

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **039072**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2021.11.30**

(21) Номер заявки  
**201800444**

(22) Дата подачи заявки  
**2017.01.24**

(51) Int. Cl. **C07D 498/18** (2006.01)  
**A61K 31/535** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

---

**(54) ПРОИЗВОДНЫЕ МАЙТАНСИНОИДА, ИХ КОНЬЮГАТЫ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ**


---

(31) **62/286,858**

(32) **2016.01.25**

(33) **US**

(43) **2019.04.30**

(86) **PCT/US2017/014782**

(87) **WO 2017/132173 2017.08.03**

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

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

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

(56) **WO-A2-2012177837**  
**WO-A1-2012061590**

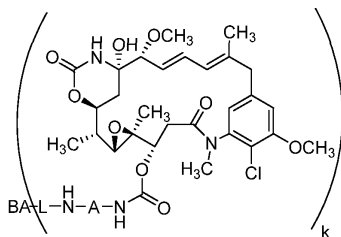
THOMAS H. PILLOW ET AL.: "Site-Specific Trastuzumab Maytansinoid Antibody-Drug Conjugates with Improved Therapeutic Activity through Linker and Antibody Engineering", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 57, no. 19, 9 October 2014 (2014-10-09), pages 7890-7899, XP055268691, US ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/jm500552c the whole document

ROBERT Y. ZHAO ET AL.: "Synthesis and Evaluation of Hydrophilic Linkers for Antibody-Maytansinoid Conjugates", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 54, no. 10, 26 May 2011 (2011-05-26), pages 3606-3623, XP055046274, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/jm2002958 the whole document

PAULIN L. SALOMON ET AL.: "Sensitive ELISA Method for the Measurement of Catabolites of Antibody-Drug Conjugates (ADCs) in Target Cancer Cells", MOLECULAR PHARMACEUTICS, vol. 12, no. 6, 1 June 2015 (2015-06-01), pages 1752-1761, XP055352192, US ISSN: 1543-8384, DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00028 the whole document

**WO-A1-2014065661**

(57) В изобретении предложены соединения майтансиноидов, производные таких соединений и образованные ими конъюгаты и способы лечения или профилактики пролиферативных заболеваний с использованием этих соединений.



(I)

**039072**  
**B1**

**039072**  
**B1**

В данной заявке испрашивается приоритет и преимущества согласно предварительной заявке на патент США № 62/286,858, озаглавленной "Производные майтанзиноида, их конъюгаты и способы применения", поданной 25 января 2016 г. Содержание этой предварительной заявки на патент полностью и во всех отношениях включено в настоящую заявку посредством ссылки.

### Область техники, к которой относится изобретение

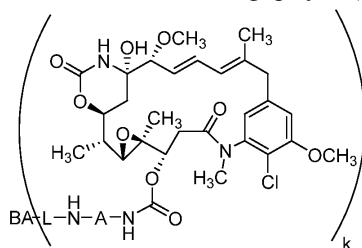
Настоящее изобретение относится к соединениям майтанзиноидов, производным таких соединений и образованным ими конъюгатам, способам получения этих соединений и способам лечения или профилактики пролиферативных заболеваний с использованием этих соединений.

### Предпосылки создания изобретения

Пролиферативные заболевания, например рак, характеризуются неконтролируемым ростом аномальных клеток. Современные подходы к лечению пролиферативных заболеваний включают хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию, гормональную терапию и/или иммунотерапию. При некоторых из этих подходов, в частности химиотерапии, используются антипролиферативные лекарственные средства, ограничивающие распространение аномальных клеток. Однако эти лекарственные средства, как правило, не обладают избирательной способностью при уничтожении клеток и поражают как здоровые, так и больные клетки. Для решения этой проблемы исследуются разнообразные подходы к направленной доставке лекарственного вещества, включая использование конъюгатов, образованных зондами с направленным действием (например, антителами или факторами роста) и токсинами, с целью избирательного поражения аномальных клеток. Конъюгаты антитела с лекарственным препаратом (КАЛ) - соединения, состоящие из антитела, связанного химическим линкером с цитотоксическим веществом. В таких соединениях для доставки цитотоксического вещества в аномальную клетку используется специфичность связывания антитела с соответствующей мишенью. Таким образом, существует потребность в антипролиферативных соединениях и образованных ими конъюгатах.

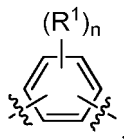
### Краткое изложение сущности изобретения

В настоящем документе предложены соединения по формуле (I)



(I)

или их фармацевтически приемлемая соль или стереоизомер, где А является



где R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, выбирают из C<sub>1-6</sub>алкила, C<sub>2-6</sub>алкенила, C<sub>2-6</sub>алкинила, C<sub>1-6</sub>алкокси, C<sub>6-10</sub>арила, C<sub>1-6</sub>алк-C<sub>6-10</sub>арила, C<sub>6-10</sub>арил-C<sub>1-6</sub>алкила, гало, C<sub>1-6</sub>галоалкила, C<sub>1-6</sub>галоалкокси, гетеро-C<sub>1-6</sub>алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{L}^A$ , или азидо, где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода, и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

R<sup>A</sup> является C<sub>1-6</sub>алкилом;

n представляет собой целое число от 0 до 4;

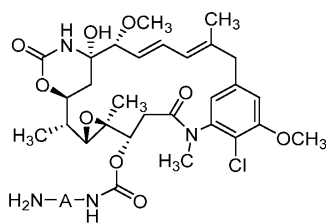
каждый  $\text{---}$  и  $\text{---}$  является связью от А к -NH-;

L представляет собой линкер,

BA является связующим агентом, где связующий агент представляет собой антитело или его антиген-связывающий фрагмент; и

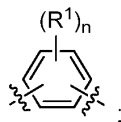
k представляет собой целое число от 1 до 30.

В настоящем изобретении предложены также соединения формулы (II)



(II)

или его фармацевтически приемлемая соль либо стереоизомер, где А представляет собой



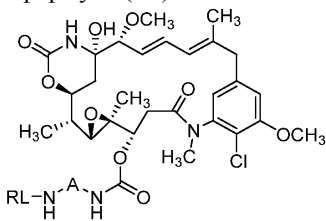
$R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ ал-

кила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}-OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}-SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}-\overset{O}{\parallel}R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил; и

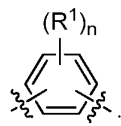
n представляет собой целое число от 0 до 4.

Также предложено соединение по формуле (P1)



(P1)

где А представляет собой



$R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ ал-

кила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}-OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}-SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}-\overset{O}{\parallel}R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом;

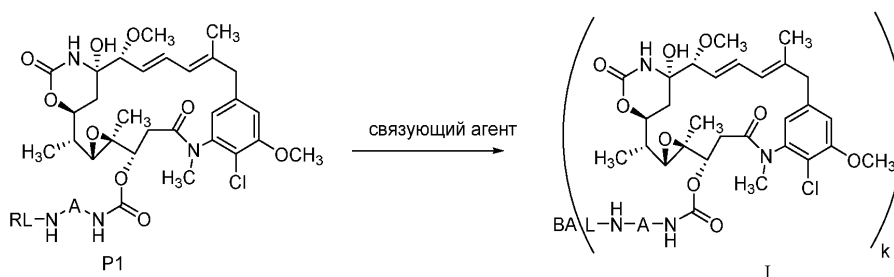
n представляет собой целое число от 0 до 4; и

RL представляет собой реакционноспособный линкер.

Далее предложены способы лечения пролиферативных заболеваний, включающие введение описанных в настоящем изобретении соединений.

Далее предложены способы лечения пролиферативных заболеваний, включающие введение описанных в настоящем изобретении конъюгатов.

Далее предложены способы получения соединения по формуле (I), включающие приведение соединения по формуле (P1) в контакт со связывающим агентом



Далее в настоящем изобретении предложены способы получения соединения по формуле (P1), включающие приведение соединения по формуле (II) в контакт с описанным в настоящем изобретении реакционноспособным линкером (RL).

Далее в настоящем изобретении предложены способы получения соединения по формуле (II), включающие приведение соединения по формуле (PP5A) в контакт с подходящим восстанавливающим агентом.

### Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлен график зависимости, выраженной в %, жизнеспособности клеток OVCAR3 от концентрации ( $\text{Log}_{10} [M]$ ) определенных соединений, протестированных в примере 28;

на фиг. 2 представлен график зависимости, выраженной в %, жизнеспособности клеток SKBr3 от концентрации ( $\text{Log}_{10} [M]$ ) определенных соединений, протестированных в примере 28;

на фиг. 3 представлен график зависимости, выраженной в %, жизнеспособности клеток SKBr3 от концентрации ( $\text{Log}_{10} [M]$ ) определенных соединений, протестированных в примере 28;

на фиг. 4 представлен график зависимости, выраженной в %, жизнеспособности клеток SKBr3 от концентрации ( $\text{Log}_{10} [M]$ ) определенных соединений, протестированных в примере 28;

на фиг. 5 представлен график зависимости, выраженной в %, жизнеспособности клеток SKBr3 от концентрации ( $\text{Log}_{10} [M]$ ) определенных соединений, протестированных в примере 28;

на фиг. 6 представлен график зависимости, выраженной в %, жизнеспособности клеток C4-2 от концентрации ( $\text{Log}_{10} [M]$ ) определенных соединений, протестированных в примере 28;

на фиг. 7 представлен график зависимости, выраженной в %, жизнеспособности клеток C4-2 от концентрации ( $\text{Log}_{10} [M]$ ) определенных соединений, протестированных в примере 28;

на фиг. 8 представлен график зависимости, выраженной в %, жизнеспособности клеток C4-2 от концентрации ( $\text{Log}_{10} [M]$ ) определенных соединений, протестированных в примере 28;

на фиг. 9 отражена схема реакции, упоминаемой в примере 1;

на фиг. 10 отражена схема реакции, упоминаемой в примере 2;

на фиг. 11 отражена схема реакции, упоминаемой в примере 3;

на фиг. 12 отражена схема реакции, упоминаемой в примере 4;

на фиг. 13 отражена схема реакции, упоминаемой в примере 5;

на фиг. 14 отражена схема реакции, упоминаемой в примере 6;

на фиг. 15 отражена схема реакции, упоминаемой в примере 7;

на фиг. 16 отражена схема реакции, упоминаемой в примере 8;

на фиг. 17 отражена схема реакции, упоминаемой в примере 9;

на фиг. 18 показан развернутый масс-спектр моноклонального антитела, конъюгированного с MCC-DM1, из примера 26.

### Подробное описание изобретения

#### А. Определения.

В настоящем изобретении термин "алкил" относится к одновалентному и насыщенному углеводородному радикальному фрагменту. Алкил является необязательно замещенным фрагментом и может быть линейным, разветвленным или циклическим, т.е. циклоалкилом. Алкил включает, не ограничиваясь перечисленным, фрагменты, содержащие от 1 до 20 атомов углерода, т.е.  $C_{1-20}$ алкил; от 1 до 12 атомов углерода, т.е.  $C_{1-12}$ алкил; от 1 до 8 атомов углерода, т.е.  $C_{1-8}$ алкил; от 1 до 6 атомов углерода, т.е.  $C_{1-6}$  алкил; и 1-3 атома углерода, т.е.  $C_{1-3}$ алкил. Примеры алкильных фрагментов включают, не ограничиваясь перечисленным, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, изобутил, пентильный фрагмент, гексильный фрагмент, циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил.

В настоящем изобретении термин "галоалкил" относится к алкилу согласно вышеприведенному определению, где алкил включает по меньшей мере один заместитель, выбираемый из галогенов, например F, Cl, Br или I.

В настоящем изобретении термин "алкенил" относится к одновалентному углеводородному радикальному фрагменту, содержащему не менее двух атомов углерода и одну или несколько неароматических углерод-углеродных двойных связей. Алкенил необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкенил включает, не ограничиваясь перечисленным, фрагменты, содержащие от 2 до 20 атомов углерода, т.е.  $C_{2-20}$ алкенил; от 2 до 12 атомов углерода, т.е.  $C_{2-12}$ алкенил; от 2 до 8 атомов углерода, т.е.  $C_{2-8}$ алкенил; от 2 до 6 атомов углерода, т.е.  $C_{2-6}$ алкенил; и от 2 до 4 атомов уг-

лерода, т.е. C<sub>2-4</sub>алкенил. Примеры алкенильных фрагментов включают, не ограничиваясь перечисленным, винил, пропенил, бутенил и циклогесенил. В настоящем изобретении термин "алкинил" относится к одновалентному углеводородному радикальному фрагменту, содержащему не менее двух атомов углерода и одну или несколько углерод-углеродных тройных связей. Алкинил необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкинил включает, не ограничиваясь перечисленным, фрагменты, содержащие от 2 до 20 атомов углерода, т.е. C<sub>2-20</sub>алкинил; от 2 до 12 атомов углерода, т.е. C<sub>2-12</sub>алкинил; от 2 до 8 атомов углерода, т.е. C<sub>2-8</sub>алкинил; от 2 до 6 атомов углерода, т.е. C<sub>2-6</sub>алкинил; и от 2 до 4 атомов углерода, т.е. C<sub>2-4</sub>алкинил. Примеры алкинильных фрагментов включают, не ограничиваясь перечисленным, этинил, пропилил и бутинил.

В настоящем изобретении термин "алкокси" относится к одновалентному и насыщенному углеводородному радикальному фрагменту, где углеводород включает одну связь с атомом кислорода, и где радикал локализован на атоме кислорода, например CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-O в случае этоксирадикала. Алкоксизаместители связаны с соединением, в котором они являются заместителями через этот атом кислорода алкоксизаместителя. Алкоксирадикал необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим, т.е. циклоалкокси. Алкокси включает, не ограничиваясь перечисленным, фрагменты, содержащие от 1 до 20 атомов углерода, т.е. C<sub>1-20</sub>алкокси; от 1 до 12 атомов углерода, т.е. C<sub>1-12</sub>алкокси; от 1 до 8 атомов углерода, т.е. C<sub>1-8</sub>алкокси; от 1 до 6 атомов углерода, т.е. C<sub>1-6</sub>алкокси; и от 1 до 3 атомов углерода, т.е. C<sub>1-3</sub>алкокси. Примеры алкоксифрагментов включают, не ограничиваясь перечисленным, метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-бутокси, втор-бутокси, трет-бутокси, изобутокси, пентоксифрагмент, гексоксифрагмент, циклопропокси, циклобутокси, циклопентокси, и циклогексокси.

В настоящем изобретении термин "галоалкокси" относится к алкоксифрагментам согласно вышеприведенному определению, где алкокси включает по меньшей мере один заместитель, выбираемый из галогенов, например F, Cl, Br или I. В настоящем изобретении термин "арил" относится к одновалентному фрагменту, являющемуся радикалом ароматического соединения, где кольцевые атомы представлены атомами углерода. Арил необязательно замещен и может быть моноциклическим или полициклическим, например бициклическим или трициклическим. Примеры арилов включают, не ограничиваясь перечисленным, фрагменты, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, т.е. C<sub>6-20</sub>арил; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, т.е. C<sub>6-15</sub>арил, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, т.е. C<sub>6-10</sub>арил. Примеры арильных фрагментов включают, не ограничиваясь перечисленным, фенил, нафтил, флуоренил, азуленил, антрил, фенантрил и пиренил.

В настоящем изобретении "арилен" относится к двухвалентному фрагменту ароматического соединения, где кольцевые атомы представлены только атомами углерода. Арилен является необязательно замещенным и может быть моноциклическим или полициклическим, например бициклическим или трициклическим. Примеры арильных фрагментов включают, не ограничиваясь перечисленным, фрагменты, содержащие от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, т.е. C<sub>6-20</sub>арилен; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, т.е. C<sub>6-15</sub>арилен, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, т.е. C<sub>6-10</sub>арилен.

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

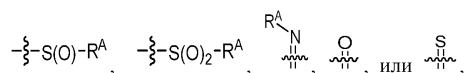
В настоящем изобретении термин "гетероалкил" относится к алкилу, в котором один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. В настоящем изобретении "гетероалкенил" относится к алкенилу, в котором один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. В настоящем изобретении "гетероалкинил" относится к алкенилу, в котором один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами.

Соответствующие гетероатомы включают, не ограничиваясь перечисленным, атомы азота, кислорода и серы. Гетероалкил является необязательно замещенным.

В настоящем изобретении термин "гетероарил" относится к одновалентному фрагменту, являющемуся радикалом ароматического соединения, отличающемуся тем, что в число кольцевых атомов входят атомы углерода и по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора. Примеры гетероарильных фрагментов включают, не ограничиваясь перечисленным, фрагменты, содержащие от 5 до 20 кольцевых атомов, от 5 до 15 кольцевых атомов и от 5 до 10 кольцевых атомов. Гетероарил является необязательно замещенным.

В настоящем изобретении термин "гетероарилен" относится к арилену, в котором один или несколько кольцевых атомов углерода в ароматическом кольце замещены атомом кислорода, серы, азота или фосфора. Гетероарилен является необязательно замещенным и может быть моноциклическим или полициклическим, например бициклическим или трициклическим.

В настоящем изобретении термин "необязательно замещенный" при использовании для описания радикального фрагмента, например, необязательно замещенный алкил, означает, что такой фрагмент необязательно связан с одним или несколькими заместителями. Примеры таких заместителей включают, не ограничиваясь перечисленным, гало, циано, нитро, галоалкил, азидо, эпокси, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенный гетероциклоалкил,  $\text{-OR}^A$ ,  $\text{-SR}^A$ ,  $\text{-OR}^A$ ,  $\text{-OR}^A$ ,



где  $R^A$ , независимо в каждом случае, представляют собой алкил, алкенил, алкинил, арил, алкарил, арилалкил, гетероарил или гетероциклоалкил, или  $R^A$ , вместе с атомами, с которыми он связан, образует насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, где кольцо является необязательно замещенным, и где один или несколько кольцевых атомов необязательно замещены гетероатомом.

В настоящем изобретении термин "связующий агент" относится к молекуле, способной к связыванию и обладающей специфичностью к определенному партнеру по связыванию.

В настоящем изобретении термин "линкер" относится к двухвалентному фрагменту, который ковалентно присоединяет связующий агент к майтанзиноидам и их производным, описанным в настоящем документе.

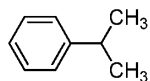
В настоящем изобретении термин "условия синтеза амидов" относится к условиям реакции, пригодной для того, чтобы приводить к образованию амида, например, посредством взаимодействия карбоновой кислоты, активированной карбоновой кислоты или ацилгалогенида с амином. В некоторых примерах термин "условия синтеза амидов" относятся к условиям реакции, пригодной для того, чтобы приводить к образованию амидной связи между карбоновой кислотой и амином. В некоторых из этих примеров карбоновую кислоту перед взаимодействием с амином с образованием амида вначале подвергают преобразованию в активированную карбоновую кислоту. Подходящие условия для образования амида включают, не ограничиваясь перечисленным, использование реагентов с целью обеспечения взаимодействия между карбоновой кислотой и амином, включая, в частности, следующие реагенты: дициклогексилкарбодиимид (DCC), диизопропилкарбодиимид (DIC), (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат (BOP), (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyBOP), (7-азабензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyAOP), бромтрипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyBrOP), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат (HBTU), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторборат (TBTU), 1-[бис(диметиламино)метиле]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния 3-оксид гексафторфосфат (HATU), 2-этокси-1-этоксикарбонил-1,2-дигидрохиолин (EEDQ), 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (EDC), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния гексафторфосфат (CIP), 2-хлор-4,6-диметокси-1,3,5-триазин (CDMT) и карбонилдиимидазол (CDI). В некоторых примерах карбоновую кислоту перед взаимодействием с амином с образованием амидной связи вначале подвергают преобразованию в активированный эфир карбоновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения карбоновая кислота взаимодействует с реагентом. Реагент активирует карбоновую кислоту, депротонируя карбоновую кислоту и затем образуя комплекс с депротонированной карбоновой кислотой в результате нуклеофильной атаки депротонированной карбоновой кислоты на протонированный реагент. В случае некоторых карбоновых кислот этот активированный сложный эфир впоследствии более чувствителен к нуклеофильной атаке амина, чем карбоновая кислота до превращения ее в активированный сложный эфир. Это приводит к образованию амидной связи. По существу, карбоновая кислота описывается, как активированная. Примеры реагентов включают DCC и DIC.

В настоящем изобретении термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству (соединения), достаточного для обеспечения терапевтического эффекта у пациента при применении для лечения или управления заболеванием или нарушением либо для задержки или минимизации развития одного или нескольких симптомов, ассоциированных с заболеванием или нарушением. В настоящем изобретении термин "кислота Льюиса" относится к молекуле или иону, которые акцептируют неподеленную пару электронов. В описанных в настоящем изобретении способах используются кислоты Льюиса, не являющиеся протоном. Кислоты Льюиса включают, не ограничиваясь перечисленным, кислоты, образованные металлами, кислоты, образованные неметаллами, жесткие кислоты Льюиса и мягкие кислоты Льюиса. Кислоты Льюиса включают, не ограничиваясь перечисленным, кислоты Льюиса, образованные алюминием, бором, железом, оловом, титаном, магнием, медью, сурьмой, фосфором, серебром, иттербием, скандием, никелем и цинком. Иллюстративные кислоты Льюиса включают, не ограничиваясь перечисленным,  $AlBr_3$ ,  $AlCl_3$ ,  $BCl_3$ , бора трихлорид метилсульфид,  $BF_3$ , бора трифторид метилэфират, бора трифторид метилсульфид, бора трифторид тетрагидрофуран, дициклогексилбора трифторметансульфонат, железа(III) бромид, железа(III) хлорид, олова(IV) хлорид, титана(IV) хлорид, титана(IV) изопропоксид,  $Cu(OTf)_2$ ,  $CuCl_2$ ,  $CuBr_2$ , цинка хлорид, алкилалюминия галогениды ( $R_nAlX_{3-n}$ , где R является гидрокарбиллом),  $Zn(OTf)_2$ ,  $ZnCl_2$ ,  $Yb(OTf)_3$ ,  $Sc(OTf)_3$ ,  $MgBr_2$ ,  $NiCl_2$ ,  $Sn(OTf)_2$ ,  $Ni(OTf)_2$ , и  $Mg(OTf)_2$ .

