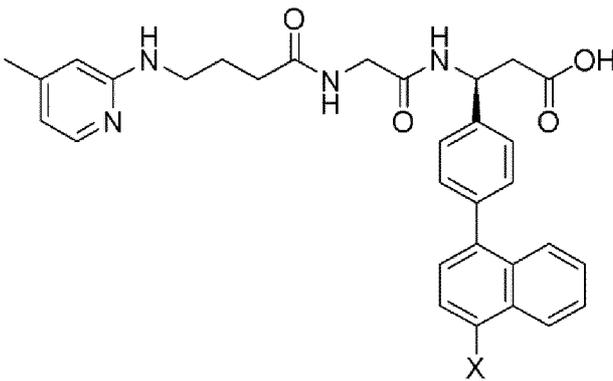
[0120] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ имеет следующую структуру:



(Структура 6).

[0121] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 6 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

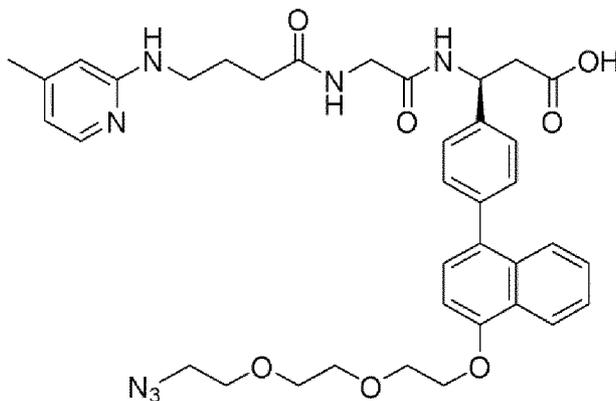
[0122] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 6a),

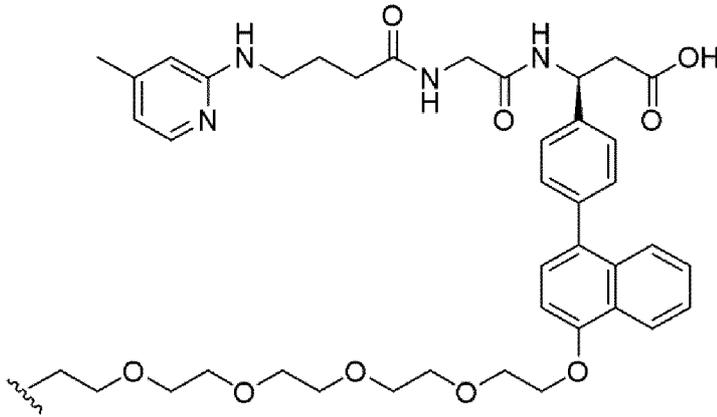
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0123] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 6b).

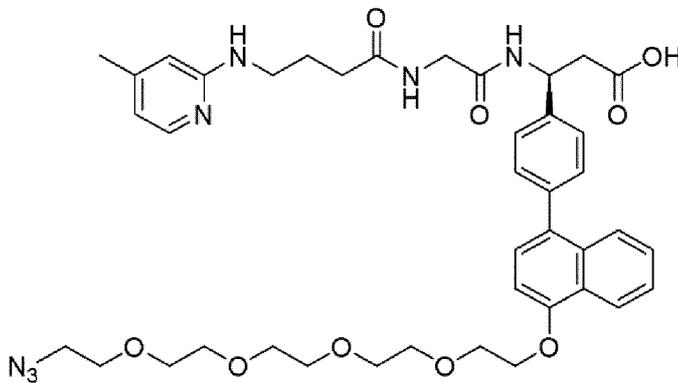
[0124] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ имеет следующую структуру:



(Структура 6.1).

[0125] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 6.1 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

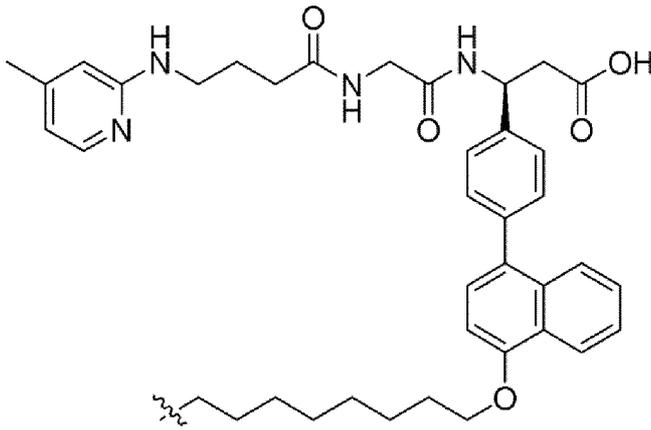
[0126] В некоторых вариантах осуществления изобретения длина ПЭГ в ПЭГ-азидной реакционноспособной группы может варьироваться. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ может быть синтезирваны так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 6.1b).

[0127] Реакционноспособная группа (или защищенная реакционноспособная группа) может быть использована для облегчения конъюгации лиганда интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ с представляющей интерес молекулой, например, с транспортируемой молекулой (либо непосредственно, либо через один или несколько каркасов и/или линкера).

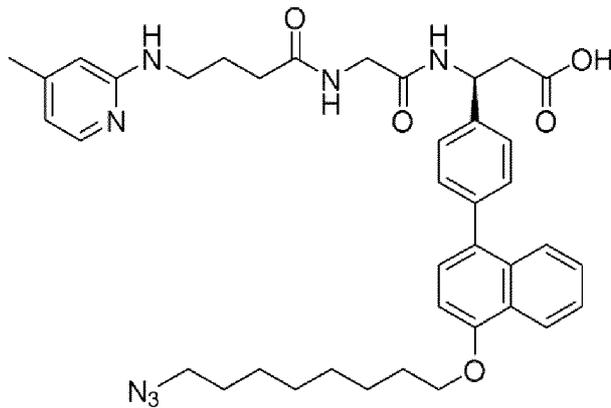
[0128] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ имеет следующую структуру:



(Структура 6.2).

[0129] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 6.2 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

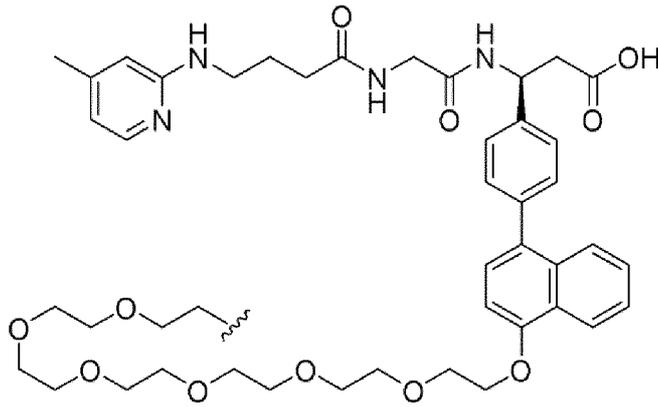
[0130] В некоторых вариантах осуществления изобретения, ПЭГ-азидная реакционноспособная группа может быть замещена алкил-азидной реакционноспособной группой. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал алкил-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 6.2b).

[0131] Реакционноспособная группа (или защищенная реакционноспособная группа) может быть использована для облегчения конъюгации лиганда интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ с представляющей интерес молекулой, например, с транспортируемой молекулой (либо непосредственно, либо через один или несколько каркасов и/или линкера).

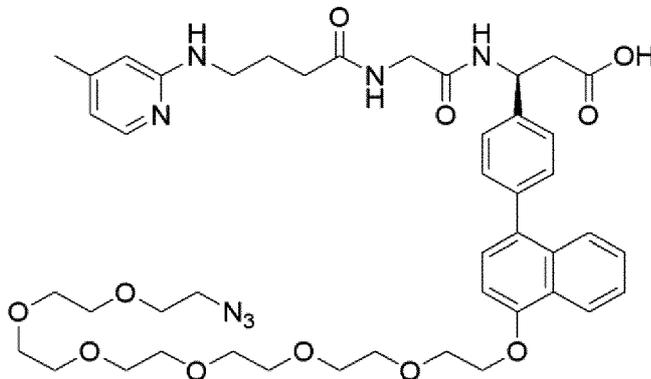
[0132] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ имеет следующую структуру:



(Структура 6.3).

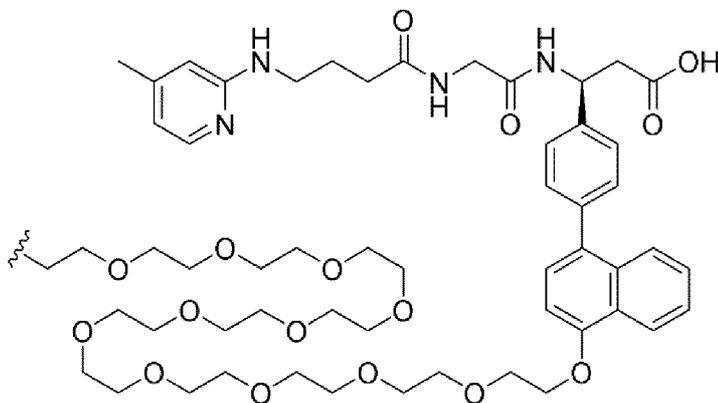
[0133] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 6.3 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи или средствами РНКи).

[0134] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал алкил-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 6.3b).

[0135] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:

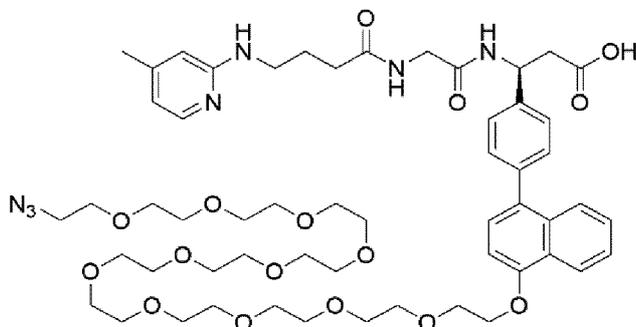


(Структура 6.4);

[0136] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$

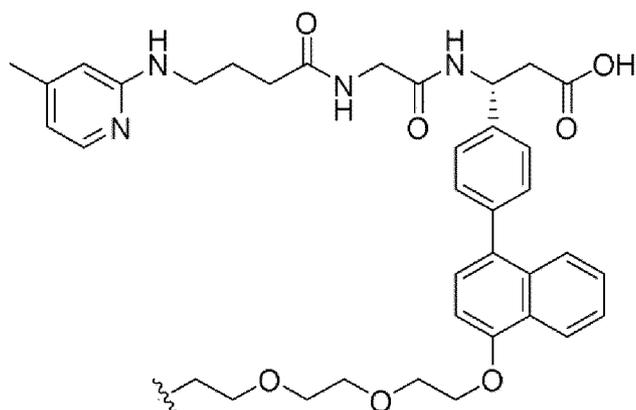
Структуры 6.4 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи или средствами РНКи).

[0137] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал азид-реакционноспособной группы, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 6.4b).

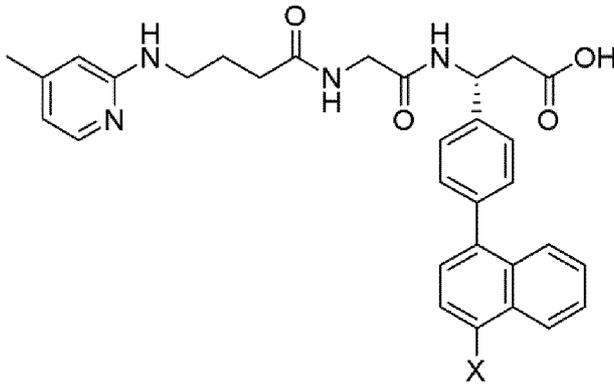
[0138] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 7).

[0139] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 7 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

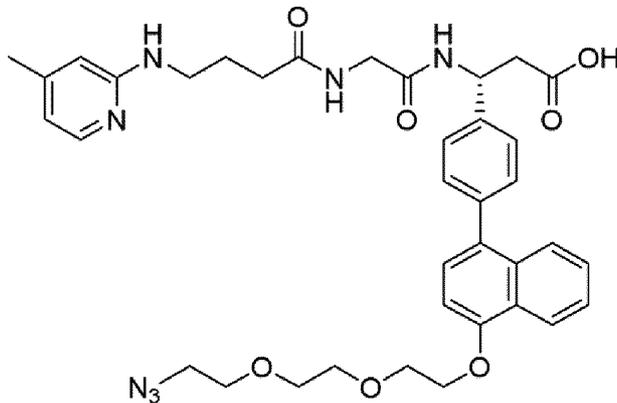
[0140] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 7a),

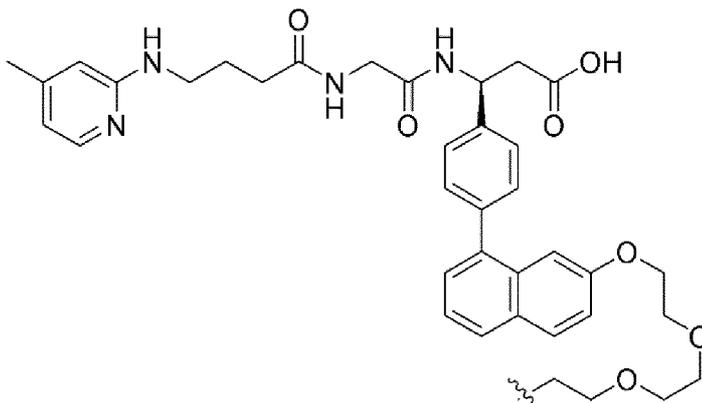
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0141] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал ПЭГ-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 7b).

[0142] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:

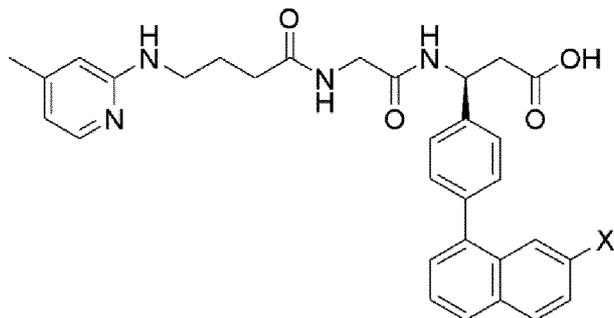


(Структура 8).

[0143] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 8 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

[0144] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$

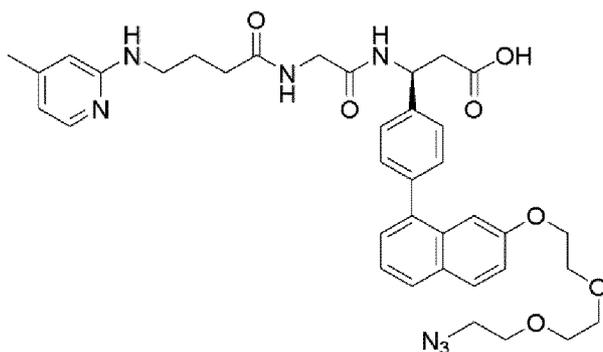
может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 8a),

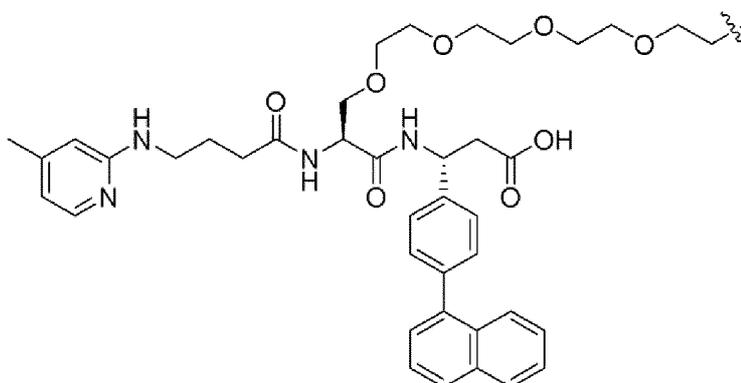
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0145] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал ПЭГ-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 8b).

[0146] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ имеет следующую структуру:

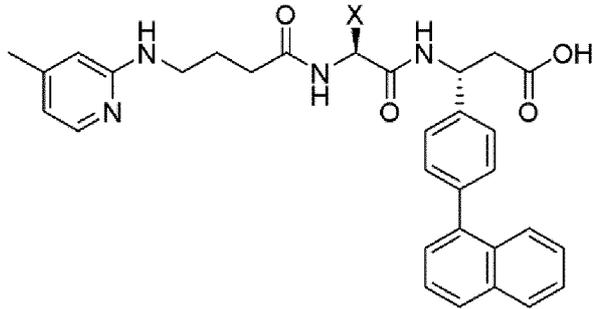


(Структура 9).

[0147] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ Структуры 9 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

[0148] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$

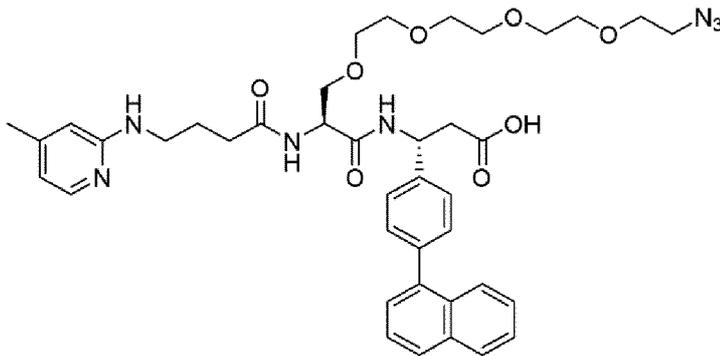
может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 9a),

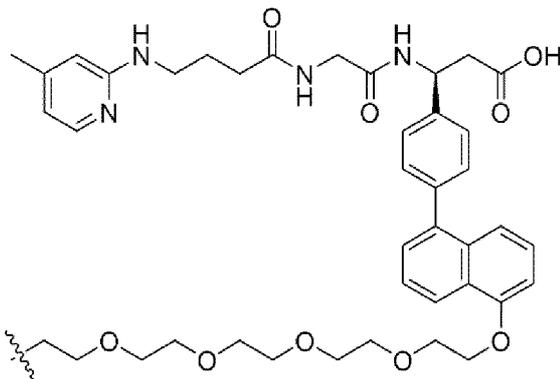
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0149] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 9b).

[0150] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ имеет следующую структуру:

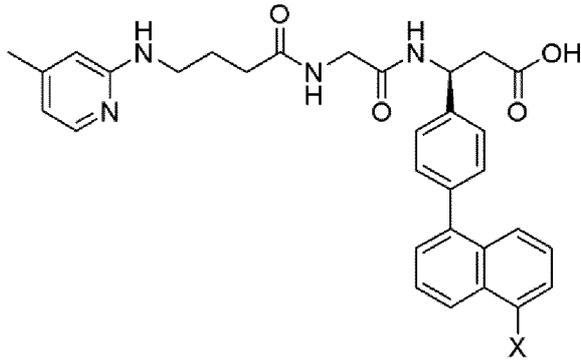


(Структура 10).

[0151] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ Структуры 10 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

[0152] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу,

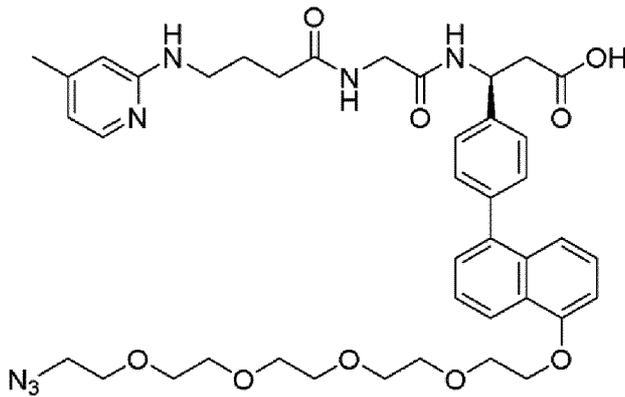
защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 10a),

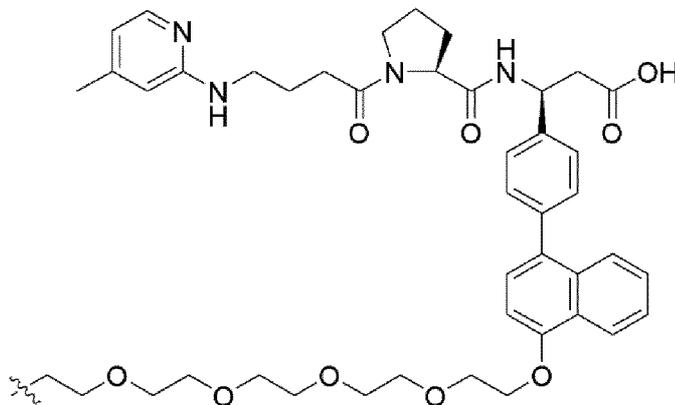
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0153] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 10b).

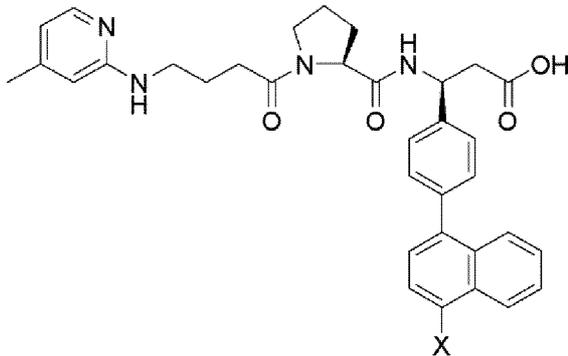
[0154] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 11).

[0155] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 11 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

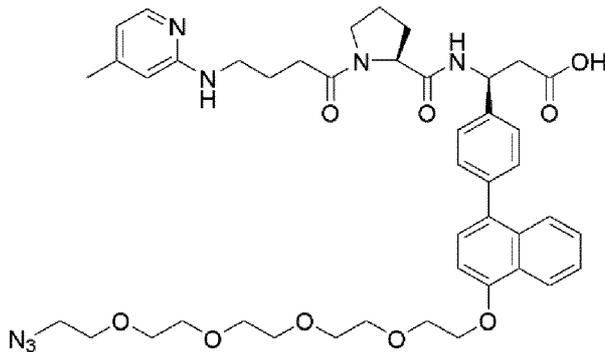
[0156] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 11a),

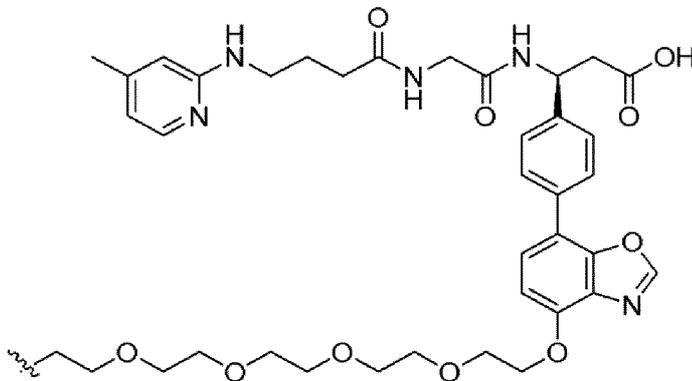
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0157] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 11b).

[0158] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ имеет следующую структуру:

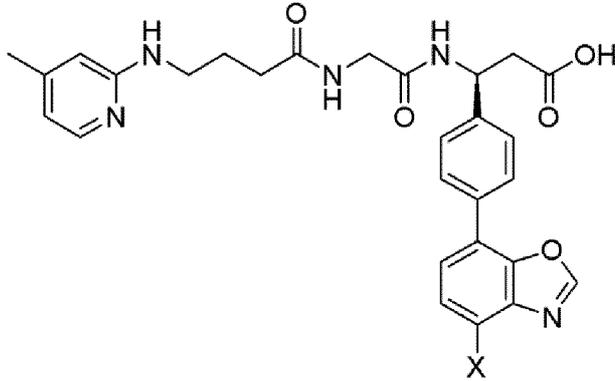


(Структура 12).

[0159] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ Структуры 12 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами

(например, средством РНКи (средствами РНКи)).

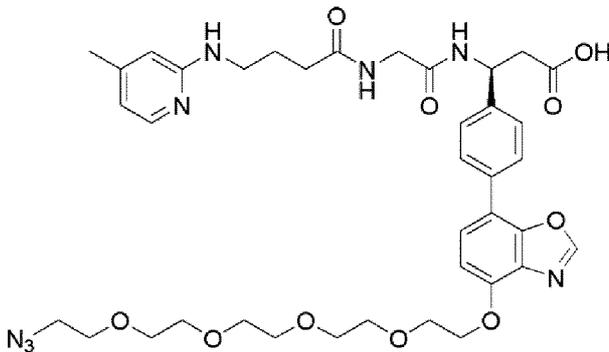
[0160] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 12a),

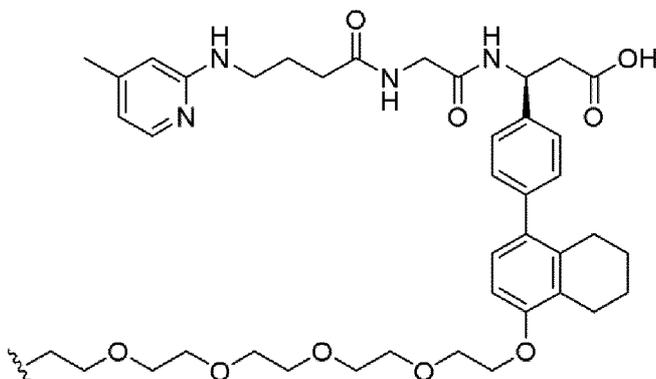
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0161] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 12b).

[0162] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ имеет следующую структуру:

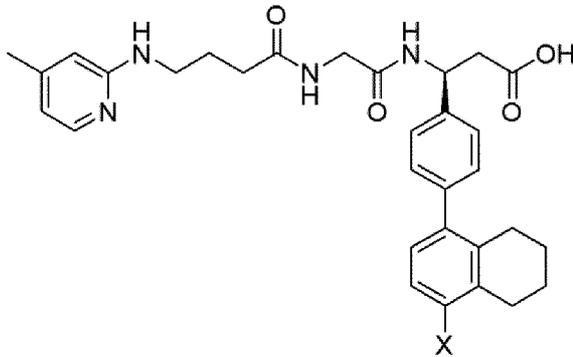


(Структура 13).

[0163] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$

Структуры 13 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

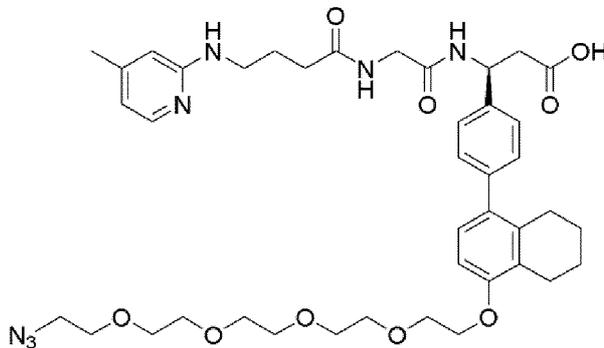
[0164] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 13а),

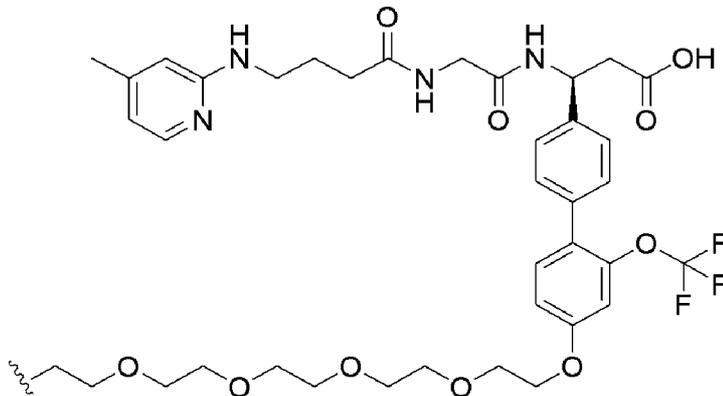
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0165] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 13b).

[0166] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ имеет следующую структуру:

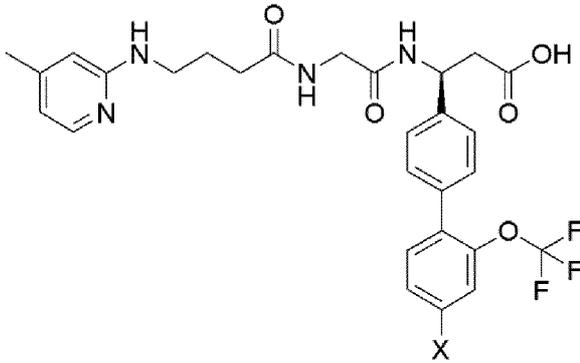


(Структура 14).

[0167] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$

Структуры 14 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

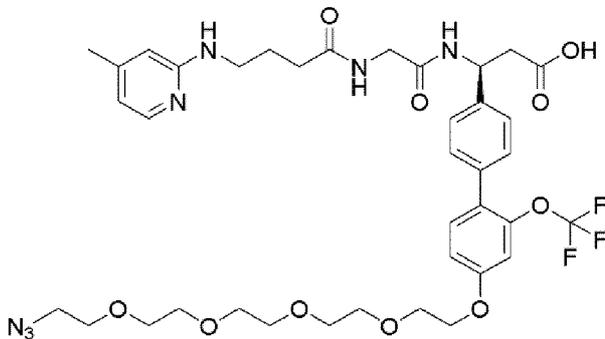
[0168] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 14a),

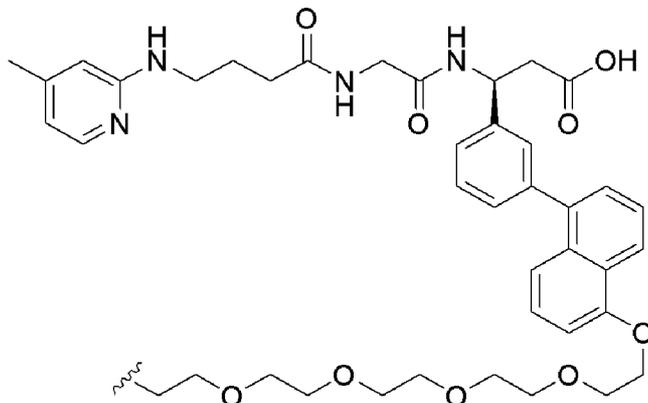
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0169] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 14b).

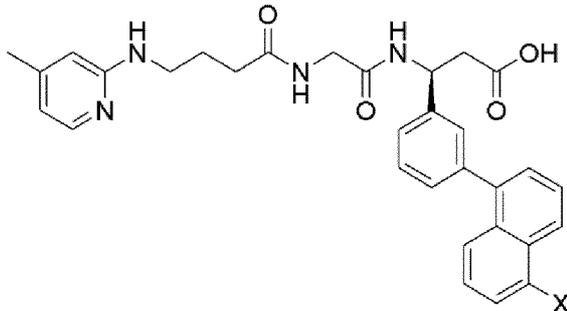
[0170] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ имеет следующую структуру:



(Структура 15).

[0171] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 15 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

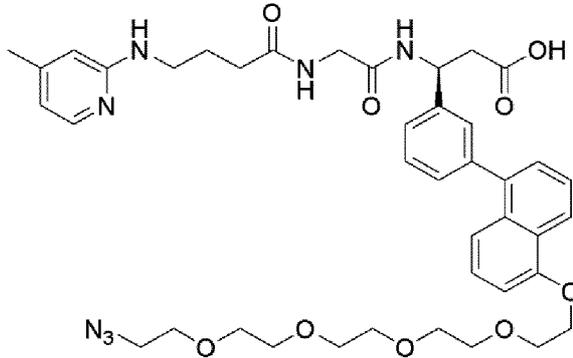
[0172] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 15a),

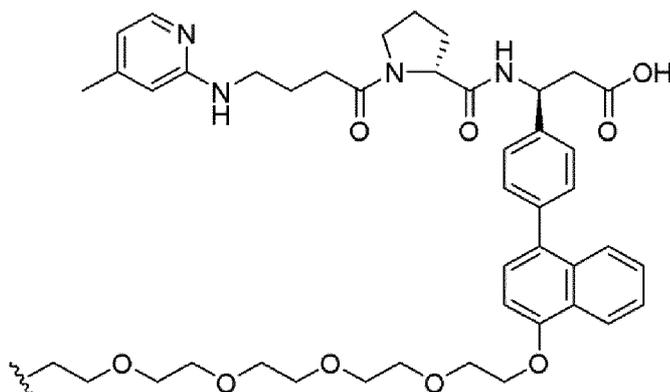
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0173] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 15b).

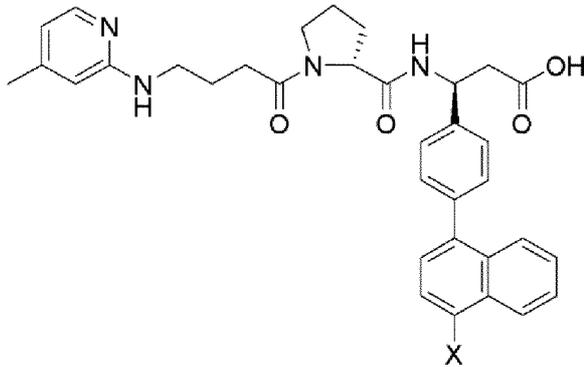
[0174] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 16).

[0175] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 16 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

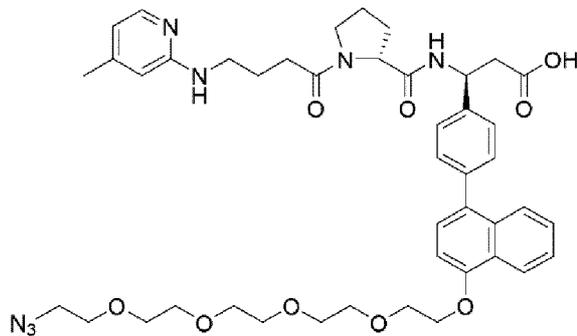
[0176] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 16a),

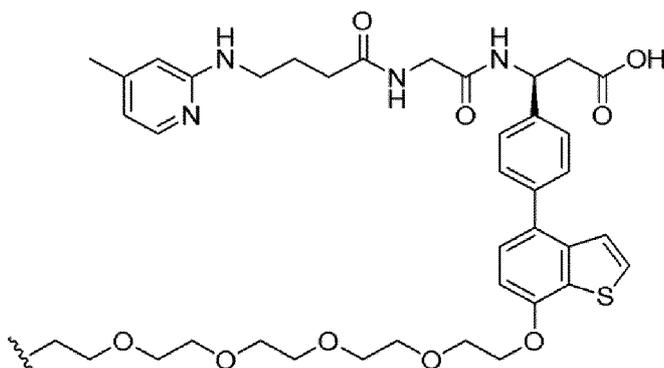
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0177] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 16b).

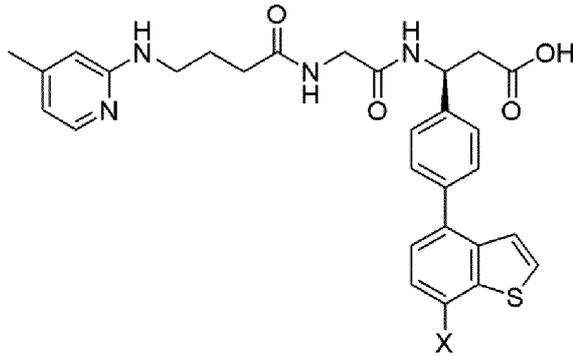
[0178] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 17).

[0179] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 17 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

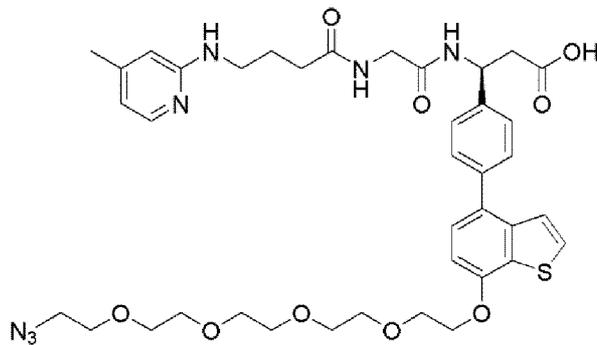
[0180] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 17а),

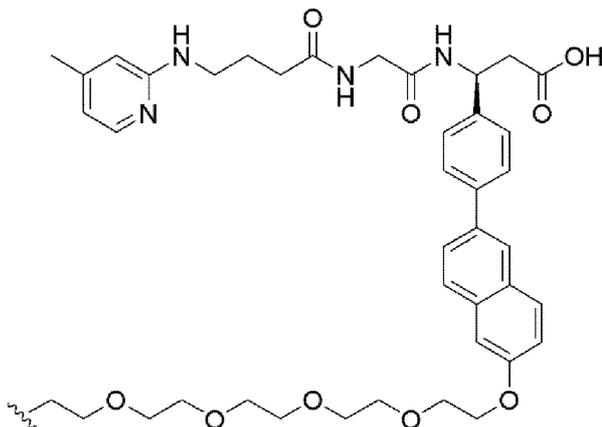
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0181] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 17b).

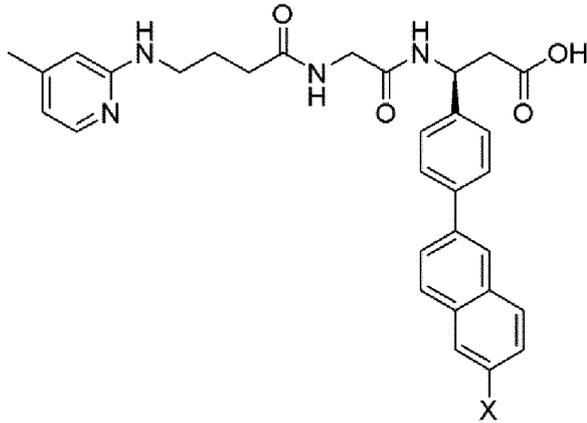
[0182] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ имеет следующую структуру:



(Структура 18).

[0183] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 18 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

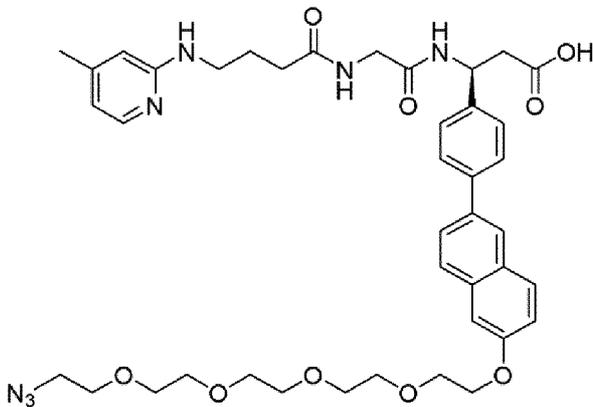
[0184] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 18a),

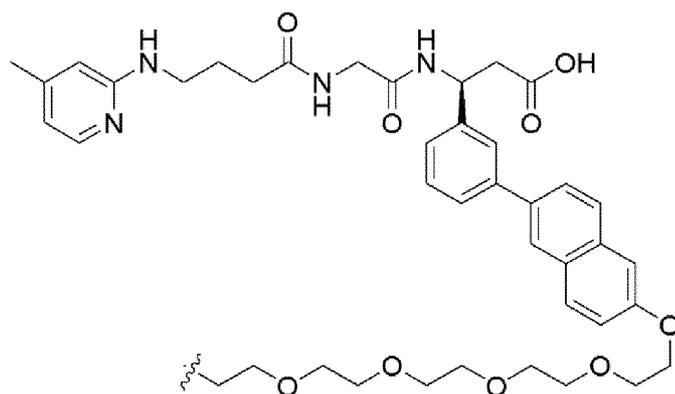
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0185] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 18b).

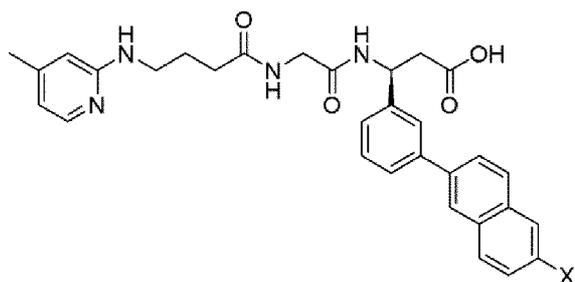
[0186] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 19).

[0187] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 19 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

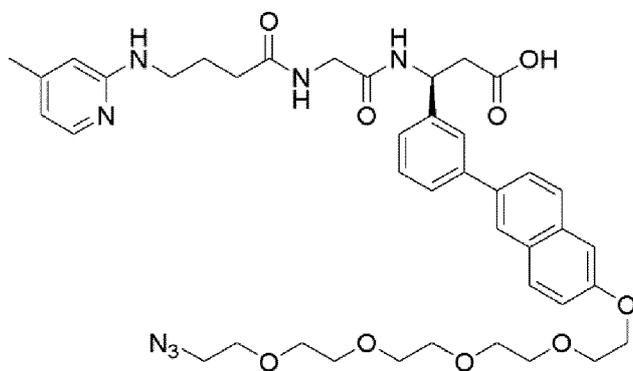
[0188] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 19а),

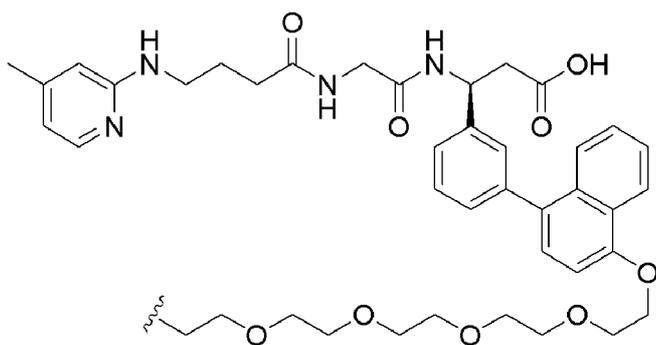
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0189] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 19b).

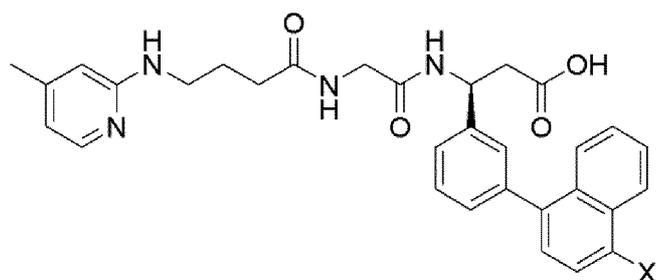
[0190] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 20).

[0191] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 20 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

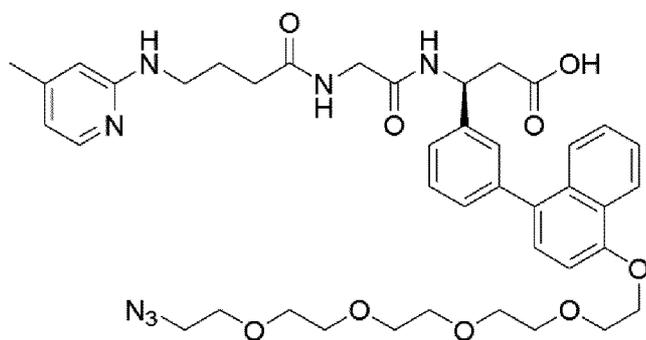
[0192] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 20a),

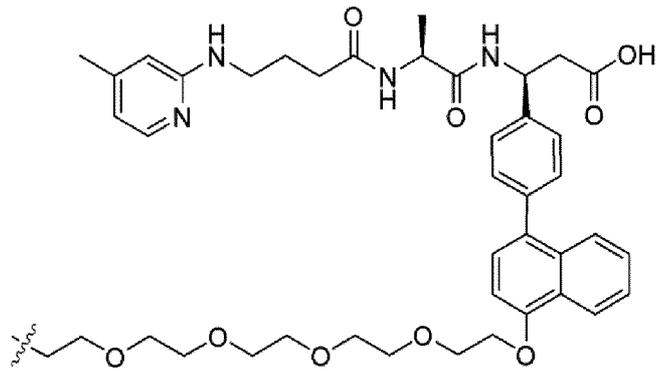
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0193] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 20b).

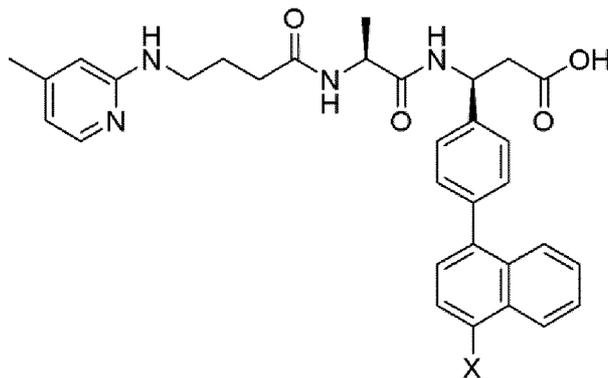
[0194] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 22).

[0195] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 22 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

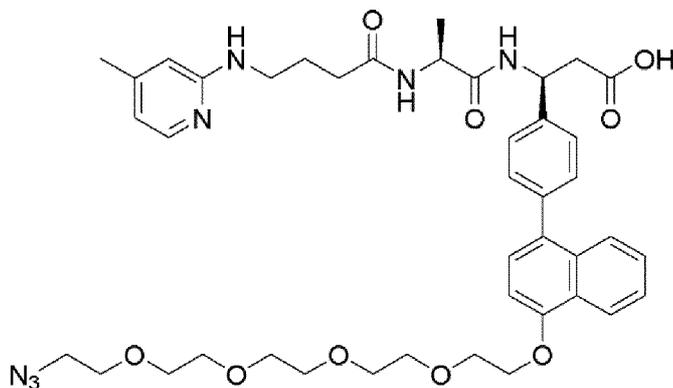
[0196] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 22a),

где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

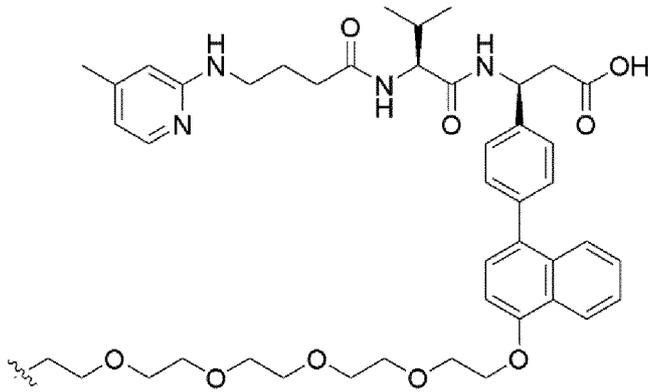
[0197] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 22b).

[0198] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд

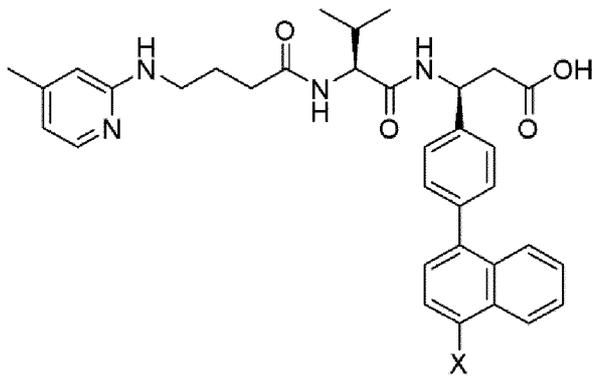
интегрин $\alpha\beta_6$ имеет следующую структуру:



(Структура 23).

[0199] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ Структуры 23 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

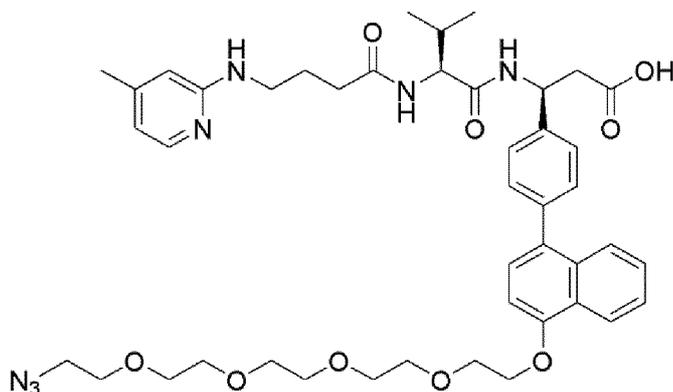
[0200] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 23a),

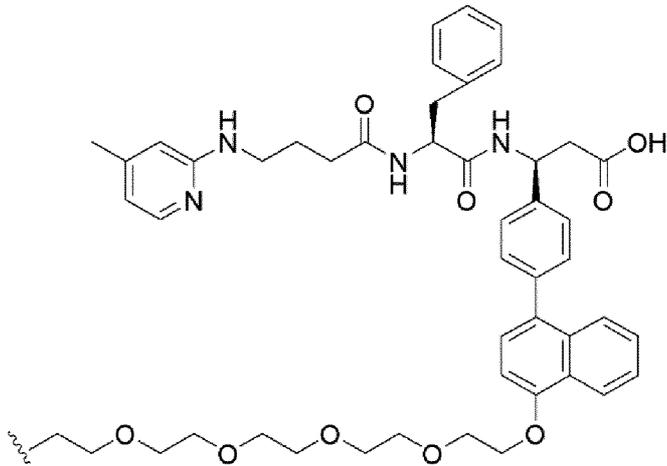
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0201] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 23b).

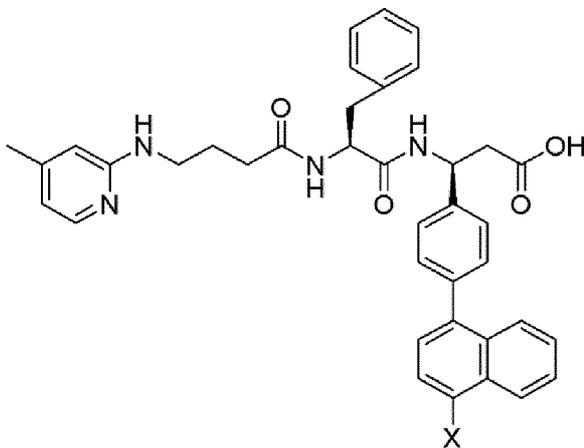
[0202] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ имеет следующую структуру:



(Структура 24).

[0203] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ Структуры 24 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

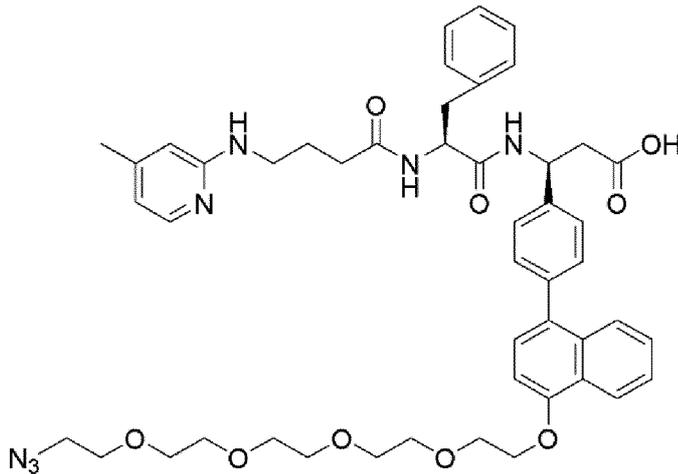
[0204] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 24а),

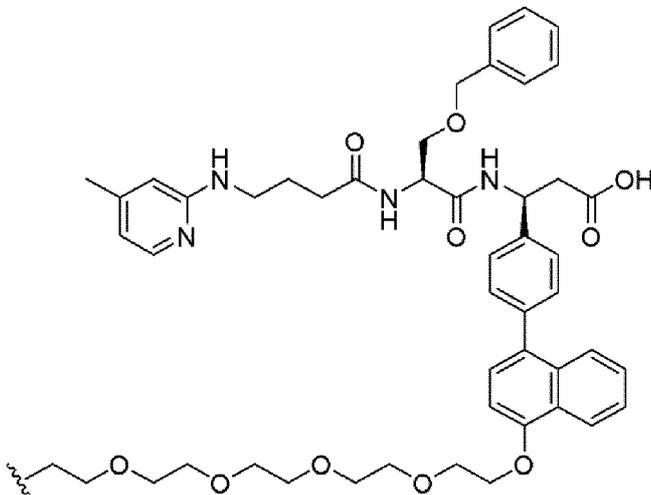
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0205] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 24b).

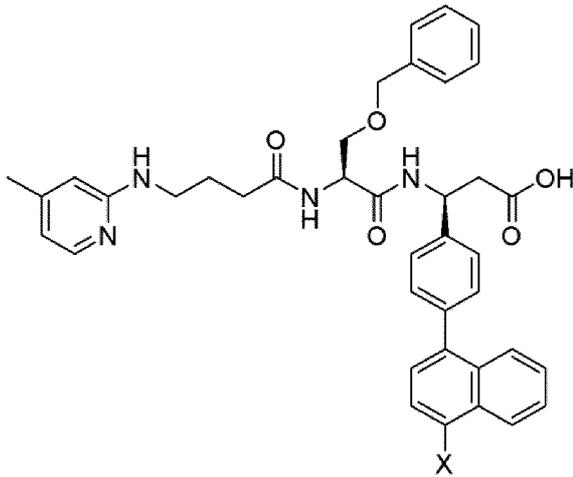
[0206] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ имеет следующую структуру:



(Структура 25).

[0207] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ Структуры 25 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

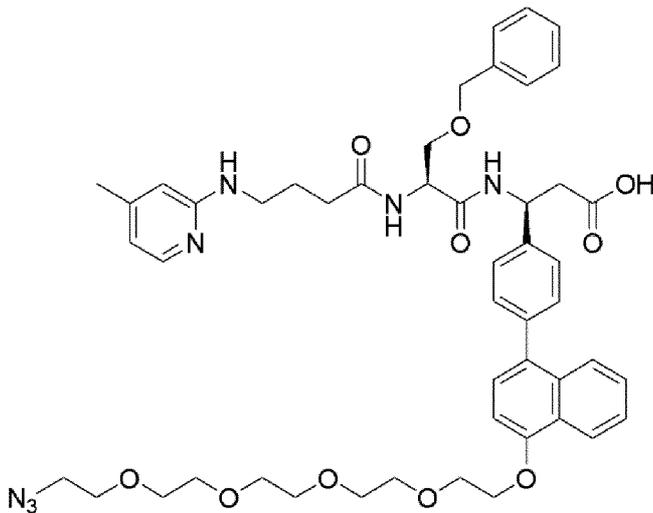
[0208] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 25a),

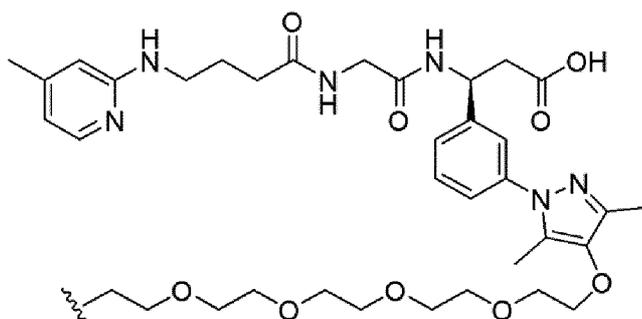
где X включает реакцию способную группу, защищенную реакцию способную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0209] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакцию способную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 25b).

[0210] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ имеет следующую структуру:

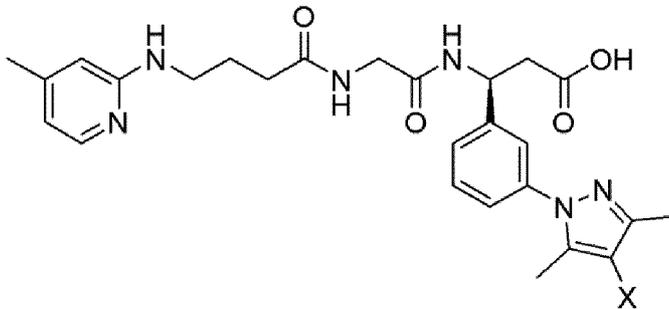


(Структура 27).

[0211] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$

Структуры 27 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

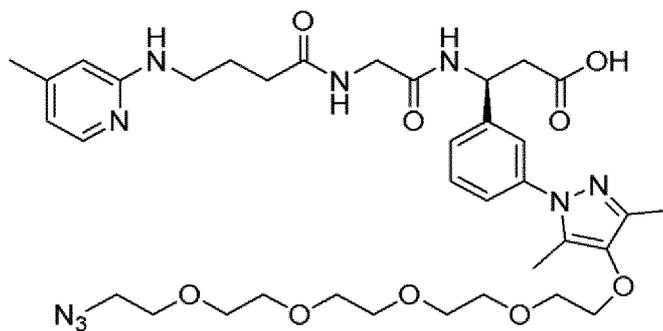
[0212] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 27а),

где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

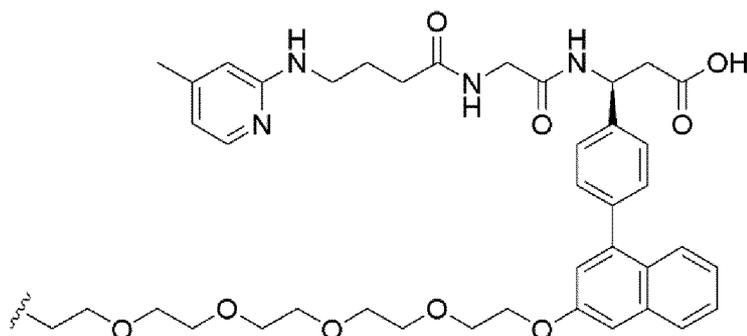
[0213] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 27b).

[0214] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ имеет следующую структуру:

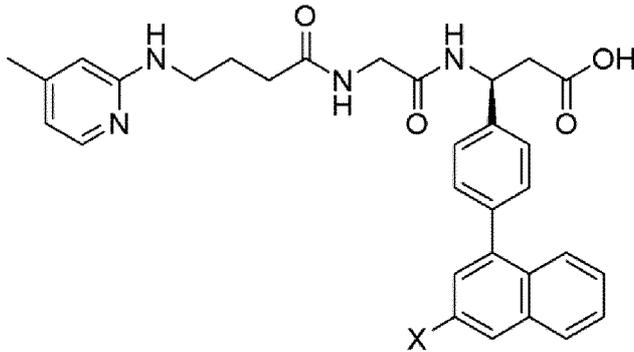
[0215] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрина $\alpha v \beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 29).

[0216] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ Структуры 29 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

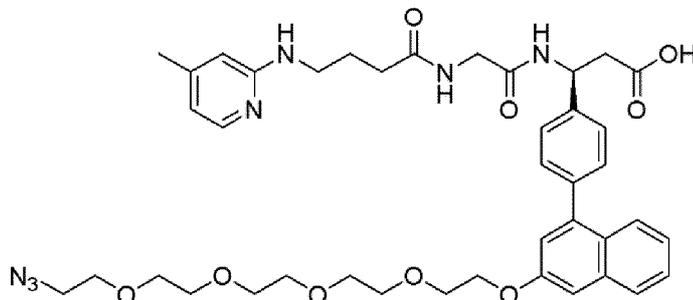
[0217] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 29a),

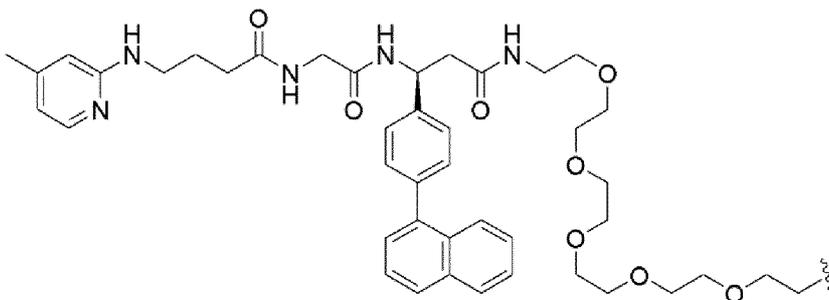
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0218] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 29b).

[0219] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ имеет следующую структуру:

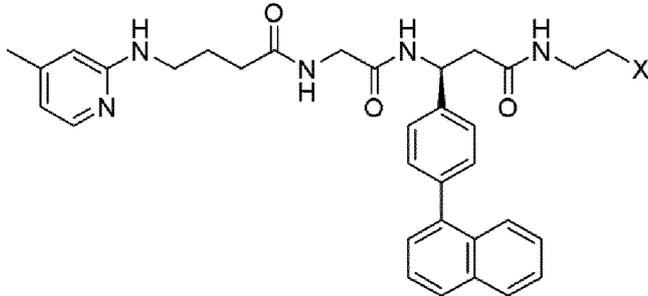


(Структура 30).

[0220] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ Структуры 30 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами

(например, средством РНКи (средствами РНКи)).

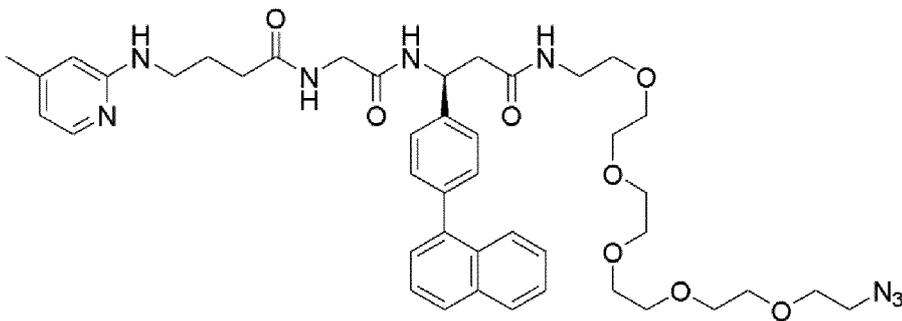
[0221] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 30а),

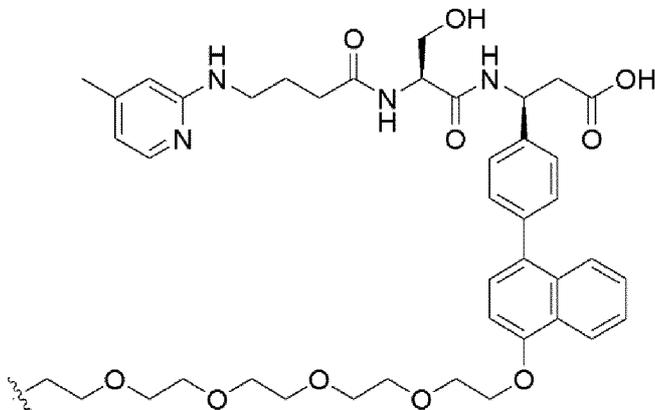
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0222] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 30b).

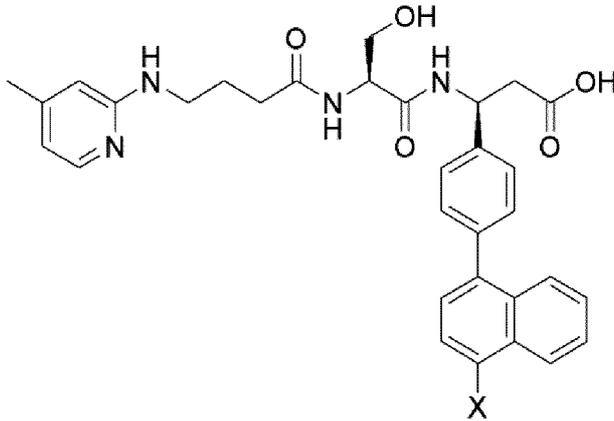
[0223] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрина $\alpha\nu\beta6$ имеет следующую структуру:



(Структура 31).

[0224] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha\nu\beta6$ Структуры 31 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

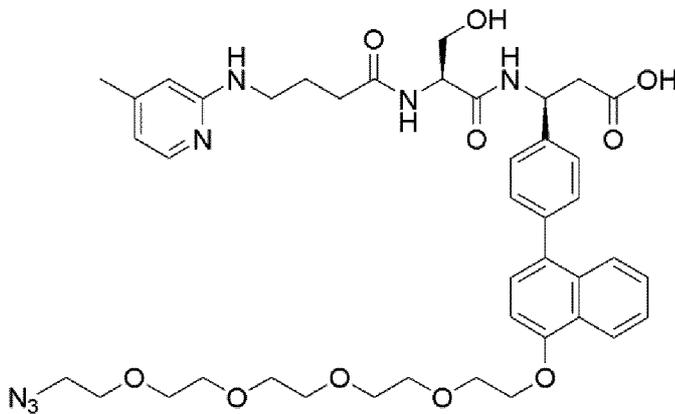
[0225] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 31a),

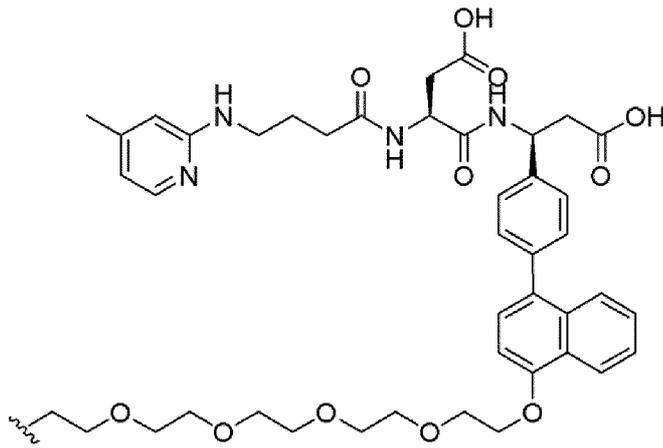
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0226] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 31b).

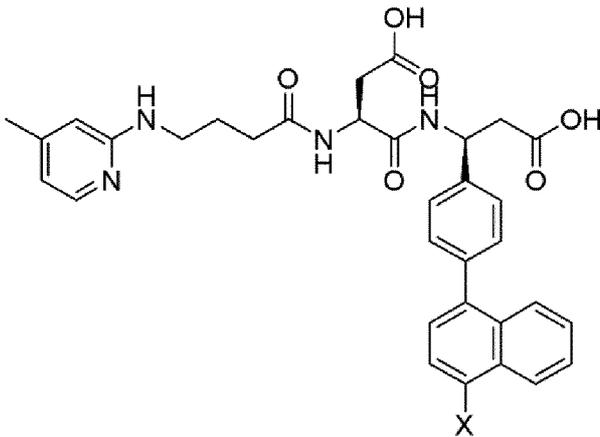
[0227] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ имеет следующую структуру:



(Структура 32).

[0228] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 32 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

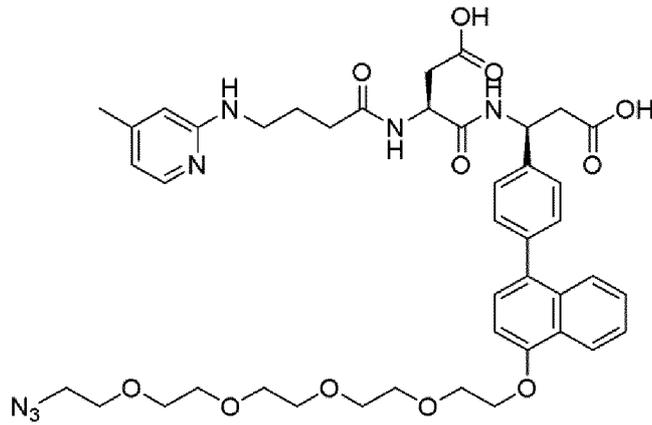
[0229] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 32a),

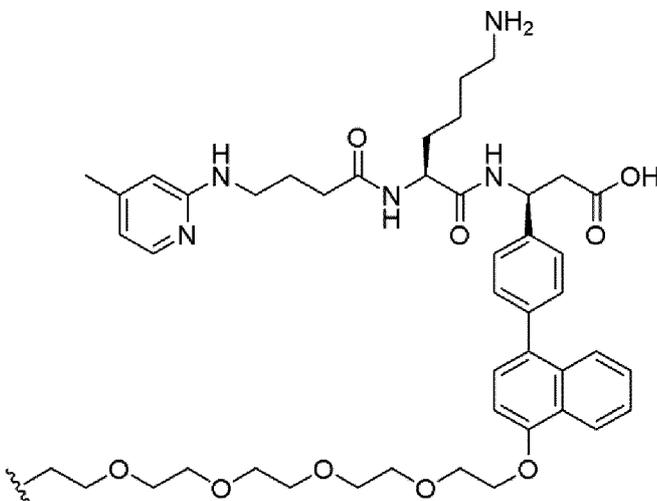
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0230] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 32b).

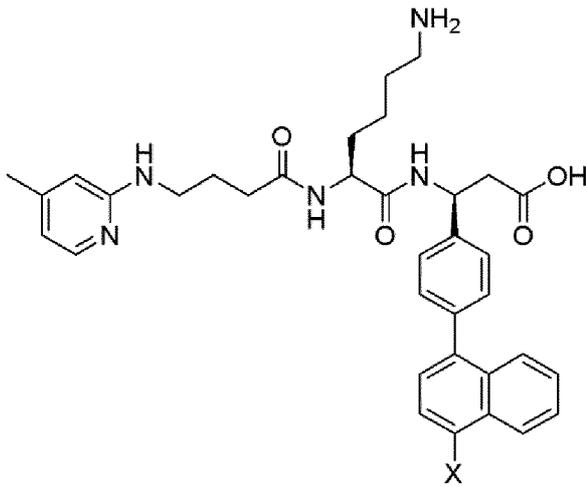
[0231] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ имеет следующую структуру:



(Структура 33).

[0232] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ Структуры 33 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

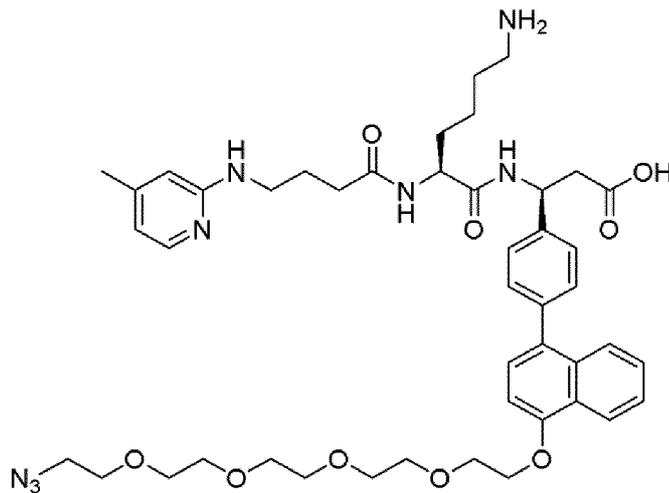
[0233] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 33а),

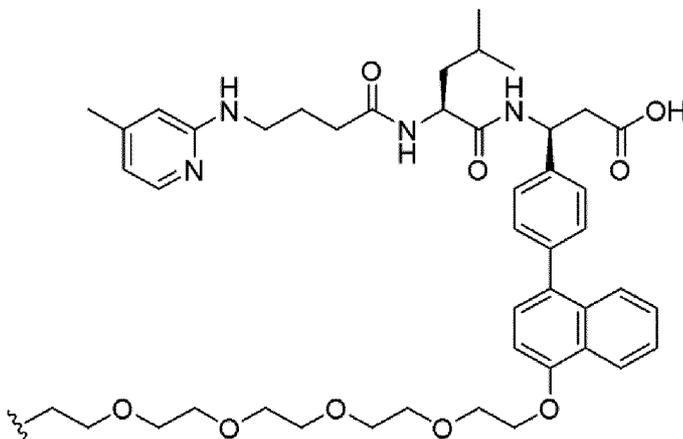
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0234] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 33b).

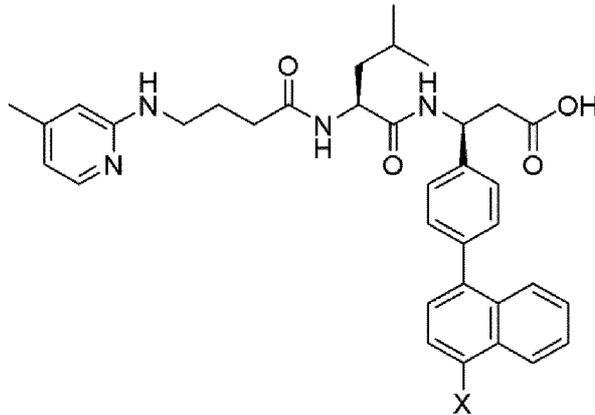
[0235] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ имеет следующую структуру:



(Структура 34).

[0236] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ Структуры 34 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

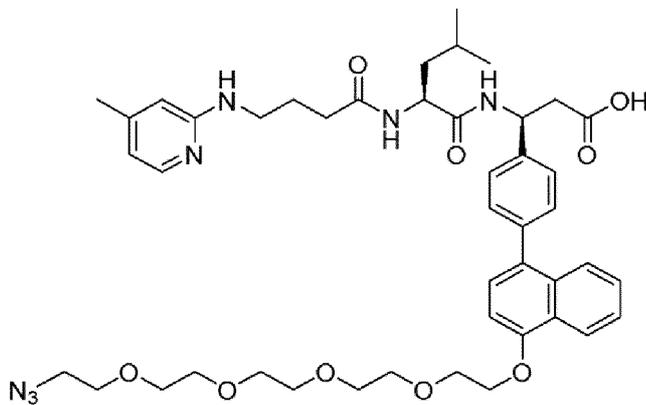
[0237] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 34a),

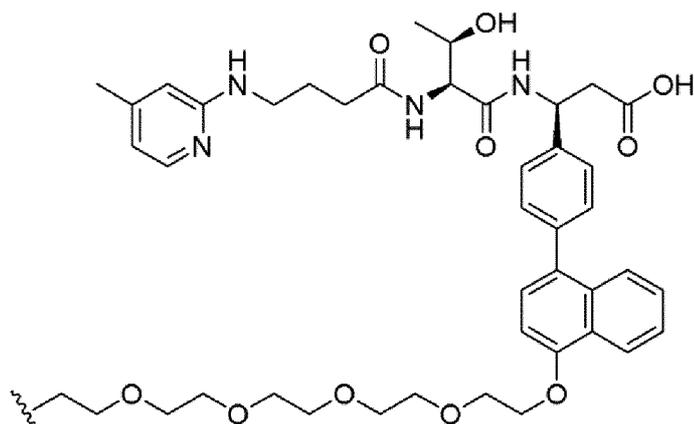
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0238] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 34b).

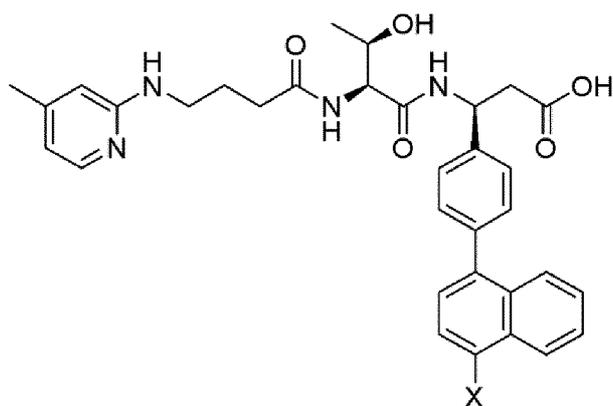
[0239] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ имеет следующую структуру:



(Структура 35).

[0240] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 35 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

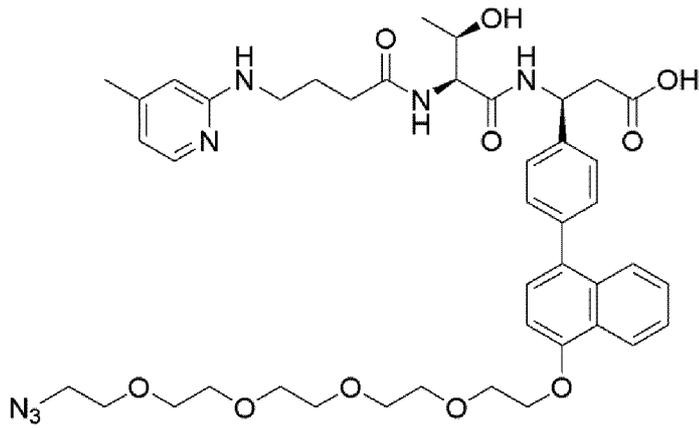
[0241] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 35a),

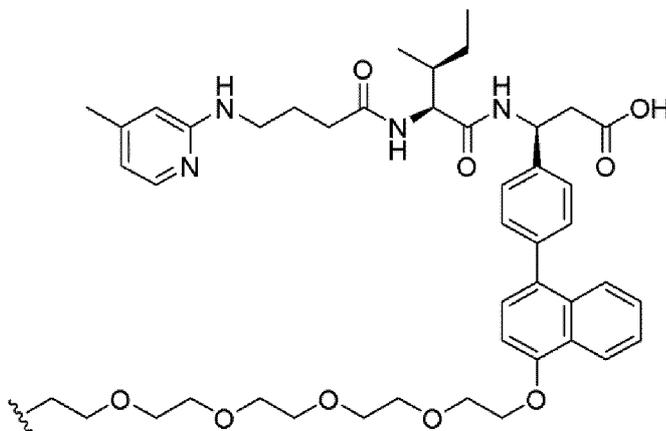
где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0242] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакционноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 35b).

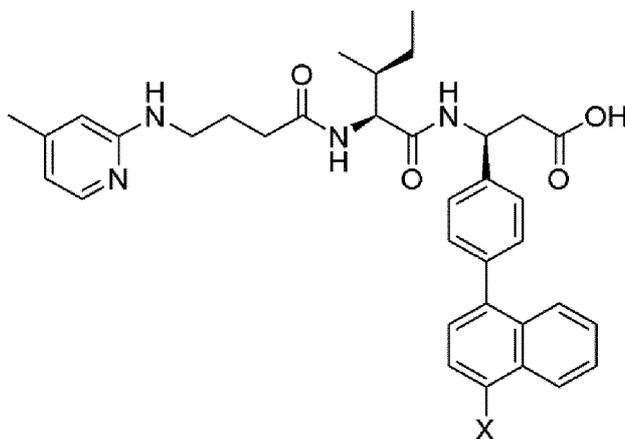
[0243] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ имеет следующую структуру:



(Структура 36).

[0244] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ Структуры 36 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

[0245] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:

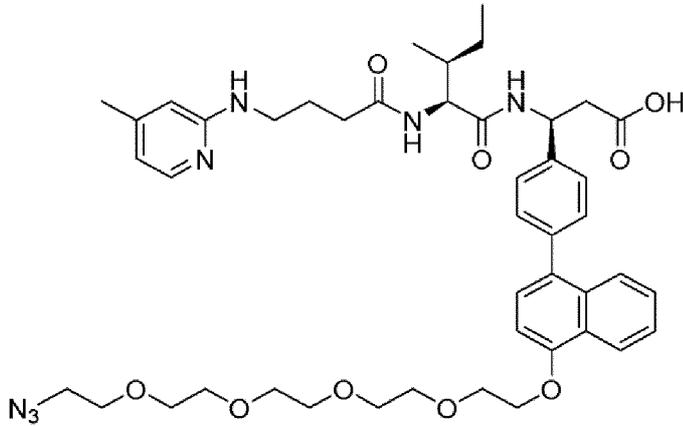


(Структура 36a),

где X включает реакционноспособную группу, защищенную реакционноспособную

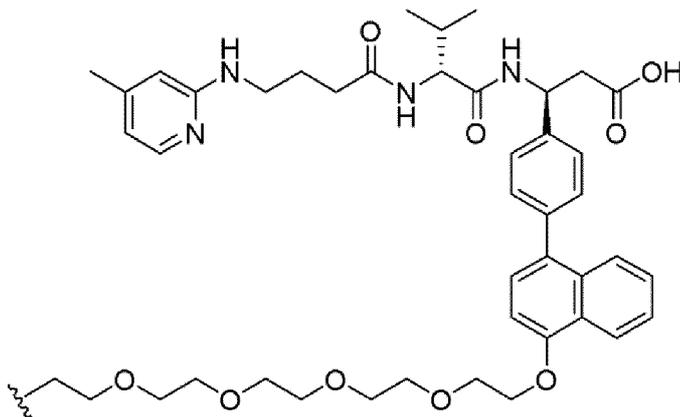
группу или транспортируемую молекулу (например, средство РНКи).

[0246] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал полиэтиленгликоль(ПЭГ)-азидную реакциюноспособную группу, и при этом он имеет следующую структуру:



(Структура 36b).

[0247] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиганд интегрина $\alpha\nu\beta6$ имеет следующую структуру:



(Структура 37).

[0248] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha\nu\beta6$ Структуры 37 связан с одной или несколькими транспортируемыми молекулами (например, средством РНКи (средствами РНКи)).

[0249] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрина $\alpha\nu\beta6$ может быть синтезирован так, чтобы он включал реакциюноспособную группу, защищенную реакциюноспособную группу или транспортируемую молекулу, и при этом он имеет следующую структуру:

25a, Структуре 25b, Структуре 27a, Структуре 27b, Структуре 29a, Структуре 29b, Структуре 30a, Структуре 30b, Структуре 31a, Структуре 31b, Структуре 32a, Структуре 32b, Структуре 33a, Структуре 33b, Структуре 34a, Структуре 34b, Структуре 35a, Структуре 35b, Структуре 36a, Структуре 36b, Структуре 37a, Структуре 35a, Структуре 35b, Структуре 36a, Структуре 36b, Структуре 37a или Структуре 37b, может быть использована для присоединения лиганда интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ к интересующей молекуле, то есть к транспортируемой молекуле, такой как средство РНКи. Транспортируемая молекула может представлять собой любую молекулу, которая желательна для нацеливания на клетку, экспрессирующую $\alpha\upsilon\beta6$ интегрин.

Мультидентатные лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ и каркасы

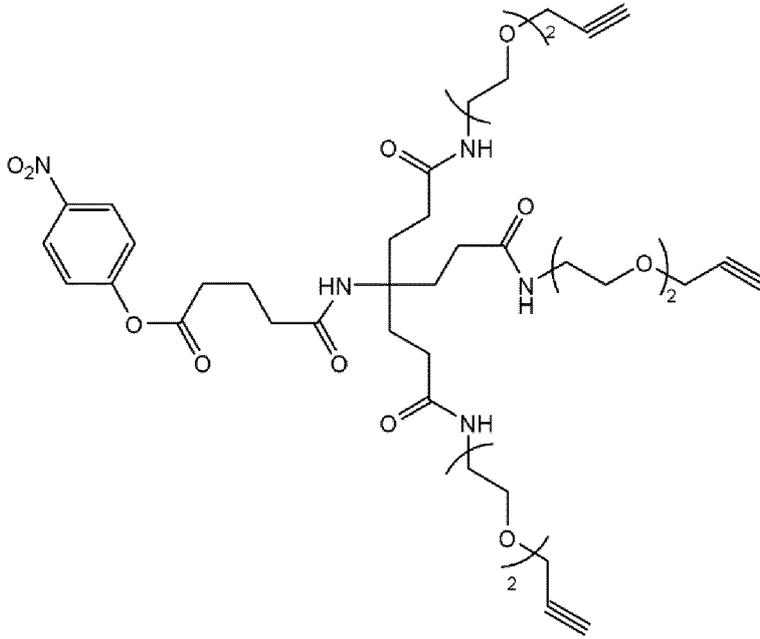
[0252] Как раскрыто здесь, в некоторых вариантах осуществления один или несколько лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ могут быть соединены или связаны с одной или несколькими транспортируемыми молекулами. В некоторых вариантах осуществления изобретения только один лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгирован с транспортируемой молекулой (обозначено здесь как "монодентатный" или "одновалентный" лиганд). В некоторых вариантах осуществления изобретения два лиганда интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгированы с транспортируемой молекулой (обозначено здесь как "бидентатный" или "двухвалентный" лиганд). В некоторых вариантах осуществления три лиганда интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгированы с транспортируемой молекулой (обозначено здесь как "тридентатный" или "трехвалентный" лиганд). В некоторых вариантах осуществления изобретения четыре лиганда интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгированы с транспортируемой молекулой (обозначено здесь как "тетрадентатный" или "четырёхвалентный" лиганд). В некоторых вариантах осуществления изобретения с транспортируемой молекулой могут быть конъюгированы более четырех лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$.

[0253] В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда только один лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгирован с транспортируемой молекулой (обозначено здесь как "монодентатный" лиганд), лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ может быть конъюгирован непосредственно с транспортируемой молекулой. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, раскрытый здесь, может быть конъюгирован с транспортируемой молекулой через каркас или другую линкерную структуру.

[0254] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, описанные здесь, включают один или несколько каркасов. Каркасы, также иногда упоминаемые в данной области как линкерные группы или линкеры, могут быть использованы для облегчения связывания одной или нескольких транспортируемых молекул с одним или несколькими лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, описанными здесь. Подходящие каркасы, совместимые с описанными здесь лигандами, известны в данной области техники. Неограничивающие примеры каркасов, которые могут быть использованы с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, описанными здесь, включают, без ограничения, полимеры и полиаминокислоты (например, бис-глутаминовую кислоту, поли-L-лизин и т.п.). В некоторых вариантах осуществления изобретения каркасы могут

включать цистеиновые линкеры или группы, DBCO-PEG₁₋₂₄-NHS, пропаргил-PEG₁₋₂₄-NHS и/или мультидентатные DBCO и/или пропаргильные фрагменты

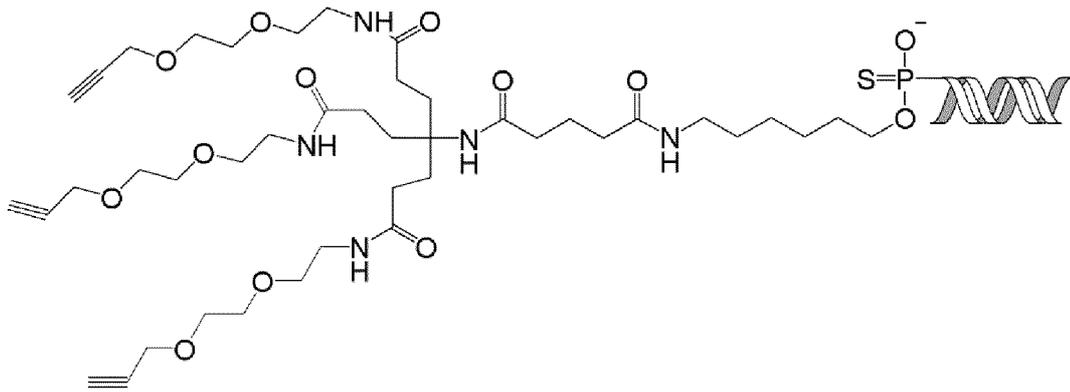
[0255] В некоторых вариантах осуществления изобретения каркас, используемый для связывания одного или нескольких лигандов $\alpha\nu\beta\delta$, раскрытых здесь, с одной или несколькими транспортируемыми молекулами, имеет следующую структуру:



(Каркас 1).

[0256] Использование Каркаса 1 облегчает, например, эффективную конъюгацию как с мономерными лигандами $\alpha\nu\beta\delta$, так и с одной или несколькими транспортируемыми молекулами. Каркас 1 включает амин-реакционноспособный п-нитрофенол (также называемый 4-нитрофенолом), амидную связь и три единицы ПЭГ₂, а также концевые алкины. Эфир 4-нитрофенола может быть конъюгирован с первичным амином на транспортируемой молекуле, таким как первичный амин на РНК-триггере, с концевой аминогруппой (например, NH₂-C₆), путем образования амида. Концевой алкин может быть конъюгирован с азидо-модифицированными лигандами (как с пептидами, так и с малыми молекулами) посредством клик-химии с использованием катализатора на основе меди.

[0257] В некоторых вариантах осуществления изобретения транспортируемая молекула представляет собой средство РНКи. В некоторых вариантах осуществления изобретения Каркас 1 может быть прикреплен к концу средства РНКи, например к 5'-концу смысловой цепи средства РНКи. Например, 5'-концевой конец смысловой цепи средства РНКи может быть модифицирован так, чтобы он включал C₆-амин (-C₆-NH₂), присоединенный к 5'-концу 5'-концевого нуклеотида средства РНКи. Средство РНКи, имеющее такую C₆-аминомодификацию (или другую модификацию, приводящую к концевому амину), может быть легко конъюгировано с Каркасом 1, как показано на следующей структуре:

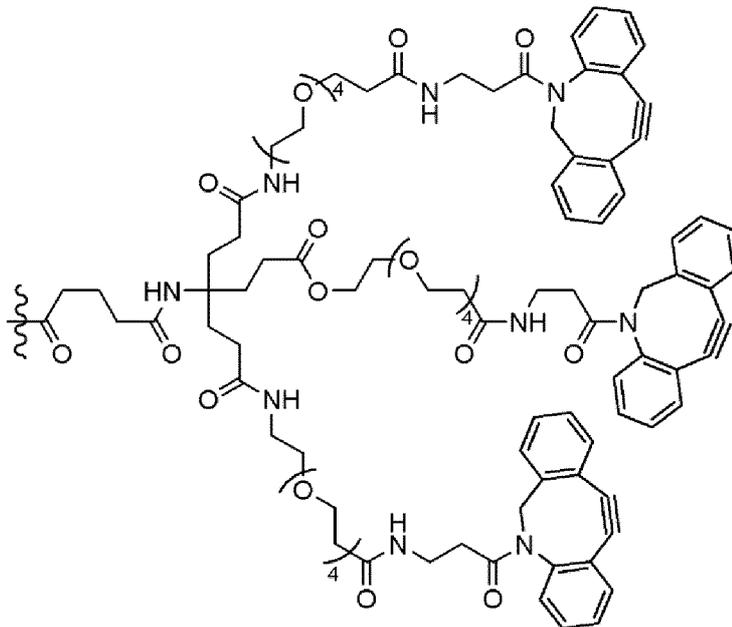


(Структура 380),

где  обозначает средство РНКи.

[0258] Алкиновые группы Структуры 380, показанной выше, затем могут быть конъюгированы с лигандами интегрин $\alpha\beta_6$, описанными здесь, с образованием тридентатных лигандов интегрин $\alpha\beta_6$.

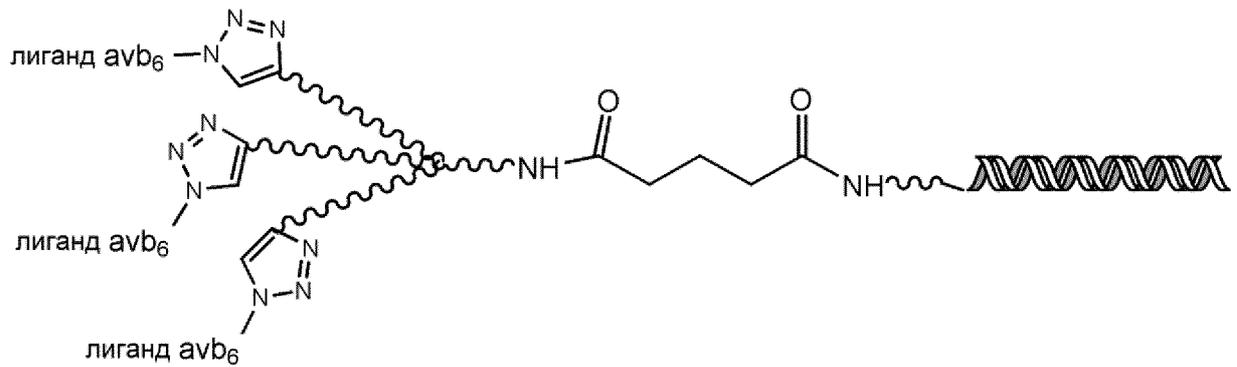
[0259] В некоторых вариантах осуществления изобретения, каркас может быть синтезирован с использованием DBCO (добензоциклооктин), и он может быть представлен следующей структурой:



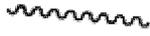
(Структура 381),

где  обозначает присоединение к реакционноспособной группе или к фрагменту, включающему транспортируемую молекулу.

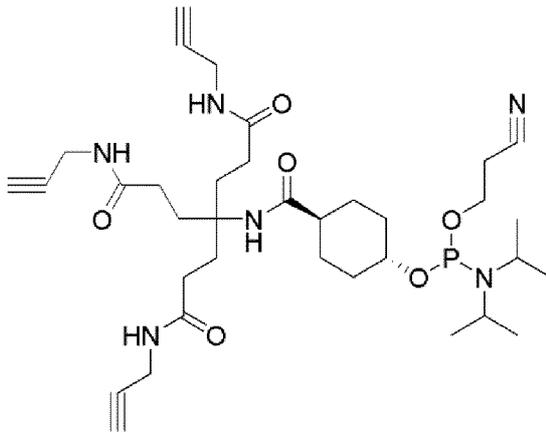
[0260] В некоторых вариантах осуществления изобретения, между средством РНКи и $\alpha\beta_6$ -интегриновыми лигандами, описанными здесь, используются триазольные группы, как показано на следующей общей структуре:



(Структура 390),

где  обозначают любые подходящие каркасы или линкерные группы, которые могут быть использованы для связывания лиганда с средством РНКи, и  обозначает средство РНКи.

[0261] В некоторых вариантах осуществления изобретения каркас может быть синтезирован в виде фосфорамидитного соединения, которое может позволить тридентатному лиганду легко соединяться с 5'-концом смысловой цепи средства РНКи, посредством фосфорамидитного синтеза, как показано на следующей структуре:



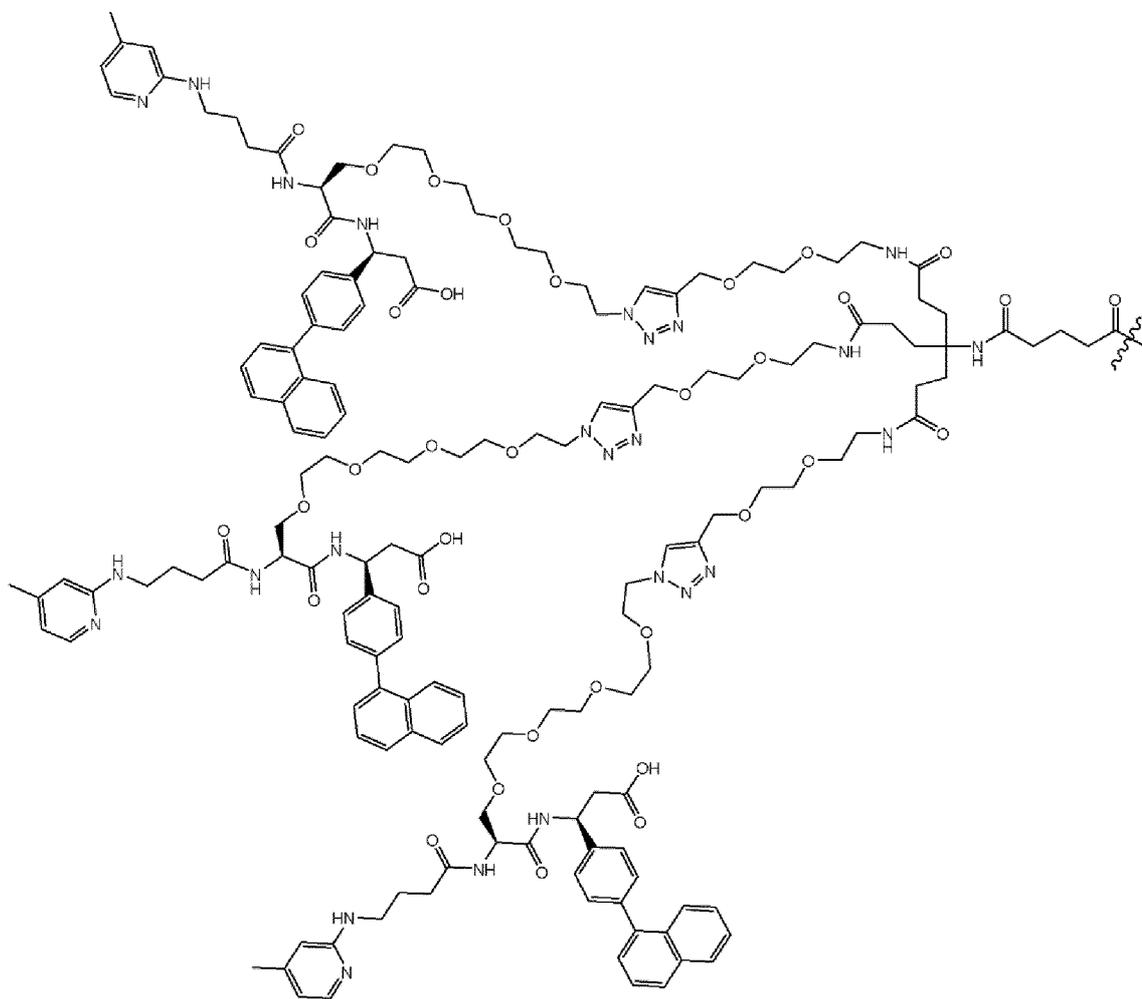
(Структура 400).

[0262] После синтеза с присоединением соединения Структуры 400 к 5'-концу смысловой цепи средства РНКи, концевые алкины могут быть соединены с лигандами интегрин $\alpha v \beta 6$, описанными здесь.

[0263] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанный здесь лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ содержит Структуру 1, Структуру 2, Структуру 5, Структуру 5.1, Структуру 2, Структуру 6, Структуру 6.1, Структуру 6.2, Структуру 6.3, Структуру 6, Структуру 7, Структуру 8, Структуру 9, Структуру 10, Структуру 11, Структуру 12, Структуру 13, Структуру 14, Структуру 15, Структуру 16, Структуру 17, Структуру 18, Структуру 19, Структуру 20, Структуру 22, Структуру 23, Структуру 24, Структуру 25, Структуру 27, Структуру 29, Структуру 23, Структуру 24, Структуру 25, Структуру 27, Структуру 29, Структуру 30, Структуру 31, Структуру 32, Структуру 33, Структуру 34, Структуру 35, Структуру 36 или Структуру 37, где лиганд интегрин $\alpha v \beta 6$ представляет

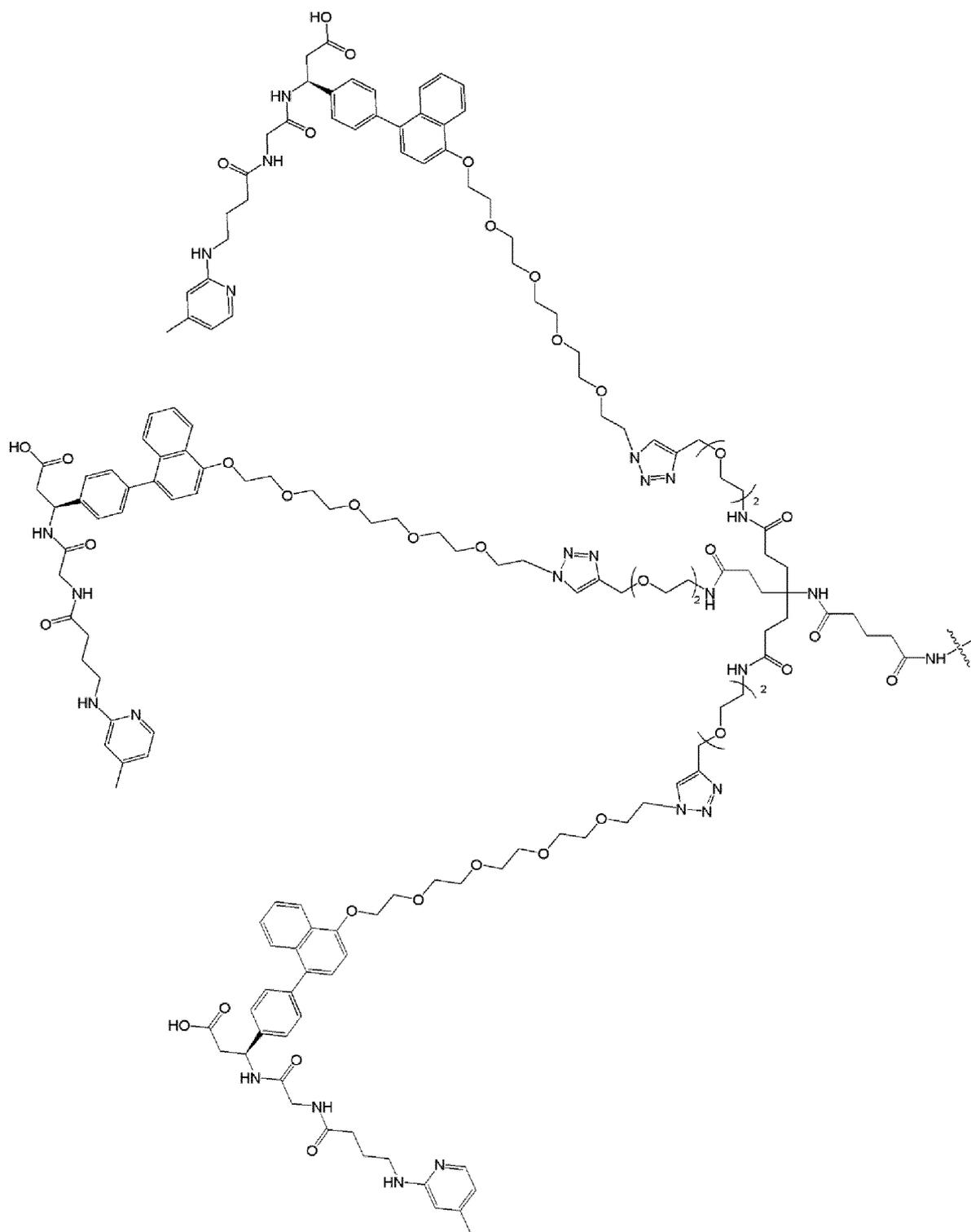
собой тридентатный лиганд, соединенный через каркас.

[0264] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, раскрытый здесь, включает Структуру 2 в тридентатной форме, как представлено на следующей структуре:



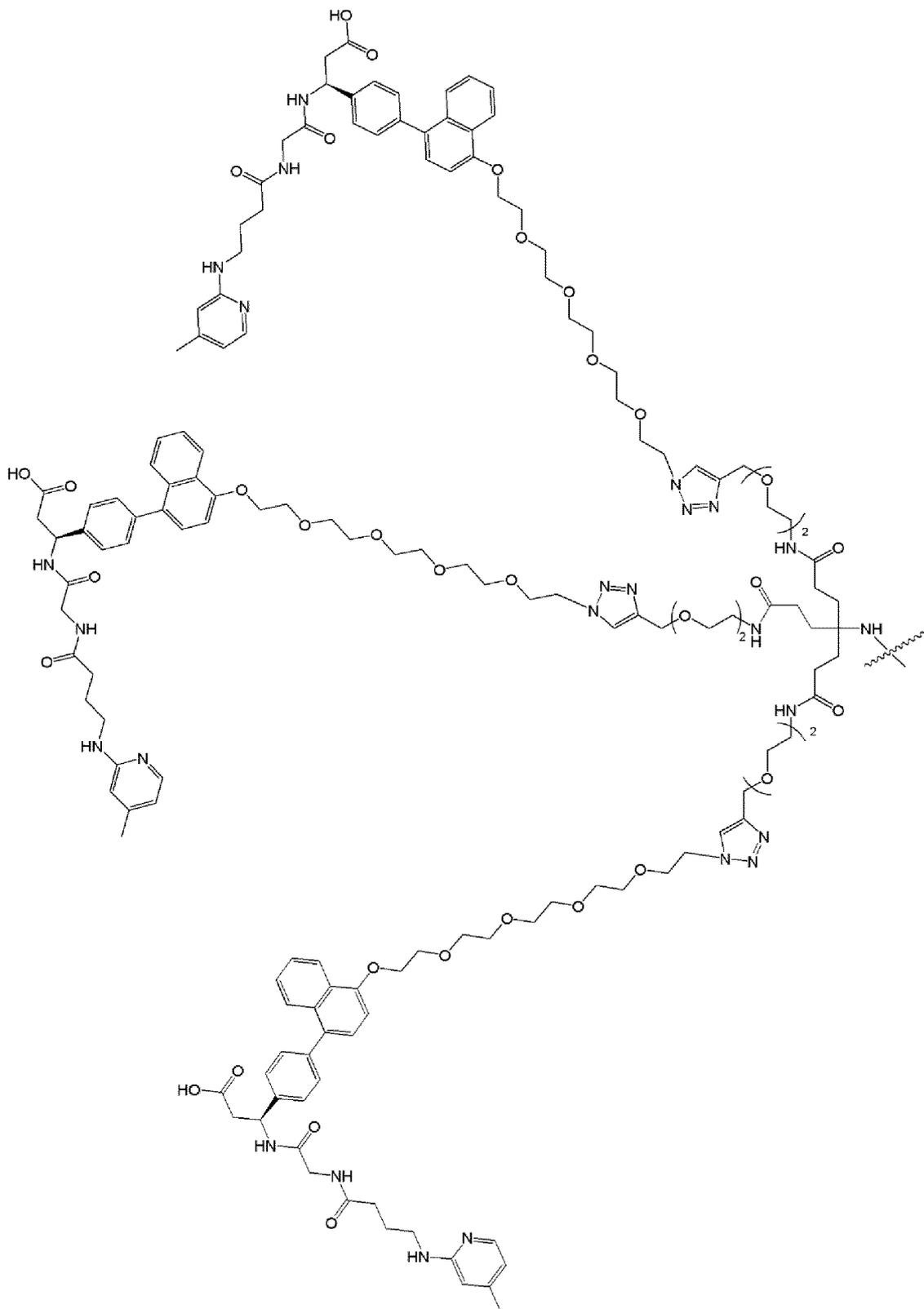
(Структура 700).

[0265] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, раскрытый здесь, включает Структуру 6.1 в тридентатной форме, как представлено на следующей структуре:



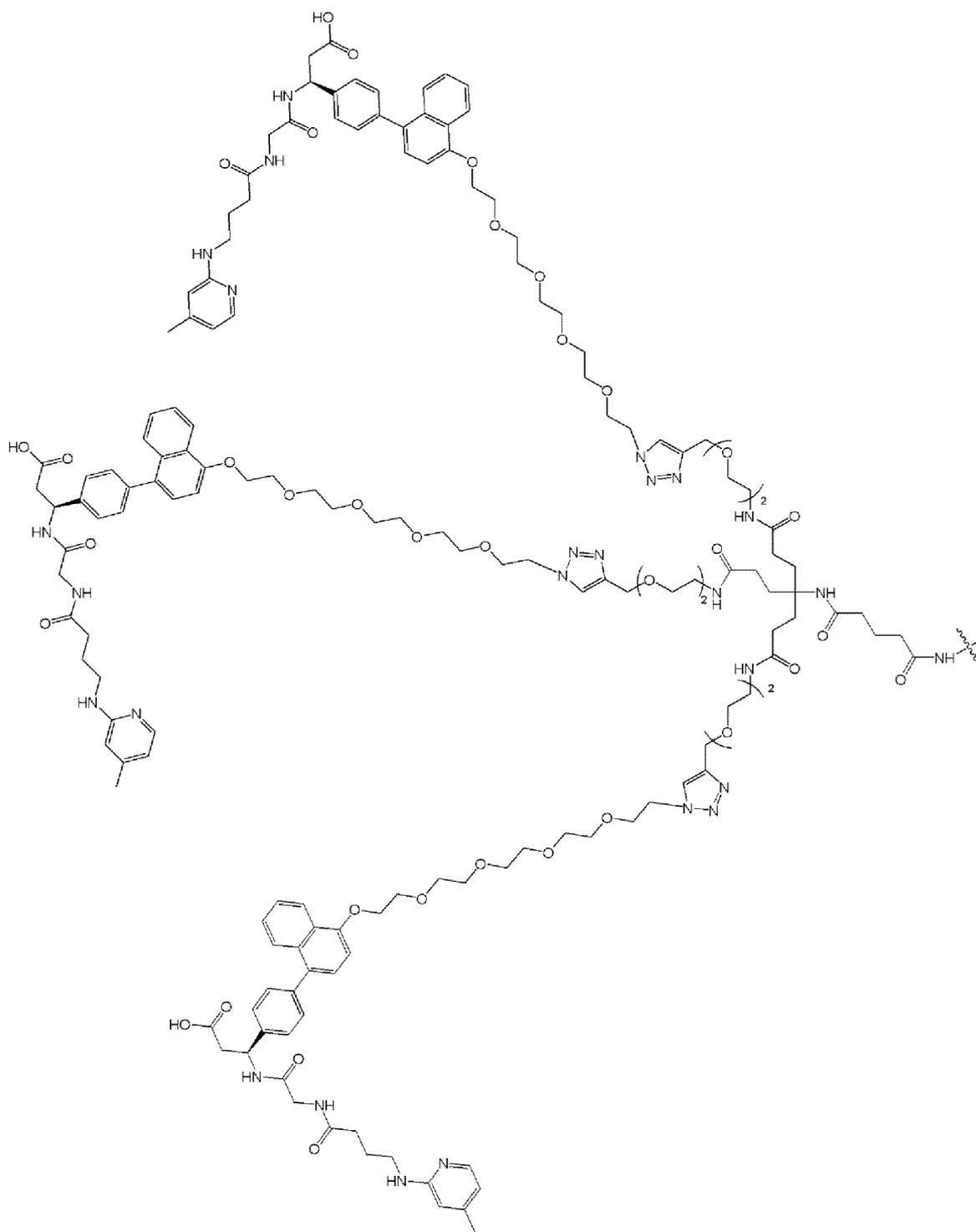
(Структура 701).

[0266] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha V\beta 6$, раскрытый здесь, включает Структуру 6.1 в тридентатной форме, как представлено на следующей структуре:



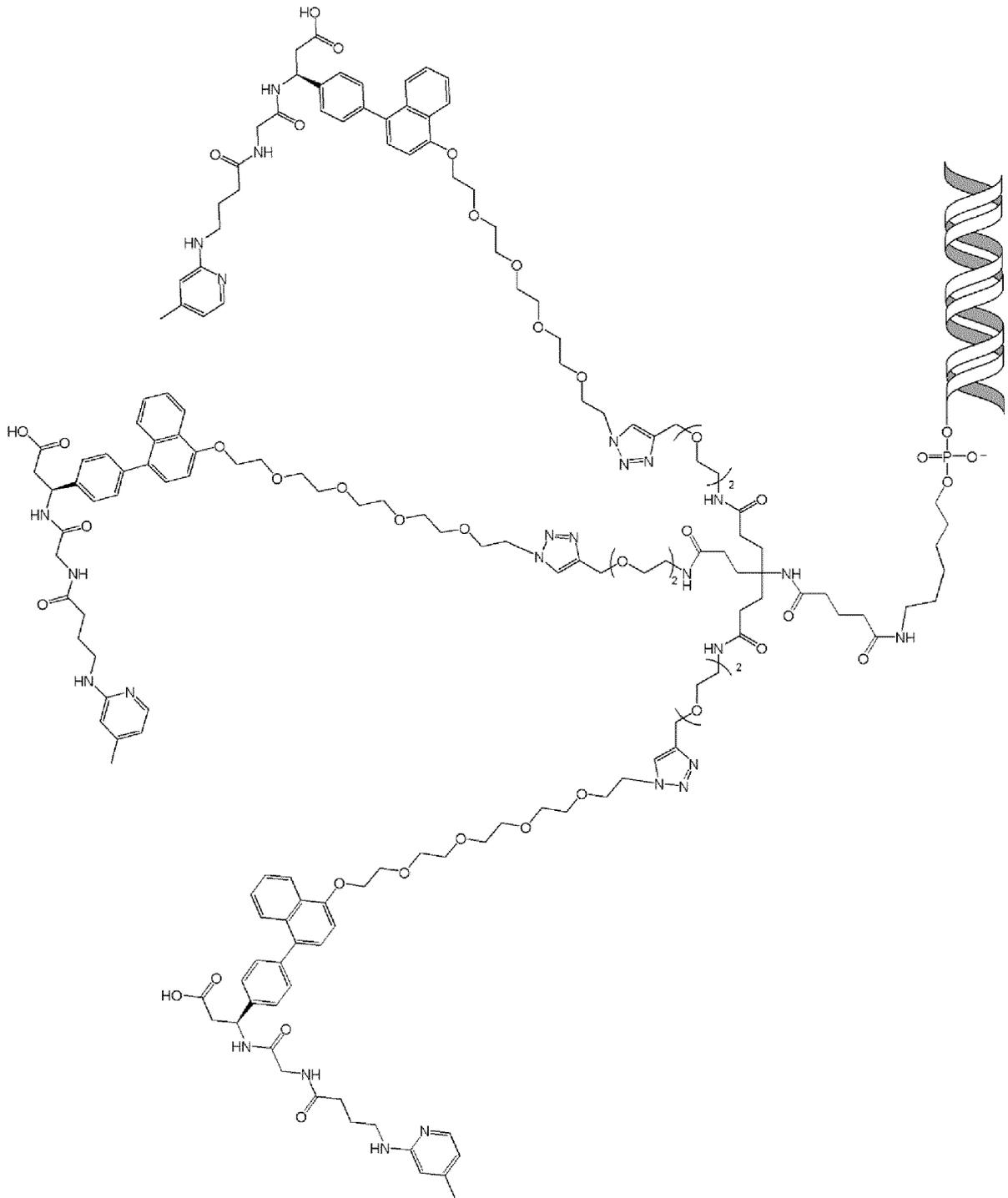
(Структура 701a).

[0267] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha V\beta 6$, раскрытый здесь, включает Структуру 6.1 в тридентатной форме, которая включает глутаровый линкер, как представлено на следующей структуре:



(Структура 701b).

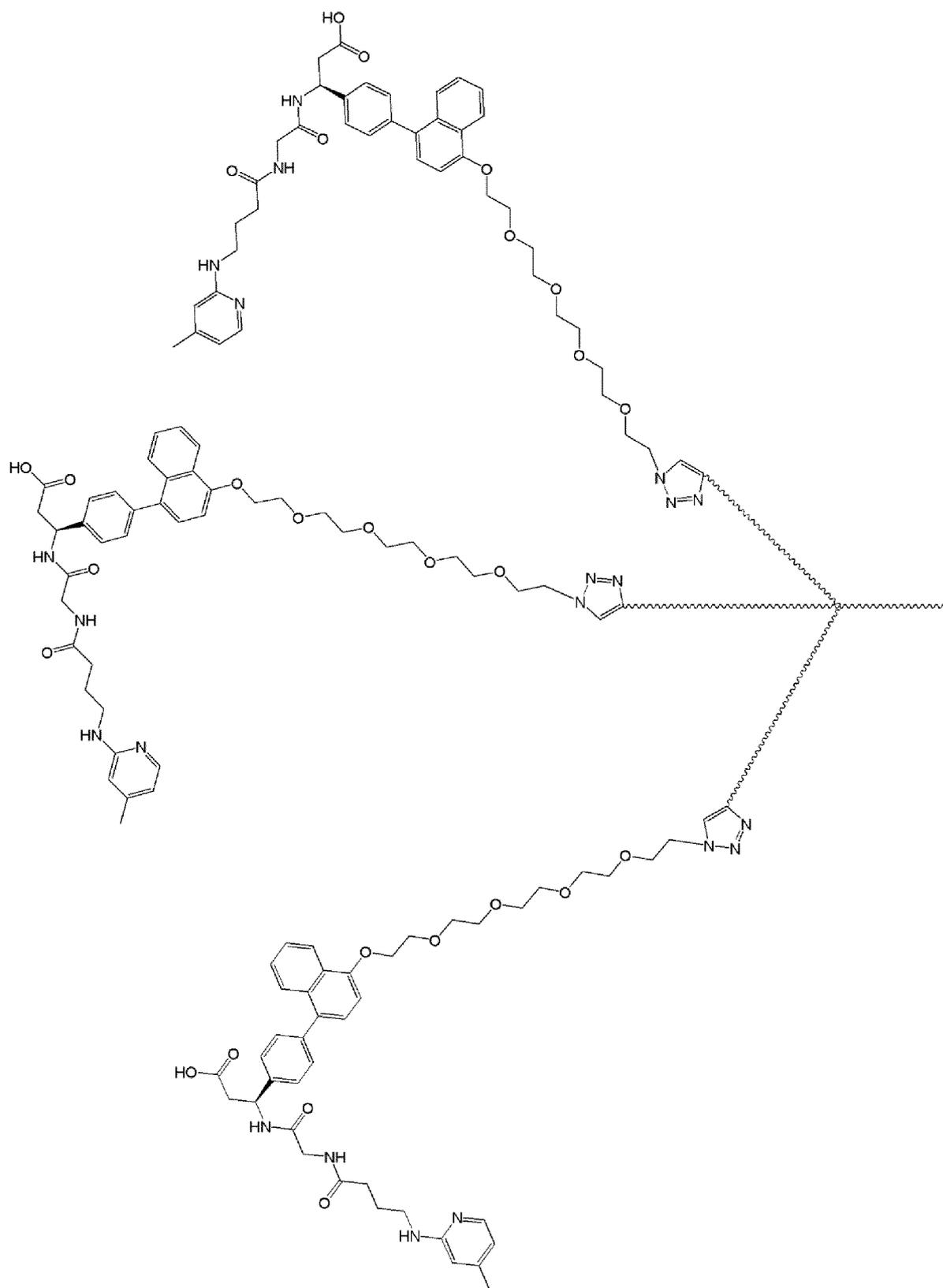
[0268] В некоторых вариантах осуществления изобретения, антагонист интегрина $\alpha V\beta 6$ включает Структуру 6.1 в тридентатной форме, конъюгированную со средством РНКи, как представлено на следующей структуре:



(Структура 701с),

где  обозначает средство РНКи.

[0269] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрина $\alpha\beta_6$, раскрытый здесь, включает Структуру 6.1 в тридентатной форме как представлено на следующей структуре:

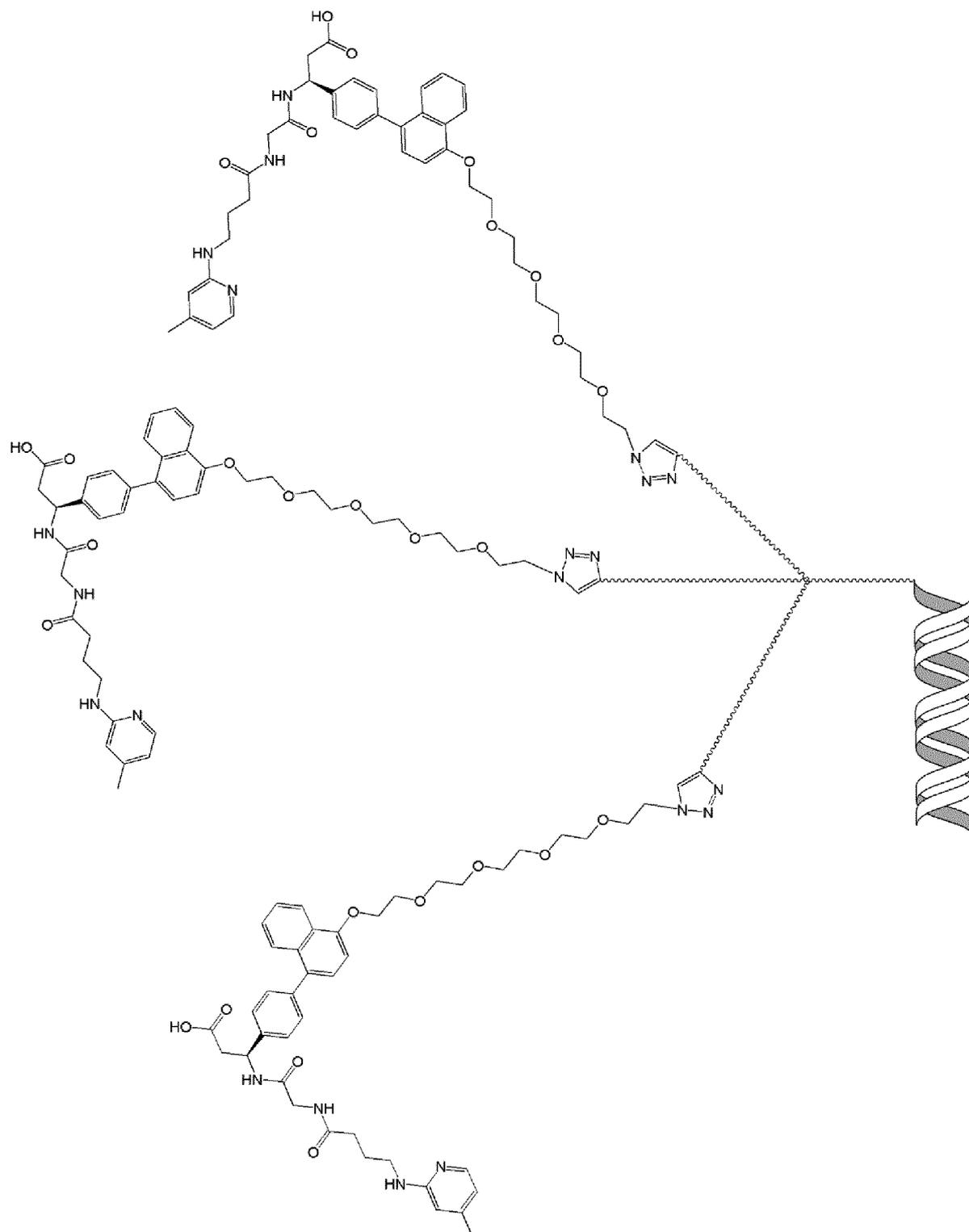


(Структура 701d),

где  обозначает любой подходящий каркас, который можно использовать для связывания лиганда и транспортируемой молекулы.

[0270] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ включает Структуру 6.1 в тридентатной форме, конъюгированную с средством РНКи, как

представлено на следующей структуре:



(Структура 701e),

где  обозначает любой подходящий каркас, который можно использовать

для связывания лиганда и средства РНКи, и  обозначает средство РНКи.

Реакционноспособные группы и защищенные реакционноспособные группы

[0271] Реакционноспособные группы хорошо известны в данной области, и они

обеспечивают образование ковалентных связей между двумя молекулами или реагентами. Подходящие реакционноспособные группы для использования в рамках изобретения включают, без ограничения: аминогруппы, амидные группы, группы карбоновых кислот, азиды, алкины, пропаргильные группы, BСN(бицикло[6.1.0]нонил, N-гидроксисукцинимид (NHS) или другой активированный сложный эфир (например, PNP, TFP, PFP), бром-группы, альдегиды, карбонаты, тозилаты, тетразины, транс-циклооктен (ТСО), гидразиды, гидроксильные группы, дисульфиды и ортопиридилдисульфидные группы.

[0272] Введение реакционноспособных групп может облегчить конъюгацию лиганда интегрин $\alpha\beta6$, раскрытого здесь, с транспортируемой молекулой. Реакции конъюгации хорошо известны в данной области, и они обеспечивают образование ковалентных связей между двумя молекулами или реагентами. Подходящие реакции конъюгации для использования в рамках изобретения включают, без ограничения, реакцию амидного сочетания, реакцию присоединения Михаэля, реакцию с образованием гидразона и реакцию циклоприсоединения методами клик-химии.

[0273] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанных здесь, лиганды, нацеленные на интегрин $\alpha\beta6$, синтезируют в виде сложного эфира тетрафторфенила (TFP), который может быть замещен реакционноспособной аминогруппой для присоединения к транспортируемой молекуле. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганды, нацеленные на интегрин, описанные здесь, синтезируют в виде азида, который может быть конъюгирован с пропаргильной или DBCO группой, например, посредством реакции циклоприсоединения методами клик-химии, для присоединения транспортируемые молекулы.

[0274] Защищенные реакционноспособные группы также широко используются в данной области. Защитная группа обеспечивает временное химическое превращение реакционноспособной группы в группу, которая не взаимодействует в условиях, когда реагирует незащищенная группа, например, чтобы обеспечить химио-селективность в последующей химической реакции. Подходящие защищенные реакционноспособные группы для использования в рамках изобретения включают, без ограничения, группы BOC (трет-бутоксикарбонил), Fmoc (9-флуоренилметоксикарбонил), карбоксибензильные (CBZ) группы, бензиловые эфиры и PBF (2,2,4,6,7-пентаметилдигидробензофуран-5-сульфонил).

Транспортируемые молекулы (включая средства РНКи)

[0275] Транспортируемая молекула представляет собой любую молекулу, которая при отделении от описанных здесь лигандов интегрин $\alpha\beta6$ будет оказывать желаемое воздействие на клетку, содержащую рецептор интегрин $\alpha\beta6$. Транспортируемая молекула может представлять собой, без ограничения, фармацевтический ингредиент, лекарственный продукт, пролекарство, вещество с известным терапевтическим действием, малую молекулу, антитело, фрагмент антитела, иммуноглобулин, моноклональное антитело, метку или маркер, липид, природную или модифицированную нуклеиновую

кислоту или полинуклеотид, пептид, полимер, полиамин, белок, аптамер, токсин, витамин, ПЭГ, гаптен, дигоксигенин, биотин, радиоактивный атом или молекулу, или флуорофор. В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или несколько транспортируемых молекул (например, одинаковые или различные транспортируемые молекулы) связаны с одним или несколькими лигандами интегрина $\alpha\upsilon\beta 6$ для нацеливания на клетку, экспрессирующую интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$.

[0276] В некоторых вариантах осуществления одна или несколько транспортируемых молекул представляют собой фармацевтический ингредиент или фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько транспортируемых молекул представляет собой соединение на основе олигонуклеотида. Используемый здесь термин "соединение на основе олигонуклеотида" относится к нуклеотидной последовательности, содержащей приблизительно 10-50 (например, от 10 до 48, от 10 до 46, от 10 до 44, от 10 до 42, от 10 до 40, от 10 до 38, от 10 до 36, от 10 до 34, от 10 до 32, от 10 до 30, от 10 до 28, от 10 до 26, от 10 до 24, от 10 до 22, от 10 до 20, от 10 до 18, от 10 до 16, от 10 до 14, от 10 до 12, от 12 до 50, от 12 до 48, от 12 до 46, от 12 до 44, от 12 до 42, от 12 до 40, от 12 до 38, от 12 до 36, от 12 до 34, от 12 до 32, от 12 до 30, от 12 до 28, от 12 до 26, от 12 до 24, от 12 до 22, от 12 до 20, от 12 до 18, от 12 до 16, от 12 до 14, от 14 до 50, от 14 до 48, от 14 до 46, от 14 до 44, от 14 до 42, от 14 до 40, от 14 до 38, от 14 до 36, от 14 до 34, от 14 до 32, от 14 до 30, от 14 до 28, от 14 до 26, от 14 до 24, от 14 до 22, от 14 до 20, от 14 до 18, от 14 до 16, от 16 до 50, от 16 до 48, от 16 до 46, от 16 до 44, от 16 до 42, от 16 до 40, от 16 до 38, от 16 до 36, от 16 до 34, от 16 до 32, от 16 до 30, от 16 до 28, от 16 до 26, от 16 до 24, от 16 до 22, от 16 до 20, от 16 до 18, от 18 до 50, от 18 до 48, от 18 до 46, от 18 до 44, от 18 до 42, от 18 до 40, от 18 до 38, от 18 до 36, от 18 до 34, от 18 до 32, от 18 до 30, от 18 до 28, от 18 до 26, от 18 до 24, от 18 до 22, от 18 до 20, от 20 до 50, от 20 до 48, от 20 до 46, от 20 до 44, от 20 до 42, от 20 до 40, от 20 до 38, от 20 до 36, от 20 до 34, от 20 до 32, от 20 до 30, от 20 до 28, от 20 до 26, от 20 до 24, от 20 до 22, от 22 до 50, от 22 до 48, от 22 до 46, от 22 до 44, от 22 до 42, от 22 до 40, от 22 до 38, от 22 до 36, от 22 до 34, от 22 до 32, от 22 до 30, от 22 до 28, от 22 до 26, от 22 до 24, от 24 до 50, от 24 до 48, от 24 до 46, от 24 до 44, от 24 до 42, от 24 до 40, от 24 до 38, от 24 до 36, от 24 до 34, от 24 до 32, от 24 до 30, от 24 до 28, от 24 до 26, от 26 до 50, от 26 до 48, от 26 до 46, от 26 до 44, от 26 до 42, от 26 до 40, от 26 до 38, от 26 до 36, от 26 до 34, от 26 до 32, от 26 до 30, от 26 до 28, от 28 до 50, от 28 до 48, от 28 до 46, от 28 до 44, от 28 до 42, от 28 до 40, от 28 до 38, от 28 до 36, от 28 до 34, от 28 до 32, от до 28 до 30, от 30 до 50, от 30 до 48, от 30 до 46, от 30 до 44, от 30 до 42, от 30 до 40, от 30 до 38, от 30 до 36, от 30 до 34, от 30 до 32, от 32 до 50, от 32 до 48, от 32 до 46, от 32 до 44, от 32 до 42, от 32 до 40, от 32 до 38, от 32 до 36, от 32 до 34, от 34 до 50, от 34 до 48, от 34 до 46, от 34 до 44, от 34 до 42, от 34 до 40, от 34 до 38, от 34 до 36, от 36 до 50, от 36 до 48, от 36 до 46, от 36 до 44, от 36 до 42, от 36 до 40, от 36 до 38, от 38 до 50, от 38 до 48, от 38 до 46, от 38 до 44, от 38 до 42, от 38 до 40, от 40 до 50, от 40 до 48, от 40 до 46, от 40 до 44, от 40 до 42, от 42 до 50, от 42 до 48, от 42 до 46, от 42 до 44, от 44 до 50, от 44 до 48, от 44 до 46, от 46 до 50, от 46 до 48 или от 48

до 50) нуклеотидов или пар нуклеотидных оснований. В некоторых вариантах осуществления соединения на основе олигонуклеотида имеет нуклеотидную последовательность, которая, по меньшей мере, частично комплементарна кодирующей последовательности в экспрессированной нуклеиновой кислоте-мишени или в гене-мишени в клетке. В некоторых вариантах осуществления изобретения, соединения на основе олигонуклеотида при доставке в клетку, экспрессирующую ген, способны ингибировать экспрессию указанного гена, и они называются здесь соединениями на основе олигонуклеотида, ингибирующими экспрессию. Экспрессия гена может быть ингибирована в условиях *in vitro* или *in vivo*.

[0277] "Соединения на основе олигонуклеотида" включают, без ограничения следующие соединения: одноцепочечные олигонуклеотиды, одноцепочечные антисмысловые олигонуклеотиды, короткие интерферирующие РНК (siRNA), двухцепочечные РНК (dsRNA), микро РНК (miRNA), короткошпилечные РНК (shRNA), рибозимы, интерферирующие молекулы РНК и дайсер-субстраты. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение на основе олигонуклеотида представляет собой одноцепочечный олигонуклеотид, такой как антисмысловый олигонуклеотид. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение на основе олигонуклеотида представляет собой двухцепочечный олигонуклеотид. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение на основе олигонуклеотида представляет собой двухцепочечный олигонуклеотид, который является средством РНКи.

[0278] В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или несколько транспортируемых молекул представляют собой "средство РНКи", которое, как определено здесь, представляет собой композицию, которая содержит молекулу олигонуклеотида РНК или РНК-подобного соединения (например, химически модифицированной РНК), которая способна разрушать или ингибировать трансляцию транскриптов информационной РНК (мРНК) целевой мРНК специфическим для последовательности образом. Как используется здесь, средства РНКи могут действовать через РНК-интерференционный механизм (т.е. индуцируя РНК-интерференцию посредством взаимодействия с аппаратом пути РНК-интерференции (индуцируемый РНК комплекс сайленсинга или RISC) клеток млекопитающих) или посредством любого альтернативного механизма (механизмов) или пути (путей). Хотя считается, что средства РНКи, как обозначено здесь, действуют в основном через механизм РНК-интерференции, раскрытые средства РНКи не связаны или не ограничены каким-либо конкретным путем или механизмом действия. Средства РНКи включают, без ограничения: одноцепочечные олигонуклеотиды, одноцепочечные антисмысловые олигонуклеотиды, короткие интерферирующие RNA (siRNA), двухцепочечные RNA (dsRNA), микро RNA (miRNA), короткошпилечные РНК (shRNA) и дайсер-субстраты. Антисмысловая цепь средств РНКи, описанных здесь, по меньшей мере частично комплементарна мРНК, которая является мишенью. Средства РНКи могут включать один или несколько модифицированных нуклеотидов и/или одну или несколько связей, которые не являются

фосфодиэфирными связями.

[0279] Как правило, средства РНКи могут состоять, по меньшей мере, из смысловой цепи (также называемой сопровождающей цепью), которая включает первую последовательность, и антисмысловой цепи (также называемой направляющей цепью), которая включает вторую последовательность. Длина смысловой и антисмысловой цепей средства РНКи может иметь длину из от 16 до 49 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения смысловые и антисмысловые цепи средства РНКи независимо имеют длину, составляющую от 17 до 26 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения смысловые и антисмысловые цепи имеют длину из от 19 до 26 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения смысловые и антисмысловые цепи независимо имеют длину из от 21 до 26 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения смысловые и антисмысловые цепи независимо имеют длину из от 21 до 24 нуклеотидов. Смысловые и антисмысловые цепи могут иметь одинаковую длину или разную длину. Средства РНКи включают последовательность антисмысловой цепи, которая по меньшей мере частично комплементарна последовательности в гене-мишени, и при доставке в клетку, экспрессирующую мишень, средства РНКи могут ингибировать экспрессию одного или нескольких генов-мишеней в условиях *in vivo* или *in vitro*.

[0280] Соединения на основе олигонуклеотида, как правило, и, в частности, средства РНКи могут состоять из модифицированных нуклеотидов и/или одной или нескольких связей, которые не являются фосфодиэфирными связями. Используемый здесь термин "модифицированный нуклеотид" представляет собой нуклеотид, отличный от рибонуклеотида (2'-гидроксильного нуклеотида). В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере 50% (например, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды. В рамках настоящего изобретения модифицированные нуклеотиды включают, без ограничения, дезоксирибонуклеотиды, нуклеотидные миметики, нуклеотиды с удаленными основаниями, 2'-модифицированные нуклеотиды, (инвертированные) нуклеотиды с 3'-3' связями, нуклеотиды, содержащие неприродные основания, мостиковые нуклеотиды, пептид-нуклеиновые кислоты, 2',3'-секо нуклеотидные миметики (незамкнутые аналоги нуклеиновых оснований, замкнутые нуклеотиды, нуклеотиды с 3'-О-метокси (2' интернуклеозидными связями), 2'-F-арабино-нуклеотиды, 5'-Me, 2'-фтор-нуклеотиды, морфолино-нуклеотиды, винилфосфонат-деоксирибонуклеотиды, содержащие винилфосфонат нуклеотиды и содержащие циклопропилфосфонат нуклеотиды. 2'-модифицированные нуклеотиды (т.е. нуклеотиды с группой, не являющейся гидроксильной группой, в положении 2' пятичленного кольца сахаров) включают, без ограничения, 2'-О-метил нуклеотиды, 2'-деокси-2'-фтор нуклеотиды, 2'-деокси нуклеотиды, 2'-метоксиэтил (2'-О-2-метоксиэтил) нуклеотиды, 2'-амино нуклеотиды и 2'-алкил нуклеотиды.

[0281] Кроме того, один или несколько нуклеотидов в соединении на основе олигонуклеотида, такого как средство РНКи, могут быть связаны нестандартными связями или каркасами (т.е. модифицированными межнуклеозидными связями или модифицированными каркасами). Модифицированная межнуклеозидная связь может представлять собой нефосфатную ковалентную межнуклеозидную связь. Модифицированные межнуклеозидные связи или каркасы включают, без ограничения, 5'-фосфоротиоатные группы, хиральные фосфоротиоаты, тиофосфаты, фосфоротиоаты, фосфотриэфиры, аминоалкил-фосфотриэфиры, алкилфосфонаты (например, метилфосфонаты или 3'-алкиленфосфонаты), хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфораматы (например, 3'-аминофосфорамидат, аминоалкилфосфорамидаты или тионофосфорамидаты), тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры, морфолиновые связи, боранфосфаты, имеющие нормальные 3'-5'-связи, 2'-5'-связанные аналоги боранфосфатов, или боранфосфаты с инвертированной полярностью, где смежные пары нуклеозидных звеньев связаны как 3'-5' с 5'-3' или 2'-5' с 5'-2'.

[0282] Не обязательно, чтобы все положения в таком соединении были одинаково модифицированы. Наоборот, в одно соединение на основе олигонуклеотида или даже в один его нуклеотид может быть включена более чем одна модификация.

[0283] В некоторых вариантах осуществления изобретения транспортируемая молекула представляет собой средство РНКи для ингибирования экспрессии гена альфа-ЕНас. Транспортируемая молекула может представлять собой средство РНКи, описанное в международной патентной заявке РСТ/US18/40874, которая включена во всей своей полноте в настоящее описание путем ссылки.

[0284] Смысловые и антисмысловые цепи средства РНКи могут быть синтезированы и/или модифицированы известными в данной области методами. Например, сведения о средствах РНКи, направленных на ингибирование экспрессии альфа-ЕНас, можно найти, например, в публикации международной патентной заявки ВО 2008/152131, которая включена во всей своей полноте в настоящее описание путем ссылки. Дополнительные сведения, относящиеся к средствам РНКи, могут быть найдены, например, при описании модификаций, например, в международной патентной заявке РСТ/US2017/045446 (заявитель Arrowhead Pharmaceuticals, Inc), содержание которой включено в настоящее описание во всей своей полноте посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или несколько транспортируемых молекул могут включать или состоять из фрагмента ПЭГ (PEG), который может действовать как фармакокинетический (ФК) модулятор. В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или несколько транспортируемых молекул могут включать фрагмент ПЭГ, имеющий приблизительно 20-900 звеньев этиленоксида ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$) (например, от 20 до 850, от 20 до 800, от 20 до 750, от 20 до 700, от 20 до 650, от 20 до 600, от 20 до 550, от 20 до 500, от 20 до 450, от 20 до 400, от 20 до 350, от 20 до 300, от 20 до 250, от 20 до 200, от 20 до 150, от 20 до 100, от 20 до 75, от 20 до 50, от 100 до 850, от 100 до 800, от 100 до 750, от 100 до 700, от 100 до 650, от 100 до 600, от 100 до 550, от 100 до 500, от 100 до

450, от 100 до 400, от 100 до 350, от 100 до 300, от 100 до 250, от 100 до 200, от 100 до 150, от 200 до 850, от 200 до 800, от 200 до 750, от 200 до 700, от 200 до 650, от 200 до 600, от 200 до 550, от 200 до 500, от 200 до 450, от 200 до 400, от 200 до 350, от 200 до 300, от 200 до 250, от 250 до 900, от 250 до 850, от 250 до 800, от 250 до 750, от 250 до 700, от 250 до 650, от 250 до 600, от 250 до 550, от 250 до 500, от 250 до 450, от 250 до 400, от 250 до 350, от 250 до 300, от 300 до 900, от 300 до 850, от 300 до 800, от 300 до 750, от 300 до 700, от 300 до 650, от 300 до 600, от 300 до 550, от 300 до 500, от 300 до 450, от 300 до 400, от 300 до 350, от 350 до 900, от 350 до 850, от 350 до 800, от 350 до 750, от 350 до 700, от 350 до 650, от 350 до 600, от 350 до 550, от 350 до 500, от 350 до 450, от 350 до 400, от 400 до 900, от 400 до 850, от 400 до 800, от 400 до 750, от 400 до 700, от 400 до 650, от 400 до 600, от 400 до 550, от 400 до 500, от 400 до 450, от 450 до 900, от 450 до 850, от 450 до 800, от 450 до 750, от 450 до 700, от 450 до 650, от 450 до 600, от 450 до 550, от 450 до 500, от 500 до 900, от 500 до 850, от 500 до 800, от 500 до 750, от 500 до 700, от 500 до 650, от 500 до 600, от 500 до 550, от 550 до 900, от 550 до 850, от 550 до 800, от 550 до 750, от 550 до 700, от 550 до 650, от 550 до 600, от 600 до 900, от 600 до 850, от 600 до 800, от 600 до 750, от 600 до 700, от 600 до 650, от 650 до 900, от 650 до 850, от 650 до 800, от 650 до 750, от 650 до 700, от 700 до 900, от 700 до 850, от 700 до 800, от 700 до 750, от 750 до 900, от 750 до 850, от 750 до 800, от 800 до 900, от 850 до 900 или 850 до 900 звеньев этиленоксида). В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или несколько транспортируемых молекул состоят из фрагмента ПЭГ, содержащего приблизительно 455 звеньев этиленоксида (молекулярная масса - приблизительно 20 килодальтон (кДа)). В некоторых вариантах осуществления изобретения фрагмент ПЭГ имеет молекулярную массу приблизительно 2 кДа. В некоторых вариантах осуществления изобретения фрагмент ПЭГ имеет молекулярную массу приблизительно 20 кДа. В некоторых вариантах осуществления изобретения фрагмент ПЭГ имеет молекулярную массу приблизительно 40 кДа. Фрагменты ПЭГ, описанные здесь, могут быть линейными или разветвленными. Фрагменты ПЭГ могут быть дискретными (монодисперсными) или недискретными (полидисперсными). Фрагмент ПЭГ для использования в качестве средства, улучшающего ФК транспортируемых молекул, могут быть приобретены из числа имеющихся в продаже. В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или несколько транспортируемых молекул включают фрагмент ПЭГ, который может действовать в качестве модулятора ФК или энхансера, а также они могут включать другую транспортируемую молекулу, такую как фармацевтически активный ингредиент или соединение.

[0285] Описанные лиганды интегрин $\alpha\beta6$ включают соли или их сольваты. Под сольватами лиганда интегрин $\alpha\beta6$ понимают аддукты молекул инертного растворителя и лиганда интегрин $\alpha\beta6$, которые образуются благодаря их взаимной силе притяжения. Сольваты представляют собой, например, моно- или дигидраты или аддитивные соединения со спиртами, например, такими как, метанол или этанол.

[0286] Свободные аминогруппы или свободные гидроксильные группы могут быть

представлены в качестве заместителей лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ с соответствующими защитными группами.

[0287] Лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ также включают, например, производные, т.е. лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, которые модифицированы, например, алкильными или ацильными группами, сахарами или олигопептидами, которые расщепляются в условиях *in vitro* или в организме.

[0288] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, раскрытый здесь, облегчает доставку транспортируемой молекулы в цитозоль клетки, презентирющей интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ на своей поверхности, через опосредованный лигандом эндоцитоз, пиноцитоз, или по другим механизмам. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, раскрытый здесь, облегчает доставку транспортируемой молекулы к плазматической мембране клетки, презентирющей интегрин $\alpha\upsilon\beta6$.

Фармацевтические композиции

[0289] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, которые содержат, или состоят, или по существу состоят из одного или нескольких лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, описанных здесь.

[0290] Используемый здесь термин "фармацевтическая композиция" включает фармакологически эффективное количество активного фармацевтического ингредиента (API) и, необязательно, один или несколько фармацевтически приемлемых эксципиентов. Фармацевтически приемлемые эксципиенты (вспомогательные добавки) представляют собой вещества, отличные от активного фармацевтического ингредиента (API, терапевтического продукта), которые специально включены в систему доставки лекарственного средства. Эксципиенты не оказывают или не предназначены для того, чтобы оказывать терапевтическое действие на предполагаемую дозу. Эксципиенты могут действовать в качестве вспомогательного средства а) для помощи при обработке системы доставки лекарственных средств во время их изготовления, б) для защиты, поддержки или увеличения стабильности, биодоступности или приемлемости API для пациента, с) для помощи при идентификации продукта и/или d) для улучшения любой другой характеристики, касающейся общей безопасности, эффективности и доставки API во время хранения или использования. Фармацевтически приемлемый эксципиент может быть инертным или не инертным веществом.

[0291] Эксципиенты включают, без ограничения: усилители всасывания, антиадгезивы, противовспенивающие агенты, антиоксиданты, связующие, буферные агенты, носители, средства для покрытия, красители, усилители доставки, полимеры для доставки, декстран, декстрозу, разбавители, дезинтегранты, эмульгаторы, средствами для увеличения объема продукта, наполнители, ароматизаторы, глиданты, увлажнители, смазывающие вещества, масла, полимеры, консерванты, солевой раствор, соли, растворители, сахара, суспендирующие агенты, матрицы с замедленным высвобождением, подсластители, загустители, регуляторы тоничности, носители, водоотталкивающие

агенты и смачиватели.

[0292] Фармацевтические композиции, описанные здесь, могут содержать другие дополнительные компоненты, обычно встречающиеся в фармацевтических композициях. В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительный компонент представляет собой фармацевтически активный материал. Фармацевтически активные материалы включают, без ограничения: противозудные средства, вяжущие, местные анестетики или противовоспалительные средства (например, антигистамин, дифенгидрамин и т.п.), лекарственное средство на основе малых молекул, антитело, фрагмент антитела, аптамеры и/или вакцину.

[0293] Фармацевтические композиции могут также содержать консерванты, солюбилизаторы, стабилизаторы, смачивающие агенты, эмульгаторы, подсластители, красители, одоранты, соли, для изменения осмотического давления, буферы, средства для покрытия или антиоксиданты. Композиции также могут содержать другой агент с известным терапевтическим действием.

[0294] Фармацевтические композиции можно вводить различными способами, в зависимости от того, требуется ли местное или системное лечение, а также от области, подлежащей лечению. Введение может быть осуществлено любым способом, известным в данной области, таким как, но без ограничения, местным (например, с использованием трансдермального пластыря), пульмональным (например, путем ингаляции или инсуффляции порошков или аэрозолей, в том числе с помощью небулайзера, путем внутритрахеального, интраназального введения), эпидермальным, трансдермальным, пероральным или парентеральным. Парентеральное введение включает, без ограничения, внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутрибрюшинное или внутримышечное введение или инфузию; подкожное (например, через имплантированное устройство), интракраниальное, интрапаренхимальное, интратекальное и интравентрикулярное введение. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтические композиции, описанные здесь, вводят посредством подкожной инъекции. Фармацевтические композиции можно вводить перорально, например, в форме таблеток, таблеток с покрытием, драже, твердых или мягких желатиновых капсул, растворов, эмульсий или суспензий. Введение также может быть осуществлено ректально, например, с использованием суппозитория; локально или чрескожно, например, с использованием мазей, кремов, гелей или растворов; или парентерально, например, используя растворы для инъекций.

[0295] Фармацевтические композиции, пригодные для инъекционного применения, содержат стерильные водные растворы (когда композиции растворимы в воде) или дисперсии, и стерильные порошки для экстратемпорального приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Подходящие носители для внутривенного введения включают физиологический солевой раствор, бактериостатическую воду, Cremophor ELM (BASF, Parsippany, NJ) или забуференный фосфатом физиологический раствор. Композиция должна быть стабильной в условиях производства и хранения, и она

должна быть защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибки. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль) и их подходящие смеси. Необходимая текучесть может поддерживаться, например, за счет использования средств для покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии, и за счет использования поверхностно-активных веществ. Во многих случаях в композиции предпочтительно включать средства для поддержания изотоничности, например, сахара, полиспирты, такие как маннит, сорбит, и хлорид натрия. Пролонгированное всасывание инъекруемых композиций может быть достигнуто путем включения в композицию средства, которое задерживает поглощение, например, моностеарата алюминия и желатина.

[0296] Стерильные растворы для инъекций могут быть получены путем введения активного соединения в требуемом количестве в подходящем растворителе вместе с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, с последующей стерилизацией фильтрованием. Обычно дисперсии получают путем введения активного соединения в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты из числа перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных инъекционных растворов, способы их получения включают вакуумную сушку и сублимационную сушку предварительно стерилизованного в стерильных условиях раствора, которые обеспечивают получение порошка активного ингредиента, с добавлением любого дополнительного желаемого ингредиента.

[0297] Композиции, пригодные для внутрисуставного введения, могут быть представлены в форме стерильной водной композиции любого из описанных здесь лигандов, которые могут находиться в микрокристаллической форме, например в форме водной микрокристаллической суспензии. Липосомные композиции или биологически разлагаемые полимерные системы также могут быть использованы для представления любого описанного здесь лиганда в формах для внутрисуставного и для офтальмологического введения.

[0298] Активные соединения могут быть использованы вместе с носителями, которые защищают соединение от быстрой элиминации из организма, например, в виде препарата с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и микрокапсулированные системы доставки. Могут быть использованы биоразлагаемые биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфир и полимолочная кислота. Способы получения таких композиций известны специалистам в данной области техники. Липосомные суспензии также могут быть использованы в качестве фармацевтически приемлемых носителей. Они могут быть получены в соответствии со способами, известными специалистам в данной области техники, например, как описано в патенте

США US 452811.

[0299] Фармацевтическая композиция может содержать и другие дополнительные компоненты, обычно используемые в составе фармацевтических композиций. Такие дополнительные компоненты включают без ограничения: противозудные средства, вяжущие, местные анестетики или противовоспалительные средства (например, антигистамин, дифенгидрамин и т.п.). Используемый здесь термин "фармакологически эффективное количество", "терапевтически эффективное количество" или просто "эффективное количество" относится к количеству фармацевтически активного агента для получения фармакологического, терапевтического или профилактического результата.

[0300] Лекарственные средства, содержащие интегрин $\alpha\beta_6$, также являются объектом настоящего изобретения, как и способы получения таких лекарственных средств, которые предусматривают включение одного или нескольких соединений, содержащих интегрин $\alpha\beta_6$, и, если желательно, одного или нескольких других веществ с известным терапевтическим действием, в фармацевтически приемлемую форму.

[0301] Лиганды интегрин $\alpha\beta_6$ и фармацевтические композиции, содержащие лиганды интегрин $\alpha\beta_6$, описанные здесь, могут быть упакованы или включены в набор, контейнер, упаковку или дозатор. Лиганды интегрин $\alpha\beta_6$ и фармацевтические композиции, содержащие лиганды интегрин $\alpha\beta_6$, могут быть упакованы в предварительно заполненные шприцы или флаконы.

Клетки, ткани и организмы, не относящиеся к людям

[0302] Клетки, ткани и организмы, не относящиеся к людям, которые содержат или включают по меньшей мере один из лигандов интегрин $\alpha\beta_6$, описанных здесь, охватываются настоящим изобретением. Клетку, ткань или организм, не относящийся к людям, получают путем доставки лиганда интегрин $\alpha\beta_6$ в клетку, ткань или организм любым способом, известным и доступным в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетка представляет собой клетку млекопитающего, включая, но без ограничения, клетку человека.

Нацеливающие группы, соединительные группы, модуляторы фармакокинетики (ФК) и носители для доставки

[0303] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ конъюгирован с одной или несколькими нуклеотидными группами, включая, но без ограничения, линкерную группу, фармакокинетический (ФК) модулятор, полимер для доставки или носитель для доставки. Нуклеотидная группа может усиливать нацеливание, направление, доставку или присоединение транспортируемых молекул. Примеры нацеливающих и линкерных групп представлены в Таблице А. Нуклеотидная группа может быть ковалентно связана с 3'- и/или 5'-концом смысловой цепи и/или антисмысловой цепи. В вариантах осуществления изобретения, где транспортируемая молекула представляет собой средство РНКи, это средство РНКи содержит нуклеотидную группу, связанную с 3'- и/или 5'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения нуклеотидная группа связана с 5'-концом

смысловой цепи средства РНКи. Лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ может быть связан с транспортируемой молекулой непосредственно или опосредованно через линкер/линкерную группу. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ связан с транспортируемой молекулой через лабильную, расщепляемую или обратимую связь или линкер.

[0304] В некоторых вариантах осуществления изобретения нуклеотидная группа усиливает фармакокинетические свойства или свойства биораспределения средства РНКи или конъюгата, к которому оно присоединено, для улучшения клеточноспецифического или тканеспецифического распределения и клеточноспецифического захвата конъюгата. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная группа увеличивает эндоцитоз средства РНКи.

[0305] Нацеливающие группы или нацеливающие фрагменты улучшают фармакокинетические или показатели биораспределения транспортируемых молекул, к которой они присоединены, для улучшения клеточноспецифического (включая, в некоторых случаях, органоспецифического) распределения и клеточноспецифического (или органоспецифического) захвата транспортируемых молекул. В некоторых вариантах осуществления изобретения нацеливающая группа может содержать лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, как описано здесь. В некоторых вариантах осуществления изобретения нацеливающая группа содержит линкер. В некоторых вариантах осуществления изобретения нацеливающая группа содержит модулятор ФК. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ связан с транспортируемой молекулой через линкер, такой как ПЭГ линкер, или через один, два или три остатка с удаленными основаниями и/или через рибидол (рибоза с удаленными основаниями) которые в некоторых случаях могут служить в качестве линкеров.

[0306] Могут быть синтезированы транспортные молекулы, имеющие реакционноспособную группу, такую как аминогруппа (также называемая здесь амином). В вариантах осуществления изобретения, где транспортируемая молекула представляет собой средство РНКи, реакционноспособная группа может быть связана по 5'-концу и/или 3'-концу. Реакционноспособная группа может быть использована затем для присоединения лиганда $\alpha\upsilon\beta6$ с использованием методов, известных в данной области.

[0307] Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения синтезируют средство РНКи, имеющее $\text{NH}_2\text{-C}_6$ -группу на 5'-конце смысловой цепи средства РНКи. Затем концевая аминогруппа может быть введена в реакцию образования конъюгата, например, с группой, которая включает лиганд, направленный на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$. В некоторых вариантах осуществления изобретения синтезируют средство РНКи, имеющее одну или несколько алкиновых групп на 5'-конце смысловой цепи средства РНКи. Концевая алкиновая группа (группы) затем может быть введена в реакцию образования конъюгата, например, с группой, которая включает лиганд, направленный на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$.

[0308] В некоторых вариантах осуществления линкерная группа конъюгирована с

лигандом $\alpha\beta6$. Линкерная группа облегчает ковалентную связь лиганда $\alpha\beta6$ с транспортируемой молекулой, фармакокинетическим (ФК) модулятором, полимером для доставки или носителем для доставки. Примеры линкерных групп включают, без ограничения: Alk-SMPT-C6, Alk-SS-C6, DBCO-TEG, Me-Alk-SS-C6 и C6-SS-Alk-Me, реакционноспособные группы, такие как первичные амины и алкины, алкильные группы, АВС-остатки/нуклеотиды, аминокислоты, три-алкин-функционализованные группы, рибиол и/или группы ПЭГ.

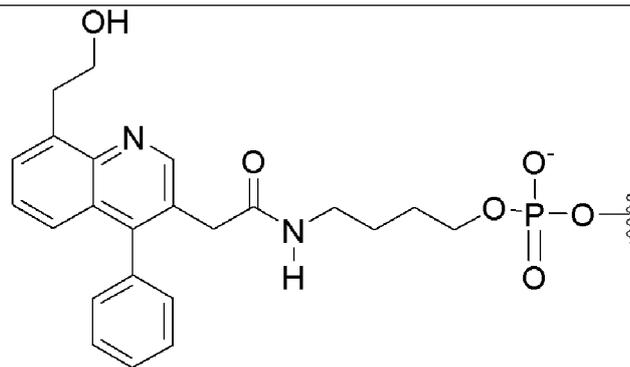
[0309] Линкер или линкерная группа представляет собой соединение, расположенное между двумя атомами, которое связывает одну химическую группу (такую как средство РНКи) или представляющий интерес сегмент, с другой химической группой (такой как лиганд интегрин $\alpha\beta6$, фармакокинетический модулятор или полимер для доставки) или представляющий интерес сегмент посредством одной или нескольких ковалентных связей. Лабильный линкер содержит лабильную связь. Связь может необязательно включать спейсер, который увеличивает расстояние между двумя соединенными атомами. Спейсер может дополнительно увеличивать гибкость и/или длину связи. Спейсеры включают, без ограничения, алкильные группы, алкенильные группы, алкинильные группы, арильные группы, аралкильные группы, аралкенильные группы и аралкилалкинильные группы; каждая из которых может содержать один или несколько гетероатомов, гетероциклов, аминокислот, нуклеотидов и сахаридов. Спейсерные группы хорошо известны в данной области техники, и представленный перечень не предназначен для ограничения объема изобретения.

[0310] В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганды интегрин $\alpha\beta6$ связаны с транспортируемыми молекулами без использования дополнительного линкера. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд интегрин $\alpha\beta6$ содержит линкер, облегчающий связывание с транспортируемой молекулой. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда в композицию включены два или более средства РНКи, эти два или более средства РНКи могут быть связаны с соответствующими нацеливающими группами одинаковыми линкерами. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда в композицию включены два или более средства РНКи, эти два или более средства РНКи могут быть связаны с их соответствующими нацеливающими группами различными линкерами.

[0311] Примеры некоторых линкерных групп представлены в Таблице А.

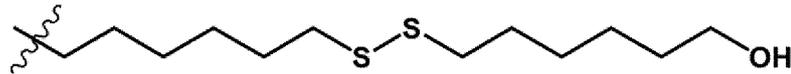
Таблица А

Структуры, представляющие различные линкерные группы



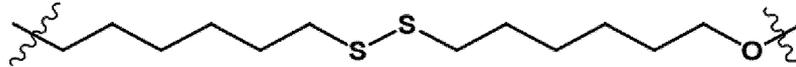
(PAZ)

В случае расположения на 3'-конце олигонуклеотида:



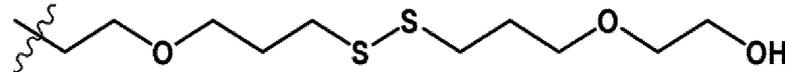
(C6-SS-C6)

В случае расположения внутри олигонуклеотида:
связывание с 5'-концом нуклеотида связывание с 3'-концом нуклеотида

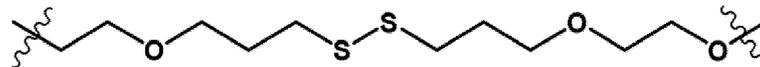


(C6-SS-C6)

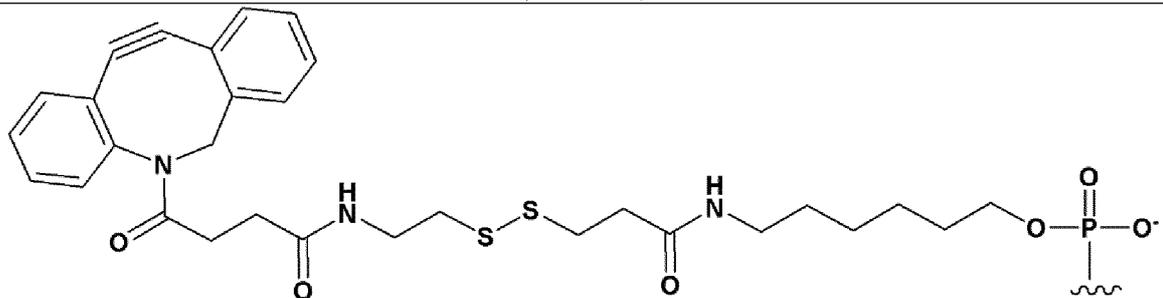
В случае расположения на 3'-конце олигонуклеотида:



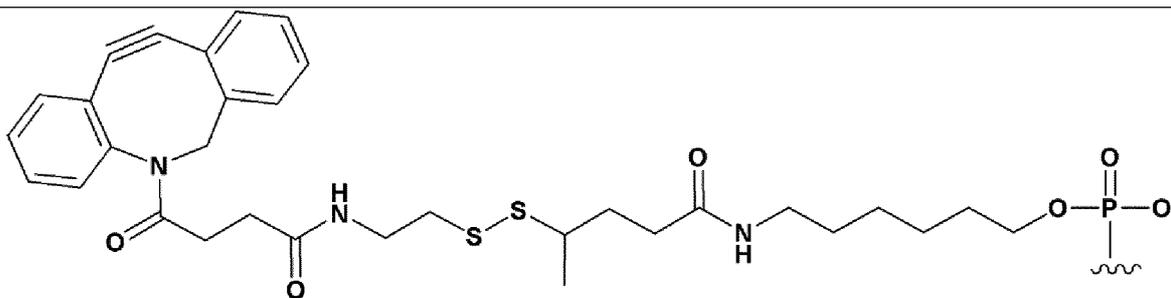
В случае расположения внутри олигонуклеотида:
связывание с 5'-концом нуклеотида связывание с 3'-концом нуклеотида



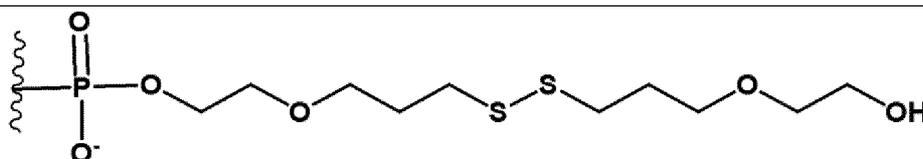
(C6-SS-6)



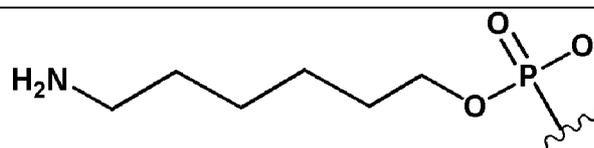
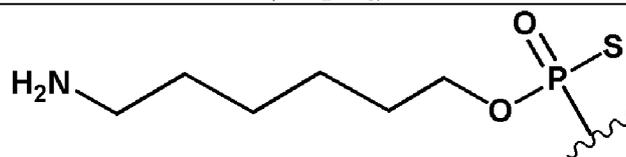
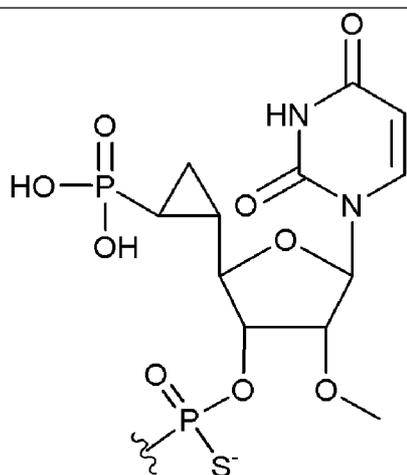
(C6-SS-Alk) или (Alk-SS-C6)



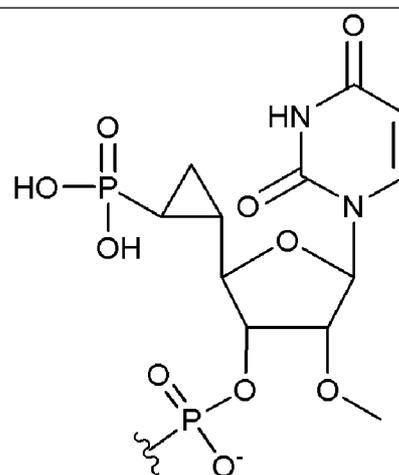
(C6-SS-Alk-Me)



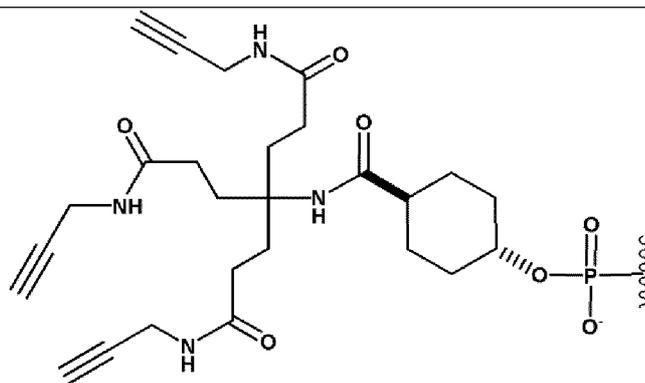
(PEG-C3-SS)

(NH₂-C₆)(NH₂-C₆)_s

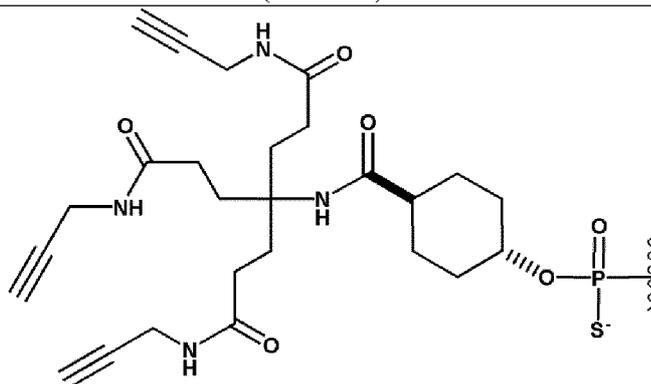
cPrpus



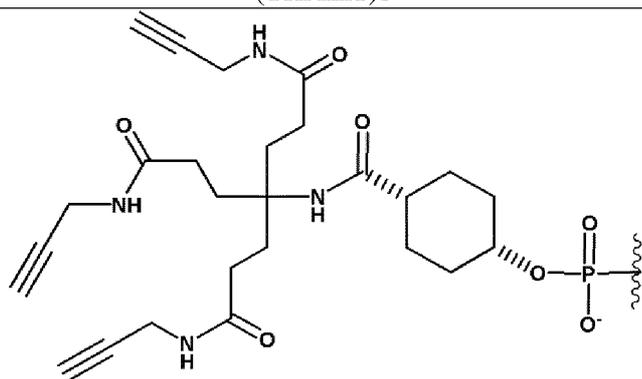
cPrpu



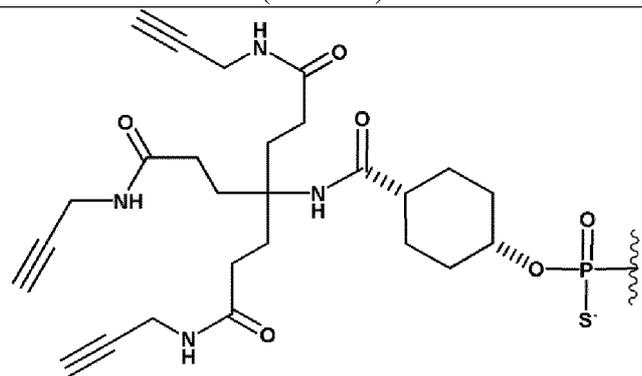
(TriAlk1)



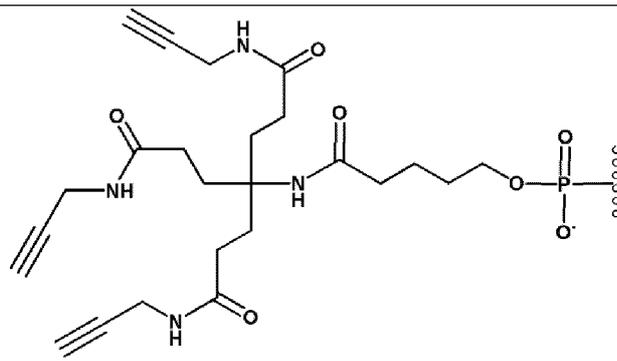
(TriAlk1)s



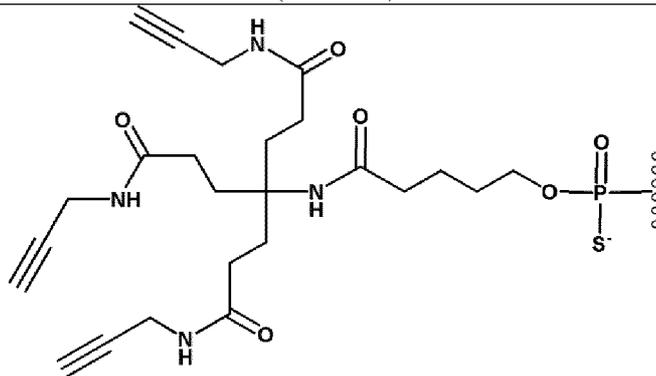
(TriAlk2)



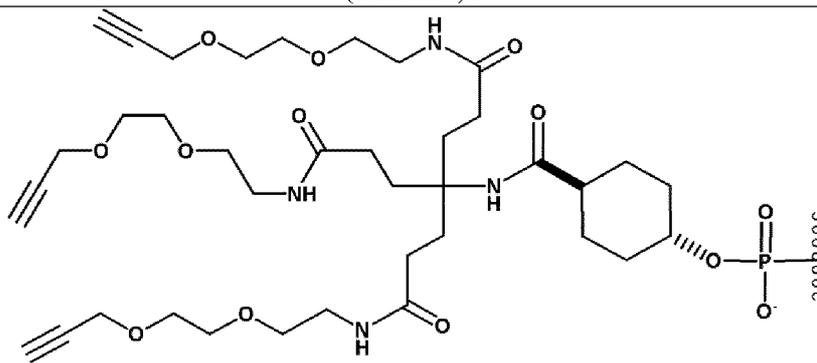
(TriAlk2)s



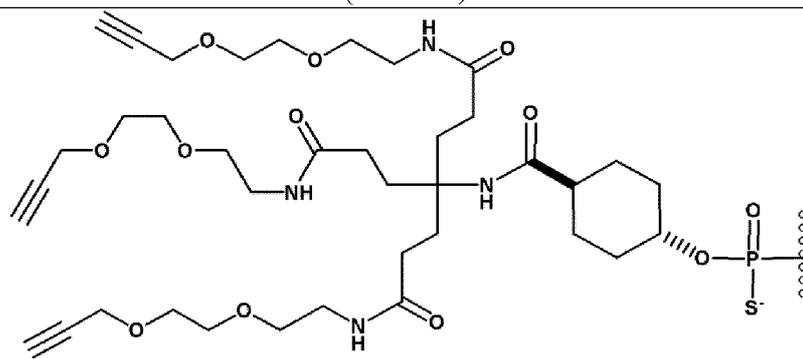
(TriAlk3)



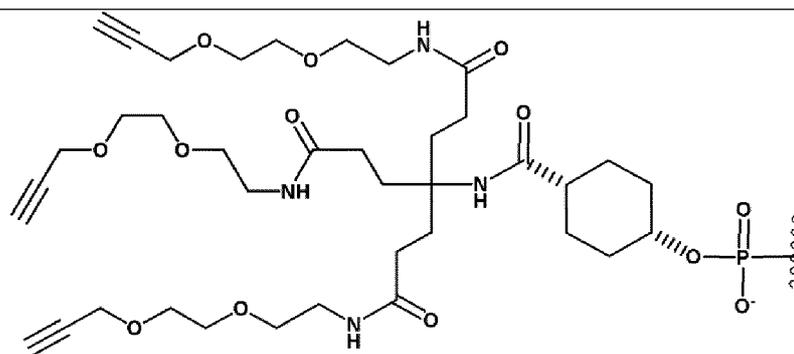
(TriAlk3)s



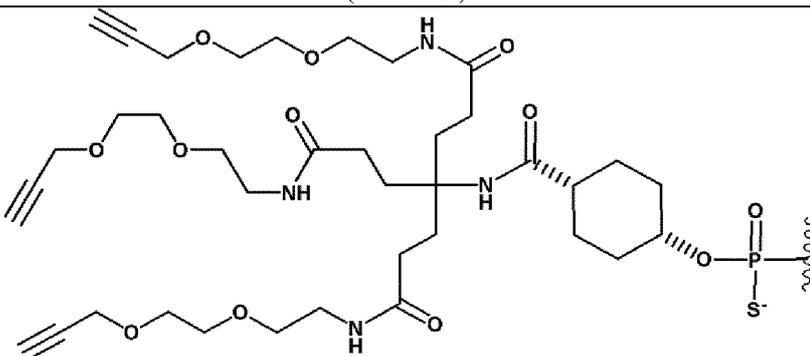
(TriAlk4)



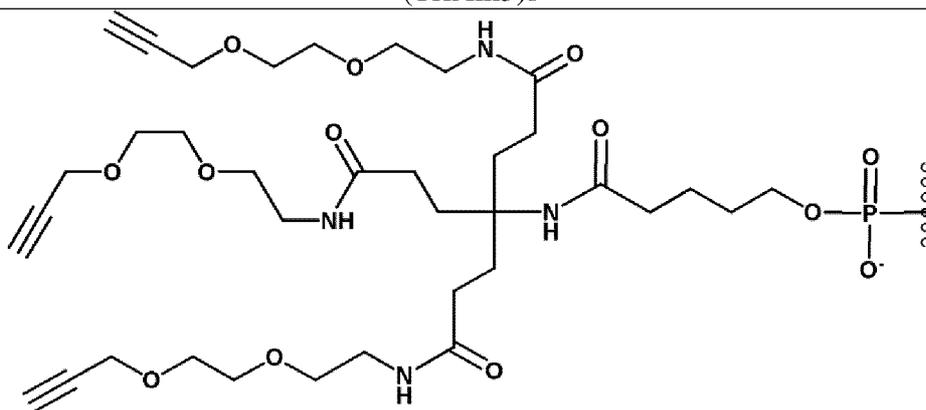
(TriAlk4)s



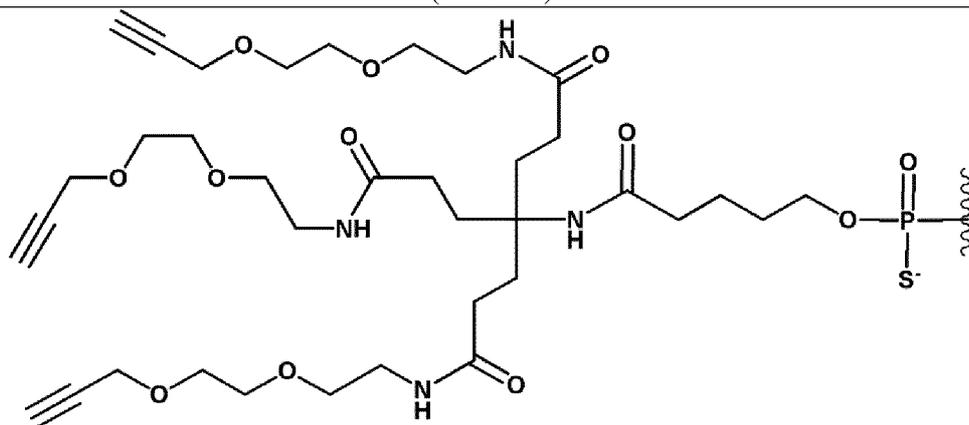
(TriAlk5)