Некоторые группы, фрагменты, заместители и атомы показаны с волнистой линией, пересекающей связь или связи, чтобы указать атом, посредством которого осуществляется связь групп, фрагментов, заместителей, атомов. Например, фенильная группа, замещенная пропильной группой и показанная следующим образом:

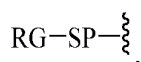


имеет следующую структуру:

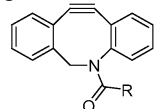


В настоящем документе иллюстрации, показывающие заместители, связанные с циклической группой (например, ароматической, гетероароматической, конденсированным кольцом и насыщенным или ненасыщенным циклоалкилом или гетероциклоалкилом) через связь между кольцевыми атомами, следует понимать, если не указано иное, что циклические группы могут быть замещены заместителем в любом положении кольца в циклической группе или в любом кольце группы конденсированных колец в соответствии с изложенными в настоящем документе техническими приемами или приемами, известными в области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение. Когда описанная в настоящем документе группа необязательно замещена, связанный с группой заместитель незамещен, если не указано иное.

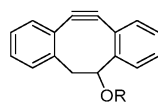
В настоящем изобретении фраза "реакционноспособный линкер", или сокращение "RL", относится к одновалентной группе, которая включает реакционноспособную группу и группу-спейсер, показанные, например, как



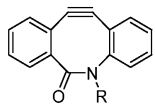
где RG представляет собой реакционноспособную группу и SP представляет собой группу-спейсер. Как описано в настоящем документе, реакционноспособный линкер может содержать несколько реакционноспособных групп и несколько групп-спейсеров. Группой-спейсером является любой двухвалентный фрагмент, соединяющий реакционноспособную группу с другой группой, например, с полезной нагрузкой. Реакционноспособные линкеры (RL) вместе с полезной нагрузкой, с которой они связаны, обеспечивают промежуточные продукты ("линкер-полезная нагрузка"), которые используются в качестве синтезированных предшественников при получении описанных в настоящем документе конъюгатов с антителом. Реакционноспособный линкер содержит реакционноспособную группу ("RG"), которая является функциональной группой или фрагментом, способным взаимодействовать с реакционноспособным фрагментом другой группы, например антителом, модифицированным антителом или их антиген-связывающим фрагментом, либо с усиливающей эффект группой. Фрагмент, образующийся в результате реакции между реакционноспособной группой и антителом, модифицированным антителом или их антиген-связывающим фрагментом, вместе с линкерными группами включает фрагмент описанного в настоящем документе конъюгата, представляющий собой "линкер связующего агента" ("BL"). В некоторых вариантах осуществления изобретения "реакционноспособной группой" является функциональная группа или фрагмент (например, сложный эфир малеимида или N-гидроксисукцинимид (NHS)), который взаимодействует с остатком цистеина или лизина в молекуле антитела или его антиген-связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособной группой является функциональная группа или фрагмент, способные вступать в клик-химические реакции (см., например, клик-химия, Huisgen Proc. Chem. Soc. 1961, Wang et al. J. Am. Chem. Soc. 2003, и Agard et al. J. Am. Chem. Soc. 2004). В некоторых вариантах такой клик-химической реакции реакционноспособной группой является алкилен, способный вступать в реакции 1,3-циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реакционноспособные группы включают, не ограничиваясь перечисленным, напряженные алкины, например, подходящие для активируемых напряжением реакций циклоприсоединения между алкином и азидом (SPAAC), циклоалкины, например, циклооктины, бензаннелированные алкины и алкины, способные вступать в реакции 1,3-циклоприсоединения с алкинами в отсутствие медных катализаторов. Подходящие алкины также включают, не ограничиваясь перечисленным, дибензоазациклооктин или



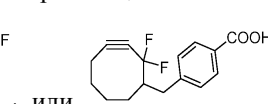
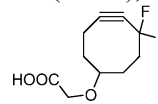
(DIBAC), дибензоциклооктин или



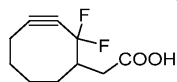
(DIBO), биарилазациклооктинон или



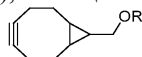
(BARAC), дифторированный циклооктин или



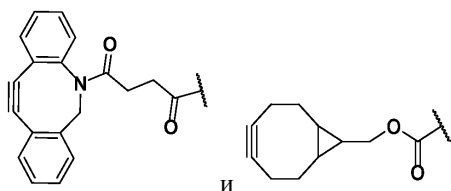
, или , или




(DIFO), замещенные, например, фторированными алкинами, азациклоалкинами, бицикло[6.1.0]нонином или

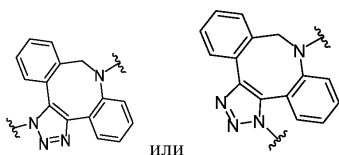



(BCN, где R является алкилом, алкокси или ацилом) и их производными. В частности, полезные алкины включают




Фрагменты линкер-полезная нагрузка, включающие такие реакционноспособные группы, используются для конъюгирования антител, функционализированных азидными группами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные азидополиэтиленгликольными группами. В некоторых вариантах осуществления изобретения такие функционализированные антитела получают обработкой антитела, содержащего по меньшей мере один остаток глутамина, например тяжелой цепи Gln195, соединением, несущим азидную группу, в присутствии фермента трансглутаминазы. В не-

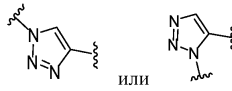
которых примерах реакционноспособной группой является алкин, например , который может вступать в клик-химическую реакцию с азидом, например  $N=N=N$ , с образованием клик-химического продукта, например



В некоторых примерах группа взаимодействует с азидом молекулы модифицированного антитела или его антиген-связывающего фрагмента. В некоторых примерах реакционноспособной группой является алкин, например , который может вступать в клик-химическую реакцию с азидом, например





В некоторых примерах реакционноспособной группой является алкин, например , который может вступать в клик-химическую реакцию с азидом, например  $N=N=N$ , с образованием клик-химического

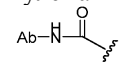
продукта, например,  или

В некоторых примерах реакционноспособной группой является функциональная группа, например



которая взаимодействует с остатком цистеина в молекуле антитела или его антиген-связывающего фрагмента с образованием связи с ним, например , где Ab относится к антителу или его антиген-связывающему фрагменту, и S представляет собой атом серы в остатке цистеина, через который функциональная группа связывается с Ab. В некоторых примерах реакционноспособной группой

является функциональная группа, например , которая взаимодействует с остатком лизина в молекуле антитела или его антиген-связывающего фрагмента с образованием связи с ним, например

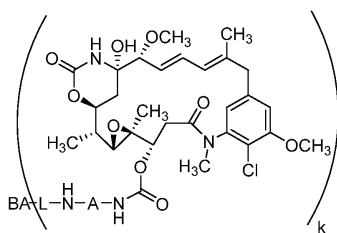


где Ab относится к антителу или его антиген-связывающему фрагменту и NH относится к атому NH на боковой цепи остатка лизина, через который функциональная группа связывается с Ab.

В. Конъюгатные соединения.

В изобретении предложены соединения по формуле (I)





(I)

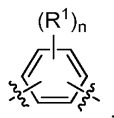
или их фармацевтически приемлемая соль или стереоизомер,  
где L представляет собой линкер;

ВА является связующим агентом, где связующий агент представляет собой антитело или его антиген-связывающий фрагмент; и

k представляет собой целое число от 1 до 30;

каждый  $\frac{x}{y}$  и  $\frac{z}{s}$  является связью от А к -NH-;

А является



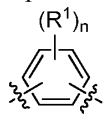
где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , или азида, где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода, и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил,

$R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом;

n представляет собой целое число от 0 до 4;

В некоторых вариантах осуществления изобретения n равен 0, 1, 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления изобретения n равен 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения n равен 0 или 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения n равен 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является

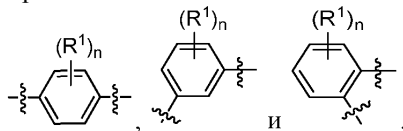


где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила и гетероциклоалкила; и

n представляет собой целое число от 0 до 4.

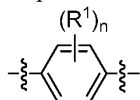
В некоторых вариантах осуществления изобретения n равен 0, 1, 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления изобретения n равен 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения n равен 0 или 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения n равен 1.

В некоторых вариантах А выбирают из

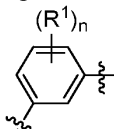


где n равен 0, 1, 2 или 3.

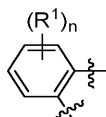
В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



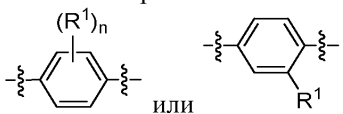
В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



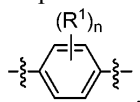
В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}O-C(=O)-R^A$ , или азидо,  $R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом;

$n$  представляет собой целое число от 0 до 4.

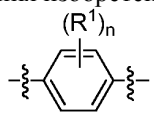
В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



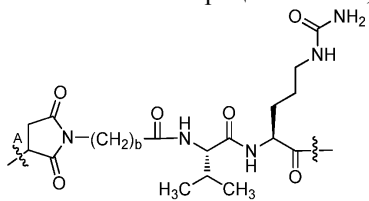
где  $n$  равен 0, 1 или 2. В некоторых примерах  $n$  равен 0 или 1; и  $R^1$  независимо представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси. В некоторых примерах  $R^1$  является гетероциклоалкилом. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил, метокси, трифторметил, фтор, хлор или бром. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых примерах  $R^1$  представляет собой пирролидинил. В некоторых примерах  $R^1$  представляет собой морфолинил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  независимо является  $C_{1-6}$ алкилом,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкилом и гетероциклоалкилом. В некоторых случаях  $R^1$  независимо выбирают из метила, метокси, фтора, хлора, брома, трифторметила, пирролидинила и морфолинила.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых примерах  $R^1$  представляет собой пирролидинил. В некоторых примерах  $R^1$  представляет собой морфолинил. В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



где  $n$  равен 0, 1 или 2. В некоторых примерах  $n$  равен 0 или 1;  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси или гетероциклоалкил; и  $L$  является



где  $b$  - целое число от 2 до 8,

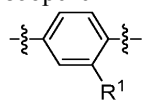


представляет собой связь со связующим агентом, и



является связью от  $-NH-A-$ .

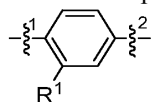
В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



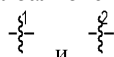
где  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси или гетеро-

циклоалкил.

В определенных вариантах из числа вышеперечисленных  $R^1$  является метокси или метилом. В отдельных вариантах осуществления изобретения  $R^1$  является метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил, метокси, трифторметил, фтор, хлор или бром. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых примерах  $R^1$  представляет собой пирролидинил. В некоторых примерах  $R^1$  представляет собой морфолинил. В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



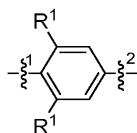
где  $R^1$ , независимо в каждом случае, представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси или гетероциклоалкил,



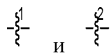
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой пирролидинил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является

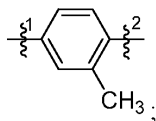


где  $R^1$ , независимо в каждом случае, представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси или гетероциклоалкил;



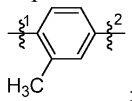
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой водород. В некоторых примерах  $R^1$  представляет собой пирролидинил. В некоторых примерах  $R^1$  представляет собой морфолинил. В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



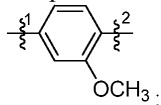
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



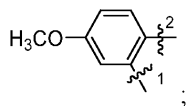
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



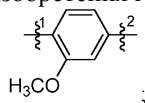
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



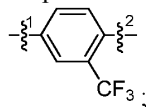
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



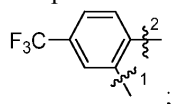
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



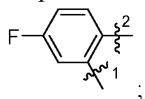
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



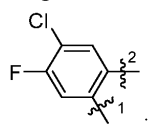
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



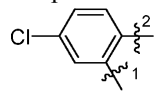
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



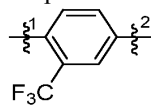
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



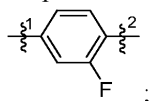
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



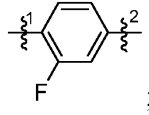
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



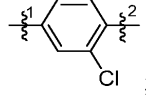
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



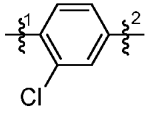
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



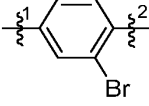
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



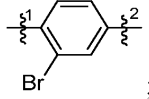
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



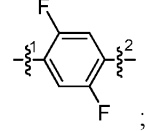
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



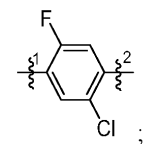
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



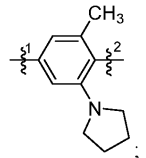
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



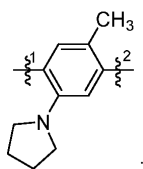
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



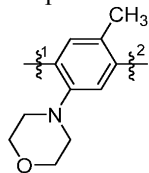
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



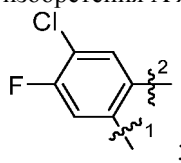
$\text{---}^1$  и  $\text{---}^2$  соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



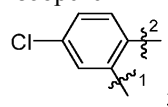
$\text{---}^1$  и  $\text{---}^2$  соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



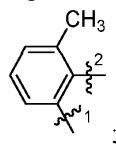
$\text{---}^1$  и  $\text{---}^2$  соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



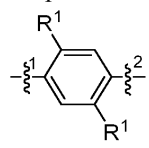
$\text{---}^1$  и  $\text{---}^2$  соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



$\text{---}^1$  и  $\text{---}^2$  соответствуют вышеприведенным определениям.

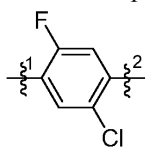
В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



где каждый  $R^1$ , независимо в каждом случае, представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$  галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси или гетероциклоалкил,

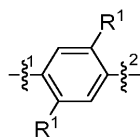
$\text{---}^1$  и  $\text{---}^2$  соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор, метил, трифторметил или метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор, хлор, бром-. В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



где  $\text{---}^1$  и  $\text{---}^2$  соответствуют вышеприведенным определениям.

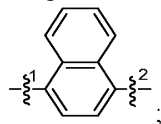
В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



где каждый R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, представляет C<sub>1-6</sub>алкил, C<sub>1-6</sub>алкокси, гало, C<sub>1-6</sub>галоалкил, C<sub>1-6</sub>галоалкокси или гетероциклоалкил; где

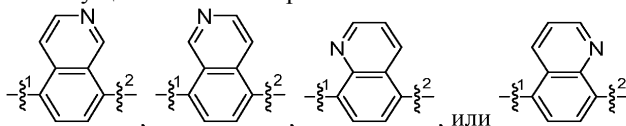
$\text{-}\overset{1}{\underset{|}{\text{C}}}\text{-}$  и  $\text{-}\overset{2}{\underset{|}{\text{C}}}\text{-}$  соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



где  $\text{-}\overset{1}{\underset{|}{\text{C}}}\text{-}$  и  $\text{-}\overset{2}{\underset{|}{\text{C}}}\text{-}$  соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



## 2. Линкеры.

Линкерная часть конъюгатов, описанных в настоящем документе, представляет собой двухвалентный фрагмент, который ковалентно связывает связывающий агент с описанными в настоящем документе майтанзиноидными соединениями и их производными. К подходящим линкерам относятся такие из них, которые высвобождают по меньшей мере часть майтанзиноида в присутствии фермента или в определенном диапазоне или при определенном значении pH.

В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит отщепляемый ферментом фрагмент. Иллюстративные отщепляемые ферментом фрагменты включают, не ограничиваясь перечисленным, пептидные связи, сложноэфирные связи, гидразона и дисульфидные связи. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит отщепляемый катепсином линкер.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособный линкер содержит неотщепляемый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения неотщепляемым реакционноспособным линкером является



или его остаток. В некоторых вариантах осуществления изобретения неотщепляемым реакционноспособным линкером является



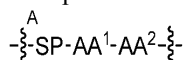
или его остаток.

К подходящим линкерам относятся также, не ограничиваясь перечисленным, химически связанные с двумя остатками цистеина одной молекулы связывающего агента, например антитела. Такие линкеры могут служить для имитации дисульфидных связей антитела, которые разрушаются в процессе конъюгации.

В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит одну или несколько аминокислот. Подходящие аминокислоты включают природные, неполоидные, стандартные, нестандартные, протеиногенные, непотеиногенные и L- или D- $\alpha$ -аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин либо их производные.

В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер содержит валин и цитруллин.

В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер является



где SP представляет собой спейсер;

$\overset{A}{\text{-}\overset{|}{\text{C}}\text{-}}$  - одна или несколько связей со связывающим агентом;

$\overset{|}{\text{C}}\text{-}$  является связью -NH-A-;

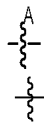
AA1 является аминокислотой и

AA2 является аминокислотой.

В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой



где SP представляет собой спейсер;



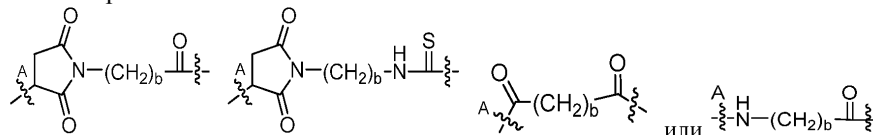
представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом;



является связью -NH-A-

В некоторых примерах спейсером является двухвалентный фрагмент, который соединяет фрагмент AA\*-AA<sup>2</sup> со связующим агентом (ВА). Подходящими спейсерами являются, не ограничиваясь перечисленным, спейсеры, содержащие алкилен или полиэтиленгликоль. Концами спейсера, т.е. участком спейсера, прямо связанным со связующим агентом или AA<sup>1</sup>, могут быть фрагменты, полученные из реакционноспособных фрагментов, которые используются в целях связывания свободного антитела или AA<sup>1</sup> со спейсером во время химического синтеза конъюгата. В некоторых примерах концами спейсера, т.е. участками спейсера, прямо связанными со связующим агентом или AA<sup>1</sup>, могут быть остатки реакционноспособных фрагментов, которые используются в целях связывания свободного антитела или AA<sup>1</sup> со спейсером во время химического синтеза конъюгата.

В некоторых вариантах осуществления изобретения спейсер содержит алкилен. В некоторых вариантах осуществления изобретения спейсер содержит C5-7 алкилен. В некоторых вариантах осуществления изобретения спейсером является



где  $\begin{array}{c} \text{A} \\ | \\ \text{---} \\ | \end{array}$  представляет собой связь со связующим агентом;



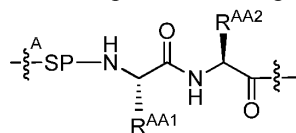
является связью -NH-A- и

b независимо представляет собой целое число от 2 до 8.

В некоторых примерах b выбирают из 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8. В некоторых примерах b равен 2. В некоторых примерах b равен 3. В некоторых примерах b равен 4. В некоторых примерах b равен 5. В некоторых примерах b равен 6. В некоторых примерах b равен 7. В некоторых примерах b равен 8. В некоторых вариантах осуществления изобретения AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup> представляет собой валин-цитруллин, цитруллин-валин, лизин-фенилаланин, фенилаланин-лизин, валин-аспарагин, аспарагин-валин, аспарагин-треонин, треонин-аспарагин, серин-аспарагин, аспарагин-серин, фенилаланин-аспарагин, аспарагин-фенилаланин, лейцин-аспарагин, аспарагин-лейцин, изолейцин-аспарагин, аспарагин-изолейцин, глицин-аспарагин, аспарагин-глицин, глутаминовую кислоту-аспарагин, аспарагин-глутаминовую кислоту, цитруллин-аспарагин, аспарагин-цитруллин, аланин-аспарагин, аспарагин-аланин, валин-аланин, аланин-валин, валин-глицин или глицин-валин.

В некоторых вариантах осуществления изобретения AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup> представляет собой валин-цитруллин или цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup> представляет собой валин-цитруллин.

В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой



где SP представляет собой спейсер;



представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом;



является связью -NH-A-;

R<sup>AA1</sup> представляет собой боковую цепь аминокислоты и

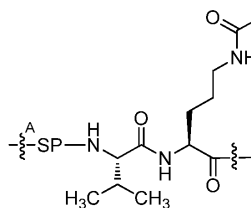
R<sup>AA2</sup> представляет собой боковую цепь аминокислоты.

В настоящем изобретении термин "боковая цепь аминокислоты" относится к одновалентному заместителю, не являющемуся водородом, связанному с α-углеродом α-аминокислоты, включающей природные и не природные аминокислоты. Примеры боковой цепи аминокислоты включают, не ограничиваясь перечисленным, заместители по α-углероду в молекулах аланина, валина, лейцина, изолейцина, ме-



тионина, триптофана, фенилаланина, пролина, серина, треонина, цистеина, тирозина, аспарагина, глутамин, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лизина, аргинина, гистидина и цитруллина.

В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой



где SP представляет собой спейсер;

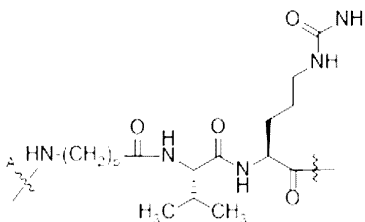
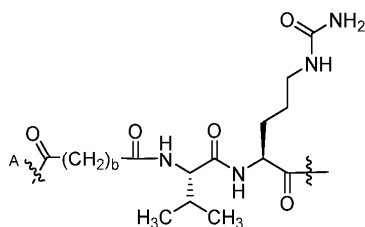
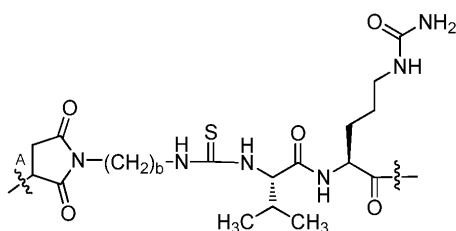
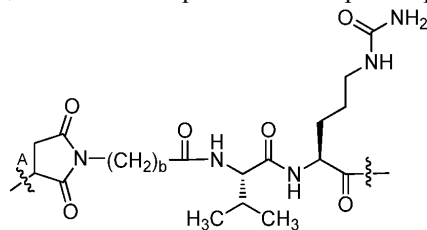


представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом;



является связью -NH-A-.