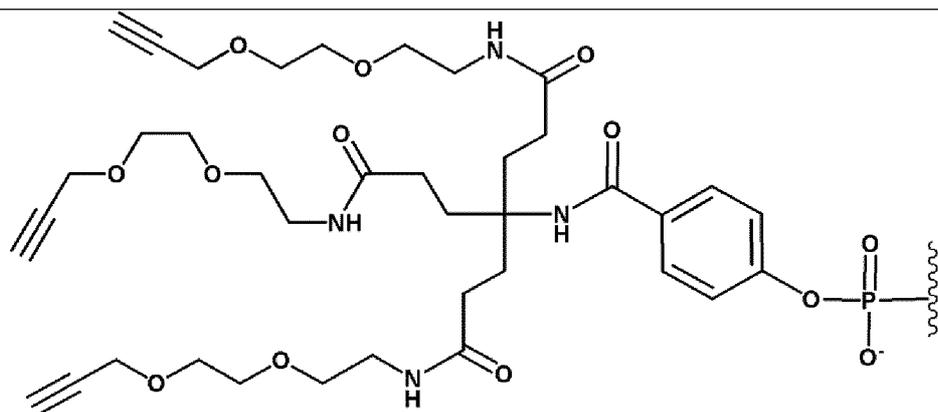
(TriAlk5)s



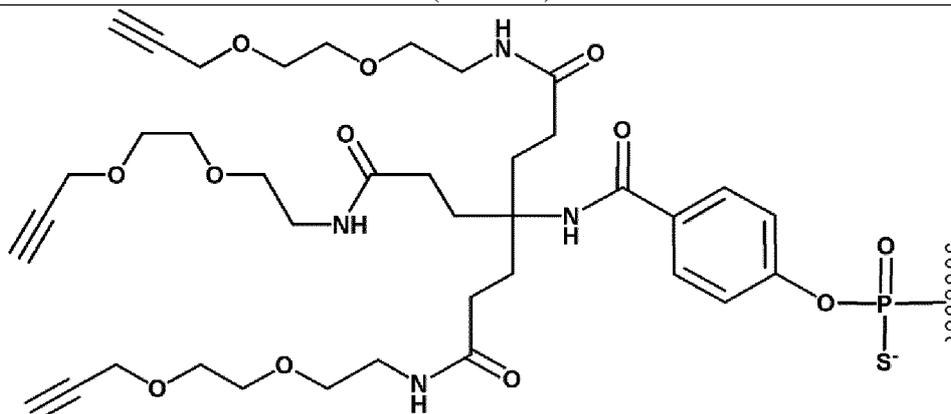
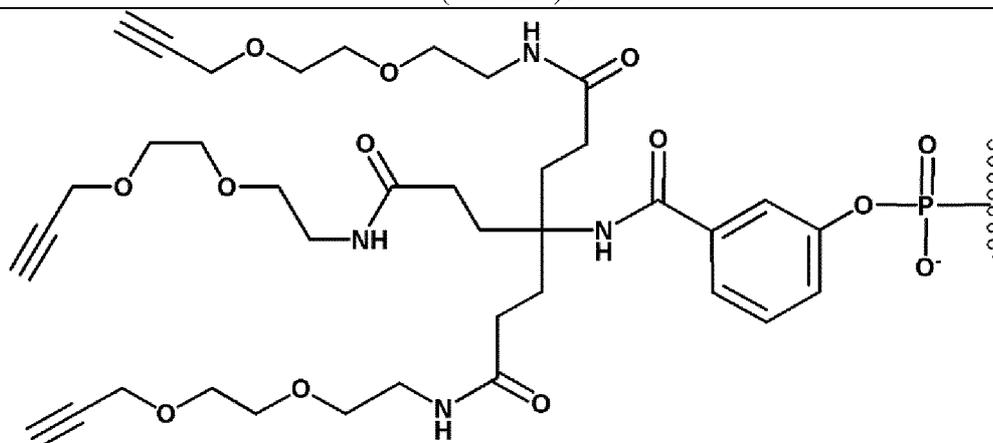
(TriAlk6)



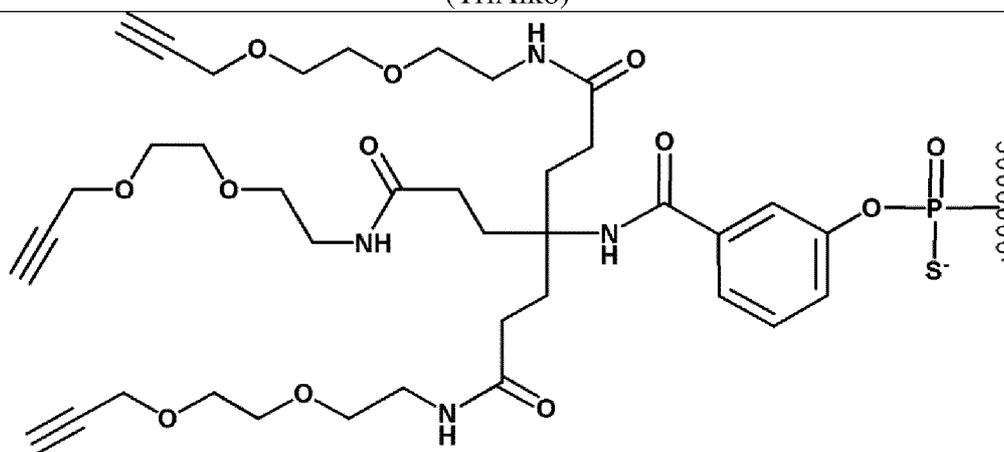
(TriAlk6)s

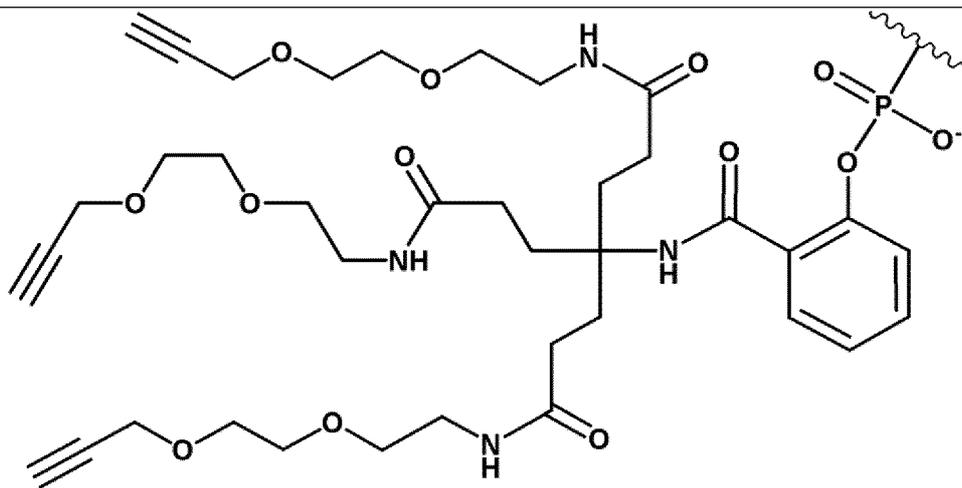


(TriAlk7)

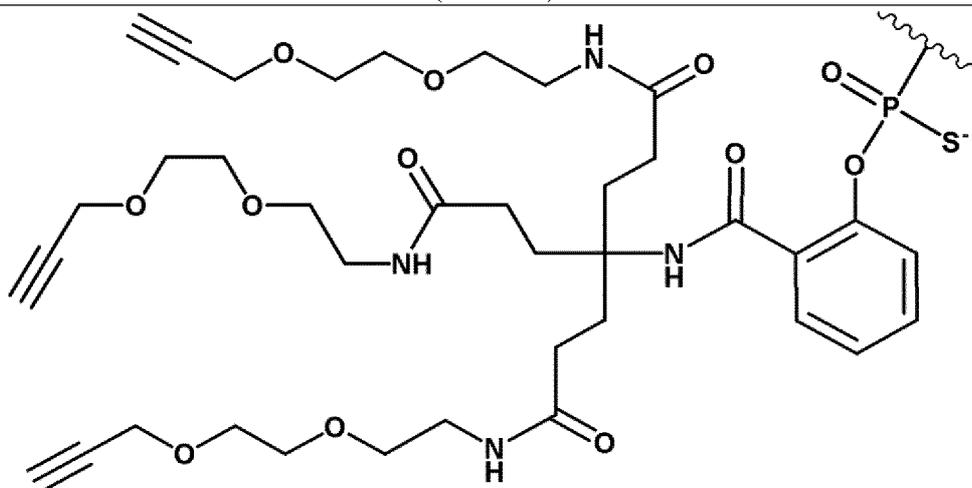
(TriAlk7)_s

(TriAlk8)

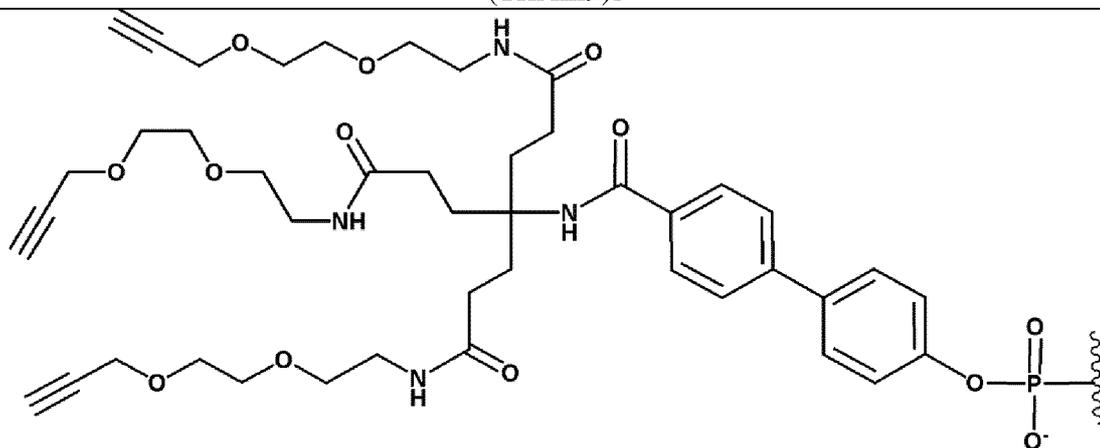
(TriAlk8)_s



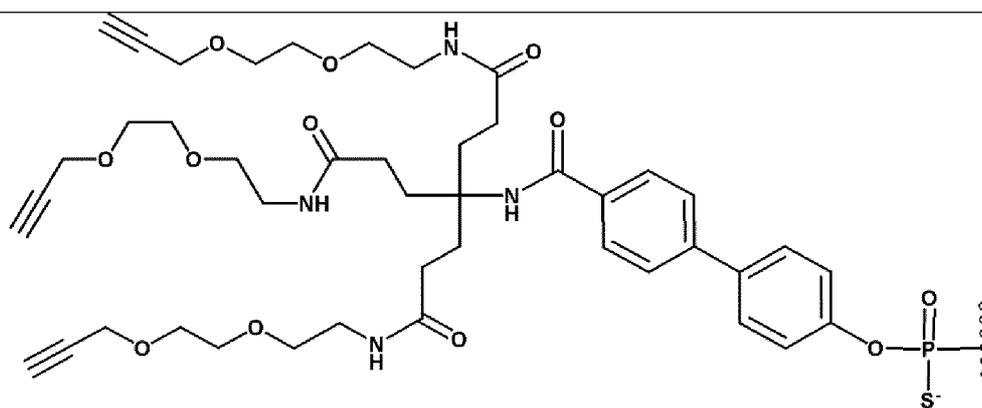
(TriAlk9)



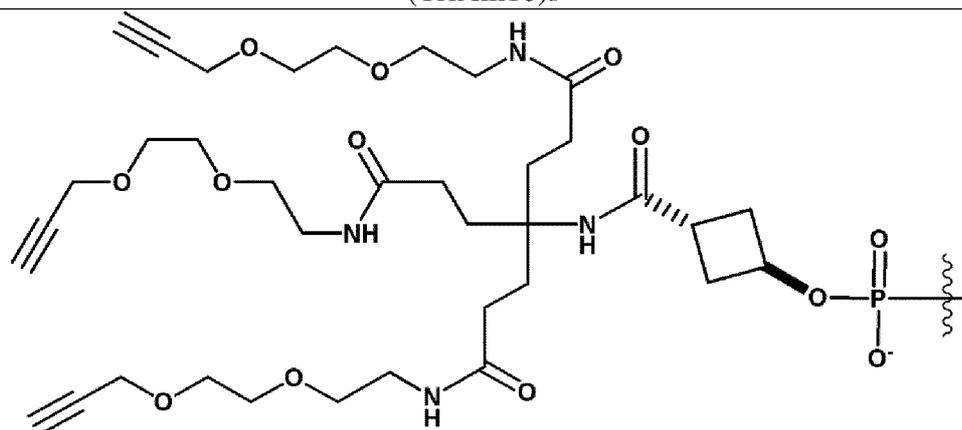
(TriAlk9)s



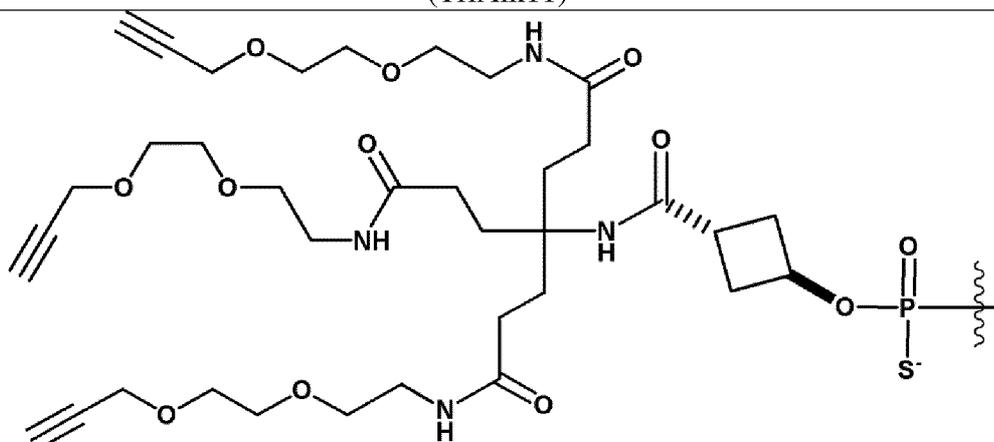
(TriAlk10)



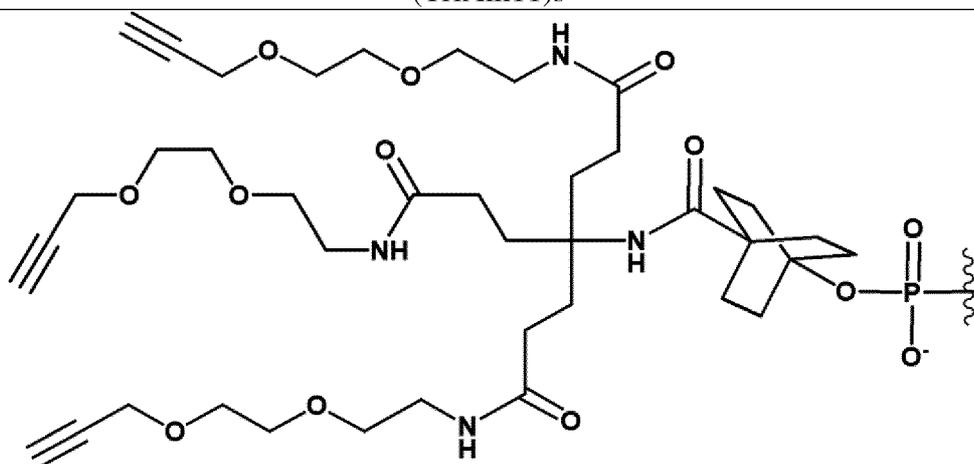
(TriAlk10)s



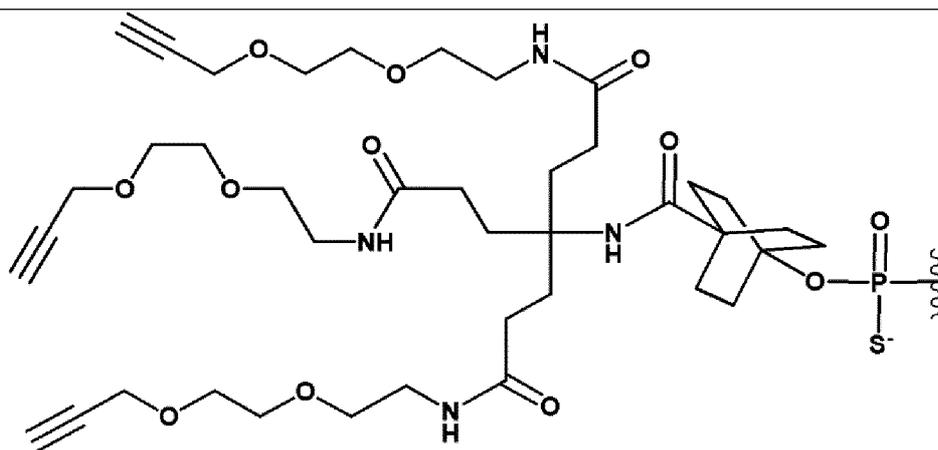
(TriAlk11)



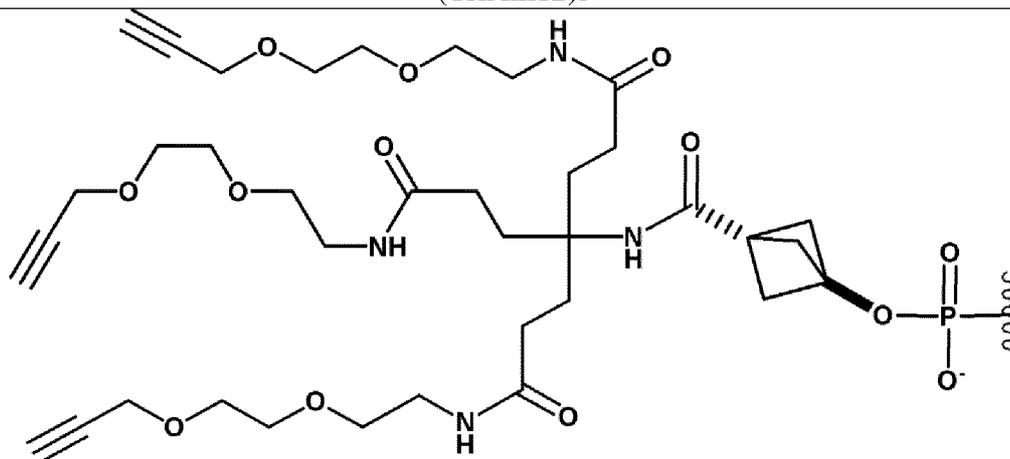
(TriAlk11)s



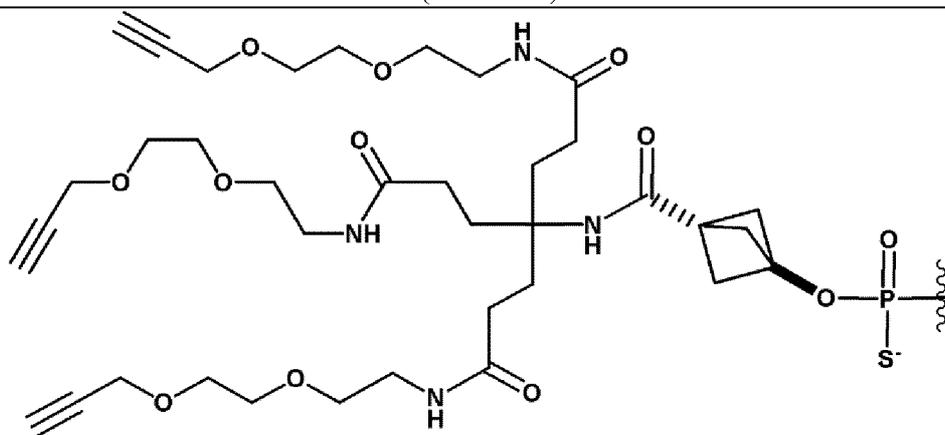
(TriAlk12)



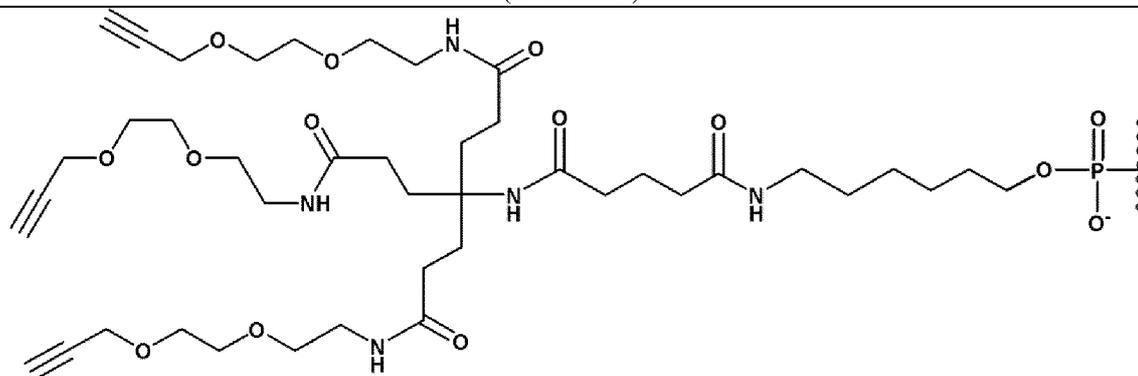
(TriAlk12)s



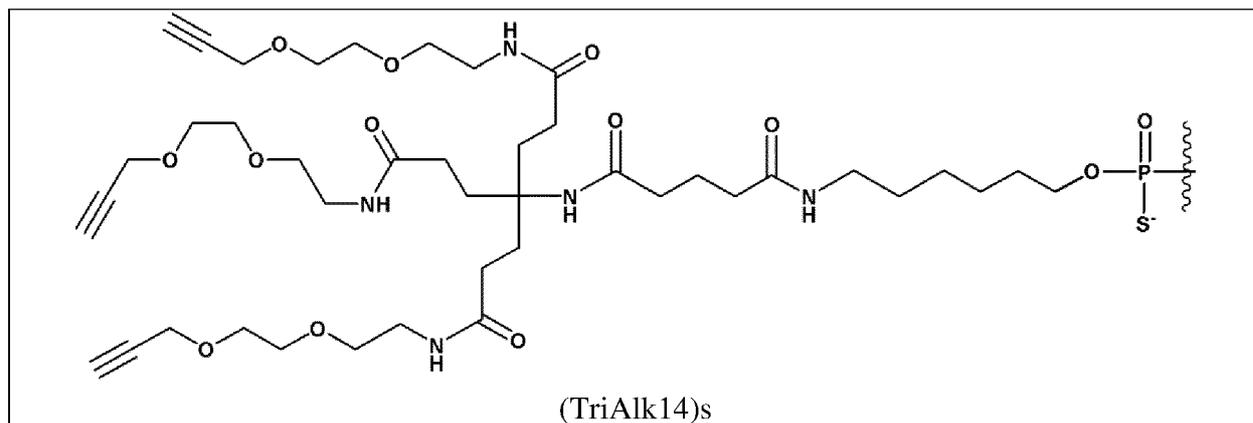
(TriAlk13)



(TriAlk13)s



(TriAlk14)



где обозначает точку присоединения к транспортируемой молекуле.

[0312] Альтернативно, могут быть использованы другие линкерные группы, известные в данной области.

[0313] Приведенные выше варианты осуществления и элементы далее иллюстрируются следующими неограничивающими примерами.

ПРИМЕРЫ

[0314] Следующие примеры не являются ограничивающими, и они предназначены для иллюстрации некоторых вариантов осуществления изобретения, описанных здесь.

Пример 1

Синтез лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$

[0315] Некоторые из сокращений, которые используются при описании деталей экспериментальных синтезов, представленных в нижеприведенных примеров, определены следующим образом:

ч или час=час (часы)

мин=минута (минуты)

моль=моль (моли)

ммоль=миллимоль (миллимоли)

M=молярный;

мкM или μ M=микромольный;

г=грамм (граммы);

мкг=микрограмм (микрограммы);

комн. темп. или RT=комнатная температура;

л=литр (литры);

мл=миллилитр (миллилитры);

масс. или Wt=масса;

Et₂O=диэтиловый эфир;

THF=тетрагидрофуран;

DMSO=диметилсульфоксид;

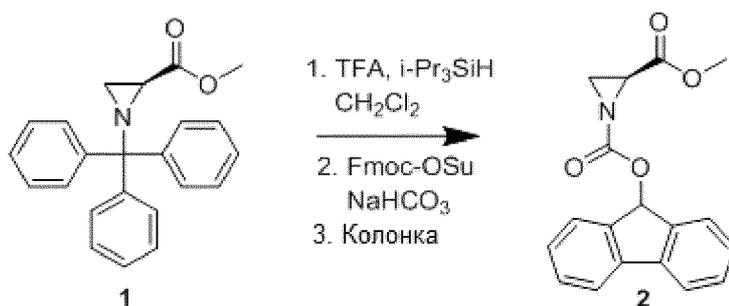
EtOAc=этилацетат;

Et₃N или TEA=триэтиламин;

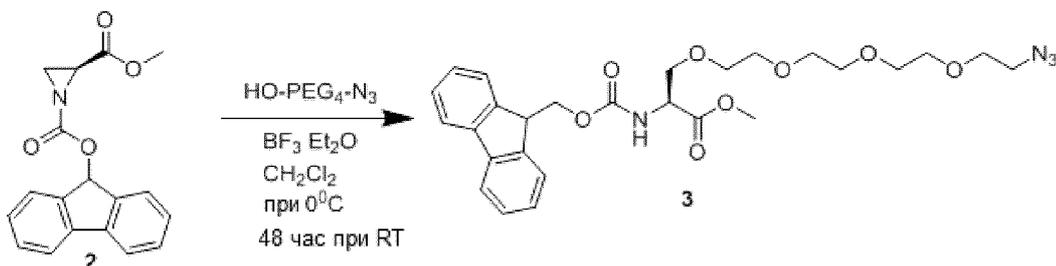
$i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ или DIPEA или DIEA=диизопропилэтиламин;
 CH_2Cl_2 или DCM=метиленхлорид;
 CHCl_3 =хлороформ;
 CDCl_3 =дейтерированный хлороформ;
 CCl_4 =четырёххлористый углерод;
 MeOH=метанол;
 EtOH=этанол;
 DMF=диметилформамид;
 Boc=трет-бутоксикарбонил;
 CBZ=бензилоксикарбонил;
 TBS=трет-бутилдиметилсилил;
 TBSCl или TBDMSCl=трет-бутилдиметилсилилхлорид;
 TFA=трифторуксусная кислота;
 DMAP=4-диметиламинопиридин;
 NaN_3 =азид натрия;
 Na_2SO_4 =сульфат натрия;
 NaHCO_3 =бикарбонат натрия
 NaOH =гидроксид натрия;
 MgSO_4 =сульфат магния;
 K_2CO_3 =карбонат калия;
 KOH =гидроксид калия;
 NH_4OH =гидроксид аммония;
 NH_4Cl =хлорид аммония;
 SiO_2 =диоксид кремния;
 Pd-C =палладий на угле;
 HCl =хлористый водород, хлористоводородная или соляная кислота;
 NMM=N-метилморфолин;
 H_2 =газообразный водород;
 KF=фторид калия;
 $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$ =гидрохлорид N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида;
 MTBE=метил-трет-бутиловый эфир;
 Ar=аргон;
 N_2 =азот;
 RT=время удерживания.

[0316] Химические названия структур 1-37 автоматически генерировались с использованием программного обеспечения ChemDraw®.

Синтез Структуры Ib ((14S,17S)-1-азидо-14-(5-((4-метилпиридин-2-ил)амино)пентанамидо)-17-(4-(нафталин-1-ил)фенил)-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азанонадекан-19-овая кислота)

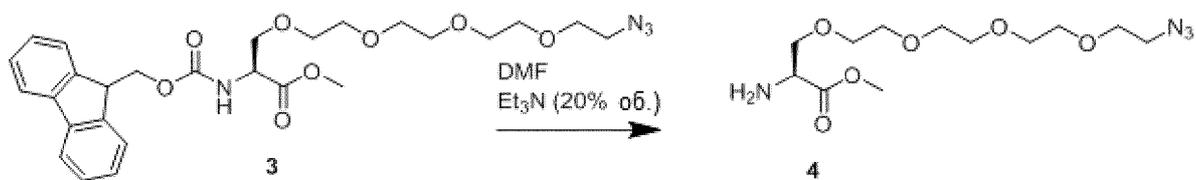


[0317] Соединение 1 (метил(S)-(-)-1-тритилазиридин-2-карбоксилат (4,204 г, 12,24 ммоль, 1,0 экв.) и триизопропилсилан (3,877 г, 5,02 мл, 24,48 ммоль, 2 экв.) растворяли в DCM (40 мл), раствор охлаждали до 0°C и затем добавляли по каплям TFA (8,5 экв.). Раствор оставляли в течение 1 часа при 0°C . Реакцию контролировали с помощью TLC, гексан:этилацетат (8: 2). Раствор сушили с получением смеси белого осадка и светло-желтого масла. Добавляли гексан (40 мл) и осторожно нагревали над тепловой пушкой до растворения всего белого осадка. Добавление гексана привело к образованию двух слоев: прозрачного верхнего слоя и масляного слоя. Гексановый слой сливали и масляный слой сохраняли. Добавление гексана повторяли, и снова сливали гексановый слой. Маслу давали высохнуть. Азиридин (1,06 г, 10,5 ммоль) растворяли в THF/ H_2O (2/1) до объема 60 мл. К смеси при комнатной температуре добавляли Fmoc-OSu (5,312 г, 15,75 ммоль, 1,5 экв.) и для поддержания $\text{pH}=8,5$ добавляли NaHCO_3 (2,646 г, 31,5 ммоль, 3 экв.), и оставляли реагировать в течение ночи. Реакцию контролировали с помощью TLC, гексан:этилацетат 8:2. Смесь концентрировали до полного удаления THF, затем разбавляли этилацетатом (350 мл) и H_2O (25 мл). Слои разделяли и органическую фазу промывали H_2O (40 мл). Органический слой промывали водой (2×40 мл), затем еще раз водой (40 мл), а затем насыщенным водным раствором NaCl (40 мл). Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Продукт очищали на колонке с силикагелем, при 10%-20% этилацетата в гексане.

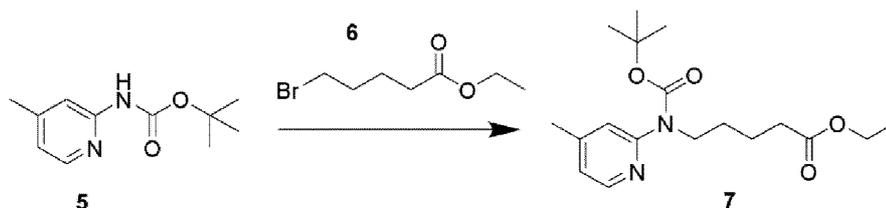


[0318] Соединение 2 (Fmoc-азиридин) (1,46 г, 4,52 ммоль) и HO-PEG₄-N₃ (1,983 Г, 9,04 ммоль, 2 экв.) растворяли в DCM. Смесь охлаждали до 0°C и по каплям (12 капель) добавляли диэтиловый эфират трифторида бора. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов. Реакцию контролировали с помощью TLC, DCM с 5% MeOH. Реакцию гасили насыщенным раствором NH_4Cl (5 мл), разбавляли DCM (60 мл) и промывали H_2O (3×20 мл), насыщенным водным раствором NaCl (20 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Продукт очищали на колонке с силикагелем, 40-

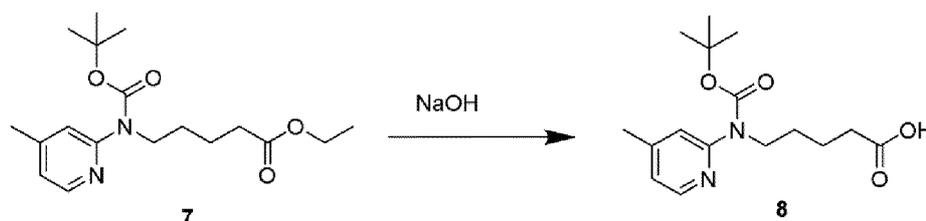
60% этилацетата в гексане.



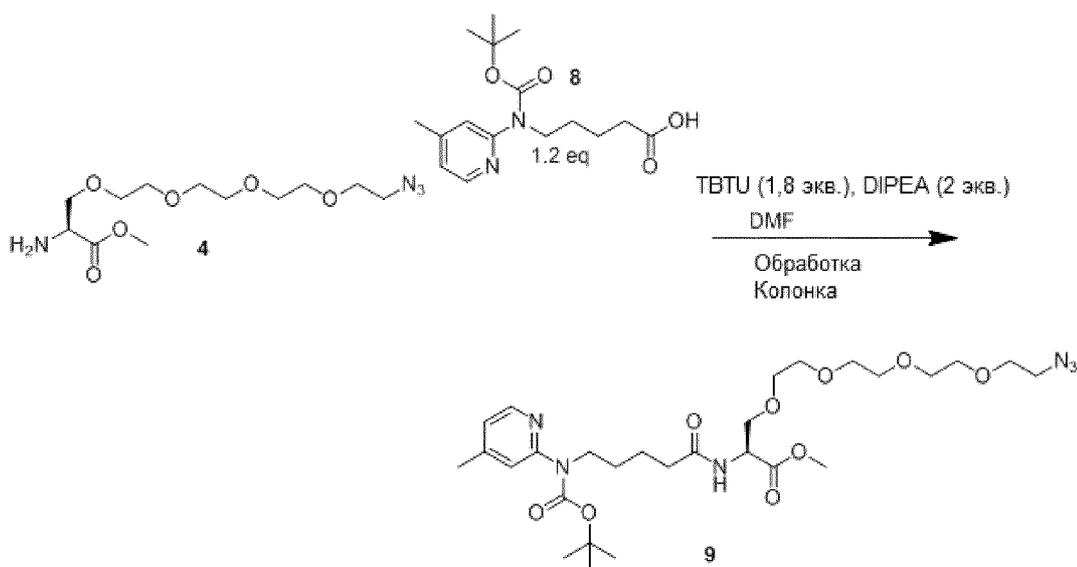
[0319] Соединение 3 растворяли в растворе 20% триэтиламина в DMF. Реакцию контролировали с помощью тонкослойной хроматографии (TLC). Продукт концентрировали.



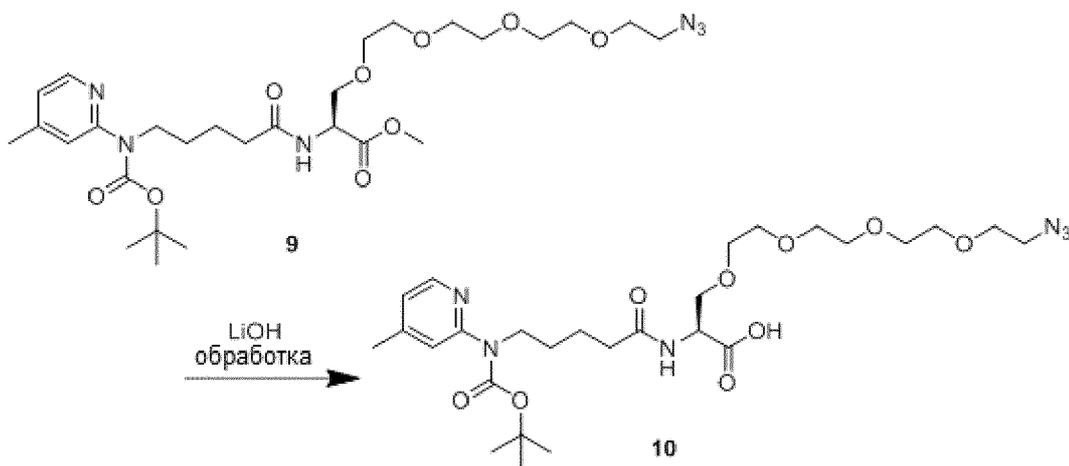
[0320] Соединение 5 (трет-бутил-(4-метилпиридин-2-ил)карбамат) (0,501 г, 2,406 ммоль, 1,0 экв.) растворяли в DMF (17 мл). К смеси добавляли NaH (0,116 мг, 3,01 ммоль, 1,25 экв. 60% дисперсия в минеральном масле) при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 10 минут, затем добавляли этил-5-бромвалерат (0,798 г, 3,82 ммоль, 0,604 мл). Через 3 часа реакцию гасили этанолом (18 мл) и концентрировали. Продукт растворяли в DCM (50 мл) и промывали насыщенным водным раствором NaCl (50 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Продукт очищали на колонке с силикагелем, градиент от 0 до 5% метанола в DCM



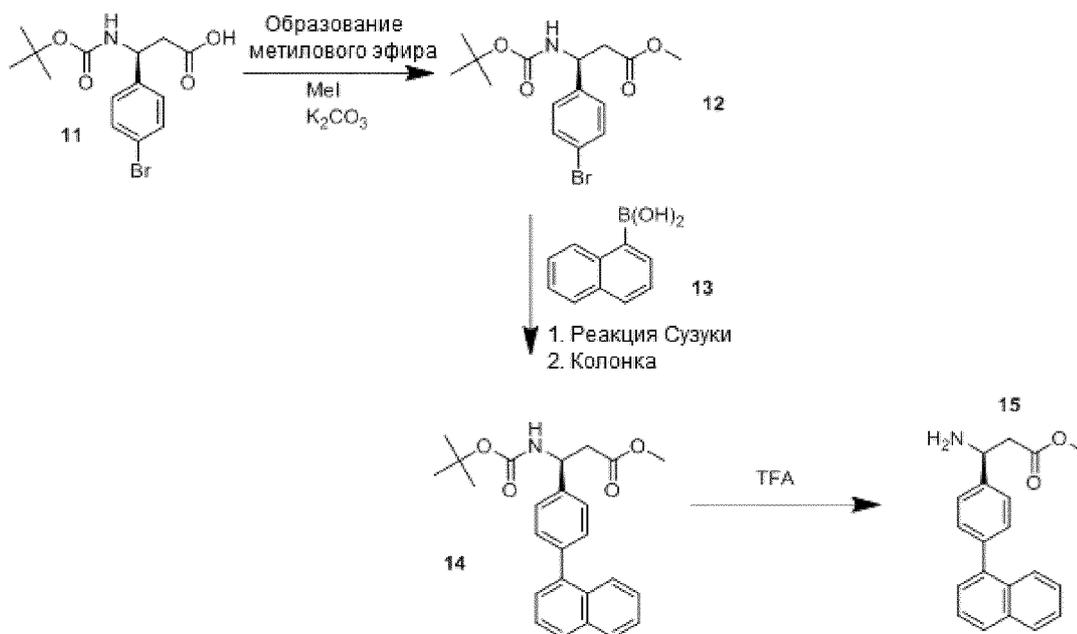
[0321] Соединение 7 (0,80 г, 2,378 ммоль) растворяли в смеси 100 мл ацетона и 0,1 М NaOH (1:1). Реакцию контролировали с помощью TLC (5% этилацетат в гексане). Органические слои концентрировали, и смесь подкисляли до pH 3-4 0,3 М лимонной кислотой (40 мл). Продукт экстрагировали DCM (3 × 75 мл). Органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки.



[0322] Соединение 4 растворяли (0,340 г, 1,104 ммоль) в DMF (10 мл). К раствору добавляли TBTU (0,531 г, 1,655 ммоль) и диизопропилэтиламин (0,320 мл, 1,839 ммоль). Затем добавляли Соединение 8 (0,229 г, 0,9197 ммоль). Реакцию контролировали с помощью LC-MS и TLC (DCM с 5% МЕОН). Реакция протекала в течение 2 часов. Продукт концентрировали и растворяли в этилацетате (150 мл) и промывали рН 3-4 H_2O (2×12 мл). Затем продукт промывали H_2O (2×12 мл), насыщенным водным раствором NaHCO_3 (12 мл), а затем насыщенным водным раствором NaCl (12 мл). Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Продукт очищали на колонке с силикагелем, 20% гексана в этилацетате до 100% этилацетата.



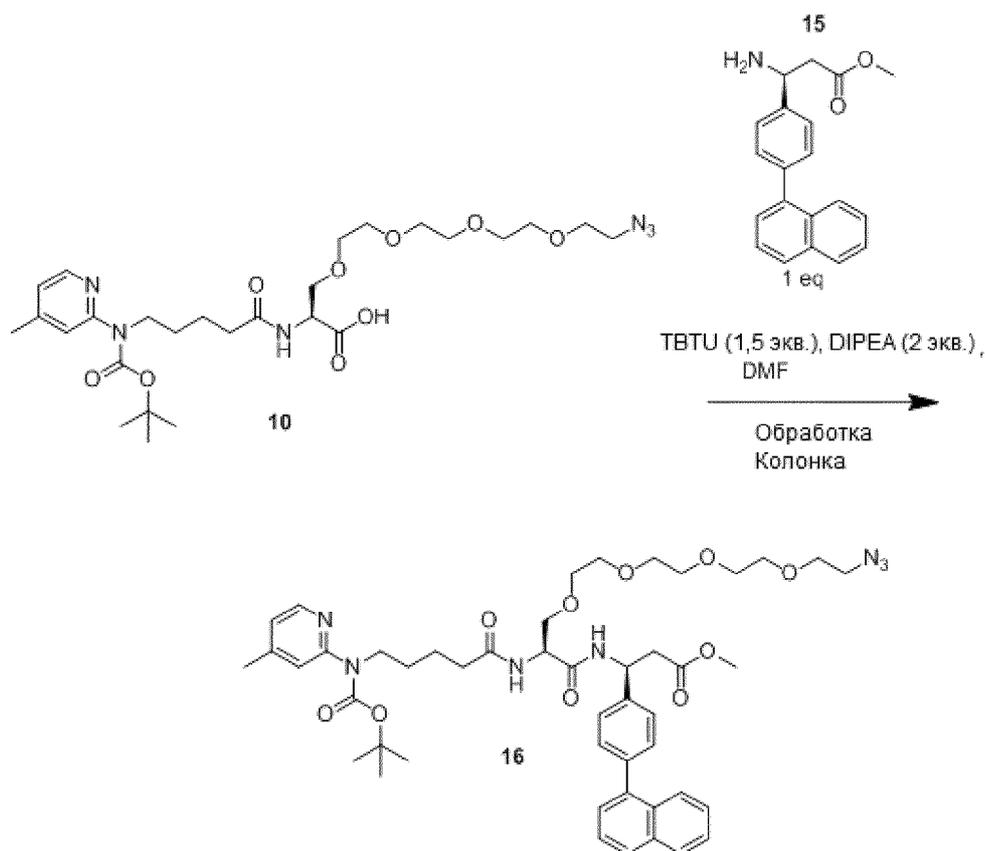
[0323] Соединение 9 растворяли (0,330 г, 0,540 ммоль) в 10 мл смеси MeOH:диоксан [1 1] и 1 М раствора LiOH (10 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, контролировали с помощью LC-MS и TLC (EtOAc). Органический слой концентрировали, смесь разбавляли H_2O (5 мл) и подкисляли до рН 4. Продукт экстрагировали этилацетатом (2×50 мл). Органические слои объединяли, промывали насыщенным водным раствором NaCl (10 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки.



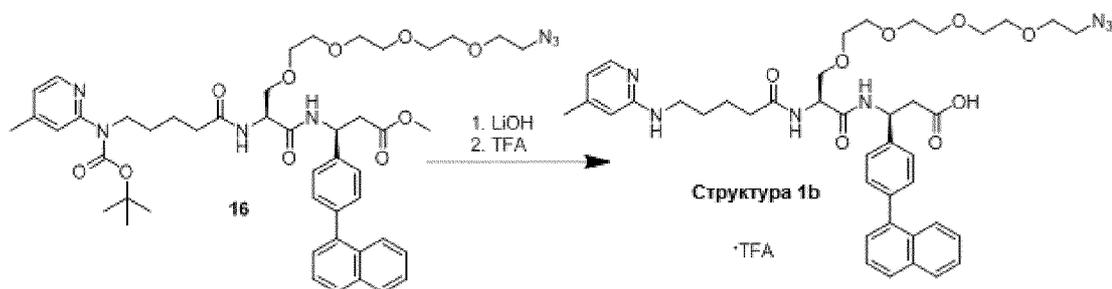
[0324] Соединение 11 ((S)-3-(4-бромфенил)-3-((трет-бутоксикарбонил)амино)пропионовая кислота) (2,0 г, 5,81 ммоль) растворяли в DMF (40 мл). К смеси добавляли K₂CO₃ (1,2 г, 8,72 ммоль). Затем добавляли йодметан (1,65 г, 11,62 ммоль, 0,72 мл). Реакцию контролировали с помощью TLC (гексан:этилацетат (7:3)). После завершения смесь охлаждали до 0°C и добавляли H₂O (20 мл) и МТВЕ (40 мл). Продукт экстрагировали с помощью МТВЕ (4 × 40 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным NaHCO₃ (40 мл), затем H₂O (4 × 40 мл). Смесь сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали.

[0325] К высушенному продукту Соединения 12 (1,0 г, 2,7915 ммоль) добавляли Соединение 13 (1-нафталинбороновую кислоту (0,960 г, 5,583 ммоль, 2 экв.)). К смеси добавляли [1,1'-бис (дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий (II) (Pd(dppf)Cl₂) (0,0817 г, 0,1117 ммоль, 0,4 экв.) вместе с Na₂CO₃ (0,888 г, 8,375 ммоль, 3 экв.). Затем добавляли 1,4-диоксан (5 мл) и H₂O (0,2 мл), и смесь перемешивали при 100°C в течение 4 часов. Реакцию контролировали с помощью TLC (гексан:этилацетат (7:3)). Продукт очищали хроматографией на силикагеле, градиент от 0% до 50% этилацетата в гексане.

[0326] Соединение 14 (0,200 г, 0,493 ммоль) растворяли в DCM (2,5 мл), затем добавляли TFA (0,45 мл). Реакцию контролировали с помощью TLC (DCM:метанол (9:1)). После завершения реакции смесь концентрировали. Остаток растворяли в DCM (4 мл) и промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ (2 × 2 мл), а затем насыщенным водным раствором NaCl (2 × 2 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки.



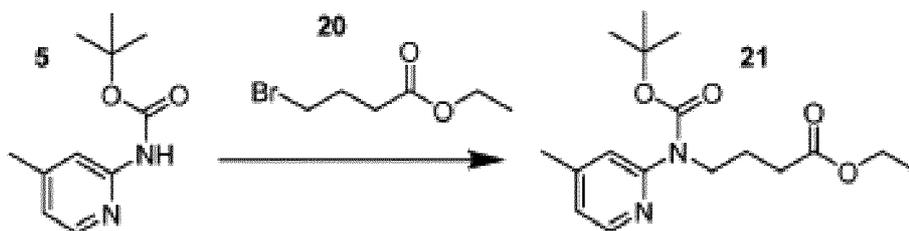
[0327] Соединение 10 (0,322 г, 0,54 ммоль) растворяли в DMF (7 мл). К смеси добавляли TBTU (0,236 г, 0,735 ммоль) и диизопропилэтиламин (0,170 мл, 0,98 ммоль). Затем добавляли Соединение 15 (0,1496 г, 0,49 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Реакционную смесь контролировали с помощью LC-MS, смесь концентрировали и остаток растворяли в этилацетате (90 мл) и промывали H₂O (3 × 10 мл) до pH 3-4. Продукт промывали H₂O (2 × 10 мл), насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и затем насыщенным водным раствором NaCl (1 × 10 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Продукт очищали хроматографией на силикагеле, используя DCM, градиент до 5% МЕОН.



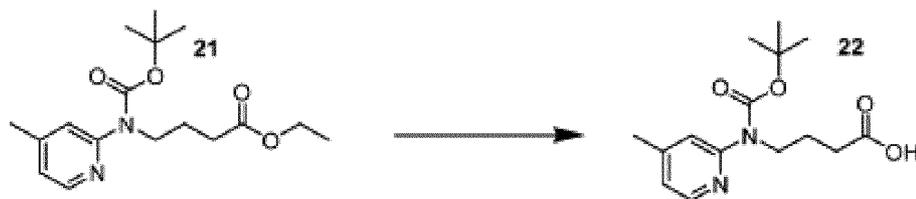
[0328] Соединение 16 растворяли (0,250 г, 0,2828 ммоль) в смеси MeOH:диоксан [1:1] (4 мл) и 1 М LiOH (4 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Органический слой концентрировали, и остаток разбавляли H₂O (3 мл) и подкисляли до pH 4. Продукт экстрагировали этилацетатом (3 × 20 мл). Органические слои объединяли и промывали насыщенным водным раствором NaCl (10 мл). Продукт

сушили над Na_2SO_4 . Продукт растворяли (0,200 г, 0,2299 ммоль) в 2 мл $\text{DCM}:\text{TFA}$ [25: 75] и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. К смеси добавляли толуол (4 мл). Смесь концентрировали, затем упаривали совместно с ацетонитрилом (2×4 мл). Продукт очищали с помощью HPLC, градиент от 35% до 50% ACN в течение 30 минут, буфер 0,1% TFA . $[\text{M}+\text{H}]^+$: вычислено для $\text{C}_{41}\text{H}_{51}\text{N}_7\text{O}_8$: 769,90, определено: 770. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,64 (д, 1H), 8,07 (д, 1H), 8,00 (д, 1H), 7,95 (д, 1H), 7,78 (с, 2H), 7,60-7,40 (м, 1H), 6,80 (с, 1H), 6,67 (д, 1H), 5,31 (с, 1H), 4,55 (с, 1H), 3,62-3,45 (м, 18H), 3,40 (с, 2H), 3,25 (м, 2H), 2,80 (дд, 2H), 2,30 (с, 3H), 2,20 (с, 2H), 1,55 (м, 4H).

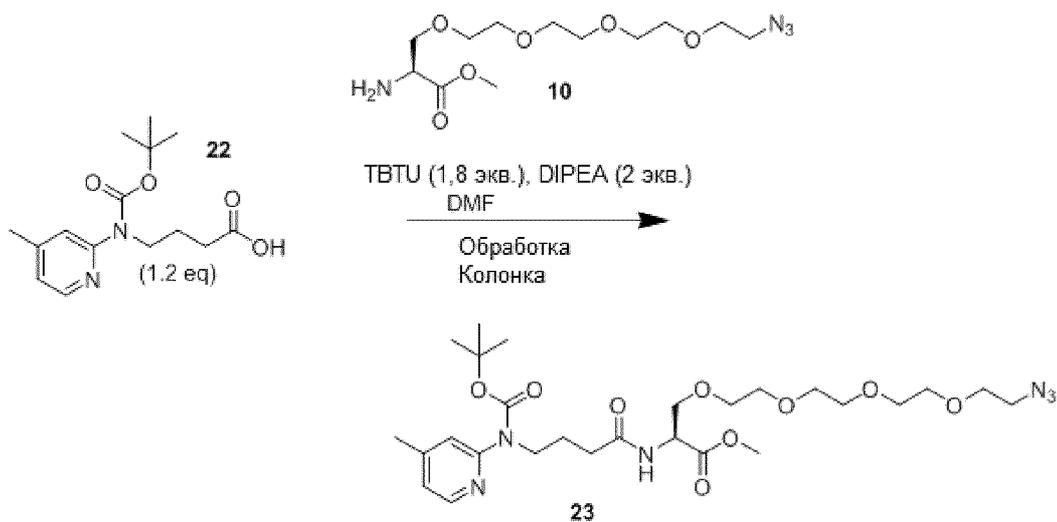
Синтез Структуры 2b ((14S,17S)-1-азидо-14-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)-17-(4-(нафталин-1-ил)фенил)-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азанонадекан-19-овая кислота)



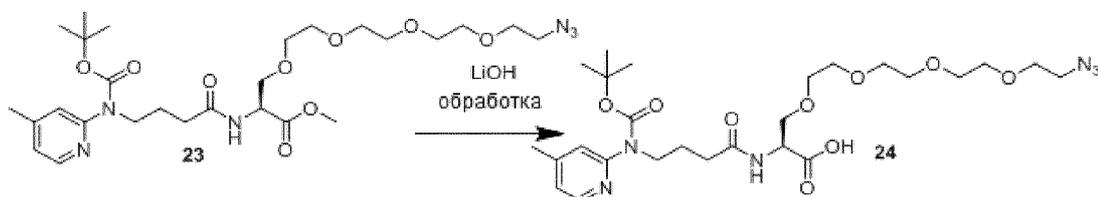
[0329] Соединение 5 (трет-бутил(4-метилпиридин-2-ил)карбамат) (0,501 г, 2,406 ммоль, 1 экв.) растворяли в DMF (17 мл). К смеси добавляли NaNH (0,116 мг, 3,01 ммоль, 1,25 экв. 60% дисперсия в масле). Смесь перемешивали в течение 10 минут перед добавлением Соединения 20 (этил-4-бромбутират (0,745 г, 3,82 ммоль, 0,547 мл)) (Sigma 167118). Через 3 часа реакцию гасили этанолом (18 мл) и концентрировали. Концентрат растворяли в DCM (50 мл) и промывали насыщенным водным раствором NaCl (1×50 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Продукт очищали на колонке с силикагелем, градиент от 0 до 5% метанола в DCM .



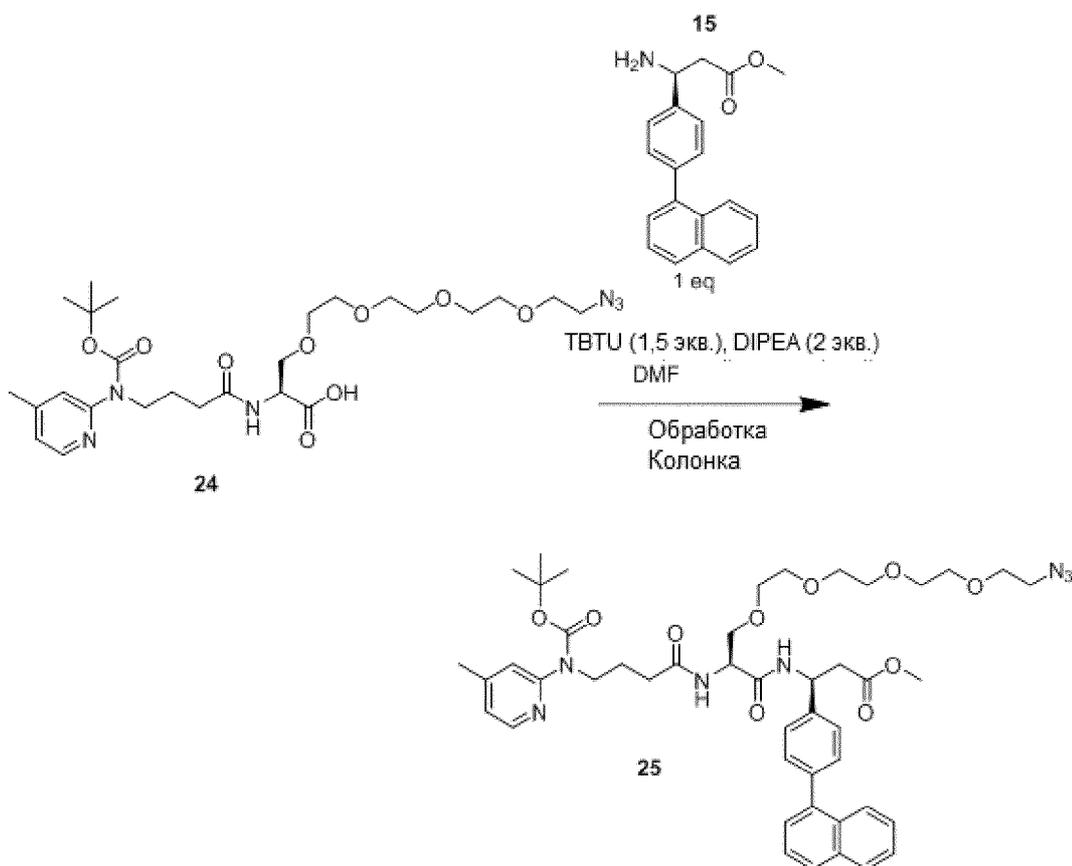
[0330] Соединение 21 растворяли (0,80 г, 2,378 ммоль) в смеси 100 мл ацетона:0,1 М NaOH [1:1]. Реакцию контролировали с помощью TLC (5% этилацетат в гексане). Органические слои концентрировали, и остаток подкисляли до pH 3-4 0,3 М лимонной кислотой (40 мл). Продукт экстрагировали DCM (3×75 мл). Органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки.



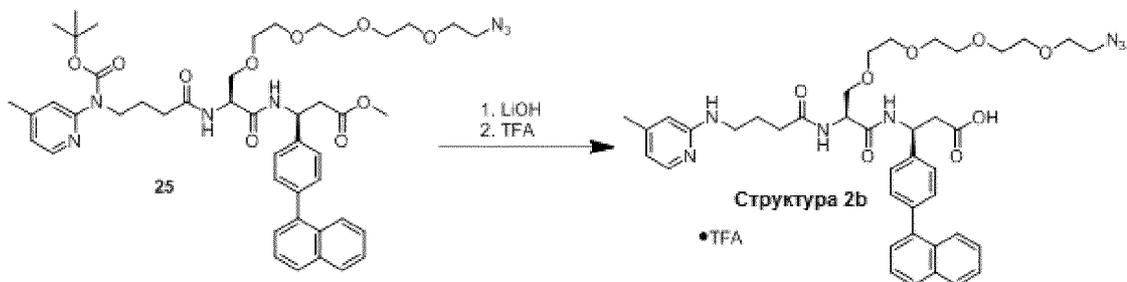
[0331] Соединение 22 растворяли (0,340 г, 1,104 ммоль) в DMF (10 мл). К смеси добавляли TBTU (0,531 г, 1,655 ммоль) и диизопропилэтиламин (0,320 мл, 1,839 ммоль). Затем добавляли Соединение 10 (0,229 г, 0,9197 ммоль). Реакцию контролировали с помощью LC-MS и TLC (DCM с 5% МЕОН). Реакцию завершали в течение 2 часов. Смесь концентрировали, растворяли в этилацетате (150 мл) и промывали H₂O (2 × 12 мл) до pH 3-4. Затем смесь промывали H₂O (2 × 12 мл), насыщенным водным раствором NaHCO₃ (12 мл), затем насыщенным водным раствором NaCl (12 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Продукт очищали на колонке с силикагелем, гексан 20% в этилацетате до 100% этилацетата.



[0332] Соединение 23 растворяли (0,330 г, 0,540 ммоль) в 10 мл смеси MeOH:диоксан [1:1] и 1 М LiOH (10 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов и контролировали с помощью LC-MS и TLC (100% EtOAc). Органический слой концентрировали, остаток разбавляли H₂O (5 мл) и подкисляли до pH 4. Продукт экстрагировали этилацетатом (2 × 50 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным раствором NaCl (1 × 10 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки.



[0333] Соединение 24 (0,322 г, 0,54 ммоль) растворяли в DMF (7 мл). К смеси добавляли TBUTU (0,236 г, 0,735 ммоль) и диизопропилэтиламин (0,170 мл, 0,98 ммоль). Затем добавляли Соединение 15 (0,1496 г, 0,49 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Реакционную смесь контролировали с помощью LC-MS, смесь концентрировали, остаток растворяли в этилацетате (90 мл) и промывали H₂O (3 × 10 мл) до pH 3-4. Концентрат промывали H₂O (2 × 10 мл), насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и затем насыщенным водным раствором NaCl (10 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Продукт очищали на колонке с силикагелем, DCM, градиент до 5% МЕОН.



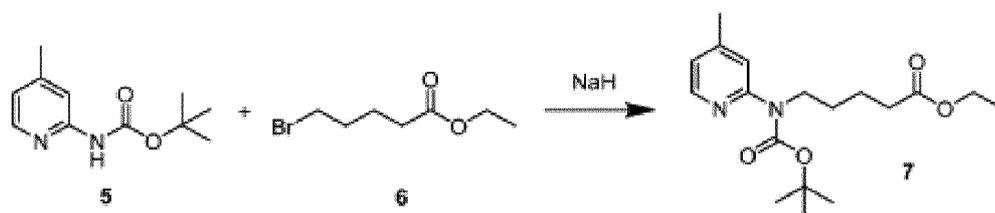
[0334] Соединение 25 растворяли (0,250 г, 0,2828 ммоль) в смеси MeOH:диоксан [1:1] (4 мл) и 1 М LiOH (4 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, контролировали с помощью LC-MS, органические слои концентрировали, остаток разбавляли H₂O (3 мл) и подкисляли до pH 4. Продукт

экстрагировали этилацетатом (3 × 20 мл). Органические слои объединяли и промывали насыщенным водным раствором NaCl (1 × 10 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Остаток (0,200 г, 0,2299 ммоль) растворяли в 2 мл смеси DCM/TFA (25/75), перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, а затем добавляли толуол (4 мл) и смесь концентрировали. Затем добавляли ацетонитрил (2 × 4 мл) и смесь концентрировали. Продукт очищали с помощью HPLC, градиент от 35% до 50% ACN в течение 30 минут, буфер 0,1% TFA.

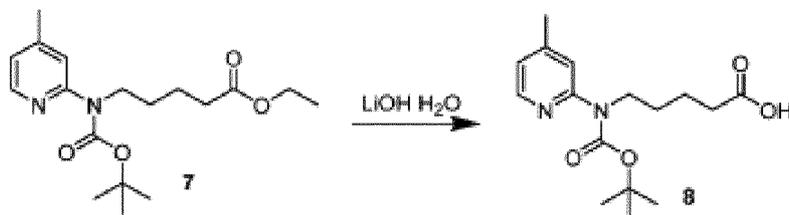
¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,64 (с, 1H), 8,17-8,10 (м, 1H), 8,00 (д, 1H), 7,95 (д, 1H), 7,80 (д, 1H), 7,75 (д, 1H), 7,60-7,40 (м, 1H), 4,55 (с, 1H), 3,62-3,45 (м, 2H), 3,40 (с, 2H), 3,25 (м, 2H), 2,80 (дд, 2H), 2,30 (с, 3H), 2,26 (с, 2H), 1,80 (м, 2H).

Синтез Структур 5b, 5.1b и 52b

Структура 5b (3-(4-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)-3,5-дихлорфенил)-3-(2-(5-((4-метилпиридин-2-ил)амино)пентанамидо)ацетамидо)пропановая кислота)

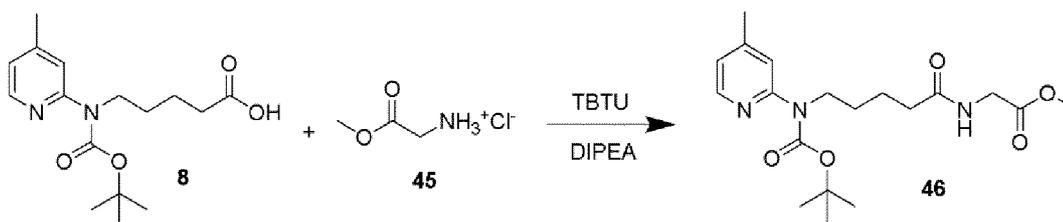


[0335] К раствору Соединения 5 (0,98 г, 4,70 ммоль, 1 экв. в сухом DMF (10 мл) добавляли NaH (0,226 г, 5,647 ммоль, 1,2 экв. 60% масляная дисперсия) по частям при 0°C в атмосфере N₂. Реакционную смесь выдерживали при 0°C в течение 30 минут с последующим добавлением Соединения 6 (1,18 мл, 5,647 ммоль, 1,2 экв.) при той же температуре. После дополнительного перемешивания при 0°C в течение 30 минут смеси давали нагреться до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакцию гасили насыщенным водным раствором NH₄Cl. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 20 мл) и органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт отделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. LC-MS: [M+H]⁺ 337,20, найдено 337,39.

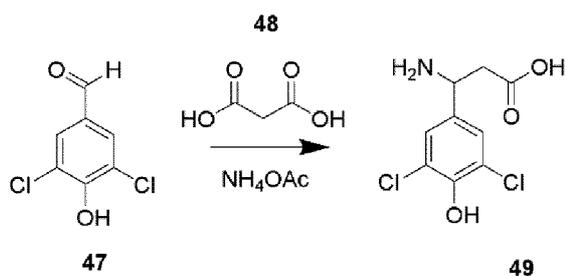


[0336] К раствору Соединения 7 (1,347 г, 4,00 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл) и H₂O (5 мл) добавляли моногидрат гидроксида лития (0,505 г, 12,01 ммоль, 5 экв. при 0°C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь подкисляли HCl (6 N) до pH 4,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 20 мл), органические слои

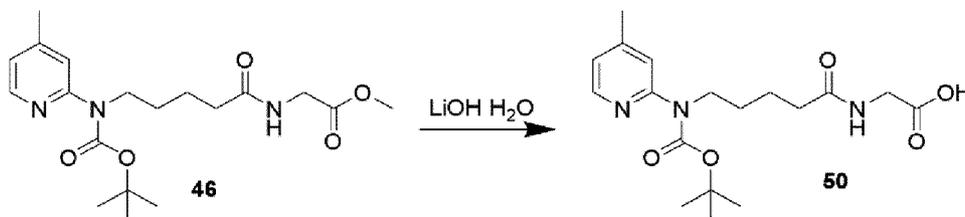
объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 309,17, найдено 309,39.



[0337] К раствору Соединения 8 (1,163 г, 3,77 ммоль, 1 экв.), Соединения 45 (568 мг, 4,52 ммоль, 1,2 экв.) и TBTU (1,453 г, 4,52 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (10 мл) добавляли диизопропилэтиламин (1,97 мл, 11,31 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 часов. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (20 мл). Водный слой экстрагировали этилацетатом (3×10 мл), органические фазы объединяли, сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт отделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 380,21, найдено 380,51.

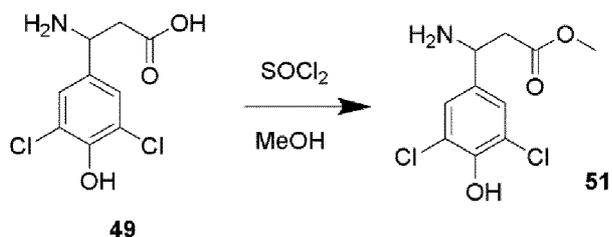


[0338] К раствору Соединения 47 (1,0 г, 5,23 ммоль, 1 экв.) и малоновой кислоты (1,09 г, 10,47 ммоль, 2 экв.) в этаноле (10 мл) добавляли ацетат аммония (0,807 мг, 10,47 ммоль, 2,0 экв.) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при температуре кипения с обратным холодильником в течение 20 минут. Твердое вещество отфильтровывали и промывали холодным этанолом. Продукт использовали на последующих стадиях без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 250,00, найдено 250,16.

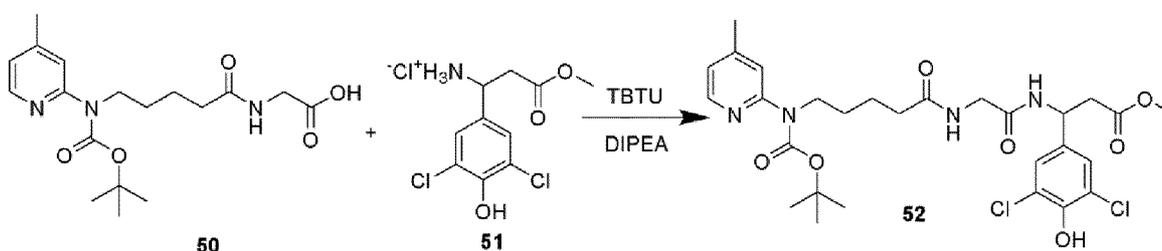


[0339] К раствору Соединения 46 (1,412 г, 3,72 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл) и H_2O (5 мл) добавляли при 0°C моногидрат гидроксида лития (0,469 г, 11,16 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 3 часов реакционную смесь подкисляли HCl (6 N) до pH

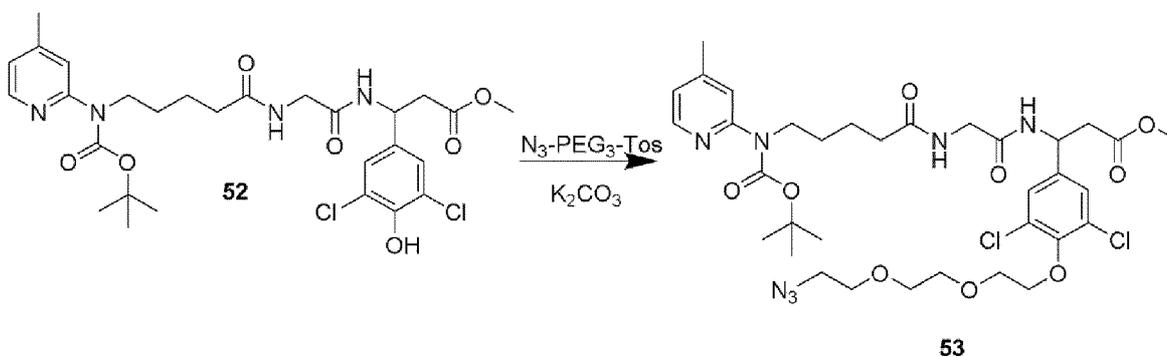
4,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 20 мл), органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 366,20, найдено 366,46.



[0340] К суспензии Соединения 49 (0,531 г, 2,12 ммоль, 1 экв.) в безводном метаноле (10 мл) на ледяной бане добавляли тионилхлорид (308 мкл, 4,24 ммоль, 2,0 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Растворитель удаляли при пониженном давлении, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 264,01, найдено 264,20.

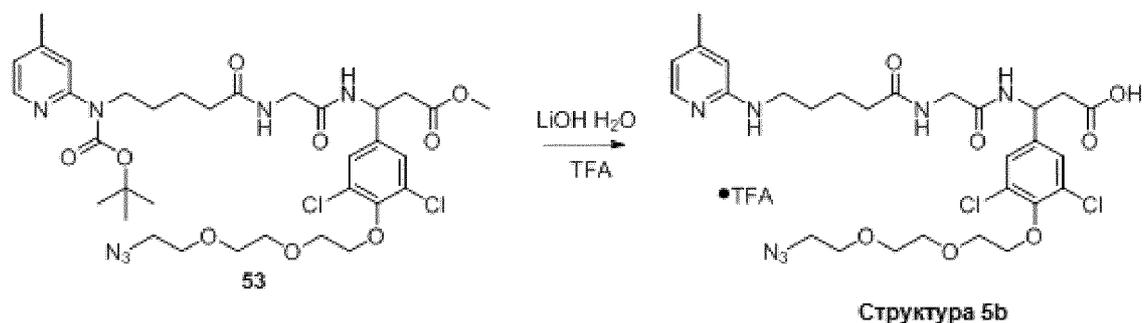


[0341] К раствору Соединения 50 (150 мг, 0,410 ммоль, 1 экв.), Соединения 51 (148 мг, 0,492 ммоль, 1,2 экв.) и TBTU (158 мг, 0,492 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (5 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,214 мл, 1,23 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 часов. Реакцию гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (3 × 20 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-4% метанолом в DCM.



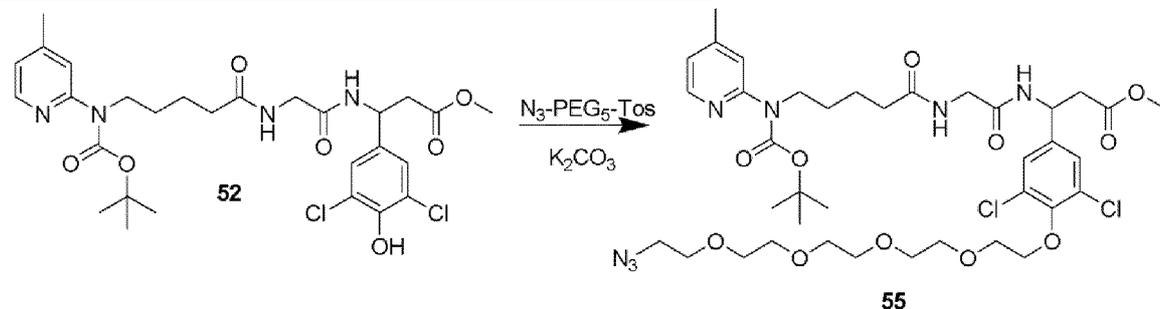
[0342] К раствору Соединения 52 (80 мг, 0,130 ммоль, 1 экв.) и азида-PEG₃-OTs (86 мг, 0,262 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) добавляли K₂CO₃ (36 мг, 0,262 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа при 80°C. растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с

использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 768,28, найдено 769.

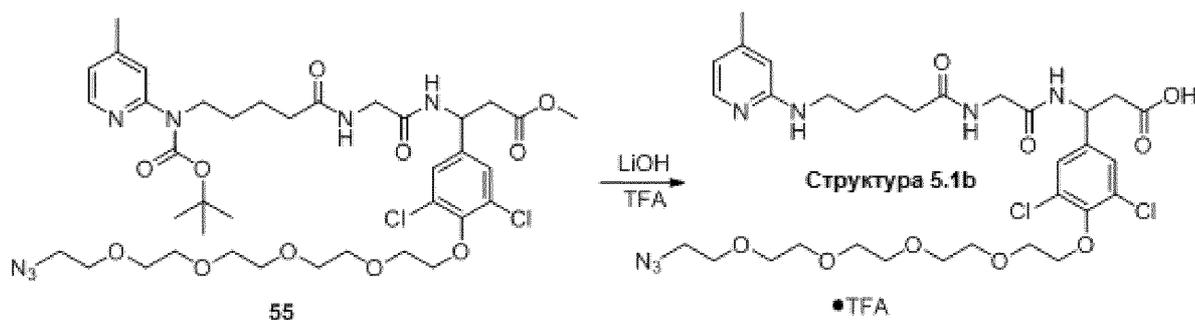


[0343] К раствору Соединения 53 (58 мг, 0,0755 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли моногидрат гидроксида лития (10 мг, 0,226 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 2 часов. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 N), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (0,25 мл) и DCM (0,75 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 654,21, найдено 655.

Структура 5.1b (3-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксотетрадецил)окси)-3,5-дихлорфенил)-3-(2-(5-((4-метилпиридин-2-ил)амино)пентанамидо)ацетида)пропановая кислота)

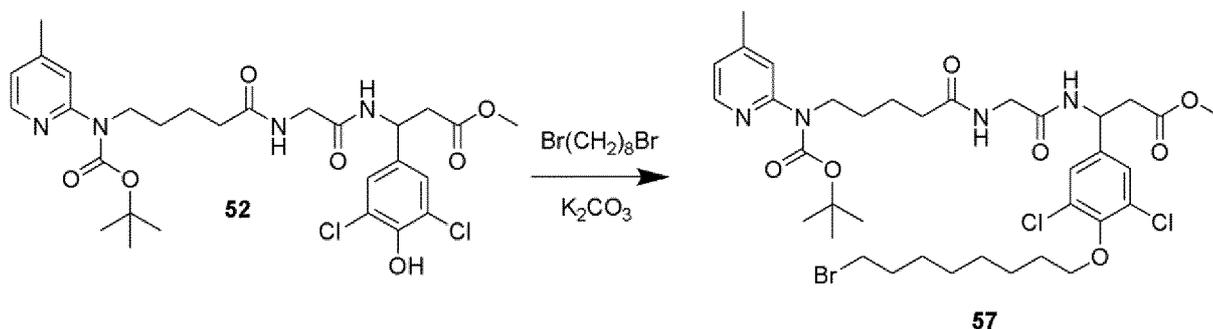


[0344] К раствору Соединения 52 (100 мг, 0,163 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (205 мг, 0,491 ммоль, 3 экв.) в безводном DMF (2 мл) добавляли K₂CO₃ (68 мг, 0,491 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа при 80°C и растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 856,33, найдено 857,07.

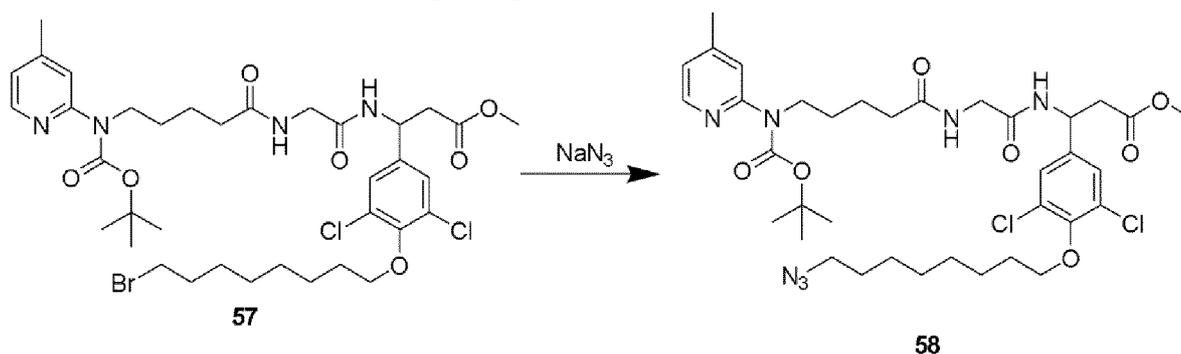


[0345] К раствору Соединения 55 (119 мг, 0,139 ммоль, 1,0 экв.) в THF (4 мл) и воде (4 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (10 мг, 0,417 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 N), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (2 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 742,27, найдено 743,02.

Структура 5.2b (3-(4-((8-азидооктил)окси)-3,5-дихлорфенил)-3-(2-(5-((4-метилпиридин-2-ил)амино)пентанамидо)ацетида)пропановая кислота)

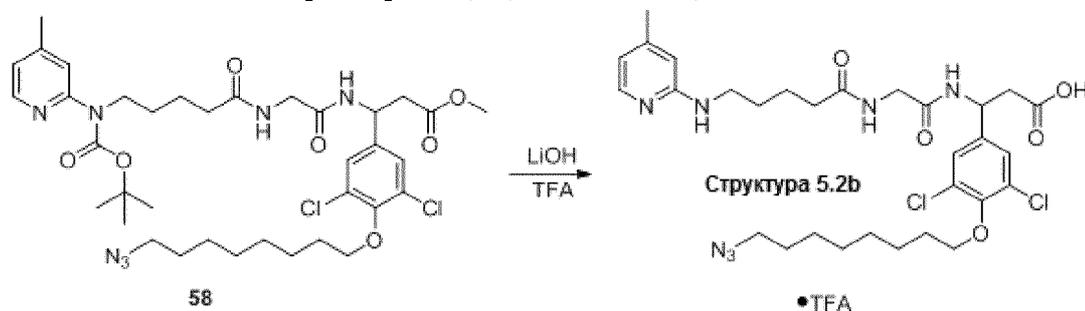


[0346] К раствору Соединения 52 (89 мг, 0,14 ммоль, 1 экв.) и 1,8-дибромоктана (80 мкл, 0,436 ммоль, 3 экв.) в ацетоне (2 мл) при комнатной температуре добавляли K₂CO₃ (60 мг, 0,436 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при 55°C, реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 801,23, найдено 801,98.



[0347] К раствору Соединения 57 (97 мг, 0,114 ммоль, 1 экв.) в безводном DMF (2

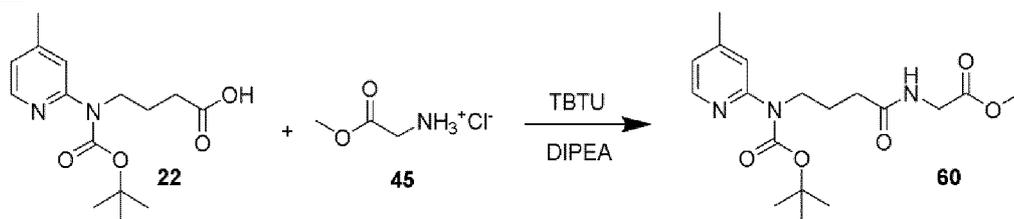
мл) при комнатной температуре добавляли азид натрия (15 мг, 0,229 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при 80°C, реакцию гасили водой и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 764,32, найдено 765,07.



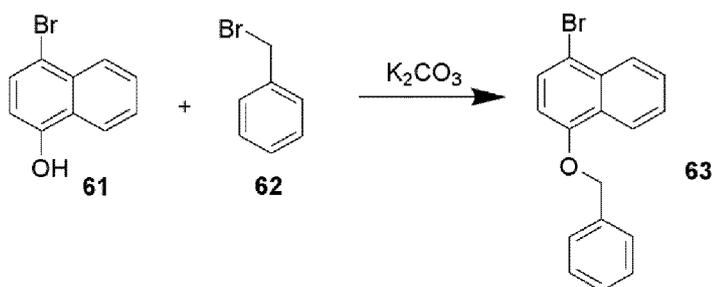
[0348] К раствору Соединения 58 (78 мг, 0,101 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (7 мг, 0,304 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (2 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 650,25, найдено 650,83.

Синтез Структур 6b, 6.1b, 6.2b, 6.3b и 64b

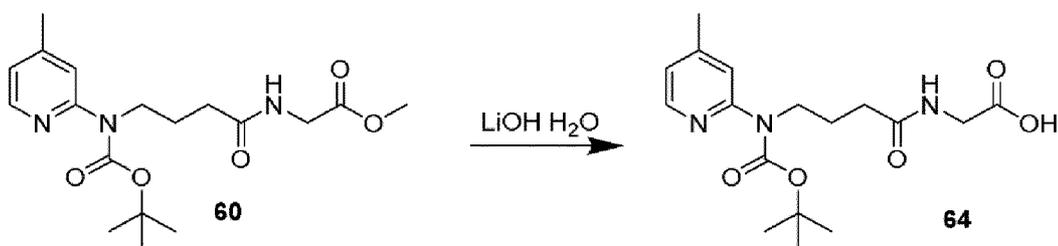
Структура 6b (S)-3-(4-(4-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетидами)пропановая кислота)



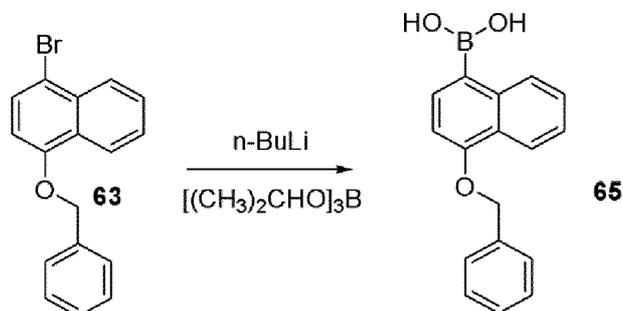
[0349] К раствору Соединения 22 (1,1 г, 3,95 ммоль, 1 экв.) Соединения 45 (595 мг, 4,74 ммоль, 1,2 экв.) и TBTU (1,52 г, 4,74 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (10 мл) добавляли диизопропилэтиламин (2,06 мл, 11,85 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 часов. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл) и органические фазы объединяли, сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт отделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 366,20, найдено 361.



[0350] К раствору Соединения 61 (2 г, 8,96 ммоль, 1 экв.) и Соединения 62 (2,13 мл, 17,93 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (10 мл) добавляли K_2CO_3 (2,48 г, 17,93 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакцию гасили водой (10 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл), органические фазы объединяли, сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт отделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы.

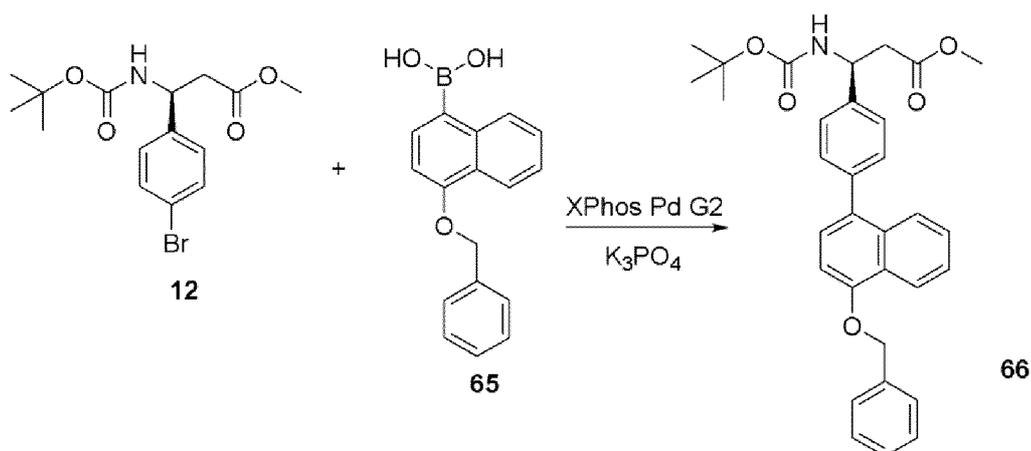


[0351] К раствору Соединения 60 (1,77 г, 4,84 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл) и H_2O (5 мл) при $0^\circ C$ добавляли моногидрат гидроксида лития (0,61 г, 14,53 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 3 часов реакционную смесь подкисляли HCl (6 N) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×20 мл), органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 352,18, найдено 352.

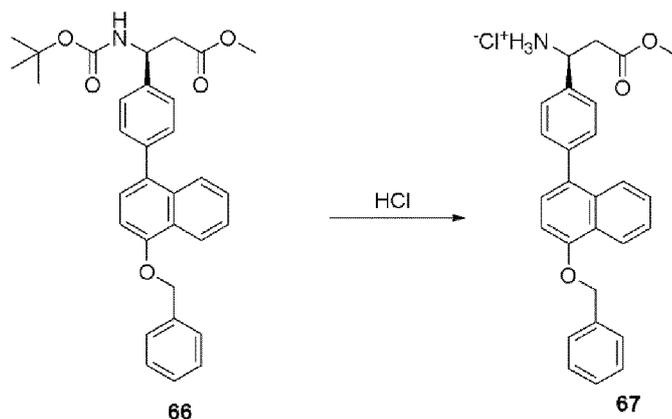


[0352] К раствору Соединения 63 (1,88 г, 6,0 ммоль, 1,0 экв.) в безводном THF (20 мл) при $-78^\circ C$ по каплям добавляли $n-BuLi$ в гексане (3,6 мл, 9,0 ммоль, 1,5 экв.). Реакционную смесь выдерживали при $-78^\circ C$ в течение еще 1 часа. Затем к смеси при $-78^\circ C$ добавляли триизопропилборат (2,08 мл, 9,0 ммоль, 1,5 экв.). Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NH_4Cl (20 мл) и pH доводили до 3. Водную фазу

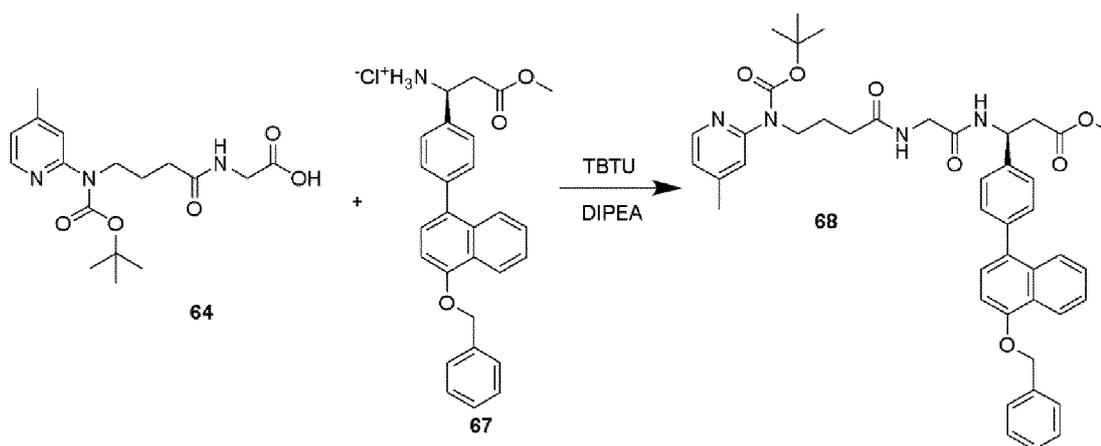
экстрагировали EtOAc (3 × 20 мл), органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали.