В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер выбирают из



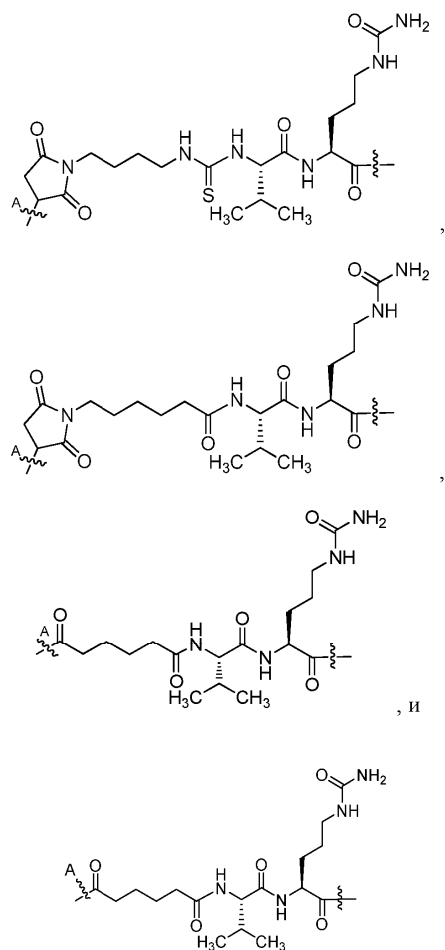
где  представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом; и



является связью -NH-A-;

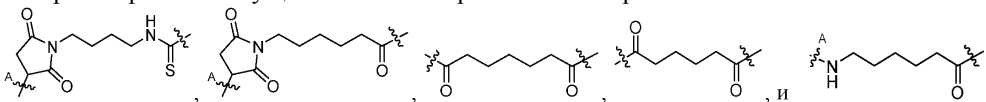
b представляет собой целое число от 2 до 8.

В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер представляет собой



где  $\text{---} \text{L} \text{---}$  представляет связь со связующим агентом; и  $\text{---} \text{L} \text{---}$  является связью -NH-A-

В некоторых вариантах осуществления изобретения L выбирают из



где  $\text{---} \text{L} \text{---}$  является связью со связующим агентом и  $\text{---} \text{L} \text{---}$  является связью -NH-A-.

### 3. Связующие агенты.

Подходящие связующие агенты включают антитела или их антиген-связывающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления изобретения связующим агентом является антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является моноклональное антитело, поликлональное антитело, фрагмент антитела (Fab, Fab' и F(ab)<sub>2</sub>), миниантитело, диатело, триотело и т.п.) или биспецифическое антитело. Описанные в настоящем документе антитела могут быть гуманизированы с применением способов, описанных в патенте США № 6596541 и публикации США № 2012/0096572, каждый из которых включены во всей полноте в данный документ посредством ссылки.

В тех случаях, когда связующим агентом является антитело, оно связано с антигеном-партнером по связыванию, являющимся полипептидом, и может быть трансмембранной молекулой (например, рецептором) или фактором роста, которая может быть гликозилированной или фосфорилированной. Иллюстративные антигены включают, не ограничиваясь перечисленным, молекулы, такие как ренин; гормон роста, включая гормон роста человека и гормон роста крупного рогатого скота; соматотропин-рилизинг-фактор; паратиреоидный гормон; тиреотропный гормон; липопротеины;  $\alpha$ 1-антитрипсин; А-цепь инсулина, В-цепь инсулина; проинсулин; фолликулостимулирующий гормон; кальцитонин; лютеинизирующий гормон; глюкагон; факторы свертывания, такие как фактор vms, фактор IX, тканевый фактор (TF) и фактор Виллебранда; противосвертывающие факторы, такие как протеин С; предсердный натрийуретический фактор; легочный сурфактант; активатор плазминогена, такой как урокиназа или активатор плазминогена урокиназного или тканевого типа (трет-РА); бомбесин; тромбин; геомпозитический фактор роста; фактор некроза опухоли- $\alpha$  и - $\beta$ ; энкефалиназа; RANTES (хемокин, выделяемый Т-клетками при активации); макрофагальный белок воспаления человека (MIP-I- $\alpha$ ); сывороточный альбумин, например сы-

вороточный альбумин человека; ингибирующее вещество Мюллера; А-цепь релаксина; В-цепь релаксина; прорелаксин; мышинный гонадотропин-ассоциированный пептид; микробный белок, например  $\beta$ -лактамаза, ДНК-аза; 19E; цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок (CTLA), такой как CTLA-4; ингибин; активин; фактор роста эндотелия сосудов (VEGF); рецепторы гормонов или факторов роста; протеин А или D; ревматоидные факторы; нейротропный фактор, такой как костный нейротрофический фактор (КНТФ), нейротрофин-3, -4, -5 или -6 (NTPET-3, NT4, NTPET-5 или NTPET-6), или нейроральный ростовой фактор, такой как NGF- $\beta$ ; тромбоцитарный ростовой фактор (ТРФ); фактор роста фибробластов, такой как aFGF и bFGF; рецептор фактора роста фибробластов 2 (FGFR2), эпидермальный фактор роста (EGF); трансформирующий фактор роста (TGF), такой как TGF- $\alpha$  и TGF- $\beta$ , включая TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, TGF- $\beta$ 4 или TGF- $\beta$ 5; инсулиноподобный фактор роста-I и -II (IGF-I и IGF-II); дес (I-3)-IGF-I (мозговой IGF-I), белки, связывающие инсулиноподобный фактор роста, EpCAM, GD3, FLT3, PSMA, PSCA, MUC1, MUC16, STEAP, STEAP2, CEA, TENB2, рецепторы EphA, рецепторы EphB, рецептор фолата, FOLRI, мезотелин, крипто,  $\alpha$ -V- $\beta$ -6, интегрин, VEGF, VEGFR, EGFR, рецептор трансферрина, IRTA1, IRTA2, IRTA3, IRTA4, IRTA5; CD-протеины, такие как CD2, CD3, CD4, CD5, CD6, CD8, CD11, CD14, CD19, CD20, CD21, CD22, CD25, CD26, CD28, CD30, CD33, CD36, CD37, CD38, CD40, CD44, CD52, CD55, CD56, CD59, CD70, CD79, CD80, CD81, CD103, CD105, CD134, CD137, CD138, CD152, или антитело, которое связывается с одним или несколькими опухолеассоциированными антигенами или рецепторами клеточной поверхности, предложенными в публикации США № 2008/0171040 или публикации США № 2008/0305044 и включенными во всей полноте в данный документ посредством ссылки; эритропоэтин; остеоиндуктивные факторы; иммунотоксины; костный морфогенетический протеин (BMP); интерферон, такой как интерферон- $\alpha$ , - $\beta$  и - $\gamma$ ; клирующие факторы (CSF), например M-CSF, GM-CSF и G-CSF; интерлейкины (ИЛ), например от ИЛ-1 до ИЛ-10; супероксиддисмутаза; рецепторы Т-лимфоцитов; белки клеточной оболочки; стимулятор гемолиза; вирусный антиген, такой как, например, часть оболочки ВИЧ; транспортные белки; "хоминг"-рецепторы; адрессины; регуляторные белки; интегрин, такие как CD11a, CD11b, CD11c, CD18, ICAM, VLA-4 и VCAM; опухолеассоциированные антигены, такие как AFP, ALK, B7H4, белки BAGE,  $\beta$ -катехин, bcr-abl, BRCA1, BORIS, CA9 (карбоангидраза IX), каспаза-8, CD20, CD40, CD123, CDK4, CEA, CLEC12A, c-kit, cMET, CTLA4, циклин-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, эндоглин, EpCAM, EphA2, ErbB2/Her2, ErbB3/Her3, ErbB4/Her4, ETV6-AMJ, Fra-1, FOLRI, белки GAGE, GD2, GD3, GloboH, глипикан-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/EBNA1, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IGF1R, LGR5, LMP2, белки MAGE, MARTPET-1, мезотелин, MLI-IAP, Muc1, Muc16, CA-125, MUM1, NA17, NGEF, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PDGFR- $\alpha$ , PDGFR- $\beta$ , PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D, PLAC1, PRLR, PRAME, PSCA, PSGR, PSMA (FOLH1), белки RAGE, Ras, RGS5, Rho, SARTPET-1, SARTPET-3, Steap-1, Steap-2, STn, сурвивин, TAG-72, TGF- $\beta$ , TMPRSS2, Tn, TNFRSF17, TRP-1, TRP-2, тирозиназа и уроплакин -3 и фрагменты любого из вышеперечисленных полипептидов. В некоторых примерах белки GAGE выбирают из GAGE-1 и GAGE-2. В некоторых примерах белки MAGE выбирают из MAGE-1, -2, -3, -4, -6 и -12.

Иллюстративные антигены включают также, не ограничиваясь перечисленным, BCMA, SLAMF7, B7H4, GPNMB, UPK3A и LGR5. Иллюстративные антигены включают также, не ограничиваясь перечисленным, MUC16, PSMA, STEAP2 и HER2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антигены включают рецептор пролактина (PRLR) или простатический специфический мембранный антиген (PSMA). В некоторых вариантах осуществления изобретения антигены включают MUC16. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигены включают STEAP2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигены включают PSMA. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигены включают HER2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигеном является рецептор пролактина (PRLR) или простатический специфический мембранный антиген (PSMA). В некоторых вариантах осуществления изобретения антигеном является MUC16. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигены включают PSMA. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигеном является HER2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигеном является STEAP2.

Связующие агенты включают также, не ограничиваясь перечисленным, белки с анкириновым повтором, интерфероны, лимфокины, такие как ИЛ-2 или ИЛ-3, гормоны, такие как инсулин, и глюкокортикоиды, факторы роста, такие как EGF, трансферрин и фибронектин III типа.

В некоторых вариантах осуществления изобретения связующие агенты взаимодействуют с опухолевыми антигенами или связываются с ними, в том числе с антигенами, специфичными для типа опухоли, или антигенами, которые являются перекрестно-реагирующими, сверхэкспрессируются или модифицированы у определенного типа опухоли. Примеры включают, не ограничиваясь перечисленным,  $\alpha$ -актинин-4 и рак легкого, ARTC1 и меланому, BCR-ABL составной белок и хронический миелоидный лейкоз, B-RAF, CLPP или Cdc27 и меланому, CASP-8 и плоскоклеточную карциному, и hsp70-2 с почечноклеточной карциномой и также следующие перекрестно-реагирующие опухолеспецифичные антигены, например, BAGE-1, GAGE, GnTV, KK-LC-1, MAGE-A2, NA88-A, TRP2-INT2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения связующим агентом является антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения связующим агентом является моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения связующим агентом является поликлональное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является антитело к PSMA, антитело к MUC16, антитело к HER2 или антитело к EGFRvIII либо антитело к STEAP-2.

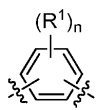
Линкеры могут быть связаны со связующим агентом, например антителом или антиген-связывающей молекулой, через присоединение к определенной аминокислоте антитела или антиген-связывающей молекулы. Иллюстративные аминокислотные присоединения, которые могут быть использованы в контексте данного аспекта изобретения, включают, например, лизин (см., например, патент США 5208020; патент США 2010/0129314; Hollander et al., *Bioconjugate Chem.*, 2008, 19:358-361; WO 2005/089808; US 5714586; US 2013/0101546 и US 2012/0585592), цистеин (см., например, патент США 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; патент США 2013/0101546 и патент США 7750116), селеноцистеин (см., например, WO 2008/122039 и Hofer et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2008, 105:12451-12456), формилглицин (см., например, Carrico et al., *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3:321-322; Agarwal et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2013, 770:46-51, и Rabuka et al., *Nat. Protocols*, 2012, 70:1052-1067), неприродные аминокислоты (см., например, WO 2013/068874, и WO 2012/166559), и кислые аминокислоты (см., например, WO 2012/05982). Линкеры могут быть конъюгированы через глутамин посредством катализируемой трансглутаминазой хемоферментативной конъюгации (см., например, Drenner et al., *Bioconjugate Chem.* 2014, 25, 569-578). Линкеры тоже могут быть конъюгированы с антиген-связывающим белком через присоединение к углеводам (см., например, патент США 2008/0305497, WO 2014/065661 и Ryan et al., *Food & Agriculture Immunol.*, 2001, 73:127-130), и дисульфидные линкеры (см., например, WO 2013/085925, WO 2010/010324, WO 2011/018611, WO 2014/197854, и Shaunak et al., *Nat. Chem. Biol.*, 2006, 2:312-313).

В некоторых вариантах осуществления изобретения связующим агентом является антитело, и антитело связано с линкером через остаток лизина. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело связано с линкером через остаток цистеина.

#### 4. Иллюстративные варианты осуществления изобретения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения

A является

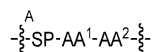


где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил; и

n представляет собой целое число от 0 до 4,

L является



где SP представляет собой спейсер;



представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом;

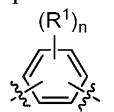


является связью -NH-A-;

$AA^1$  представляет собой аминокислоту; и

$AA^2$  представляет собой аминокислоту.

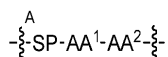
В некоторых вариантах осуществления изобретения A является



где  $R^1$ , независимо в каждом случае, представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{1-6}$ галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси-;

n представляет собой целое число от 0 до 4;

L является



где SP представляет собой спейсер;

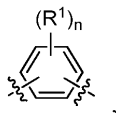
$\overset{\text{A}}{\underset{\text{L}}{\text{C}}}$  представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом;

$\overset{\text{A}}{\text{C}}$  является связью от -NH-A-;

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

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

В некоторых вариантах осуществления изобретения A является

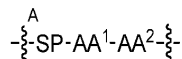


где R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, представляет собой C<sub>1-6</sub>алкил, C<sub>2-6</sub>алкенил, C<sub>2-6</sub>алкинил, C<sub>1-6</sub>алкокси, C<sub>6-10</sub>арил, C<sub>1-6</sub>алк-C<sub>6-10</sub>арил, C<sub>6-10</sub>арил-C<sub>1-6</sub>алкил, гало, C<sub>1-6</sub>галоалкил, C<sub>1-6</sub>галоалкокси, гетеро-C<sub>1-6</sub>

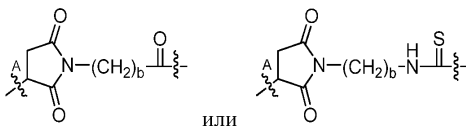
алкил, гетероарил, гетероциклоалкил, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{R}^A$ , и азидо;

где R<sup>A</sup> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкил;

L является



где SP является



$\overset{\text{A}}{\underset{\text{L}}{\text{C}}}$  представляет собой связь со связующим агентом;

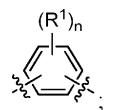
$\overset{\text{A}}{\text{C}}$  является связью от -NH-A-;

b представляет собой целое число от 2 до 8;

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

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

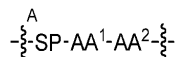
В некоторых вариантах осуществления изобретения A является



R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, выбирают из C<sub>1-6</sub>алкила, C<sub>1-6</sub>алкокси, C<sub>1-6</sub>галоалкила, C<sub>1-6</sub>галоалкокси и гетероциклоалкила;

n представляет собой целое число от 0 до 4; и

L является



где SP представляет собой спейсер;

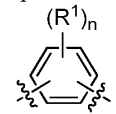
$\overset{\text{A}}{\underset{\text{L}}{\text{C}}}$  представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом;

$\overset{\text{A}}{\text{C}}$  является связью от -NH-A-;

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

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

В некоторых вариантах осуществления изобретения A является



R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, выбирают из C<sub>1-6</sub>алкила, C<sub>1-6</sub>алкокси, C<sub>1-6</sub>галоалкила, C<sub>1-6</sub>галоалкокси и гетероциклоалкила;

n представляет собой целое число от 0 до 4; и

L является

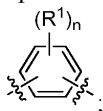


где SP представляет собой спейсер;

$\begin{array}{c} \text{A} \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array}$  представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом;

$\begin{array}{c} \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array}$  является связью от -NH-A-;

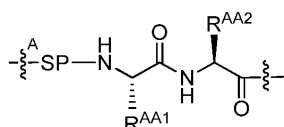
В некоторых вариантах осуществления изобретения A является



где  $\text{R}^1$ , независимо в каждом случае, представляет собой  $\text{C}_{1-6}$ алкил,  $\text{C}_{1-6}$ алкокси,  $\text{C}_{1-6}$  галоалкил,  $\text{C}_{1-6}$  галоалкокси, гало или гетероциклоалкил;

n равен 0, 1, или 2; и

L является



где SP представляет собой спейсер;

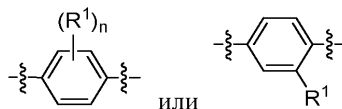
$\begin{array}{c} \text{A} \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array}$  представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом;

$\begin{array}{c} \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array}$  является связью от -NH-A-;

$\text{R}^{\text{AA1}}$  представляет собой боковую цепь аминокислоты; и

$\text{R}^{\text{AA2}}$  представляет собой боковую цепь аминокислоты.

В некоторых вариантах осуществления изобретения A является



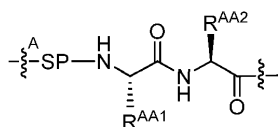
где  $\text{R}^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $\text{C}_{1-6}$ алкила,  $\text{C}_{2-6}$ алкенила,  $\text{C}_{2-6}$ алкинила,  $\text{C}_{1-6}$ алкокси,  $\text{C}_{6-10}$ арила,  $\text{C}_{1-6}$ алк- $\text{C}_{6-10}$ арила,  $\text{C}_{6-10}$ арил- $\text{C}_{1-6}$ алкила, гало,  $\text{C}_{1-6}$ галоалкила,  $\text{C}_{1-6}$ галоалкокси, гетеро-

$\text{C}_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $\text{---OR}^{\text{A}}$ ,  $\text{---SO}_2\text{R}^{\text{A}}$ ,  $\text{---C(=O)R}^{\text{A}}$ , и азидо;

$\text{R}^{\text{A}}$  представляет собой  $\text{C}_{1-6}$ алкил;

n представляет собой целое число от 0 до 4;

L является



где SP представляет собой спейсер;

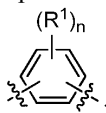
$\begin{array}{c} \text{A} \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array}$  представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом;

$\begin{array}{c} \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array}$  является связью от -NH-A-;

$\text{R}^{\text{AA1}}$  представляет собой боковую цепь аминокислоты; и

$\text{R}^{\text{AA2}}$  представляет собой боковую цепь аминокислоты.

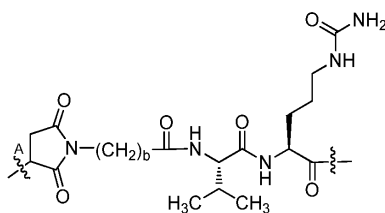
В некоторых вариантах осуществления изобретения A является



где  $\text{R}^1$ , независимо в каждом случае, является гало;

n равен 0, 1 или 2; и

L является

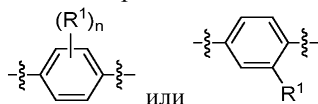


где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой связь со связующим агентом;

$\text{---}\overset{\text{L}}{\text{---}}$  является связью от -NH-A-; и

b представляет собой целое число от 2 до 8.

В некоторых вариантах осуществления изобретения A является

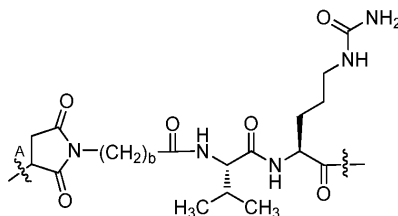


где R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, выбирают из C<sub>1-6</sub>алкила, C<sub>2-6</sub>алкенила, C<sub>2-6</sub>алкинила, C<sub>1-6</sub>алкокси, C<sub>6-10</sub>арила, C<sub>1-6</sub>алк-C<sub>6-10</sub>арила, C<sub>6-10</sub>арил-C<sub>1-6</sub>алкила, гало, C<sub>1-6</sub>галоалкила, C<sub>1-6</sub>галоалкокси, гетеро-

C<sub>1-6</sub>алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $\text{---}\overset{\text{R}^{\text{A}}}{\text{O}}\text{---}$ ,  $\text{---}\overset{\text{R}^{\text{A}}}{\text{SO}_2}\text{---}$ ,  $\text{---}\overset{\text{R}^{\text{A}}}{\text{C}}\text{---}$ , и азидо;

R<sup>A</sup> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкил;

L является



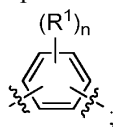
где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{---}}$  представляет собой связь со связующим агентом;

$\text{---}\overset{\text{L}}{\text{---}}$  является связью -NH-A-;

n представляет собой целое число от 0 до 4; и

b представляет собой целое число от 2 до 8.

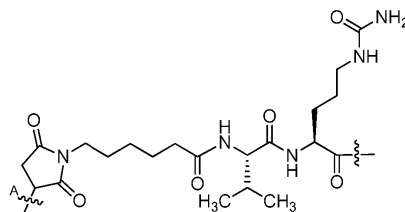
В некоторых вариантах осуществления изобретения A является



где R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, является гало;

n равен 0, 1 или 2; и

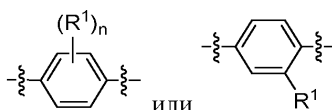
L является



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

$\text{---}\overset{\text{L}}{\text{---}}$  является связью -NH-A-.

В некоторых вариантах осуществления изобретения A является



где R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, выбирают из C<sub>1-6</sub>алкила, C<sub>2-6</sub>алкенила, C<sub>2-6</sub>алкинила, C<sub>1-6</sub>ал-

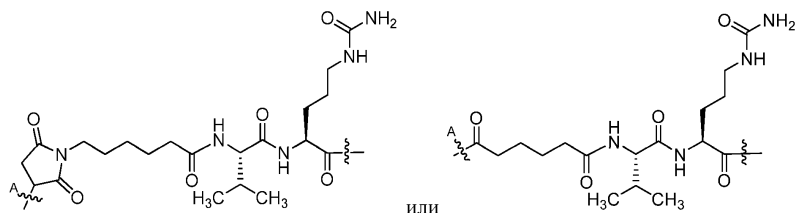
кокси, C<sub>6-10</sub>арила, C<sub>1-6</sub>алк-C<sub>6-10</sub>арила, C<sub>6-10</sub>арил-C<sub>1-6</sub>алкила, гало, C<sub>1-6</sub>галоалкила, C<sub>1-6</sub>галоалкокси, гетеро-

C<sub>1-6</sub>алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---} \end{matrix}$ -OR<sup>A</sup>,  $\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---} \end{matrix}$ -SO<sub>2</sub>R<sup>A</sup>,  $\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---} \end{matrix}$ -R<sup>A</sup>, и азидо;

R<sup>A</sup> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкил;

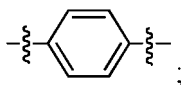
n представляет собой целое число от 0 до 4;

L является

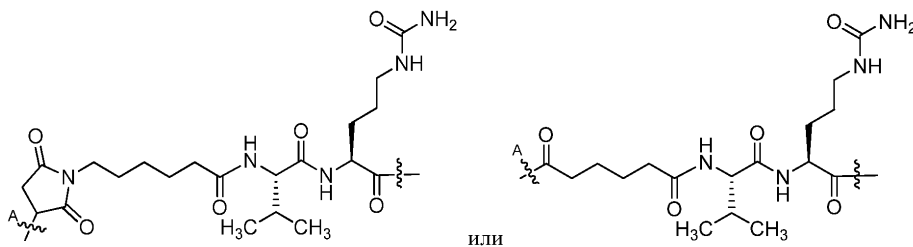


где  $\begin{matrix} \text{A} \\ \text{---} \end{matrix}$  представляет собой связь со связующим агентом.

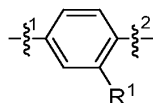
В некоторых вариантах осуществления изобретения A является



и L является



В некоторых вариантах осуществления изобретения A является

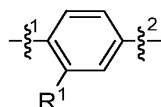


где R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, выбирают из C<sub>1-6</sub>алкила, C<sub>2-6</sub>алкенила, C<sub>2-6</sub>алкинила, C<sub>1-6</sub>алкокси, C<sub>6-10</sub>арила, C<sub>1-6</sub>алк-C<sub>6-10</sub>арила, C<sub>6-10</sub>арил-C<sub>1-6</sub>алкила, гало, C<sub>1-6</sub>галоалкила, C<sub>1-6</sub>галоалкокси, гетеро-

C<sub>1-6</sub>алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---} \end{matrix}$ -OR<sup>A</sup>,  $\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---} \end{matrix}$ -SO<sub>2</sub>R<sup>A</sup>,  $\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---} \end{matrix}$ -R<sup>A</sup>, и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup> представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup> представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup> представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup> представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup> представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup> представляет собой бром.

В некоторых вариантах осуществления изобретения A является



где R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, представляет собой C<sub>1-6</sub>алкил, C<sub>1-6</sub>алкокси, C<sub>6-10</sub>арил, гало, C<sub>1-6</sub>галоалкил, C<sub>1-6</sub>галоалкокси,

$\begin{matrix} \text{A} \\ \text{---} \end{matrix}$  представляет собой связь с атомом азота сложного аминоэфира, прямо связанным с молекулой лекарственного вещества; и

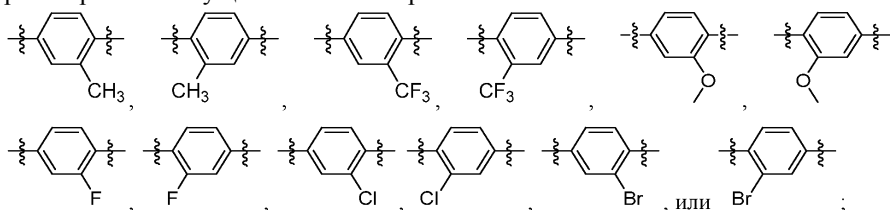
$\begin{matrix} \text{A} \\ \text{---} \end{matrix}$  представляет собой связь с атомом азота, связанным с линкером.

В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup> представляет собой пирролидинил. В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup> представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup> представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup> представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения R<sup>1</sup>

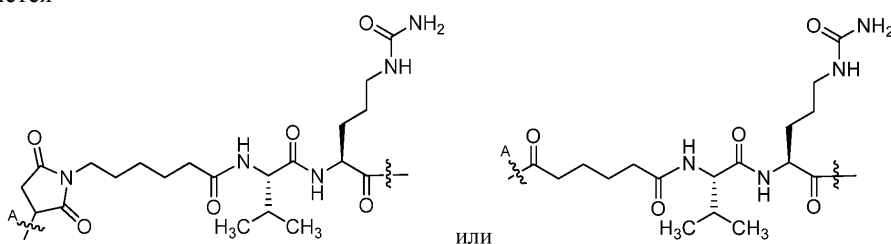


представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром.

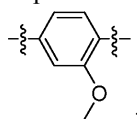
В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



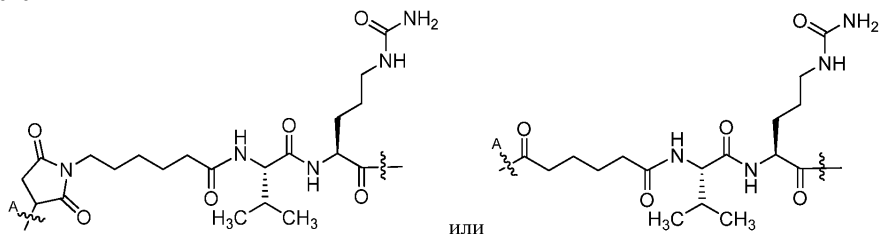
и L является



В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



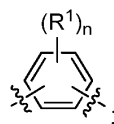
и L является



В некоторых вариантах осуществления изобретения

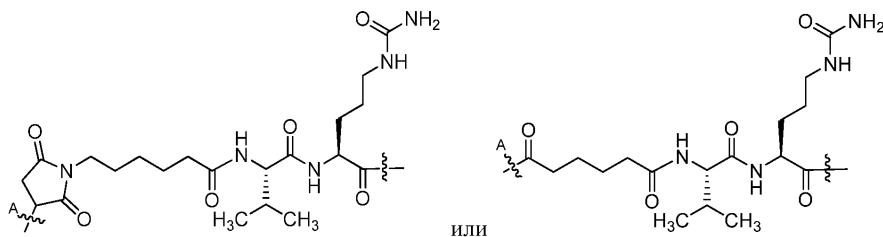
ВА представляет собой антитело,

А является



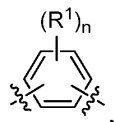
где  $R^1$ , независимо в каждом случае, является гало; и n равен 0, 1 или 2;

L является



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

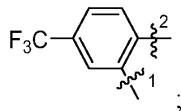
В некоторых вариантах осуществления изобретения, включая любой из вышеприведенных, А является



где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из алкила, алкокси, гало, галоалкила и гетероциклоалкила;  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила, гетероциклоалкила,

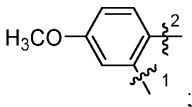
n представляет собой целое число от 0 до 4.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, включая любой из вышеприведенных, А является



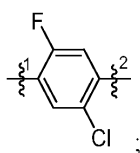
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, включая любой из вышеприведенных, А является



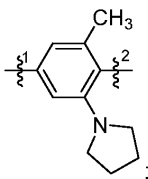
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, включая любой из вышеприведенных, А является:



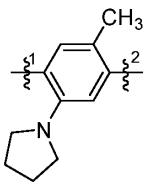
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, включая любой из вышеприведенных, А является



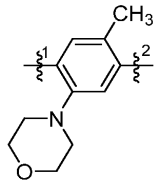
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, включая любой из вышеприведенных, А является



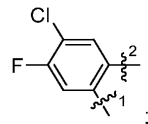
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



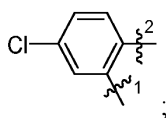
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



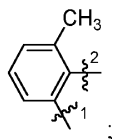
и соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, включая любой из вышеприведенных, А является



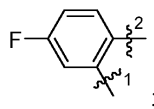
$\text{---}\overset{1}{\text{C}}\text{---}$  и  $\text{---}\overset{2}{\text{C}}\text{---}$  соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, включая любой из вышеприведенных, А является



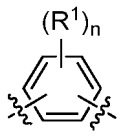
$\text{---}\overset{1}{\text{C}}\text{---}$  и  $\text{---}\overset{2}{\text{C}}\text{---}$  соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, включая любой из вышеприведенных, А является



$\text{---}\overset{1}{\text{C}}\text{---}$  и  $\text{---}\overset{2}{\text{C}}\text{---}$  соответствуют вышеприведенным определениям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения А является

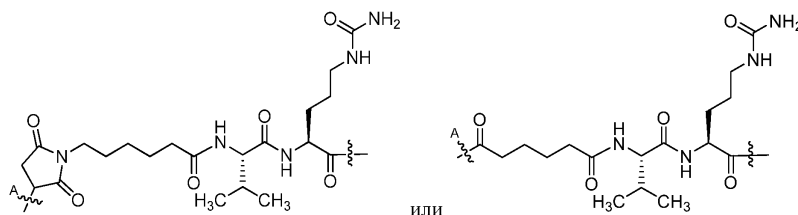


где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро-

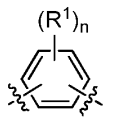
$C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $\text{---}\text{OR}^A$ ,  $\text{---}\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $\text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{CR}^A$ , и азидо;

$R^A$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил;

L является



В некоторых вариантах осуществления изобретения А является



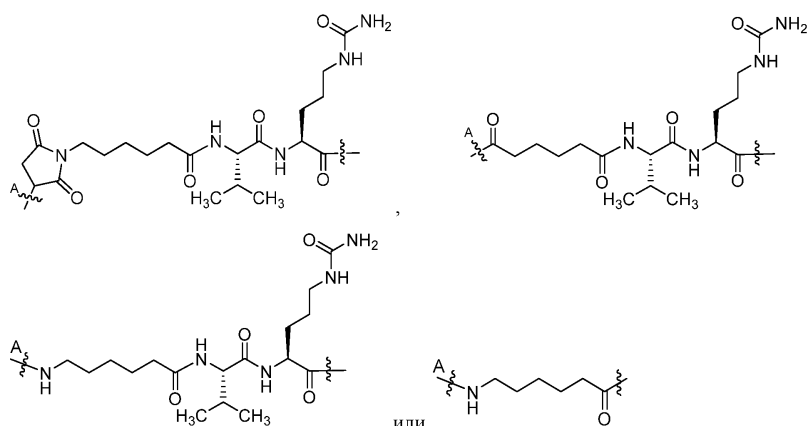
где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоал-

кила, циано, нитро,  $\text{---}\text{OR}^A$ ,  $\text{---}\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $\text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{CR}^A$ , и азидо,

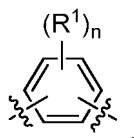
где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил;

n представляет собой целое число от 0 до 4;

L является



В некоторых вариантах осуществления изобретения А является

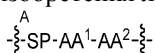


где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , и азида,

где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил;

$n$  представляет собой целое число от 0 до 4.

В некоторых вариантах осуществления изобретения линкер является



где SP представляет собой спейсер;

$\text{-}\overset{\text{A}}{\text{S}}\text{-}$  представляет собой одну или несколько связей со связующим агентом;

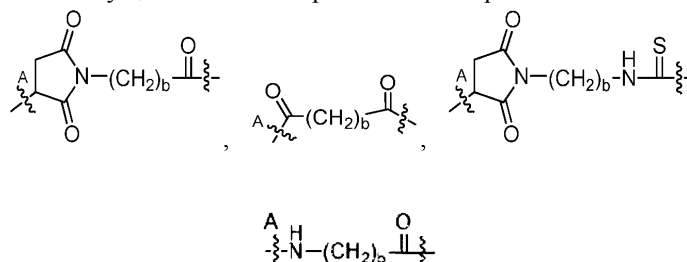
$\text{-}\overset{\text{A}}{\text{N}}\text{-}$  является связью  $-\text{NH-A}-$ ;

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

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

Спейсер является двухвалентным фрагментом, который соединяет фрагмент  $\text{AA}^1\text{-AA}^2$  со связующим агентом (ВА). Подходящие спейсеры включают, не ограничиваясь перечисленным, спейсеры, содержащие алкилен или полиэтиленгликоль. Концами спейсеров, т.е. участками спейсера, прямо связанными со связующим агентом или  $\text{AA}^1$ , могут быть фрагменты, полученные из реакционноспособных фрагментов, которые используются в целях связывания антитела или  $\text{AA}^1$  со спейсером во время химического синтеза конъюгата.

В некоторых вариантах осуществления изобретения спейсером является



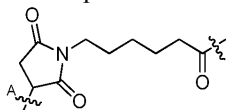
где

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

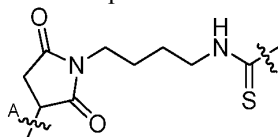
$\text{-}\overset{\text{A}}{\text{N}}\text{-}$  является связью  $-\text{NH-A}-$ ;

$b$  представляет собой целое число от 2 до 8.

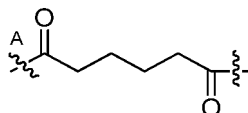
В некоторых вариантах осуществления изобретения спейсером является



В некоторых вариантах осуществления изобретения спейсером является



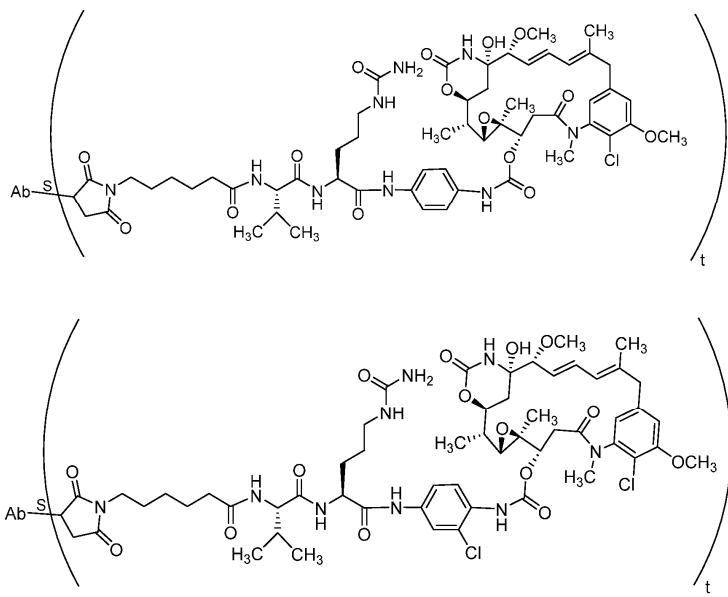
В некоторых вариантах осуществления изобретения спейсером является



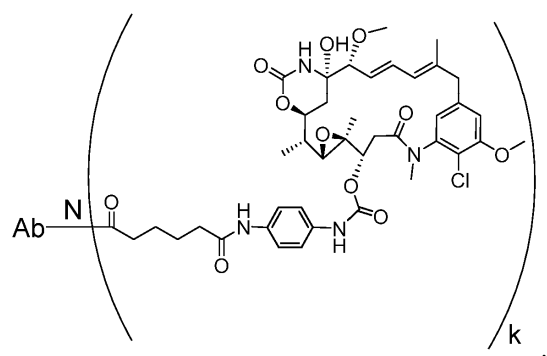
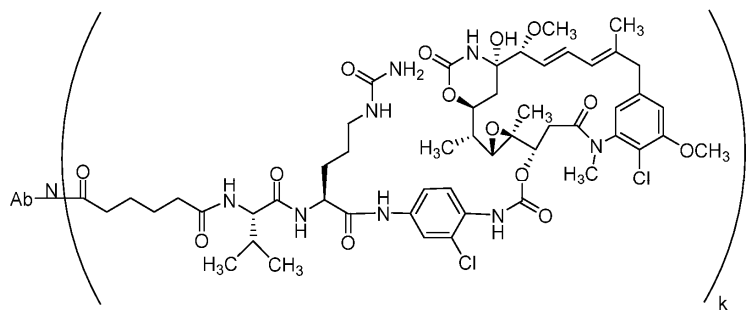
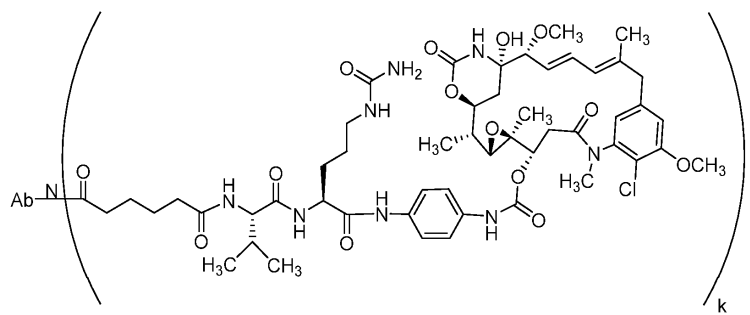
В некоторых вариантах осуществления изобретения  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин, цитруллин-валин, лизин-фенилаланин, фенилаланин-лизин, валин-аспарагин, аспарагин-валин, аспарагин-треонин, треонин-аспарагин, серин-аспарагин, аспарагин-серин, фенилаланин-аспарагин, аспарагин-фенилаланин, лейцин-аспарагин, аспарагин-лейцин, изолейцин-аспарагин, аспарагин-изолейцин, глицин-аспарагин, аспарагин-глицин, глутаминовую кислоту-аспарагин, аспарагин-глутаминовую кислоту, цитруллин-аспарагин, аспарагин-цитруллин, аланин-аспарагин, аспарагин-аланин, валин-аланин, аланин-валин, валин-глицин или глицин-валин.

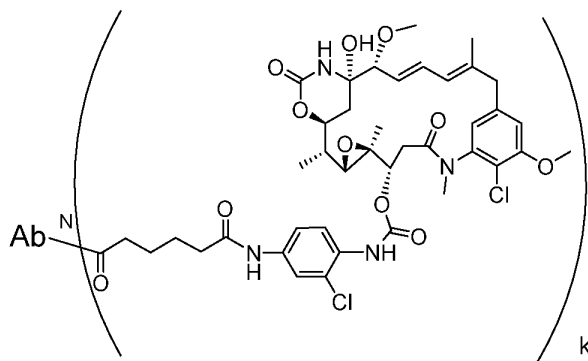
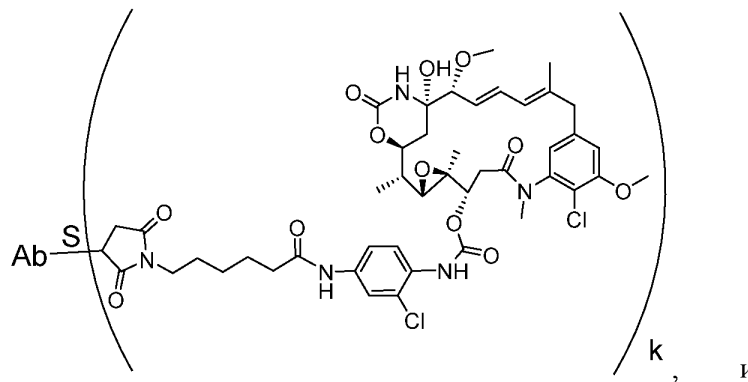
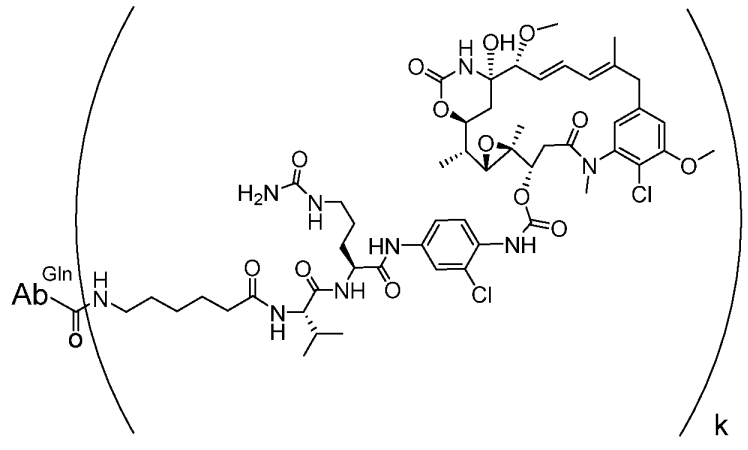
В некоторых вариантах осуществления изобретения  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин или цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение по формуле (I) является



039072





где Ab - антитело или его антиген-связывающий фрагмент;  
S представляет собой связь с цистеином в молекуле антитела или антиген-связывающего фрагмента;

N представляет собой связь с лизином в молекуле антитела или антиген-связывающего фрагмента;

Gln представляет собой связь с глутамином антитела или его антигенсвязывающего фрагмента;

k представляет собой целое число от 1 до 30 и

t представляет собой целое число от 1 до 8.

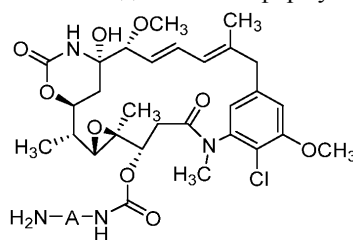
В некоторых примерах k представляет собой целое число от 1 до 8. В некоторых примерах t представляет собой целое число от 1 до 4. В некоторых примерах, когда S представляет собой связь с цистеином антитела, с антителом могут быть связаны до 8 предложенных в настоящем изобретении конъюгатов. В некоторых примерах, когда N представляет собой связь с лизином антитела, с антителом могут быть связаны до 30 предложенных в настоящем изобретении конъюгатов.

В одном из вариантов осуществления изобретения k представляет собой целое число от 1 до 30. В одном из вариантов осуществления изобретения k представляет собой целое число от 1 до 8. В одном из вариантов осуществления изобретения k представляет собой целое число от 1 до 6. В некоторых вариантах осуществления изобретения k представляет собой целое число от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления изобретения k представляет собой целое число от 1 до 3. В некоторых вариантах осуществления изобретения соотношение лекарственное средство/антитело (Л/А; DAR) в конъюгате составля-

ет от 1 до 30.