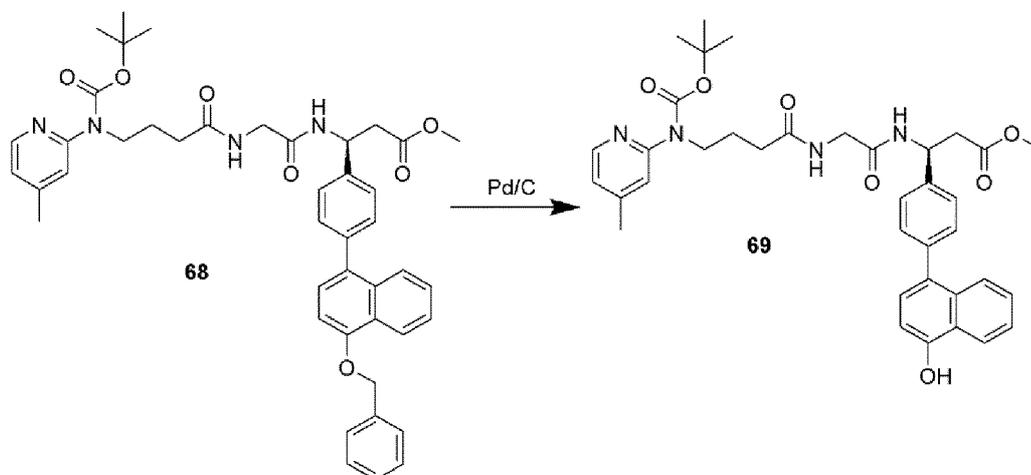
[0353] Соединение 12 (300 мг, 0,837 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 65 (349 мг, 1,256 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (13 мг, 0,0167 ммоль, 0,02 экв.) и K₃PO₄ (355 мг, 1,65 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (8 мл) и воду (2 мл). Смесь барботировали азотом в течение 20 минут, и реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию гасили водой (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄, концентрировали и очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 15% EtOAc в гексане. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 512,24, найдено 512,56.



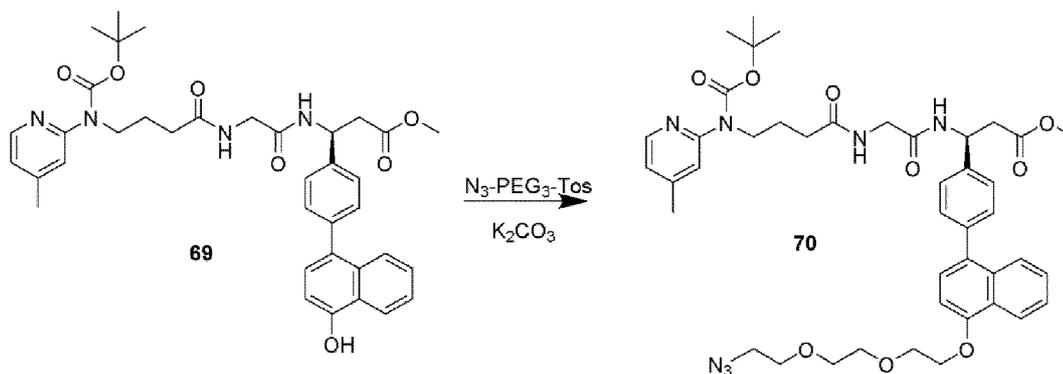
[0354] Соединение 66 (858 мг, 1,677 ммоль, 1,0 экв.) охлаждали на ледяной бане. В колбу добавляли HCl в диоксане (8,4 мл, 33,54 ммоль, 20 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Растворитель удалили с помощью роторного испарителя, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 412,18, найдено 412,46.



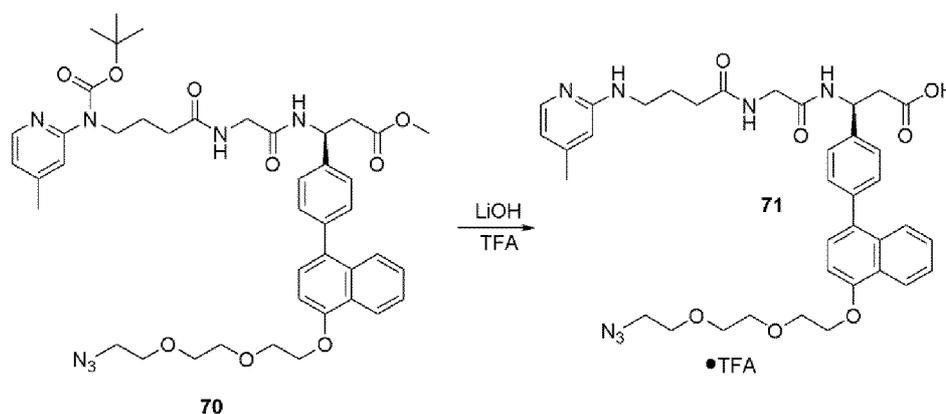
[0355] К раствору Соединения 64 (500 мг, 1,423 ммоль, 1 экв.), Соединения 67 (669 мг, 1,494 ммоль, 1,05 экв.) и TBTU (548 мг, 0,492 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (15 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,744 мл, 4,268 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (3 × 20 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. Выход составил 96,23%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 745,35, найдено 746,08.



[0356] К раствору Соединения 68 (1,02 г, 1,369 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре добавляли 10% Pd/C (0,15 г, 50% H₂O). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, и реакцию контролировали с помощью LC-MS. Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение ночи. Твердые вещества фильтровали через Celite®, и растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. Продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: [M+H]⁺ 655,31, найдено 655,87.

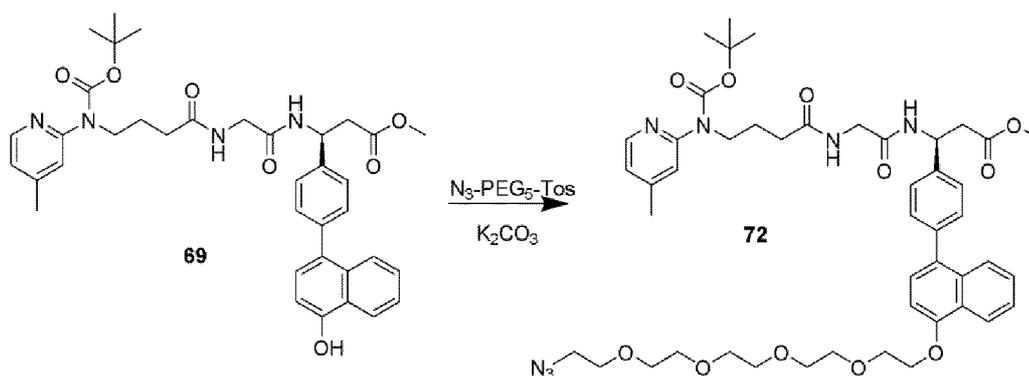


[0357] К раствору Соединения 69 (100 мг, 0,152 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₃-OTs (100 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) добавляли K₂CO₃ (42 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при 80°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃, и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт отделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 812,39, найдено 813,14.

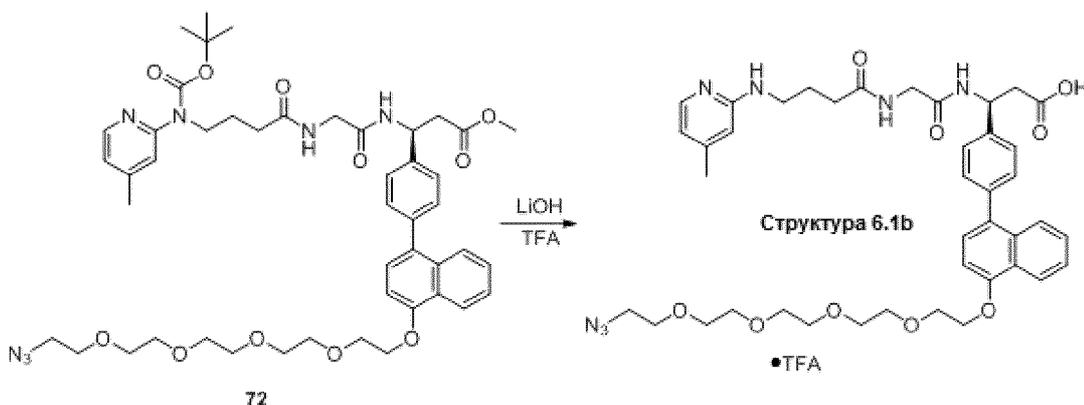


[0358] К раствору Соединения 70 (77 мг, 0,0948 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (7 мг, 0,284 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 2 часов. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (0,5 мл) и DCM (0,5 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 698,32, найдено 698,81.

Структура 6.1b (S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетамидо)пропановая кислота)

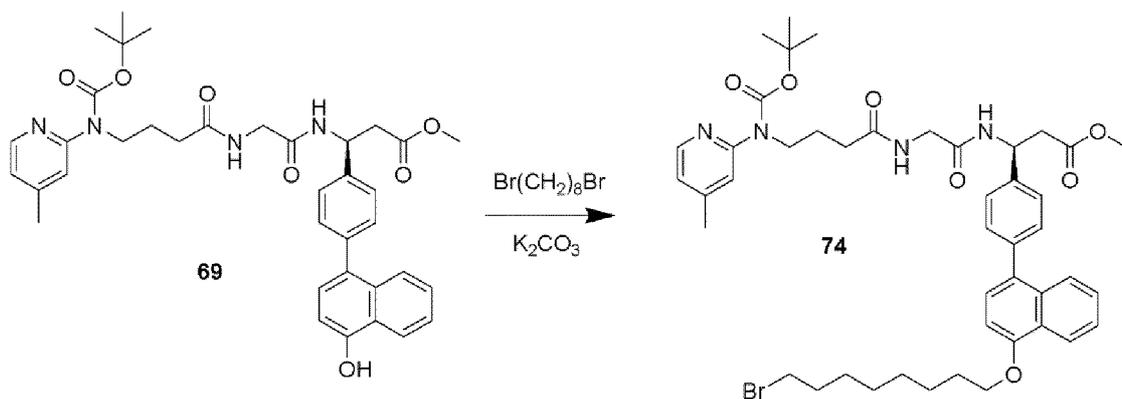


[0359] К раствору Соединения 69 (100 мг, 0,152 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (128 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) добавляли K₂CO₃ (42 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при 80°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃, и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 900,40, найдено 901,46.

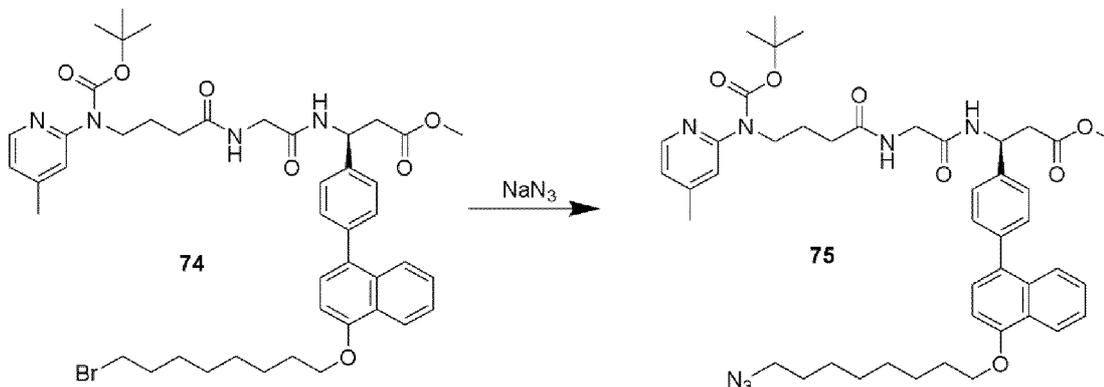


[0360] К раствору Соединения 72 (59 мг, 0,0656 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (5 мг, 0,197 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 N), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (0,5 мл) и DCM (0,5 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 786,37, найдено 786,95.

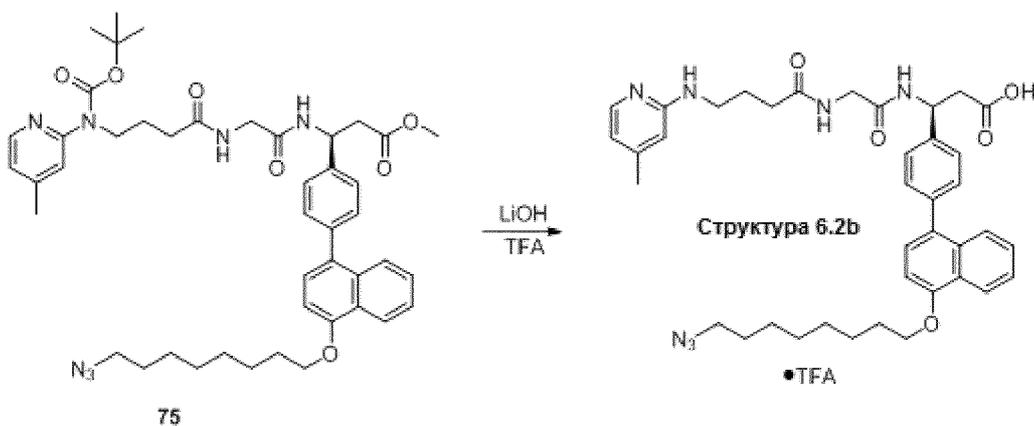
Структура 6.2b (S)-3-(4-(4-((8-азидооктил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетамидо)пропановая кислота)



[0361] К раствору Соединения 69 (150 мг, 0,229 ммоль, 1 экв.) и 1,8-дибромоктана (127 мкл, 0,687 ммоль, 3 экв.) в ацетоне (2 мл) при комнатной температуре добавляли K_2CO_3 (95 мг, 0,687 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 55°C . Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 , и водный слой экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 845,34, найдено 845,91.

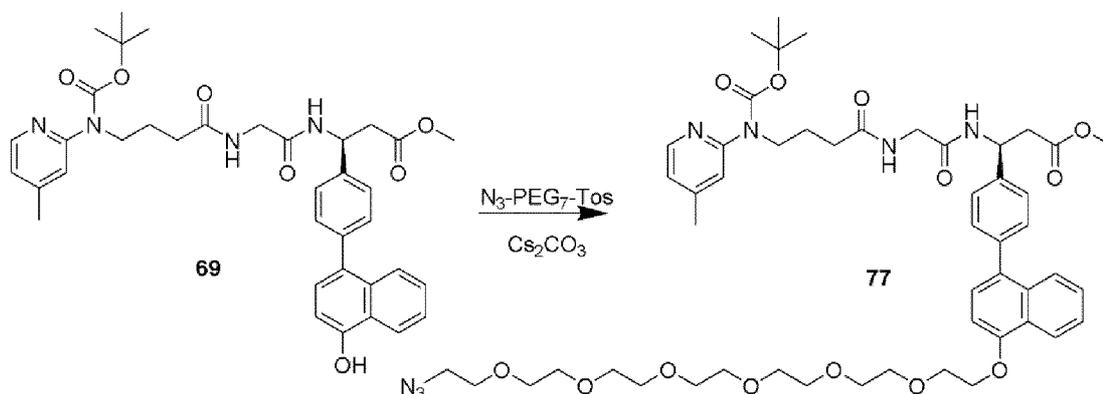


[0362] К раствору Соединения 74 (97 мг, 0,114 ммоль, 1 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли азид натрия (15 мг, 0,229 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при 80°C . Реакцию гасили водой и водный слой экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 808,43, найдено 809,00.

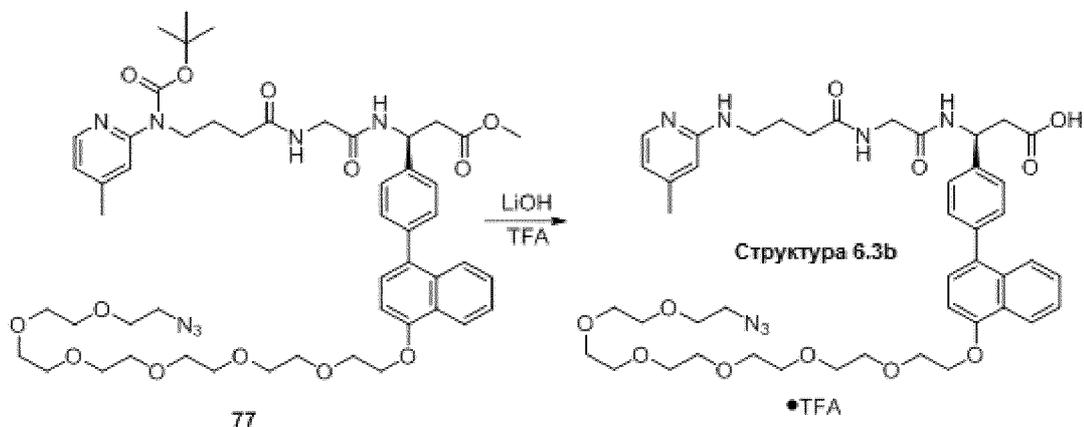


[0363] К раствору Соединения 75 (92 мг, 0,114 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (8 мг, 0,342 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (0,5 мл) и DCM (0,5 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 694,36, найдено 694,94.

Структура 6.3b (S)-3-(4-(4-((20-азидо-3,6,9,12,15,18-гексаоксаикозил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетидамидо)пропановая кислота)



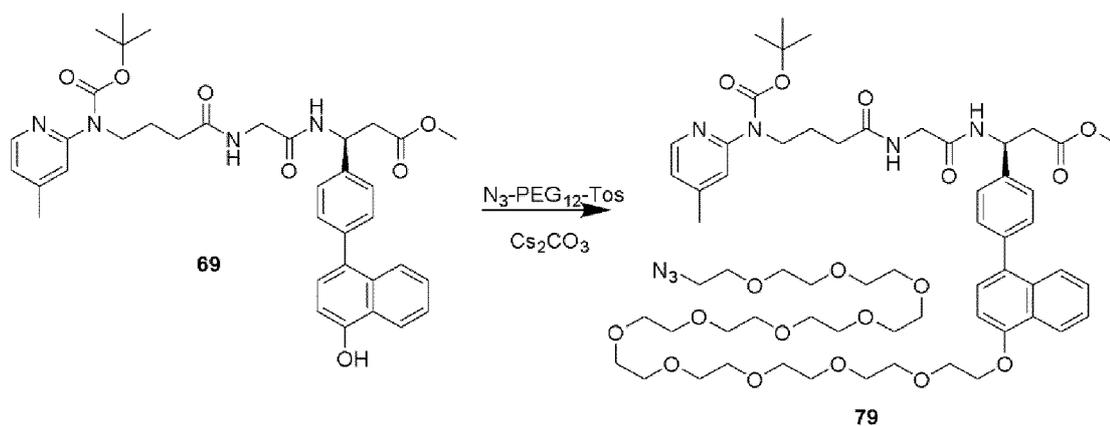
[0364] К раствору Соединения 69 (100 мг, 0,152 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₇-OTs (154 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) добавляли Cs₂CO₃ (100 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение ночи. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, используя силикагель в качестве неподвижной фазы, и продукт элюировали 2-3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 988,50, найдено 989,14.



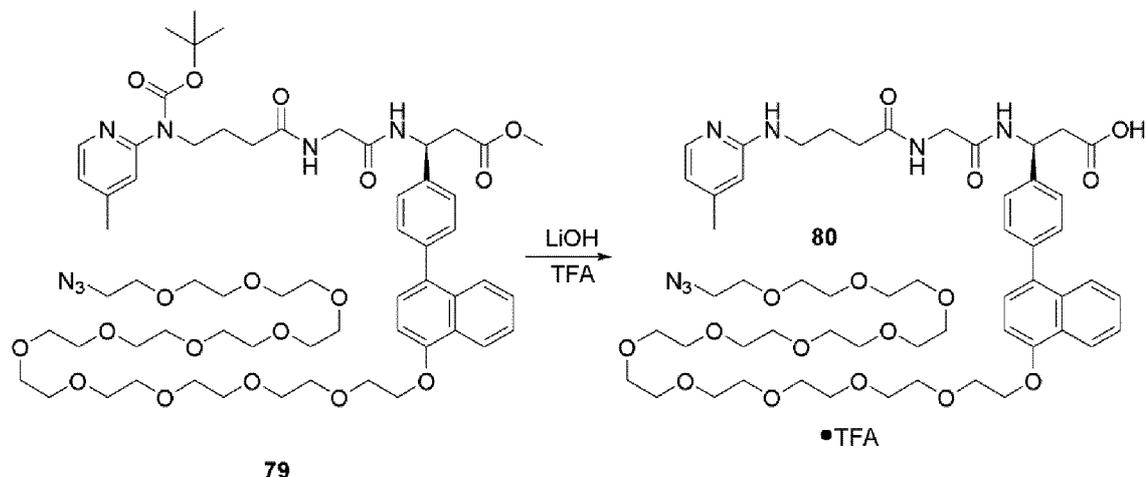
[0365] К раствору Соединения 21 (112 мг, 0,113 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (8 мг, 0,340 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (0,5 мл) и DCM (0,5 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 694,36, найдено 694,94.

экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 874,43, найдено 875,08.

Структура 6.4b ((S)-3-(4-(4-((35-азидо-3,6,9,12,15,18,21,24,33,33-ундекаоксапентатриаконтил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетиламино)пропановая кислота)

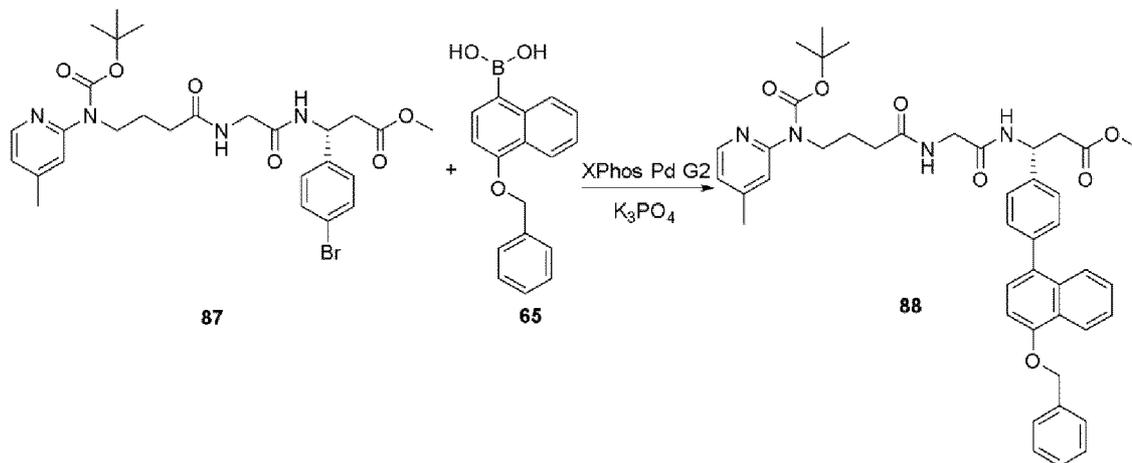


[0366] К раствору Соединения 69 (80 мг, 0,122 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₁₂-OTs (184 мг, 0,244 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) добавляли Cs₂CO₃ (80 мг, 0,244 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 5 часов. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 1208,63, найдено 1209,21.

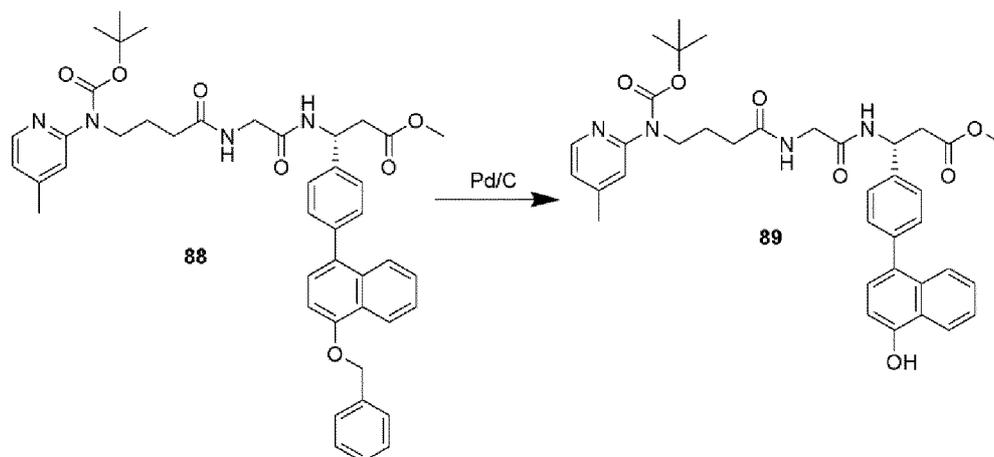


[0367] К раствору Соединения 82 (100 мг, 0,0972 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (7 мг, 0,292 ммоль, 3,0

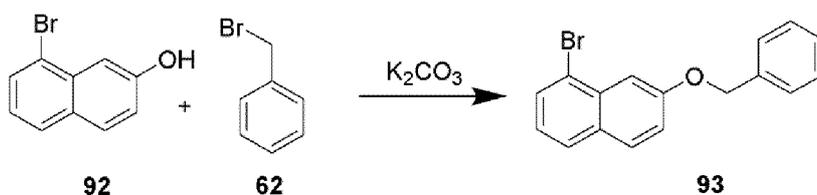
мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (1,175 мл, 6,744 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл), и продукт экстрагировали этилацетатом (3 × 20 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 591,17, найдено 591,49.



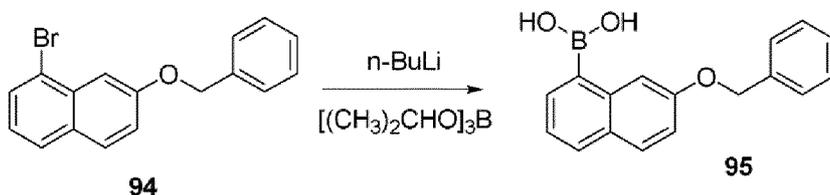
[0371] Соединение 87 (200 мг, 0,338 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 65 (141 мг, 0,507 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (5,3 мг, 0,068 ммоль, 0,02 экв.) и K₃PO₄ (143 мг, 0,676 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (8 мл) и воду (2 мл). Смесь барботировали азотом в течение 20 минут, и реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию гасили водой (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 745,35, найдено 746,08.



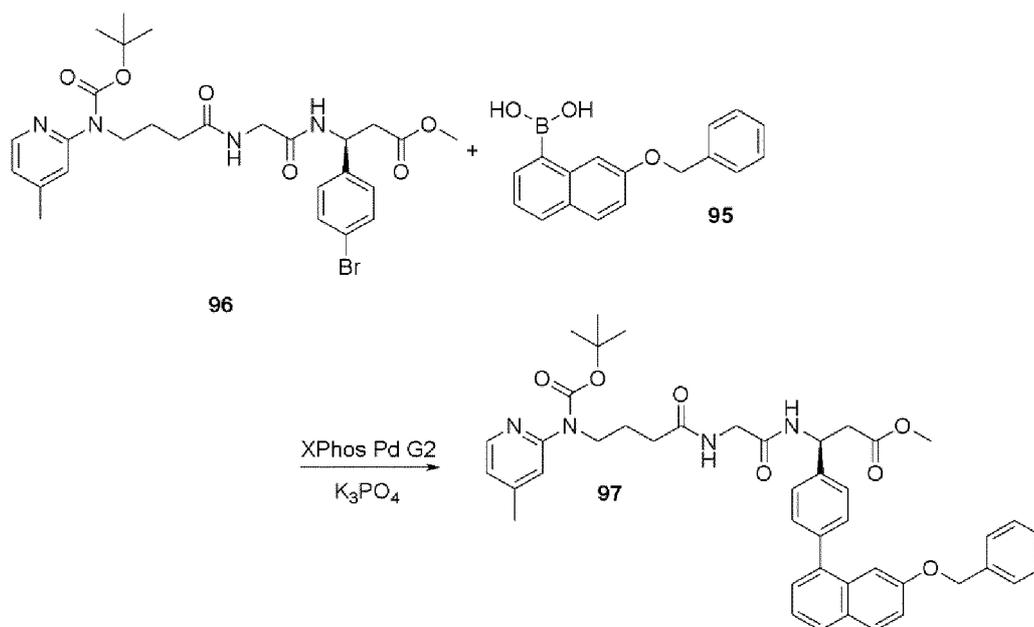
[0372] К раствору Соединения 88 (0,247 г, 0,331 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре добавляли 10% Pd/C (100 мг). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор удаляли



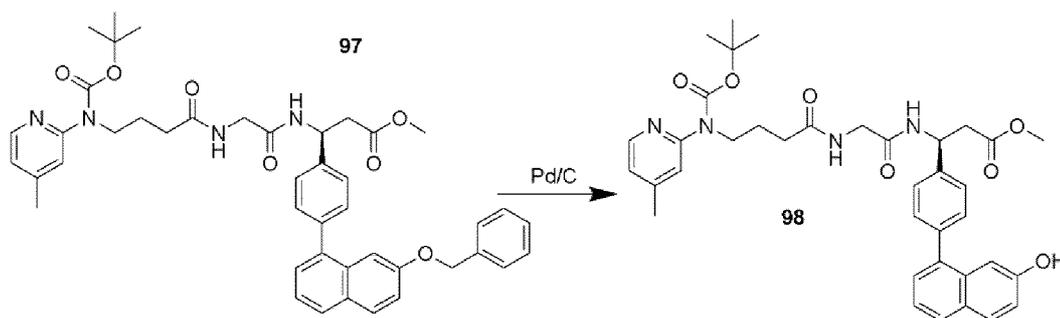
[0375] К раствору Соединения 92 (1,0 г, 4,48 ммоль, 1 экв.) и Соединения 62 (1,06 мл, 8,96 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (10 мл) при комнатной температуре добавляли K_2CO_3 (1,24 г, 8,96 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали при $80^\circ C$ в течение ночи. Реакцию гасили насыщенным раствором $NaHCO_3$ (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт разделяли при помощи CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 5%-ным этилацетатом в гексане.



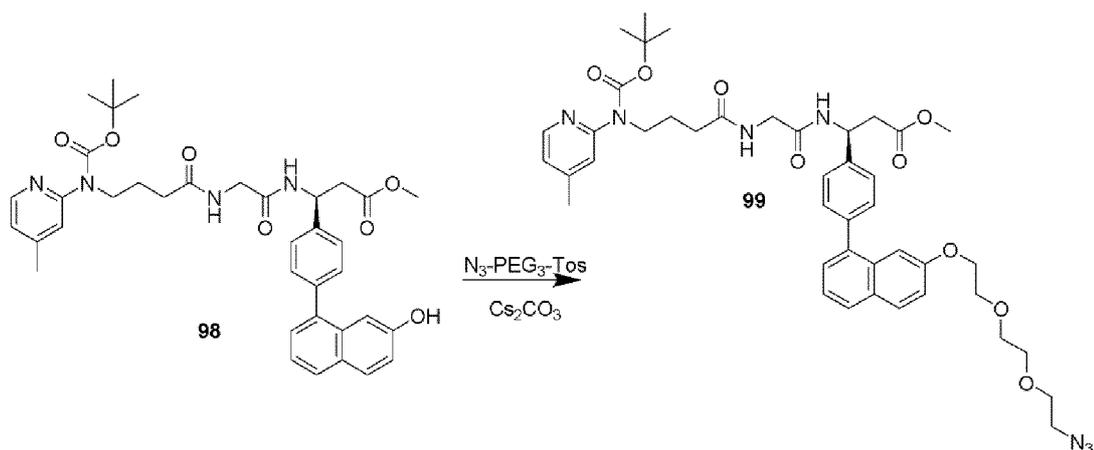
[0376] К раствору Соединения 94 (0,5 г, 1,596 ммоль, 1,0 экв.) в безводном THF (10 мл) при $-78^\circ C$ добавляли по каплям $n-BuLi$ в гексане (0,96 мл, 2,394 ммоль, 1,5 экв.). Реакционную смесь выдерживали при $-78^\circ C$ в течение еще 1 часа. К смеси при $-78^\circ C$ добавляли триизопропилборат (0,553 мл, 2,394 ммоль, 1,5 экв.). Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NH_4Cl (20 мл) и pH довели до 3. Водную фазу экстрагировали EtOAc (3×20 мл), органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Твердое вещество растирали с гексаном и фильтровали. Продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[M-H]-277,11$, найдено 277,35.



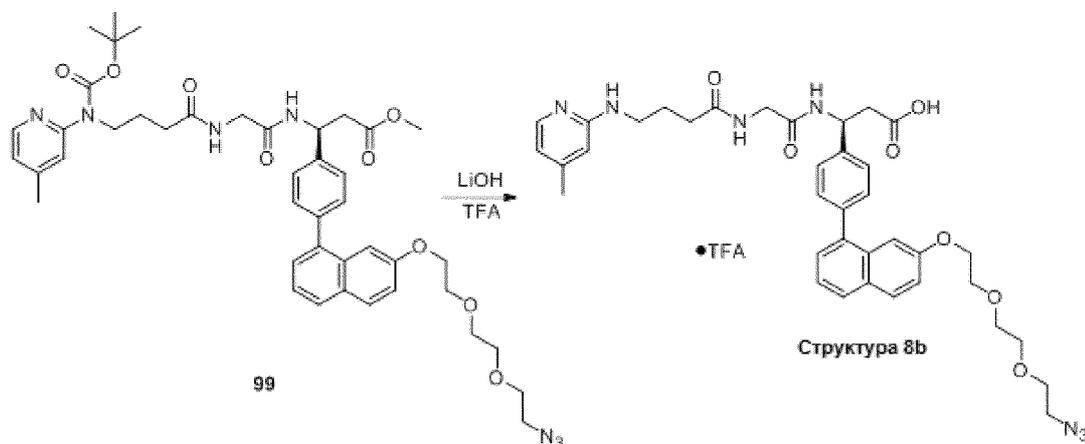
[0377] Соединение 96 (100 мг, 0,169 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 95 (70 мг, 0,253 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (2,7 мг, 0,0034 ммоль, 0,02 экв.) и K₃PO₄ (72 мг, 0,338 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (8 мл) и воду (2 мл). Смесь барботировали азотом в течение 20 минут, и реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию гасили водой (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3% метанолом в DCM.



[0378] К раствору Соединения 97 (0,116 г, 0,157 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре добавляли 10% Pd/C (100 мг). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор удаляли фильтрацией через Celite®, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 655,31, найдено 655,87.

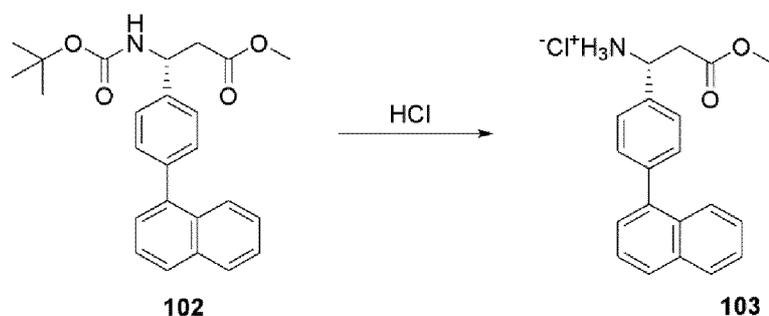


[0379] К раствору Соединения 98 (87 мг, 0,133 ммоль, 1 экв.) и азида-PEG₃-OTs (87 мг, 0,266 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (87 мг, 0,266 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 6 часов. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% МЕОН В DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 812,39, найдено 813,05.

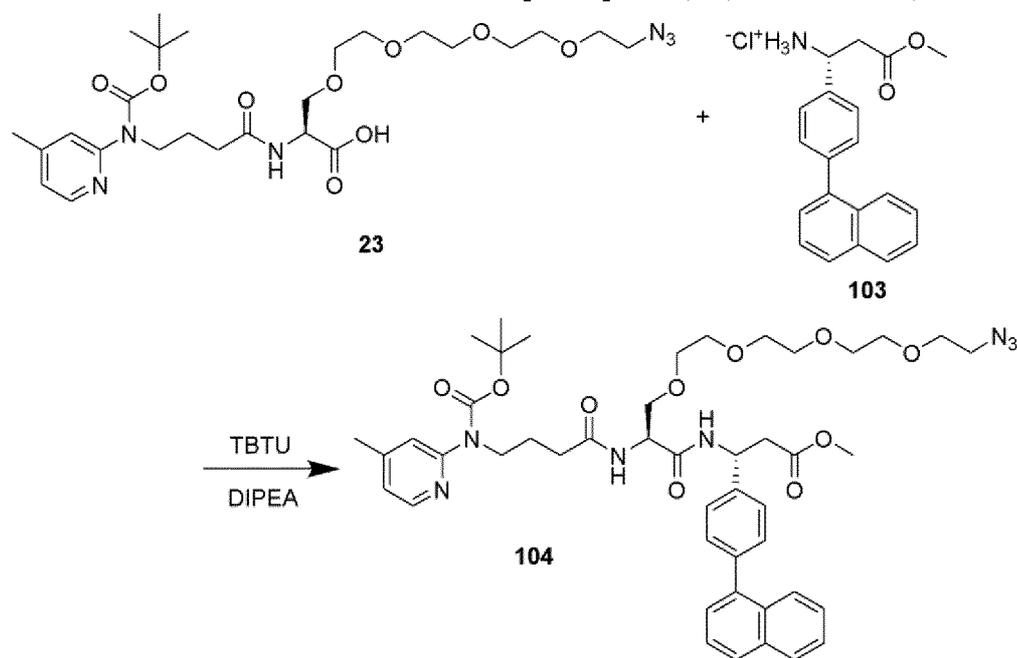


[0380] К раствору Соединения 99 (65 мг, 0,0801 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (6 мг, 0,240 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (0,5 мл) и DCM (0,5 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 698,32, найдено 698,99.

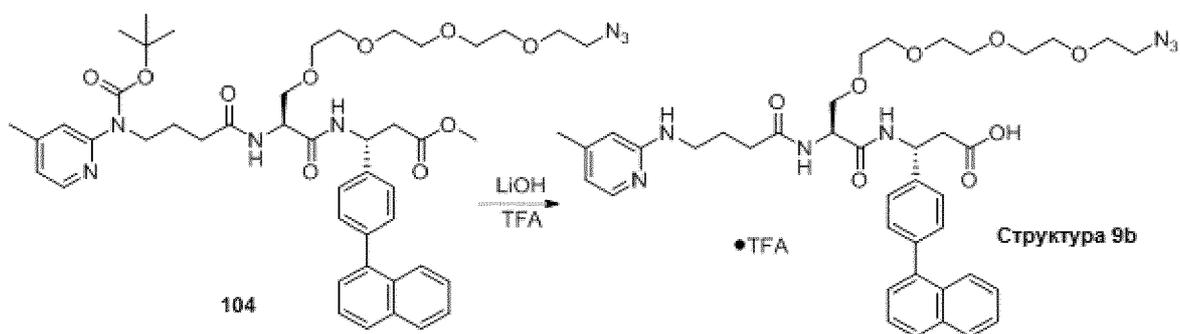
Синтез Структуры 9b ((1*S*,17*R*)-1-азида-14-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамида)-17-(4-(нафталин-1-ил)фенил)-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азанонадекан-19-овая кислота)



[0381] Соединение 102 (0,19 г, 0,468 ммоль, 1,0 экв.) охлаждали на ледяной бане. Добавляли в колбу HCl в диоксане (2,35 мл, 9,37 ммоль, 20 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Растворитель удалили с помощью роторного испарителя, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 306,14, найдено 306,51.

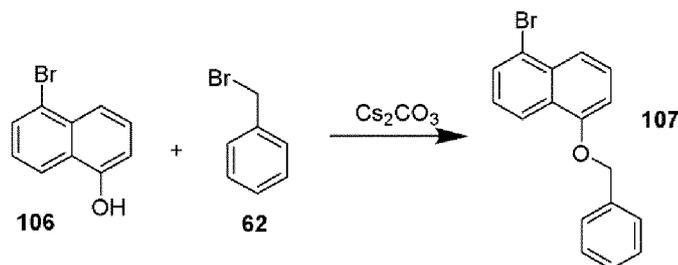


[0382] К раствору Соединения 23 (110 мг, 0,188 ммоль, 1 экв.), Соединения 103 (71 мг, 0,207 ммоль, 1,10 экв.) и TBTU (72,7 мг, 0,226 ммоль, 1,20 экв.) в безводном DMF (2 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,1 мл, 0,566 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл), и продукт экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 870,43, найдено 871,12.

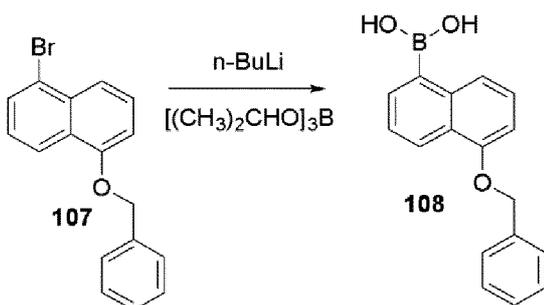


[0383] К раствору Соединения 104 (110 мг, 0,126 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (9 мг, 0,379 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 756,36, найдено 756,88.

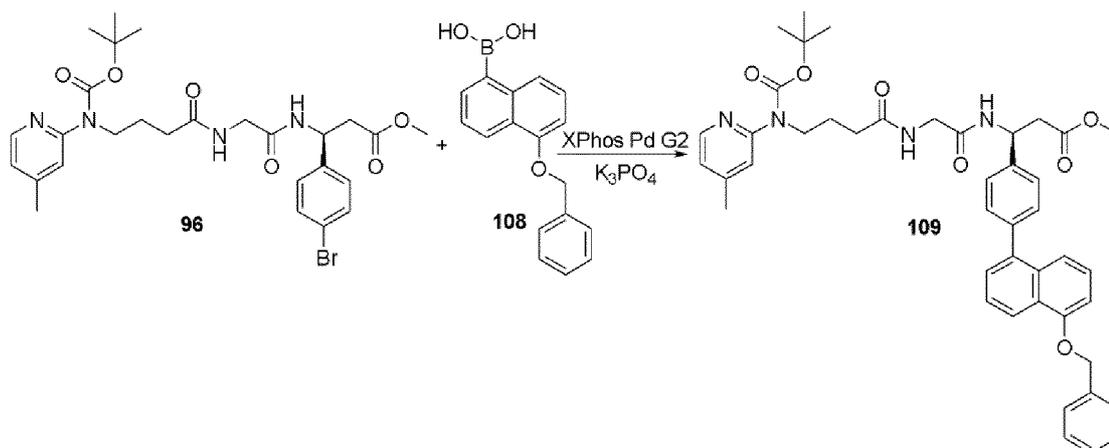
Синтез **Структуры** **10b** **((S)-3-(4-(5-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксотетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетамидо)пропановая кислота)**



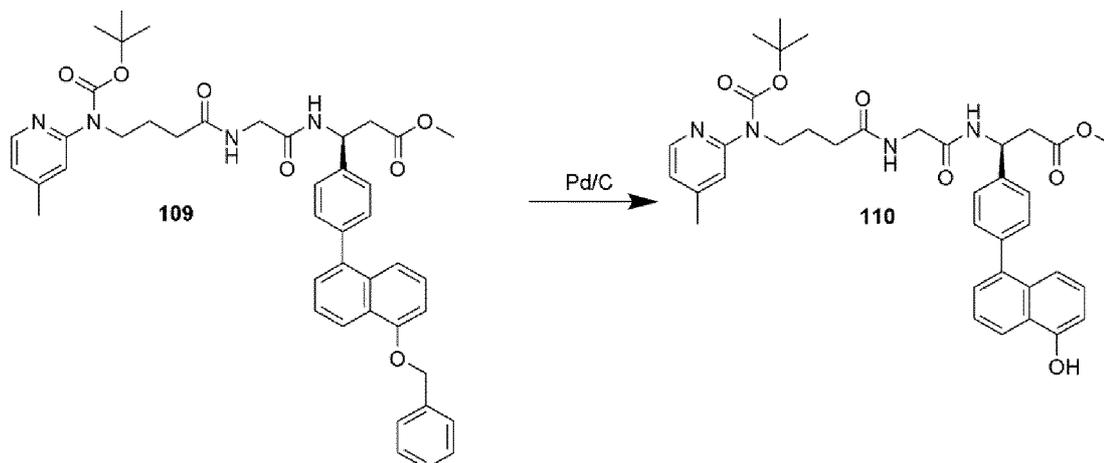
[0384] К раствору Соединения 106 (1,0 г, 4,48 ммоль, 1 экв.) и Соединения 62 (1,06 мл, 8,96 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (10 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (2,92 г, 8,96 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию гасили водным раствором (20 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт разделяли при помощи CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 5%-ным этилацетатом в гексане.



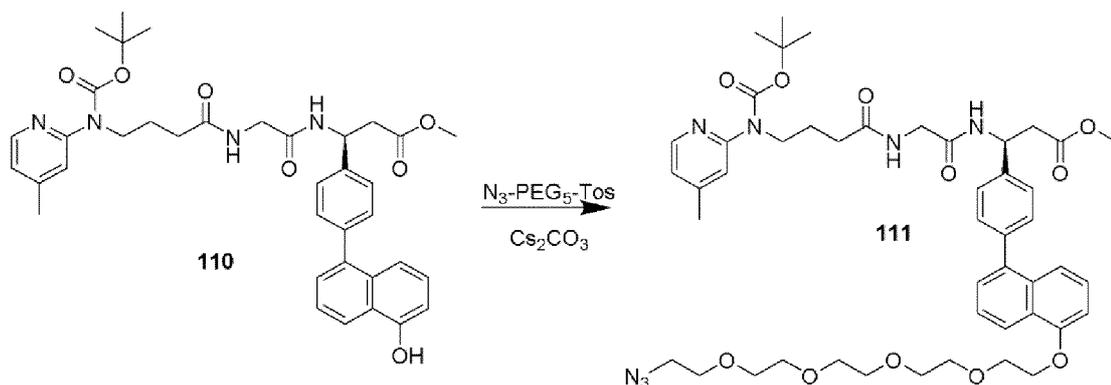
[0385] К раствору Соединения 107 (1,188 г, 3,793 ммоль, 1,0 экв.) в безводном THF (10 мл) при -78°C добавляли по каплям $n\text{-BuLi}$ в гексане (2,27 мл, 5,689 ммоль, 1,5 экв.). Реакционную смесь выдерживали при -78°C в течение еще 1 часа. К смеси при -78°C добавляли триизопропилборат (1,31 мл, 5,689 ммоль, 1,5 экв.). Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NH_4Cl (20 мл) и pH доводили до 3. Водную фазу экстрагировали EtOAc (3×20 мл), органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Твердое вещество растирали с гексаном и фильтровали. Продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[\text{M}-\text{H}]^-$, 277,11, найдено 277,26.



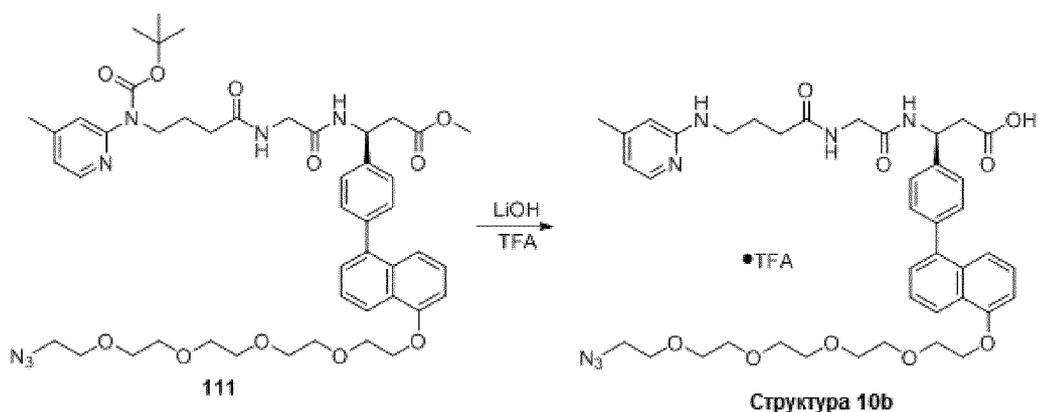
[0386] Соединение 96 (100 мг, 0,169 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 108 (70 мг, 0,253 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (2,7 мг, 0,0034 ммоль, 0,02 экв.) и K_3PO_4 (72 мг, 0,338 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (8 мл) и воду (2 мл). Смесь барботировали азотом в течение 20 минут, и реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию гасили водой (10 мл) и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 745,35, найдено 745,99.



[0387] К раствору Соединения 109 (0,135 г, 0,181 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре добавляли 10% Pd/C (100 мг). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор удаляли фильтрацией через Celite®, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 655,31, найдено 655,87.

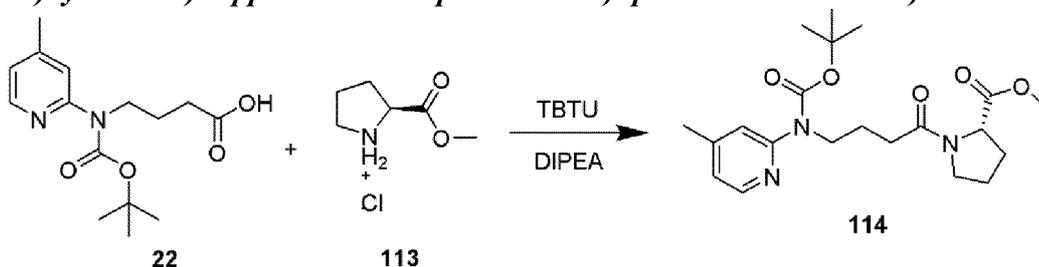


[0388] К раствору Соединения 110 (50 мг, 0,0764 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (64 мг, 0,152 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (50 мг, 0,152 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4% метанолом в DCM. Выход составил 62%. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 900,44, найдено 901,19.

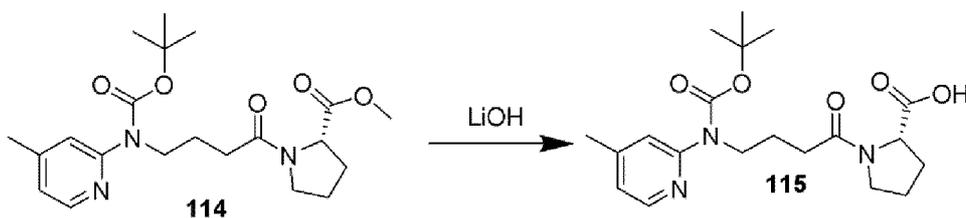


[0389] К раствору Соединения 111 (43 мг, 0,0478 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (3,4 мг, 0,143 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 N), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 786,37, найдено 787,04.

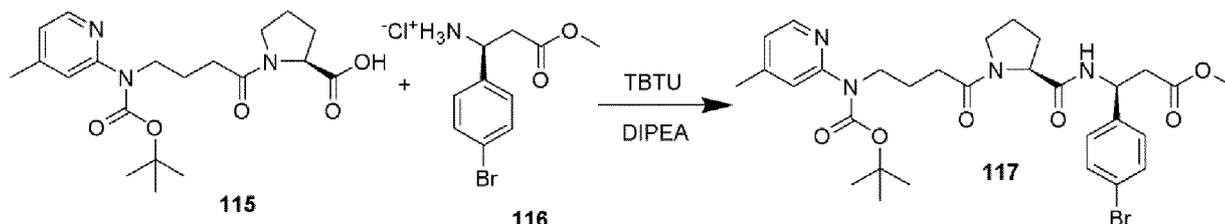
Синтез *Структуры* *11b* *((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-((S)-1-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутаноил)пирролидин-2-карбоксамидо)пропановая кислота)*



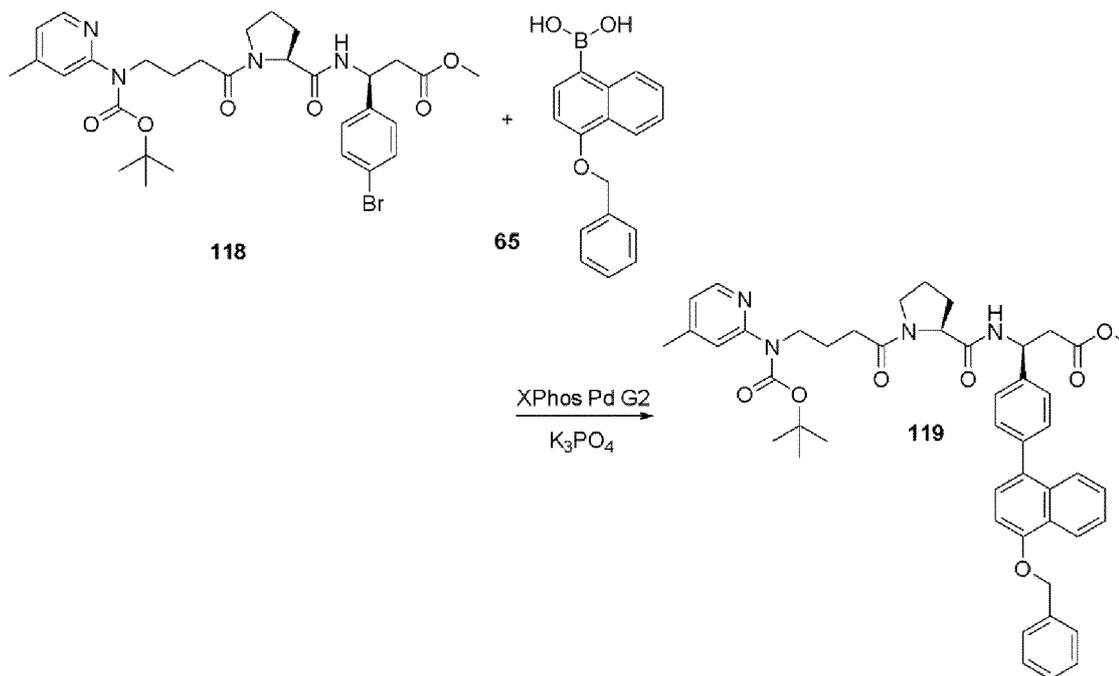
[0390] К раствору Соединения 22 (500 мг, 1,698 ммоль, 1 экв.), Соединения 113 (295 мг, 1,783 ммоль, 1,05 экв.) и TBTU (654 мг, 2,038 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (10 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,888 мл, 5,096 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. Выход составил 98,72%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 406,23, найдено 406,07.



[0391] К раствору Соединения 114 (0,68 г, 1,676 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл) и H₂O (5 мл) при 0°C добавляли гидроксид лития (0,12 г, 5,030 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь подкисляли HCl (6 N) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл) и органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 392,21, найдено 392,39.

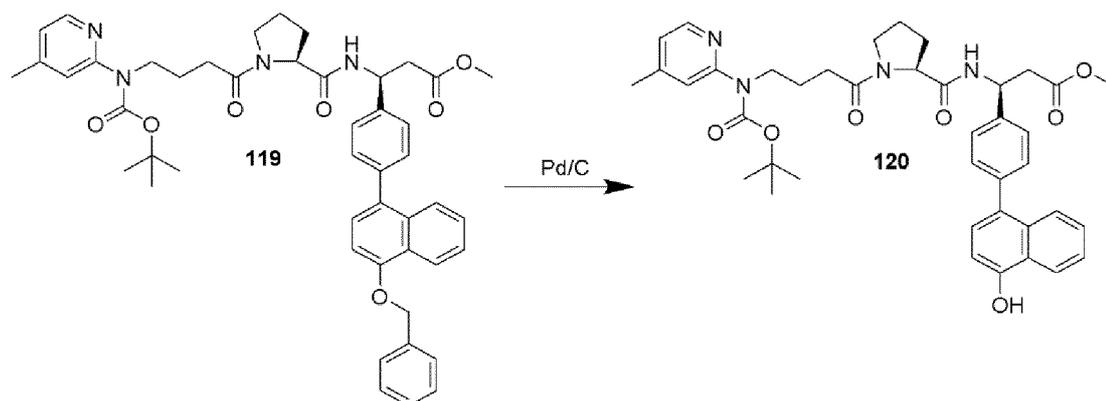


[0392] К раствору Соединения 115 (300 мг, 0,766 ммоль, 1 экв.), Соединения 116 (237 мг, 0,804 ммоль, 1,05 экв.) и TBTU (295 мг, 0,919 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (10 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,400 мл, 2,299 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. Выход составил 83%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 631,21, найдено 631,46.

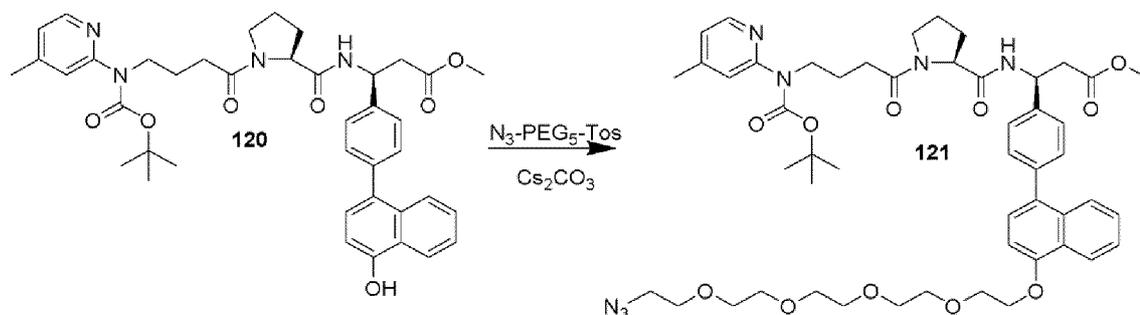


[0393] Соединение 118 (100 мг, 0,158 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 65 (66 мг, 0,237 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (2,5 мг, 0,0032 ммоль, 0,02 экв.) и K₃PO₄ (67 мг, 0,316 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся

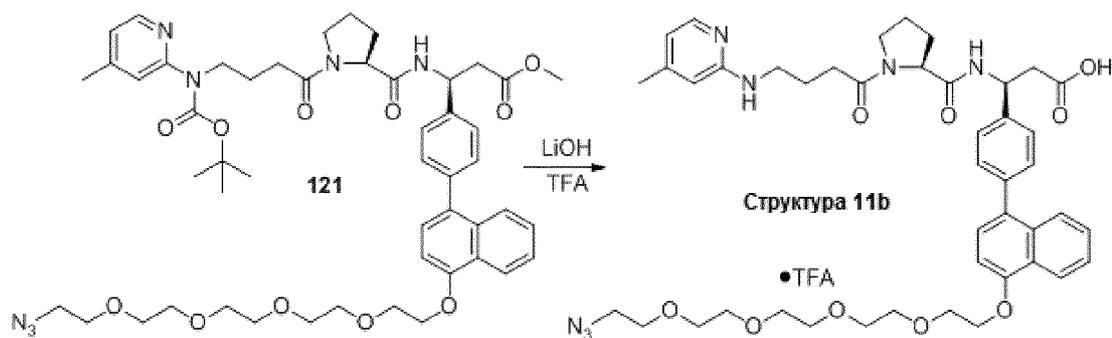
крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (5 мл) и воду (1 мл). Смесь барботировали азотом в течение 20 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение 1 часа. Реакцию гасили водой (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3% метанолом в DCM. Выход составил 96%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 785,38, найдено 785,69.



[0394] К раствору Соединения 119 (0,120 г, 0,153 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре добавляли 10% Pd/C (100 мг). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор удаляли фильтрацией через Celite®, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 695,34, найдено 695,66.

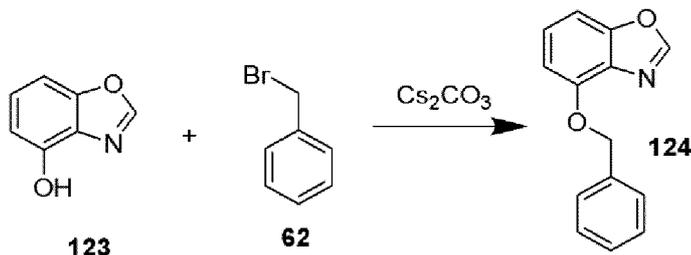


[0395] К раствору Соединения 120 (83 мг, 0,119 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (100 мг, 0,239 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (78 мг, 0,239 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4% метанолом в DCM. Выход составил 79%. LC-MS: вычислено 940,47, найдено 941,16.

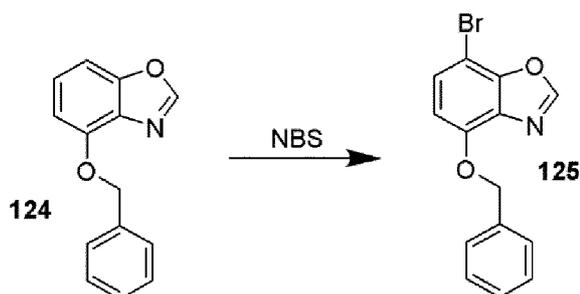


[0396] К раствору Соединения 121 (89 мг, 0,0947 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (6,8 мг, 0,284 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 N), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 826,41, найдено 827,10.

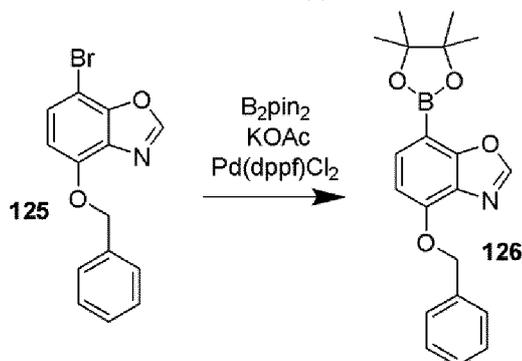
Синтез Структуры 12b ((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксотетрадецил)окси)бензо[d]оксазол-7-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетамидо)пропановая кислота)



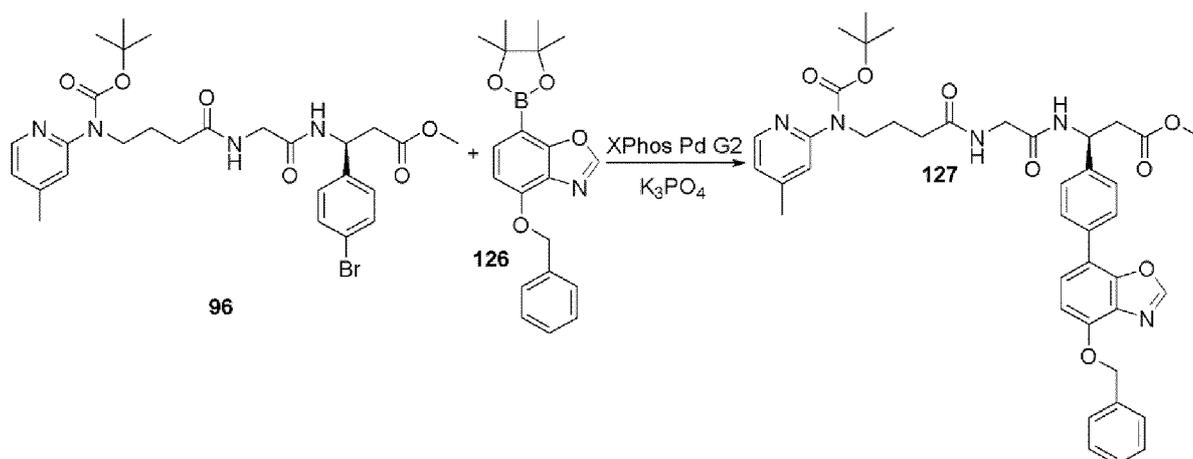
[0397] К раствору Соединения 123 (1,0 г, 7,40 ммоль, 1 экв.) и Соединения 62 (1,32 мл, 11,10 ммоль, 1,5 экв.) в безводном DMF (10 мл) добавляли Cs₂CO₃ (3,62 г, 11,10 ммоль, 1,5 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакцию гасили водой (10 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл), органические фазы объединяли, сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт разделяли при помощи CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 5-7% этилацетатом в гексане. Выход составил 85%.



[0398] К раствору Соединения 124 (1,425 г, 6,326 ммоль, 1 экв.) в безводном ацетонитриле (20 мл) при 0°C добавляли N-бромсукцинимид (1,216 г, 6,832 ммоль, 1,08 экв.). Реакционную смесь выдерживали при 0°C в течение еще 30 минут, затем давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Растворитель удаляли при пониженном давлении, и остаток очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. Продукт элюировали 4-5% этилацетатом в гексане. Выход 65%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 303,99. Найдено 304,08.

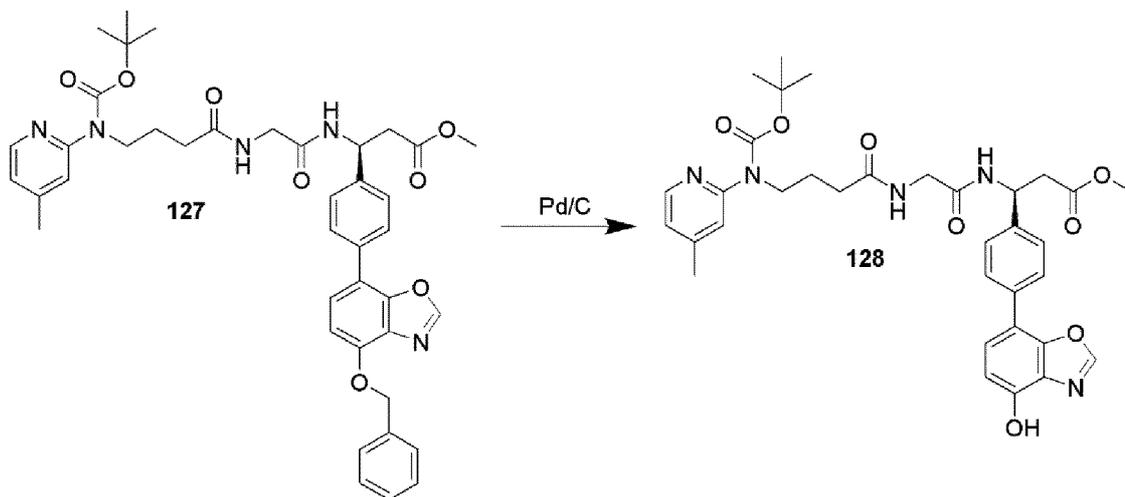


[0399] Смесь Соединения 125 (1,339 г, 4,402 ммоль, 1 экв.), бис(пинаcolato)диборона (2,236 г, 8,805 ммоль, 2 экв.), ацетата калия (0,864 г, 8,805 ммоль, 2 экв.) и Pd(dppf)Cl₂ (161 мг, 0,220 ммоль, 0,05 экв.) в 15 мл безводного 1,4-диоксана перемешивали при 100°C в атмосфере азота в течение 8 часов. После концентрирования остаток распределяли между водой и DCM, водную фазу экстрагировали DCM, объединенный органический слой промывали насыщенным соевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 15-20% этилацетатом в гексане. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 352,16, найдено 352,06.

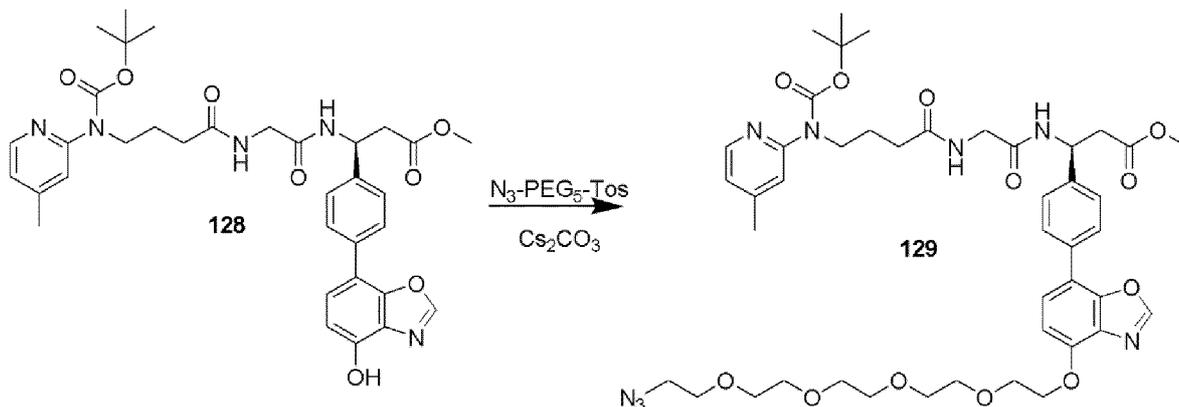


[0400] Соединение 96 (200 мг, 0,338 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 126 (178 мг, 0,507 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (5,3 мг, 0,0068 ммоль, 0,02 экв.) и K₃PO₄ (143 мг, 0,676 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза).

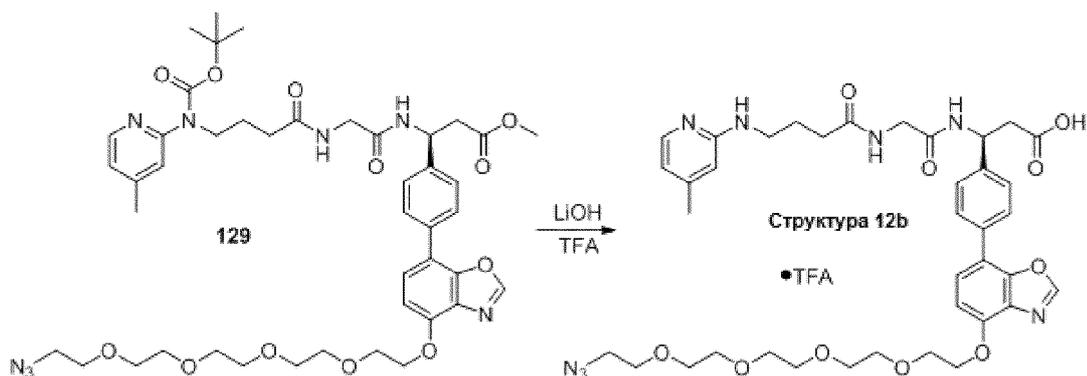
Затем через шприц добавляли THF (5 мл) и воду (1 мл). Смесь барботировали азотом в течение 20 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение 1 часа. Реакцию гасили насыщенным NaHCO_3 (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 736,33, найдено 736,89.



[0401] К раствору Соединения 127 (0,219 г, 0,297 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) добавляли 10% Pd/C (100 мг) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор удаляли фильтрацией через Celite®, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 646,28, найдено 646,78.

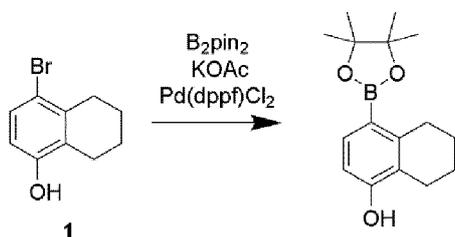


[0402] К раствору Соединения 128 (73 мг, 0,113 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (94 мг, 0,226 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs_2CO_3 (74 мг, 0,226 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (10 мл), и водный слой экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4% метанолом в DCM. Выход 80%. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 891,42, найдено 892,00.

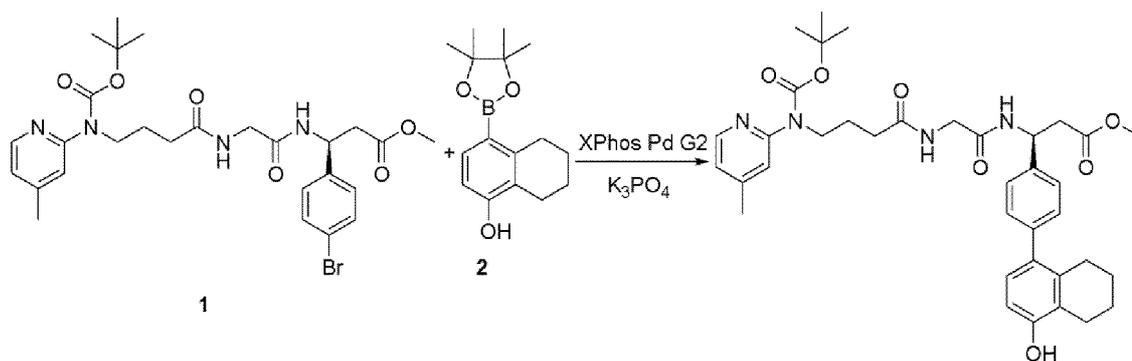


[0403] К раствору Соединения 129 (43 мг, 0,0478 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (3,4 мг, 0,143 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 777,35, найдено 777,94.

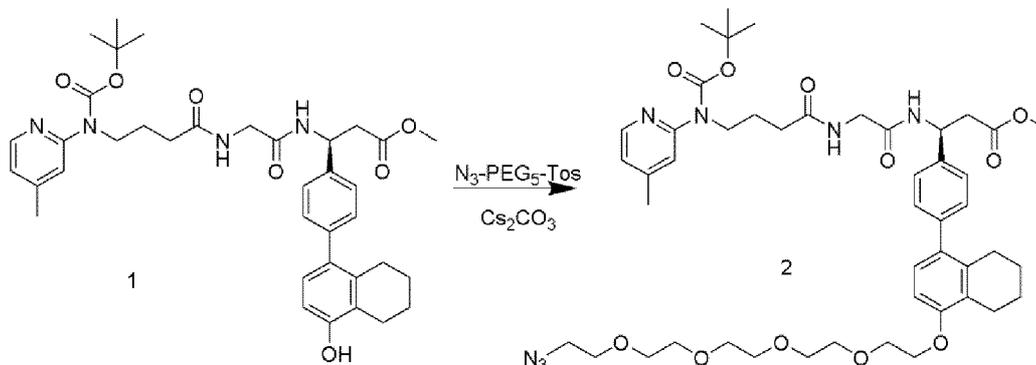
Синтез **Структуры** **13b** **((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксотетрадецил)окси)-5,6,7,8-тетрагидронафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-(4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетамидо)пропановая кислота)**



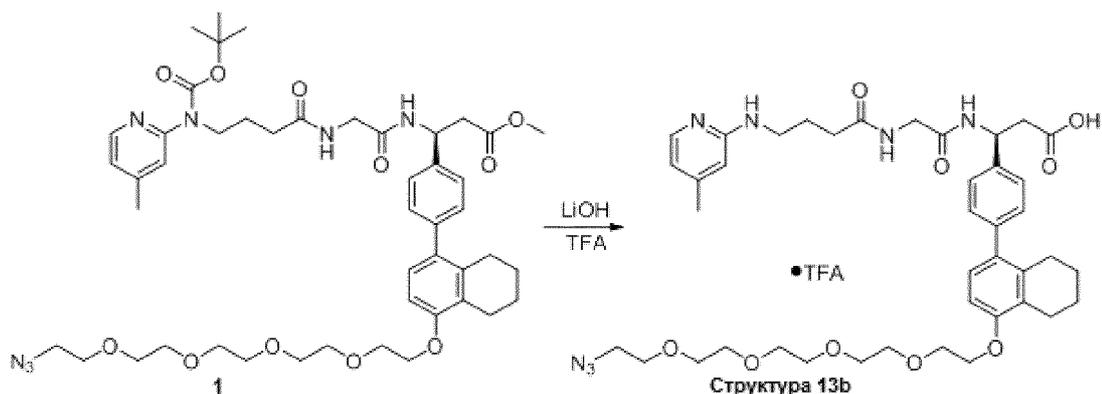
[0404] Смесь Соединения 1 (300 мг, 1,321 ммоль, 1 экв.), бис(пинаколато)диборона (671 мг, 2,642 ммоль, 2 экв.), ацетата калия (389 мг, 3,963 ммоль, 2 экв.) и Pd(dppf)Cl₂ (48 мг, 0,066 ммоль, 0,05 экв.) в 10 мл безводного 1,4-диоксана перемешивали при 80°C в атмосфере азота в течение ночи. После концентрирования остаток распределяли между водой и DCM, водную фазу экстрагировали DCM и объединенный органический слой промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 10%-ным этилацетатом в гексане. LC-MS: вычислено [M-H]⁻ 273,17, найдено 273,29.



[0405] Соединение 1 (100 мг, 0,169 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 2 (70 мг, 0,253 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (2,7 мг, 0,0034 ммоль, 0,02 экв.) и K_3PO_4 (72 мг, 0,338 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (5 мл) и воду (1 мл). Смесь барботировали азотом в течение 20 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение 3 часов. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и оставляли на ночь. Реакцию гасили насыщенным NaHCO_3 (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4-5% метанолом в DCMLC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 659,34, найдено 659,57.

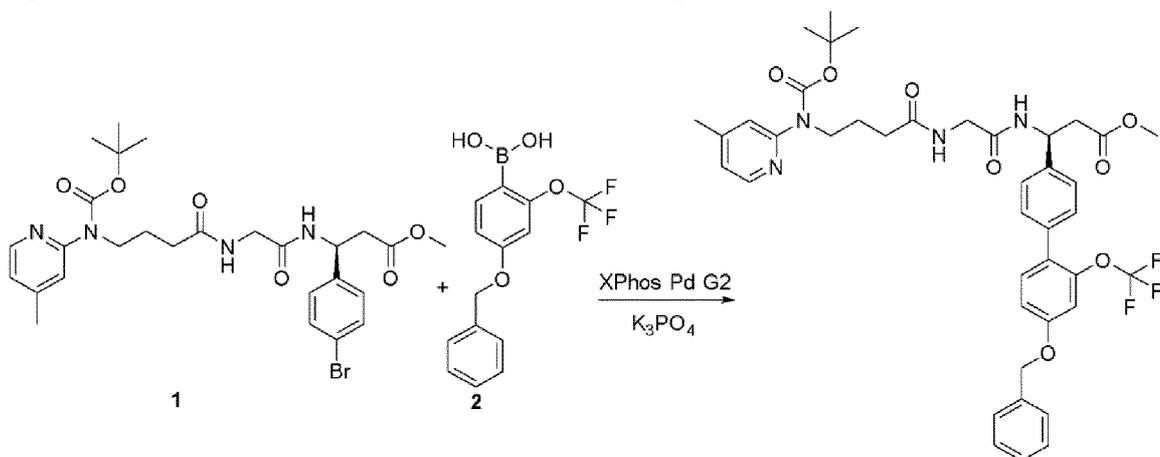


[0406] К раствору Соединения 1 (30 мг, 0,0455 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (38 мг, 0,0911 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs_2CO_3 (30 мг, 0,0911 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C . Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4% метанолом в DCM. Выход составил 70%. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 904,47, найдено 904,88.

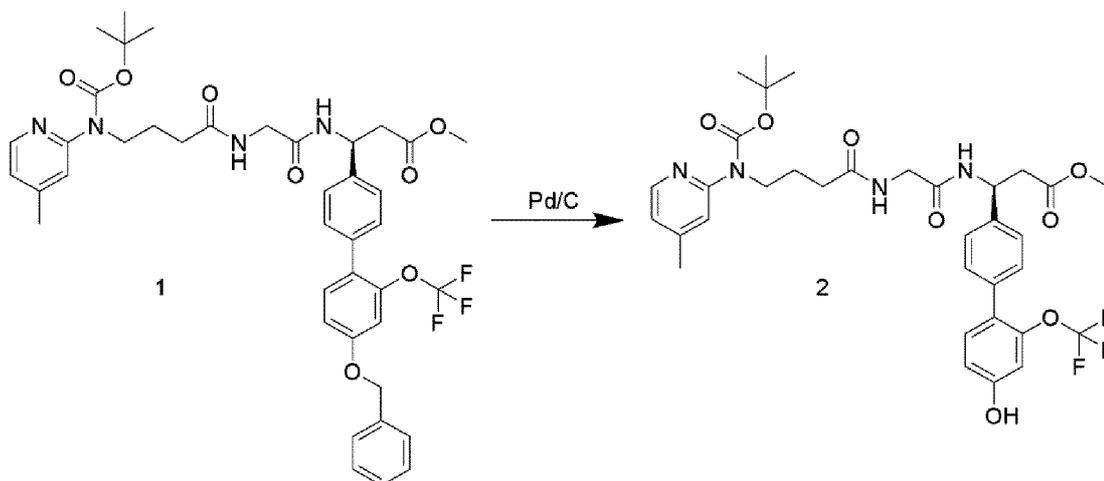


[0407] К раствору Соединения 1 (29 мг, 0,0321 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (2,3 мг, 0,0962 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 790,41, найдено 790,64.

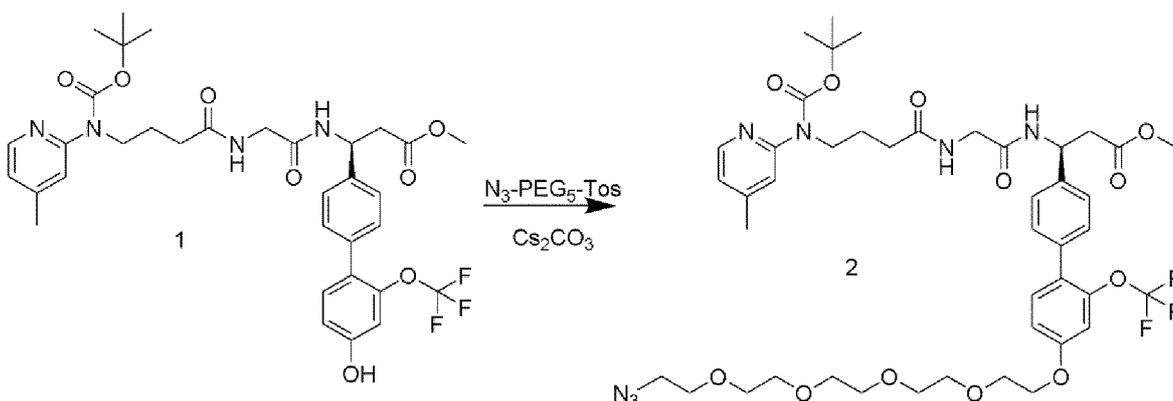
Синтез **Структуры** **14b** **((S)-3-(4'-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)-2'-(трифторметокси)-[1,1'-бифенил]-4-ил)-3-(2-(4-(4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетида)пропановая кислота)**



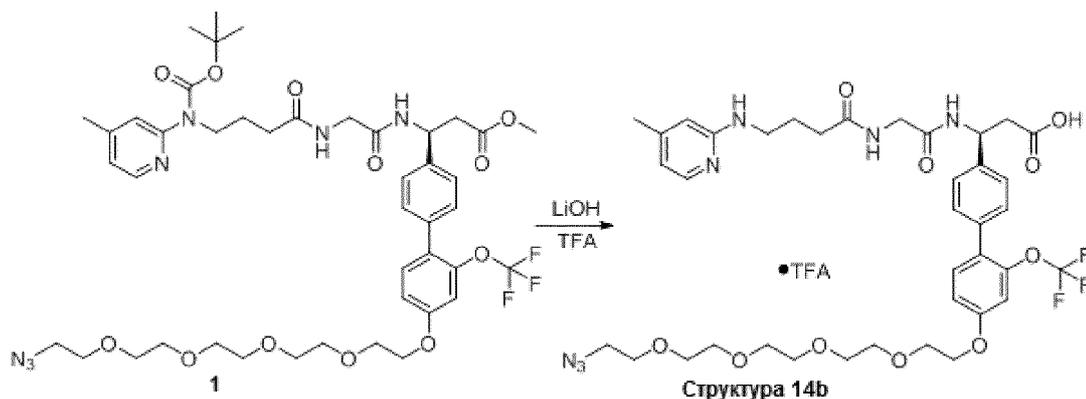
[0408] Соединение 1 (150 мг, 0,253 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 2 (118 мг, 0,380 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (4 мг, 0,0051 ммоль, 0,02 экв.) и K₃PO₄ (107 мг, 0,507 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (5 мл) и воду (1 мл). Смесь барботировали азотом в течение 10 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение ночи. Реакцию гасили водой (10 мл) и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 779,32, найдено 779,65.



[0409] К раствору Соединения 1 (0,19 г, 0,244 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре добавляли 10% Pd/C (100 мг). Реакционную смесь колбу вакуумировали и заполняли водородом (этот процесс повторяли 3 раза.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор удаляли фильтрацией через Celite®, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 689,27, найдено 689,54.

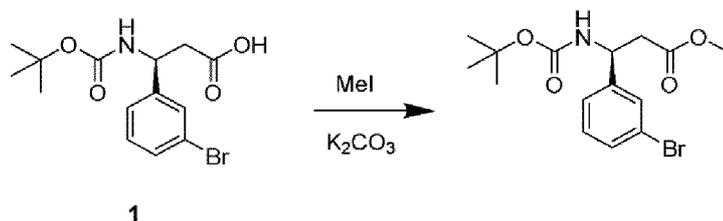


[0410] К раствору Соединения 1 (80 мг, 0,116 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (97 мг, 0,232 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (76 мг, 0,232 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. Выход составил 82%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 934,41, найдено 935,04.

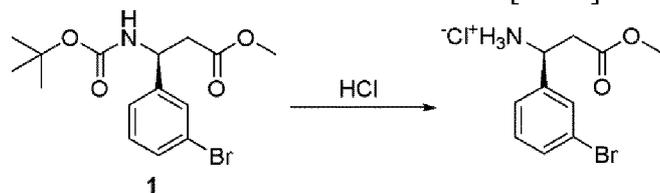


[0411] К раствору Соединения 1 (90 мг, 0,0964 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (7 мг, 0,289 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 N), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 820,34, найдено 820,89.

Синтез **Структуры** **15b** **((S)-3-(3-(5-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетамидо)пропановая кислота)**

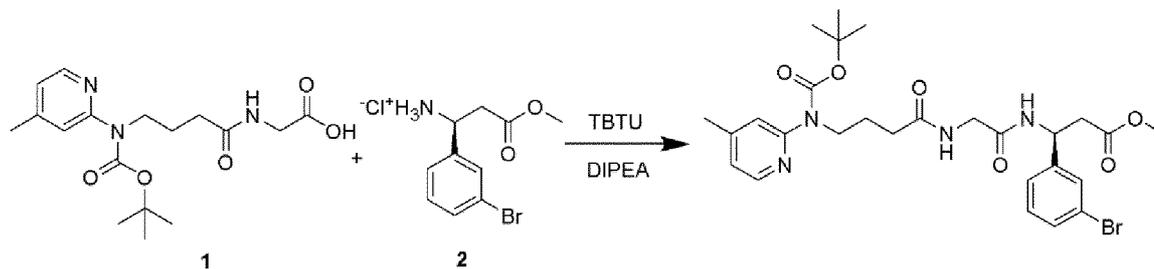


[0412] К раствору Соединения 1 (1,0 г, 2,90 ммоль, 1 экв.) и карбоната калия (0,60 г, 4,36 ммоль, 1,5 экв.) в безводном DMF (10 мл) при комнатной температуре добавляли метилиодид (362 мкл, 5,81 ммоль, 2,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем реакцию гасили водой (20 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт разделяли при помощи CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 15% этилацетатом в гексане. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 358,06, найдено 358,18.

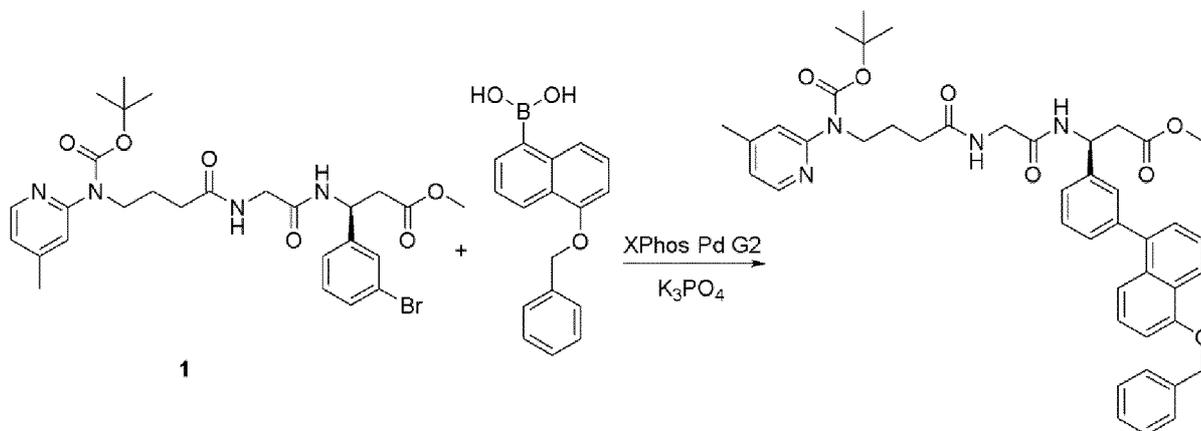


[0413] Соединение 1 (858 мг, 1,677 ммоль, 1,0 экв.) охлаждали на ледяной бане. Добавляли в колбу HCl в диоксане (8,4 мл, 33,54 ммоль, 20 экв.). Реакционную смесь

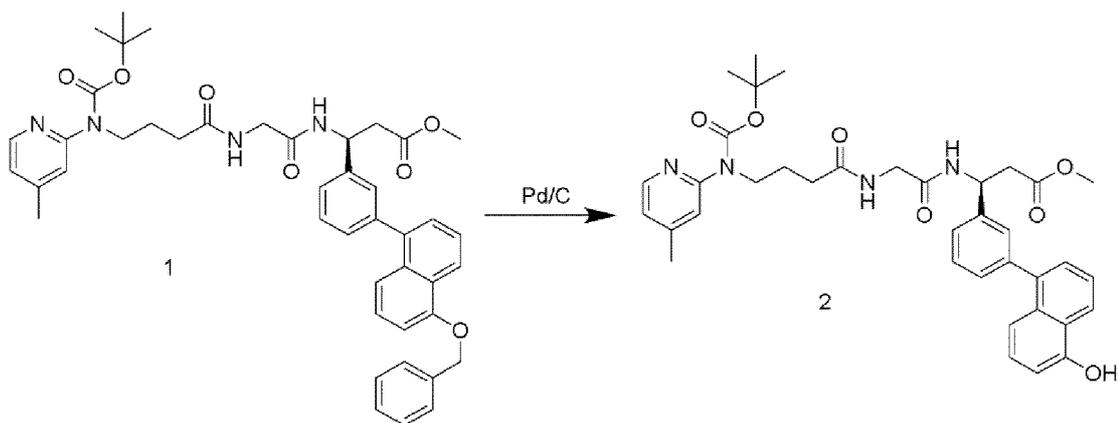
нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Растворитель удалили с помощью роторного испарителя, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 258,01, найдено 258,08.