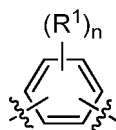
С. Соединения.

В настоящем изобретении предложено соединение по формуле (II)



(II)

или его фармацевтически приемлемая соль, или стереоизомер, где А представляет собой



где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил; и

n представляет собой целое число от 0 до 4.

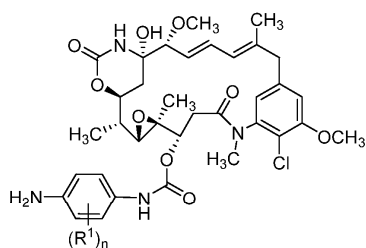
В некоторых вариантах осуществления  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила, гетероциклоалкила.

В некоторых вариантах осуществления изобретения эти соединения высвобождаются из конъюгатов, например, посредством ферментативного протеолиза с последующей интернализацией конъюгата клеткой. Предложенные в настоящем документе способы включают способы лечения пролиферативного заболевания, например рака, включающие введение пациенту в терапевтически эффективном количестве конъюгат, например конъюгат антитело-лекарственное средство, из которого после интернализации указанного конъюгата клеткой такого пациента высвобождается соединение по формуле (II).

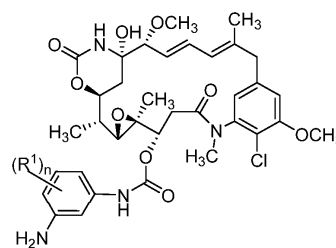
В некоторых вариантах осуществления изобретения эти соединения представляют собой метаболический продукт описанных в настоящем изобретении конъюгатов, например продукт, образовавшийся в результате ферментативного протеолиза. В некоторых вариантах осуществления изобретения эти соединения представляют собой катаболический продукт описанных в настоящем изобретении конъюгатов. В некоторых вариантах осуществления изобретения эти соединения представляют собой клеточный продукт описанных в настоящем изобретении конъюгатов.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения выбирают из соединения по формуле (IIA1), соединения по формуле (IIA2) и соединения по формуле (IIA3)

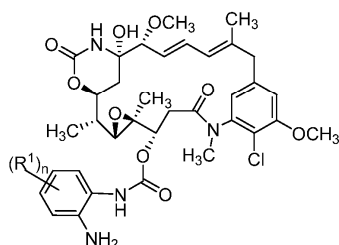




(IIA1)



(IIA2)



(IIA3)

В некоторых вариантах осуществления  $n$  равен 0, 1, 2 или 3.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила и гетероциклоалкила.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$ , в каждом случае независимо, выбирают из метила, метокси, фтора, хлора, брома, трифторметила, пирролидинила и морфолинила.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из фтора, хлора и брома.

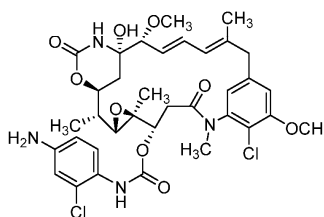
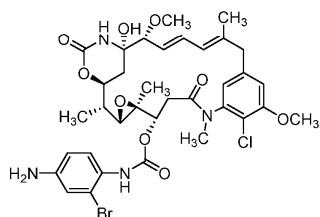
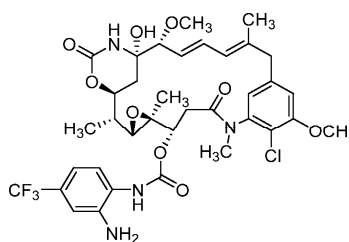
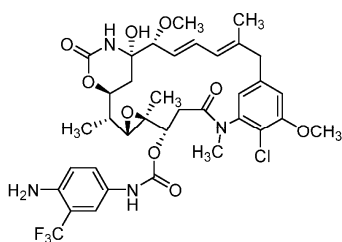
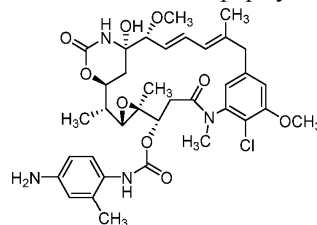
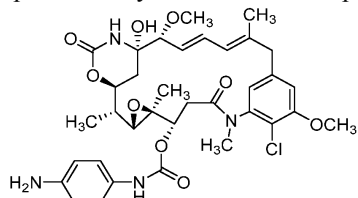
В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор.

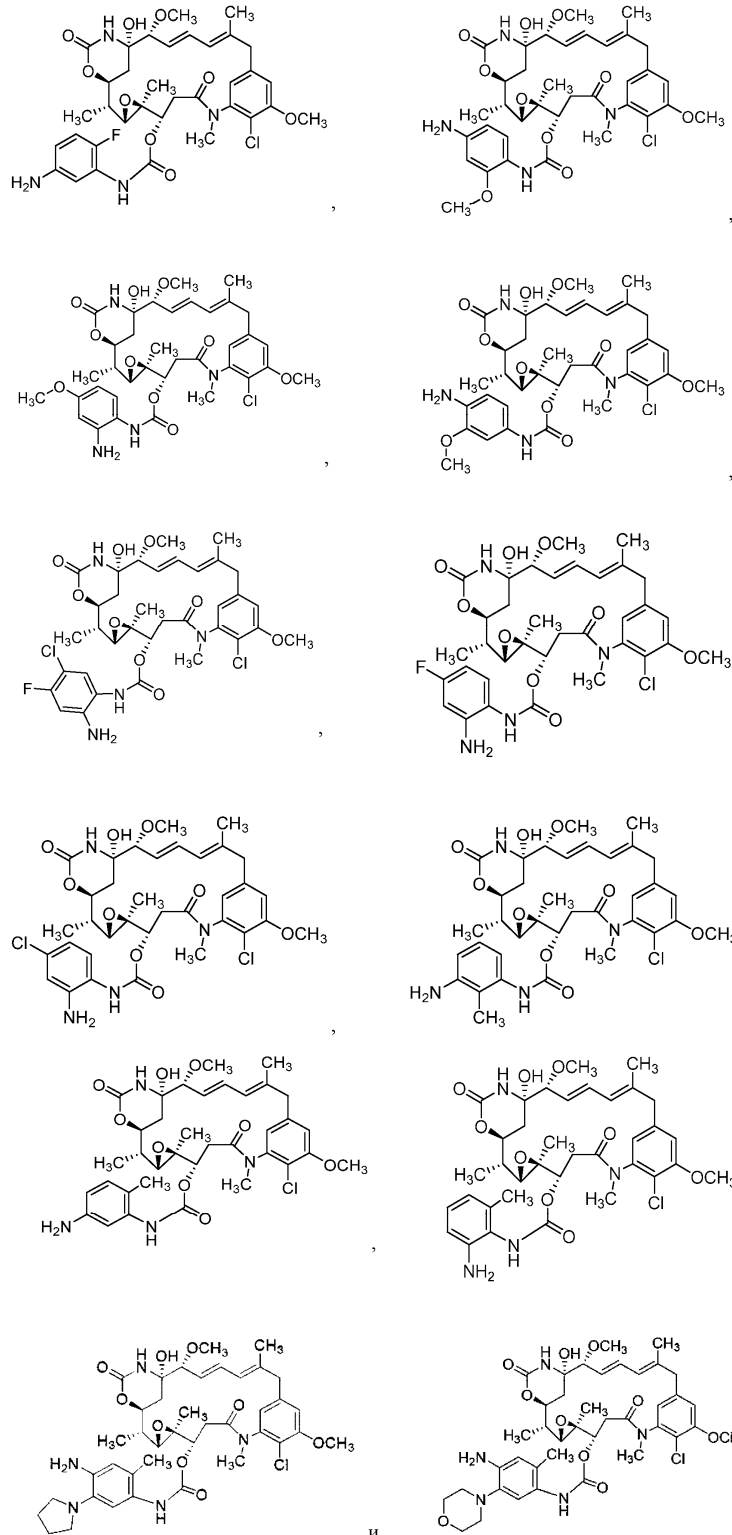
В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси.

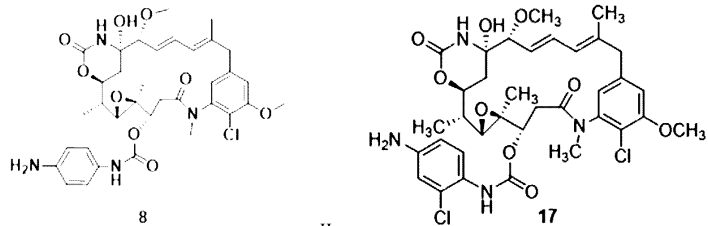
В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из метила, морфолинила и пирролидинила.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединением по формуле (II) является





В некоторых вариантах осуществления изобретения соединением по формуле (II) является

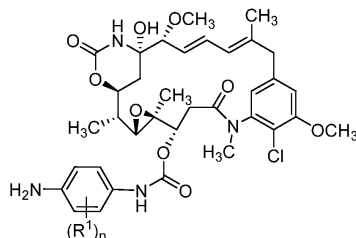


В некоторых вариантах осуществления изобретения эти соединения в составе описанных в настоящем документе конъюгатов высвобождаются, например, посредством ферментативного протеолиза с

последующей интернализацией конъюгата клеткой. Предложенные в настоящем документе способы включают способы лечения пролиферативного заболевания, например рака, включающие введение пациенту в терапевтически эффективном количестве конъюгат, например конъюгат антитело-лекарственное средство, из которого после интернализации указанного конъюгата клеткой такого пациента высвобождается соединение по формуле (II).

В некоторых вариантах осуществления изобретения эти соединения представляют собой метаболитический продукт описанных в настоящем изобретении конъюгатов, например продукт ферментативного протеолиза.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение по формуле (II) является соединением по формуле (IIA)



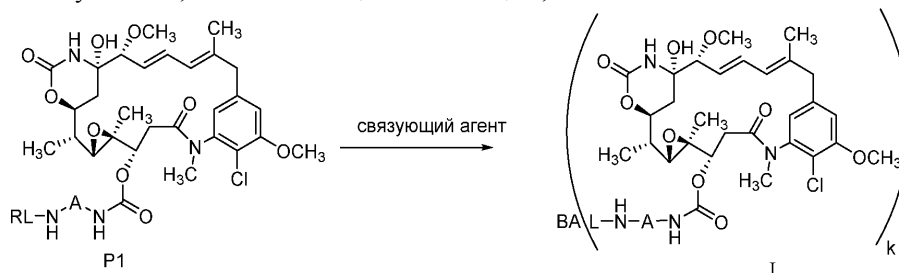
(IIA)

где  $R^1$ , независимо в каждом случае, представляет собой метил, метокси, гало или трифторметил; и  $n$  равен 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил, трифторметил, метокси, фтор, хлор или бром. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром.

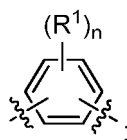
#### D. Получение соединений.

Соединения по формуле (I) могут быть синтезированы посредством реакции сочетания между соединениями по формуле (P1) и связующим агентом, например антителом в стандартных условиях конъюгации (см., например, публикацию Doronina et al., Nature Biotechnology 2003, 21, 7, 778, которая включена в настоящий документ посредством ссылки). Когда связующим агентом является антитело, то антитело может быть соединено с соединением по формуле (P1) через один или несколько остатков цистеина или лизина в молекуле антитела. Соединения по формуле (P1) могут соединяться с остатками цистеина, например, посредством введения антитела во взаимодействие с восстанавливающим агентом, например дитиотеритолом, для отщепления дисульфидных связей антитела, очистки восстановленного антитела, например, путем гель-фильтрации и последующего введения антитела во взаимодействие с соединением по формуле (P1), содержащим реакционноспособный фрагмент, например малемидогруппу. Подходящие растворители включают, не ограничиваясь перечисленным, воду, DMA, DMF и DMSO. Соединения по формуле (P1), содержащие реакционноспособный фрагмент, например активированную сложноэфирную или галоидангидридную группу, могут соединяться с остатками лизина. Подходящие растворители включают, не ограничиваясь перечисленным, воду, DMA, DMF и DMSO. Соединения по формуле (I) могут быть очищены с использованием известных белковых методов, например гель-фильтрационной хроматографии, диализа и ультрафильтрации/диафильтрации.

Способ получения соединения формулы (I) включает приведение соединения (P1) в контакт со связующим агентом в условиях, обеспечивающих конъюгацию,



где А представляет собой



$R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}-OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}-SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}-\overset{O}{\parallel}R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом; и

$n$  представляет собой целое число от 0 до 4,

$L$  представляет собой линкер;

$VA$  является связующим агентом, где связующий агент представляет собой анти тело или его антигенсвязывающий фрагмент;

$k$  представляет собой целое число от 1 до 10; и

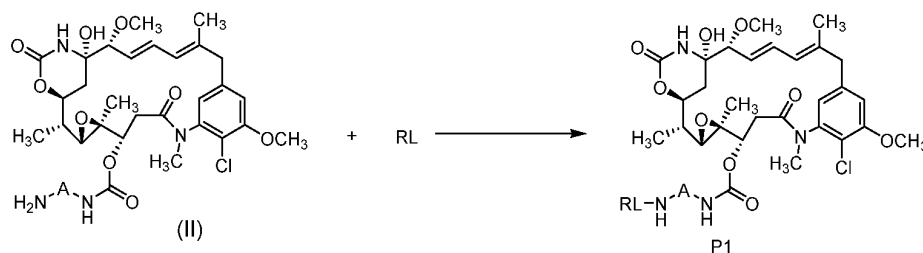
$RL$  является реакционноспособным линкером.

В некоторых примерах  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила, гетероциклоалкила,

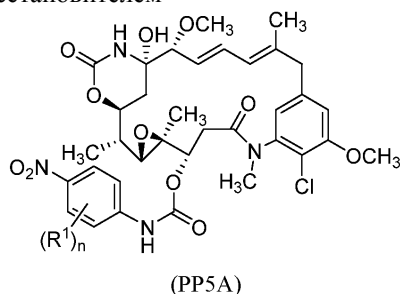
$n$  представляет собой целое число от 0 до 4.

В некоторых примерах в настоящем документе описаны способы получения соединения по формуле (I), где способ включает приведение во взаимодействие соединения по формуле (P1) со связующим агентом. В некоторых из этих способов приведение во взаимодействие осуществляют в стандартных условиях конъюгирования с анти телом. В некоторых из этих примеров связующим агентом является анти тело. В некоторых из этих примеров связующим агентом является фрагмент анти тела. В некоторых описанных в настоящем документе примерах способы включают приведение во взаимодействие соединения по формуле (P1) с одним или несколькими остатками цистеина или лизина в молекуле анти тела. В некоторых примерах, способы включают приведение во взаимодействие соединения по формуле (P1) с одним или несколькими остатками цистеина или лизина в молекуле анти тела в растворителе. В некоторых вариантах осуществления изобретения растворителем является одно соединение. В некоторых вариантах осуществления изобретения растворителем является смесь двух или более соединений. В некоторых примерах способы включают приведение во взаимодействие соединения по формуле (P1) с одним или несколькими остатками цистеина или лизина в молекуле анти тела в растворителе, выбранном из воды, DMA, DMF или DMSO.

В некоторых примерах в настоящем документе описаны способы получения соединения по формуле (P1), где способы включают проведение реакции между соединением по формуле (II) и реакционноспособным линкером  $RL$ , где  $RL$  представляет собой реакционноспособный линкер, предусмотренный и описанный в настоящем документе



В некоторых вариантах соединение по формуле (II) получают приведением соединения по формуле (PP5A) в контакт с подходящим восстановителем



где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}-OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}-SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}-\overset{O}{\parallel}R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представ-

ляет собой морфолинил или пирролидинил;

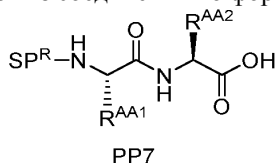
$R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом;

$n$  представляет собой целое число от 0 до 4; и

подходящий восстановитель выбирают из металла, металлической фольги, порошкообразного металла, металлической пыли, амальгамы металла или металлических опилок.

В некоторых примерах в настоящем документе предусмотрены способы получения соединения по формуле (P1), где способы включают проведение реакции между соединением по формуле (II) и реакционноспособным линкером, описанным в настоящем документе. В некоторых примерах способы включают проведение реакции между соединением по формуле (P1) и RL в присутствии растворителя. В некоторых примерах растворителем является DCM. В некоторых других примерах растворителем является метанол. В некоторых других примерах растворителем является безводный метанол. В определенных других примерах растворителем является комбинация DCM и метанола. В некоторых других примерах растворителем является комбинация DCM и безводного метанола.

В некоторых примерах RL выбирают из соединения по формуле (PP7)



где  $SP^R$  представляет собой реакционноспособный спейсер;

$R^{AA1}$  представляет собой боковую цепь аминокислоты;

$R^{AA2}$  представляет собой боковую цепь аминокислоты.

В некоторых примерах  $R^{AA1}$  и  $R^{AA2}$  независимо являются боковыми цепями природной или неприродной аминокислоты. В некоторых примерах способов получения соединения по формуле (P1) способы включают проведение реакции между соединением по формуле (II) с соединением по формуле (PP7) в условиях синтеза амидов. В некоторых из этих примеров, соединение по формуле (PP7) превращают в сложный эфир перед проведением реакции с соединением по формуле (II).

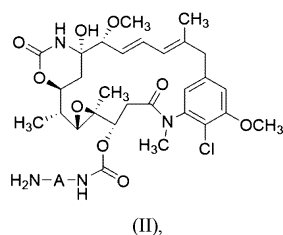
В некоторых примерах способов получения соединения по формуле (P1) способы включают приведение во взаимодействие соединения по формуле (II) с RL. В некоторых из этих примеров способы включают приведение во взаимодействие соединения по формуле (II) с RL в условиях синтеза амидов. В некоторых примерах RL включает карбоксильную группу в одной концевой области соединения RL. Как видно из формулы (II), соединение по формуле (II) включает по меньшей мере одну аминогруппу в одной концевой области соединения. В некоторых примерах способы включают превращение карбоксильной группы соединения RL в активированный сложный эфир. В некоторых примерах способы дополнительно включают проведение реакции между этим активированным сложным эфиром и аминогруппой соединения по формуле (II). В некоторых описанных в настоящем документе примерах способы превращения карбоксильной кислоты в активированный сложный эфир включают приведение во взаимодействие карбоновой кислоты с реагентом. В некоторых описанных в настоящем документе примерах способы превращения карбоксильной группы соединения RL в активированный сложный эфир включают приведение во взаимодействие RL с реагентом, выбранным из дициклогексилкарбодиимида (DCC), диизопропилкарбодиимида (DIC), (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфония гексафторфосфата (BOP), (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфата (PyBOP), (7-азабензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфата (PyAOP), бромтрипирролидинофосфония гексафторфосфата (PyBrOP), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфата (HBTU), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторбората (TBTU), 1-[бис(диметиламино)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния 3-оксид гексафторфосфата (HATU), 2-этокси-1-этоксикарбонил-1,2-дигидрохинолина (EEDQ), 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния гексафторфосфата (CIP), 2-хлор-4,6-диметокси-1,3,5-триазина (CDMT), или карбонилдиимидазола (CDI). В некоторых примерах способы включают превращение карбоксильной группы соединения RL в хлористый ацил. В некоторых примерах способы включают превращение карбоксильной группы соединения RL в хлористый ацил, например, посредством приведения во взаимодействие карбоксильной группы соединения RL с EEDQ. В некоторых описанных в настоящем документе примерах карбоновую кислоту соединения RL превращают в смешанный ангидрид, например, посредством приведения во взаимодействие карбоновой кислоты соединения RL с EEDQ. В некоторых описанных в настоящем документе примерах способы превращения карбоновой кислоты соединения RL в смешанный ангидрид включают приведение во взаимодействие карбоновой кислоты соединения RL с EEDQ в растворителе, выбранном из DCM.

В некоторых приведенных в настоящем документе примерах предложены способы получения соединения по формуле (P1), где способы включают проведение реакции между соединением по формуле (II) с RL где RL-6-малеимидил-капроамидил-L-валин-L-цитруллин. В некоторых примерах 6-малеимидил-капроамидил-L-валин-L-цитруллин активируют с образованием активированного сложного

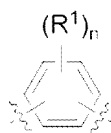
эфира перед проведением реакции с соединением по формуле (II). В некоторых примерах описанные в настоящем документе способы включают обеспечение 6-малеимидил-капроамидил-L-валин-L-цитруллина посредством проведения реакции между ВОС-защищенным L-валин-L-цитруллином и 2-(2-амино-3-метил-бутириламино)-5-уреидовалериановой кислотой и 2,5-диоксопирролидин-1-иловым эфиром 6-(2,5-диоксо-2,5-дигидропиррол-1-ил)капроновой кислоты. В некоторых описанных в настоящем документе способах они включают обеспечение 6-малеимидил-капроамидил-L-валин-L-цитруллина посредством проведения реакции между ВОС-защищенным L-валин-L-цитруллином и 2-(2-амино-3-метил-бутириламино)-5-уреидовалериановой кислотой и 2,5-диоксопирролидин-1-иловым эфиром 6-(2,5-диоксо-2,5-дигидропиррол-1-ил)капроновой кислоты в DMF. В некоторых описанных в настоящем документе способах способы включают обеспечение 6-малеимидил-капроамидил-L-валин-L-цитруллина посредством проведения реакции между ВОС-защищенным L-валин-L-цитруллином и 2-(2-амино-3-метил-бутириламино)-5-уреидовалериановой кислотой и 2,5-диоксопирролидин-1-иловым эфиром 6-(2,5-диоксо-2,5-дигидропиррол-1-ил)капроновой кислоты в DIEA.

В некоторых примерах способов получения соединения по формуле (P1) способы включают проведение реакции между соединением по формуле (II) и адипиновым ангидридом. В этих способах адипиновый ангидрид является активированным сложным эфиром. В некоторых из этих примеров способы включают проведение реакции между соединением по формуле (II) и адипиновым ангидридом и триэтиламином. В некоторых примерах способы включают проведение реакции между соединением по формуле (II) и адипиновым ангидридом и триэтиламином в тетрагидрофуране. В некоторых из этих примеров способы включают проведение реакции между соединением по формуле (II) и адипиновым ангидридом и триэтиламином в диметилформамиде. В некоторых из этих примеров способы включают проведение реакции между соединением по формуле (II) и адипиновым ангидридом и триэтиламином в тетрагидрофуране и диметилформамиде (DMF). В некоторых примерах эти способы дополнительно включают проведение реакции между N-гидроксисукцинимидом и продуктами вышеупомянутых способов. В некоторых других из этих примеров эти способы дополнительно включают проведение реакции между N-гидроксисукцинимидом и EDC гидрохлоридом и продуктами вышеупомянутых способов.