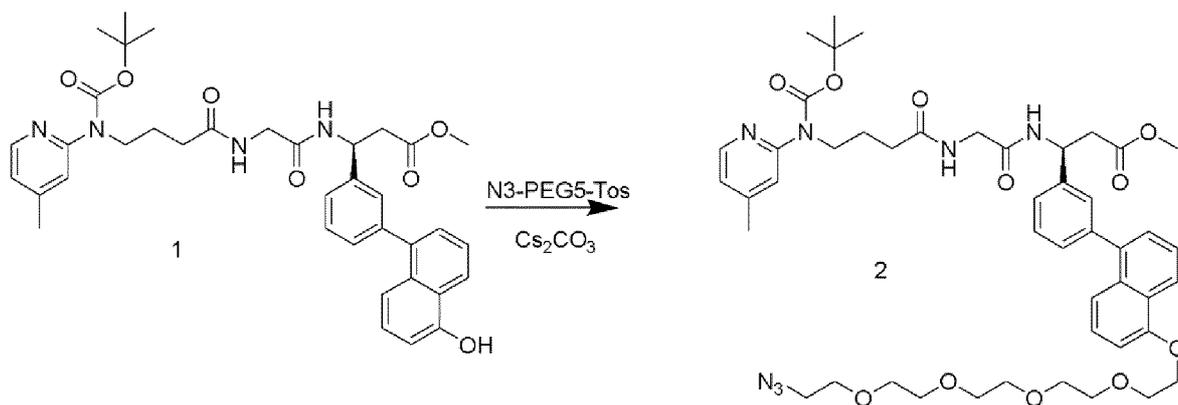
[0414] К раствору Соединения 1 (640 мг, 1,821 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (590 мг, 2,003 ммоль, 1,10 экв.) и TBTU (702 мг, 2,185 ммоль, 1,20 экв.) в безводном DMF (10 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,952 мл, 5,464 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным водным раствором NaHCO_3 (10 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 591,17, найдено 591,40.



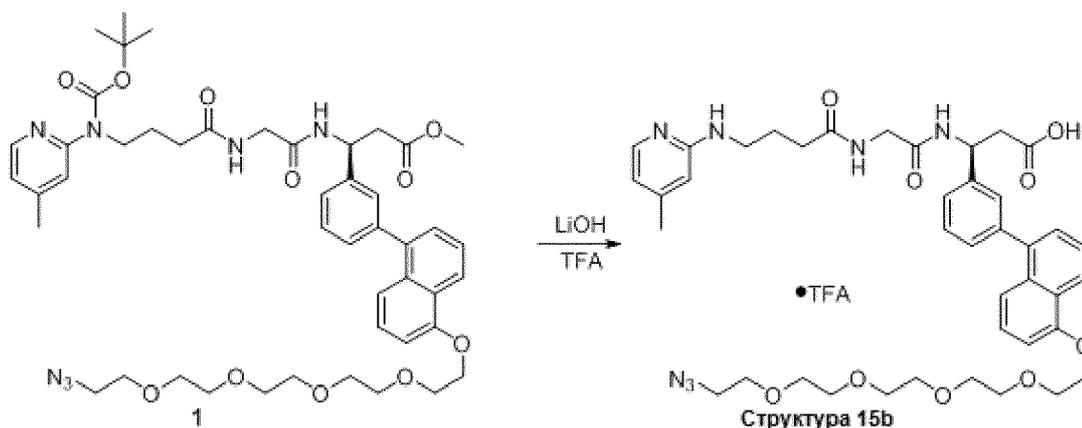
[0415] Соединение 1 (150 мг, 0,253 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 2 (106 мг, 0,380 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (4 мг, 0,0051 ммоль, 0,02 экв.) и K_3PO_4 (107 мг, 0,507 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (5 мл) и воду (1 мл). Смесь барботировали азотом в течение 10 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение 2 часов. Реакцию гасили водой (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 745,35, найдено 745,99.



[0416] К раствору Соединения 1 (0,189 г, 0,253 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре добавляли 10% Pd/C (100 мг). Реакционную смесь колбу вакуумировали и заполняли водородом (этот процесс повторяли 3 раза.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор удаляли фильтрацией через Celite®, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 655,31, найдено 655,42.

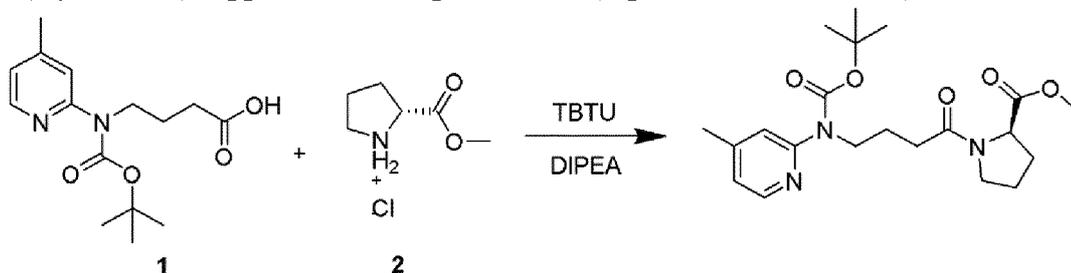


[0417] К раствору Соединения 1 (80 мг, 0,122 ммоль, 1 экв.) и азида-PEG₅-OTs (102 мг, 0,244 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (80 мг, 0,244 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 1-2% метанолом в DCM. Выход составил 90%. LC-MS: вычислено 900,44, найдено 901,1010.

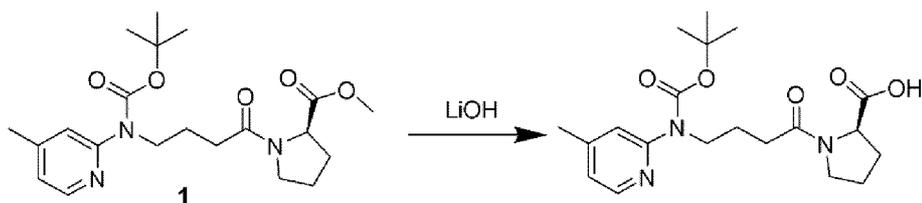


[0418] К раствору Соединения 1 (100 мг, 0,111 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (8 мг, 0,333 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 786,37, найдено 786,95.

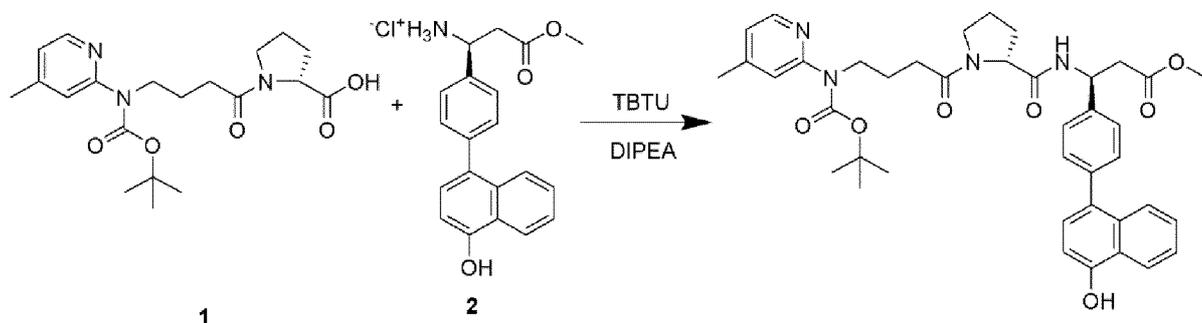
Синтез **Структуры** **16b** **((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-((R)-1-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутаноил)пирролидин-2-карбоксамид)пропановая кислота)**



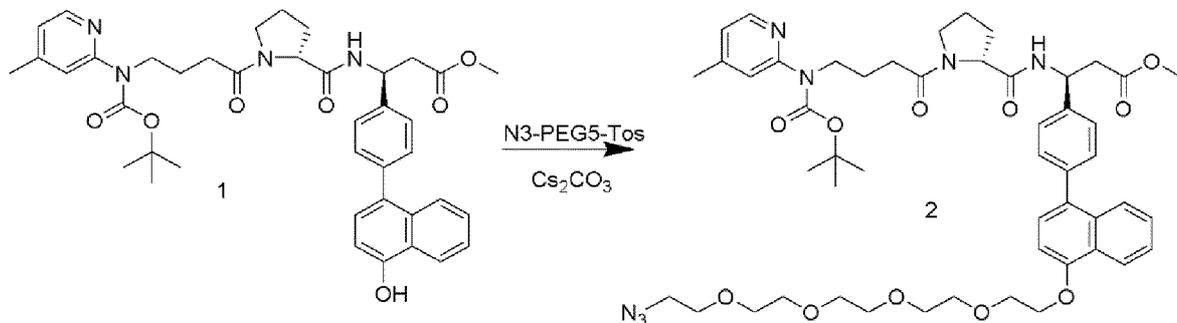
[0419] К раствору Соединения 1 (500 мг, 1,698 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (295 мг, 1,783 ммоль, 1,05 экв.) и TBUTU (654 мг, 2,038 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (10 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,888 мл, 5,096 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. Выход составил 98,43%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 406,23, найдено 406,34.



[0420] К раствору Соединения 1 (0,678 г, 1,672 ммоль, 1 экв.) в THF (10 мл) и H₂O (10 мл) при 0°C добавляли гидроксид лития (0,12 г, 5,016 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь подкисляли HCl (6 Н) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл), органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 392,21, найдено 392,39.

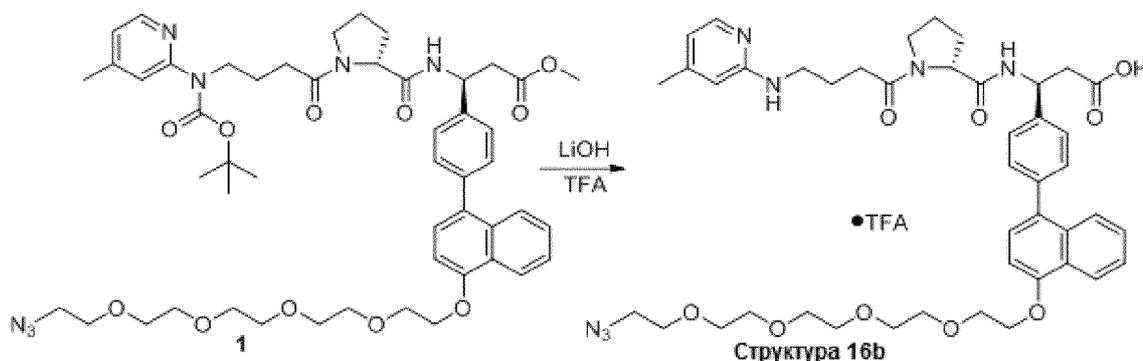


[0421] К раствору Соединения 1 (130 мг, 0,332 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (125 мг, 0,348 ммоль, 1,05 экв.) и TBTU (128 мг, 0,398 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (5 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,174 мл, 0,996 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл), и продукт экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. Выход составил 86%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 695,34, найдено 695,93.



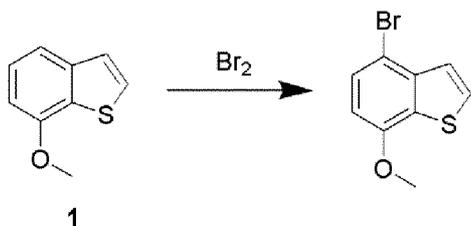
[0422] К раствору Соединения 1 (80 мг, 0,115 ммоль, 1 экв.) и азида-PEG₅-OTs (96 мг, 0,230 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (75 мг, 0,230 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл) и водный слой

экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4-5% метанолом в DCM. Выход составил 60%.

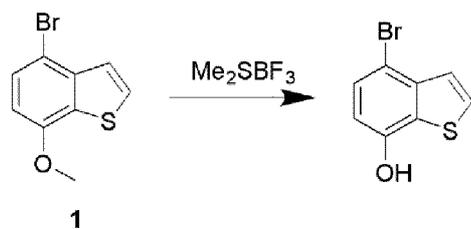


[0423] К раствору Соединения 1 (65 мг, 0,0691 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (5 мг, 0,207 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 N), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 826,41, найдено 827,01.

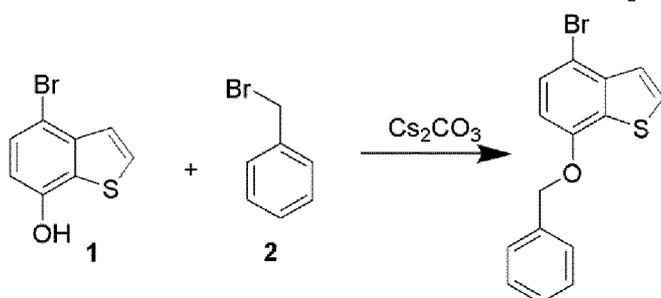
Синтез **Структуры** **17b** **((S)-3-(4-(7-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)бензо[b]тиофен-4-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамида)ацетамида)пропановая кислота)**



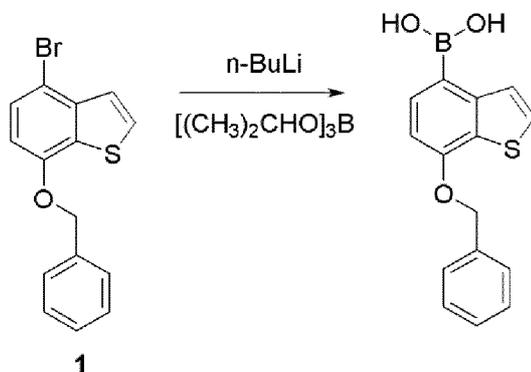
[0424] Раствор брома (1,877 г, 11,745 ммоль, 1,05 экв.) в сухом тетрахлорметане (20 мл) при 0°C добавляли по каплям в течение 1,5 часов к перемешиваемому раствору Соединения 1 (1,837 г, 11,186 ммоль, 1 экв.) в тетрахлорметане (20 мл). Через один час органический слой при 0°C промывали водой и насыщенным соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. Продукт с примесями элюировали чистым гексаном.



[0425] К раствору Соединения 1 (2,70 г, 11,105 ммоль, 1,0 экв.) в дихлорметане (20 мл) в атмосфере азота при 0°C добавляли комплекс трифторида бора с диметилсульфидом (3,5 мл, 33,317 ммоль, 3,0 экв.), и перемешивали при комнатной температуре в течение 20 часов. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и гасили насыщенным раствором NH₄Cl (20 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 20 мл), органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт разделяли при помощи CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 5%-ным этилацетатом в гексане. LC-MS: вычислено [M-H]⁻ 226,92, найдено 227,03.

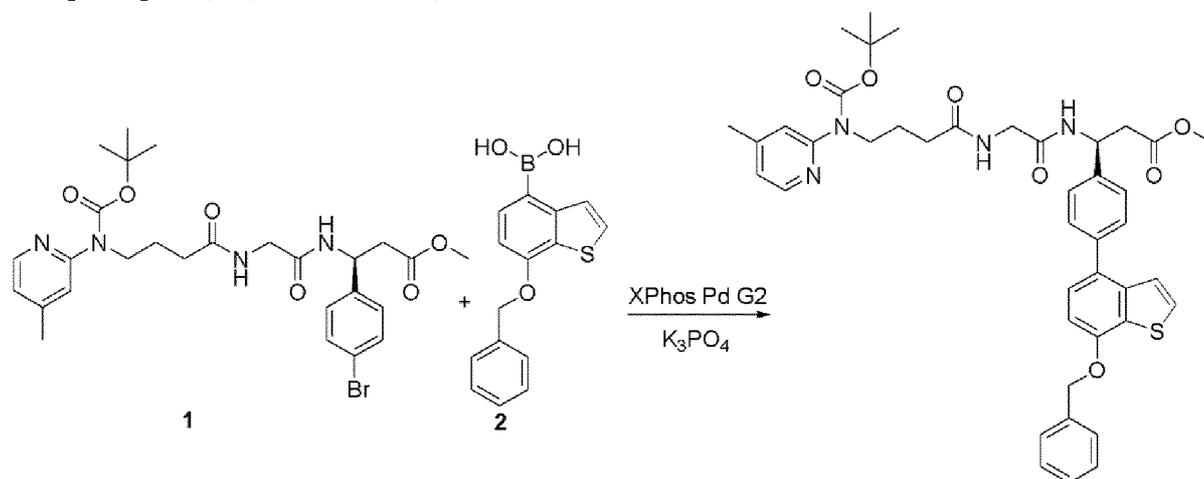


[0426] К раствору Соединения 1 (1,838 г, 8,023 ммоль, 1 экв.) и Соединения 2 (1,906 мл, 16,04 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (10 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (5,228 г, 16,04 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию гасили водой (20 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт разделяли при помощи CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% этилацетатом в гексане.

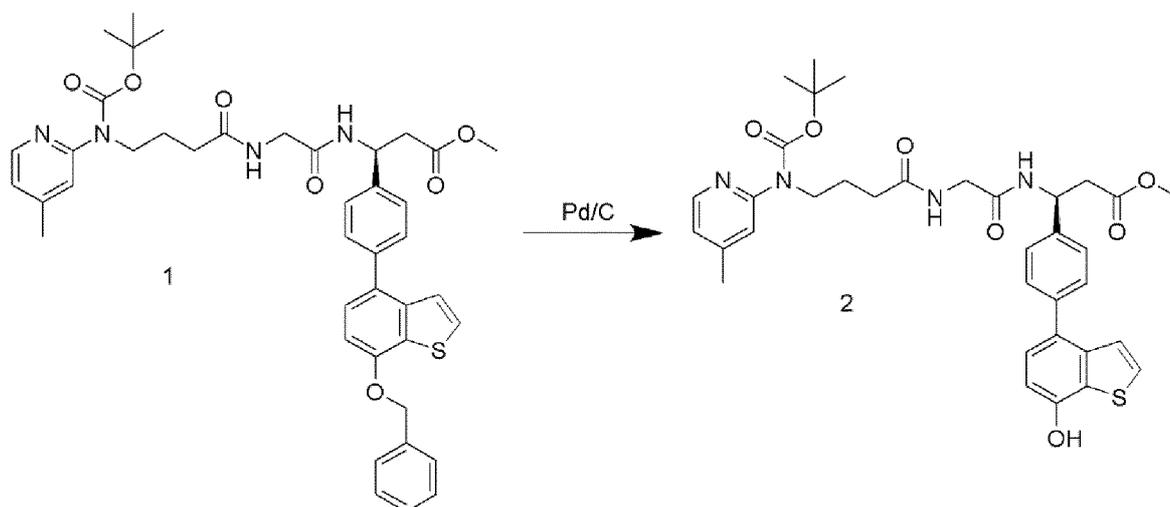


[0427] К раствору Соединения 1 (2,22 г, 6,954 ммоль, 1,0 экв.) в безводном THF (20 мл) при -78°C добавляли по каплям n-BuLi в гексане (4,17 мл, 10,43 ммоль, 1,5 экв.). Реакционную смесь выдерживали при -78°C в течение еще 1 часа. Затем при -78°C

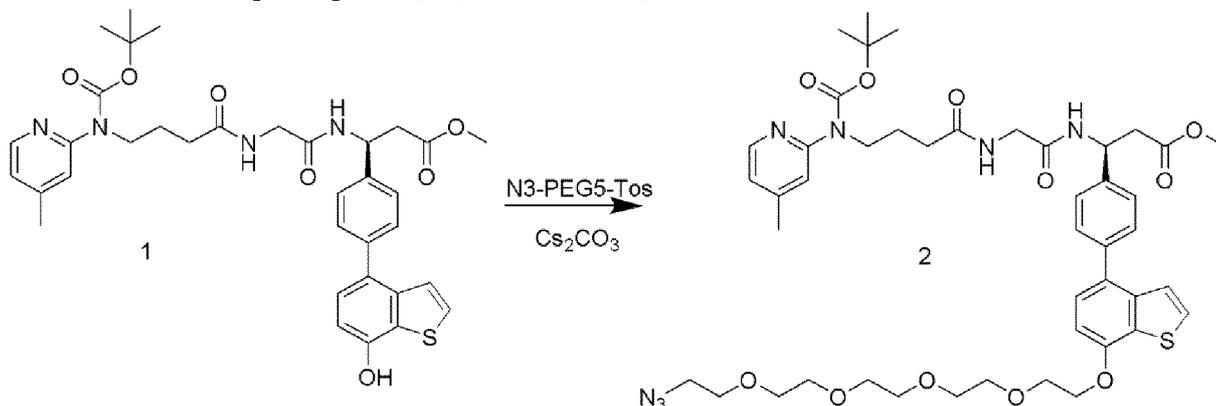
добавляли триизопропилборат (2,40 мл, 10,43 ммоль, 1,5 экв.). Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором NH_4Cl (20 мл) и pH доводили до 3. Водную фазу экстрагировали EtOAc (3×20 мл), органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4-6% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}-\text{H}]^-$ -283,07, найдено 283,20.



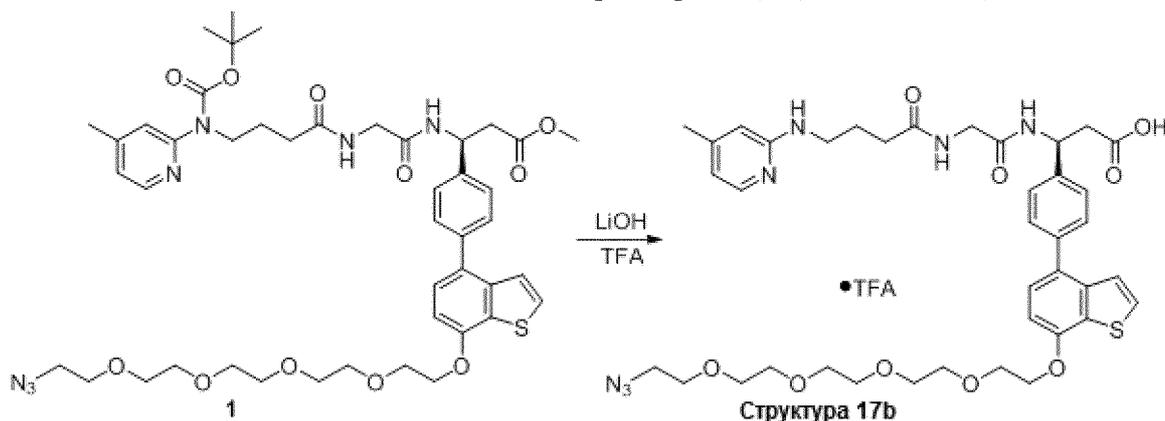
[0428] Соединение 1 (400 мг, 0,676 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 2 (288 мг, 1,01 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (10 мг, 0,0135 ммоль, 0,02 экв.) и K_3PO_4 (287 мг, 1,352 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (8 мл) и воду (2 мл). Смесь барботировали азотом в течение 10 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение 2 часов. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 751,31, найдено 751,84.



[0429] К раствору Соединения 1 (0,50 г, 0,666 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре добавляли 10% Pd/C (100 мг). Реакционную смесь колбу вакуумировали и заполняли водородом (этот процесс повторяли 3 раза.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор удаляли фильтрацией через Celite®, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 5% метанолом в DCMLC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 661,26, найдено 661,73.



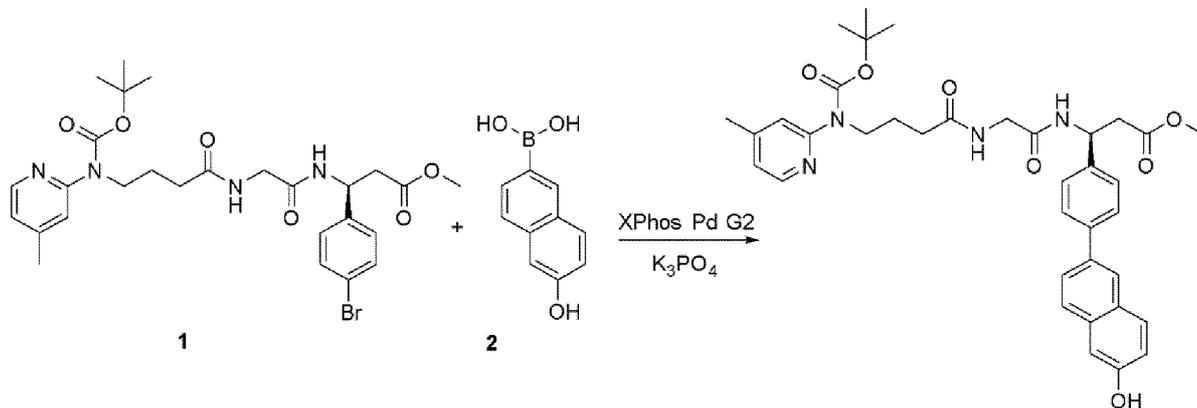
[0430] К раствору Соединения 1 (130 мг, 0,196 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (164 мг, 0,393 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (128 мг, 0,393 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. Выход составил 82%. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 906,40, найдено 906,95.



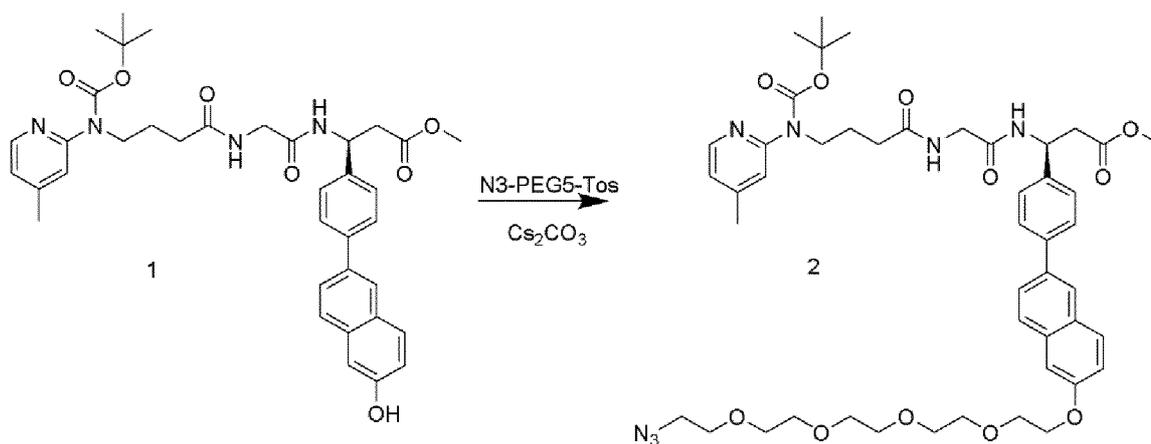
[0431] К раствору Соединения 1 (147 мг, 0,162 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (12 мг, 0,486 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (2 мл) и DCM (2 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в

течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 792,33, найдено 792,89.

Синтез **Структуры** **18b** **((S)-3-(4-(6-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-2-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетида)пропановая кислота)**

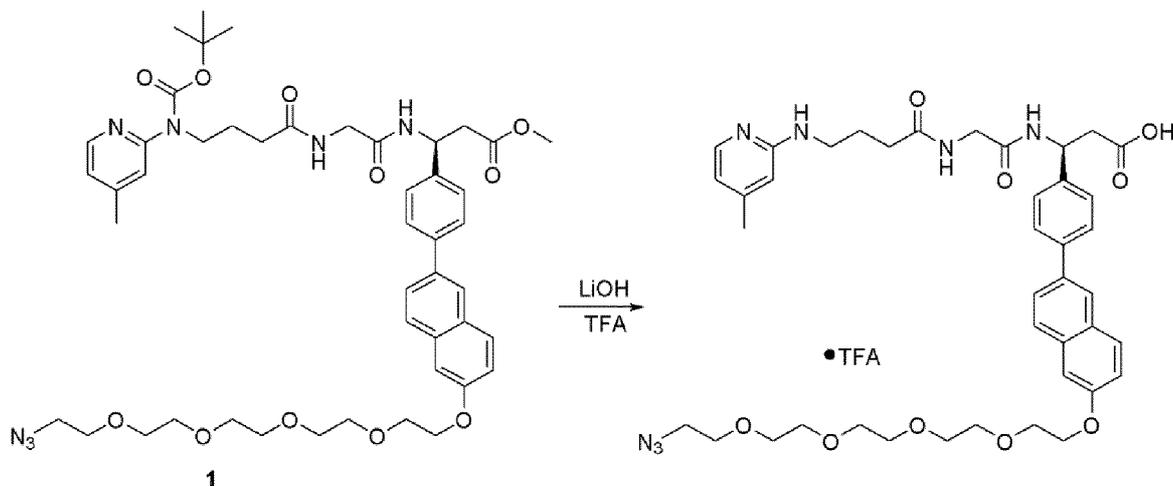


[0432] Соединение 1 (150 мг, 0,253 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 2 (71,5 мг, 0,380 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (4 мг, 0,0051 ммоль, 0,02 экв.) и K_3PO_4 (107 мг, 0,507 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (5 мл) и воду (1 мл). Смесь барботировали азотом в течение 10 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение 2 часов. Реакцию гасили водой (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 655,31, найдено 655,87.



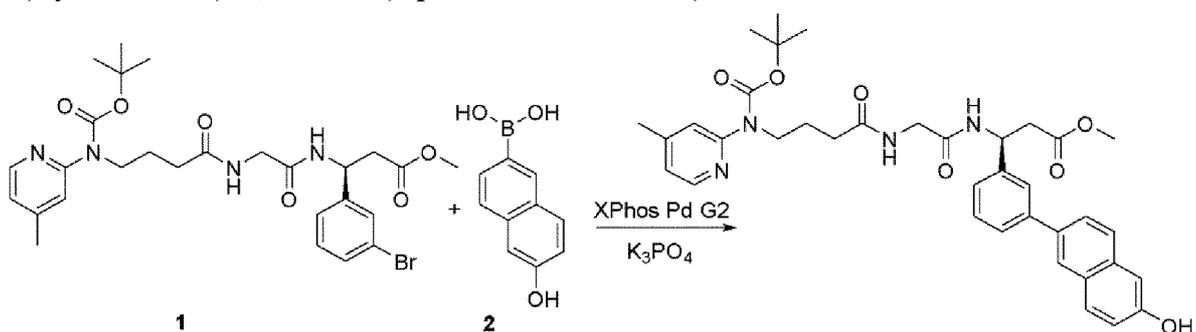
[0433] К раствору Соединения 1 (160 мг, 0,244 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (204 мг, 0,488 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs_2CO_3 (160 мг, 0,488 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 60°C. Реакцию гасили насыщенным раствором $NaHCO_3$ (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли,

сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. Выход составил 30%. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 900,44, найдено 901,01.



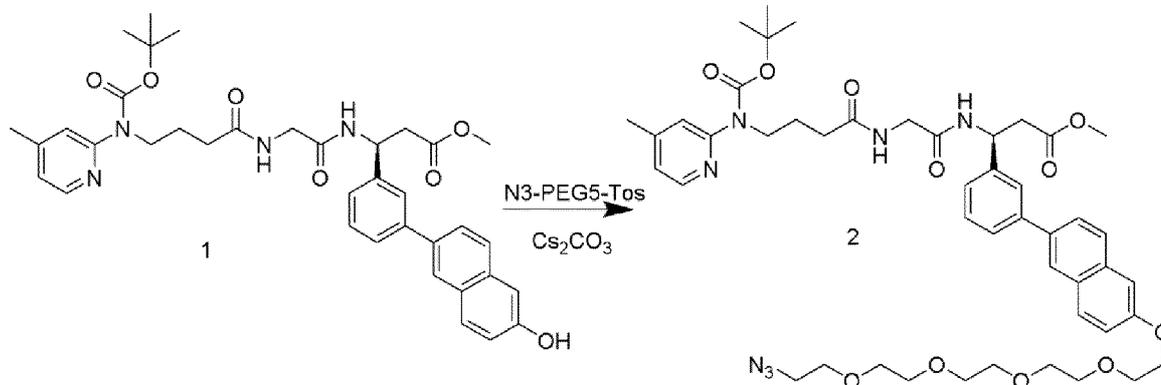
[0434] К раствору Соединения 1 (67 мг, 0,0744 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (5 мг, 0,223 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. К остатку добавляли TFA (2 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 10% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 786,37, найдено 786,86.

Синтез **Структуры** **19b** **((S)-3-(3-(6-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксотетрадецил)окси)нафталин-2-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетамидо)пропановая кислота)**

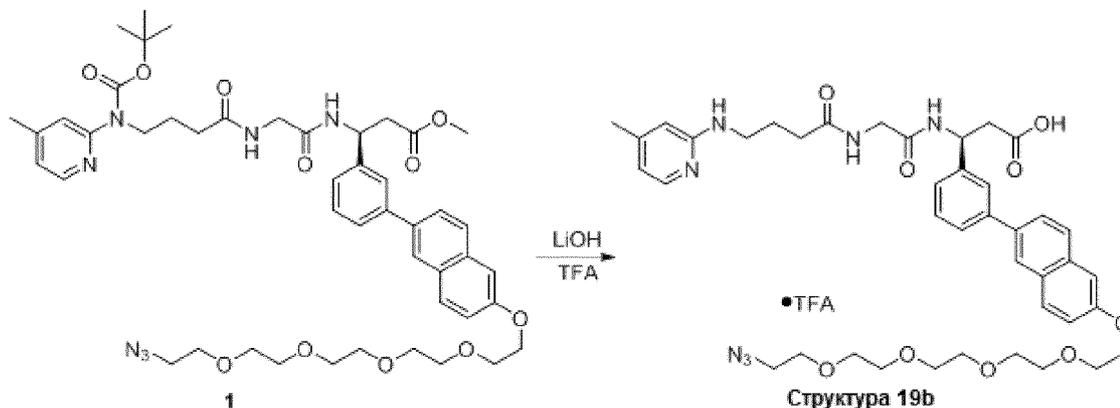


[0435] Соединение 1 (150 мг, 0,253 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 2 (71,5 мг, 0,380 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (4 мг, 0,0051 ммоль, 0,02 экв.) и K_3PO_4 (107 мг, 0,507 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем THF (5мл) и воду (1 мл) при помощи шприца. Смесь барботировали азотом в течение 10 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение 2 часов. Реакцию гасили водой (10

мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 655,31, найдено 655,78.

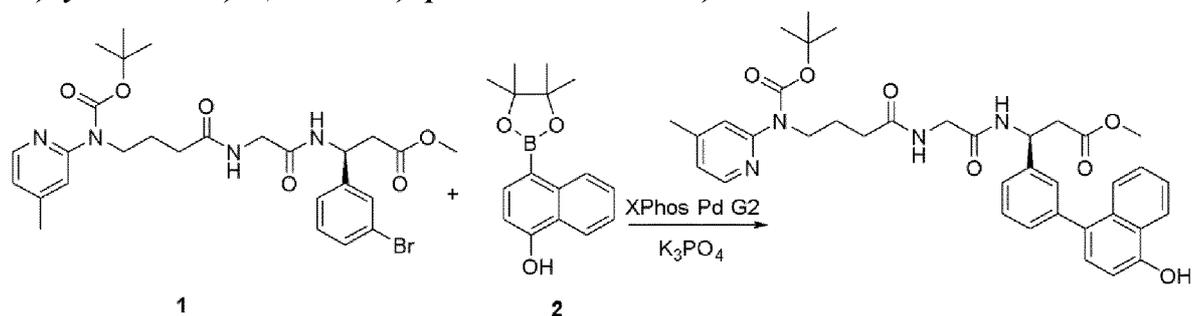


[0436] К раствору Соединения 1 (104 мг, 0,158 ммоль, 1 экв.) и азидо- $\text{PEG}_5\text{-OTs}$ (132 мг, 0,317 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs_2CO_3 (103 мг, 0,317 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 60°C . Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3×5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 900,44, найдено 901,01.

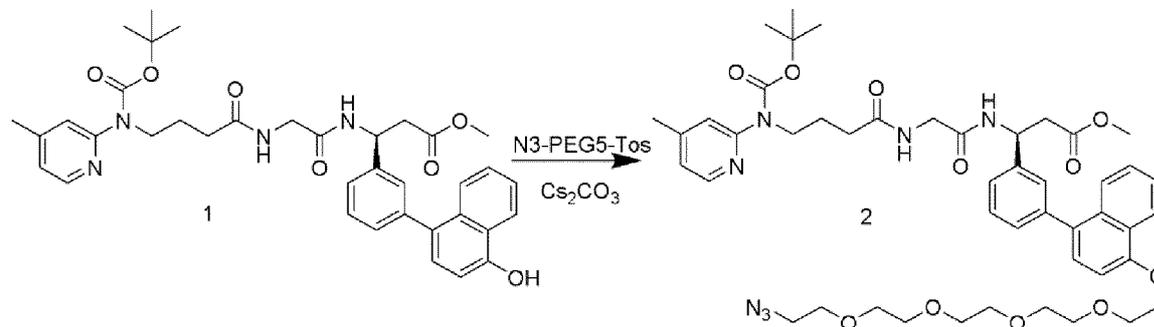


[0437] К раствору Соединения 1 (125 мг, 0,138 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (10 мг, 0,416 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 12% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 786,37, найдено 786,86.

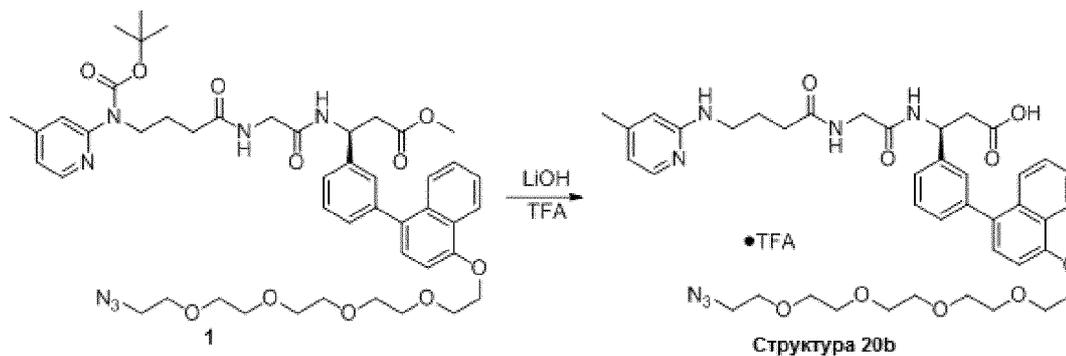
Синтез **Структуры** **20b** **((S)-3-(3-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетамидо)пропановая кислота)**



[0438] Соединение 1 (150 мг, 0,253 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 2 (102 мг, 0,380 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (4 мг, 0,0051 ммоль, 0,02 экв.) и K_3PO_4 (107 мг, 0,507 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (5 мл) и воду (1 мл). Смесь барботировали азотом в течение 10 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение 2 часов. Реакцию гасили водой (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 655,31, найдено 655,78.

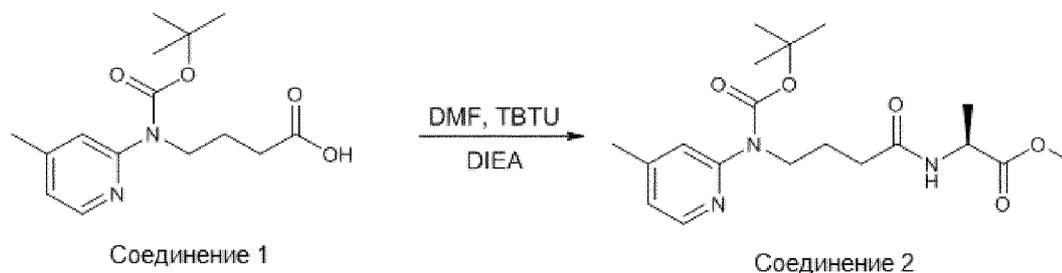


[0439] К раствору Соединения 1 (160 мг, 0,244 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (204 мг, 0,488 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs_2CO_3 (159 мг, 0,488 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 60°C. Реакцию гасили насыщенным раствором $NaHCO_3$ (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3×5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 900,44, найдено 901,01.

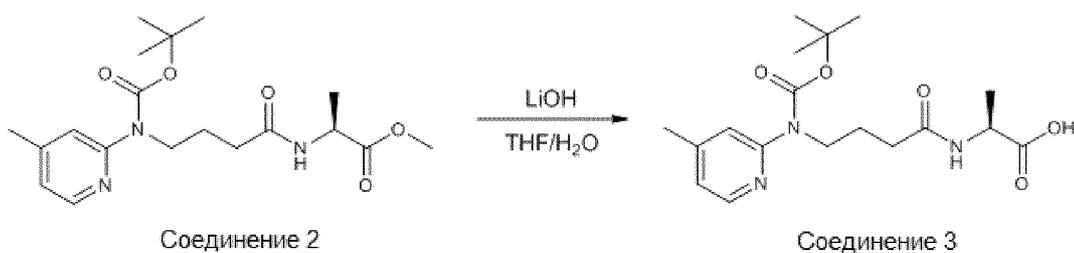


[0440] К раствору Соединения 1 (125 мг, 0,138 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (10 мг, 0,416 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли на роторном испарителе, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 8-12% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 786,37, найдено 786,86.

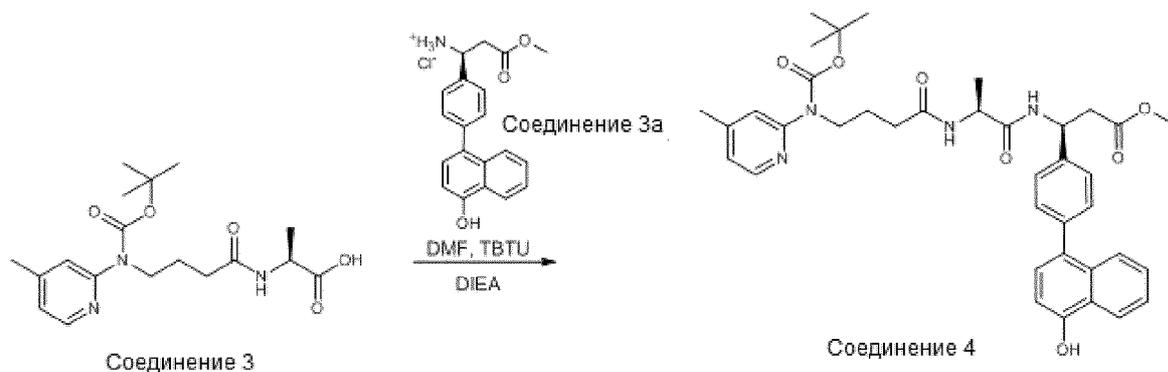
Синтез **Структуры** **22b** **((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-((S)-2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)пропанамидо)пропановая кислота)**



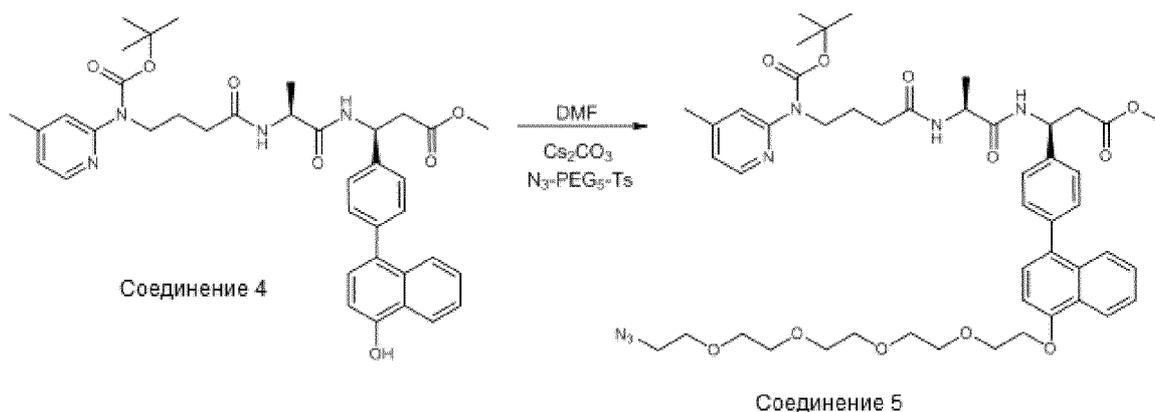
[0441] К раствору Соединения 1 (250 мг, 0,85 ммоль), гидрохлорида метилового эфира L-аланина (130 мг, 0,93 ммоль) и TBTU (327 мг, 1,02 ммоль) в DMF (2 мл) при 0°C добавляли DIPEA (329 мг, 444 мкл, 2,55 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃. Добавляли раствор NH₄Cl (водн.) (0,75 мл) и деионизированную воду (1 мл), а затем экстрагировали этилацетатом (3 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали этилацетатом (2 × 3 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным соевым раствором NaHCO₃ (водн.) (2 мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенную смесь разделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 0-5% метанолом в DCM. Выход соединения 2: 294 мг (91%). [M+H]⁺ вычислено для C₁₉H₂₉N₃O₅: 380,46; найдено 380,33.



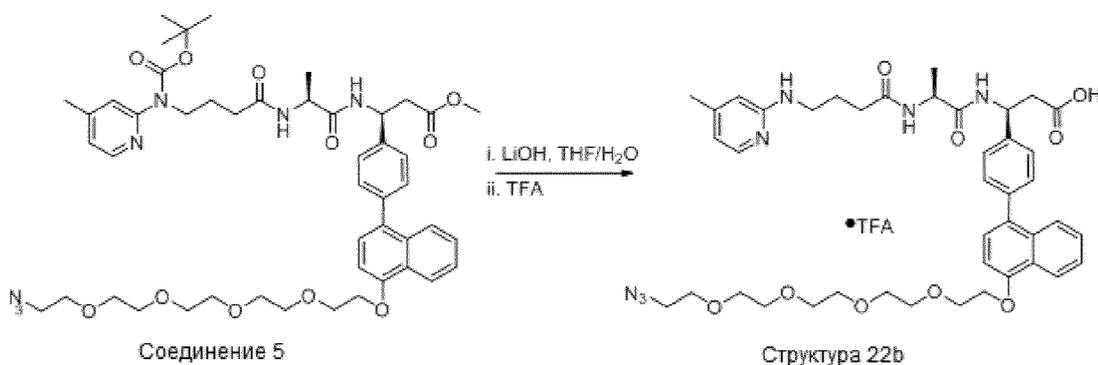
[0442] К раствору Соединения 2 (294 мг, 0,77 ммоль) в THF (4,5 мл) и деионизированной воде (3 мл) при 0° С добавляли раствор гидроксида лития (56 мг, 2,32 ммоль) в деионизированной воде (1 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 40 минут. Реакционную смесь подкисляли 6 М HCl (водн.) до pH 3. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Объединенную органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Соединение 3 использовали далее без дополнительной очистки. Выход соединения 3: 267 мг (94%). Вычислено для C₁₈H₂₇N₃O₅: 366,43, найдено: 366,19.



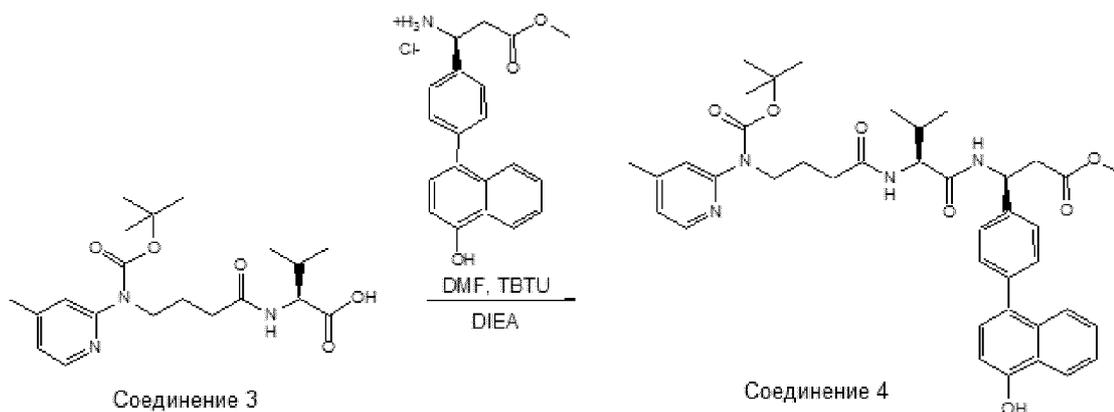
[0443] К раствору Соединения 3 (267 мг, 0,73 ммоль), Соединения 3а (288 мг, 0,80 ммоль) и TBTU (282 мг, 0,88 ммоль) в DMF (3 мл) при 0°С добавляли DIPEA (283 мг, 382 мкл, 2,19 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (1,5 мл). Добавляли деионизированную воду (1,5 мл), а затем экстрагировали этилацетатом (12 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали этилацетатом (2 × 12 мл). Объединенную органическую фазу промывали полунасыщенным водным раствором NH₄Cl (10 мл), полунасыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и насыщенным водным раствором NaCl (10 мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенную смесь разделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 0-5% метанолом в DCM. Выход соединения 4: 342 мг (70%). [M+H] вычислено для C₃₈H₄₄N₄O₇: 669,79, найдено: 669,74.



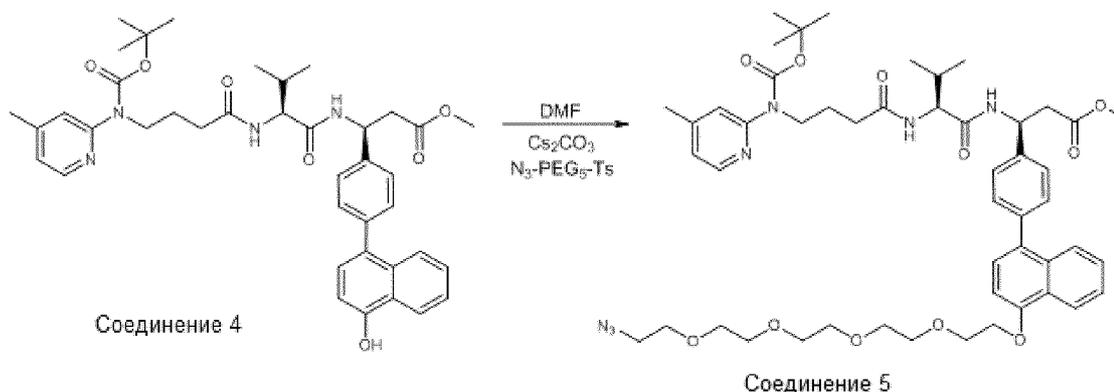
[0444] К раствору Соединения 4 (150 мг, 0,22 ммоль) и азидо- PEG₅-OTs (187 мг, 0,49 ммоль) в безводном DMF (1,2 мл) добавляли Cs₂CO₃ (146 мг, 0,49 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 3 часов. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и добавляли деионизированную воду (5 мл), а затем экстрагировали этилацетатом (7,5 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали этилацетатом (2 × 7,5 мл). Объединенную органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенную смесь разделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 0-4% метанолом в DCM. Выход соединения 5: 142 мг (69%). Вычислено для C₄₈H₆₃N₇O₁₁: 915,06, найдено: 914,96.



[0445] К раствору Соединения 5 (142 мг, 0,16 ммоль) в THF (2 мл) и деионизированной воде (1,5 мл) при 0°C добавляли раствор гидроксида лития (11 мг, 0,47 ммоль) в деионизированной воде (0,5 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь подкисляли 6 М HCl (водн.) до pH 3. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 8 мл). Объединенную органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. К неочищенному остатку добавляли TFA (2,0 мл) и воду (100 мкл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 часов при комнатной температуре. Растворитель удаляли при пониженном давлении, и остаток подвергали совместному выпариванию со смесью ацетонитрил:толуол [1:1] (2 × 20 мл). Неочищенную смесь разделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 0-13% метанолом в DCM. Выход Структуры 22b: 100 мг (80%). [M+H] вычислено для

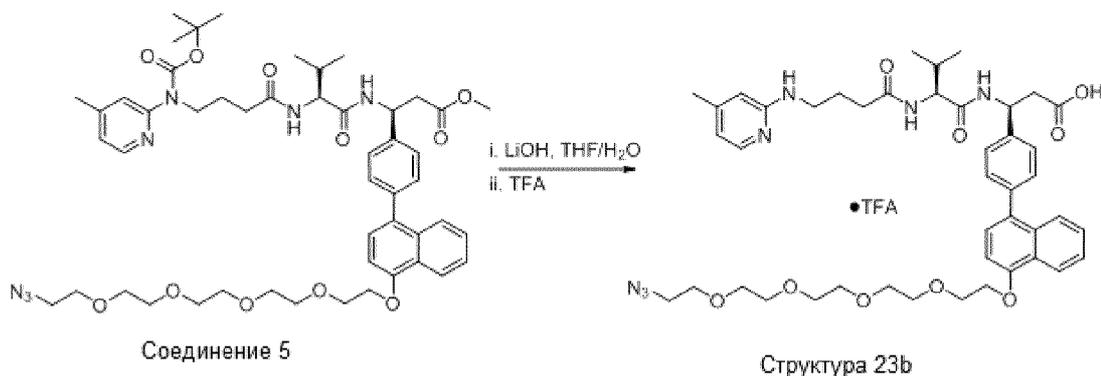


[0448] К раствору Соединения 3 (287 мг, 0,73 ммоль), соединения 3а (287 мг, 0,80 ммоль) и TBTU (281 мг, 0,88 ммоль) в DMF (3 мл) добавляли DIPEA (283 мг, 382 мкл, 2,19 ммоль) при 0° с. реакцию смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором NH₄Cl (водн.), добавляли деионизированную воду (2,5 мл), а затем экстрагировали этилацетатом (12 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали этилацетатом (2 × 12 мл). Объединенную органическую фазу промывали полунасыщенным раствором NH₄Cl (водн.) (10 мл), полунасыщенным раствором NaHCO₃ (водн.) (10 мл) и насыщенным раствором NaCl (водн.) (10 мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенную смесь разделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 0-5% метанолом в DCM. Выход соединения 4: 374 мг (74%). Вычислено для C₄₀H₄₈N₄O₇: 697,84, найдено: 697,46.



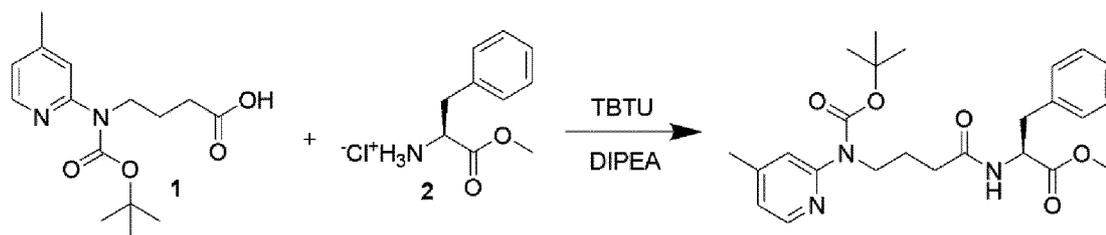
[0449] К раствору Соединения 4 (150 мг, 0,215 ммоль) и азидо- PEG₅-OTs (180 мг, 0,43 ммоль) в безводном DMF (1,2 мл) добавляли Cs₂CO₃ (140 мг, 0,43 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 60°С в течение 3 часов. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (водн.) (10 мл). Добавляли деионизированную воду (5 мл), а затем экстрагировали этилацетатом (7,5 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали этилацетатом (2 × 7,5 мл). Объединенную органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенную смесь разделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали

0-4% метанолом в DCM. Выход соединения 5: 134 мг (66%). [M+H] вычислено для $C_{50}H_{67}N_7O_{11}$: 943,12, найдено: 942,96.



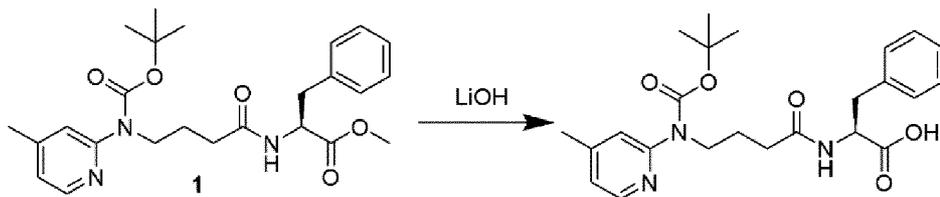
[0450] К раствору Соединения 5 (134 мг, 0,14 ммоль) в THF (2 мл) и деионизированной воде (1,5 мл) при 0°C добавляли раствор гидроксида лития (10 мг, 0,43 ммоль) в деионизированной воде (0,5 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь подкисляли 6 М HCl (водн.) до pH 3. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 8 мл). Объединенную органическую фазу сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. К неочищенному остатку добавляли TFA (1,9 мл) и воду (95 мкл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 часов при комнатной температуре. Растворитель удаляли при пониженном давлении, и остаток подвергали совместному выпариванию со смесью ацетонитрил:толуол [1:1] (2 × 20 мл). Неочищенную смесь разделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 0-10% метанолом в DCM. Выход Структуры 23b: 36 мг (30,5%). [M+H] вычислено для $C_{44}H_{57}N_7O_9$: 828,97, найдено 828,90.

Синтез Структуры 24b ((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(((S)-2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)-3-фенилпропанамидо)пропановая кислота)

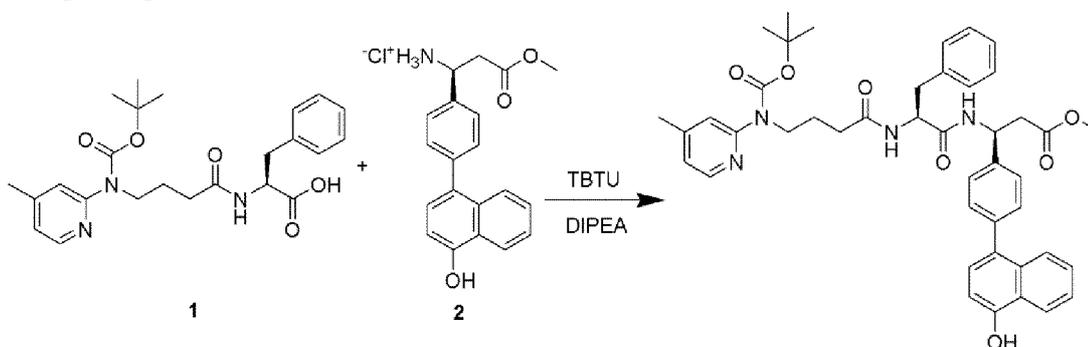


[0451] К раствору Соединения 1 (200 мг, 0,679 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (161 мг, 0,747 ммоль, 1,2 экв.) и TBTU (261 мг, 0,815 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (4 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,355 мл, 2,038 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором $NaHCO_3$ (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт отделяли с помощью CombiFlash®, с использованием

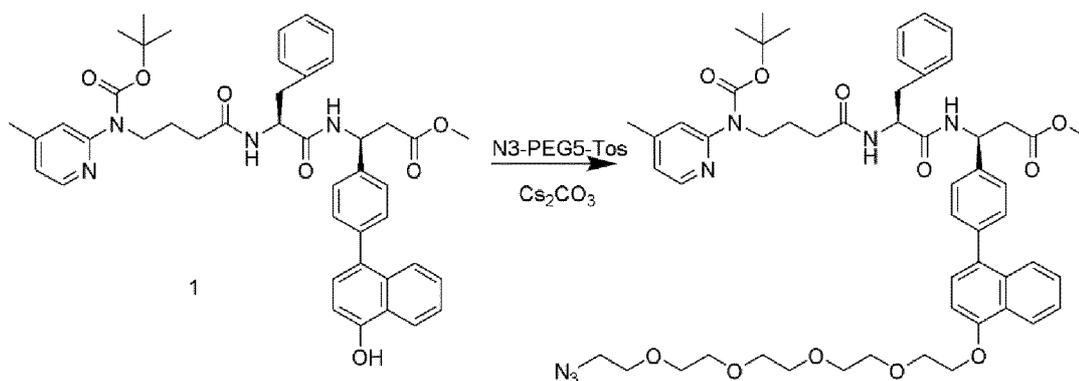
силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 456,24, найдено 456,12.



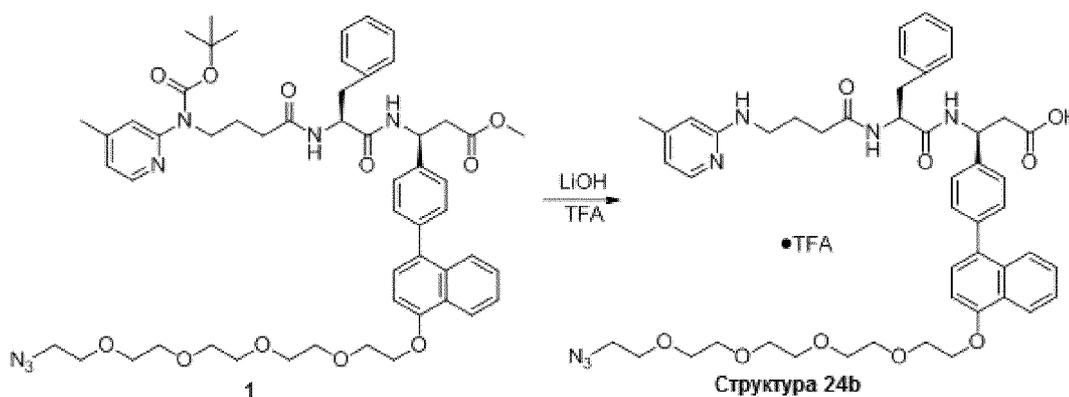
[0452] К раствору Соединения 1 (300 мг, 0,658 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл) и H₂O (5 мл) при 0°C добавляли гидроксид лития (47 мг, 1,975 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь подкисляли HCl (6 Н) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл), органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 442,23, найдено 442,08.



[0453] К раствору Соединения 1 (290 мг, 0,656 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (258 мг, 0,722 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (253 мг, 0,788 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (5 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,343 мл, 1,970 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 745,35, найдено 745,63.

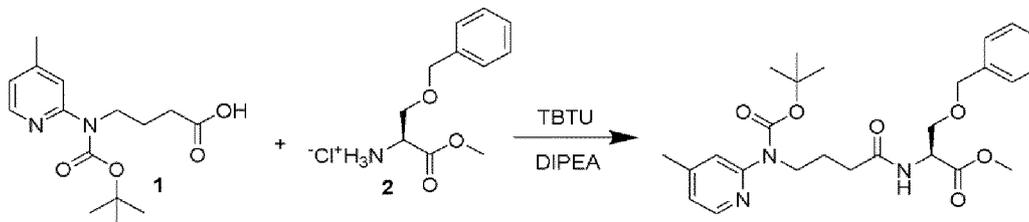


[0454] К раствору Соединения 1 (113 мг, 0,151 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (126 мг, 0,303 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (99 мг, 0,303 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 990,49, найдено 990,87.



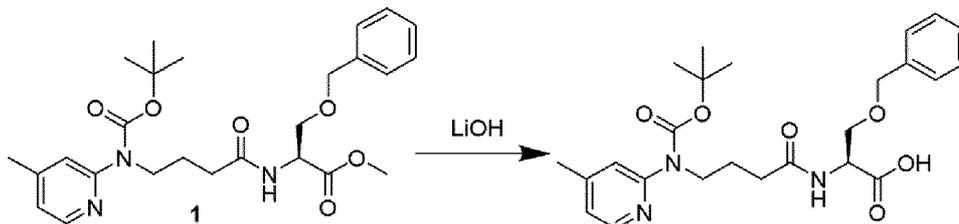
[0455] К раствору Соединения 1 (140 мг, 0,141 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (10 мг, 0,424 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 6-10% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 876,42, найдено 876,88.

Синтез **Структуры** **25b** **((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксотетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-((S)-3-(бензилокси)-2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)пропанамидо)пропановая кислота)**

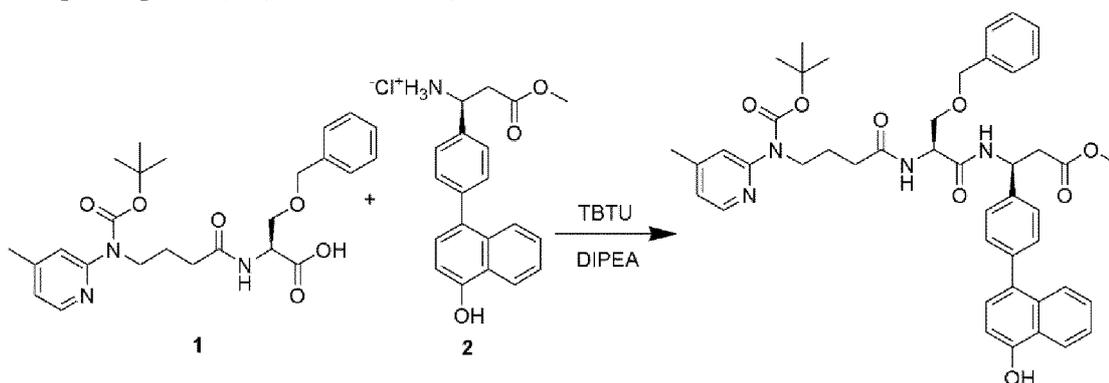


[0456] К раствору Соединения 1 (100 мг, 0,339 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (92 мг, 0,373 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (131 мг, 0,407 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (4 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,178 мл, 1,019 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию

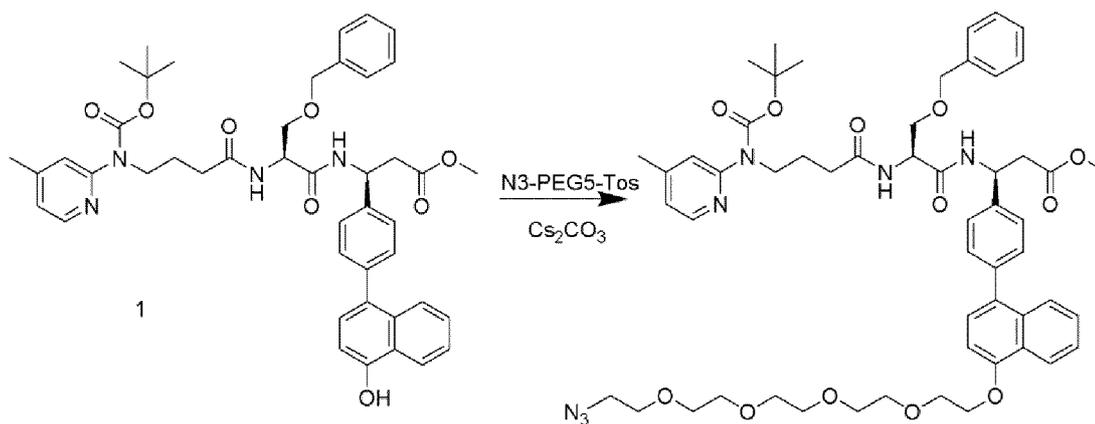
гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 486,25, найдено 486,37.



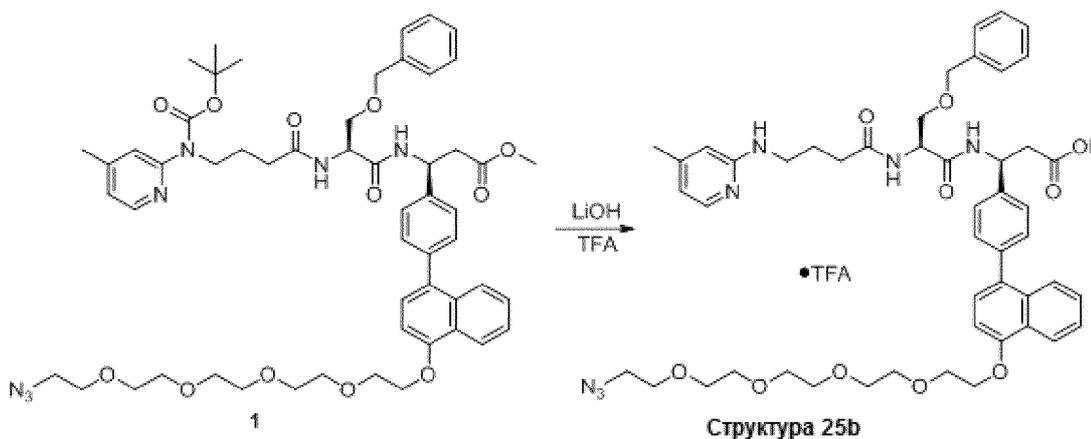
[0457] К раствору Соединения 1 (160 мг, 0,329 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл) и H_2O (5 мл) при 0°C добавляли гидроксид лития (23 мг, 0,988 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь подкисляли HCl (6 Н) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл), органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 472,24, найдено 472,32.



[0458] К раствору Соединения 1 (1600 мг, 0,339 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (133 мг, 0,373 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (130 мг, 0,815 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (3 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,177 мл, 1,018 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 775,36, найдено 775,87.



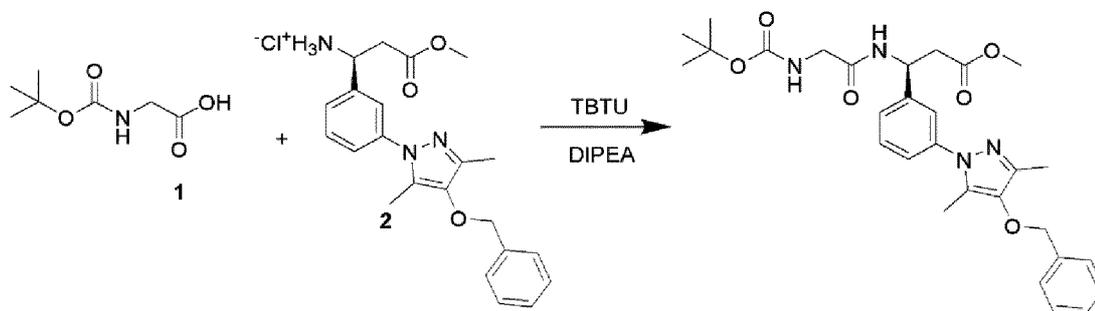
[0459] К раствору Соединения 1 (140 мг, 0,180 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (150 мг, 0,361 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (117 мг, 0,361 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 1020,50, найдено 1020,88.



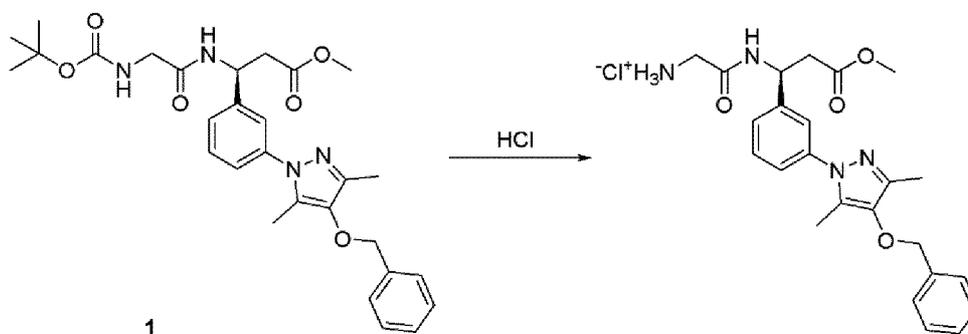
[0460] К раствору Соединения 1 (170 мг, 0,166 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (12 мг, 0,499 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 N), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (4 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 6-10% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 906,43, найдено 906,95.

Синтез **Структуры** **27b** **((S)-3-(3-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраокстадецил)окси)-3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)фенил)-3-(2-(4-(4-**

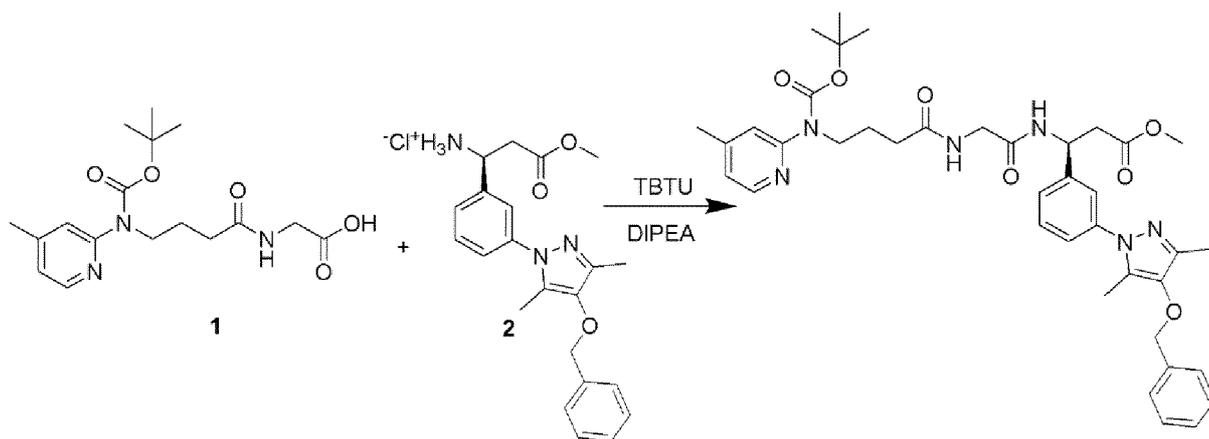
колбу добавляли HCl в диоксане (0,313 мл, 1,25 ммоль, 20 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Растворитель удалили с помощью роторного испарителя, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 380,19, найдено 380,33.



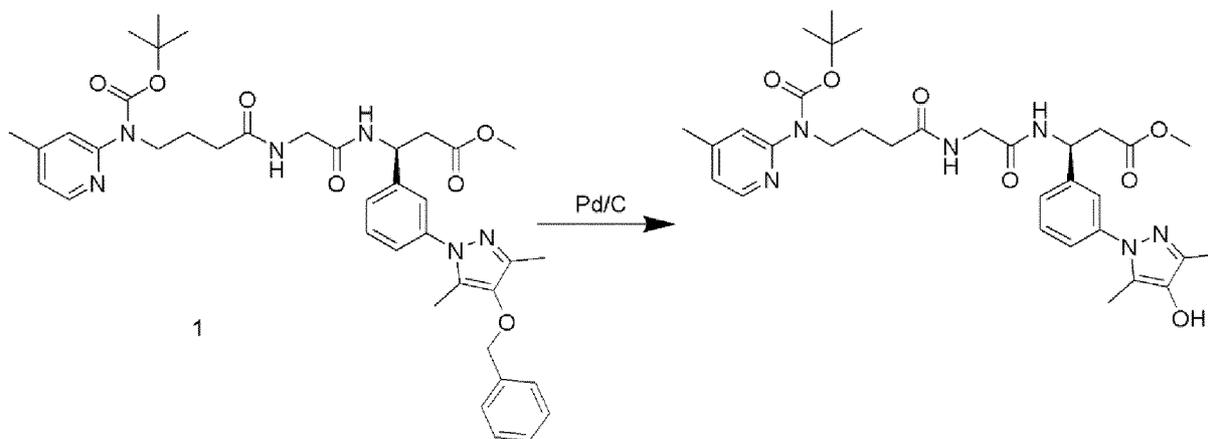
[0464] К раствору Соединения 1 (10 мг, 0,0571 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (26 мг, 0,0628 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (22 мг, 0,0685 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (1 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,030 мл, 0,171 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (5 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 537,26, найдено 537,41.



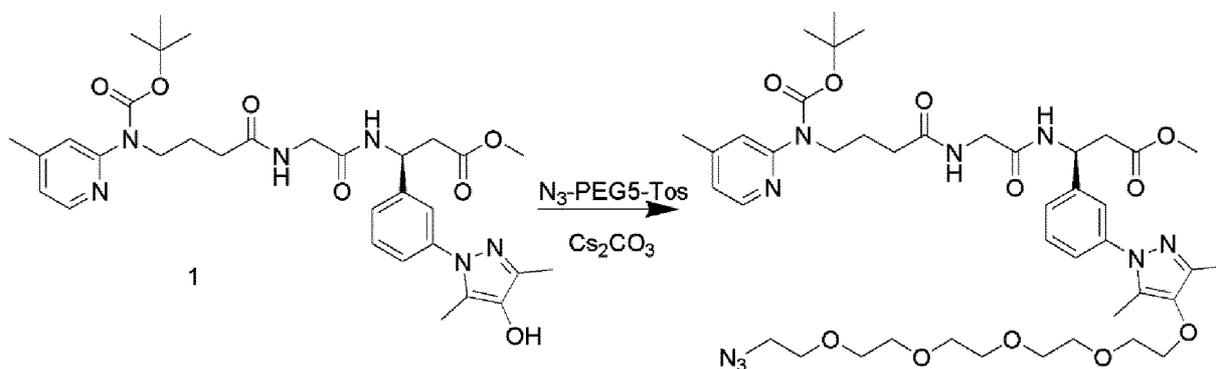
[0465] Соединение 1 (30 мг, 0,0626 ммоль, 1,0 экв.) охлаждали на ледяной бане. В колбу добавляли HCl в диоксане (0,313 мл, 1,25 ммоль, 20 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Растворитель удалили с помощью роторного испарителя, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 437,21, найдено 437,31.



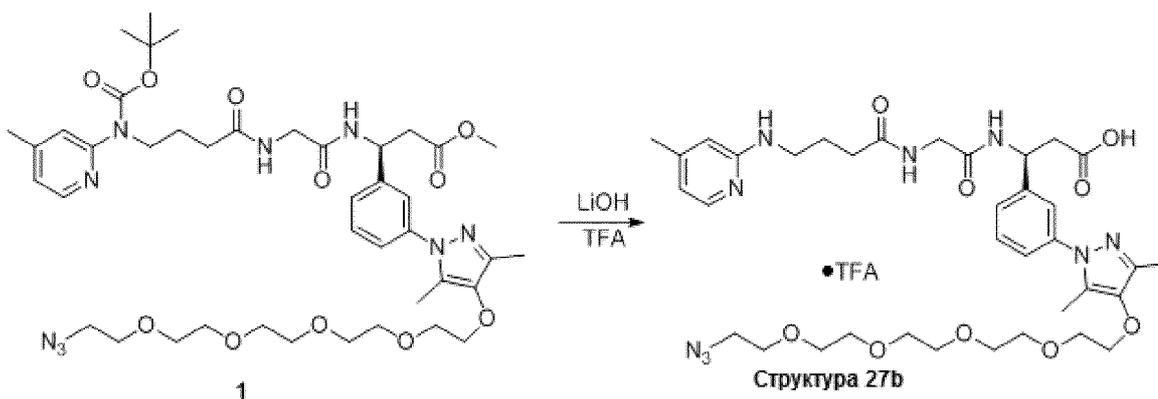
[0466] К раствору Соединения 1 (20 мг, 0,0569 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (26 мг, 0,0626 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (22 мг, 0,0683 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,03 мл, 0,170 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (5 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4-5% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 713,36, найдено 713,85.



[0467] К раствору Соединения 1 (0,033 г, 0,0463 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре добавляли 10% Pd/C (20 мг). Реакционную смесь перемешивали газообразным водородом при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор удаляли фильтрацией через Celite®, и продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 623,31, найдено 623,56.

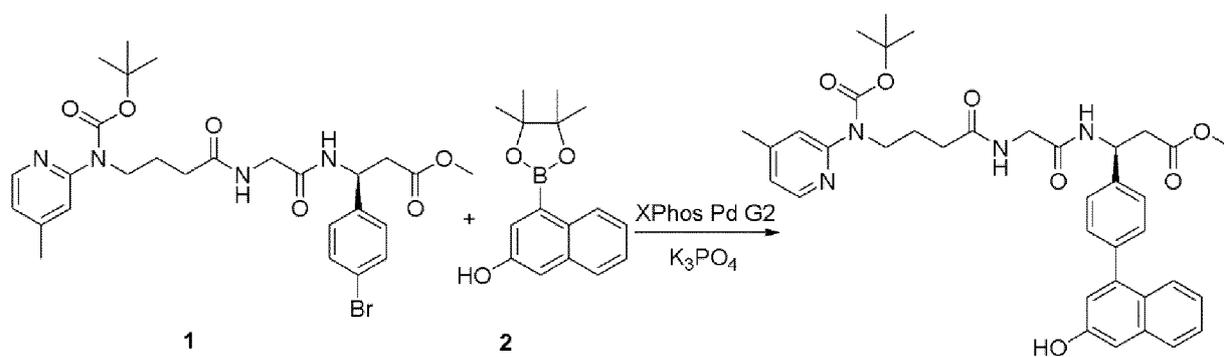


[0468] К раствору Соединения 1 (16 мг, 0,0257 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (22 мг, 0,0514 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (17 мг, 0,0514 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 868,45, найдено 868,96.

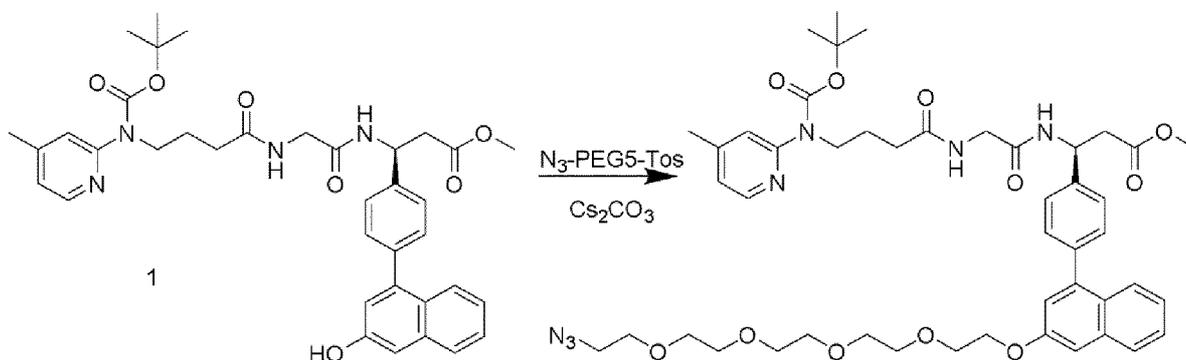


[0469] К раствору Соединения 1 (5 мг, 0,0058 ммоль, 1,0 экв.) в THF (1 мл) и воде (1 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (1 мг, 0,0346 ммоль, 6,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (1 мл) и DCM (1 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 754,38, найдено 755.

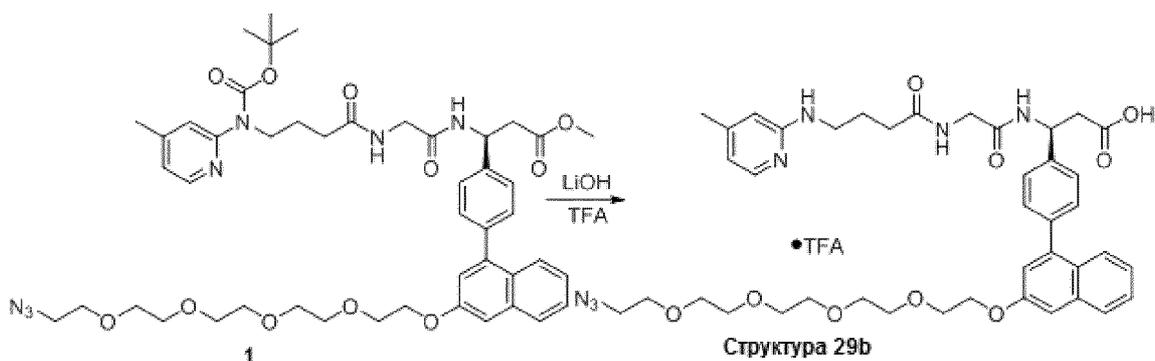
Синтез **Структуры** **29b** **((S)-3-(4-(3-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксотетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетида)пропановая кислота)**



[0470] Соединение 1 (100 мг, 0,169 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 2 (68 мг, 0,253 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (3 мг, 0,0034 ммоль, 0,02 экв.) и K_3PO_4 (72 мг, 0,338 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали пробкой с навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (5 мл) и воду (1 мл). Смесь барботировали азотом в течение 10 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение 2 часов. Реакцию гасили водой (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Соединение разделяли с помощью CombiFlash®, используя силикагель в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 655,31, найдено 656.

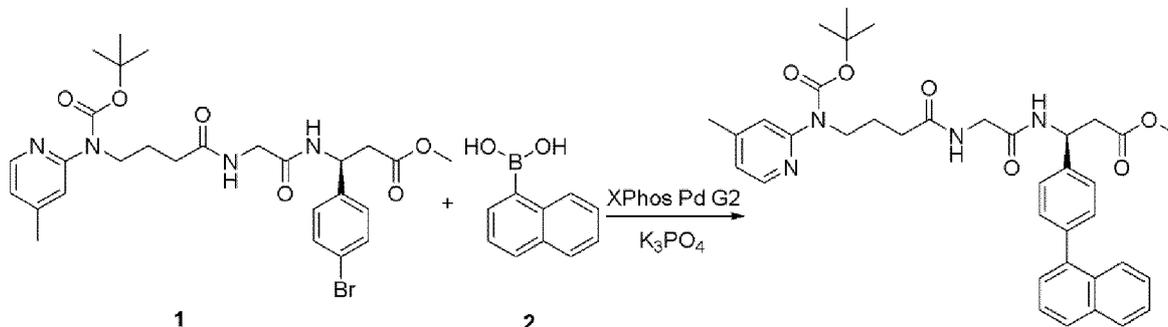


[0471] К раствору Соединения 1 (100 мг, 0,152 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (127 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs_2CO_3 (100 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором $NaHCO_3$ (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3×5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 900,44, найдено 901.

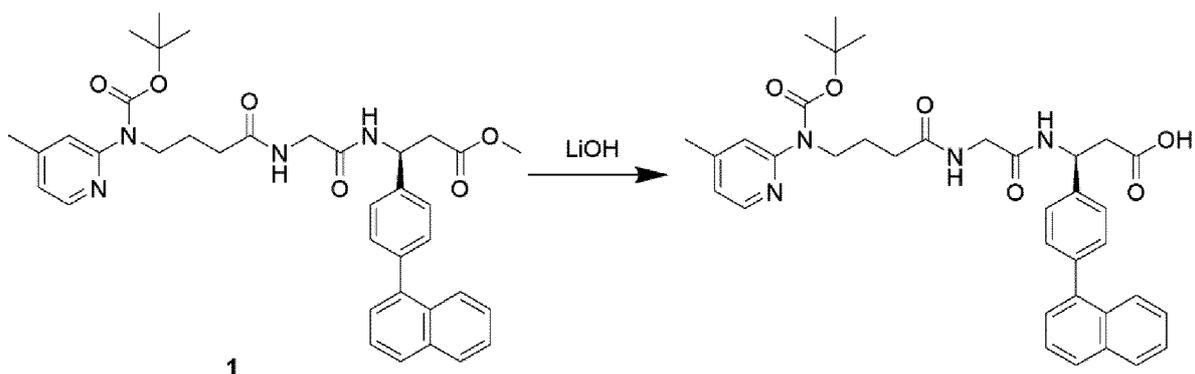


[0472] К раствору Соединения 1 (125 мг, 0,138 ммоль, 1,0 экв.) в THF (1 мл) и воде (1 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (10 мг, 0,416 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (3 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. Продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 786,37, найдено 787.

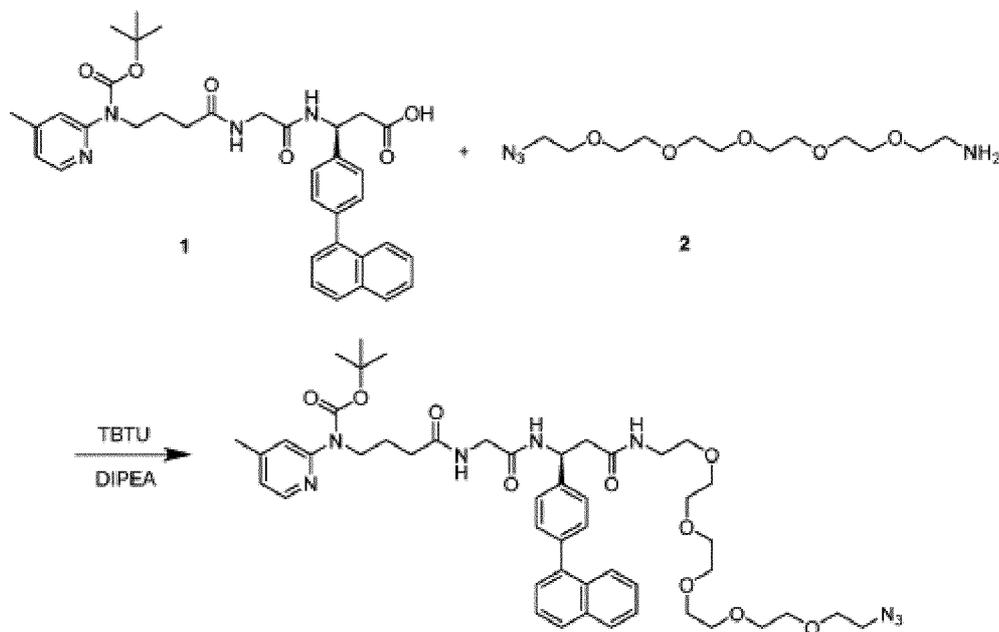
Синтез Структуры 30b ((S)-N-(1-азидо-21-(4-(нафталин-1-ил)фенил)-19,23-диоксо-3,6,9,12,15-пентаокса-18,22-дiazатетракозан-24-ил)-4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамид)



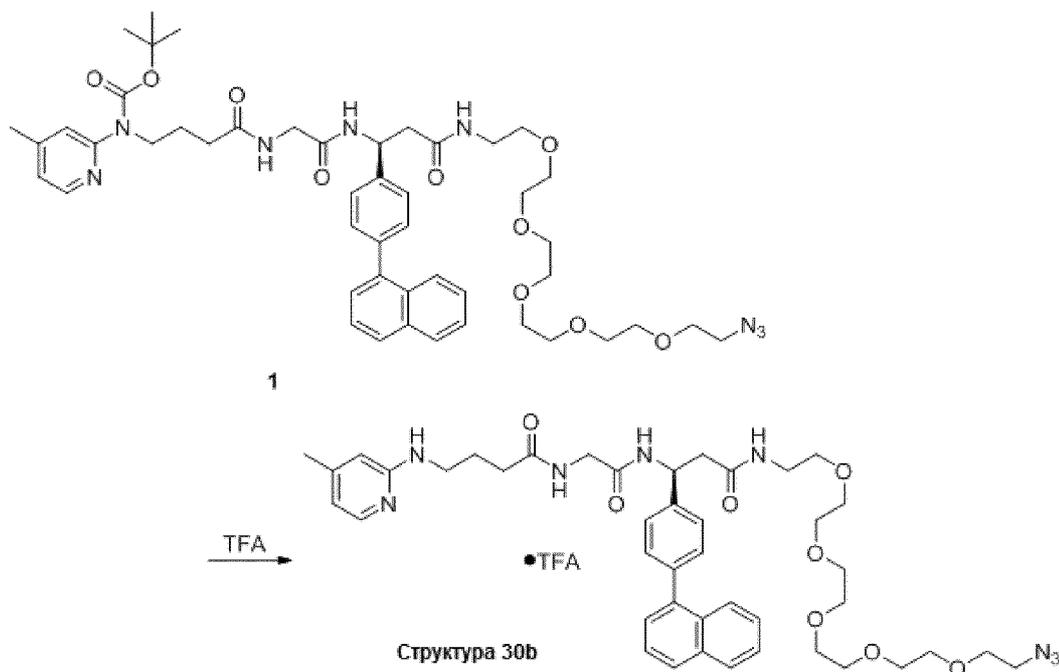
[0473] Соединение 1 (100 мг, 0,169 ммоль, 1,0 экв.), Соединение 2 (43 мг, 0,253 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (3 мг, 0,0034 ммоль, 0,02 экв.) и K₃PO₄ (72 мг, 0,338 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали пробкой с навинчивающейся крышкой, колбу вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли 3 раза). Затем через шприц добавляли THF (5 мл) и воду (1 мл). Смесь барботировали азотом в течение 10 минут, и реакционную смесь выдерживали при 40°C в течение 2 часов. Реакцию гасили водой (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Соединение выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 639,31, найдено 640.



[0474] К раствору Соединения 1 (90 мг, 0,140 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл) и H₂O (5 мл) добавляли гидроксид лития (10 мг, 0,422 ммоль, 3 экв.) при 0°C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь подкисляли HCl (6 Н) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл) и органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 625,29, найдено 625,36.

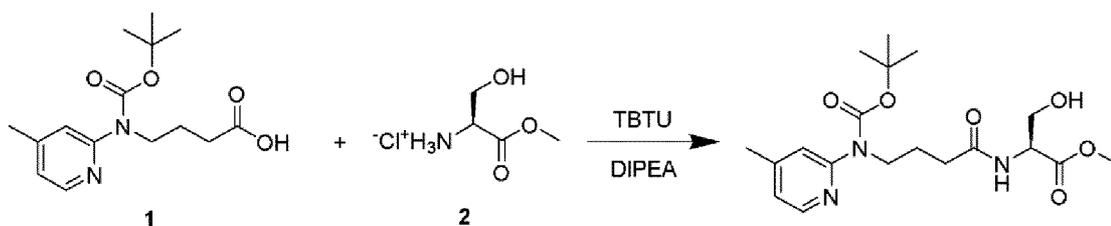


[0475] К раствору Соединения 1 (88 мг, 0,140 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (48 мг, 0,154 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (54 мг, 0,169 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (3 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,074 мл, 0,422 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4-6% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 913,47, найдено 913,70.

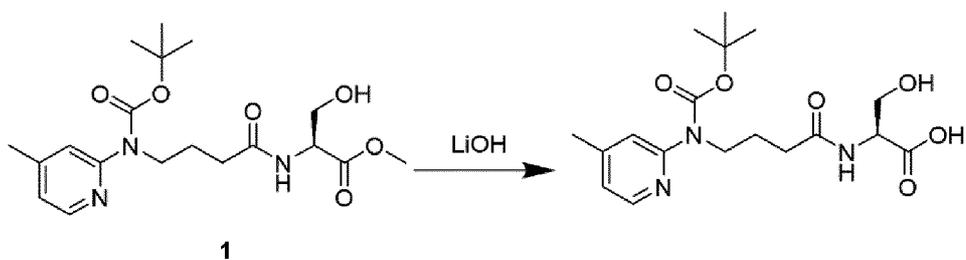


[0476] К раствору Соединения 1 (93 мг, 0,101 ммоль, 1,0 экв.) в DCM (2 мл) добавляли TFA (3 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. Продукт элюировали 10-12% метанолом в дихлорметане. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 813,42, найдено 813,68.

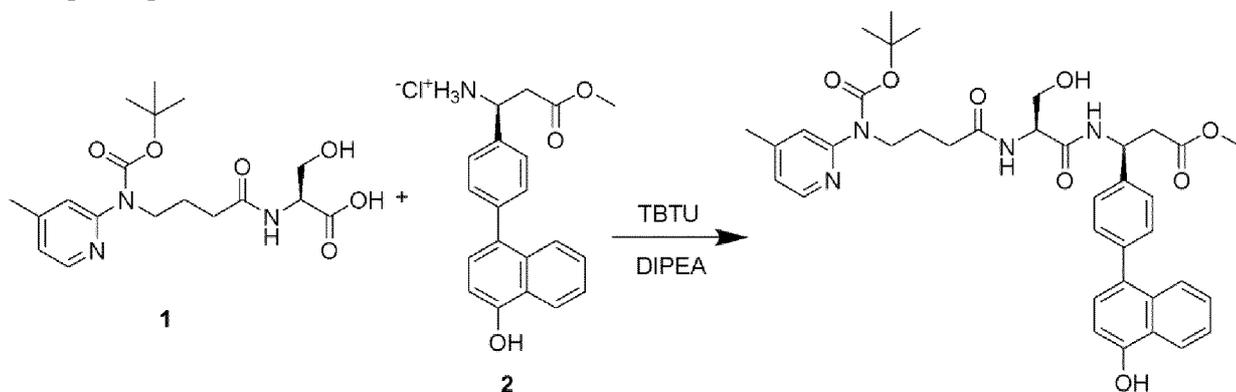
Синтез *Структуры* *31b* *((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-((S)-3-гидрокси-2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)пропанамидо)пропановая кислота)*



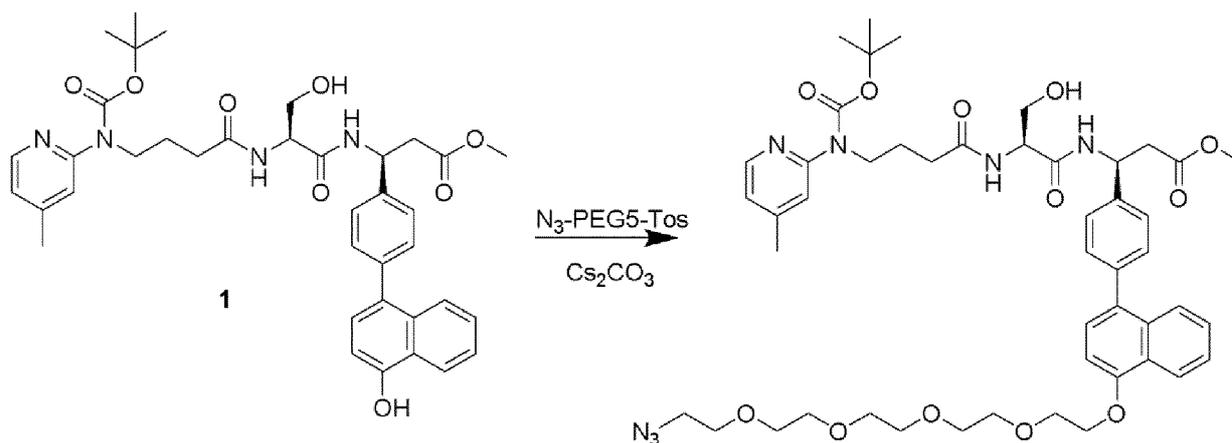
[0477] К раствору Соединения 1 (150 мг, 0,509 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (87 мг, 0,560 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (196 мг, 0,196 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (3 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,074 мл, 0,422 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4-6% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 396,21, найдено 396,17.



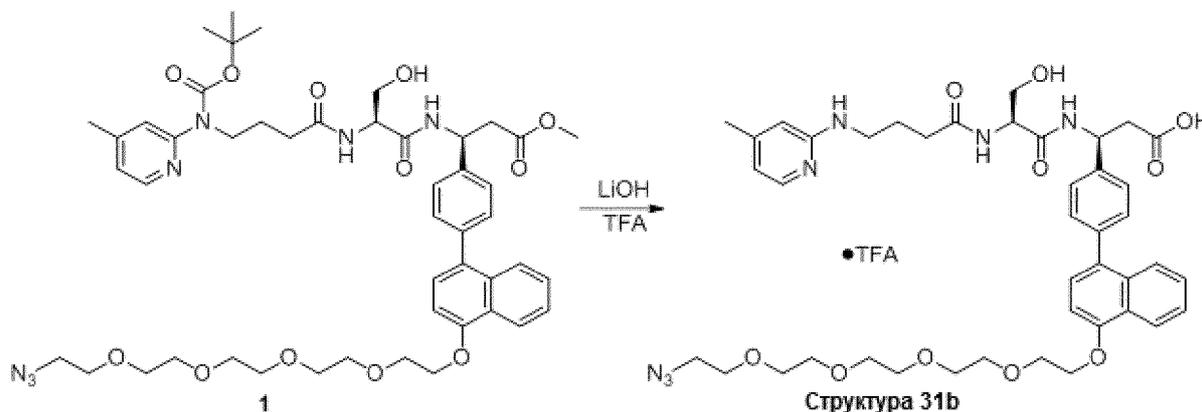
[0478] К раствору Соединения 1 (196 мг, 0,495 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл) и H₂O (5 мл) при 0°С добавляли гидроксид лития (35 мг, 1,486 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь подкисляли HCl (6 Н) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл) и органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 382,19, найдено 382,13.



[0479] К раствору Соединения 1 (189 мг, 0,495 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (195 мг, 0,545 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (190 мг, 0,595 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (5 мл) при 0°С добавляли диизопропилэтиламин (0,259 мл, 1,486 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4-6% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 685,32, найдено 685,58.



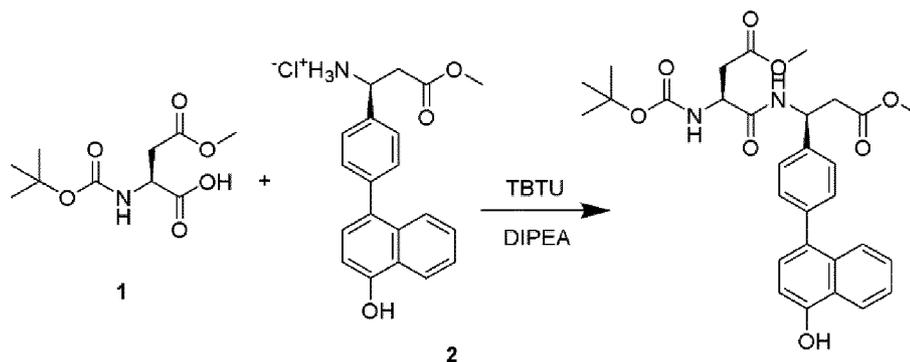
[0480] К раствору Соединения 1 (75 мг, 0,109 ммоль, 1 экв.) и азида-PEG₅-OTs (91 мг, 0,219 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (71 мг, 0,219 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 40°C. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4% метанолом в DCM. Выход составил 29%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 930,45, найдено 930,90.



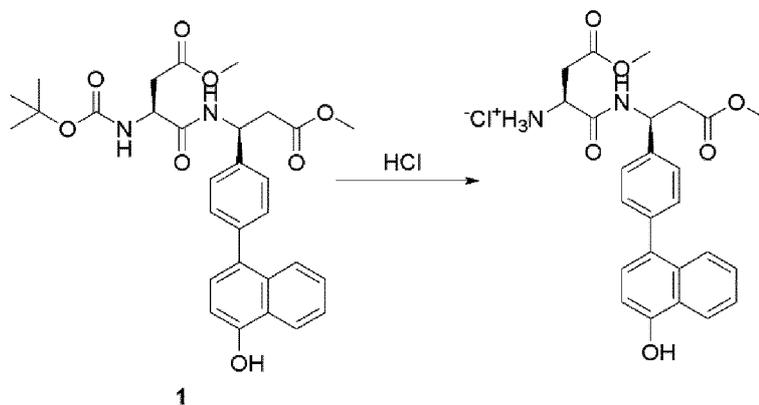
[0481] К раствору Соединения 1 (30 мг, 0,0323 ммоль, 1,0 экв.) в THF (1 мл) и воде (1 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (2,3 мг, 0,0968 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH довели до 3,0 с помощью HCl (6 N), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (2 мл) и DCM (1 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. Продукт элюировали 12-15% метанолом в дихлорметане. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 816,39, найдено 816,92.

Синтез Структуры 32b ((S)-4-(((S)-1-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраокстадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-2-карбоксиэтил)амино)-3-(4-((4-

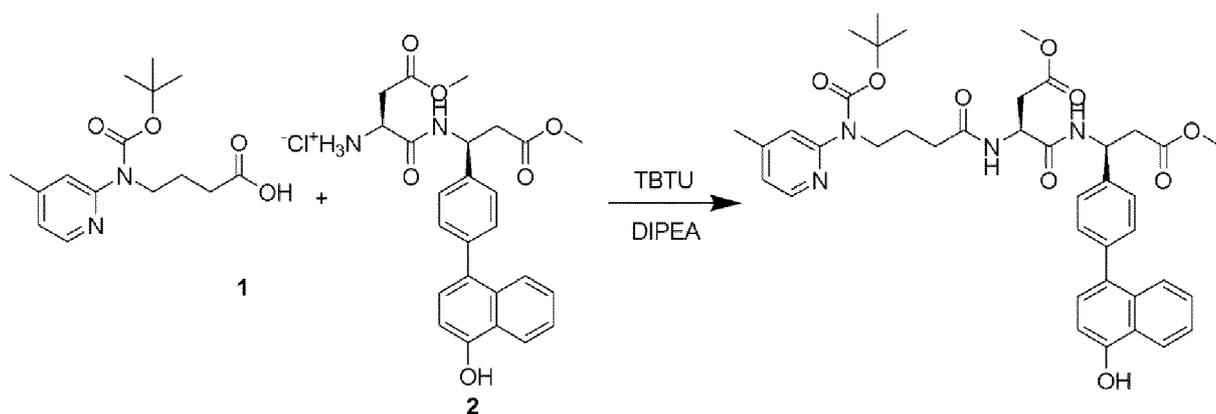
метилпиридин-2-ил(амино)бутанамидо)-4-оксобутановая кислота)



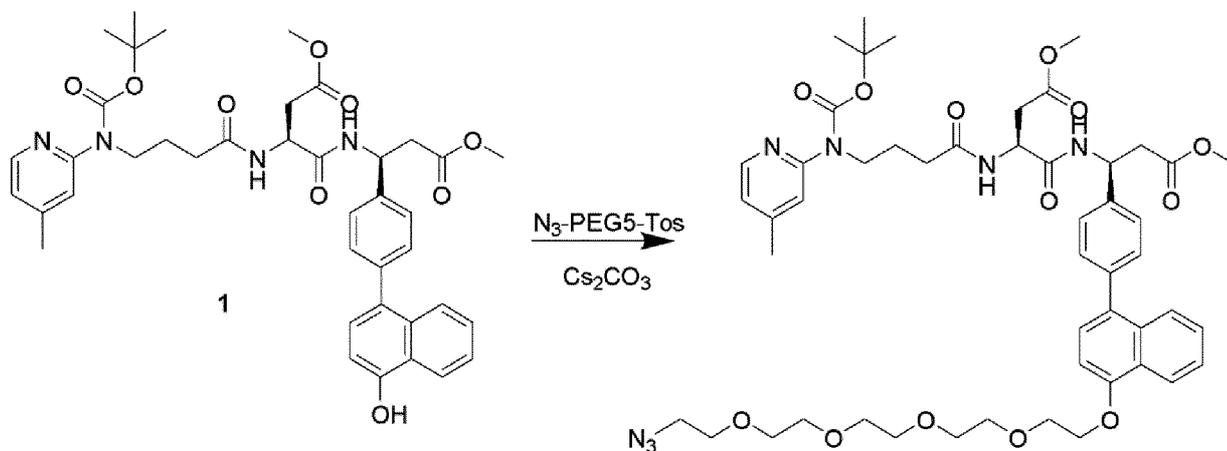
[0482] К раствору Соединения 1 (100 мг, 0,404 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (160 мг, 0,444 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (155 мг, 0,485 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,211 мл, 1,213 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 551,23, найдено 551,45.



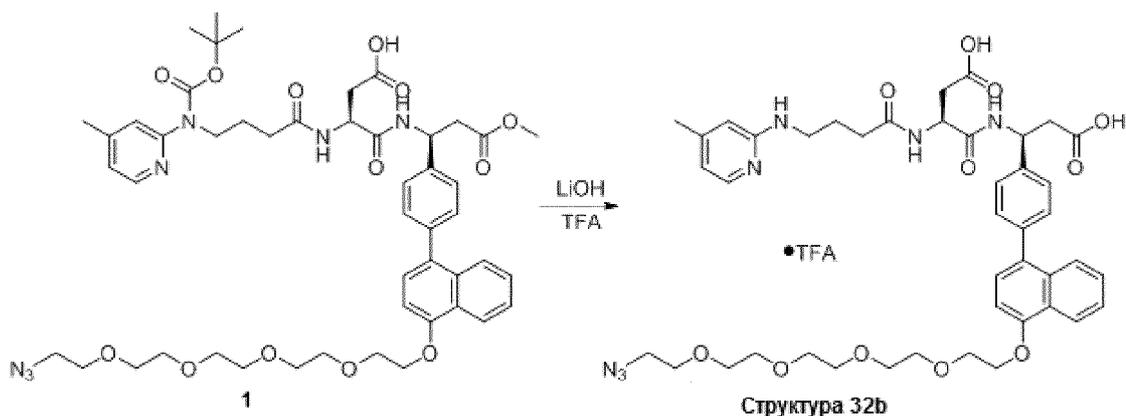
[0483] Соединение 1 (0,164 г, 0,297 ммоль, 1,0 экв.) охлаждали на ледяной бане. Добавляли в колбу HCl в диоксане (0,745 мл, 2,978 ммоль, 10 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя и полученный продукт использовали далее без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 451,18; найдено 451,35.



[0484] К раствору Соединения 1 (100 мг, 0,404 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (160 мг, 0,444 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (155 мг, 0,485 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,211 мл, 1,213 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-5% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 727,33, найдено 727,53.

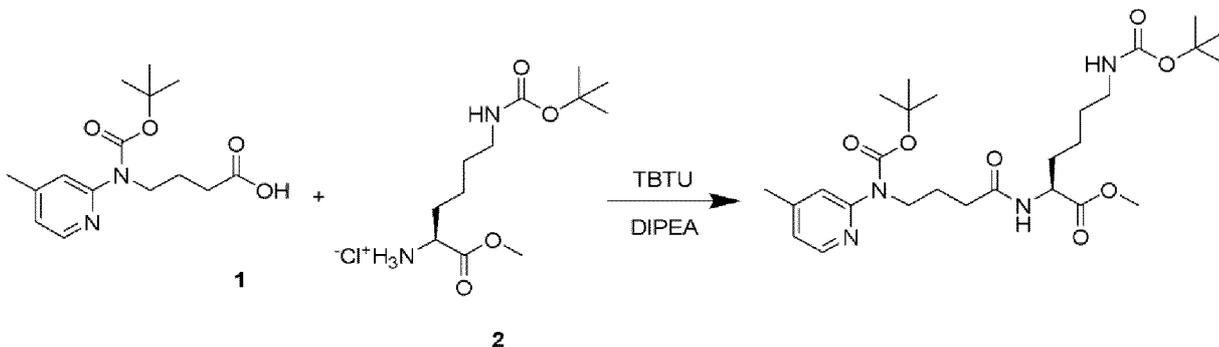


[0485] К раствору Соединения 1 (150 мг, 0,206 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (172 мг, 0,412 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (134 мг, 0,412 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4% метанолом в DCM. Выход составил 29%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 940,45, найдено 940,71.

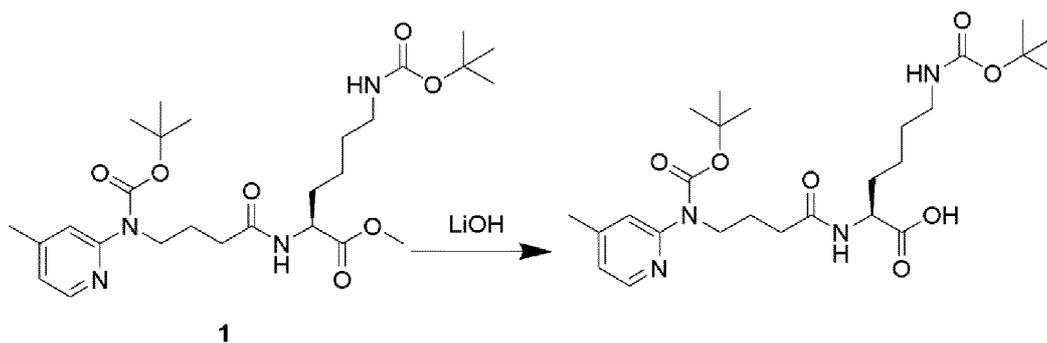


[0486] К раствору Соединения 1 (30 мг, 0,0344 ммоль, 1,0 экв.) в THF (1 мл) и воде (1 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (2,5 мг, 0,103 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 N), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (2 мл) и DCM (1 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. Продукт элюировали 20% метанолом в дихлорметане. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 844,38, найдено 844,56.

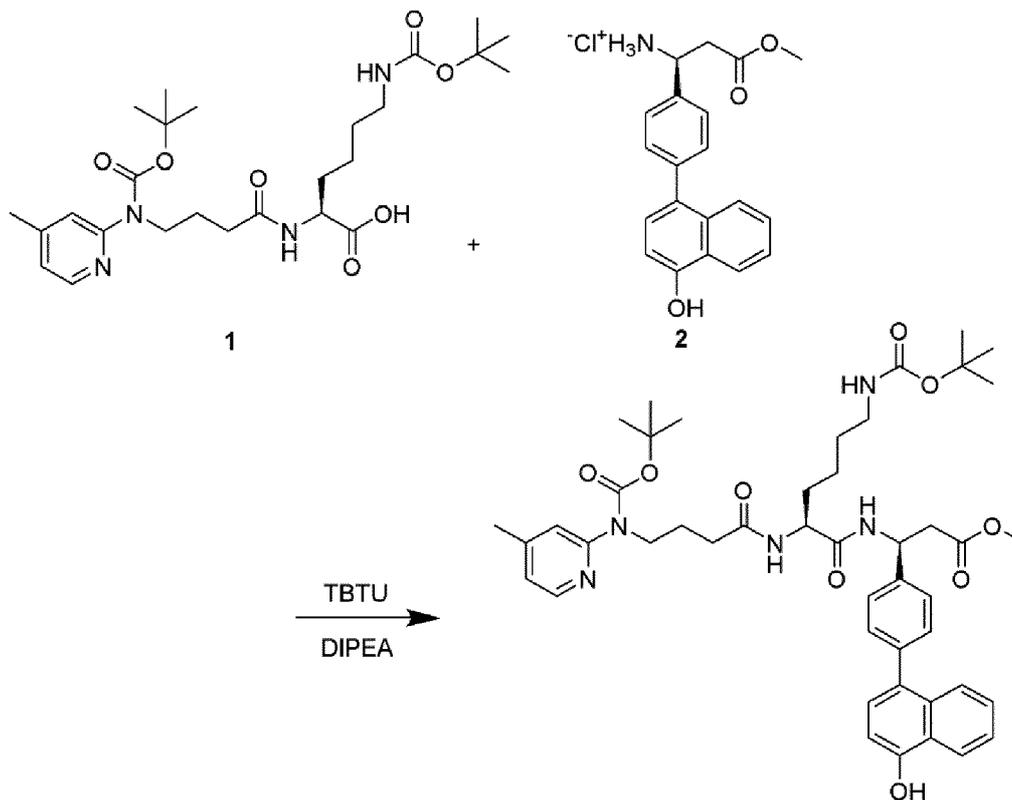
Синтез Структуры 33b ((S)-3-((S)-6-амино-2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)гексанамидо)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксотетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)пропановая кислота)



[0487] К раствору Соединения 1 (150 мг, 0,509 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (166 мг, 0,560 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (196 мг, 0,611 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (3 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,266 мл, 1,528 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-5% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 537,32, найдено 537,23.

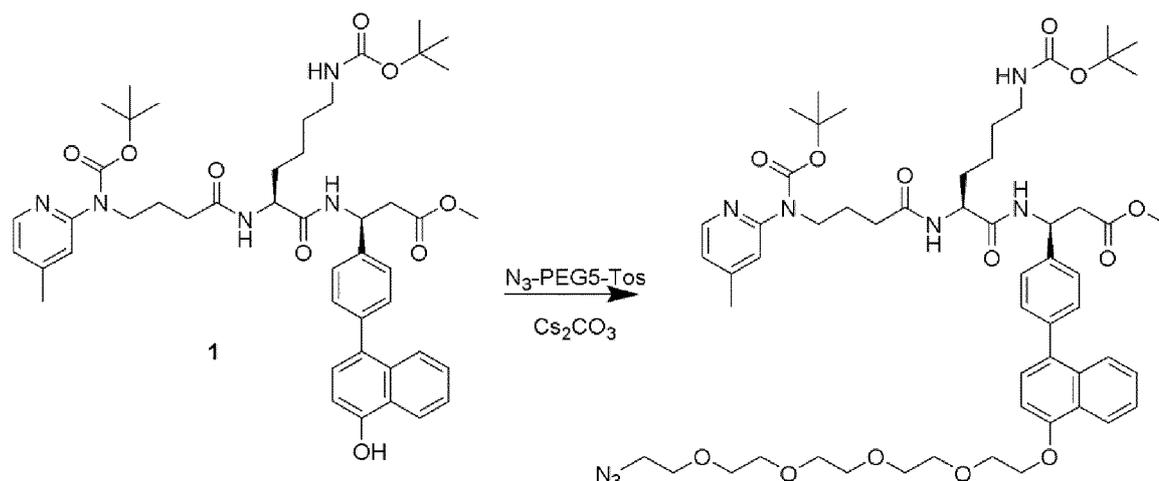


[0488] К раствору Соединения 1 (230 мг, 0,428 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл) и H₂O (5 мл) при 0°C добавляли гидроксид лития (31 мг, 1,285 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь подкисляли HCl (6 Н) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл) и органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 523,31, найдено 523,55.

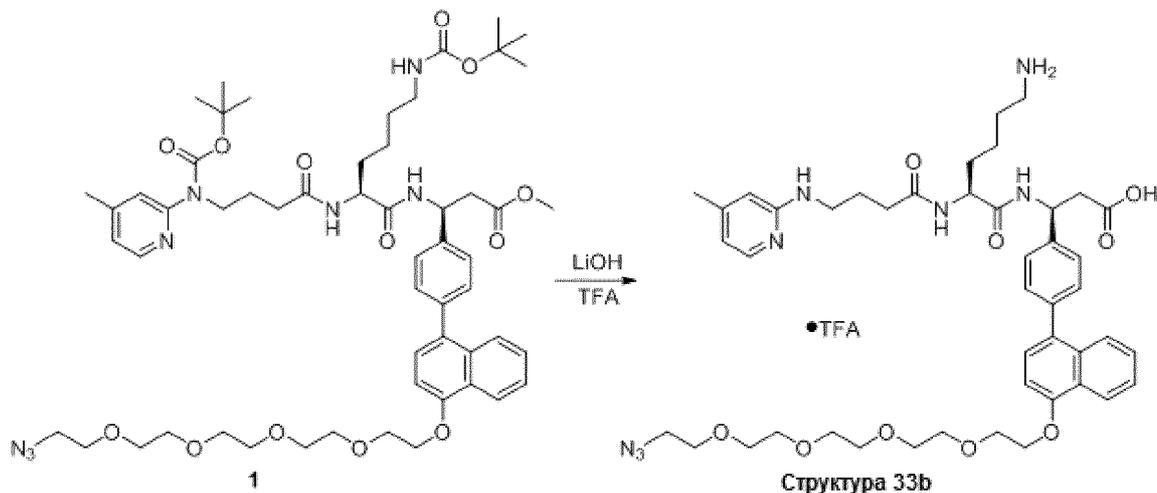


[0489] К раствору Соединения 1 (230 мг, 0,440 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (173 мг, 0,484 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (170 мг, 0,528 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,230 мл, 1,320 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием

силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4-6% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 826,43, найдено 826,65.



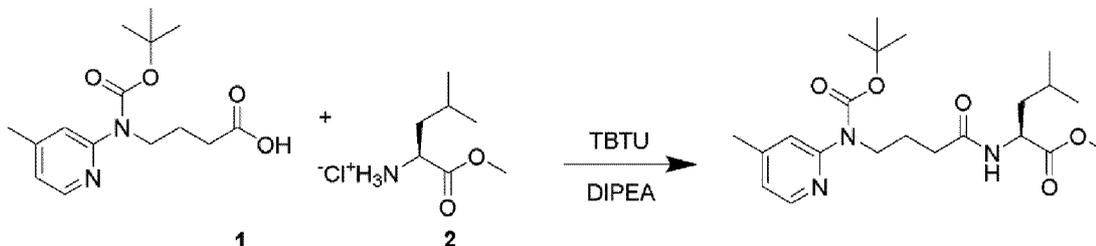
[0490] К раствору Соединения 1 (150 мг, 0,181 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (113 мг, 0,272 ммоль, 1,5 экв.) в безводном DMF (2 мл) добавляли Cs₂CO₃ (118 мг, 0,363 ммоль, 2 экв.) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 3 часов. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (5 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 4% метанолом в DCM. Выход составил 66%. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 1071,57, найдено 1071,89.



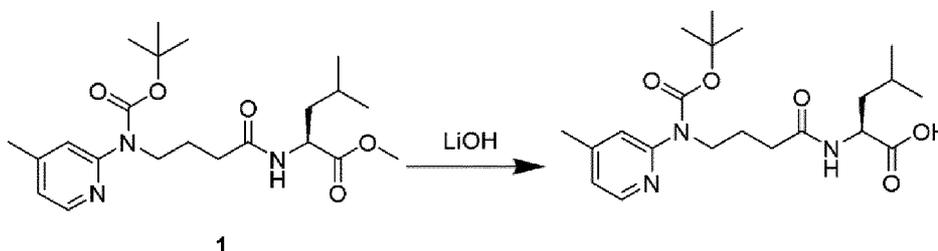
[0491] К раствору Соединения 1 (130 мг, 0,121 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (8,7 мг, 0,364 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (3 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной

фазы. Продукт элюировали 20% метанолом в дихлорметане. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 857,45, найдено 857,64.

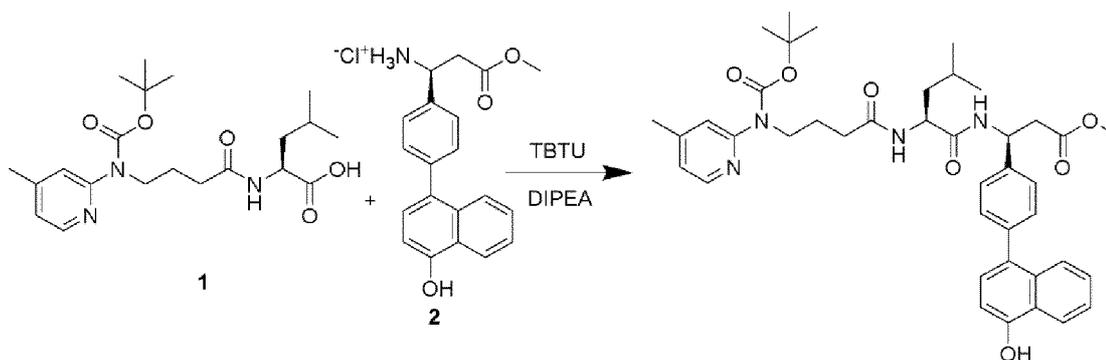
Синтез **Структуры** **34b** **((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-((S)-4-метил-2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)пентанамидо)пропановая кислота)**



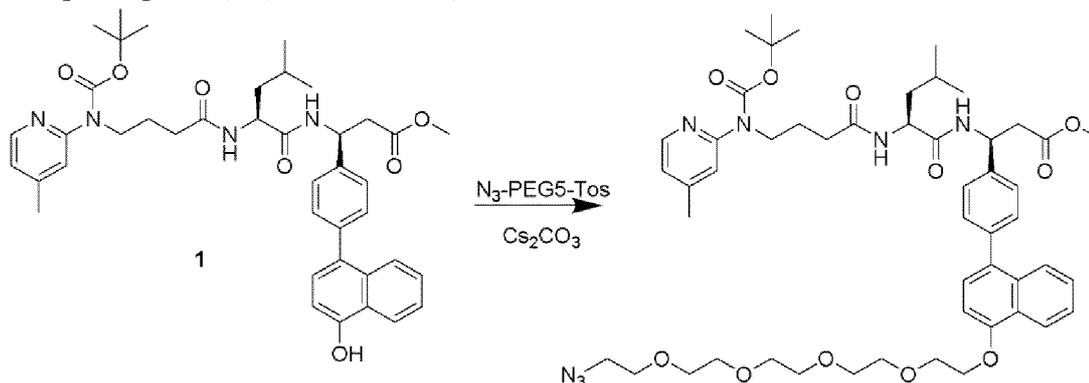
[0492] К раствору Соединения 1 (150 мг, 0,509 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (101 мг, 0,560 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (196 мг, 0,611 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (3 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,266 мл, 1,528 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (5 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-5% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 422,26, найдено 422,36.



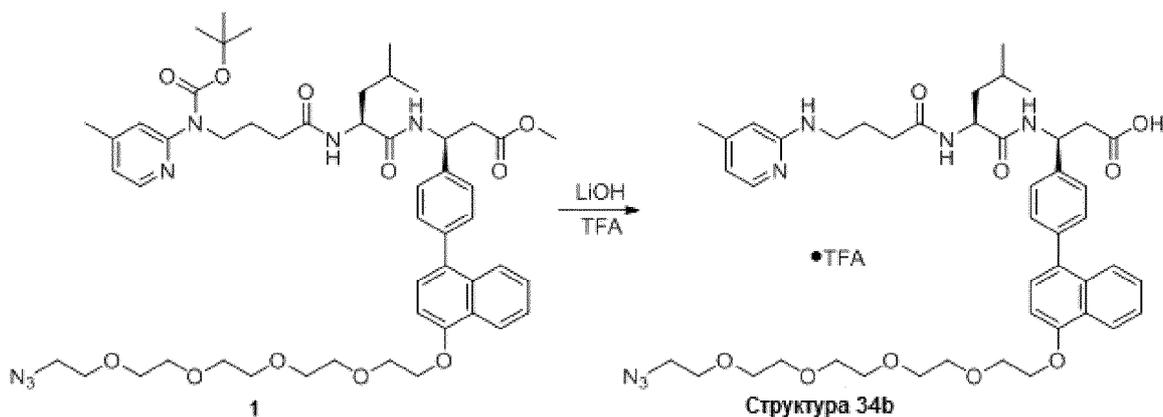
[0493] К раствору Соединения 1 (186 мг, 0,441 ммоль, 1 экв.) в THF (3 мл) и H_2O (3 мл) при 0°C добавляли гидроксид лития (31 мг, 1,323 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь подкисляли HCl (6 N) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл) и органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки. LC-MS: вычислено $[M+H]^+$ 408,24, найдено 408,23.



[0494] К раствору Соединения 1 (168 мг, 0,412 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (162 мг, 0,453 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (159 мг, 0,494 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (2 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,215 мл, 1,237 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 2-4% метанолом в DCM. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 711,37, найдено 711,69.

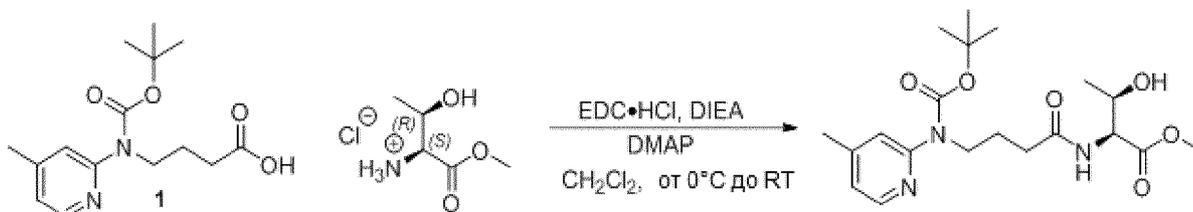


[0495] К раствору Соединения 1 (150 мг, 0,206 ммоль, 1 экв.) и азидо-PEG₅-OTs (132 мг, 0,317 ммоль, 1,5 экв.) в безводном DMF (2 мл) при комнатной температуре добавляли Cs₂CO₃ (137 мг, 0,422 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 3 часов. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл) и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. Выход составил 82%. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 956,51, найдено 956,64.

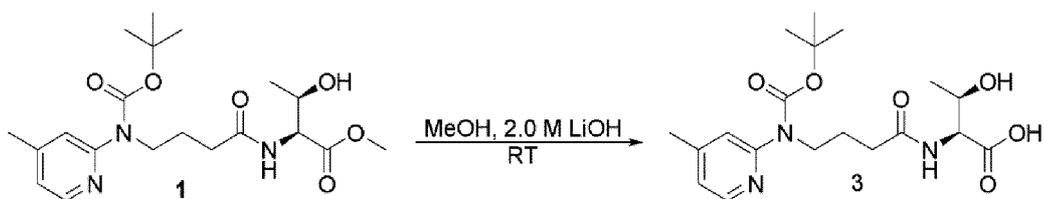


[0496] К раствору Соединения 1 (160 мг, 0,167 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (12 мг, 0,502 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 часа. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 Н), и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (3 мл) и DCM (2 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, и продукт выделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы. Продукт элюировали 8-10% метанолом в дихлорметане. LC-MS: вычислено [M+H]⁺ 842,44, найдено 842,67.

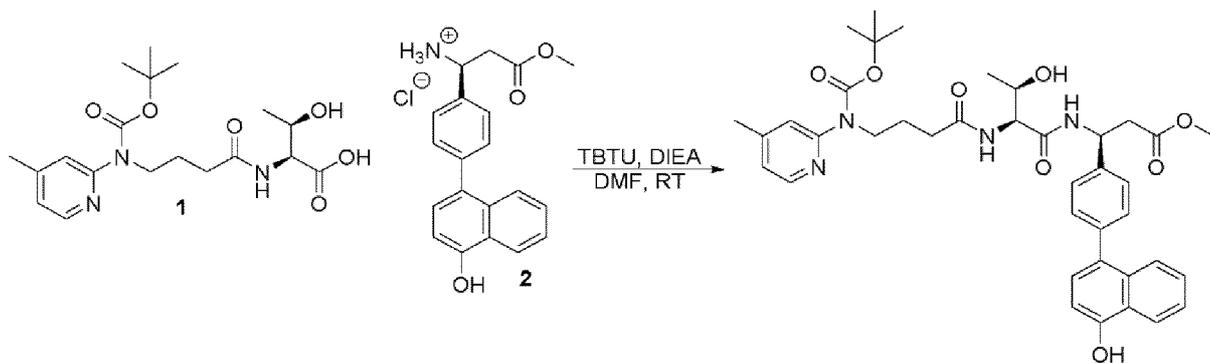
Синтез *Структуры* *35b* *((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-((2S,3R)-3-гидрокси-2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)бутанамидо)пропановая кислота)*



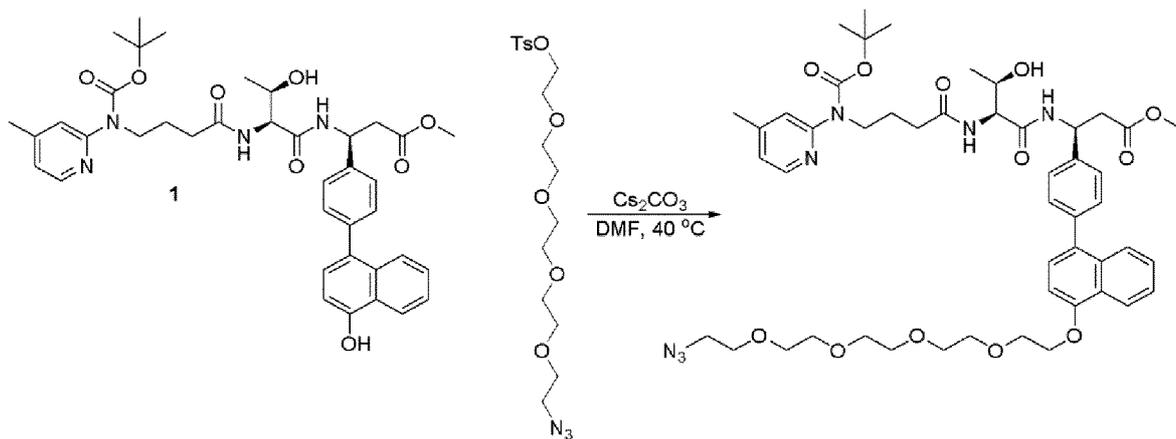
[0497] В сосуд, содержащий L-треонин-ОМе HCl (1,000 г, 5,896 ммоль, 1,3 экв.), добавляли Соединение 1 (1,335 г, 4,535 ммоль, 1 экв.), диметиламинопиридин (0,277 г, 2,268 ммоль, 0,5 экв.) и CH₂Cl₂ (13,3 мл). К смеси добавляли диизопропиламин (2,054 мл, 11,792 ммоль, 2,6 экв.), и полученный раствор охлаждали до 0°C. Добавляли EDC·HCl (1,130 г, 5,896 ммоль, 1,3 экв.) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 минут перед нагреванием до комнатной температуры. Реакцию определяли как завершённую через 16 часов с помощью HPLC, и продукты переносили в делительную воронку, промывали 66% насыщенным NH₄Cl (4 × 20 мл) и насыщенным NH₄Cl (20 мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄ и концентрировали с получением вязкого масла (1,7588 г, 94,7%), которое непосредственно переносили на следующую стадию. LC-MS: вычислено [M+H]⁺: 410,22, найдено 410,03.



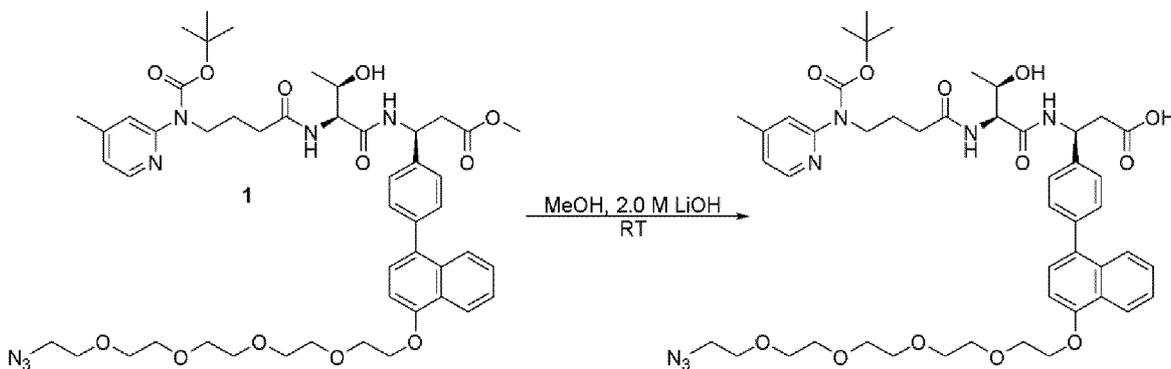
[0498] Соединение 1 растворяли в МЕОН (4,5 мл), и к смеси добавляли 2,0 М раствор LiOH (9,1 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 часа, и концентрировали для удаления МЕОН. Затем смесь подкисляли 20% KHSO₄ до pH 4, и экстрагировали EtOAc (3 × 15 мл). Объединенный органический слой промывали насыщенным солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали, с получением Соединения 3 в виде твердого вещества (1,5095 г, выход 88,9%). LC-MS: вычислено [M-H]⁻: 394,21, найдено 394,37. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 8,26 (д, 1H), 7,27-7,24 (м, 1H), 7,23 (с, 1H), 6,95 (ддд, 1H), 4,60 (дд, 1H), 4,39 (кв, 1H), 3,97-3,77 (м, 2H), 2,36 (с, 3H), 2,41-2,23 (м, 2H), 1,98-1,84 (м, 2H), 1,45 (с, 9H), 1,19 (с, 3H).



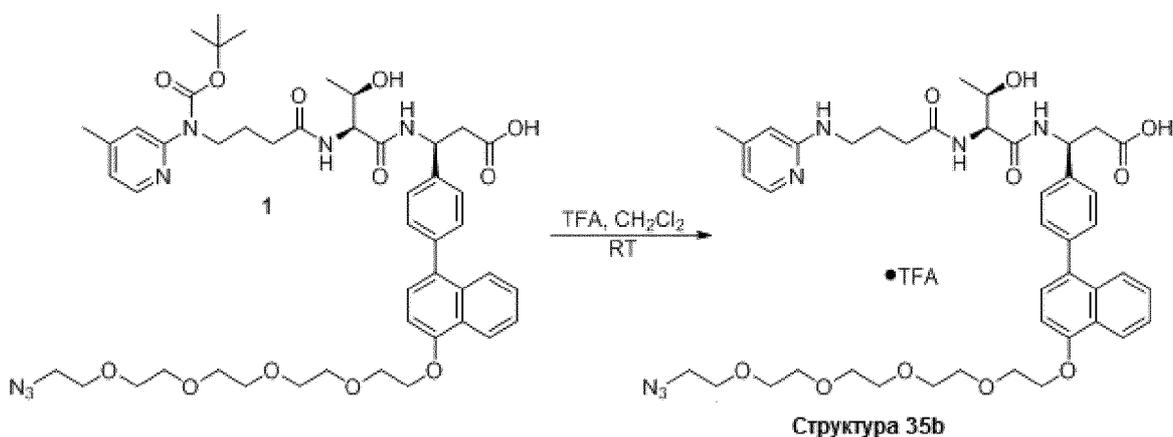
[0499] В сосуд загружали Соединение 1 (0,200 г, 0,506 ммоль, 1 экв.), TBTU (0,195 г, 0,607 ммоль, 1,2 экв.), DMF (2,0 мл) и DIEA (0,264 мл, 1,517 ммоль, 3,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 минут перед добавлением Соединения 2 (0,253 г, 0,708 ммоль, 1,4 экв.). После завершения реакции реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл) и экстрагировали EtOAc (3 × 5 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (10 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Неочищенный материал очищали колоночной хроматографией, элюируя 0-20% МЕОН в CH₂Cl₂, получая конечный продукт (150,8 мг, 42,7% выход). LC-MS: вычислено [M+H]⁺: 699,33, найдено 699,53.



[0500] В сосуд, содержащий Соединение 1 (0,151 г, 0,216 ммоль, 1 экв.), добавляли Cs_2CO_3 (0,106 г, 0,324 ммоль, 1,5 экв.) и DMF (1,9 мл). К смеси добавляли $\text{N}_3\text{-PEG}_5\text{-OTs}$ (0,135 г, 0,324 ммоль, 1,5 экв.) и реакционную смесь перемешивали при 40°C. После завершения реакции реакционную смесь разбавляли EtOAc (10 мл), насыщенным раствором NaHCO_3 (5 мл) и водой (5 мл). Слои разделяли и водную фазу экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Неочищенный материал очищали колоночной хроматографией, элюируя 0-20% МЕОН в CH_2Cl_2 , получая конечный продукт (103 мг, выход 50,4%). LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$: 944,47, найдено 944,56.

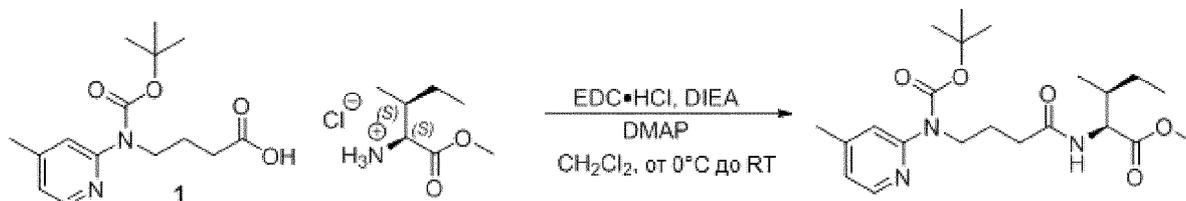


[0501] В сосуд, содержащий Соединение 1 (0,103 г, 0,109 ммоль, 1 экв.), добавляли MeOH (1,5 мл) и 2,0 М LiOH (2,0 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре, затем концентрировали для удаления МЕОН, подкисляли до pH=2 раствором 20% KHSO_4 . К смеси добавляли EtOAc (5 мл) и воду (4 мл). Водный слой экстрагировали EtOAc (3×5 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (10 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением продукта (0,0879 г, 86,9%). LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$: 930,45, найдено 930,56.

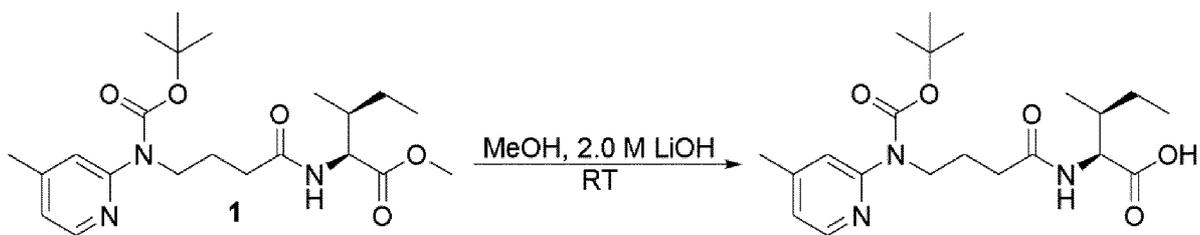


[0502] В сосуд, содержащий Соединение 1 (0,0879 г, 0,0945 ммоль, 1 экв.), добавляли CH_2Cl_2 (0,3 мл) и трифторуксусную кислоту (0,64 мл). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут. После завершения реакции (образование продукта >97%) реакционную смесь концентрировали, выпариванием с толуолом (3 мл), а затем с ацетонитрилом (2×3 мл). Продукт получали с дополнительным количеством TFA (115,6 мг).

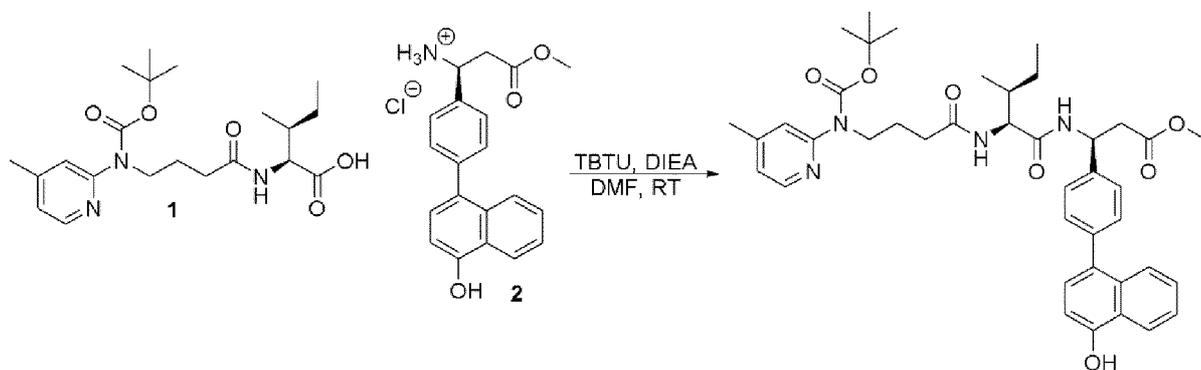
Синтез **Структуры** **36b** **((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-((2S,3S)-3-метил-2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)пентанамидо)пропановая кислота)**



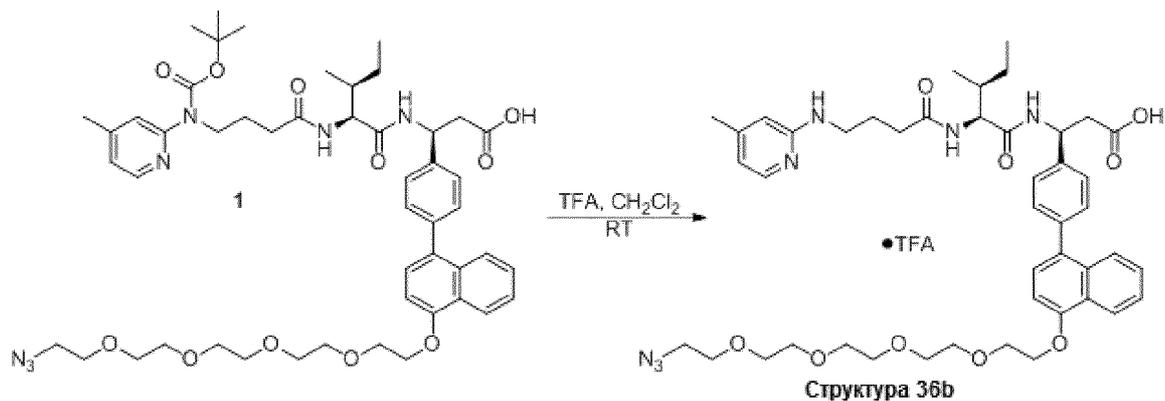
[0503] В сосуд, содержащий L-изолейцин-ОМе HCl (1,000 г, 5,505 ммоль, 1,3 экв.), добавляли Соединение 1 (1,246 г, 4,234 ммоль, 1 экв.), диметиламинопиридин (0,259 г, 2,117 ммоль, 0,5 экв.) и CH_2Cl_2 (12,5 мл). К смеси добавляли диизопропиламин (2,054 мл, 11,792 ммоль, 2,6 экв.) и полученный раствор охлаждали до 0°C . Добавляли EDC·HCl (1,055 г, 5,505 ммоль, 1,3 экв.) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 минут перед нагреванием до комнатной температуры. Реакцию определяли как завершённую через 16 часов с помощью HPLC, и продукты переносили в делительную воронку, промывали 66% раствором NH_4Cl (4×20 мл) и насыщенным NH_4Cl (1×20 мл). Органический слой сушили над Na_2SO_4 и концентрировали, получая вязкое масло (1,8634 г, влажное, с CH_2Cl_2), которое непосредственно переносили на следующую стадию. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$: 422,26, найдено 422,00.



[0504] Соединение 1 растворяли в MeOH (4,2 мл) и к смеси добавляли 2,0 мл раствора LiOH (8,5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 ч и концентрировали для удаления MeOH. Затем смесь подкисляли раствором 20% KHSO₄ до pH 4, и экстрагировали EtOAc (3 × 15 мл). Объединенный органический слой промывали насыщенным соевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали, с получением продукта в виде вязкого масла (1,6123 г, 93,4% выход по двум стадиям). LC-MS: вычислено [M+H]⁻: 406,24, найдено 406,43. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 8,23 (д, 1H), 7,12 (д, 1H), 6,95-6,88 (м, 1H), 4,58 (дд, 1H), 3,99-3,83 (м, 2H), 2,35-2,34 (с, 3H), 2,30 (гепт. 2H), 2,00-1,84 (м, 4H), 1,45 (с, 9H), 0,91 (м, 6H).

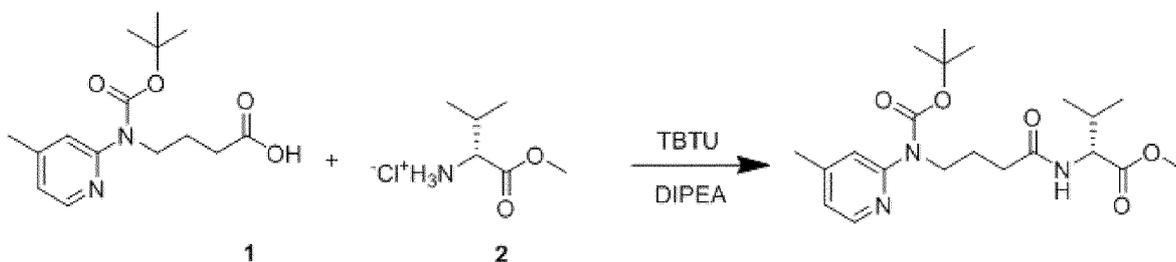


[0505] В сосуд загружали Соединение 1 (0,200 г, 0,491 ммоль, 1 экв.), TBTU (0,189 г, 0,589 ммоль, 1,2 экв.), DMF (2,0 мл) и DIEA (0,256 мл, 1,472 ммоль, 3,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 минут перед добавлением Соединения 2 (0,246 г, 0,687 ммоль, 1,4 экв.). После завершения реакции реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл), экстрагировали EtOAc (3 × 5 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (10 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Неочищенный материал очищали колоночной хроматографией, элюируя 0-20% MeOH в CH₂Cl₂, получая конечный продукт (0,3024 мг, выход 86,7%). LC-MS: вычислено [M+H]⁺: 711,37, найдено 711,51.

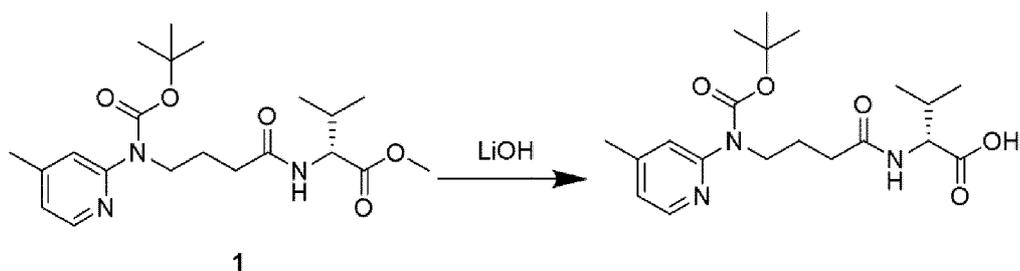


[0508] В сосуд, содержащий Соединение 1 (0,1417 г, 0,1504 ммоль, 1 экв.), добавляли CH_2Cl_2 (0,5 мл) и трифторуксусную кислоту (1,0 мл). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут. После завершения реакции (образование продукта >97%) реакционную смесь концентрировали, выпаривали с толуолом (3 мл), а затем с ацетонитрилом (2×3 мл). Продукт получали с дополнительным количеством TFA (150,3 мг). В продуктах реакции присутствовали два пика, как и в исходном материале, так и в конечном продукте. LC-MS: вычислено $[\text{M}+\text{H}]^+$: 842,44, найдено 842,56. Оба пика продукта имеют одинаковую массу, что указывает на присутствие диастереомеров.

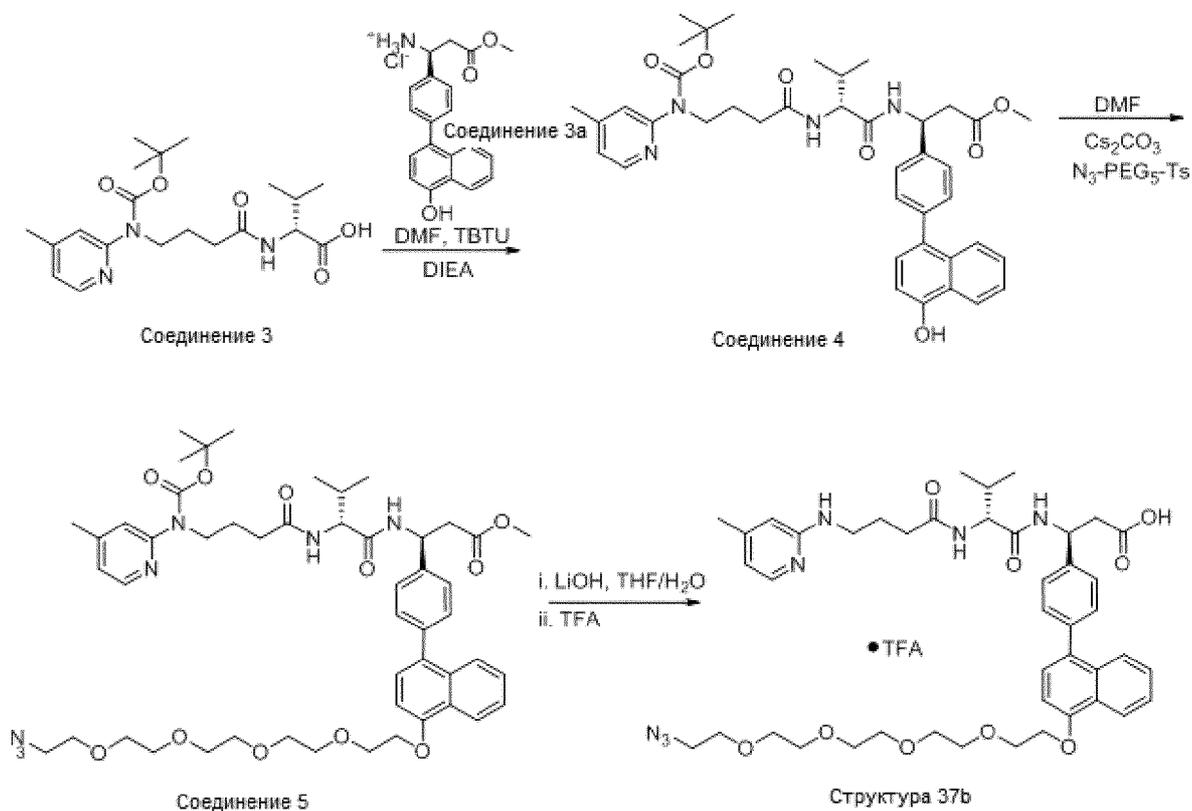
Синтез **Структуры** **37b** **((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-((R)-3-метил-2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)бутанамидо)пропановая кислота)**



[0509] К раствору Соединения 1 (150 мг, 0,509 ммоль, 1 экв.), Соединения 2 (94 мг, 0,560 ммоль, 1,1 экв.) и TBTU (196 мг, 0,611 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (3 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,266 мл, 1,528 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 часа. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (10 мл), и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×5 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт выделяли с помощью CombiFlash®, и элюировали 2-3% метанолом в DCM. Выход: 205 мг (99%).



[0510] К раствору Соединения 1 (207 мг, 0,508 ммоль, 1 экв. В THF (5 мл) и H₂O (5 мл) при 0°C добавляли гидроксид лития (36 мг, 1,523 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь подкисляли HCl (6 Н) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл) и органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Полученный продукт использовали далее без дополнительной очистки. Выход: 180 мг (91%).



[0511] К раствору Соединения 3 (180 мг, 0,46 ммоль), Соединения 3a (180 мг, 0,50 ммоль) и TBTU (176 мг, 0,55 ммоль) в DMF (2,5 мл) при 0°C добавляли DIEA (177 мг, 239 мкл, 1,37 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃. Добавляли деионизированную воду (1,75 мл), а затем экстрагировали этилацетатом (8 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали этилацетатом (2 × 8 мл). Объединенные органические фазы промывали полунасыщенным водным раствором NH₄Cl (6 мл) и полунасыщенным раствором NaHCO₃ (водн.) (6 мл). Органический слой

сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенную смесь разделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 0-5% метанолом в DCM. Выход Соединения 4: 295 мг (92%). Вычислено для $\text{C}_{40}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_7$: 697,84, найдено: 697,82.

[0512] К раствору Соединения 4 (200 мг, 0,29 ммоль) и азидо-PEG₅-OTs (240 мг, 0,57 ммоль) в безводном DMF (2,5 мл) добавляли Cs_2CO_3 (187 мг, 0,57 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 часов. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (водн.) (15 мл), добавляли деионизированную воду (7,5 мл) и экстрагировали этилацетатом (10 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали этилацетатом (2 × 10 мл). Объединенные органические фазы сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенную смесь разделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 0-5% метанолом в DCM. Выход Соединения 5: 97 мг (36%). Вычислено для $\text{C}_{50}\text{H}_{67}\text{N}_7\text{O}_{11}$: 943,15, найдено: 942,96.

[0513] К раствору Соединения 5 (94 мг, 0,10 ммоль) в THF (1,5 мл) и деионизированной воде (1 мл) добавляли раствор гидроксида лития (7,2 мг, 0,30 ммоль) в деионизированной воде (0,5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа, затем подкисляли 6 М HCl (водн.) до pH 3. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 5 мл). Объединенную органическую фазу сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. К неочищенному остатку добавляли TFA (1,34 мл) и воду (67 мкл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 часа при комнатной температуре. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток подвергали выпариванию со смесью ацетонитрил:толуол [1:1] (2 × 20 мл). Неочищенную смесь разделяли с помощью CombiFlash®, с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы, и элюировали 0-10% метанолом в DCM. Выход Структуры 37b: 44 мг (53%). $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{44}\text{H}_{57}\text{N}_7\text{O}_9$: 828,97, найдено: 828,63.

Пример 2

Синтез тридентатных лигандов интегринина $\alpha\upsilon\beta 6$ и конъюгация лигандов интегринина $\alpha\upsilon\beta 6$ с транспортируемыми молекулами (средствами РНКи)

[0514] Лиганды интегринина $\alpha\upsilon\beta 6$ могут быть конъюгированы с одним или несколькими средствами РНКи, пригодными для ингибирования экспрессии одного или нескольких целевых генов-мишеней. Лиганды интегринина $\alpha\upsilon\beta 6$ облегчают доставку средств РНКи к клеткам-мишеням и/или к тканям. Пример 1, представленный выше, описывает синтез ряда лигандов интегринина $\alpha\upsilon\beta 6$, описанных здесь. Ниже описаны общие методики синтеза некоторых конъюгатов лигандов интегринина $\alpha\upsilon\beta 6$ с антителом, которые проиллюстрированы в неограничивающих примерах, представленных здесь.

[0515] *А. Синтез средств РНКи.* Средства РНКи могут быть синтезированы с использованием методов, известных в данной области техники. Для синтеза средств РНКи, проиллюстрированных в Примерах, представленных здесь, смысловые и антисмысловые цепи средств РНКи синтезировали твердофазной фосфорамидитной

технологией, используемой в олигонуклеотидном синтезе. В зависимости от масштаба использовали MerMade96E® (Bioautomation), MerMadel2® (Bioautomation) или OP Pilot 100 (GE Healthcare). Синтезы проводили на твердой подложке, изготовленной из стекла с контролируемым размером пор (CPG, 500Å или 600Å, от Prime Synthesis, Aston, PA, USA). Все РНК и 2'-модифицированные РНК-фосфорамидиты приобретали у Thermo Fisher Scientific (Milwaukee, WI, USA). В частности, использовали следующие 2'-О-метилфосфорамидиты: (5'-О-диметокситритил-N⁶-(бензоил)-2'-О-метиладенозин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино)-фосфорамидит, 5'-О-диметокси-тритил-N⁴-(ацетил)-2'-О-метил-цитидин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропил-амино)фосфорамидит, (5'-О-диметокситритил-N²-(изобутирил)-2'-О-метилгуанозин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино)фосфорамидит и 5'-О-метил-диметокситритил-2'-О-уридин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино)фосфорамидит. 2'-дезоксидезокси-2'-фтор-фосфорамидиты несли такие же защитные группы, как 2'-О-метил-РНК-амидиты. 5'-диметокситритил-2'-О-метиляденозин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино)фосфорамидиты приобретали у Glen Research (Virginia). Инвертированные фосфорамидиты с удаленными основаниями, такие как (3'-О-диметокситритил-2'-дезоксирибоза-5'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино)-фосфорамидиты приобретали у ChemGenes (Wilmington, MA, USA). Использовали следующие UNA фосфорамидиты: 5'-(4,4'-диметокситритил)-N⁶-(бензоил)-2',3'-секо-аденозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N, N-диизопропил)]-фосфорамидит, 5'-(4,4'-диметокситритил)-N-ацетил-2',3'-секо-цитозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N, N-диизопропил)]-фосфорамидит, 5'-(4,4'-диметокситритил)-N-изобутирил-2',3'-секо-гуанозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N, N-диизопропил)]-фосфорамидит и 5'-(4,4'-диметокситритил)-2',3'-секо-уридин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N, N-диизопропил)]-фосфорамидит. TFA-амиолинкерные фосфорамидиты также приобретали на коммерческой основе у ThermoFisher.

[0516] В некоторых примерах лиганды $\alpha\beta6$ интегринов, раскрытые здесь, конъюгировали со средствами РНКи посредством связывания компонентов с каркасом, который включает триалкиновую группу. В некоторых примерах триалкиновую группу добавляли с использованием триалкин-содержащего фосфорамидита, который может быть добавлен на 5'-конец смысловой цепи средства РНКи. При использовании в сочетании со средствами РНКи, представленными здесь в некоторых примерах, триалкин-содержащие фосфорамидиты растворяли в безводном дихлорметане или безводном ацетонитриле (50 мМ), в то время как все другие амидиты растворяли в безводном ацетонитриле (50 мМ), и добавляли молекулярные сита (3Å). В качестве активатора использовали раствор 5-бензилтио-1Н-тетразола (ВТТ, 250 мМ в ацетонитриле) или 5-этилтио-1Н-тетразола (ЕТТ, 250 мМ в ацетонитриле). Время связывания составляло 10 минут (РНК), 90 секунд (2'О-Ме) и 60 секунд (2'F). Для введения фосфортиоатных связей использовали 100 мМ раствор 3-фенил-1,2,4-дитиазолин-5-она (POS, полученный от PolyOrg, Inc. Leoster, MA, USA) в безводном ацетонитриле.

[0517] Альтернативно, когда лиганды интегринина $\alpha\beta6$ конъюгировали со

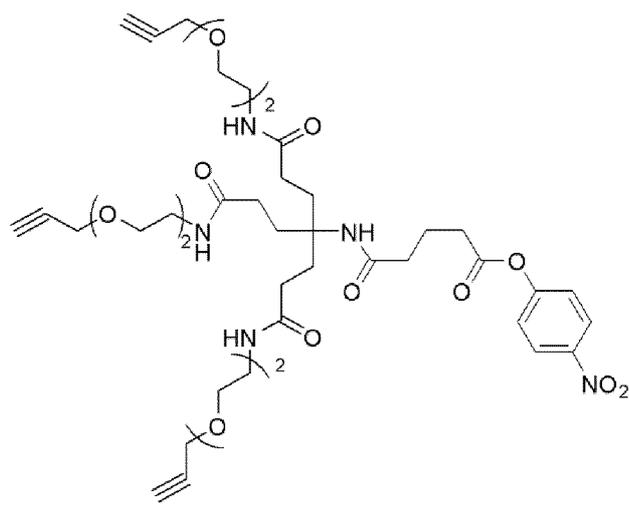
средствами РНКи через триалкин-каркас, то вместо использования фосфорамидитного подхода, то триалкин-содержащие соединения вводили после синтеза (см. например, Раздел Е, ниже). 5'-концевой нуклеотид смысловой цепи функционализировали нуклеотидом, который включал первичный амин на 5'-конце для облегчения присоединения к триалкин-содержащему каркасу. TFA-аминолинкерный фосфорамидит растворяли в безводном ацетонитриле (50 мМ) и добавляли молекулярные сита (3Å). В качестве активатора использовали раствор 5-бензилтио-1Н-тетразол (БТТ, 250 мМ в ацетонитриле) или 5-этилтио-1Н-тетразол (ЕТТ, 250 мМ в ацетонитриле). Время связывания составляло 10 минут (РНК), 90 секунд (2'О-Ме) и 60 секунд (2'F). Для введения фосфориоатных связей использовали 100 мМ раствор 3-фенил-1,2,4-дитиазолин-5-она (POS, полученный от PolyOrg, Inc. Leoster, MA, USA) в безводном ацетонитриле.

[0518] *В. Отщепление и снятие защиты у связанного с подложкой олигомера.* После завершения твердофазного синтеза высушенный твердый носитель (подложку) обрабатывали при 30°C раствором, содержащим 1:1 по объему 40 мас. % метиламина в воде и 28-31% раствором гидроксида аммония (Aldrich) в течение 1,5 часов. Раствор выпаривали, и твердый остаток восстанавливали в воде (см. ниже).

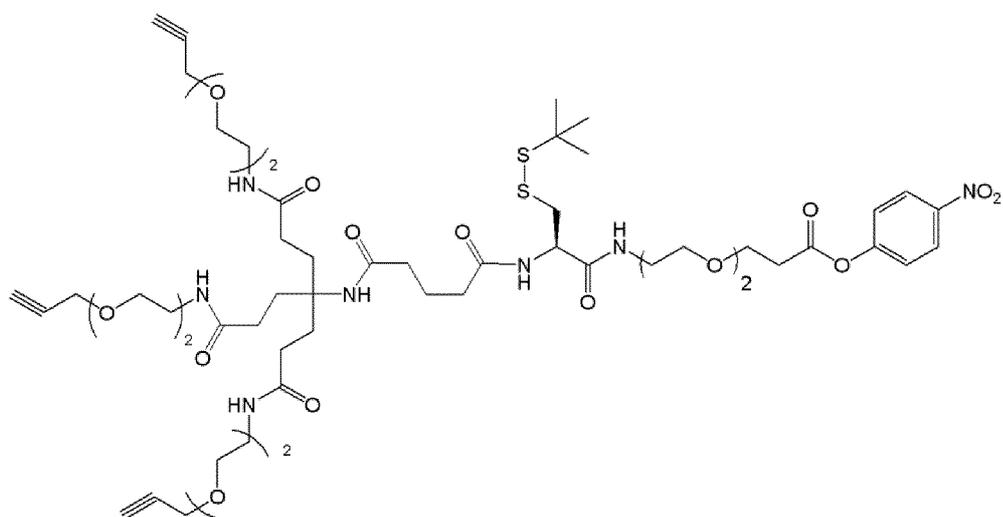
[0519] *С. Очистка.* Неочищенные олигомеры очищали с помощью анионообменной HPLC с использованием колонки TSKgel SuperQ-5PW 13 мкм, и системы Shimadzu LC-8. Буфер А содержал 20 мМ Tris, 5 мМ EDTA, pH 9,0 и 20% ацетонитрила, а буфер В был таким же, как и буфер А, но с добавлением 1,5 М хлорида натрия. УФ-сигналы регистрировали при 260 нм. Соответствующие фракции объединяли, а затем анализировали с помощью эксклюзионной HPLC с использованием колонки GE Healthcare XK 16/40 с Sephadex G-25 fine, и буфером, содержащим 100 мМ бикарбоната аммония, pH 6,7, и 20% ацетонитрила или фильтрованной воды.

[0520] *Д. Отжиг.* Комплементарные нити смешивали путем объединения эквимоллярных растворов РНК (смысловых и антисмысловых) в 1X PBS (забуференный фосфатом физиологический раствор, 1X, Corning, Cellgro), получая средства РНКи. Некоторые средства РНКи лиофилизировали и хранили при температуре от -15°C до -25°C. Концентрацию дуплексов определяли путем измерения поглощения раствора на спектрометре UV-Vis в 1X PBS. Затем, для определения концентрации дуплексов, оптическую плотность раствора при 260 нм умножали на коэффициент превращения и на коэффициент разбавления. Использовали коэффициент превращения равный 0,037 мг/(мл·см), либо, для некоторых экспериментов, коэффициент преобразования альтернативно рассчитывали на основании экспериментально определенного коэффициента экстинкции.

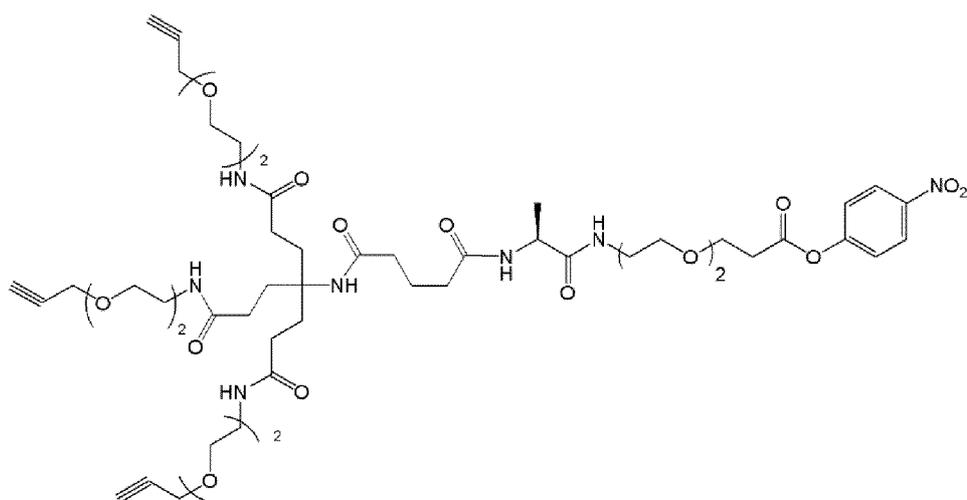
[0521] *Е. Конъюгирование триалкиновых каркасов.* До или после отжига 5'- или 3'-аминофункционализированную смысловую цепь средства РНКи конъюгировали с триалкиновым каркасом. Примеры 3-алкиновых каркасных структур, которые могут быть использованы для получения описанных здесь конструкций, включают следующие:



;



;

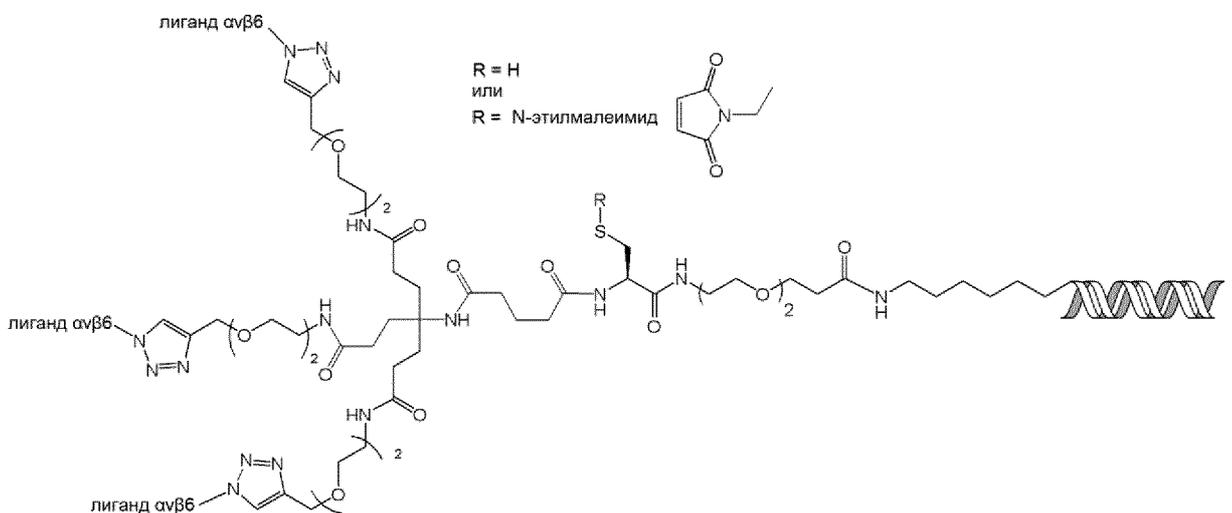


[0522] Ниже описана конъюгация триалкинового каркаса с отожженным дуплексом: функционализированный амином дуплекс растворяли в 90% DMSO/10% H₂O до концентрации ~50-70 мг/мл. Добавляли 40 экв. триэтиламина, а затем 3 экв. триалкин-

PNP. После завершения реакции конъюгат дважды осаждали в системе растворителей из 1X забуференный фосфатом физиологический раствор/ацетонитрил (соотношение 1:14) и сушили.

[0523] *F. Конъюгация лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$. До или после отжига 5'- или 3'-тридентатную функционализированную алкином смысловую цепь конъюгировали с лигандами интегрина $\alpha\upsilon\beta6$. Следующий пример описывает конъюгацию лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$ с отожденным дуплексом: в деионизированной воде готовили исходные растворы 0,5 М трис(3-гидроксипропилтриазилилметил)амин (ТНРТА), 0,5 М пентагидрата сульфата меди (II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) и 2 М раствора аскорбата натрия. Готовили раствор лиганда интегрина $\alpha\upsilon\beta6$ в DMSO (75 мг/мл). В центрифужную пробирку емкостью 1,5 мл, содержащую триалкин-функционализированный дуплекс (3 мг, 75 мкл, 40 мг/мл в деионизированной воде, ~ 15000 г/моль), добавляли 25 мкл 1 М буфера HEPES, pH 8,5. После перемешивания добавляли 35 мкл DMSO, и раствор перемешивали. К реакционной смеси добавляли лиганд интегрина $\alpha\upsilon\beta6$ (6 экв./дуплекс, 2 экв./алкин, ~ 15 мкл), и раствор перемешивали на вортексе. Используя бумажный индикатор pH, проверяли pH и подтверждали, что значение pH доведено до 8. В отдельной центрифужной пробирке объемом 1,5 мл смешивали 50 мкл 0,5 М ТНРТА с 10 мкл 0,5 М $\text{Cu(II)SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, перемешивали на вортексе и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут. Через 5 минут в реакционный сосуд добавляли раствор ТНРТА/Cu (7,2 мкл, 6 экв. 5:1 ТНРТА:Cu) и перемешивали. Сразу после этого в реакционный сосуд добавляли 2 М аскорбат (5 мкл, 50 экв./дуплекс, 16,7 на алкин), и перемешивали в течение ночи. После завершения реакции (как правило, в течение 0,5-1 часа) реакционную смесь немедленно очищали с помощью неденатурирующей анионообменной хроматографии.*

[0524] *G. Функционализация тиоловой группы на цистеиновом линкере. В некоторых примерах, для облегчения конъюгации лигандов интегрина $\alpha\upsilon\beta6$ со средством РНКи, использовали цистеиновый линкер. До или после отжига 5'- или 3'- тридентатную алкин-Cys(Stbu)-PEG2-функционализированную смысловую цепь функционализировали малеинсодержащим фрагментом, или восстанавливали ее и оставляли в виде свободного тиола, как показано на следующей структуре:*



[0525] Следующий пример описывает модификацию триалкин-Cys(Stbu)-PEG₂-дуплекса с N-этилмалеимидом: триалкин-Cys(Stbu)-PEG₂-дуплекс (35 мг) растворяли в 500 мкл деионизированной воды. К реакционной смеси добавляли буфер HEPES (1 М, pH 8,5, 82 мкл) и раствор перемешивали на вортексе. Добавляли раствор 1 М дитиотреитола (ДТТ, 100 экв. 236 мкл), и раствор помещали на вихревой шейкер для перемешивания в течение 3 часов. После подтверждения восстановления дисульфида с помощью денатурирующей RP-HPLC, конъюгат осаждали три раза в системе растворителей 1X забуференный фосфатом физиологический раствор/ацетонитрил (соотношение 1:14). Осадок в виде пеллеты восстанавливали в 0,5 мл 0,1 М HEPES, pH 6,5, к раствору добавляли N-этилмалеимид (3 мг, 10 экв.) и помещали в вихревой смеситель для перемешивания в течение ~15 минут. После завершения реакции конъюгат осаждали три раза в системе растворителей 1X забуференный фосфатом физиологический раствор/ацетонитрил (соотношение 1:14), обессоливали и сушили.

Пример 3

Активность связывания лиганда интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$

[0526] В Таблице 1 представлены значения IC₅₀ связыванию лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ структур 1 и 2.