В некоторых приведенных в настоящем документе примерах предложены способы получения соединения по формуле (II)



где А представляет собой



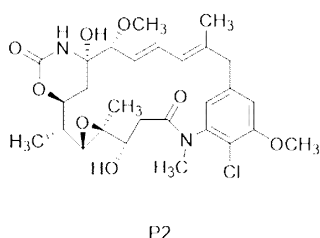
R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, выбирают из C<sub>1-6</sub>алкила, C<sub>2-6</sub>алкенила, C<sub>2-6</sub>алкинила, C<sub>1-6</sub>алкокси, C<sub>6-10</sub>арила, C<sub>1-6</sub>алк-C<sub>6-10</sub>арила, C<sub>6-10</sub>арил-C<sub>1-6</sub>алкила, гало, C<sub>1-6</sub>галоалкила, C<sub>1-6</sub>галоалкокси, гетеро-C<sub>1-6</sub>алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---OR}^A \end{smallmatrix}$ ,  $\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---SO}_2\text{R}^A \end{smallmatrix}$ ,  $\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---N---R}^A \end{smallmatrix}$ , и азидо;

где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

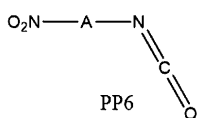
RA является C<sub>1-6</sub>алкилом; и

n представляет собой целое число от 0 до 4.

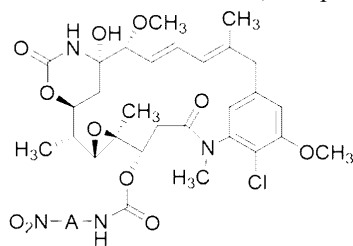
В некоторых примерах эти способы включают проведение реакции между соединением по формуле (P2)



и соединением формулы (PP6)



в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса, с образованием соединения (PPII)



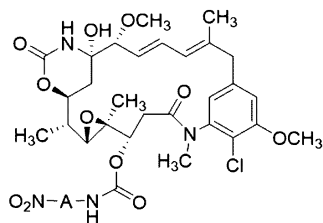
(PPII)

и восстановление соединения по формуле (PPII) посредством приведения соединения по формуле (PPII) в контакт с восстановителем с образованием соединения по формуле (II). В некоторых из этих способов получения соединения по формуле (II) подходящий восстанавливающий агент включает металл, металлическую фольгу, порошкообразный металл, металлическую пыль, амальгаму металла или металлические опилки. В некоторых вариантах осуществления изобретения металл выбирают из цинка, железа, алюминия, палладия или никелевого катализатора Ренея. В некоторых из этих способов подходящим восстанавливающим агентом является цинковая фольга, порошкообразный цинк, цинковая пыль, цинковая амальгама или цинковые опилки. В некоторых из этих способов подходящим восстанавливающим агентом является цинковая фольга. В некоторых из этих способов подходящим восстанавливающим агентом является порошкообразный цинк. В некоторых из этих способов подходящим восстанавливающим агентом является цинковая пыль. В некоторых из этих способов подходящим восстанавливающим агентом является цинковая амальгама. В некоторых из этих способов подходящим восстанавливающим агентом являются цинковые опилки.

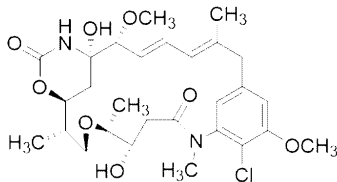
В некоторых примерах подходящий восстановитель выбирают из металла, металлической фольги, порошкообразного металла, металлической пыли, амальгамы металла или металлических опилок.

В некоторых способах способы дополнительно включают восстановление соединения по формуле (PP5A) в присутствии растворителя. В некоторых примерах растворителем является уксусная кислота. В некоторых примерах растворителем является тетрагидрофуран. В некоторых примерах растворителем является комбинация уксусной кислоты и тетрагидрофурана. В некоторых примерах растворителем является ацетонитрил. В некоторых примерах растворителем является ацетонитрил и вода.

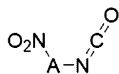
В некоторых представленных в настоящем документе примерах предложены способы получения соединения по формуле (PPII)



В некоторых примерах эти способы включают проведение реакции между соединением по формуле (P2) с соединением по формуле (PP6) в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса



(P2)



(PP6)

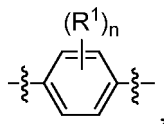
В некоторых примерах соединением PP6 является паранитрофенил-изоцианат. В некоторых приме-

рах соединением PP6 является метанитрофенил-изоцианат. В некоторых примерах условия синтеза, катализируемого кислотой Льюиса, включают использование кислоты Льюиса во время взаимодействия между соединением по формуле (P2) и соединением по формуле (PP6). В некоторых примерах соединение по формуле (P2) взаимодействует с соединением по формуле (PP6) в присутствии кислоты Льюиса. Подходящие кислоты Льюиса включают, не ограничиваясь перечисленным,  $AlBr_3$ ,  $AlCl_3$ ,  $BCl_3$ , бора трихлорид метилсульфид,  $BF_3$ , бора трифторид метилэтерат, бора трифторид метилсульфид, бора трифторид тетрагидрофуран, дициклогексилбора трифторметансульфонат, железа(III) бромид, железа(III) хлорид, олова(IV) хлорид, титана(IV) хлорид, титана(IV) изопророксид,  $Cu(OTf)_2$ ,  $CuCl_2$ ,  $CuBr_2$ , цинка хлорид, галиды алкилалюминия ( $R_nAlX_{3-n}$ , где R - гидрокарбил и n равен от 0 до 3),  $Zn(OTf)_2$ ,  $Yb(OTf)_3$ ,  $Sc(OTf)_3$ ,  $MgBr_2$ ,  $NiCl_2$ ,  $Sn(OTf)_2$ ,  $Ni(OTf)_2$  или  $Mg(OTf)_2$ . В некоторых примерах кислотой Льюиса является  $ZnCl_2$ . В некоторых примерах условия синтеза, катализируемого кислотой Льюиса, включают использование кислоты Льюиса и органического растворителя во время проведения реакции между соединением по формуле (P2) и соединением по формуле (PP6). В некоторых примерах соединение по формуле (P2) вступает в реакцию с соединением по формуле (PP6) в присутствии кислоты Льюиса и органического растворителя. В некоторых примерах органическим растворителем является дихлорметан (DCM). В некоторых примерах соединение по формуле (P2) вступает в реакцию с соединением по формуле (PP6) в присутствии  $ZnCl_2$  и DCM. В некоторых примерах соединение по формуле (P2) вступает в реакцию с соединением по формуле (PP6) в присутствии  $ZnCl_2$ , DCM и диэтилового эфира. В некоторых примерах соединение по формуле (P2) вступает в реакцию с соединением по формуле (PP6) в присутствии DCM и также раствора  $ZnCl_2$  в диэтиловом эфире. В некоторых примерах соединение по формуле (P2) вступает в реакцию с соединением по формуле (PP6) в присутствии DCM, где во время этой реакции добавляют  $ZnCl_2$  в виде раствора  $ZnCl_2$  в диэтиловом эфире. В некоторых примерах изложенные в настоящем документе способы включают проведение реакции между соединением по формуле (P2) и соединением по формуле (PP6) в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса, в течение по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 или 24 ч. В некоторых примерах изложенные в настоящем документе способы включают проведение реакции между соединением по формуле (P2) с соединением по формуле (PP6) в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса, в течение 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 или 24 ч. В некоторых примерах изложенные в настоящем документе способы включают проведение реакции между соединением по формуле (P2) с соединением по формуле (PP6) в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса, в течение 16 ч. В некоторых примерах изложенные в настоящем документе способы включают проведение реакции между соединением по формуле (P2) с соединением по формуле (PP6) в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса, в течение 18 ч. В некоторых примерах изложенные в настоящем документе способы включают проведение реакции между соединением по формуле (P2) и соединением по формуле (PP6) в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса, в течение 20 ч. В некоторых примерах изложенные в настоящем документе способы включают проведение реакции между соединением по формуле (P2) и соединением по формуле (PP6) в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса, в течение 24 ч.

В некоторых примерах после взаимодействия соединения по формуле (P2) с соединением по формуле (PP6) продукт разбавляют водой и экстрагируют органическим растворителем однократно, двукратно или трехкратно. В некоторых примерах органический растворитель, используемый для такой экстракции, выбирают из этилацетата (EtOAc).

В некоторых примерах после взаимодействия соединения по формуле (P2) с соединением по формуле (PP6) продукт концентрируют досуха. В некоторых примерах после взаимодействия соединения по формуле (P2) с соединением по формуле (PP6), продукт концентрируют досуха и очищают хроматографией.

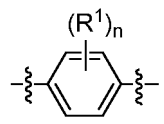
В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение по формуле (P1) включает А, где А является



n равен 0 или 1;

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

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение по формуле (P1) включает А, где А является

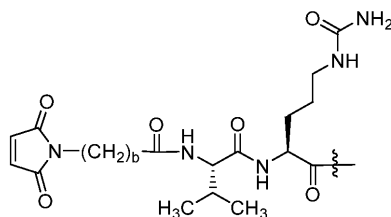


где n равен 0 или 1;


$R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкокси или  $C_{1-6}$ галоалкил; и



RL является

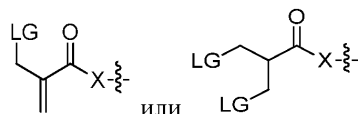


где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8, и

 представляет собой связь со связующим агентом.

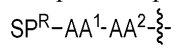
В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой  $C_{1-6}$ -алкил,  $C_{1-6}$  алкокси, гало,  $C_{1-6}$ -галоалкил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил, трифторметил, метокси, фтор, хлор или бром. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  - метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром.

Реакционноспособный линкер - это фрагмент, в структуре которого содержится участок, способный вступать в реакцию со связующим агентом (например, вступать в реакцию с антителом по месту цистеинового или лизинового остатка) с образованием соединения по формуле (I). После конъюгации со связующим агентом реакционноспособный линкер становится линкерным фрагментом (L) соединения по формуле (I). Иллюстративные реакционноспособные линкеры включают, не ограничиваясь перечисленными, линкеры, содержащие галоацетильный, изотиоцианатный участки, концевой первичный амин или малеимидный участок, которые способны вступать в реакцию со связующим агентом. Реакционноспособные участки включают также фрагменты, имеющие следующую структуру:



где X представляет собой -O- или -NH-, и LG - уходящая группа, например Br.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



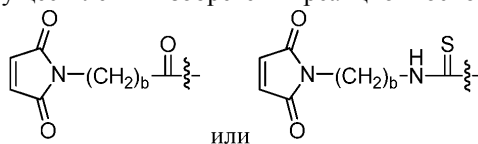
где  $SP^R$  представляет собой реакционноспособный спейсер;

$AA^1$  представляет собой аминокислоту; и

$AA^2$  представляет собой аминокислоту.

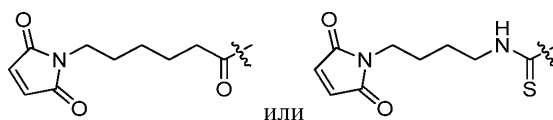
Реакционноспособным спейсером является фрагмент, содержащий вышеописанный реакционноспособный линкерный участок, который способен взаимодействовать со связующим агентом и присоединяет этот участок к  $AA^1$ . Подходящие спейсеры включают, не ограничиваясь перечисленным, спейсеры, которые содержат алкилен или полиэтиленгликоль, присоединяющие  $AA^1$  к участку, способному взаимодействовать со связующим агентом (например, галоацетильному, изотиоцианатному или малеимидному).

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным спейсером является

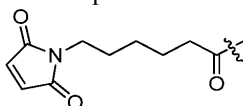


где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8.

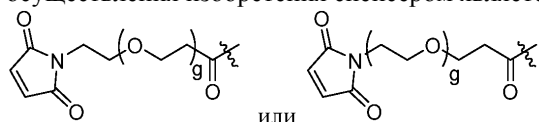
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным спейсером является



В некоторых вариантах осуществления изобретения спейсером является

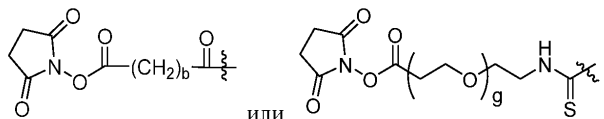


В некоторых вариантах осуществления изобретения спейсером является



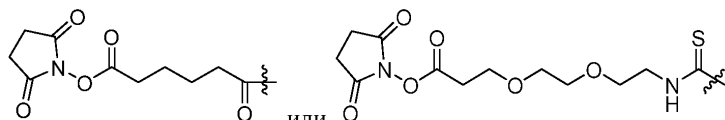
где  $g$  представляет собой целое число от 1 до 24.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным спейсером является



где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8 и  $g$  представляет собой целое число от 2 до 20.

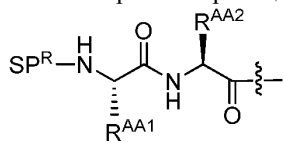
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным спейсером является



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

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин или цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $AA^1-AA^2$  представляет собой валин-цитруллин.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является

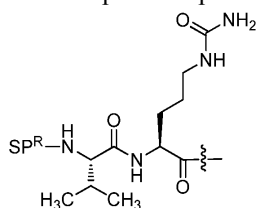


где  $SP^R$  представляет собой реакционноспособный спейсер;

$R^{AA1}$  представляет собой боковую цепь аминокислоты и

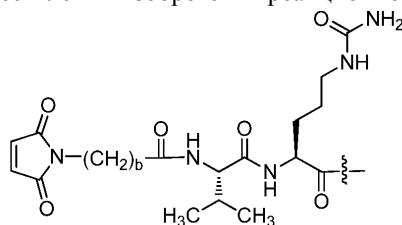
$R^{AA2}$  представляет собой боковую цепь аминокислоты.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



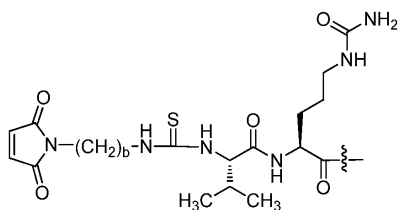
где  $SP^R$  представляет собой реакционноспособный спейсер.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



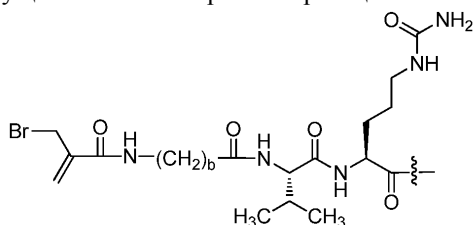
где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



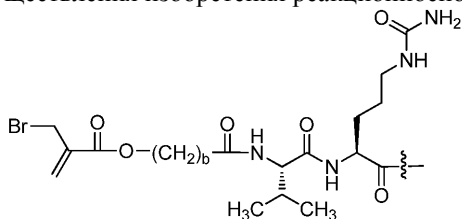
где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



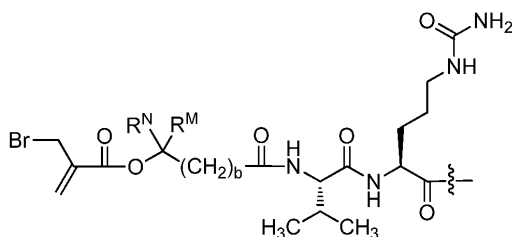
где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



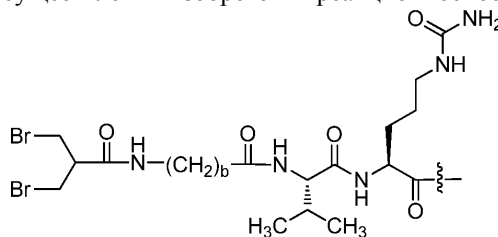
где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



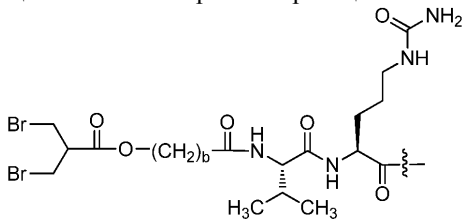
где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8,  $R^N$  представляет собой атом водорода или алкил и  $R^M$  представляет собой алкил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



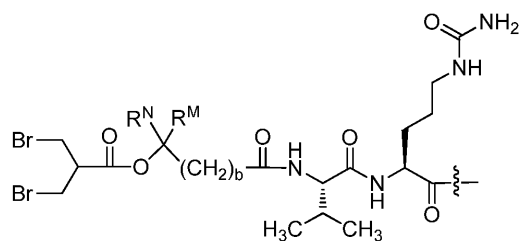
где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



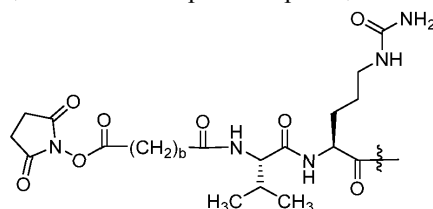
где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



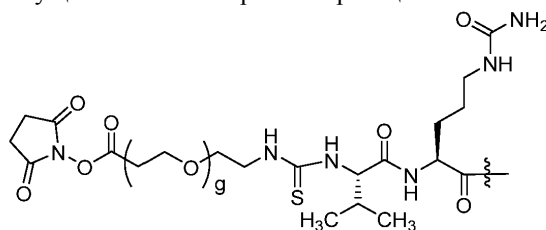
где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8;  $R^N$  - атом водорода или алкил; и  $R^M$  представляет собой алкил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



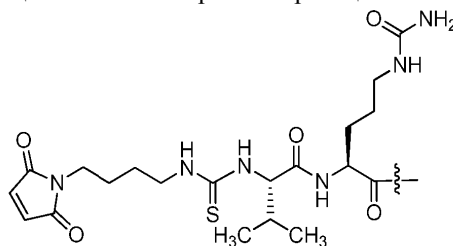
где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8.

В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является

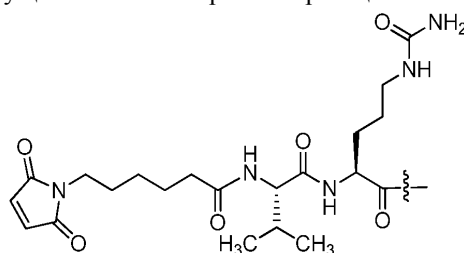


где  $g$  представляет собой целое число от 2 до 8.

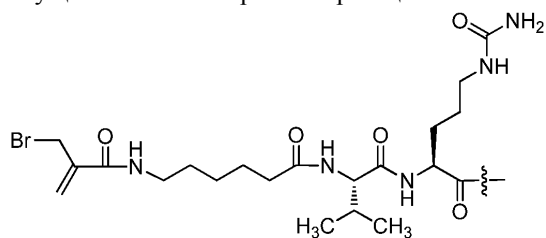
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



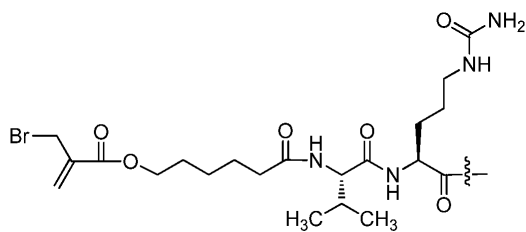
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



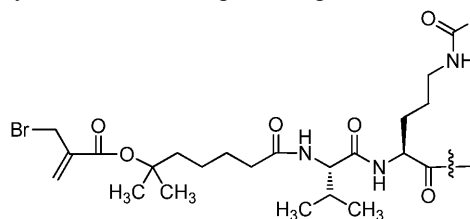
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



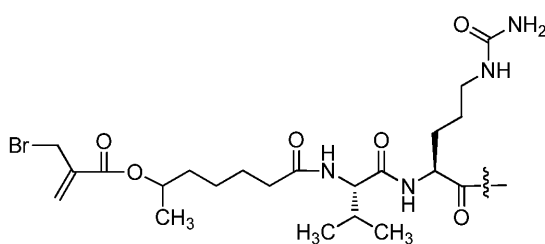
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



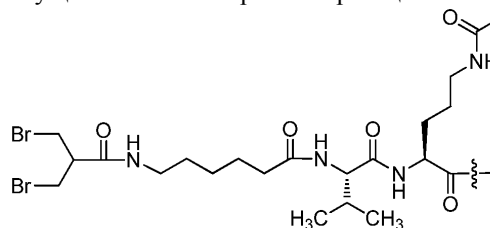
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



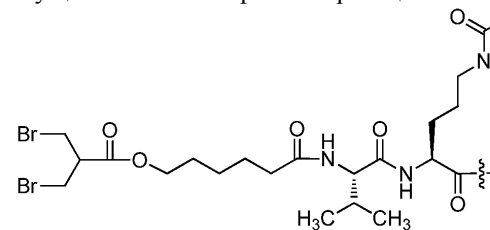
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



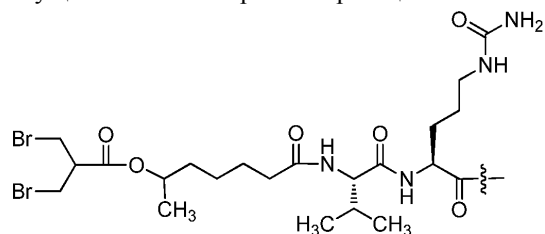
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



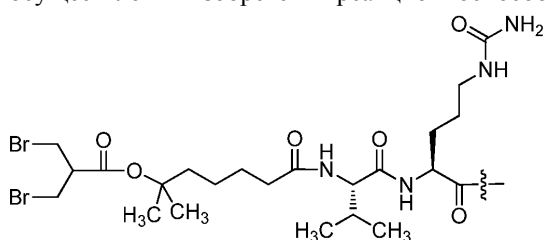
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



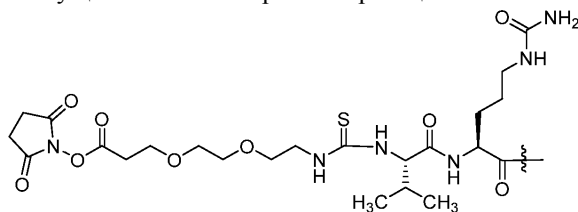
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



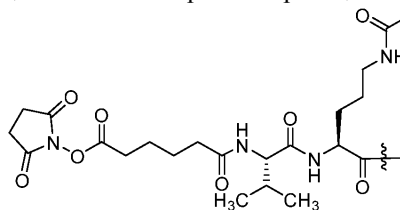
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



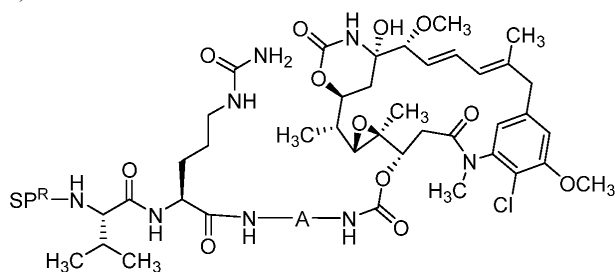
В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является



В некоторых вариантах осуществления изобретения реакционноспособным линкером является

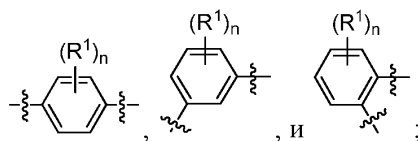


В некоторых вариантах осуществления изобретения соединением по формуле (P1) является соединение по формуле (P2A1-3)



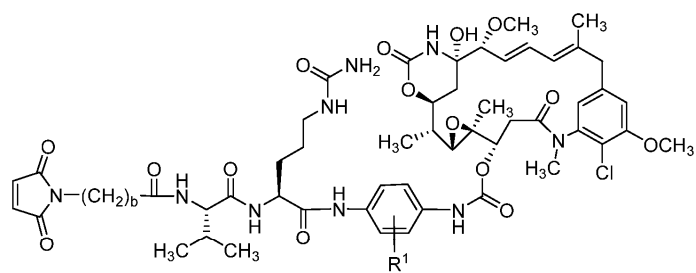
(P2A1-3)

где А выбирают из

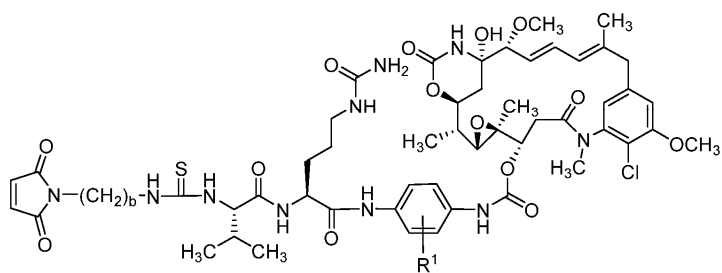


и SP<sup>R</sup> представляет собой реакционноспособный спейсер.