Таблица 1

Активность связывания, IC₅₀

Группа	IC ₅₀ (нМ)		
	$\alpha\upsilon\beta 3$	$\alpha\upsilon\beta 5$	$\alpha\upsilon\beta 6$
Структура 1	не активен	не активен	13
Структура 2	не активен	не активен	129

[0527] Значения IC₅₀ для азид-функционализованных структур (т.е. для Структур 1b и 2b) получали в условиях, известных и обычно используемых в данной области техники. Как следует из результатов, представленных выше в Таблице 1, Структуры 1 и 2 показали селективное связывание с интегрином $\alpha\upsilon\beta 6$.

Пример 4

Интратрахеальное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандом интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$, в условиях *in vivo*

[0528] Средства РНКи, включающие смысловую и антисмысловую цепи, синтезировали по фосфорамидитной технологии на твердой фазе в соответствии с общими процедурами, известными в данной области техники, и которые обычно используют для синтеза олигонуклеотидов, как описано здесь в Примере 2. Средства РНКи включают антисмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность, по меньшей мере частично комплементарную гену, экспрессирующему альфа-субъединицу амилорид-чувствительного эпителиального натриевого канала (обычно называемого альфа-ENaC или SCNN1A). Средства РНКи к альфа-ENaC были сконструированы таким образом, чтобы они имели возможность блокировать или ингибировать трансляцию транскриптов

информационной РНК (мРНК) альфа-ENaC специфическим для последовательности образом, ингибируя посредством этого экспрессию гена альфа-ENaC. Средство РНКи, используемое в этом Примере (AD04835), содержит модифицированные нуклеотиды и более чем одну нефосфодиэфирную связь, и оно включает следующие нуклеотидные последовательности.

Последовательность смысловой цепи (5' → 3'):

(NH₂-C₆)sgscugugcaAfCfCfagaacaauas(invAb) (SEQ ID NO:1);

Последовательность антисмысловой цепи (5' → 3'):

cPrpusAfsusUfuGfuUfcUfgGfuUfgCfaCfaGfsc (SEQ ID NO:2);

где

(invAb) = инвертированный (3'-3'-связанный) дезоксирибонуклеотид с удаленными основаниями;

s представляет собой фосфортиоатную связь;

a, c, g и u представляют собой соответственно 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин или уридин;

Af, Cf, Gf и Uf представляют собой соответственно 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин или уридин;

cPrpu представляет собой 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин (см. например, Таблицу А); и

(NH₂-C₆) представляет собой C₆-концевой амин, облегчающий целенаправленное конъюгирование лиганда, описанного здесь (см., например, Таблицу А).

[0529] Обычному специалисту в данной области техники понятно, что нуклеотидные мономеры связаны стандартными фосфодиэфирными связями, за исключением включения фосфортиоатной связи, как показано в модифицированных нуклеотидных последовательностях, раскрытых здесь, которая заменяет фосфодиэфирную связь, обычно присутствующую в олигонуклеотиде.

[0530] Самцам крыс Sprague-Dawley в день 1 и в день 2 исследования, через микрораспылительное устройство (Penn Century, Philadelphia, PA) интратрахеально (ИТ) вводили дозу объемом 200 мкл, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

(1) 5% раствор декстрозы в воде (d5w);

(2) 3,0 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC (AD04835) без лиганда («голое средство РНКи») в 5% растворе декстрозы в воде (d5w); или

(3) 3,0 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC (AD04835), конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин αβ6 Структуры 1, приготовленным в d5w.

[0531] В группах 2 и 3 использовали одинаковое средство РНКи к альфа-ENaC. Для группы 3 концевой амин (NH₂-C₆), присутствующий на 5'-конце смысловой цепи средства РНКи, конъюгировали с каркасом, который включал три концевых алкиновых группы. Алкиновые группы затем конъюгировали с азидной функциональной группой, присутствующей в Структуре 1b, образуя тем самым тридентатный лиганд интегрин

$\alpha\beta6$ Структуры 1. Общие способы синтеза описаны в Примере 2, приведенном выше.

[0532] Препараты вводили четырем (4) крысам в каждой группе. Крыс умерщвляли на 5 день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Содержание мРНК альфа-ENaC количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали в виде доли по отношению к контрольной группе, получавшей носитель (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 2.

Относительная экспрессия мРНК альфа-ENaC, нормализованная к контролю Примера 4

Группа	Относительная экспрессия (среднее геометрическое)	Нижний/Верхний 95% доверительный интервал
(1) носитель: 5% раствор декстрозы	1,000	0,81/1,23
(2) голое средство РНКи (без лиганда)	0,36	0,07/1,79
(3) тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 1 [(лиганд интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 1) ₃ - средство РНКи]	0,19	0,05/0,59

[0533] Как показано в Таблице 2, приведенной выше, лиганд интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 1 в тридентатной форме, конъюгированный со средством РНКи к альфа-ENaC (т.е. группа 3), продемонстрировал повышенный относительный нокдаун мРНК альфа-ENaC (нокдаун приблизительно 81%) по сравнению с голым средством РНКи (нокдаун 64%) без какого-либо лиганда (т.е. группа 2) и группой контроля, получившей носитель, в рамках эксперимента, выполненного в условиях *in vivo*.

Пример 5

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрин $\alpha\beta6$, в условиях *in vivo*

[0534] В следующих примерах тестировали различные средства РНКи, которые использовали в качестве транспортируемых молекул, для доставки этих транспортируемых молекул с помощью лиганда интегрин $\alpha\beta6$ в интересующую клетку. Некоторые из средств РНКи, которые использовали здесь, описаны в патенте США US 62/679549, который включен в данное описание во всей своей полноте посредством ссылки.

[0535] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в день 1 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

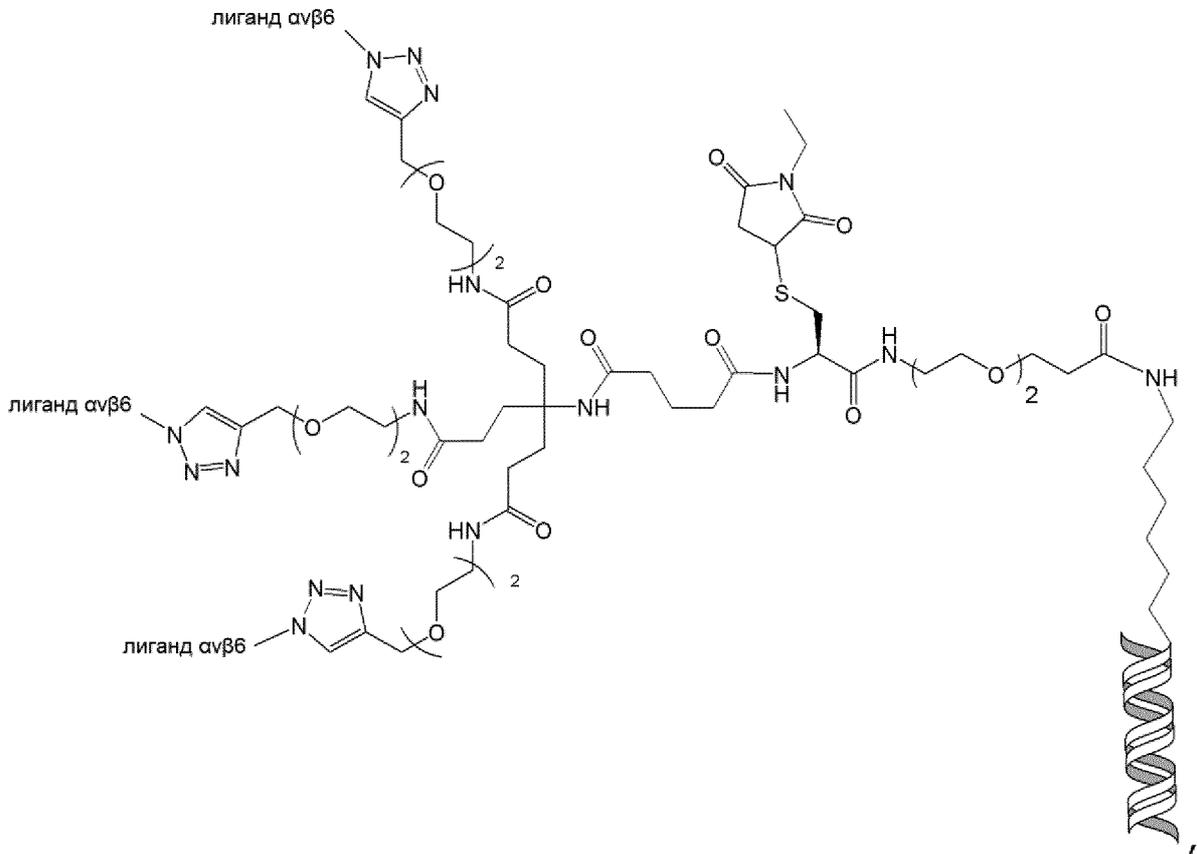
Таблица 3

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 5

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	Однократная ОФ доза в день 1
2	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD04835), конъюгированного с тридентатным лигандом интегринa $\alpha\beta6$ Структуры 2, в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
3	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD04835), конъюгированного с тридентатным лигандом интегринa $\alpha\beta6$ Структуры 5.1, в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
4	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD04835), конъюгированного с тридентатным лигандом интегринa $\alpha\beta6$ Структуры 5.2, в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
5	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD04835), конъюгированного с тридентатным лигандом интегринa $\alpha\beta6$ Структуры 6, в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
6	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD04835), конъюгированного с тридентатным лигандом интегринa $\alpha\beta6$ Структуры 6.1, в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
7	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD04835), конъюгированного с тридентатным лигандом интегринa $\alpha\beta6$ Структуры 6.2, в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1

[0536] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека, и для облегчения конъюгации с лигандами интегринa $\alpha\beta6$ они включали функциональные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Соответствующие лиганды интегринa $\alpha\beta6$ затем конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас, который включал цистеин-п-этилмалеимидный линкер. Животным каждой из групп 2-7 вводили конъюгаты

"средство РНКи-лиганд интегрина $\alpha\nu\beta 6$ " по Примеру 5, содержащие также структуры каркаса/линкера. Таким образом, единственным переменным фактором для Групп 2-7 являлся конкретный лиганд интегрина $\alpha\nu\beta 6$ (каждый из которых представлен в тридентатной форме). Конъюгаты "средство РНКи-лиганд интегрина $\alpha\nu\beta 6$ " по Примеру 5 имели следующую структуру.



где  обозначает средство РНКи, а "лиганд $\alpha\nu\beta 6$ " представляет собой соответствующую лигандную структуру. Структура средства РНКи, используемого в этом примере (AD04835), представлена выше в Примере 4.

[0537] Каждая группа включала пять (5) крыс ($n=5$). Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали в виде доли по отношению к контрольной группе, получавшей носитель (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 4

Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 5

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,195	0,243
Группа 2 (РНКи-агент-Cys-(n-этил-Mal)-PEG ₂ -тридентатный лиганд интегринa αvβ6, Структура 2)	0,543	0,114	0,145
Группа 3 (средство РНКи-Cys-(n-этил-Mal)-PEG ₂ -тридентатный лиганд интегринa αvβ6, Структура 5.1)	0,541	0,138	0,185
Группа 4 (средство РНКи-Cys-(n-этил-Mal)-PEG ₂ -тридентатный лиганд интегринa αvβ6, Структура 5.2)	0,52 2	0,151	0,212
Группа 5 (средство РНКи-Cys-(n-этил-Mal)-PEG ₂ -тридентатный лиганд интегринa αvβ6, Структура 6)	0,399	0,108	0,148
Группа 6 (средство РНКи-Cys-(n-этил-Mal)-PEG ₂ -тридентатный лиганд интегринa αvβ6, Структура 6.1)	0,351	0,100	0,139
Группа 7 (средство РНКи-Cys-(n-этил-Mal)-PEG ₂ -тридентатный лиганд интегринa αvβ6, Структура 6.2)	0,568	0,061	0,068

[0538] Как показано выше в Таблице 4, каждое средство РНКи к альфа-ENaC показало снижение экспрессии мРНК у крыс по сравнению с контролем. Например, группа 6 (AD04835-тридентатная Структура 6.1) показала снижение средней экспрессии мРНК гENaC приблизительно 65% (0,351) по сравнению с контролем; группа 2 (AD04835-тридентатная Структура 2) показала снижение средней экспрессии мРНК гENaC приблизительно 46% (0,543 по сравнению с контролем; и группа 4 (AD04835-тридентатная Структура 5.2) показала снижение средней экспрессии мРНК гENaC приблизительно 48% (0,522) по сравнению с контролем.

Пример 6

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегринa αvβ6, в условиях in vivo

[0539] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного ведения в день 1 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 5

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 6

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	Однократная ОФ доза в день 1
2	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD05347), конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 2 с глутаровым линкером (т.е. имеющего структуру, представленную в структуре 300a), в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
3	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD05453), конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 2 с глутаровым линкером (т.е. имеющего структуру, представленную в структуре 300a), в изотоническом солевом растворе.	Сингл ЭП доза в день 1
4	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD05453), конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 6 с глутаровым линкером (т.е. имеющего структуру, представленную в структуре 300a), в виде изотонического солевого раствора.	Однократная ОФ доза в день 1
5	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD05453), конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 6.1 с глутаровым линкером (т.е. имеющего структуру, представленную в структуре 300a), в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
6	0,5 мг/кг двухцепочечного средства РНКи к альфа-ENaC (AD05453), конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 7 с глутаровым линкером (т.е. имеющего структуру, представленную в Структуре 300a), в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1

[0540] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека, и они включали функциональные группы (NH₂-C₆) на 5'-конце смысловой цепи для облегчения конъюгации с лигандами интегрина αvβ6. Средства РНКи, используемые в данном Примере, содержали модифицированные нуклеотиды и более чем одну связь, которая не являлась нефосфодиэфирной, и они включали следующие нуклеотидные последовательности:

AD05347:

Последовательность смысловой цепи (5' → 3'):

(NH₂-C₆)cscugugcaAfCfCfagaacaauas(invAb) (SEQ ID NO:3)

Последовательность смысловой цепи (5' → 3'):

cPrpusAfsusUfuGfuUfcUfgGfuUfgCfaCfaGfsc (SEQ ID NO:2), и

AD05453:

Последовательность смысловой цепи (5' → 3'):

(NH₂-C₆)cscugugcaAfCfCfagaacaauas(invAb) (SEQ ID NO:3)

Последовательность антисмысловой цепи (5' → 3'):

usAfsusUfuGfuUfcUfgGfuUfgCfaCfaGfsg (SEQ ID NO:4),

где

(invAb) представляют собой инвертированный (3'-3'-связанный) дезоксирибонуклеотид с удаленными основаниями;

s представляет собой фосфортиоатную связь;

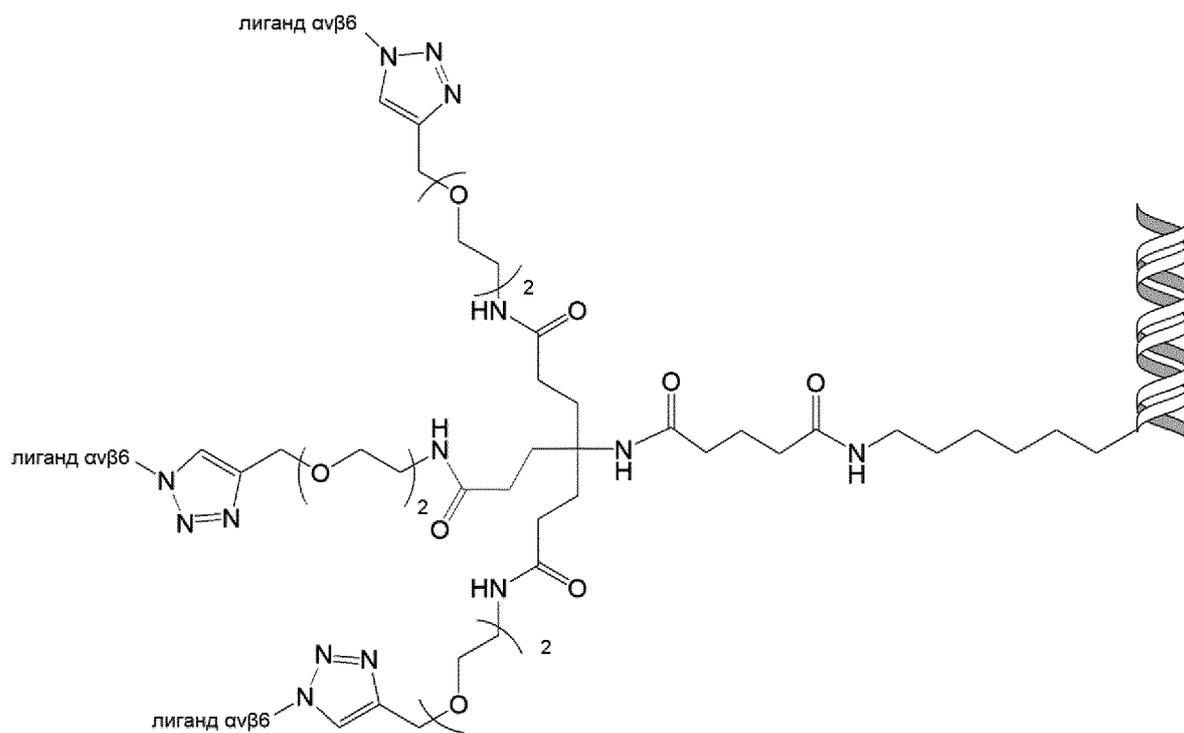
a, c, g и u представляют собой соответственно 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин или уридин;

Af, Cf, Gf и Uf представляют собой соответственно 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин или уридин;

cPrpu представляет собой 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин (см. например, Таблицу А); и

(NH₂-C₆) представляет собой C₆-концевой амин, облегчающий целенаправленное конъюгирование лиганда, описанного здесь (см., например, Таблицу А).

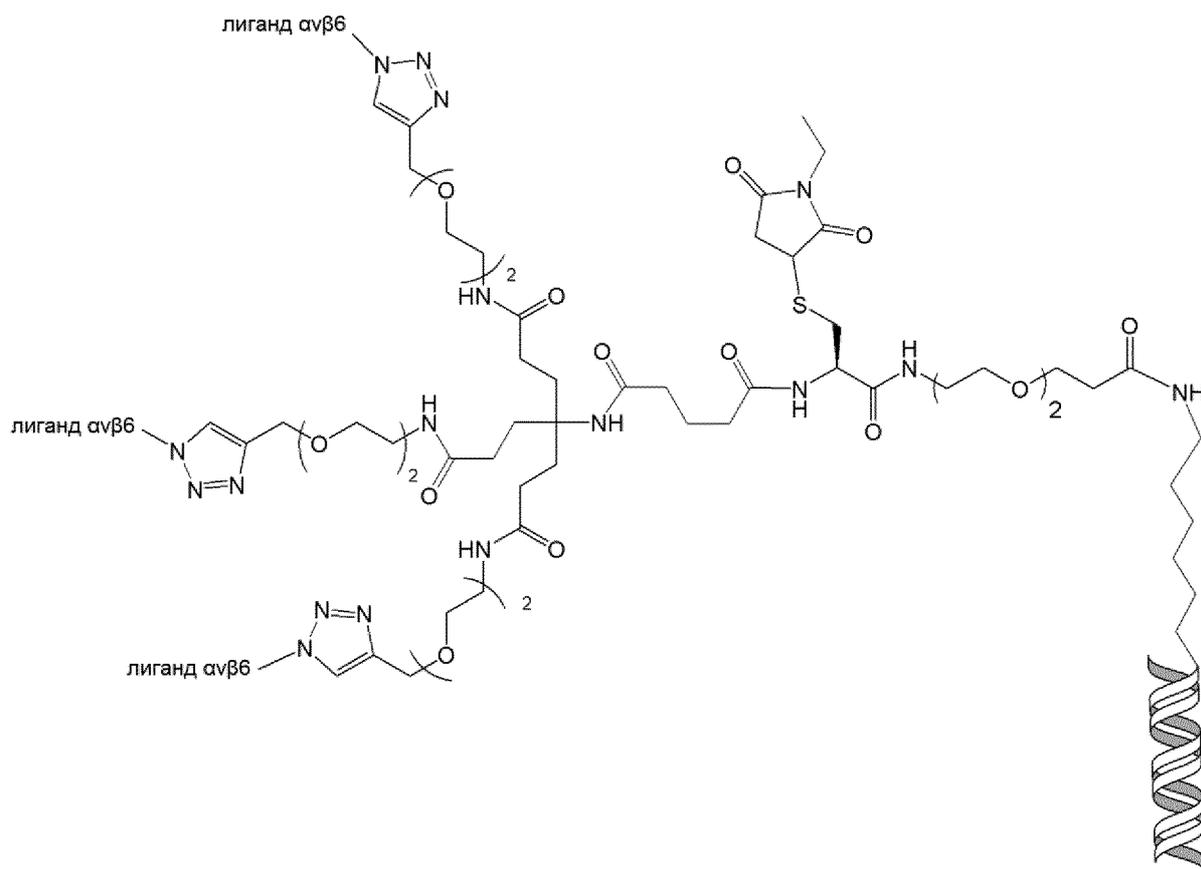
[0541] Для Групп 2,3,4, 5 и 6 соответствующие лиганды интегрина αvβ6 конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер (т.е. посредством добавления глутаровой кислоты), как показано на Структуре 300а.



(Структура 300a),

где  обозначает средство РНКи, а "лиганд $\alpha\beta6$ " представляет собой соответствующую лигандную структуру.

[0542] Для Групп 7 и 8 соответствующие лиганды интегрин $\alpha\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, как показано на Структуре 330а.



(Структура 330a),

где  обозначает средство РНКи, а "лиганд $\alpha v \beta 6$ " представляет собой соответствующую лигандную структуру.

[0543] Препараты вводили четырем (4) крысам групп 1,3,4, 6 и 7 ($n=4$); пяти (5) крысам групп 5 и 8 ($n=5$); и трем (3) крысам группа 2 ($n=3$). Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 6

Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC в день умерщвления (день 9) в

Примере 6

Группа	Количество животных (N =)	Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)

Группа 1 (изотонический солевой раствор)	4	1,000	0,137	0,159
Группа 2 (0,5 мг/кг AD05347-глутарин- тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, Структура 2)	3	0,486	0,090	0,110
Группа 3 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин- тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, Структура 2)	4	0,615	0,066	0,074
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин- тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, Структура 6)	4	0,512	0,119	0,156
Группа 5 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин- тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, Структура 6.1)	5	0,494	0,101	0,127
Группа 6 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин- тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, Структура 7)	4	0,743	0,104	0,121

[0544] Как показано в приведенной выше Таблице 6, каждое средство РНКи к альфа-ENaC показало у крыс снижение экспрессии мРНК по сравнению с контролем. Например, группа 5 (AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ Структуры 6.1) показала среднее снижение экспрессии мРНК гENaC приблизительно 51% (0,494) по сравнению с контролем, и группа 3 (AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ Структуры 2) показала среднее снижение экспрессии мРНК гENaC приблизительно 38% (0,615) по сравнению с контролем. Кроме того, группа 5 (которая получала лиганд

интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 6.1) показала лучшие результаты по сравнению с группой 6 (которая получала лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 7), что свидетельствует о хиральности (s), как следует из Структуры 6.1, по сравнению с (r), как следует из Структуры 7 для лигандов интегрин $\alpha\upsilon\beta6$.

Пример 7

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, в условиях *in vivo*

[0545] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в день 1 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 7

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 7

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	Однократная ОФ доза в день 1
2	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD05347, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 2 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом физиологическом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
3	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD05347, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 6.1 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом физиологическом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
4	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 2 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом физиологическом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1

5	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрина $\alpha\beta6$ Структуры 9 с глутаровым линкером (т.е. имеющего структуру, представленную в Структуре 300a), в изотоническом физиологическом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
6	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрина $\alpha\beta6$ Структуры 6 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом физиологическом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
7	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрина $\alpha\beta6$ Структуры 8 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
8	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрина $\alpha\beta6$ Структуры 6.1 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом физиологическом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
9	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрина $\alpha\beta6$ Структуры 10 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
10	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрина $\alpha\beta6$ Структуры 11 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом физиологическом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1

11	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC (AD05453), конъюгированного с тридентатным лигандом на основе пептида, нацеленного на эпителиальные клетки, через аминную (NH ₂ -C ₆) связь на терминальном 5'-конце смысловой цепи, дополнительно включающего фрагмент PEG 20 килодальтон (кДа), в изотоническом солевом растворе.	Однократная ОФ доза в день 1
-----------	---	------------------------------

[0546] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека, и для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ они включали функциональные группы (NH₂-C₆) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средств РНКи, используемых в этом Примере, представлены в Примере 6 выше. Для групп 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10 соответствующие лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано на Структуре 300a в Примере 6, выше. Для группы 11 лиганды к эпителиальным клеткам включали пептиды RGD-миметики, которые, как известно, связываются с интегрином $\alpha\upsilon\beta 6$, и они включали фрагмент PEG 20 кДа в качестве фармакокинетического (ФК) модулятора.

[0547] Препараты вводили четверем (4) крысам в каждой группе (n=4). Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 8

Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 7

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,162	0,193
Группа 2 (0,5 мг/кг AD05347-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$, Структура 2)	0,469	0,101	0,129

Группа 3 (0,5 мг/кг AD05347-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,358	0,078	0,100
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 2)	0,562	0,086	0,102
Группа 5 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 9)	0,620	0,168	0,230
Группа 6 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6)	0,559	0,099	0,120
Группа 7 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 8)	0,691	0,072	0,081
Группа 8 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,454	0,055	0,063
Группа 9 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 10)	0,454	0,080	0,097
Группа 10 (0,5 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 11)	0,577	0,113	0,140
Группа 11 (0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд на основе пептида, нацеленного на эпителиальные клетки, PEG 20 кДа)	0,558	0,057	0,064

[0548] Как показано в приведенной выше Таблице 8, каждое средство РНКи к альфа-ENaC показало у крыс снижение экспрессии мРНК по сравнению с контролем. Например, группа 3 (AD05347-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1) показала среднее снижение экспрессии мРНК гENaC приблизительно 64% (0,358) по сравнению с контролем, а группа 8 (AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1) показала среднее снижение экспрессии мРНК гENaC приблизительно 55% (0,454) по сравнению с контролем. Кроме того, все лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ в

Примере 7 (т.е. Структура 2, Структура 6, Структура 6.1, Структура 8, Структура 9, Структура 10 и Структура 11) показали уровни нокдауна, сравнимые с тридентатным лигандом на основе пептида, нацеленного на эпителиальные клетки, который дополнительно содержал фрагмент PEG 20 кДа для усиления фармакокинетического эффекта, который вводили животным в группе 11.

Пример 8

Интратрахеальное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, в условиях *in vivo*

[0549] Самцам крыс Sprague-Dawley в день 1 и в день 2 исследования через микрораспылительное устройство (Penn Century, Philadelphia, PA) интратрахеально (ИТ) вводили дозу объемом 200 мкл, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 9

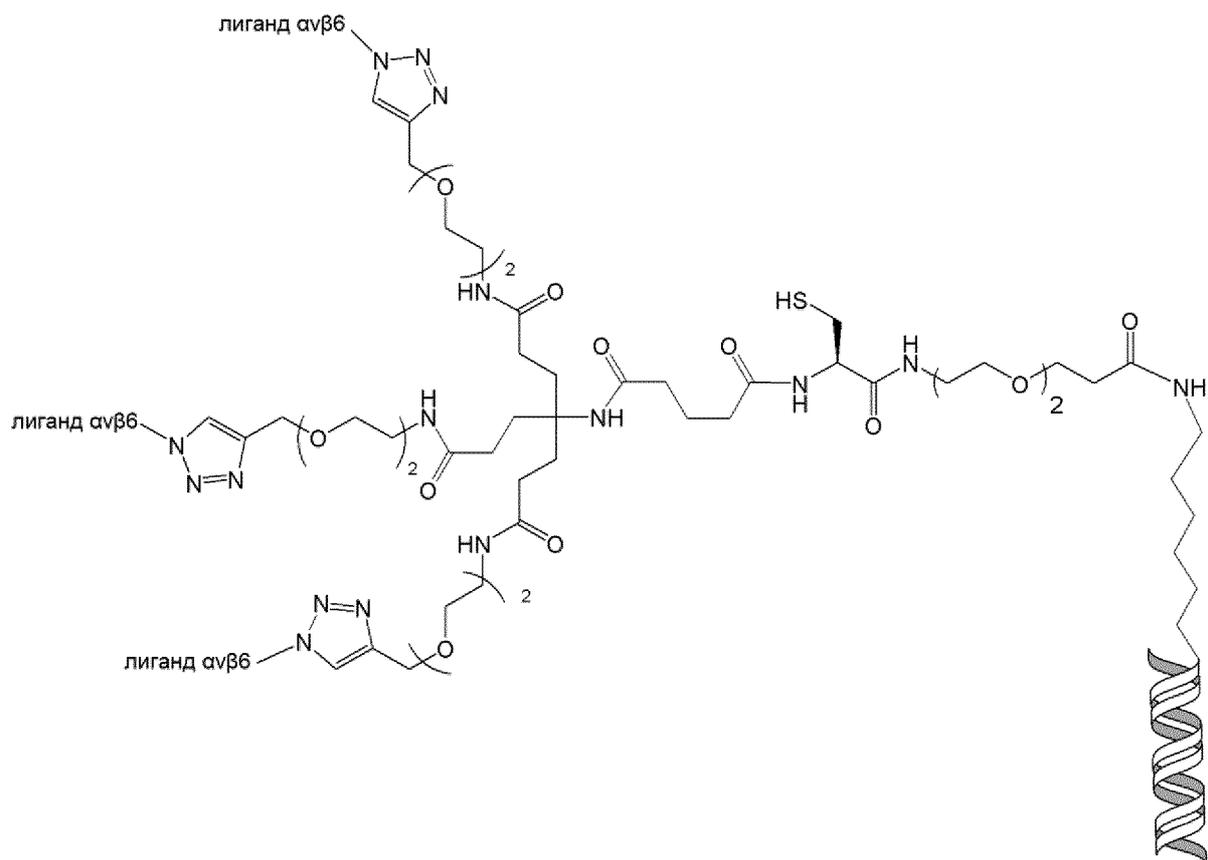
Дозы, вводимые группам крыс в Примере 8

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	ИТ доза в день 1 и день 2
2	1,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с монодентатным лигандом на основе пептида, нацеленного на эпителиальные клетки, через аминную ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) связь на 5'-конце смысловой цепи, дополнительно включающего фрагмент PEG 20 килодальтон (кДа), цистеиновый линкер и пептидный линкер FCFP, в изотоническом солевом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2
3	0,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрина $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 1, включающего цистеиновый линкер (т.е. имеющего Структуру 331a), в изотоническом солевом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2
4	1,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрина $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 1, включающего цистеиновый линкер (т.е. имеющего Структуру 331a), в изотоническом физиологическом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2

5	1,5 мг/кг альфа-ENaC-РНК-агента AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрина $\alpha\beta6$ Структуры 1, включающего цистеин-п-этилмалеимидный линкер (т.е. имеющего Структуру 330a), в изотоническом солевом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2
6	1,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом на основе пептида, нацеленного на эпителиальные клетки, через аминную ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) связь на 5'-конце смысловой цепи, дополнительно включающего фрагмент PEG 20 кДа и цистеиновый линкер, в изотоническом солевом растворе	ИТ доза в день 1 и день 2
7	1,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрина $\alpha\beta6$ Структуры 1 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом физиологическом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2

[0550] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека, и для облегчения конъюгации с лигандами интегрина $\alpha\beta6$ они включали функциональные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средств РНКи, используемые в этом Примере, показаны выше в Примере 4.

[0551] Для Групп 3 и 4 соответствующие лиганды интегрина $\alpha\beta6$ Структуры 1 конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас и линкерную структуру, содержащую цистеиновый линкер, как показано ниже на Структуре 331a.



(Структура 331a),

где ¹ обозначает средство РНКи, а "лиганд $\alpha v \beta 6$ " представляет собой соответствующую лигандную структуру.

[0552] Для группы 5 лиганды интегрин $\alpha v \beta 6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас и линкерную структуру, которая включала цистеин-п-этилмалеимидный линкер, как показано на Структуре 330a Примера 6, выше. Для группы 7 лиганды интегрин $\alpha v \beta 6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас и линкерную структуру, которая включала линкер из глутаровой кислоты, как показано на Структуре Примера 6, выше. Для Групп 2 и 6 нацеливающие лиганды включали пептиды RGD-миметики и фрагмент PEG 20 кДа в качестве фармакокинетического (ФК) модулятора.

[0553] Для каждой из групп 2-7 использовали одинаковые средства РНКи к альфа-ENaC.

[0554] Препараты вводили пяти (5) крысам групп 1, 3, 4, 5 и 6 (n=5) и четырем (4) крысам группы 7 (n=4). Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 10

Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC в день умерщвления (день 8) в Примере 8

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,143	0,167
Группа 2 (1,5 мг/кг AD04835-Cys-FCFP-монодентатный лиганд на основе пептида-PEG 20 кДа)	0,354	0,078	0,100
Группа 3 (0,5 мг/кг AD04835-Cys-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ Структуры 1)	0,695	0,215	0,312
Группа 4 (1,5 мг/кг AD04835-Cys-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ Структуры 1)	0,438	0,077	0,093
Группа 5 (1,5 мг/кг AD04835-Cys-(n-этил-Mal)-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ Структуры 1)	0,349	0,083	0,108
Группа 6 (1,5 мг/кг AD04835-Cys-PEG 20 кДа-тридентатный лиганд на основе пептида)	0,643	0,070	0,079
Группа 7 (1,5 мг/кг AD04835-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ Структуры 1)	0,648	0,184	0,256

[0555] Как показано в приведенной выше Таблице 10, каждое средство РНКи к альфа-ENaC показало снижение экспрессии мРНК у крыс по сравнению с контролем. Например, группа 5 (AD04835-Cys-(n-этил-Mal)-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ Структуры 1) показала среднее снижение экспрессии мРНК гENaC приблизительно 65% (0,358) по сравнению с контролем, что сравнимо с уровнем нокдауна для группы 2, где использовали лиганд на основе пептида, нацеленного на эпителиальные клетки, и фрагмент PEG 20 кДа в качестве фармакокинетического модулятора.

Пример 9

Интра трахеальное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$, в условиях *in vivo*

[0556] Самцам крыс Sprague-Dawley в день 1 и в день 2 исследования, через микрораспылительное устройство (Penn Century, Philadelphia, PA) интратрахеально (ИТ) вводили дозу объемом 200 мкл, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 11

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 9

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	ИТ доза в день 1 и день 2
2	1,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 1 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом физиологическом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2
3	1,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 2 с глутаровым линкером (т.е. имеющего Структуру 300a), в изотоническом физиологическом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2
6	1,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\beta6$ Структуры 2, включающего цистеиновый линкер (т.е. имеющего Структуру 331a), в изотоническом физиологическом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2

[0557] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека, и для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\beta6$ они включали функциональные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средств РНКи, используемых в этом Примере, показаны выше в Примере 4. Для Групп 2 и 3 соответствующие интегриновые лиганды $\alpha\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300a Примера 6. Для группы 6 соответствующий лиганд интегрин $\alpha\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатную каркасную/линкерную структуру, которая включала цистеиновый линкер, как показано выше на Структуре 331a Примера 8.

[0558] Для каждой из групп 2-8 использовали одинаковые средства РНКи к альфа-

ENaC.

Препараты вводили пяти (5) крысам группы 1 (n=5) и четырем (4) крысам в каждой из групп 2 и 3 (n=4). Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 12

Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 9.

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,165	0,197
Группа 2 (1,5 мг/кг AD04835-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$, Структура 1)	0,545	0,121	0,156
Группа 3 (1,5 мг/кг AD04835-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$, Структура 2)	0,483	0,038	0,041
Группа 6 (1,5 мг/кг AD04835-Cys-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$ Структура 2)	0,237	0,125	0,267

[0559] Как показано в приведенной выше Таблице 12, каждое средство РНКи к альфа-ENaC показало снижение экспрессии мРНК у крыс по сравнению с контролем. Например, группа 3 (средство РНКи-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$, Структура 2) показала среднее снижение экспрессии мРНК гENaC приблизительно 52% (0,483) по сравнению с контролем, и группа 6 (средство РНКи-Cys-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$ Структура 2) показала среднее снижение экспрессии мРНК гENaC приблизительно 76% (0,237) по сравнению с контролем.

Пример 10

Интра трахеальное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрин $\alpha\beta6$, в условиях *in vivo*

[0560] Самцам крыс Sprague-Dawley в день 1 и в день 2 исследования, через микрораспылительное устройство (Penn Century, Philadelphia, PA) интра трахеально (ИТ)

вводили дозу объемом 200 мкл, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

[0561] **Таблица 13**

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 10.

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	ИТ доза в день 1 и день 2
2	1,0 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с монодентатным лигандом на основе пептида, нацеленного на эпителиальные клетки, через аминную (NH ₂ -C ₆) связь на 5'-конце смысловой цепи, которое дополнительно включает фрагмент PEG 20 кДа, цистеиновый линкер и пептидный линкер FCFP, в изотоническом солевом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2
3	1,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин αvβ6 Структуры 1, включающего цистеиновый линкер (т.е. имеющего Структуру 331a), в изотоническом физиологическом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2
4	1,5 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин αvβ6 Структуры 2, включающего цистеиновый линкер (т.е. имеющего Структуру 331a), в изотоническом физиологическом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2
5	1,0 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин αvβ6 Структуры 2, включающего цистеиновый линкер (т.е. имеющего Структуру 331a), в изотоническом солевом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2
6	0,50 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин αvβ6 Структуры 2, включающего цистеиновый линкер (т.е. имеющего Структуру 331a), в изотоническом солевом растворе.	ИТ доза в день 1 и день 2

7	0,10 мг/кг средства РНКи к альфа-ENaC AD04835, конъюгированного с тридентатным лигандом интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ Структуры 2, включающего цистеиновый линкер (т.е. имеющего Структуру 331a), в изотоническом солевом растворе.	ИТ доза на день 1 и день 2
----------	---	----------------------------

[0562] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека, и для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ они включали функциональные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средств РНКи, используемых в этом Примере, показаны выше в Примере 4. Для групп 3, 4, 5 и 6 соответствующие лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатную каркасную/линкерную структуру, которая включала цистеиновый линкер, как показано выше на Структуре 331a в Примере 8. Для группы 2 нацеливающие лиганды включали пептиды RGD-миметики и фрагмент PEG 20 кДа в качестве фармакокинетического (ФК) модулятора, и пептидный линкер FCFP.

[0563] Для каждой из групп 2-7 использовали одинаковые средства РНКи к альфа-ENaC.

[0564] Препараты вводили пяти (5) крысам в каждой группе (n=5). Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 14

Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC в день умерщвления (день 8) в Примере 10

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,164	0,196
Группа 2 (1,0 мг/кг AD04835-Cys-PEG20кДа-FCFP-PEG ₂₀ -лиганд на основе пептида, нацеленного на эпителиальные клетки)	0,531	0,132	0,176
Группа 3 (1,5 мг/кг AD04835-Cys-	0,451	0,156	0,238

тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta_6$, Структура 1)			
Группа 4 (1,5 мг/кг AD04835-Cys-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta_6$, Структура 2)	0,418	0,077	0,094
Группа 5 (1,0 мг/кг AD04835-Cys-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta_6$, Структура 2)	0,436	0,043	0,048
Группа 6 (0,5 мг/кг AD04835-Cys-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta_6$, Структура 2)	0,537	0,049	0,054
Группа 7 (0,1 мг/кг AD04835-Cys-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta_6$, Структура 2)	0,616	0,069	0,078

Как показано в приведенной выше Таблице 14, каждое средство РНКи к альфа-ENaC показало снижение экспрессии мРНК у крыс по сравнению с контролем. В частности, группа 5 (1,0 мг/кг AD04835-Cys-тридентатный лиганда интегрин $\alpha\upsilon\beta_6$, Структура 2) показала значительный уровень ингибирования экспрессии альфа-ENaC по сравнению с группой 2 (1,0 мг/кг AD04835-Cys-PEG20кДа-FCFP-PEG₂₀-лиганд на основе пептида, нацеленного на эпителиальные клетки), несмотря на то, что используемое средство не включало большой фрагмент PEG 20 кДа в качестве фармакокинетического модулятора (группа 5=нокдаун приблизительно 56% (0,436); группа 2=нокдаун приблизительно 47% (0,531)).

Пример 11

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta_6$, в условиях *in vivo*

[0565] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в дни 1, 2 и 3 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 15

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 11

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	ОФ дозу вводили в каждый из дней 1, 2 и 3
2	0,01 мг/кг AD05453 ("голое средство РНКи"), в изотоническом солевом растворе.	ОФ дозу вводили в каждый из дней 1, 2 и 3

3	0,05 мг/кг AD05453 ("голое средство РНКи"), в изотоническом солевом растворе	ОФ дозу вводили в каждый из дней 1, 2 и 3
4	0,15 мг/кг AD05453 ("голое средство РНКи"), в изотоническом солевом растворе	ОФ дозу вводили в каждый из дней 1, 2 и 3
5	0,50 мг/кг AD05453 ("голое средство РНКи"), в изотоническом солевом растворе	ОФ дозу вводили в каждый из дней 1, 2 и 3
6	0,01 мг/кг AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегринина $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1, в изотоническом физиологическом растворе.	ОФ дозу вводили в каждый из дней 1, 2 и 3
7	0,05 мг/кг AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегринина $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1, в изотоническом физиологическом растворе.	ОФ дозу вводили в каждый из дней 1, 2 и 3
8	0,15 мг/кг AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегринина $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1, в изотоническом физиологическом растворе.	ОФ дозу вводили в каждый из дней 1, 2 и 3
9	0,50 мг/кг AD05453, конъюгированного с тридентатным лигандом интегринина $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1, в изотоническом физиологическом растворе.	ОФ дозу вводили в каждый из дней 1, 2 и 3

[0566] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека, и для облегчения конъюгации с лигандами интегринина $\alpha\upsilon\beta6$ они включали функциональные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средств РНКи, используемых в этом Примере, представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегринина $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300a в Примере 6.

[0567] Препараты вводили пяти (5) крысам групп 1, 3, 4, 5, 8 и 9 ($n=5$) и шести (6) крысам групп 2, 6 и 7 ($n=6$). Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 16

Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 11.

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,199	0,249
Группа 2 (0,01 мг/кг AD05347 ("голое средство РНКи"))	1,016	0,219	0,279
Группа 3 (0,05 мг/кг AD05347 ("голое средство РНКи"))	0,881	0,157	0,192
Группа 4 (0,15 мг/кг AD05347 ("голое средство РНКи"))	0,638	0,179	0,250
Группа 5 (0,50 мг/кг AD05347 ("голое средство РНКи"))	0,354	0,076	0,097
Группа 6 (0,01 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,646	0,058	0,063
Группа 7 (0,05 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,432	0,044	0,049
Группа 8 (0,15 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,319	0,034	0,038
Группа 9 (0,50 мг/кг AD05453-глутарин-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,254	0,043	0,052

[0568] Как показано в приведенной выше Таблице 16, каждое средство РНКи к альфа-ENaC, конъюгированное с лигандом интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, имеющим Структуру 6.1 (в тридентатной форме), показало снижение экспрессии мРНК у крыс по сравнению с контролем. Кроме того, для каждого уровня дозирования средств РНКи к альфа-ENaC, конъюгированных с лигандом интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, имеющим Структуру 6.1, полученные результаты превосходят результаты для "голых" средств РНКи к альфа-ENaC (это видно при сравнении групп 2 и 6; групп 3 и 7; групп 4 и 8; и групп 5 и 9).

Пример 12**Дополнительная активность связывания интегрина $\alpha\nu\beta6$**

[0569] Как показано

Для лигандов интегрина $\alpha\nu\beta6$ Структур 2, 6.1, 7 и 23, используемых в некоторых примерах, были получены дополнительные данные по связыванию с интегрином $\alpha\nu\beta6$. В приведенной ниже Таблице 17 представлены данные по активности связывания в виде значений IC50.

Таблица 17

Активность связывания IC50

Группа	IC50 (нМ) $\alpha\nu\beta6$
Структура 2	205,4
Структура 6.1	1,6
Структура 7	381,5
Структура 23	759,7

[0570] Величины IC50 для азид-функционализированных структур (т.е. Структур 2b и 6.b, 7b и 23b) определяли в условиях, известных и обычно используемых в данной области. Как показано в Таблице 17, Структура 6.1 показала очень высокую активность в отношении связывания с интегрином $\alpha\nu\beta6$ (IC50=1,6 нМ).

Пример 13

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ЕNaС, конъюгированных с лигандами интегрина $\alpha\nu\beta6$, в условиях *in vivo*

[0571] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в день 1 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 18

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 13.

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	Однократная ОФ доза в день 1
5	(0,5 мг/кг AD05347, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 1)	Однократная ОФ доза в день 1
6	(0,5 мг/кг AD05347, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 2)	Однократная ОФ доза в день 1
7	(0,5 мг/кг AD05347 тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 5)	Однократная ОФ доза в день 1

[0572] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные

последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека, включающие дуплекс AD05347, которые, для облегчения конъюгации с лигандами интегрина $\alpha\beta6$ включали функциональные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средства РНКи AD05347 описаны выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегрина $\alpha\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300a в Примере 6.

[0573] Препараты вводили пяти (5) крысам в каждой группе (n=5). Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 19

Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 13.

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,044	0,046
Группа 5 (0,5 мг/кг AD05347, тридентатный лиганд интегрина $\alpha\beta6$, Структура 1)	0,449	0,088	0,109
Группа 6 (0,5 мг/кг AD05347 тридентатный лиганд интегрина $\alpha\beta6$, Структура 2)	0,487	0,049	0,055
Группа 7 (0,5 мг/кг AD05347 тридентатный лиганд интегрина $\alpha\beta6$, Структура 5)	0,715	0,078	0,087

Пример 14

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрина $\alpha\beta6$, в условиях *in vivo*

[0574] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного ведения в день 1 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200

микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 20

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 14

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	Однократная ОФ доза в день 1
2	(0,5 мг/кг AD05347-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 2)	Однократная ОФ доза в день 1
3	(0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	Однократная ОФ доза в день 1
4	(0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.3)	Однократная ОФ доза в день 1
5	(0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.4)	Однократная ОФ доза в день 1

[0575] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека, включающие дуплекс AD05347 и AD05453. Для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ они включали функциональные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средств РНКи, используемых в этом Примере, представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300a Примера 6.

[0576] Препараты вводили четырем (4) крысам каждой группы ($n=4$). Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 21

Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 14

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,164	0,197

Группа 2 (0,5 мг/кг AD05347-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 2)	0,418	0,051	0,058
Группа 3 (0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,472	0,071	0,084
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.3)	0,534	0,059	0,066
Группа 5 (0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.4)	0,620	0,105	0,127

Пример 15

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, в условиях *in vivo*

[0577] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в день 1 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 22

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 15

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	Однократная ОФ доза в день 1
4	(0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	Однократная ОФ доза в день 1
9	(0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 2)	Однократная ОФ доза в день 1
11	(0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 12)	Однократная ОФ доза в день 1
12	(0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 13)	Однократная ОФ доза в день 1

[0578] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека, включающие функциональные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$. Нуклеотидные последовательности для средства

РНКи AD05453 представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегрина $\alpha\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300a Примера 6.

[0579] Препараты вводили четырем (4) крысам в каждой из групп 1-9 и 12 (n=4) и трем (3) крысам в группах 10 и 11 (n=3). Крыс умерщвляли на 7-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 23

Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC в день умерщвления (день 7) в Примере 15

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,058	0,062
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрина $\alpha\beta6$, Структура 6.1)	0,606	0,217	0,338
Группа 9 (0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрина $\alpha\beta6$, Структура 2)	0,705	0,136	0,169
Группа 11 (0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрина $\alpha\beta6$, Структура 12)	0,703	0,093	0,108
Группа 12 (0,5 мг/кг AD05453-тридентатный лиганд интегрина $\alpha\beta6$, Структура 13)	0,711	0,086	0,098

Пример 16

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрина $\alpha\beta6$, в условиях *in vivo*

[0580] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в день 1 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200

микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 24

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 16

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	Однократная ОФ доза в день 1
2	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 6.1)	Однократная ОФ доза в день 1
3	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 14)	Однократная ОФ доза в день 1
4	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 15)	Однократная ОФ доза в день 1

[0581] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека. Для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\nu\beta6$ они включали функциональные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средства РНКи AD05453 представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегрин $\alpha\nu\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300a Примера 6.

[0582] Препараты вводили четырем (4) крысам в каждой группе. Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 25

Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 16

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,084	0,092
Группа 2 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$,	0,597	0,163	0,224

Структура 6.1)			
Группа 3 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 14)	0,674	0,115	0,139
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 15)	0,533	0,047	0,052

Пример 17

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, в условиях *in vivo*

[0583] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в день 1 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 26

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 17

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	Однократная ОФ доза в день 1
2	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	Однократная ОФ доза в день 1
3	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 16)	Однократная ОФ доза в день 1
4	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 11)	Однократная ОФ доза в день 1

[0584] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека. Для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ они включали функциональные реакционноспособные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средства РНКи AD05453 представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300а Примера 6.

[0585] Препараты вводили пяти (5) крысам в каждой группе, за исключением группы 4, где дозу препарата вводили четверем (4) крысам. Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них

выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 27

Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 17

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,195	0,242
Группа 2 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,489	0,168	0,257
Группа 3 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 16)	0,872	0,104	0,118
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 11)	0,625	0,126	0,158

Пример 18

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, в условиях *in vivo*

[0586] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в день 1 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 28

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 18

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	Однократная ОФ доза в день 1
2	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	Однократная ОФ доза в день 1

3	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 17)	Однократная ОФ доза в день 1
4	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 15)	Однократная ОФ доза в день 1

[0587] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека. Для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ они включали функциональные реакционноспособные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средства РНКи AD05453 представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300а Примера 6.

[0588] Препараты вводили четырем (4) крысам в каждой группе. Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 29

Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 18

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,140	0,162
Группа 2 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,622	0,035	0,037
Группа 3 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 17)	0,818	0,101	0,116
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 15)	0,628	0,101	0,120

Пример 19

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрина $\alpha\upsilon\beta6$, в условиях *in vivo*

[0589] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в день 1 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 30

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 19

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	Однократная ОФ доза в день 1
2	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринa $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	Однократная ОФ доза в день 1
3	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринa $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 15)	Однократная ОФ доза в день 1
4	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринa $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 18)	Однократная ОФ доза в день 1
5	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринa $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 19)	Однократная ОФ доза в день 1
6	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринa $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 20)	Однократная ОФ доза в день 1

[0590] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека. Для облегчения конъюгации с лигандами интегринa $\alpha\upsilon\beta6$ они включали функциональные реакционноспособные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средства РНКи AD05453 представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегринa $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300а Примера 6.

[0591] Препараты вводили четверем (4) крысам в каждой группе. Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 31

Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 19

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,121	0,138
Группа 2 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,503	0,074	0,086
Группа 3 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 15)	0,700	0,079	0,089
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 18)	0,742	0,137	0,169
Группа 5 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 19)	0,837	0,186	0,239
Группа 6 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 20)	0,589	0,078	0,090

Пример 20

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегринина $\alpha\upsilon\beta6$, в условиях *in vivo*

[0592] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в дни 1 и 2 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 32

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 20

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	ОФ доза в дни 1 и 2
2	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина	ОФ доза в дни 1

	$\alpha\nu\beta 6$, Структура 6.1)	и 2
3	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$, Структура 22)	ОФ доза в дни 1 и 2
4	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$, Структура 23)	ОФ доза в дни 1 и 2
5	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$, Структура 24)	ОФ доза в дни 1 и 2
6	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$, Структура 25)	ОФ доза в дни 1 и 2
7	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$, Структура 15)	ОФ доза в дни 1 и 2

[0593] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека. Для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\nu\beta 6$ они включали функциональные реакционноспособные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средства РНКи AD05453 представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегрин $\alpha\nu\beta 6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300а Примера 6.

[0594] Препараты вводили четырем (4) крысам в каждой группе, за исключением группы 1, где дозу препарата вводили трем (3) крысам. Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 33

Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 20

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,164	0,197
Группа 2 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$,	0,400	0,057	0,066

Структура 6.1)			
Группа 3 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\nu\beta6$, Структура 22)	0,483	0,170	0,263
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\nu\beta6$, Структура 23)	0,339	0,042	0,048
Группа 5 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\nu\beta6$, Структура 24)	0,493	0,125	0,168
Группа 6 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\nu\beta6$, Структура 25)	0,416	0,089	0,113
Группа 7 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\nu\beta6$, Структура 15)	0,473	0,052	0,058

Пример 21

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегринина $\alpha\nu\beta6$, в условиях *in vivo*

[0595] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного ведения в дни 1 и 2 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 34

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 21

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	ОФ доза в дни 1 и 2
2	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\nu\beta6$, Структура 6.1)	ОФ доза в дни 1 и 2
4	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегринина $\alpha\nu\beta6$, Структура 27)	ОФ доза в дни 1 и 2

[0596] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека. Для облегчения конъюгации с лигандами интегринина $\alpha\nu\beta6$ они включали функциональные

реакционноспособные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средства РНКи AD05453 представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегрин $\alpha\beta_6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300а Примера 6.

[0597] Препараты вводили пяти (5) крысам в каждой группе, за исключением группы 2, где дозу препарата вводили шести (6) крысам. Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 35

Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 21

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК гENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,150	0,176
Группа 2 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, Структура 6.1)	0,380	0,108	0,151
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, Структура 27)	0,411	0,051	0,058

Пример 22

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрин $\alpha\beta_6$, в условиях *in vivo*

[0598] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в дни 1 и 2 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 36

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 22

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования

1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	ОФ доза в дни 1 и 2
2	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$, Структура 6.1)	ОФ доза в дни 1 и 2
3	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$, Структура 29)	ОФ доза в дни 1 и 2
4	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$, Структура 30)	ОФ доза в дни 1 и 2
5	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$, Структура 31)	ОФ доза в дни 1 и 2
6	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$, Структура 32)	ОФ доза в дни 1 и 2
7	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\beta6$, Структура 33)	ОФ доза в дни 1 и 2

[0599] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека. Для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\beta6$ они включали функциональные реакционноспособные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средства РНКи AD05453 представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегрин $\alpha\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300а Примера 6.

[0600] Препараты вводили четырем (4) крысам в каждой группе. Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 37

Средняя относительная экспрессия мРНК αENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 22

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК αENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,179	0,218

Группа 2 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 6.1)	0,511	0,132	0,178
Группа 3 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 29)	0,455	0,024	+0,025
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 30)	0,637	0,047	0,050
Группа 5 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 31)	0,505	0,079	0,093
Группа 6 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 32)	0,534	0,135	0,181
Группа 7 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 33)	0,560	0,145	0,196

Пример 23

Орофарингеальное аспирационное введение крысам средств РНКи, нацеленных на альфа-ENaC, конъюгированных с лигандами интегрин $\alpha\nu\beta6$, в условиях *in vivo*

[0601] Самцам крыс Sprague Dawley, путем орофарингеального ("ОФ") аспирационного введения в дни 1 и 2 исследования вводили, используя пипетку, дозу 200 микролитров, которая в соответствующих группах дозирования включала следующее.

Таблица 38

Дозы, вводимые группам крыс в Примере 23

Группа	Средство РНКи и доза	Режим дозирования
1	Изотонический солевой раствор (без средства РНКи)	ОФ доза в дни 1 и 2
2	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 6.1)	ОФ доза в дни 1 и 2
3	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 29)	ОФ доза в дни 1 и 2

4	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 34)	ОФ доза в дни 1 и 2
5	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 35)	ОФ доза в дни 1 и 2
6	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 36)	ОФ доза в дни 1 и 2
7	(0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 37)	ОФ доза в дни 1 и 2

[0602] Синтезировали средства РНКи, имеющие нуклеотидные последовательности, нацеленные на ген-мишень альфа-ENaC человека. Для облегчения конъюгации с лигандами интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ они включали функциональные реакционноспособные группы ($\text{NH}_2\text{-C}_6$) на 5'-конце смысловой цепи. Нуклеотидные последовательности для средства РНКи AD05453 представлены выше в Примере 6. Соответствующие лиганды интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгировали со средствами РНКи через тридентатный каркас/линкер, который включал глутаровый линкер, как показано выше на Структуре 300а Примера 6.

[0603] Препараты вводили четырем (4) крысам в каждой группе. Крыс умерщвляли на 9-й день исследования, отбирали пробы из обоих легких, пробы гомогенизировали и из них выделяли общую РНК. Экспрессию мРНК альфа-ENaC (SCNN1A) количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали по экспрессии GAPDH и выражали как часть контрольной группы (среднее геометрическое значение \pm 95% доверительный интервал).

Таблица 39

Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC в день умерщвления (день 9) в Примере 23

Группа	Средняя относительная экспрессия мРНК rENaC	Низкая (ошибка)	Высокая (ошибка)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,117	0,132
Группа 2 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 6.1)	0,368	0,079	0,100
Группа 3 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, Структура 29)	0,429	0,033	0,036

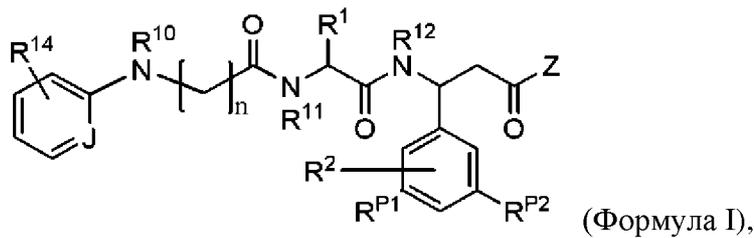
Группа 4 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 34)	0,465	0,103	0,132
Группа 5 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 35)	0,449	0,053	0,060
Группа 6 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 36)	0,501	0,043	0,047
Группа 7 (0,5 мг/кг AD05453, тридентатный лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$, Структура 37)	0,443	0,049	0,055

Другие варианты осуществления изобретения

[0604] Следует понимать, что хотя изобретение раскрыто в сочетании с его подробным описанием, это описание предназначено только для иллюстрации, и оно не ограничивает объем притязаний, который определен формулой изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации настоящего изобретения находятся в пределах объема следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Лиганд интегринина $\alpha\nu\beta 6$, включающий структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где

n представляет собой целое число от 0 до 7;

J представляет собой C-H или N;

Z представляет собой OR^{13} , $N(R^{13})_2$ или SR^{13} ;

R^1 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, OH, COOH, $CON(R^5)_2$, OR^6 , или R^1 включает транспортируемую молекулу, где каждый R^5 независимо представляет собой H или C_1-C_6 алкил, и R^6 представляет собой H или C_1-C_6 алкил;

каждый R^2 , R^{P1} и R^2 независимо представляет собой H, галоген, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен или необязательно замещенный гетероарилен, или R^2 , R^{P1} и R^2 могут включать транспортируемую молекулу;

R^{10} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

R^{11} представляет собой H или необязательно замещенный алкил, или R^{11} и R^1 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенный гетероцикл;

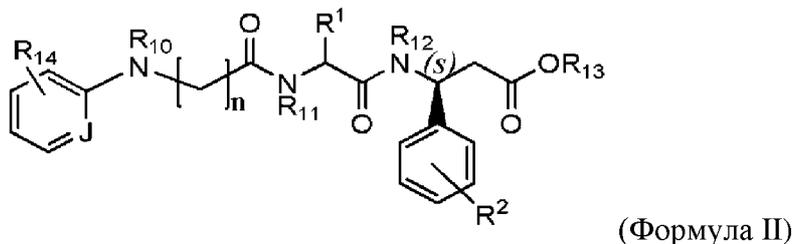
R^{12} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

каждый R^{13} независимо представляет собой H, необязательно замещенный алкил, или R^{13} представляет собой транспортируемую молекулу;

R^{14} представляет собой необязательно замещенный алкил; и

при этом по меньшей мере один из R^1 , R^2 , R^{13} , R^{P1} и R^{P2} включает транспортируемую молекулу.

2. Лиганд интегринина $\alpha\nu\beta 6$, включающий структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где

n представляет собой целое число от 0 до 7 (т.е. n равно 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7);

J представляет собой C-H или N;

R^1 представляет собой H, C_1 - C_6 алкил, $CH(R^3)(R^4)$, OH, COOH, $CH_2CH_2CH_2NH_2$, $CONHR^5$, OR^6 , или R^1 включает транспортируемую молекулу, где R^3 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил, R^4 представляет собой H, C_1 - C_6 алкил, R^5 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил, и R^6 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил;

R^2 представляет собой необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный гетероарилен, или R^2 включает транспортируемую молекулу;

R^{10} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

R^{11} представляет собой H или необязательно замещенный алкил или R^{11} и R^1 , вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенный гетероцикл;

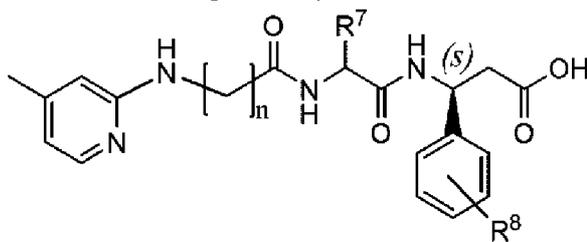
R^{12} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

R^{13} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

R^{14} представляет собой необязательно замещенный алкил;

где по меньшей мере один из R^1 или R^2 включает транспортируемую молекулу.

3. Лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ по п.1, включающий структуру:



(Формула III),

или его фармацевтически приемлемая соль,

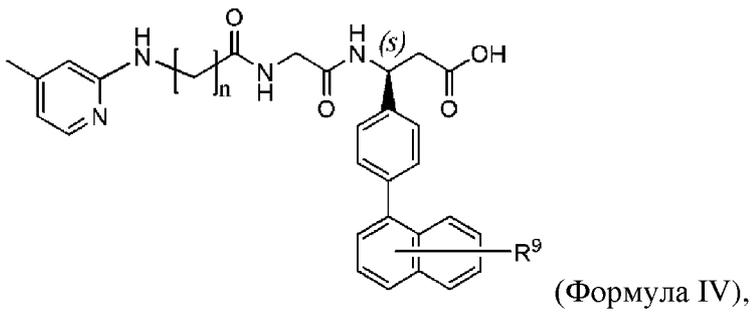
где

n представляет собой целое число от 1 до 7 (т.е. n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7);

R^7 включает одну или несколько транспортируемых молекул; и

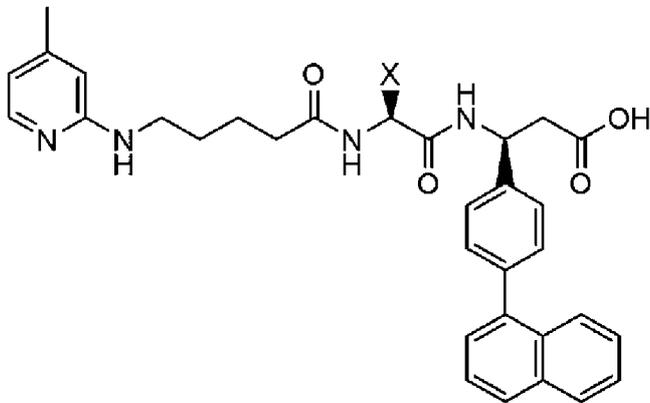
R^8 представляет собой одну или несколько необязательно замещенных двухвалентных циклических групп, содержащих 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 атомов углерода, таких как циклоалкил (например, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил или циклогептил), циклоалкенил (например, циклопентенил, циклобутенил, циклопентенил, циклогексенил или циклогептенил), арил (например, фенил), гетероарил (например, пиридил, пиримидинил, пиридазинил, пиррол, пиразол, имидазол, тиофен, бензотиофен, тиазол, бензотиазол, фуран, оксазол, изоксазол, бензофуран, индол, индазол, бензимидазол, оксадиазол, 1,2,3-триазол, 1,2,4-триазол, тетразол, хинолинил, изохинолинил или хиноксалинил), или гетероциклил (например, тетрагидрофуран, тетрагидропиран, пиперидин, пирролидин, диоксан или диоксолан).

4. Лиганд интегрин $\alpha\nu\beta6$ по п.1, включающий структуру:

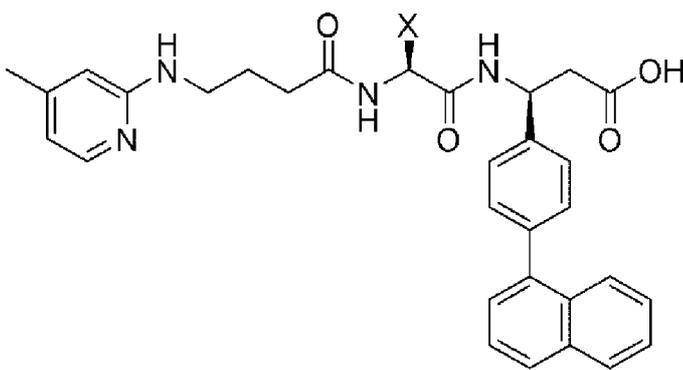


или его фармацевтически приемлемая соль, где n представляет собой целое число от 1 до 7 (т.е. n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7); и R^9 включает одну или более транспортируемых молекул.

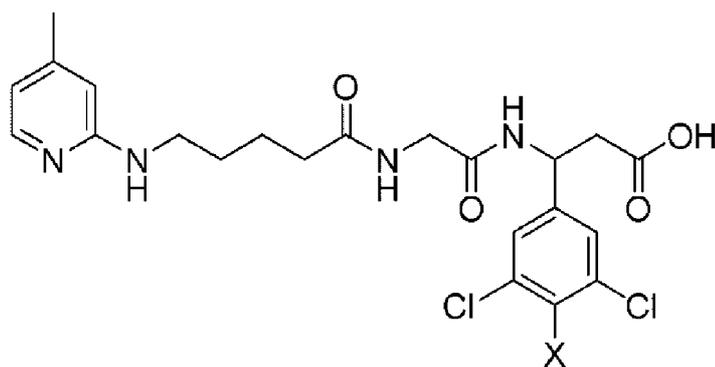
5. Лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ по любому из пп. 1-3, где n равно 3.
6. Лиганд интегрин $\alpha\beta_6$ по любому из пп 1-3, где n равно 4.
7. Лиганд интегрин $\alpha\beta_6$, выбранный из группы, состоящей из:



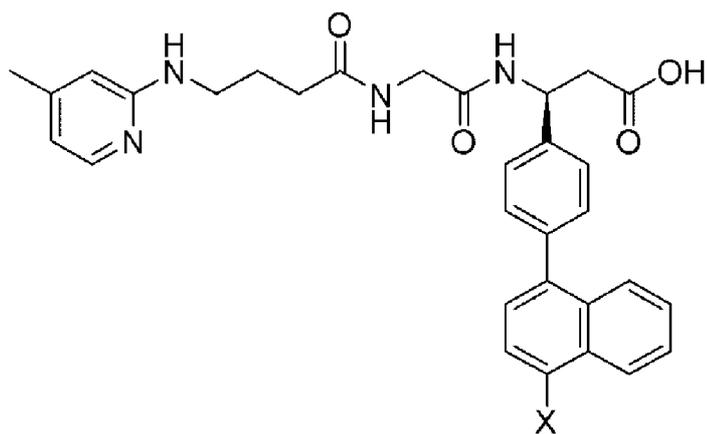
(Структура 1a),



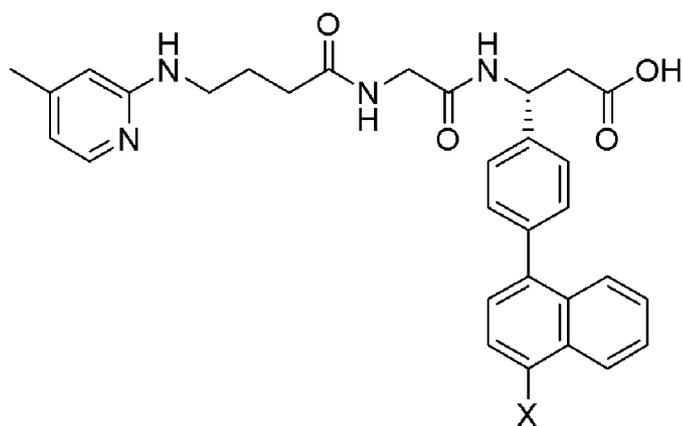
(Структура 2a),



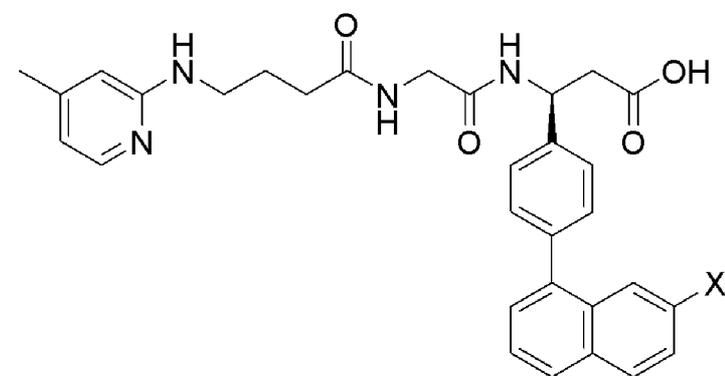
(Структура 5a),



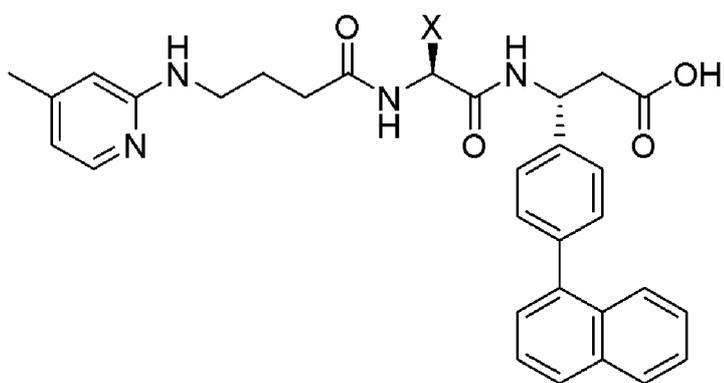
(Структура 6a),



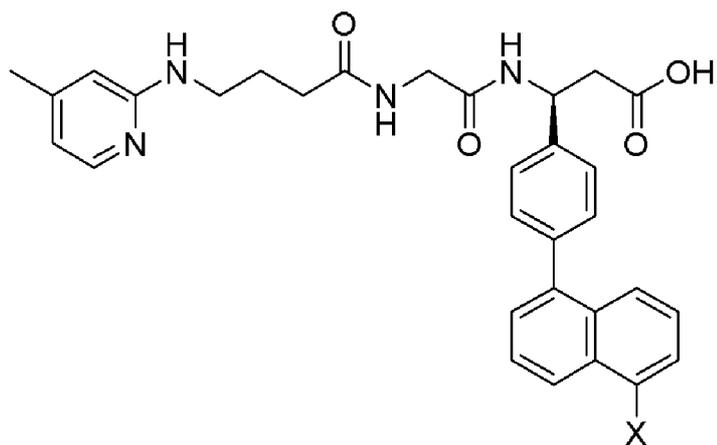
(Структура 7a),



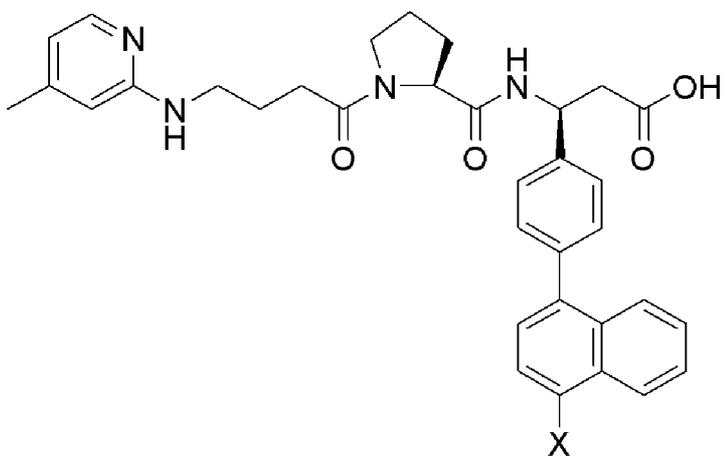
(Структура 8a),



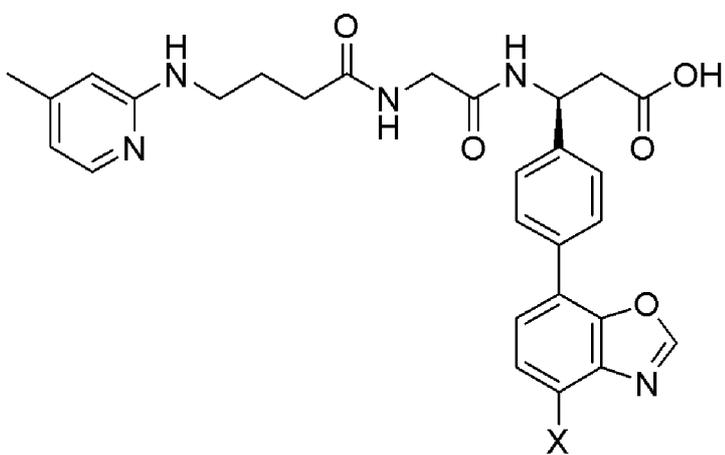
(Структура 9a),



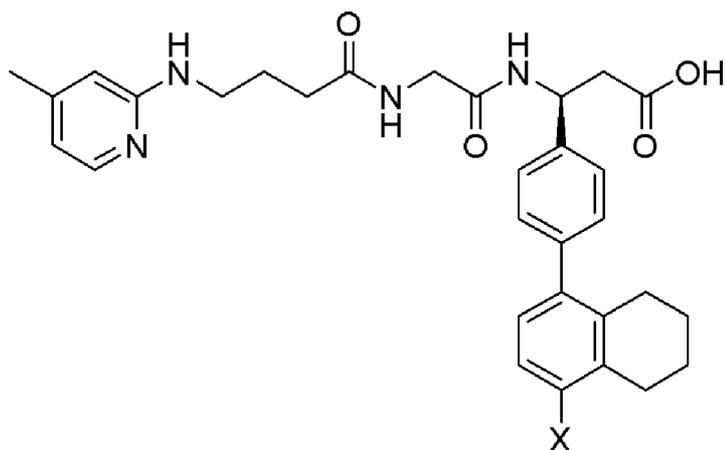
(Структура 10a),



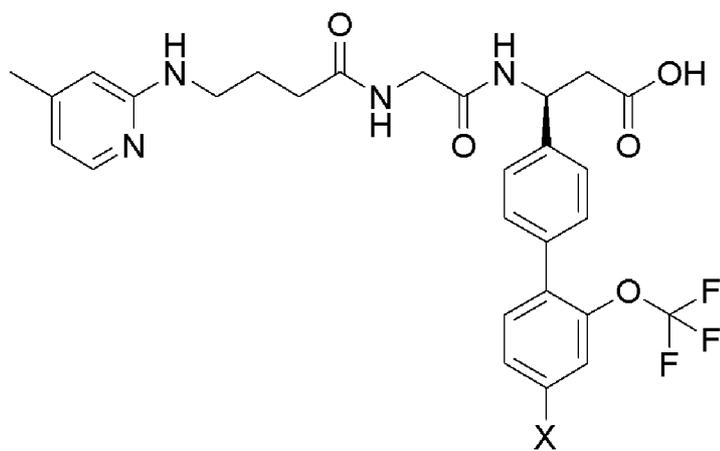
(Структура 11a),



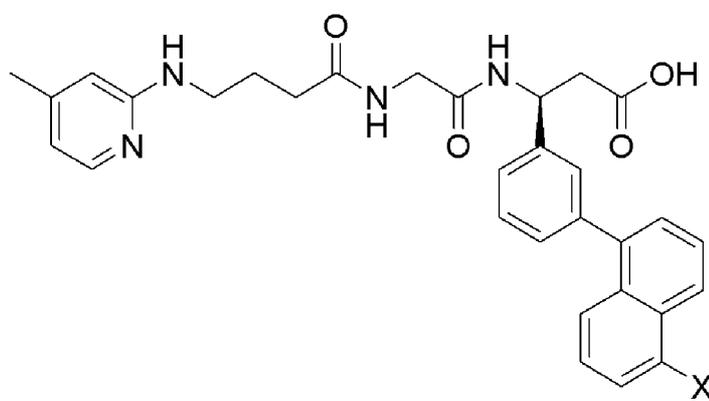
(Структура 12a),



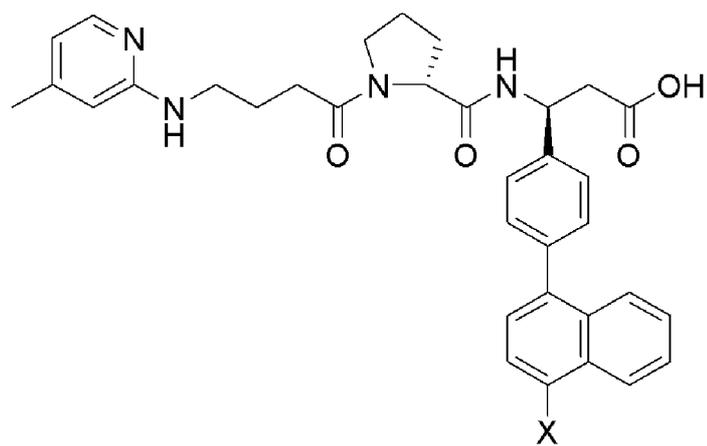
(Структура 13a),



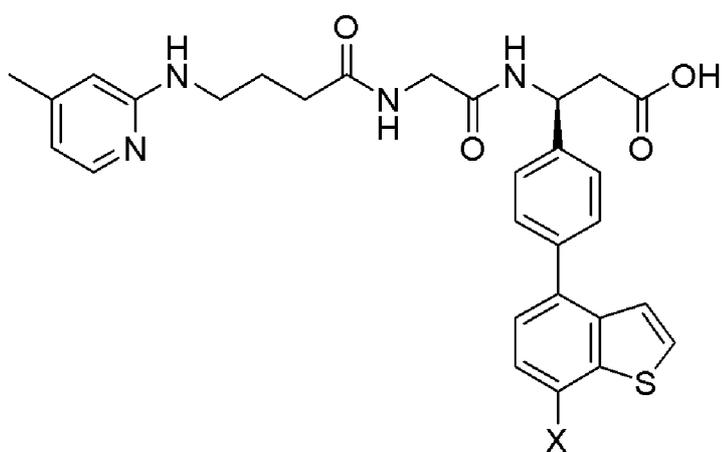
(Структура 14a),



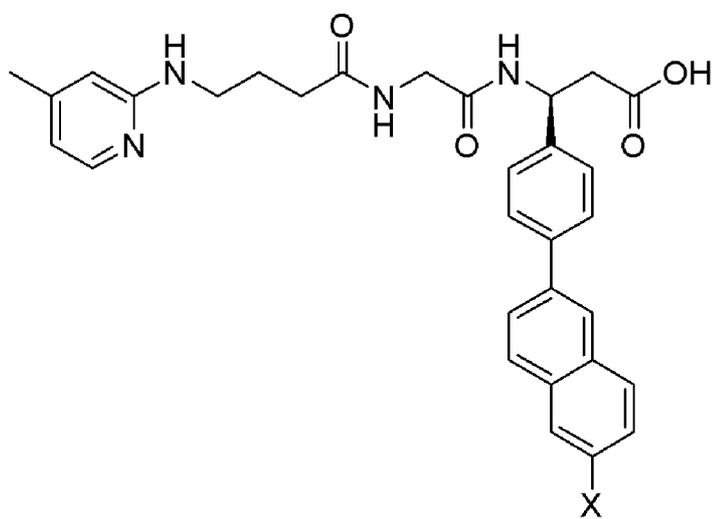
(Структура 15a),



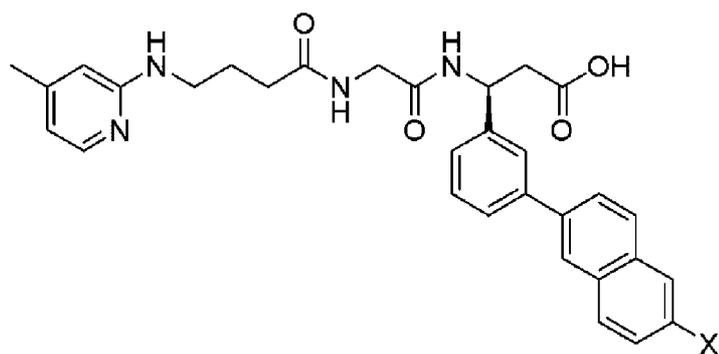
(Структура 16a),



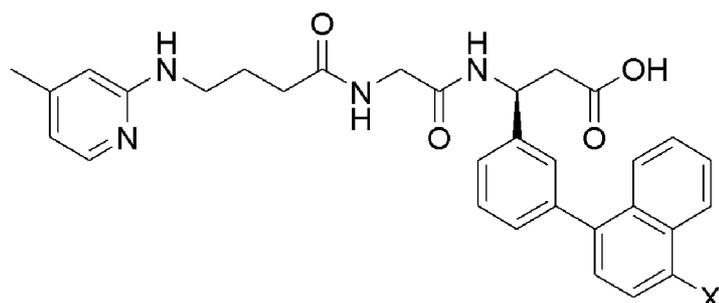
(Структура 17a),



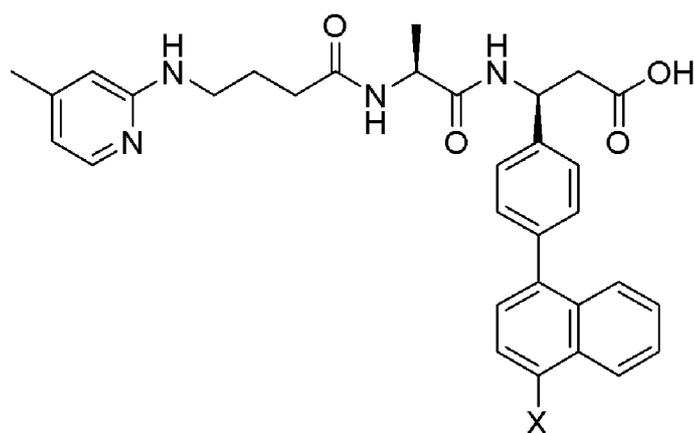
(Структура 18a),



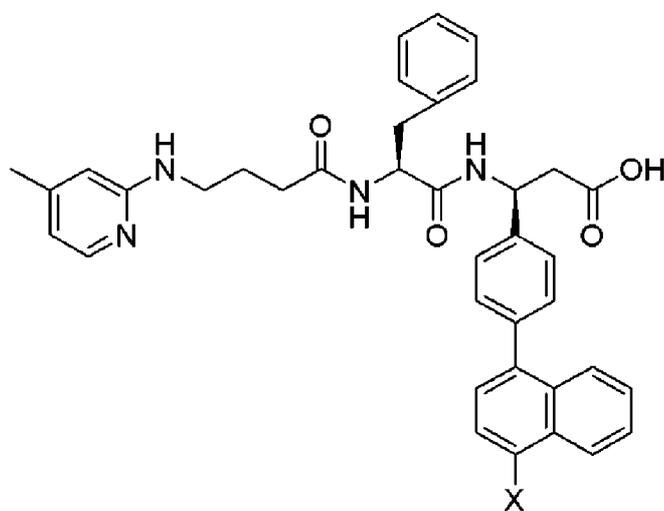
(Структура 19a),



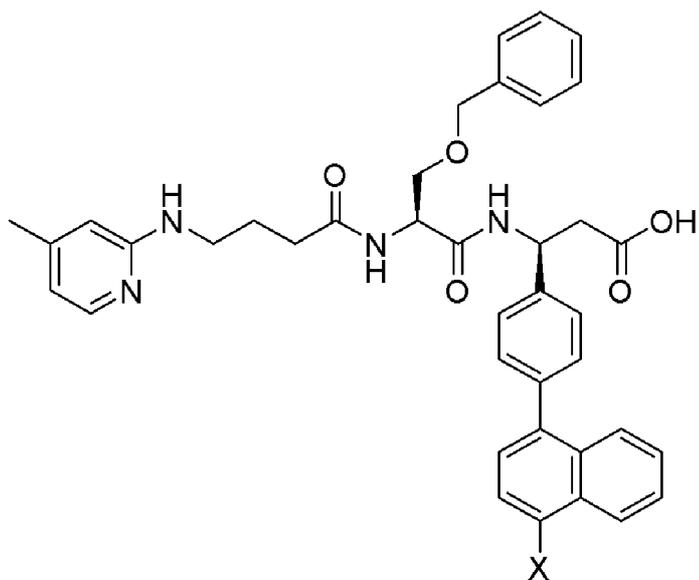
(Структура 20a),



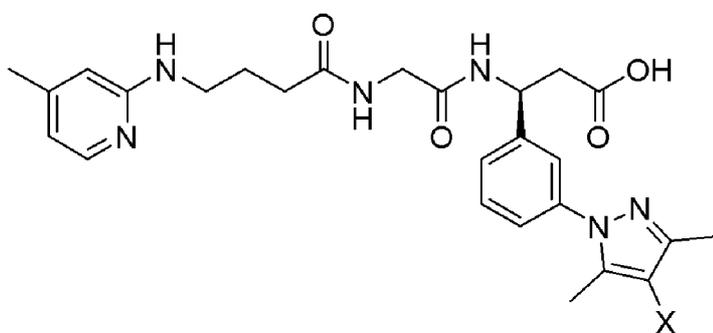
(Структура 22a),



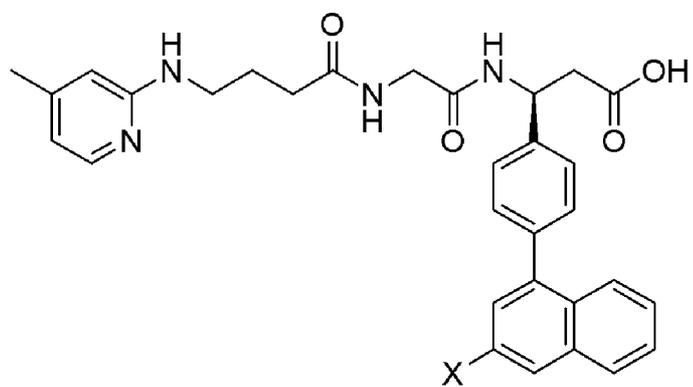
(Структура 24a),



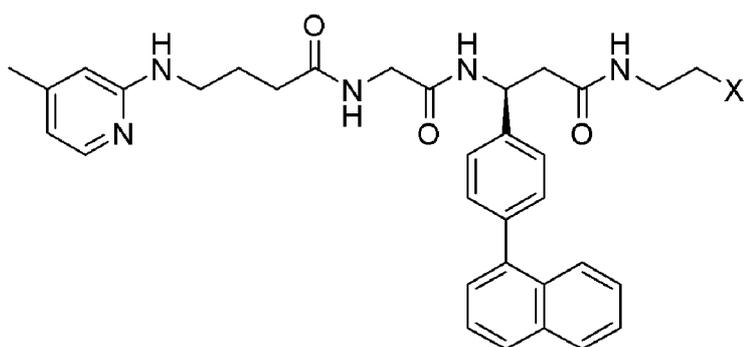
(Структура 25a),



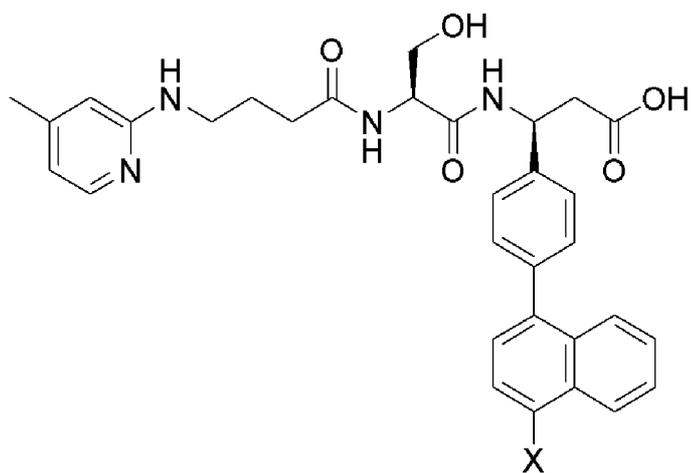
(Структура 27a),



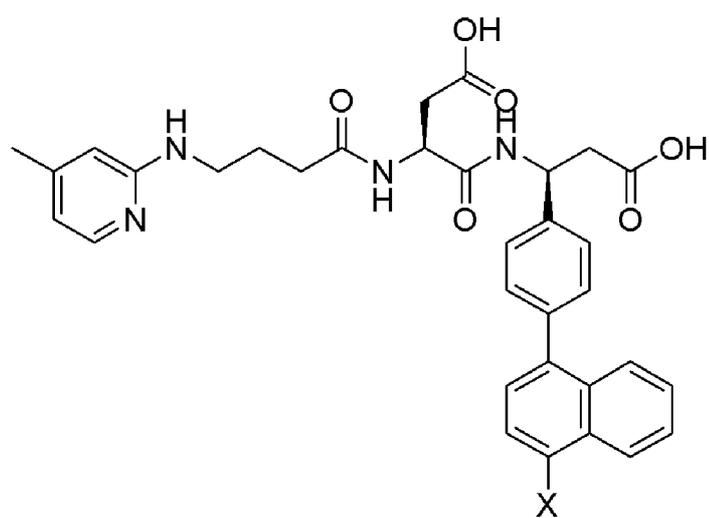
(Структура 29a),



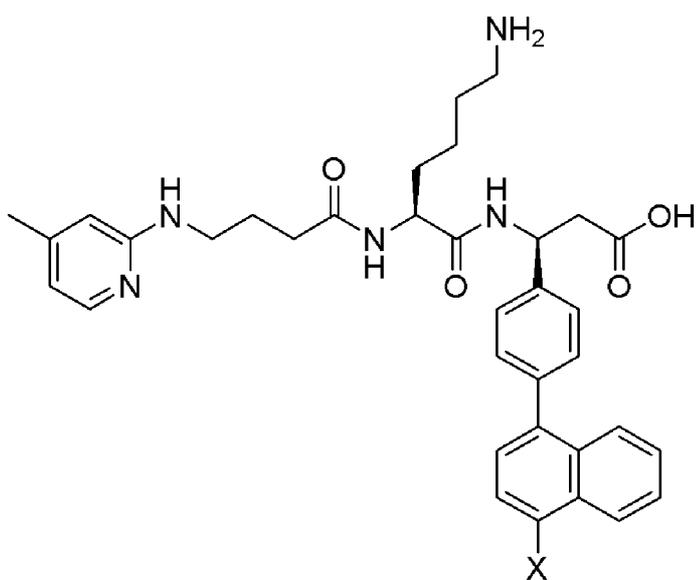
(Структура 30a),



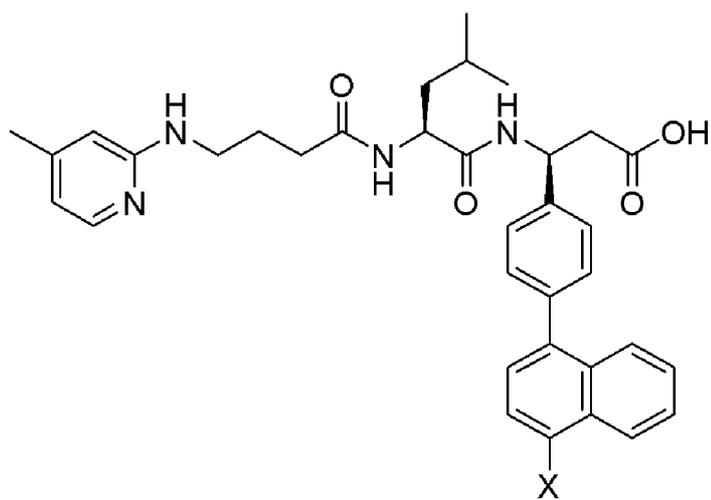
(Структура 31a),



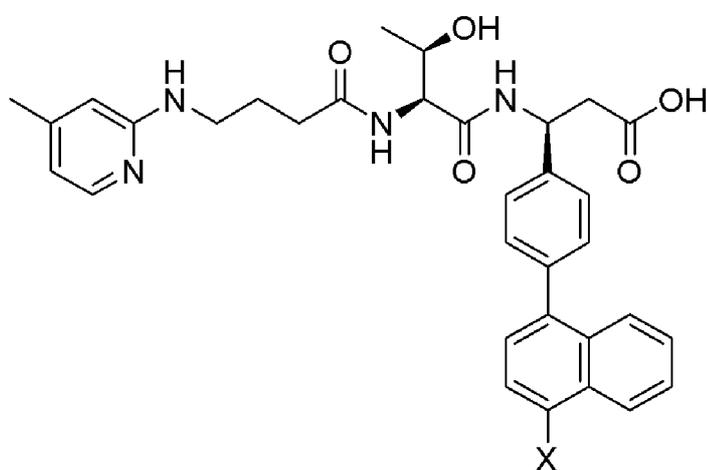
(Структура 32a),



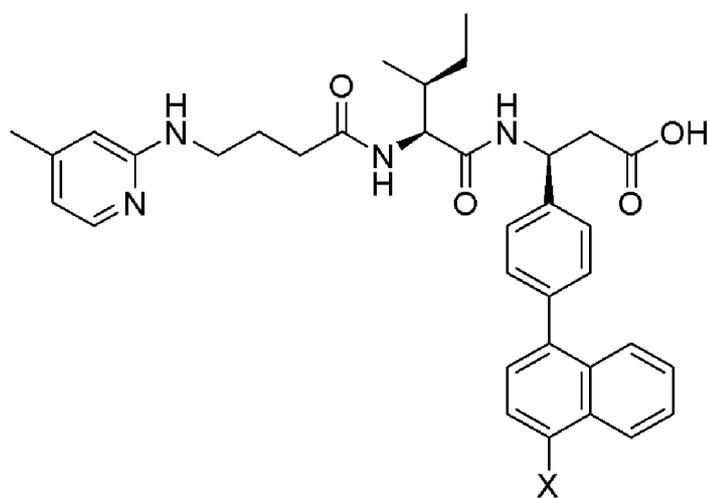
(Структура 33a),



(Структура 34a),

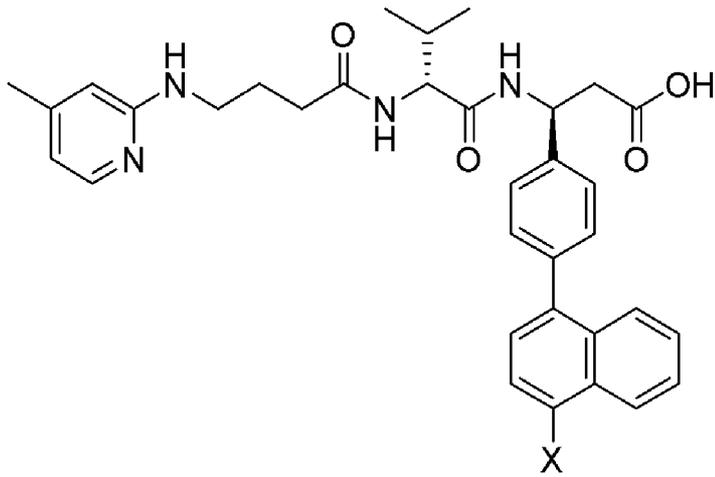


(Структура 35a),



(Структура 36a)

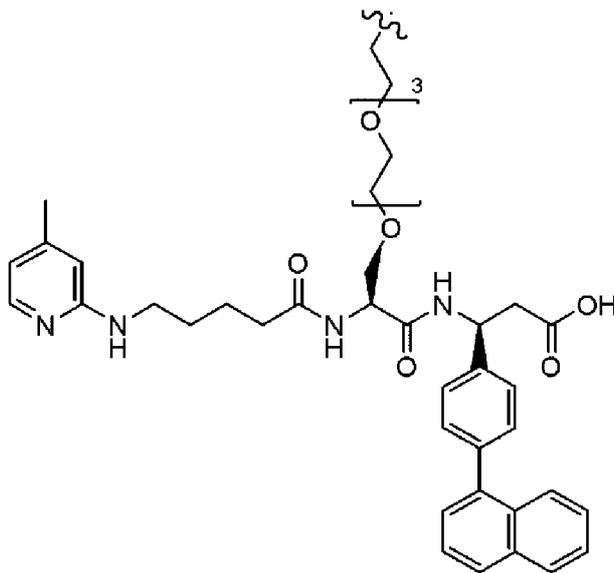
и



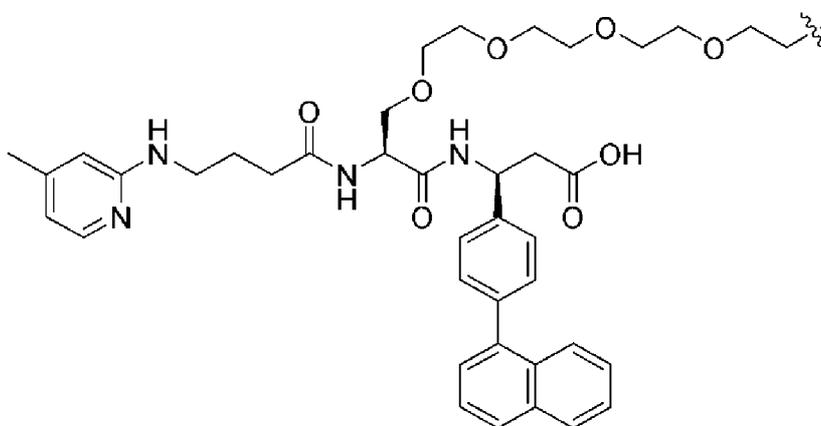
(Структура 37a),

или его фармацевтически приемлемая соль, где X включает транспортируемую молекулу.