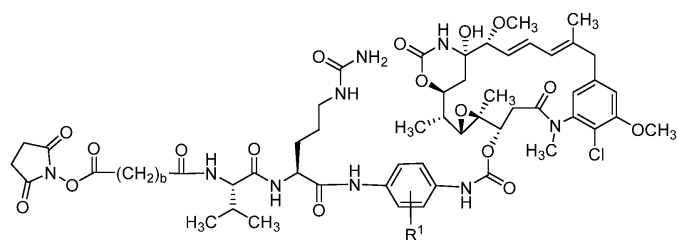
В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение по формуле (P1) выбирают из соединения по формуле (P1H1), соединения по формуле (P1H1), соединения по формуле (P1V1), соединения по формуле (P1W1), соединения по формуле (P1K1), соединения по формуле (P1TG1), соединения по формуле (P1ZZ1) и соединения по формуле (P1ZZ2)



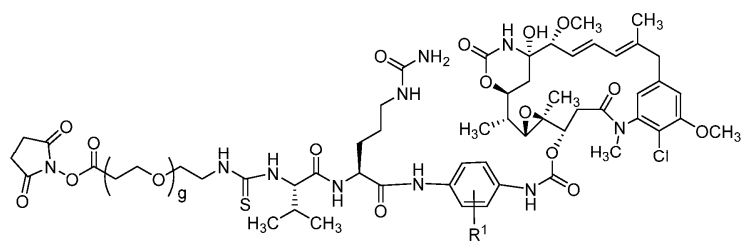
(P1H1)



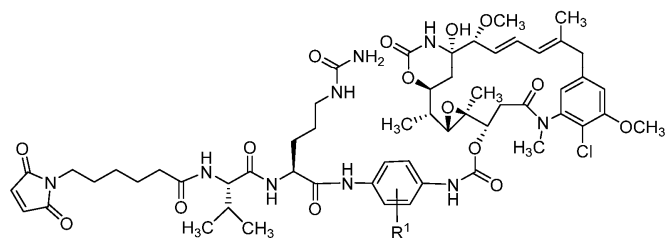
(P1I1)



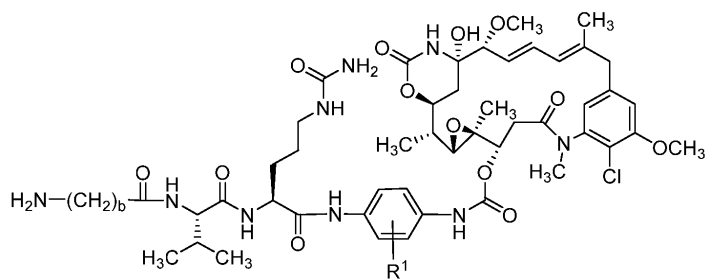
(P1V1)



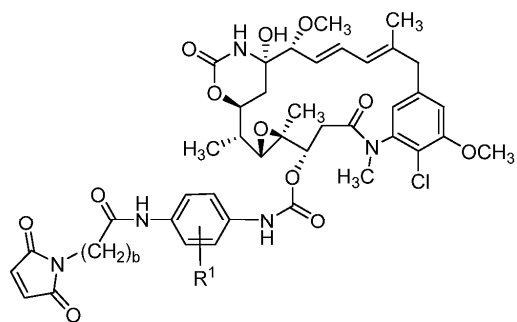
(P1W1)



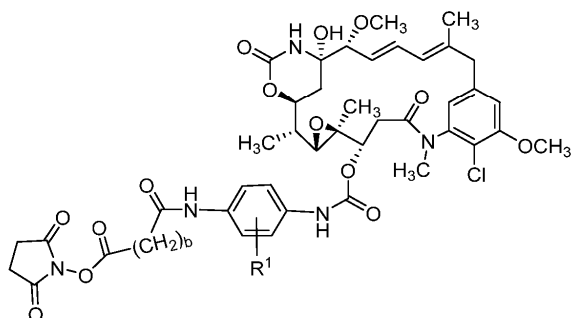
(P1K1)



(P1TG1)



(P1ZZ1)

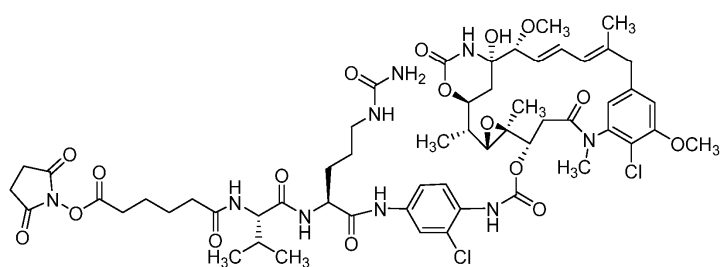
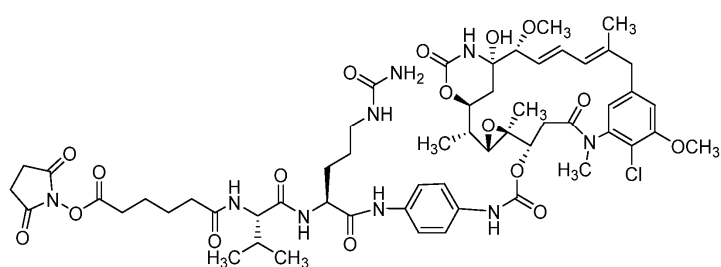
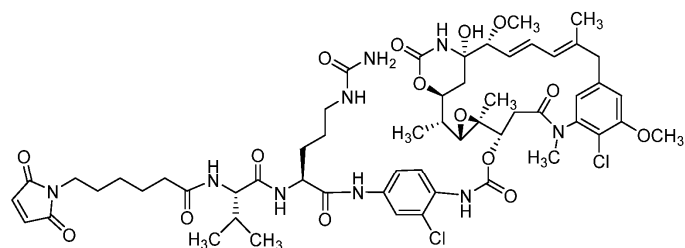
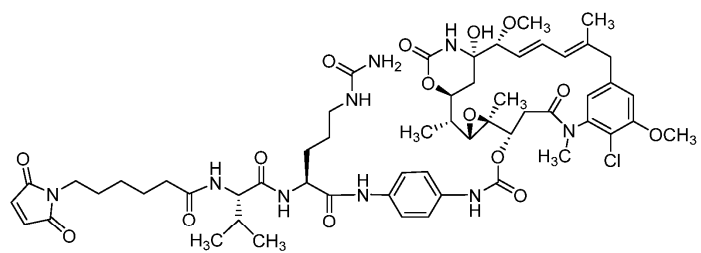


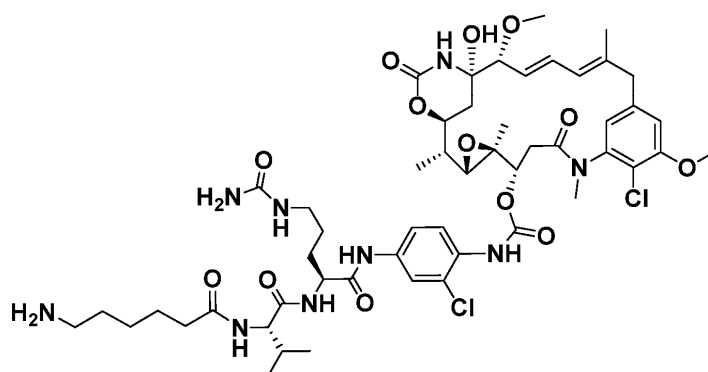
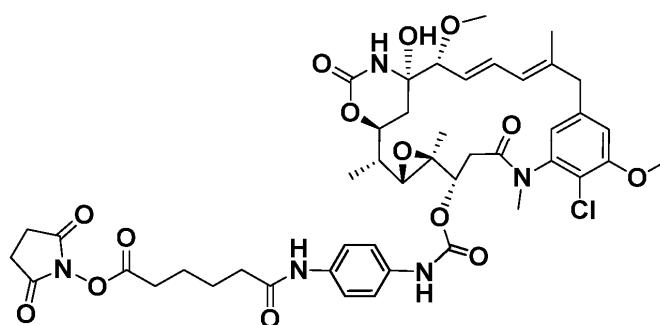
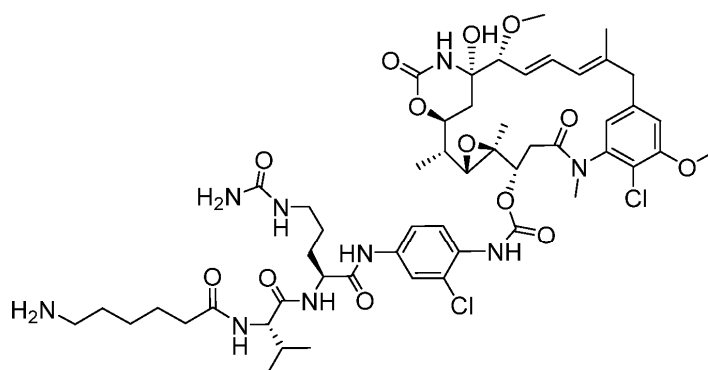
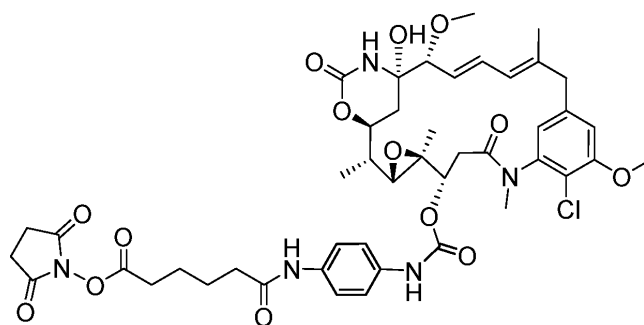
(P1ZZ2)

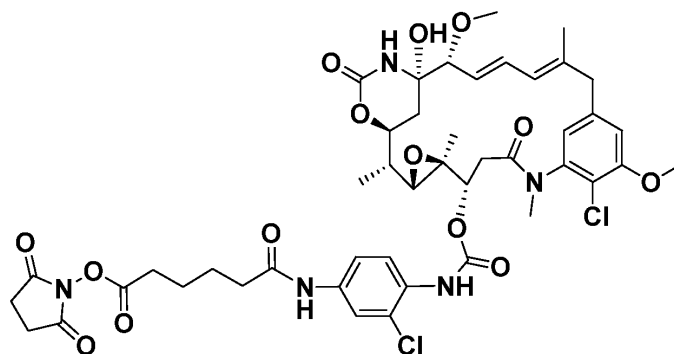
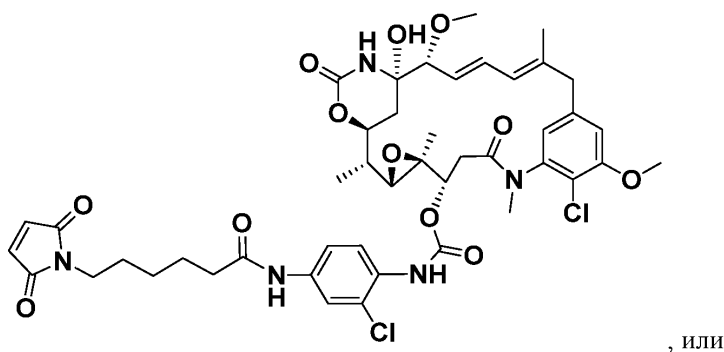
В некоторых вариантах осуществления изобретения соединением по формуле (P1) является соединение, имеющее одну из следующих структур:



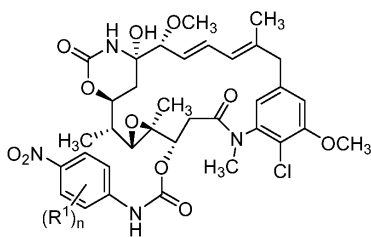
039072







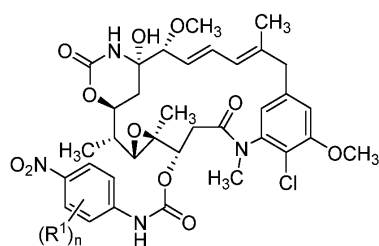
В некоторых вариантах осуществления изобретения соединением формулы (PPII) является соединение формулы (PP5A)



PP5A,

где  $R^1$  и  $n$  соответствуют определениям в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединением формулы (PPII) является соединение по формуле (PP5A1)



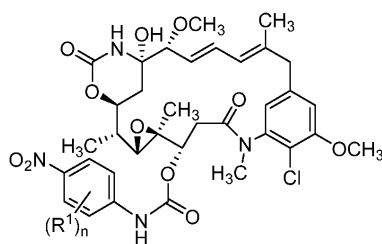
(PP5A1)

где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила и гетероциклоалкила; и

$n$  представляет собой целое число от 0 до 4.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  независимо представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{1-6}$ галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетероциклоалкил или гало. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  независимо представляет собой  $C_{1-6}$ алкил или  $C_{1-6}$ алкокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой гало. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $n$ ,  $m$ ,  $p$  или  $q$  равен 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $n$ ,  $m$ ,  $p$  или  $q$  равен 0 или 1.

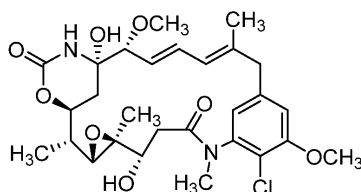
В некоторых вариантах осуществления изобретения соединением формулы (PPII) является соединение по формуле (PP5A)



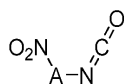
PP5A,

где  $R^1$ , независимо в каждом случае, представляет собой гало или трифторметил; и  $n$  равен 0, 1 или 2.

Соединения по формуле (PPII) могут быть синтезированы посредством приведения соединений по формуле (P2) во взаимодействие с соединениями по формуле (PP6) в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса



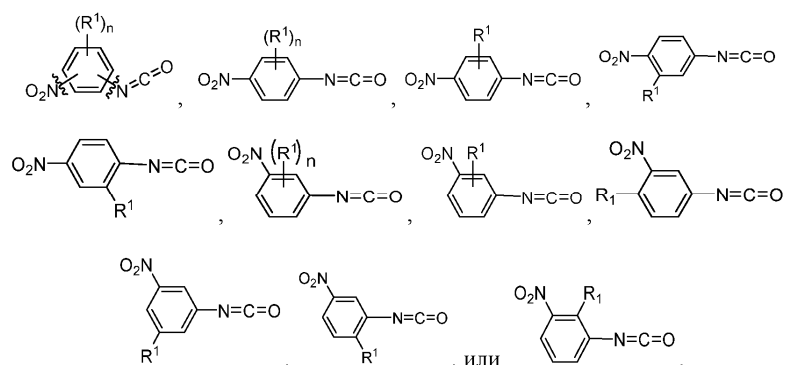
P2,



PP6.

Подходящие соединения по формуле (PP6) включают, не ограничиваясь перечисленным, 4-изоцианато-2-метил-1-нитробензол, 1-изоцианато-2-метил-4-нитробензол, 2-бром-4-изоцианато-1-нитробензол, 2-хлор-1-изоцианато-4-нитробензол, 3-хлор-1-изоцианато-4-нитробензол, 2-фтор-1-изоцианато-4-нитробензол, 2-бром-1-изоцианато-4-нитробензол, 4-изоцианато-2-метокси-1-нитробензол, 1-изоцианато-2-метокси-4-нитробензол, 4-изоцианато-1-нитро-2-трифторметилбензол или 1-изоцианато-4-нитро-2-трифторметилбензол.

Подходящие соединения по формуле (PP6) включают соединения по одной из следующих формул:



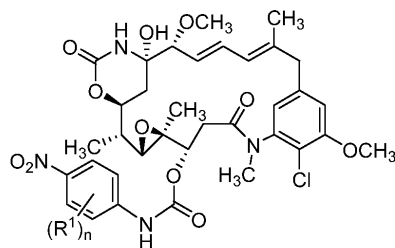
где  $R^1$ , независимо в каждом случае, представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкил или  $C_{1-6}$ галоалкокси,

где  $n$  равен 0, 1, 2, 3 или 4.

В некоторых из этих вариантов осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси или метил. В отдельных вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси, метил, фтор, хлор, бром или трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $n$  равен 1 или 2. В некоторых из этих вариантов  $n$  равен 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор, хлор, бром или иод. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой пирролидинил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор.

В некоторых из этих способов соединение имеет формулу (PP5A)



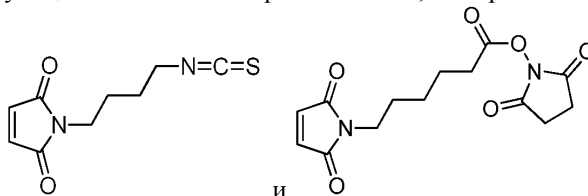
PP5A,

где  $R^1$  и  $n$  соответствуют определениям в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  независимо представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{1-6}$ галоалкил,  $C_{1-6}$ галоалкокси или гало. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  независимо представляет собой  $C_{1-6}$ алкил или  $C_{1-6}$ алкокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой гало. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой трифторметил. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $R^1$  представляет собой бром. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $n$  равен 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $n$  равен 0 или 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $n$  равен 0.

В некоторых из этих способов подходящие восстанавливающие агенты включают металл, металлическую фольгу, порошкообразный металл, металлическую пыль, амальгаму металла или металлические опилки. В некоторых вариантах осуществления изобретения металл выбирают из цинка, железа, алюминия, палладия или никелевого катализатора Ренея. В некоторых из этих способов подходящим восстанавливающим агентом является цинк. В некоторых из этих способов подходящим восстанавливающим агентом является цинк в уксусной кислоте. В некоторых из этих способов подходящим восстанавливающим агентом является цинковая пыль в уксусной кислоте.

Иллюстративные бифункциональные спейсеры включают, не ограничиваясь перечисленным,



Е. Способы применения и фармацевтические композиции.

Настоящее изобретение включает способы лечения или профилактики заболеваний, состояний или нарушений, например пролиферативных заболеваний, таких как рак, включающие введение в терапевтически эффективном количестве одного или нескольких предложенных в настоящем документе соединений, например одного или нескольких соединений по формуле (I) или (II). Заболевания, нарушения и/или состояния включают, не ограничиваясь перечисленным, те из них, которые ассоциированы с перечисленными в настоящем документе антигенами. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигеном является PSMA, MUC16, STEAP2 или EGFRvIII.

Предложенные в настоящем изобретении соединения могут быть использованы для лечения первичных и/или метастатических опухолей, возникающих в головном мозге и оболочках головного мозга, ротоглотке, легких и бронхиальном дереве, желудочно-кишечном тракте, мужских и женских половых путях, мышцах, костях, коже и придатках кожи, соединительной ткани, селезенке, иммунной системе, кроветворных клетках и костном мозге, печени и мочевых путях и органах чувств, таких как глаз. В некоторых вариантах осуществления изобретения предложенные в настоящем изобретении соединения используются для лечения одного или нескольких следующих типов рака: почечноклеточной карциномы, карциномы поджелудочной железы, рака головы и шеи, рака предстательной железы, злокачественных глиом, остеосаркомы, рака толстой кишки, рака желудка (например, рака желудка с амплификацией MET), злокачественной мезотелиомы, плазмоцитомы, рака яичников, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, синовиальной саркомы, рака щитовидной железы, рака молочной железы или меланомы. В некоторых вариантах осуществления изобретения раком является рак молочной желе-

зы.