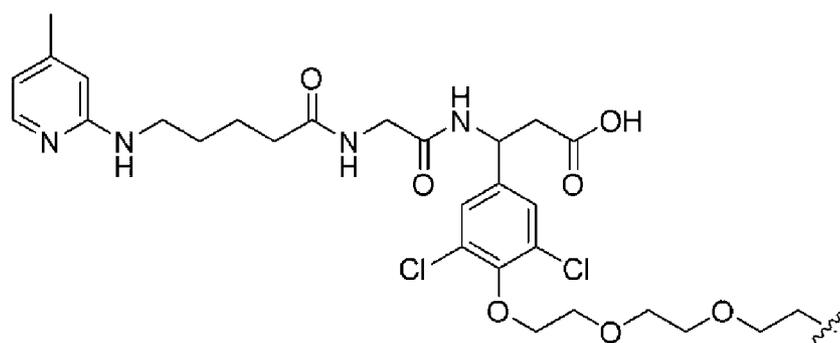
8. Лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, выбранный из группы, состоящей из:



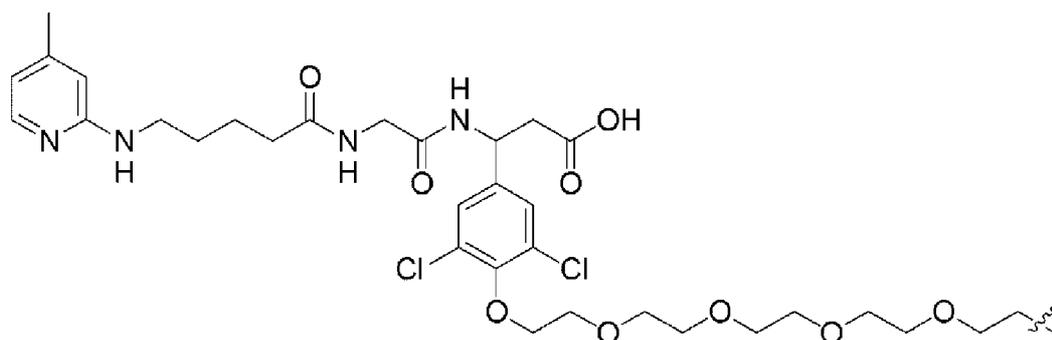
(Структура 1);



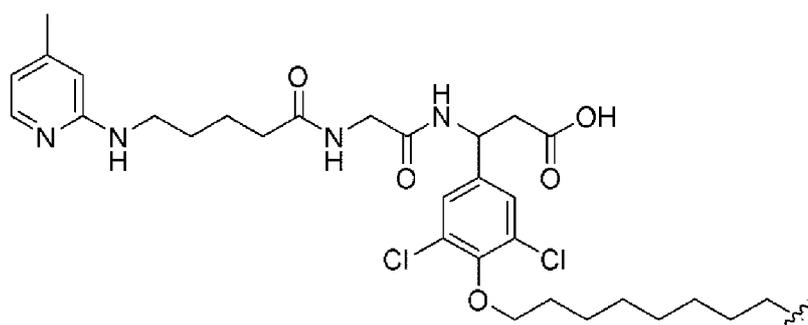
(Структура 2);



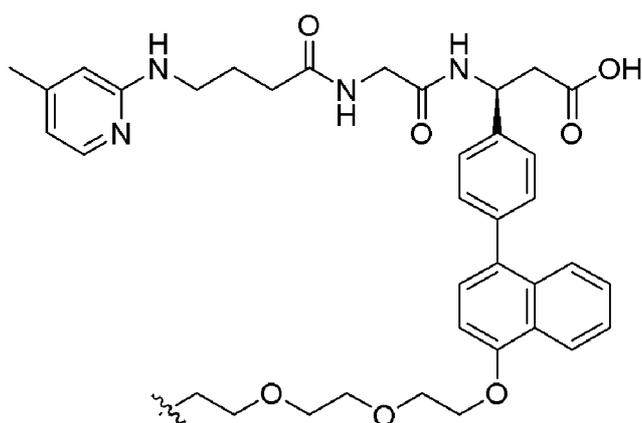
(Структура 5);



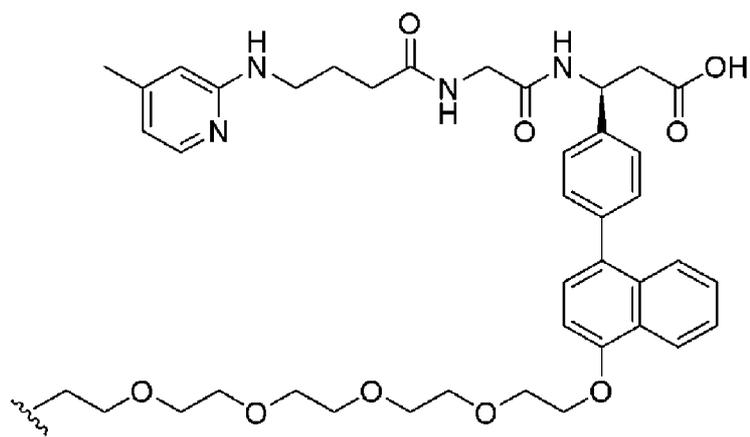
(Структура 5.1);



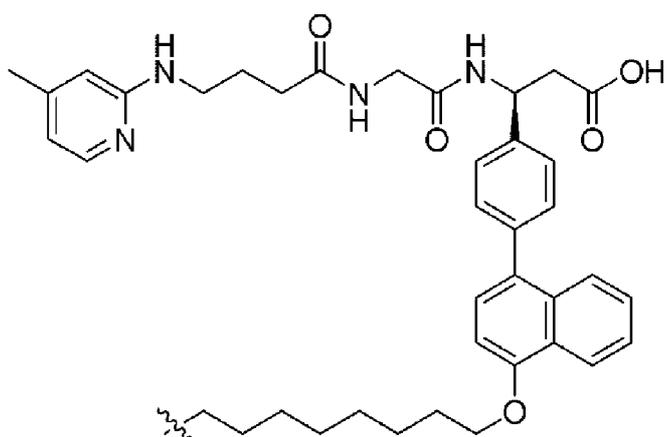
(Структура 5.2);



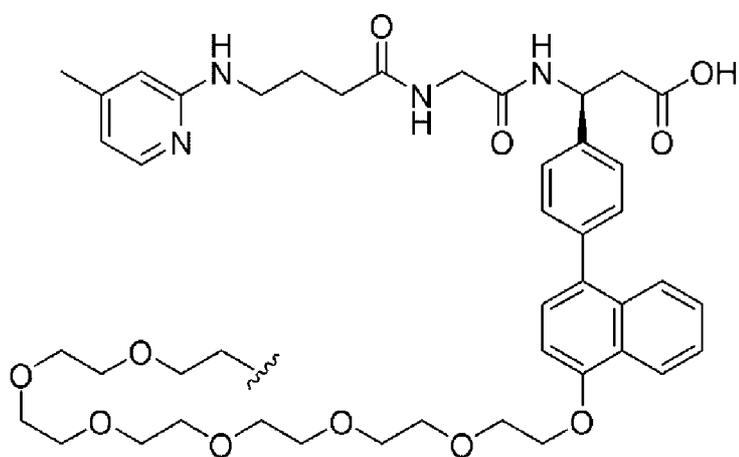
(Структура 6);



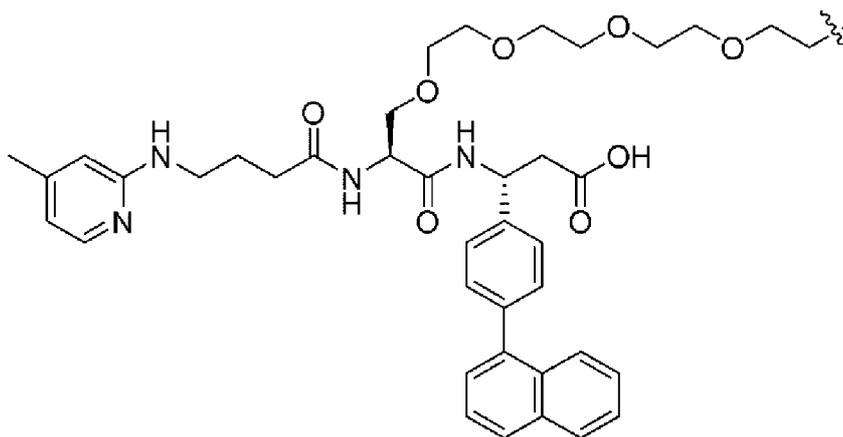
(Структура 6.1);



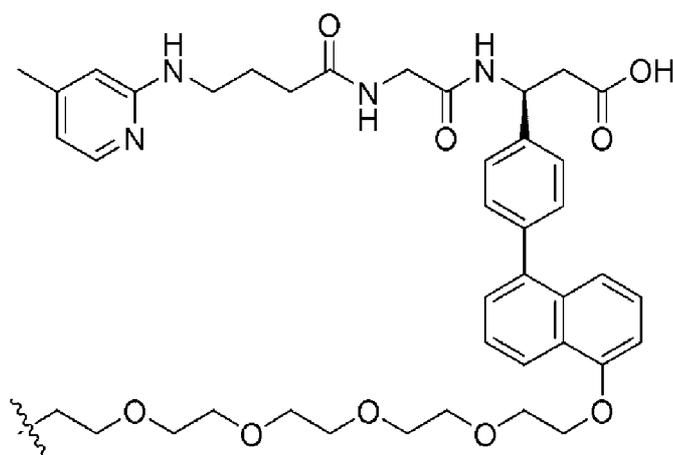
(Структура 6.2);



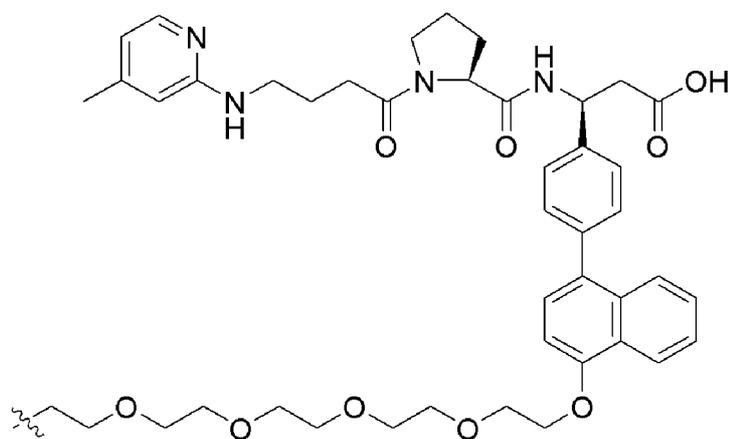
(Структура 6.3);



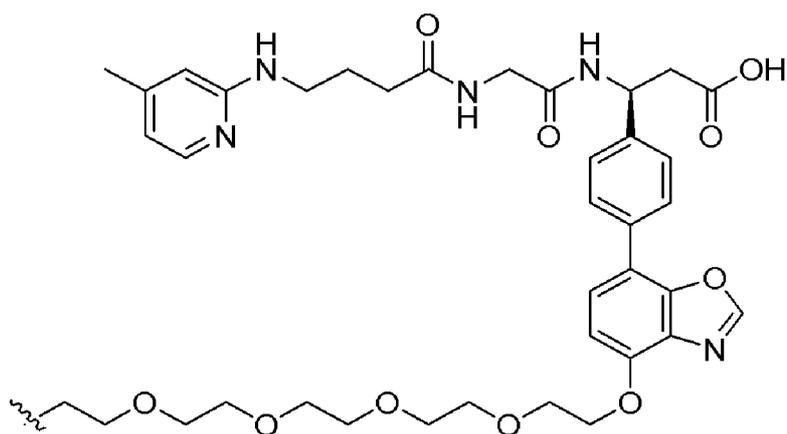
(Структура 9);



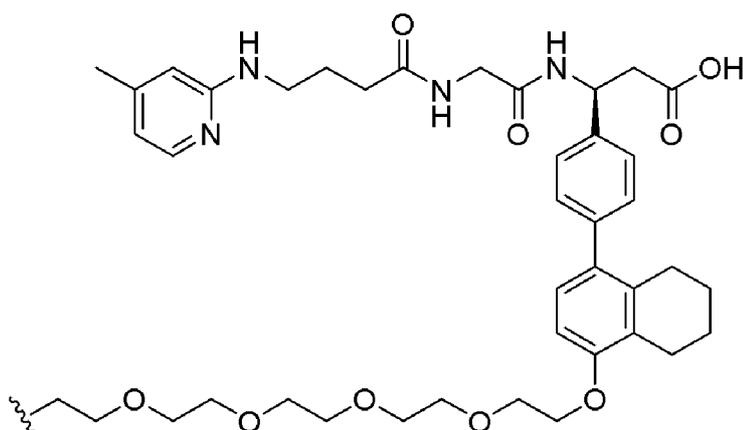
(Структура 10);



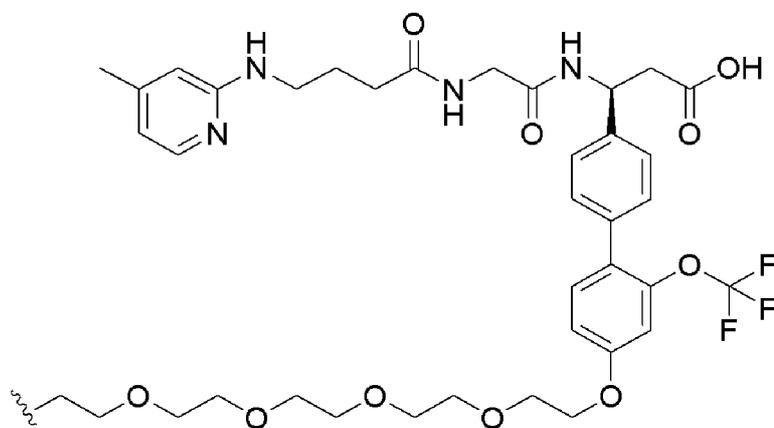
(Структура 11);



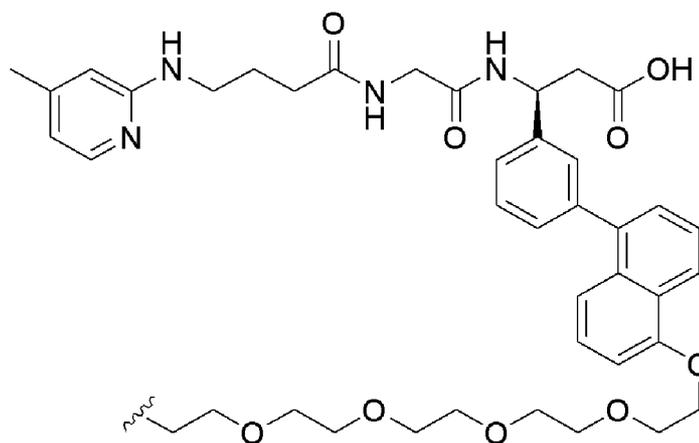
(Структура 12);



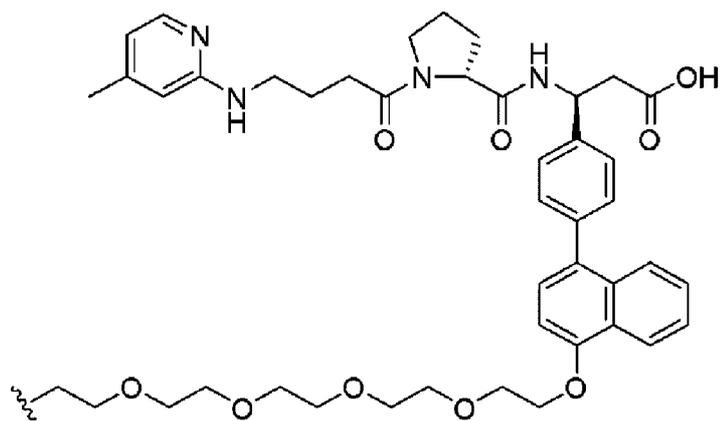
(Структура 13);



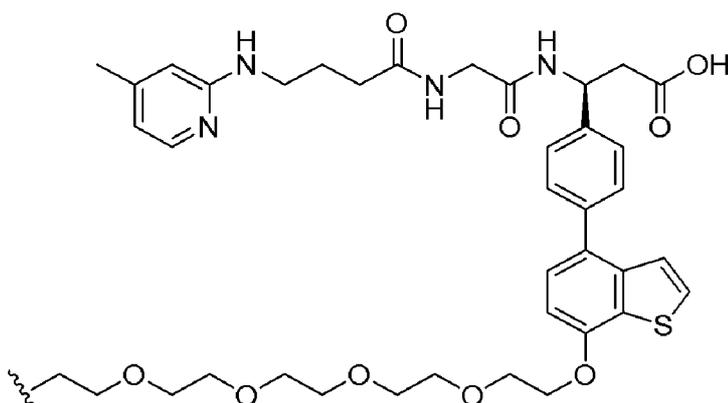
(Структура 14);



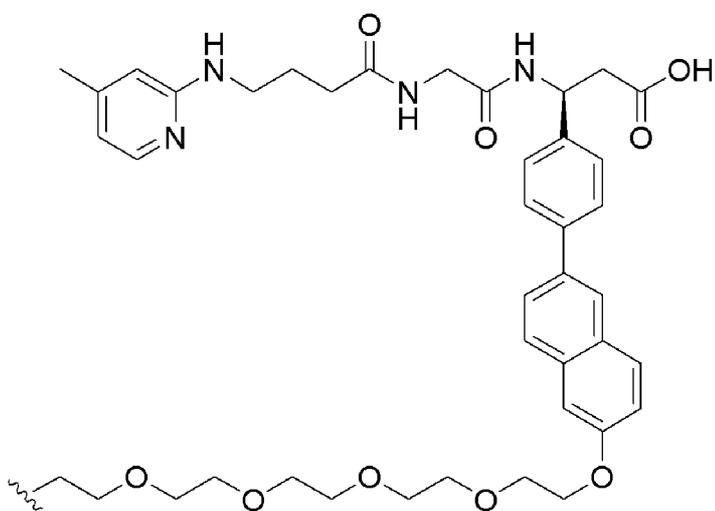
(Структура 15);



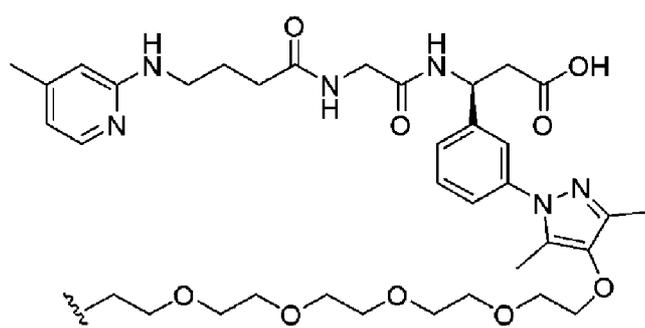
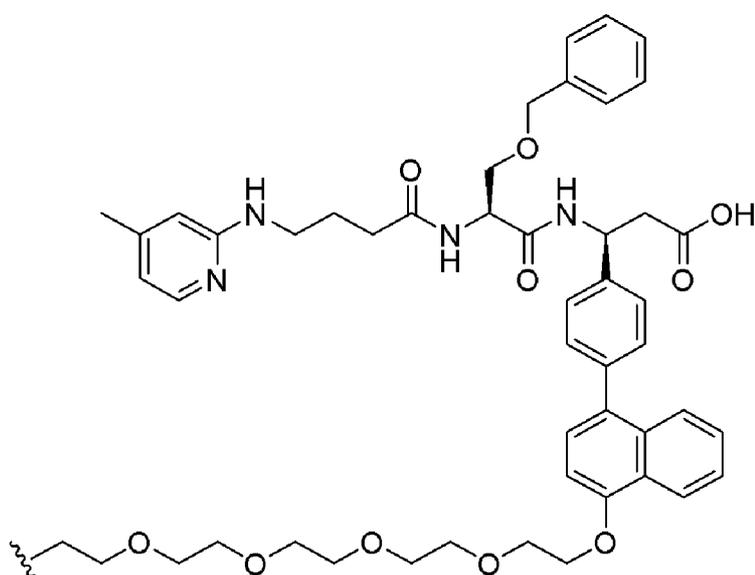
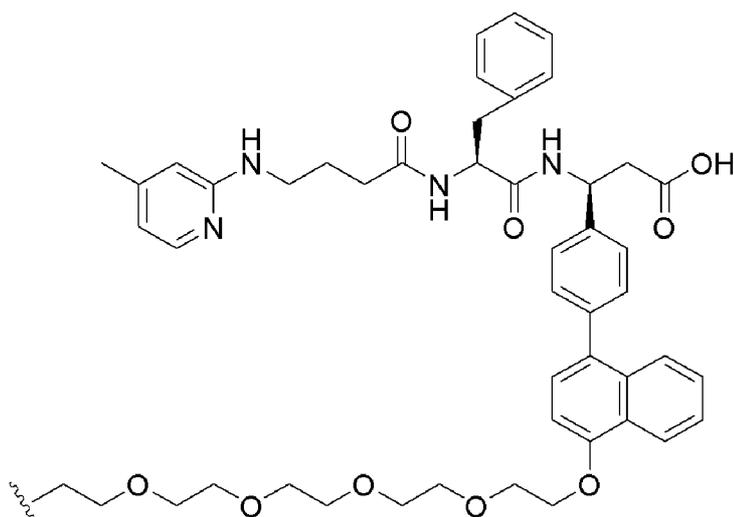
(Структура 16);

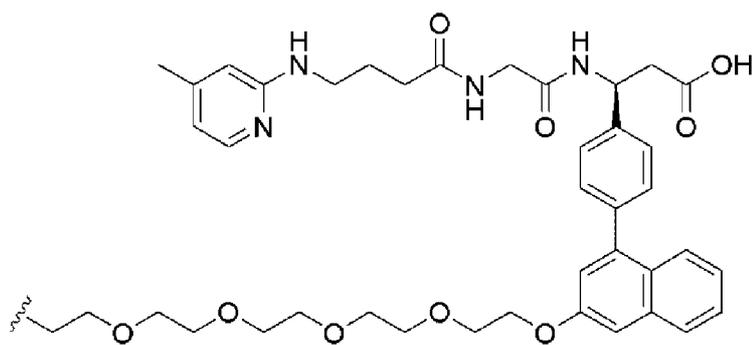


(Структура 17);

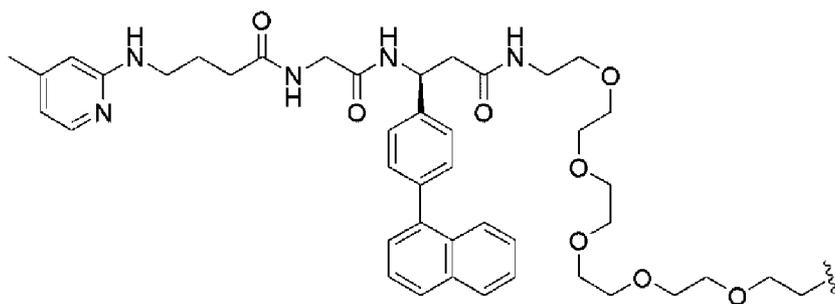


(Структура 18);

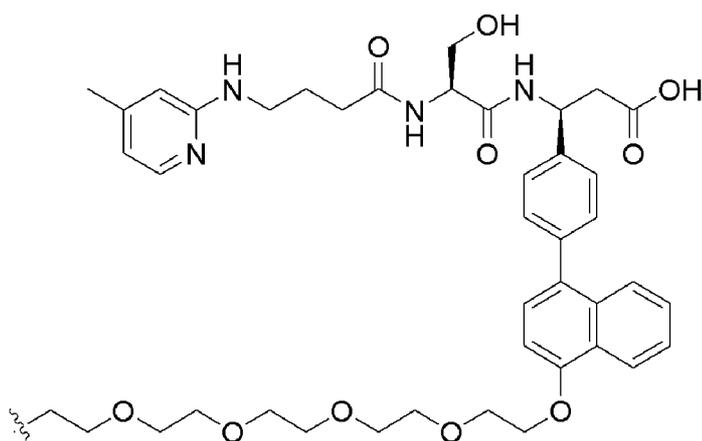




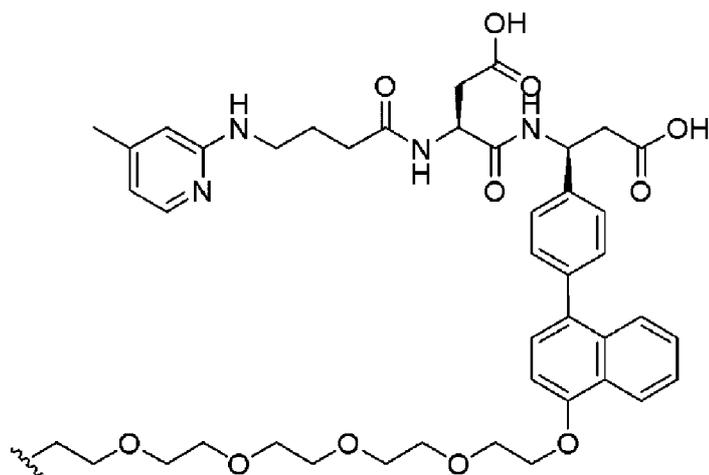
(Структура 29);



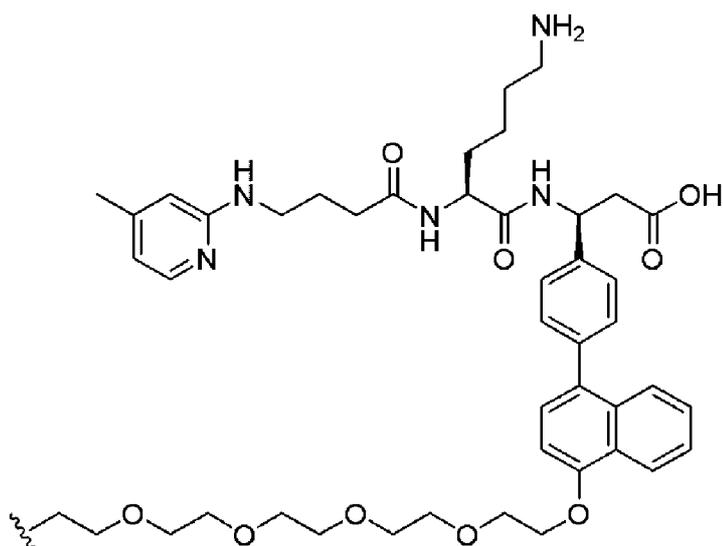
(Структура 30);



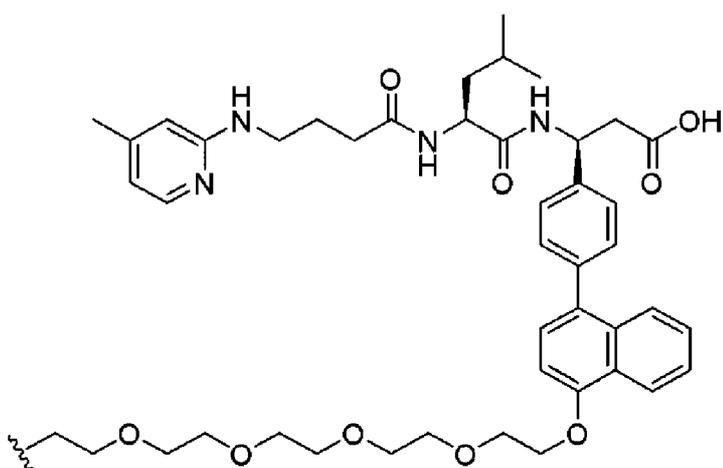
(Структура 31);



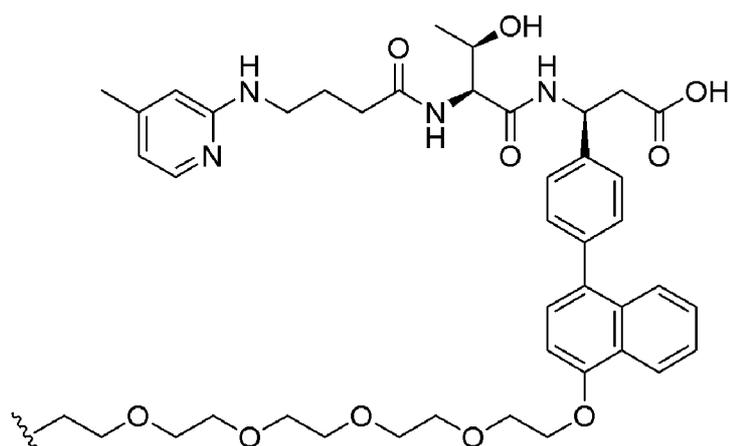
(Структура 32);



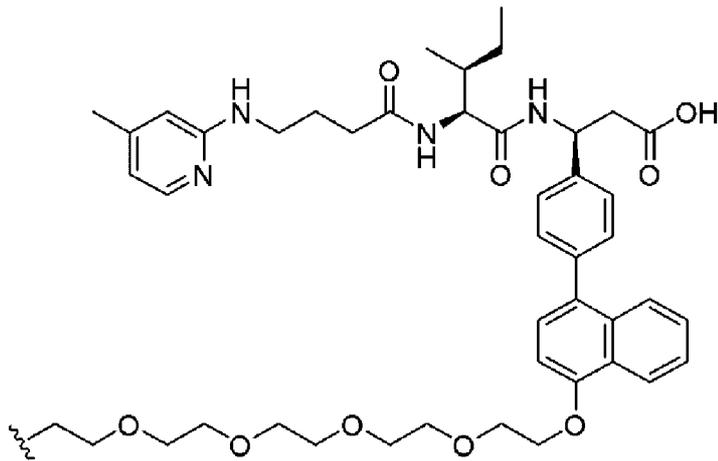
(Структура 33);



(Структура 34);

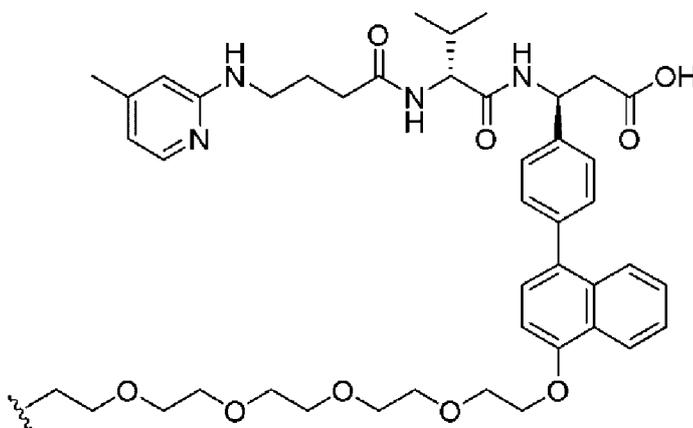


(Структура 35);



(Структура 36);

и



(Структура 37),

или его фармацевтически приемлемая соль,

где  указывает точку присоединения к части, содержащей транспортируемую молекулу.

9. Лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ по любому из пп. 1-8, где транспортируемая молекула представляет собой активный фармацевтический ингредиент или пролекарство.

10. Лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ по любому из пп. 1-8, где транспортируемая молекула включает малую молекулу, антитело, фрагмент антитела, иммуноглобулин, моноклональное антитело, метку или маркер, липид, природную или модифицированную нуклеиновую кислоту, природный или модифицированный нуклеиновокислотный олигонуклеотид, природный или модифицированный нуклеиновокислотный полинуклеотид, пептид, аптамер, полимер, полиамин, белок, токсин, витамин, полиэтиленгликоль, гаптен, дигоксигенин, биотин, радиоактивный атом или молекулу, или флуорофор.

11. Лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ по любому из пп. 1-8, где транспортируемая молекула включает средство РНКи.

12. Лиганд интегрин $\alpha\nu\beta 6$ по любому из пп. 1-11, дополнительно включающий полиэтиленгликолевый линкер, имеющий от 2 до 20 звеньев этиленоксида.

13. Структура, включающая лиганд интегрин $\alpha\beta6$ по любому из пп. 1-12, линкерную группу и каркас, где структура соединена с транспортируемой молекулой.

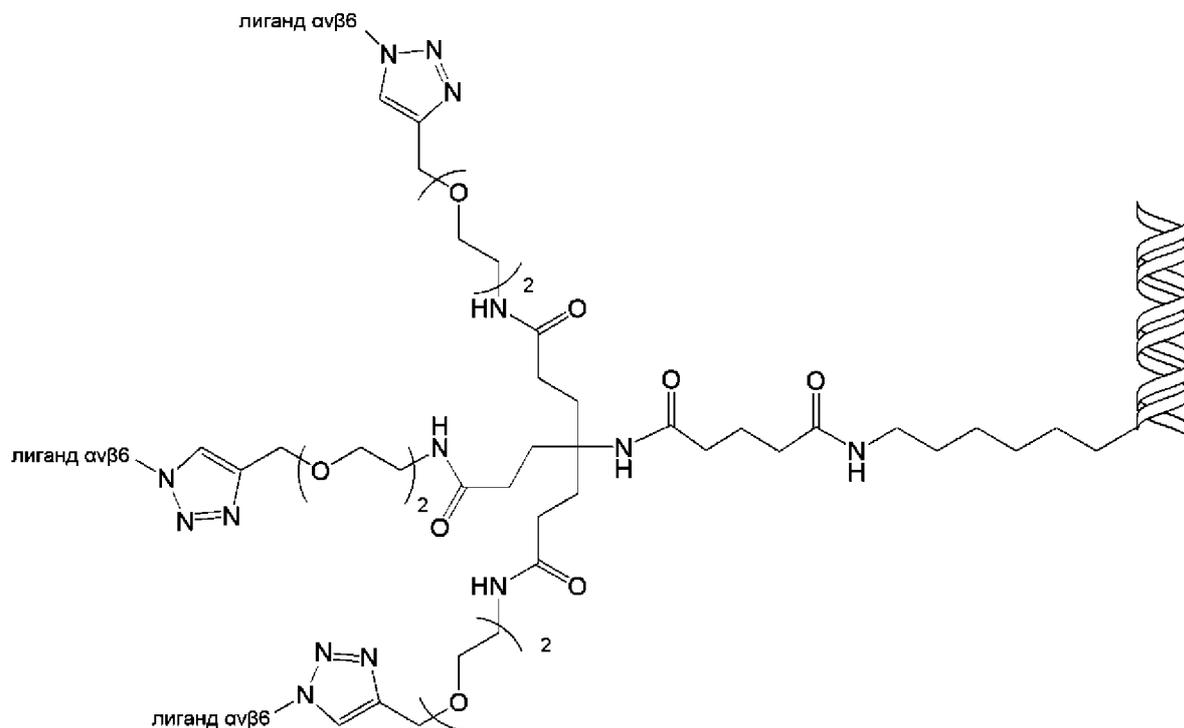
14. Структура по п.13, где структура включает лиганд интегрин $\alpha\beta6$ в монодентатной форме.

15. Структура по п.13, где структура включает лиганд интегрин $\alpha\beta6$ в бидентатной форме.

16. Структура по п.13, где структура включает лиганд интегрин $\alpha\beta6$ в тридентатной форме.

17. Структура по п.13, где структура включает лиганд интегрин $\alpha\beta6$ в тетрадентатной форме.

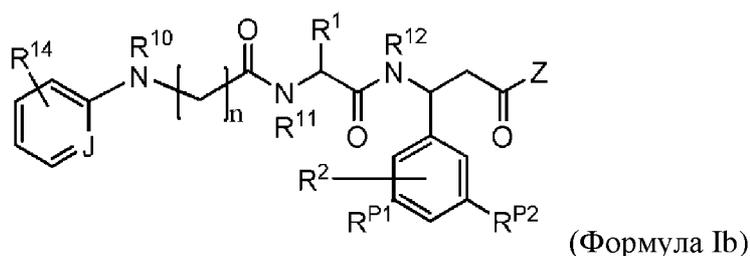
18. Структура по п.13, где каркас имеет формулу:



(Структура 300a),

где **MMW** обозначает средство РНКи, а "лиганд $\alpha\beta6$ " обозначает соответствующую лигандную структуру и средство связывания.

19. Предшественник лиганда интегрин $\alpha\beta6$, включающий структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль,
где

n представляет собой целое число от 0 до 7;

J представляет собой C-H или N;

Z представляет собой OR^{13} , $N(R^{13})_2$ или SR^{13} ;

R^1 представляет собой H, необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, OH, COOH, $CON(R^5)_2$, OR^6 , или R^1 включает линкерную группу, сопряженную с реакционноспособной группой, где каждый R^5 независимо представляет собой H или C_1 - C_6 алкил, и R^6 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил;

каждый R^2 , R^{P1} и R^{P2} независимо представляет собой H, галоген, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен или необязательно замещенный гетероарилен, или R^2 , R^{P1} и R^{P2} могут включать линкерную группу, сопряженную с реакционноспособной группой;

R^{10} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

R^{11} представляет собой H или необязательно замещенный алкил, или R^{11} и R^1 , вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенный гетероцикл;

R^{12} представляет собой H или необязательно замещенный алкил;

каждый R^{13} независимо представляет собой H, необязательно замещенный алкил, или R^{13} включает линкерную группу, сопряженную с реакционноспособной группой;

R^{14} представляет собой необязательно замещенный алкил; и

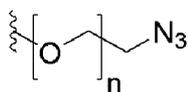
где по меньшей мере один из R^1 , R^2 , R^{13} , R^{P1} и R^{P2} включает линкерную группу, сопряженную с реакционноспособной группой.

20. Предшественник лиганда интегрин $\alpha\nu\beta6$ по п.19, где линкерная группа представляет собой ПЭГ линкер.

21. Предшественник лиганда $\alpha\nu\beta6$ по п.19, где ПЭГ линкер включает от 2 до 20 звеньев ПЭГ.

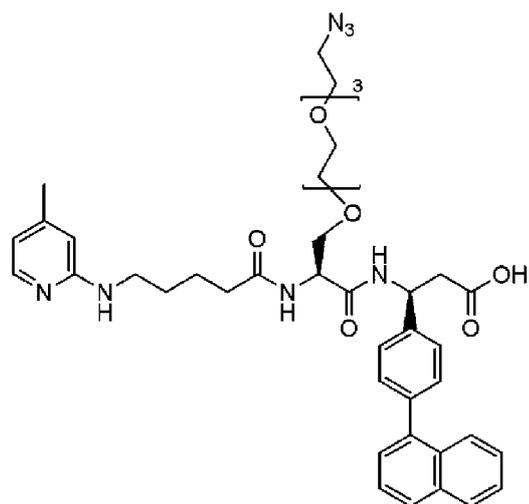
22. Предшественник лиганда $\alpha\nu\beta6$ по п.19, где реакционноспособная группа представляет собой азид.

23. Предшественник лиганда $\alpha\nu\beta6$ по п.19, где линкерная группа, соединенная с реакционноспособной группой, имеет структуру:

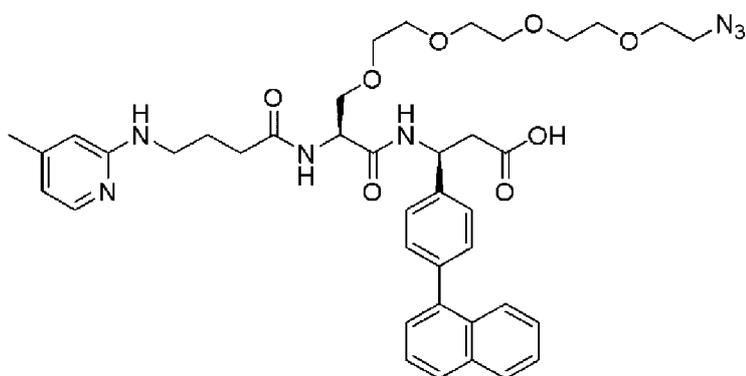


где n представляет собой целое число от 2 до 20, и  обозначает точку присоединения к структуре Формулы Ib.

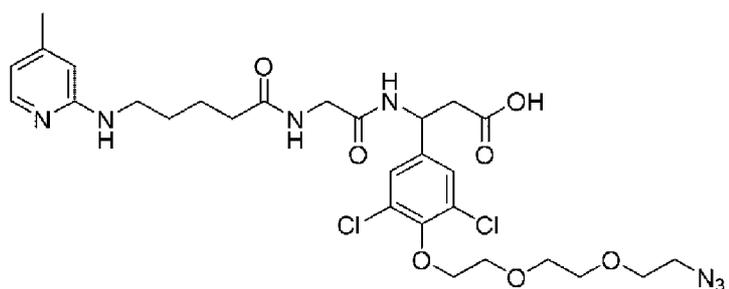
24. Предшественник интегрин $\alpha\nu\beta6$, выбранный из группы, состоящей из:



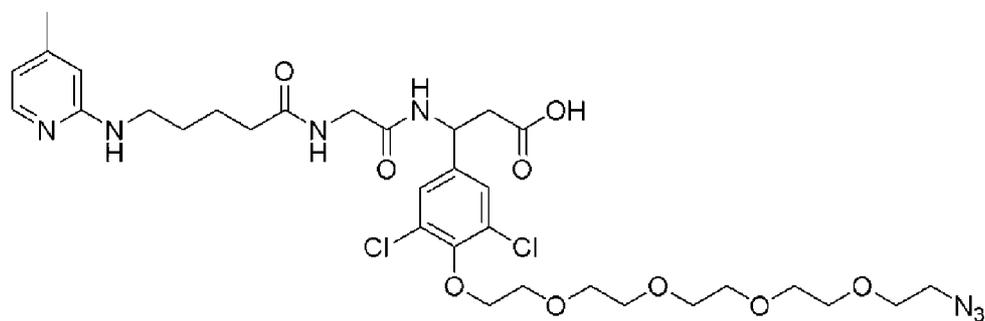
(Структура 1b),



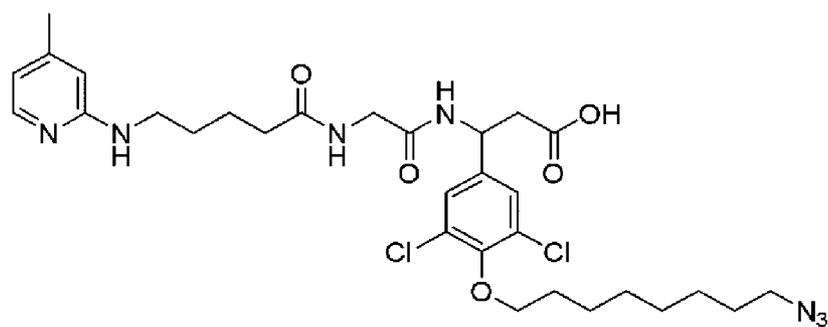
(Структура 2b),



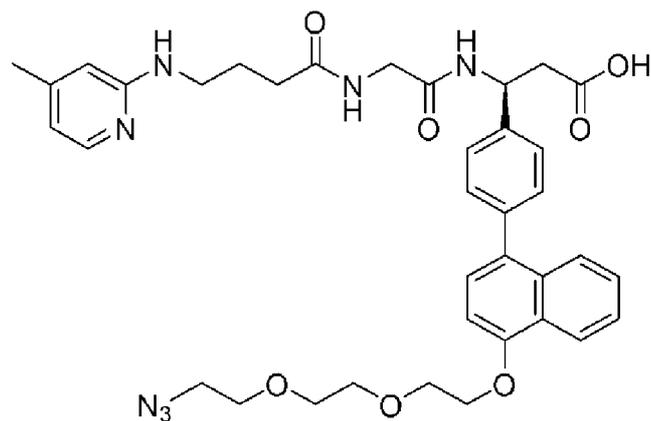
(Структура 5b),



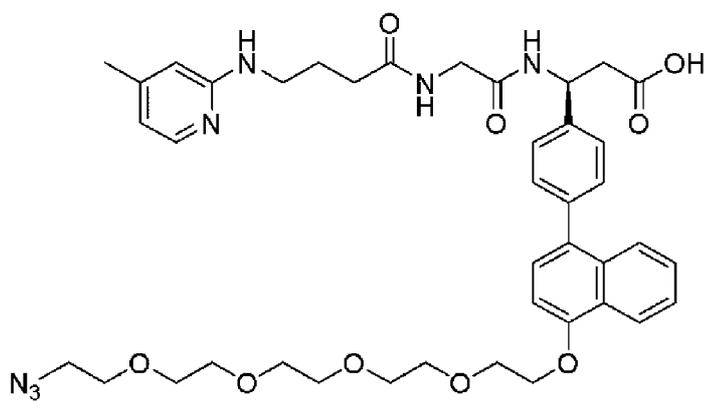
(Структура 5.1b),



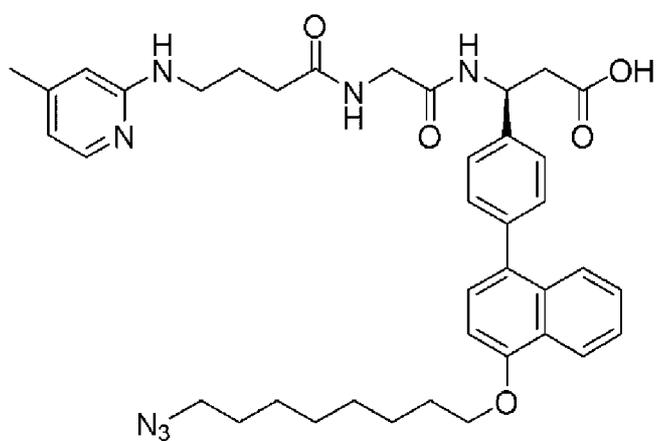
(Структура 5.2b),



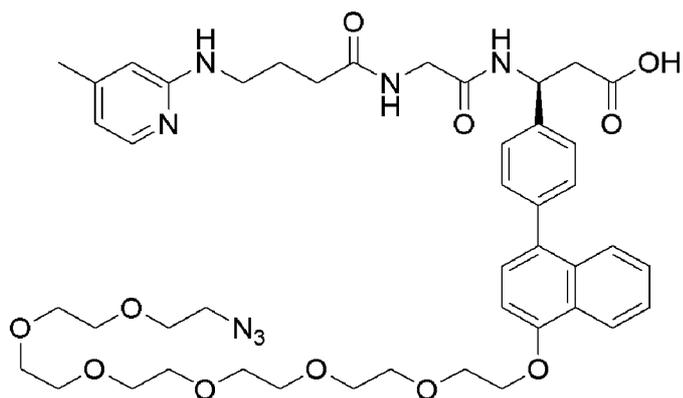
(Структура 6b),



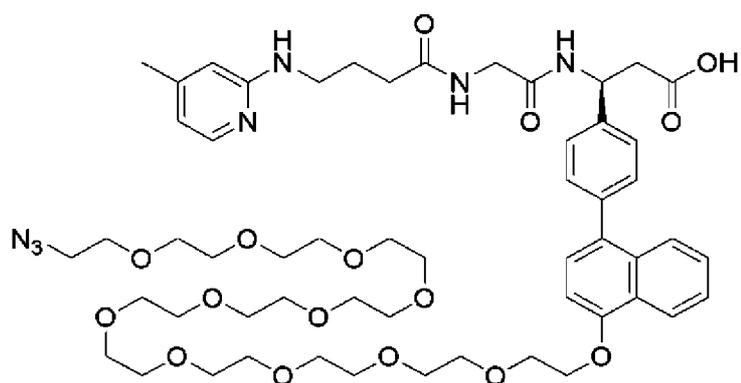
(Структура 6.1b),



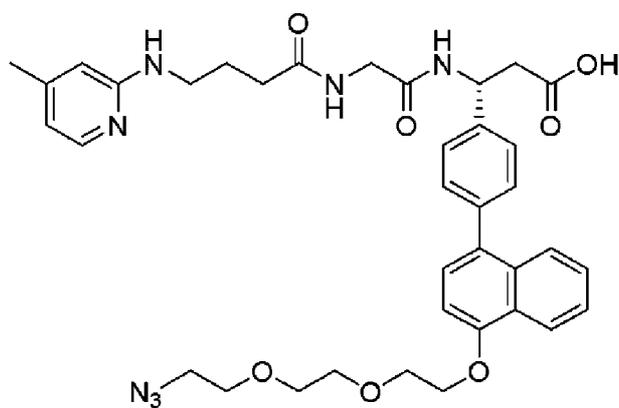
(Структура 6.2b),



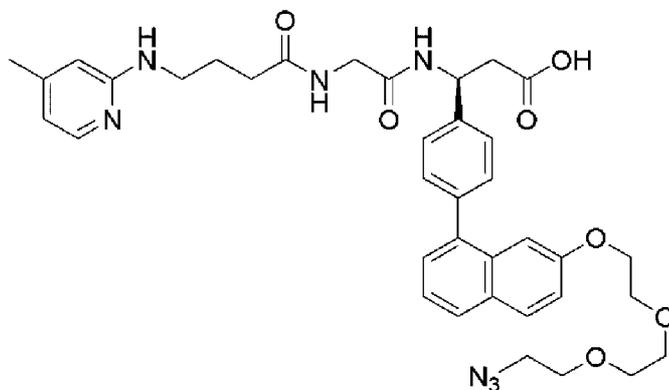
(Структура 6.3b),



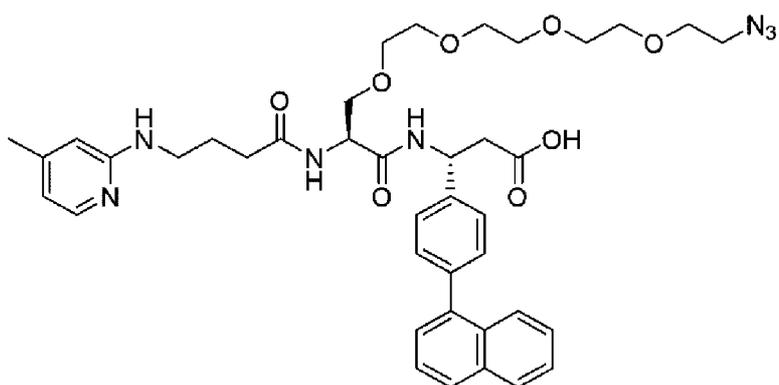
(Структура 6.4b),



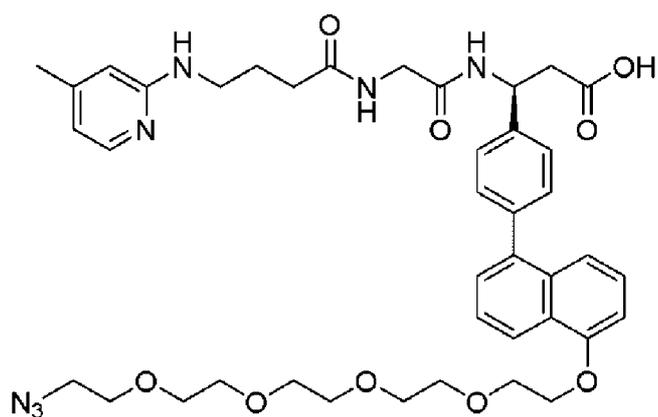
(Структура 7b),



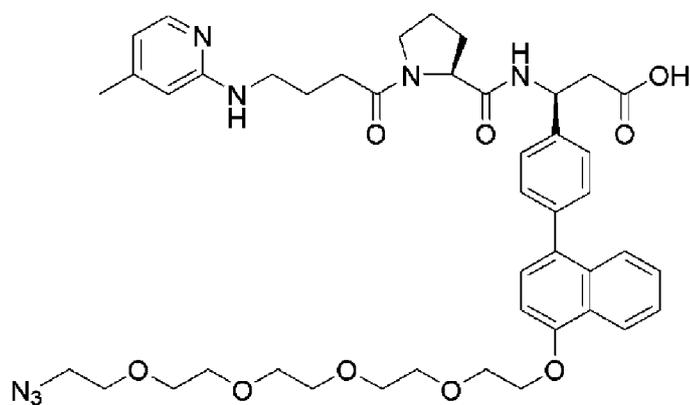
(Структура 8b),



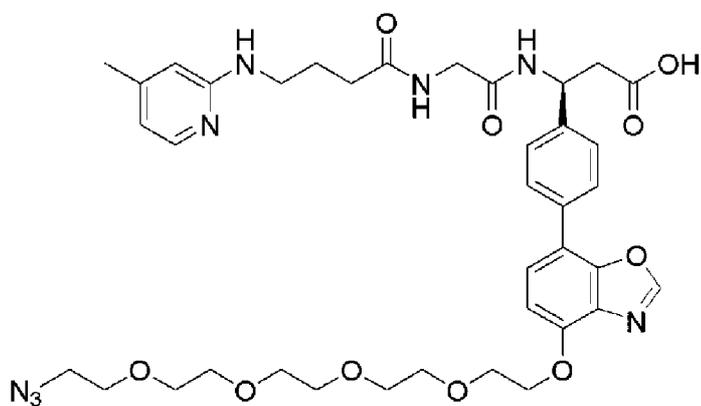
(Структура 9b),



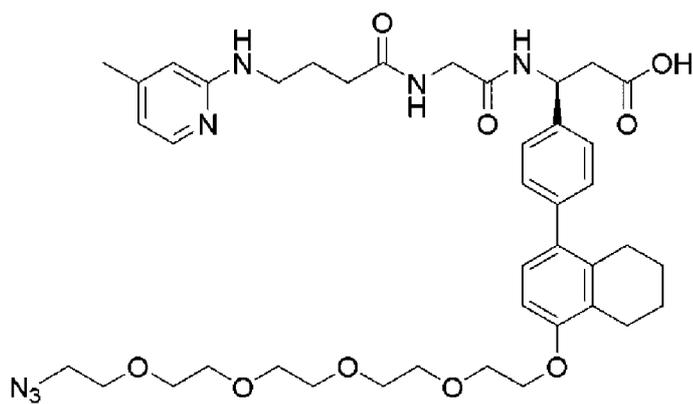
(Структура 10b),



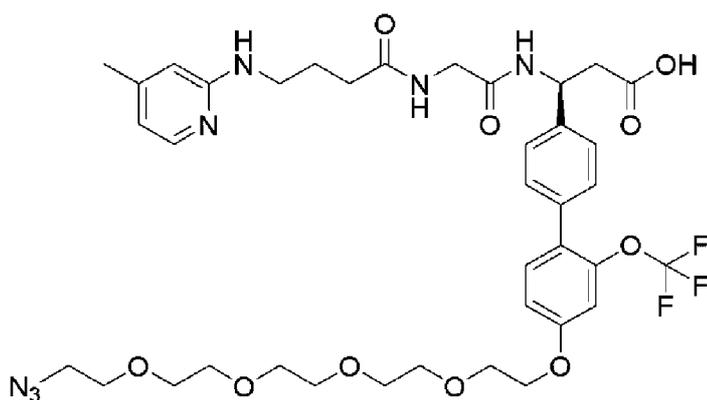
(Структура 11b),



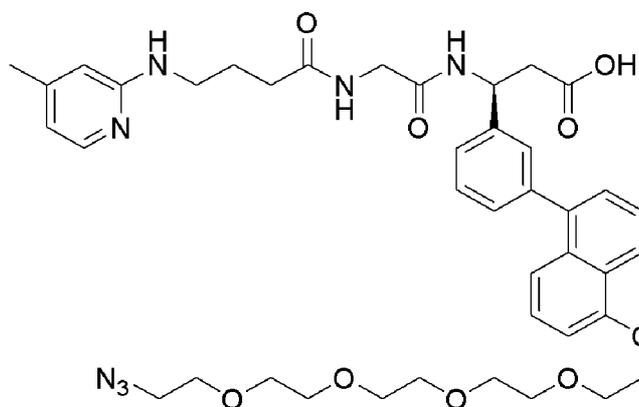
(Структура 12b),



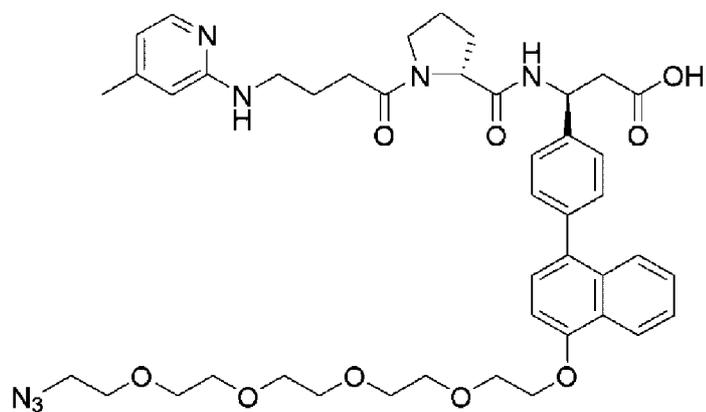
(Структура 13b),



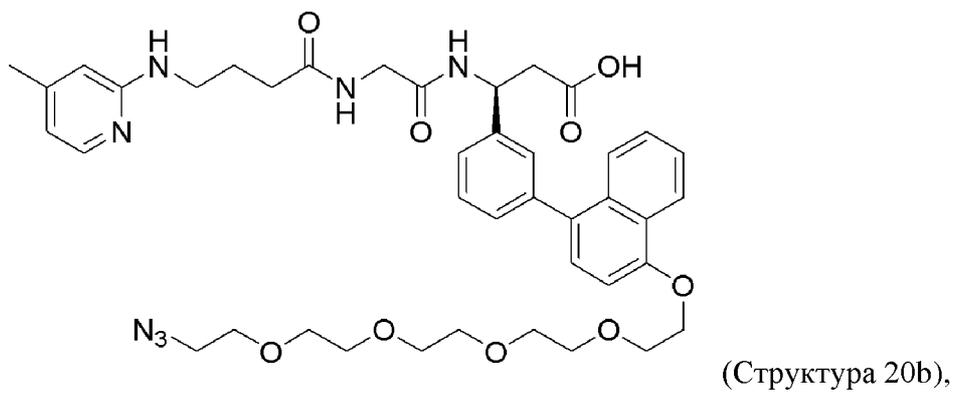
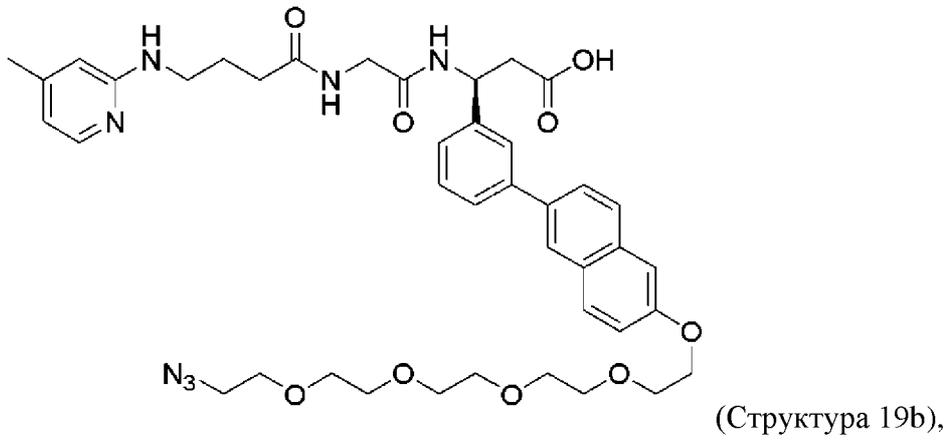
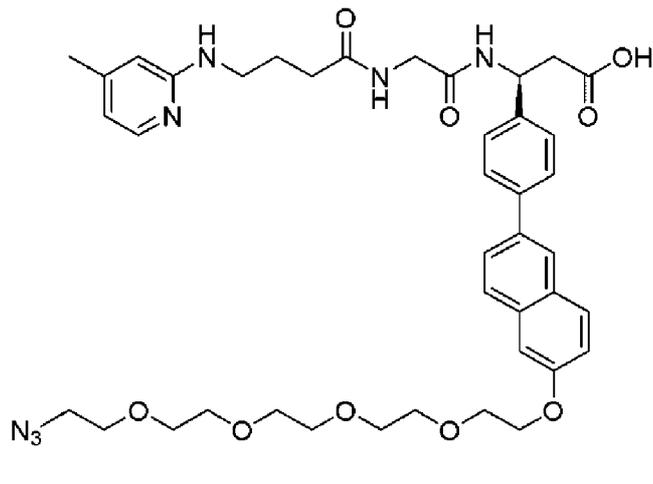
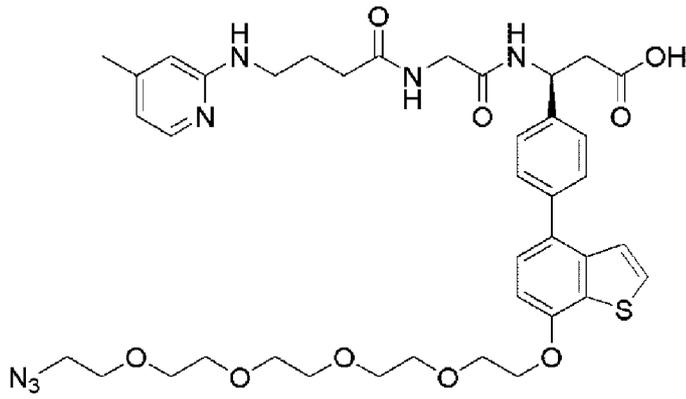
(Структура 14b),

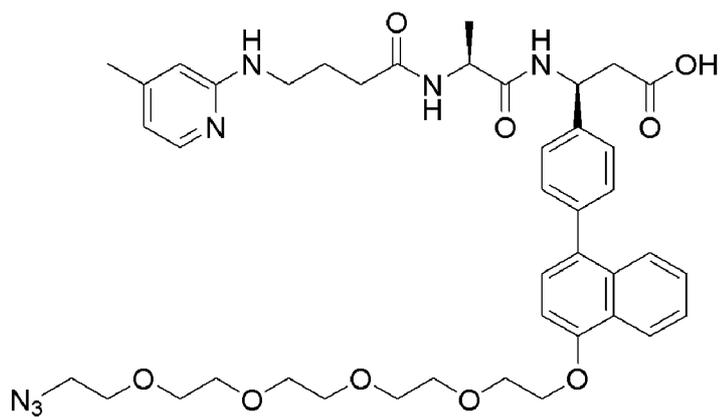


(Структура 15b),

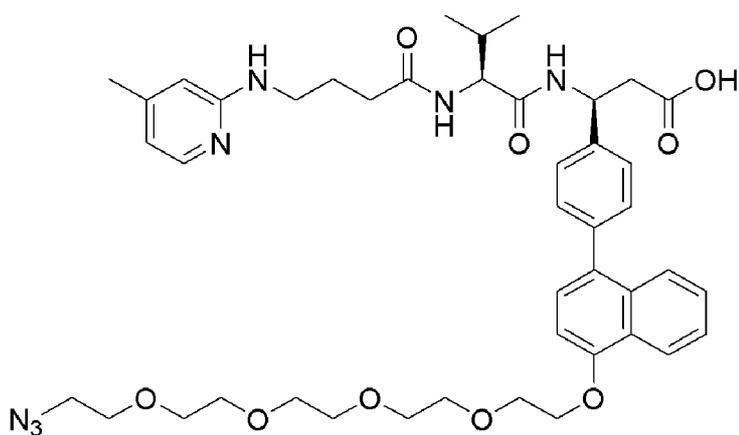


(Структура 16b),

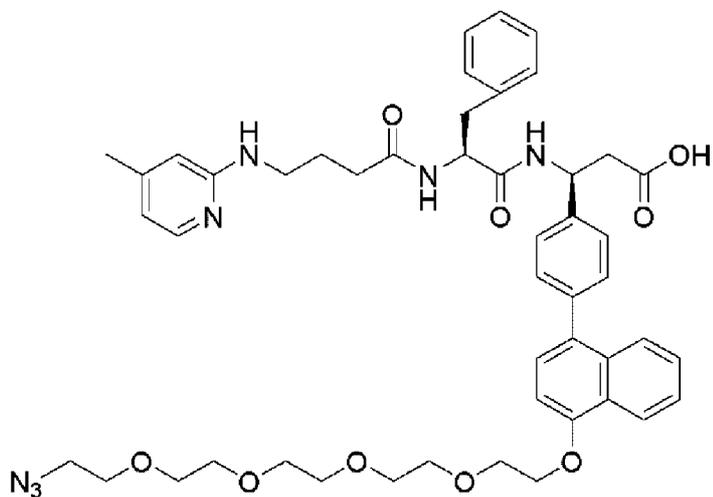




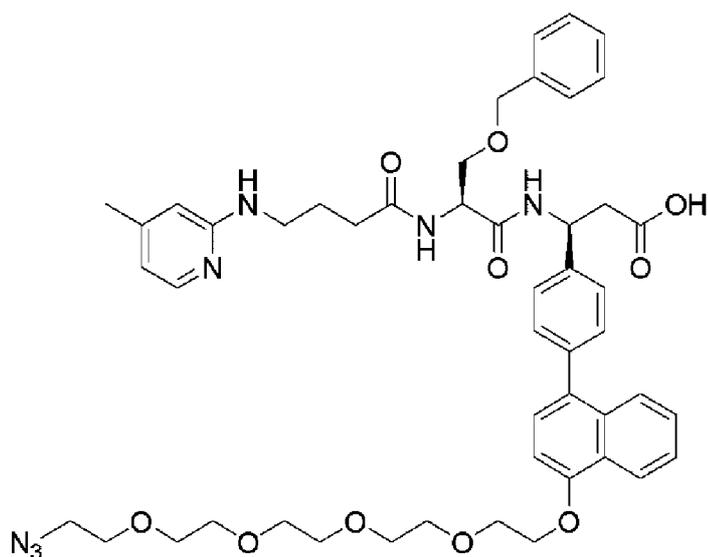
(Структура 22b),



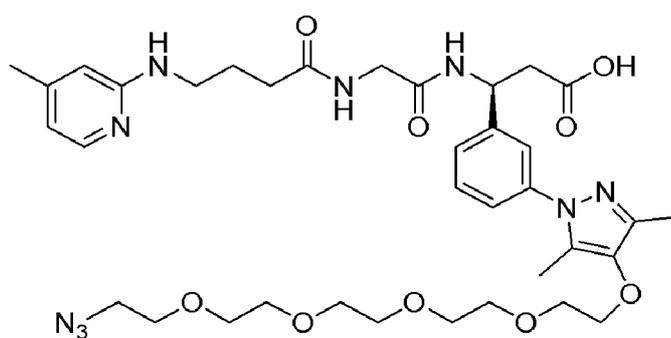
(Структура 23b),



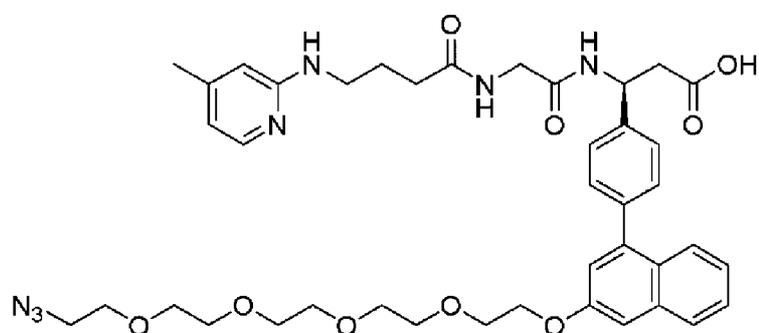
(Структура 24b),



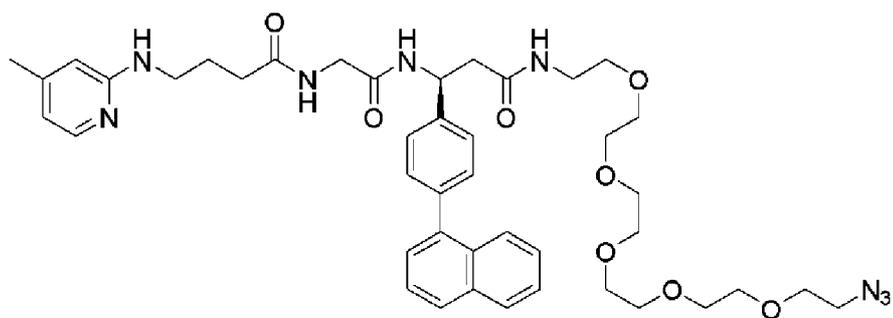
(Структура 25b),



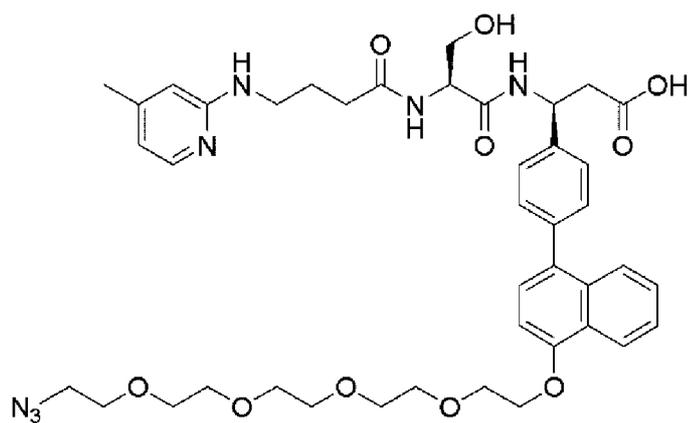
(Структура 27b),



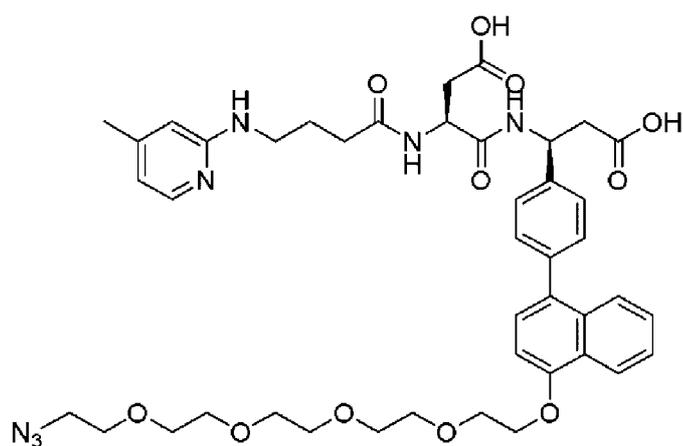
(Структура 29b),



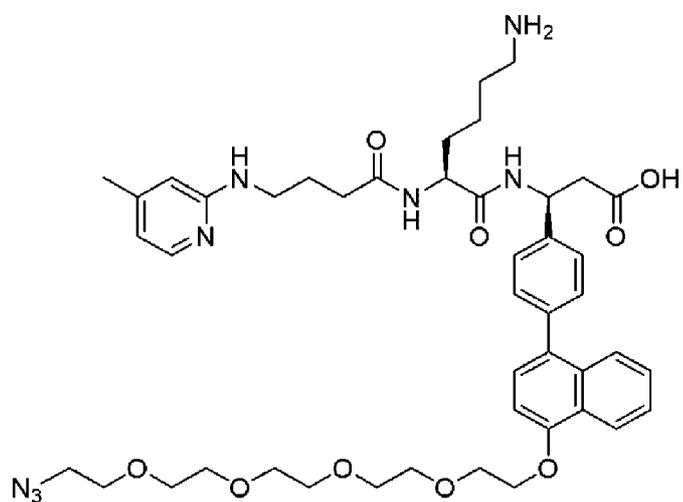
(Структура 30b),



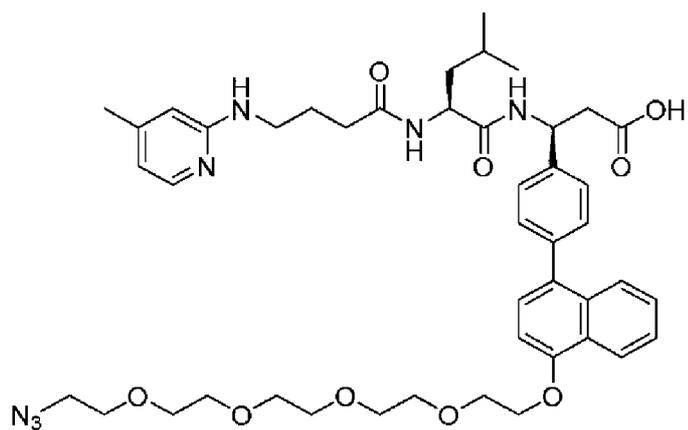
(Структура 31b),



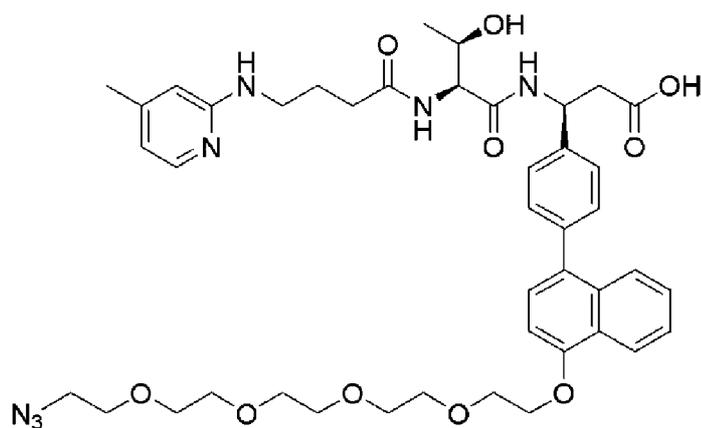
(Структура 32b),



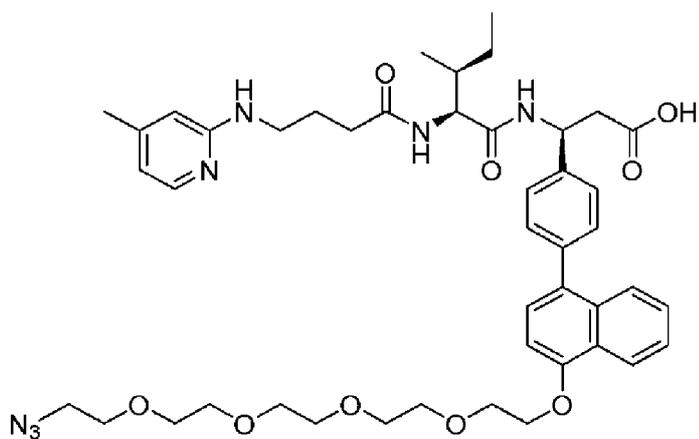
(Структура 33b),



(Структура 34b),

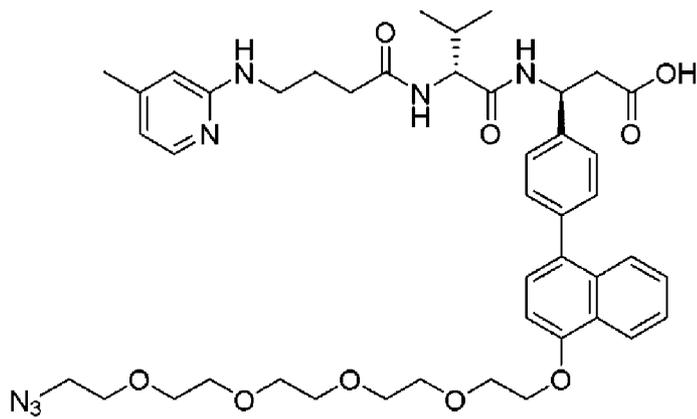


(Структура 35b),



(Структура 36b)

и



(Структура 37b),

или его фармацевтически приемлемая соль.

25. Композиция, содержащая лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ по любому из пп. 1-12 или структуру по любому из пп. 13-18, и фармацевтически приемлемый эксципиент.

26. Композиция по п.25, где лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгирован с соединением на основе олигонуклеотида, которое способно ингибировать экспрессию гена-мишени в эпителиальной клетке.

27. Композиция по п.25, где лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгирован со средством РНКи, которое способно ингибировать экспрессию гена-мишени в эпителиальной клетке.

28. Композиция по п.25, где лиганд интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ конъюгирован со средством РНКи, которое способно ингибировать экспрессию гена-мишени в бронхиолярной эпителиальной клетке.

29. Способ доставки одной или нескольких транспортируемых молекул в клетку, включающий введение в клетку лиганда интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ по любому из пп. 1-12 или структуру по любому из пп. 13-18.

30. Способ доставки одной или нескольких транспортируемых молекул в клетку или ткань субъекта в условиях *in vivo*, включающий введение субъекту лиганда интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ по любому из пп. 1-12, структуры по любому из пп.13-18, или композиции по любому из пп. 19-22.

31. Способ по п. 29 или 30, где клетка выбрана из группы, состоящей из: альвеолярных эпителиальных клеток I и II типа, бокаловидных клеток, секреторных эпителиальных клеток, реснитчатых эпителиальных клеток, эпителиальных клеток роговицы и конъюнктивы, эпителиальных клеток кожи, холангиоцитов, энтероцитов, эпителиальных клеток протоков, железистых эпителиальных клеток и клеток эпителиальных опухолей (карцином).

32. Способ по п. 29 или 30, где одна или несколько транспортируемых молекул включают соединение на основе олигонуклеотида.

33. Способ по п.32, в котором соединение на основе олигонуклеотида представляет собой средство РНКи.

34. Способ ингибирования экспрессии гена-мишени в клетке в условиях *in vivo*, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, которая включает

соединение на основе олигонуклеотида, конъюгированное с лигандом интегрина $\alpha v \beta 6$ по любому из пп. 1-12.

35. Способ по п.34, где клетка выбрана из группы, состоящей из: альвеолярных эпителиальных клеток I и II типа, бокаловидных клеток, секреторных эпителиальных клеток, реснитчатых эпителиальных клеток, эпителиальных клеток роговицы и конъюнктивы, эпителиальных клеток кожи, холангиоцитов, энтероцитов, эпителиальных клеток протоков, железистых эпителиальных клеток и клеток эпителиальных опухолей (карцином).

36. Способ по п. 34 или 35, где соединение на основе олигонуклеотида представляет собой средство РНКи.

По доверенности