Описанные в настоящем документе соединения могут быть введены отдельно или вместе с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами. Один или несколько дополнительных терапевтических агентов могут быть введены непосредственно перед, одновременно или вскоре после введения описанных в настоящем документе соединений. Настоящее изобретение включает также фармацевтические композиции, содержащие любое из описанных в настоящем документе соединений в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами, и способы лечения, включающие введение таких комбинаций нуждающимся в них пациентам.

Подходящие дополнительные терапевтические агенты включают, не ограничиваясь перечисленным, антагонист EGFR (например, антитело к EGFR [например, цетуксимаб или панитумумаб] или низкомолекулярный ингибитор EGFR [например, gefitinib или erlotinib]), антагонист другого представителя семейства EGFR, такого как Her2/ErbB2, ErbB3 или ErbB4 (например, антитело к ErbB2 [например, трастузумабили ТРЕТ-DM1 (KADCYLA®)], антитело к ErbB3 или антитело к ErbB4, или низкомолекулярный ингибитор активности ErbB2, ErbB3 или ErbB4), антагонист EGFRvIII (например, антитело, специфично связывающее EGFRvIII), антагонист cMET (например, антитело к cMET), антагонист IGF1R (например, антитело к IGF1R), ингибитор B-raf (например, вемурафениб, сорафениб, GDC-0879, PLX-4720), ингибитор PDGFR- $\alpha$  (например, антитело к PDGFR- $\alpha$ ), ингибитор к PDGFR- $\beta$  (например, антитело к PDGFR- $\beta$  или низкомолекулярный ингибитор киназы, такой как, например, иматиниба месилат или сунитиниба малат), ингибитор лиганда PDGF (например, антитело к PDGF-A, -B, -C или -D, аптамер, миРНК и т.д.), антагонист VEGF (например, ловушка VEGF, такой как афлиберцепт, см., например, патент US 7087411 (называемый также в настоящем документе "химерным белком, подавляющим VEGF"), антитело к VEGF (например, бевацизумаб), низкомолекулярный ингибитор киназы рецептора VEGF (например, сунитиниб, сорафениб или пазопаниб)), антагонист DLL4 (например, антитело к DLL4, предложенное в патенте US 2009/0142354, такое как REGN421), антагонист Ang2 (например, антитело к Ang2, предложенное в US 2011/0027286, такое как H1H685P), антагонист FOLH1 (например, антитело к FOLH1), антагонист STEAP1 или STEAP2 (например, антитело к STEAP1 или антитело к STEAP2), антагонист Tmprss2 (например, антитело к Tmprss2), антагонист MCLN (например, антитело к MCLN), антагонист CA9 (например, антитело к CA9), антагонист уроплакина (например, антитело к уроплакину [например, антителок к UPK3A]), антагонист MUC16 (например, антитело к MUC16), антагонист Tn (например, антитело к Tn), антагонист CLEC12A (например, антитело к CLEC12A), антагонист TNFRSF17 (например, антитело к TNFRSF17), антагонист LGR5 (например, антитело к LGR5), одновалентный антагонист CD20 (например, одновалентное антитело к CD20, такое как ритуксимаб) и т.д. Другие агенты, которые могут оказать благоприятное воздействие при введении в комбинации с соединениями по данному изобретению, включают, например, тамоксифен, ингибиторы ароматазы и ингибиторы цитокинов, включая низкомолекулярные ингибиторы цитокинов и антитела, которые связываются с цитокинами, такими как ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-9, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-17, ИЛ-18, или с соответствующими рецепторами.

Подходящие терапевтические агенты включают также, не ограничиваясь перечисленным, химиотерапевтические агенты, включая алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклоэсфамид (Цитоксан™); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодофа, карбоквон, метуредофа и уредофа; этиленимины и метиламеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамида, триэтиленфосфоарамида и триметиллоломеламин; мустаргены, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мелфлоретамин, мелфлоретамин оксид гидрохлорид, мелфалан, новемибичин, фенестерин, преднимустин, троксфамид, урамустин; нитромочевины, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломутин, ранимустин; антибиотики, такие как аклациномизины, актиномицин, отрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубин, деторубин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, докорубин, эпирубин, эсорубин, идарубин, марселломицин, митомицины, микофеноловая кислота, ногалимицин, оливомицины, пепломицин, потфиромицин, пуромицин, квеламицин, родорубин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностин, зорубин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; аналог пурина, такие как флуарабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азациитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепитиостан, тестостерон; соединения, угнетающие функцию надпочечников, такие как аминоглутетимид, митоган, трилостан; соединения, восполняющие дефицит фолиевой кислоты, такие как фролиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамида гликозид; аминолевулиновая кислота; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демекольцин; диазиквон; эльфорнитин; эллиптиния ацетат; этоглуцид; галлия тритрат; гидроксимочевина; лентинин; лонидамин; митогуазон; митоксантрон; модипамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубин; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK™; разоксан; сизофиран; спирогерма-

ний; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ара-С"); циклофосфамид; тиотепа; таксаны, например паклитаксел (Таксол™, Бристо-Майерс Сквибб Онкологджи, Принстон, Нью-Джерси) и доцетаксел (Такотер™; Авентин Энтони, Франция); хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин С; митоксантрон; винкристин, винорельбин, навельбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминоптерин; кселода; ибандронат; СРТРЕТ-11; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (DMFO); ретиноевая кислота; эсперамицины; капецитабин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных соединений. Это определение включает также антигормональные агенты, действие которых основано на регуляции или подавлении гормонального воздействия на опухоли, такие как антиэстрогены, включая, например, тамоксифен, ралоксифен, 4(5)-имидазолы, ингибирующие ароматазу, 4-гидроксиатамоксифен, триоксифен, коексифен, LY 117018, онапристон и торамифен (Фарестон); и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных соединений.

Описанные в настоящем документе соединения могут быть также введены и/или приготовлены в комбинации с противовирусными, антибактериальными, анальгезирующими соединениями, кортикостероидами, стероидами, кислородом, антиоксидантами, ингибиторами ЦОГ, кардиозащитными соединениями, металлохелаторами, интерфероном- $\gamma$  и/или НПВС.

В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, пациенту могут быть многократно введены дозы описанного в настоящем документе соединения (или фармацевтической композиции, содержащей описанное в настоящем документе соединение в комбинации с любыми дополнительными терапевтическими агентами, упоминаемыми в настоящем документе) в течение определенного периода времени. Способы согласно данной особенностью изобретения включают последовательное введение пациенту повторных доз описанного в настоящем документе соединения. В настоящем изобретении "последовательное введение" означает, что каждую дозу соединения вводят пациенту в разные моменты времени, например в разные дни, разделенные predetermined интервалом (например, выраженным в часах, днях, неделях или месяцах). Настоящее изобретение включает способы, предусматривающие последовательное введение пациенту однократной начальной дозы соединения, описанного в настоящем документе, с последующим введением одной или нескольких дополнительных доз соединения второй очереди и необязательно одной или нескольких доз соединения третьей очереди.

Термины "начальная доза", "дозы второй очереди" и "дозы третьей очереди" относятся в временной последовательности введения описанных в настоящем документе соединений. Таким образом, "начальная доза" - это доза, которую вводят в начале схемы лечения (называется также "исходной дозой"); "дозы второй очереди" - это дозы, которые вводят после начальной дозы; и "дозы третьей очереди" - это дозы, которые вводят после доз второй очереди. Начальная дозы, дозы второй и третьей очереди могут содержать одинаковое количество описанного в настоящем документе соединения, но, как правило, могут отличаться друг от друга по частоте введения. В некоторых вариантах осуществления изобретения количества соединения, содержащегося в начальной дозе, дозах второй очереди и дозах третьей очереди, различаются (например, скорректированы в направлении повышения или снижения в зависимости от ситуации) во время курса лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения в начале схемы лечения пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4 или 5) дозы в качестве "насыщающих доз", и затем последующие дозы вводят с более низкой частотой (например, "поддерживающие дозы").

В определенных примерах осуществления настоящего изобретения каждая доза второй очереди и/или доза третьей очереди вводится через 1-26 (например, 1, 1 1/2, 2, 2 1/2, 3, 3 1/2, 4, 4 1/2, 5, 5 1/2, 6, 6 1/2, 7, 7 1/2, 8, 8 1/2, 9, 9 1/2, 10, 10 1/2, 11, 11 1/2, 12, 12 1/2, 13, 13 1/2, 14, 14 1/2, 15, 15 1/2, 16, 16 1/2, 17, 17 1/2, 18, 18 1/2, 19, 19 1/2, 20, 20 1/2, 21, 21 1/2, 22, 22 1/2, 23, 23 1/2, 24, 24 1/2, 25, 25 1/2, 26, 26 1/2 или более) недель после непосредственно предшествовавшей дозы, которая означает, при последовательном многократном введении доз, дозу соединения, которая была введена пациенту перед введением следующей дозы в последовательности, при отсутствии промежуточных доз.

Способы согласно данной особенности изобретения могут включать введение пациенту любого количества доз соединения второй очереди и/или третьей очереди. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения пациенту вводят дозу второй очереди лишь однократно. В других вариантах осуществления изобретения пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) доз второй очереди. Аналогично, в некоторых вариантах осуществления изобретения пациенту вводят дозу третьей очереди лишь однократно. В других вариантах осуществления изобретения пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) доз третьей очереди. Схема введения может применяться в течение неопределенного времени на протяжении жизни определенного пациента или до тех пор, пока такое лечение не перестанет быть терапевтически необходимым или выгодным.

В вариантах осуществления изобретения с многократным введением доз второй очереди каждая доза второй очереди может быть введена с такой же частотой, как и другие дозы второй очереди. Напри-

мер, каждая доза второй очереди может быть введена пациенту через 1-2 недели или 1-2 месяца после непосредственно предшествовавшей дозы. Аналогично, в вариантах осуществления изобретения с многократным введением доз третьей очереди каждая доза третьей очереди может быть введена пациенту с такой же частотой, как и другие дозы третьей очереди. Например, каждая доза третьей очереди может быть введена пациенту через 2-12 недель после непосредственно предшествовавшей дозы. В определенных вариантах осуществления изобретения частота введения доз второй и/или третьей очереди пациенту может варьировать в схеме лечения. Во время курса лечения врач может также корректировать частоту введения доз после клинического обследования в зависимости от потребностей конкретного пациента.

Настоящее изобретение включает схемы введения, согласно которым пациенту вводят от 2 до 6 насыщающих доз с первой частотой (например, один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели, один раз в месяц, один раз каждые два месяца и т.д.) с последующим введением двух или более поддерживающих доз с меньшей частотой. Например, в соответствии с данной особенностью изобретения, если насыщающие дозы вводят с частотой один раз в месяц, то поддерживающие дозы могут быть введены пациенту один раз каждые шесть недель, один раз каждые два месяца, один раз каждые три месяца и т.д.

Настоящее изобретение включает фармацевтические композиции, содержащие описанные в настоящем документе соединения и/или конъюгаты, например соединения по формуле (I) и (II), например, композиции, содержащие описанные в настоящем документе соединения, его соль, стереоизомер, полиморф и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество. Примеры подходящих носителей, разбавителей и вспомогательных веществ включают, не ограничиваясь перечисленным, буферы для поддержания надлежащего pH композиции (например, цитратные буферы, сукцинатные буферы, ацетатные буферы, фосфатные буферы, лактатные буферы, оксалатные буферы и т.п.), белки-переносчики (например, человеческий сывороточный альбумин), солевые растворы, полиолы (например, трегалозу, сахарозу, ксилит, сорбит и т.п.), поверхностно-активные вещества (например, полисорбат 20, полисорбат 80, полиоксалат и т.п.), противомикробные соединения и антиоксиданты.

#### Г. Примеры.

Спектры протонного ЯМР линкеров были получены на приборе Varian 300 МГц, тогда как спектры полезной нагрузки и полезной нагрузки-линкеров были получены на приборе Varian 500 МГц instrument. Для регистрации масс-спектров использовали приборы для ЖХ МС Agilent, основанные на использовании ионизации электрораспылением и либо масс-спектрометра с ионной ловушкой, либо одноквадрупольного масс-спектрометра. Для всех примеров представлены только преобладающие изотопы, полученные методом масс-спектрометрии. Все исходные материалы были приобретены из коммерческих источников и применялись без предварительной очистки, если не указано иное, тогда как растворители были приобретены из коммерческих источников и при необходимости высушены с использованием методов, известных специалистам в данной области техники.

Ниже перечислены использованные в примерах сокращения, в скобках показаны полные химические названия веществ: Ahx (6-аминокапроновая кислота), Boc (N-трет-бутоксикарбонил), Cap (капроил), CDCl<sub>3</sub> (хлороформ-d), CD<sub>3</sub>OD (метанол-d<sub>4</sub>), Cit (L-цитруллин), DCM (дихлорметан), DIEA (N,N-диизопропилэтиламин), DMF (N,N-диметилформамид), EDC (N-(3-диметиламинопропил)-N-этилкарбодиимид гидрохлорид), EEDQ (2-этокси-1-этоксикарбонил-1,2-дигидрохинолин), EtOAc (этил-ацетат), Fmoc (9-флуоренилметоксикарбонил), HATU (1-[бис(диметиламино)метиле]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния 3-оксид гексафторфосфат), HCl (водный раствор соляной кислоты), HOAc (ледяная уксусная кислота), HOAT (1-гидрокси-7-азабензотриазол), ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография), ЖХ-МС (тандемная ВЭЖХ и масс-спектрометрия), Mal (малеимид), MeCN (ацетонитрил), MeOH (метанол), MS (масс-спектрометрия низкого разрешения), NaHCO<sub>3</sub> (натрия бикарбонат), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (безводный натрия сульфат), NH<sub>4</sub>Cl (аммония хлорид), NHS (N-гидроксисукцинимид), ЯМР (ядерная магнитно-резонансная спектроскопия), OSu (сложный эфир янтарной кислоты), TEA (триэтиламин), TFA (трифторуксусная кислота), THF (тетрагидрофуран), ТСХ (тонкослойная хроматография), Val (L-валин), ZnCl<sub>2</sub> (цинка хлорид).

#### Пример 1.

Пример 1 относится к соединениям, проиллюстрированным на фиг. 9.

Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-p-(амино-Цит-Вал-Кап-Мал) (9).

Стадия А. L-валин-L-цитруллин (2).

В круглодонную колбу вместимостью 50 мл, оснащенную магнитной мешалкой и азотподводящей трубкой, вносили Boc-L-валин-L-цитруллин (1, 0.5 г; 1.3 ммоль), ацетонитрил (10 мл) и воду (10 мл). Добавляли водный раствор 1M HCl (13 мл; 13 ммоль) и этот раствор перемешивали при температуре окружающей среды в течение 18 ч. Раствор замораживали и лиофилизировали до получения белого твердого вещества. Твердое вещество экстрагировали 10% MeOH в DCM, органический слой сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, отфильтровывали и концентрировали, получая указанное в заголовке соединение (0.4 г, выход 98%) в виде бесцветного прозрачного масла. MS (ИЭР, полож. и отр. ионы): рассчитано для C<sub>11</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>, 274.2; полученные значения 275.2 (M+H), 273.2 (M-H).

Стадия В. 6-Малеимидил-капроамидил-L-валин-L-цитруллин (4).



В круглодонную колбу вместимостью 25 мл оснащенную магнитной мешалкой и азотподводящей трубкой, вносили L-валин-L-цитруллин (2, 0.4 г; 1.3 ммоль), сукцинатный эфир 6-малеимидапроновой кислоты (3, 0.6 г; 2.0 ммоль) в DMF (3 мл) и затем DIEA (0.4 мл; 2.0 ммоль). Раствор перемешивали при температуре окружающей среды в течение 18 ч, разбавляли водой (2 мл) и наносили на колонку C18 column с последующим элюированием 5-95% MeCN в воде (содержащей 0.05% HOAc). Содержащие продукт фракции объединяли, замораживали и лиофилизировали, получая указанное в заголовке соединение (0.3 г, выход 47%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР, полож. и отр. ионы): рассчитано для  $C_{21}H_{33}N_5O_7$ , 467.2; полученные значения 468.4 (M+H), 466.4 (M-H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-нитробензол) (7).

В сухой круглодонной колбе взвешивали майтанзинол (6) (полученный, как было описано в предыдущем уровне техники, 114 мг, 0.202 ммоль) и p-нитрофенил изоцианат (5, 73 мг, 0.445 ммоль). Смесь растворяли в сухом DCM (10 мл) и добавляли по каплям 1.0M раствор цинка хлорида в диэтиловом эфире (0.50 мл, 0.50 ммоль). Колбу герметично запечатывали резиновой мембраной, продували через иглу аргон и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 18 ч. ЖХ-МС продемонстрировала полную конверсию майтанзинола. Реакционную смесь разбавляли водой и трехкратно экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором  $NaHCO_3$  и соли, сушили над  $Na_2SO_4$  и отфильтровывали. Выпаренный продукт не очень хорошо растворялся в смеси MeCN/вода, поэтому его повторно концентрировали досуха под вакуумом, растворяли в смеси EtOAc/DCM и отфильтровывали над  $Na_2SO_4$ . Затем фильтрат очищали методом флэш-хроматографии на силикагеле (градиентное элюирование: 50-100% EtOAc в гексанах) и содержащие продукт фракции объединяли, концентрировали и сушили под вакуумом, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (50 мг, 34%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{35}H_{41}N_4O_{11}Cl$ , 728.3; полученные значения 729.2 (M+H).

Стадия D. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-аминобензол) (8).

Продукт, полученный на предыдущей стадии (7, 49 мг, 0.067 ммоль), и цинковую пыль (85 мг, 1.30 ммоль) взвешивали в круглодонной колбе и обрабатывали THF (4 мл), водой (1 мл) и HOAc (0.100 мл, 1.75 ммоль). Колбу герметично запечатывали резиновой мембраной, продували через колбу аргон и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 18 ч. Реакционную смесь отфильтровывали над Целитом, твердое вещество промывали ацетонитрилом (MeCN, 3×5 мл) и фильтрат концентрировали под вакуумом до получения масла янтарного цвета. Это масло подвергли очистке на колонке C18 Aq RediSep Gold в системе ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.05% уксусной кислоты, в течение 12 мин). Содержащие продукт фракции объединяли, частично концентрировали под вакуумом, замораживали в сухом льде и лиофилизировали в течение 3 суток, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества кремового цвета (32 мг, 63%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{35}H_{43}N_4O_9Cl$  698.3; полученные значения 699.2 (M+H).

Стадия E. Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-п-(амино-Цит-Вал-Кап-Мал) (9).

Продукт, полученный на предыдущей стадии (8, 16 мг, 0.021 ммоль), 6-малеимидил-капроамидил-L-валин-L-цитруллин (4, 16 мг, 0.034 ммоль) и EEDQ (15 мг, 0.061 ммоль) взвешивали в круглодонной колбе и растворяли в сухом DCM (2 мл) и безводном метаноле (1 мл). Колбу герметично запечатывали резиновой мембраной, продували через нее аргон и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 18 ч. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом, растворяли в смеси MeCN/вода и очищали непосредственно на колонке C18 Aq RediSep Gold с использованием системы ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.05% уксусной кислоты, в течение 12 мин). Хорошего разделения продукта достичь было сложно, поэтому фракции продукта с примесями лиофилизировали и подвергали повторной двукратной очистке методом препаративной ВЭЖХ на колонке Phenomenex Gemini 5μ, 30×150 мм C18 (вначале 40-80%, затем 20-80% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.1% HOAc, в течение 20 мин, 30 мл/мин). Содержащие продукт фракции объединяли, частично концентрировали под вакуумом, замораживали в сухом льде и лиофилизировали в течение ночи чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (5 мг, 21%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{56}H_{74}N_9O_{15}Cl$ , 1147.5; полученные значения 1148.5 (M+H), 1130.4 (M-H<sub>2</sub>O+H), 1170.5 (M+Na).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ: 7.48 - 7.42 (m, 2H), 7.40 (t, J = 8.3 Гц, 2H), 7.07 (s, 1H), 7.02 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 6.69 (d, J = 4.7 Гц, 1H), 6.49 (dd, J = 15.4, 11.1 Гц, 1H), 6.14 (d, J = 8.9 Гц, 1H), 5.33 (dd, J = 15.4, 8.7 Гц, 1H), 4.47 (dd, J = 11.9, 2.9 Гц, 1H), 4.40 (dd, J = 8.9, 5.2 Гц, 1H), 4.25 - 4.14 (m, 1H), 4.07 (dd, J = 12.0, 7.6 Гц, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.50 (d, J = 12.7 Гц, 1H), 3.43 (d, J = 8.9 Гц, 1H), 3.38 (t, J = 7.1 Гц, 2H), 3.18 - 3.13 (m, 2H), 3.11 (s, 4H), 3.09 - 2.97 (m, 2H), 2.90 (dd, J = 9.8, 3.7 Гц, 1H), 2.58 - 2.47 (m, 1H), 2.18 (t, J = 7.5 Гц, 2H), 2.14-2.04 (m, 2H), 2.00-1.92 (m, 1H), 1.87 (d, J = 4.9 Гц, 1H), 1.80 (dd, J = 10.0, 4.8 Гц, 1H), 1.67 (dd, J = 13.7, 2.1 Гц, 2H), 1.63 (s, 4H), 1.59 - 1.41 (m, 8H), 1.41 - 1.33 (m, 2H), 1.25-1.17 (m, 4H), 1.17-1.09 (m, 4H), 1.04 (d, J = 6.5 Гц, 1H), 0.94 (dd, J = 11.7, 6.7 Гц, 1H), 0.87 (dt, J = 7.9, 4.0 Гц, 6H), 0.77 (s, 3H).

Пример 2.

Пример 2 относится к соединениям, проиллюстрированным на фиг. 10.

Сукцинатный эфир майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-п-аминоадипиновой кислоты (10).

Стадия А. Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-п-аминоадипиновая кислота.

Продукт, полученный в примере 1, стадия D (8, 20 мг, 0.0263 ммоль) и адипиновый ангидрид (называемый также оксепан-2,7-дионом, 20 мг, 0.156 ммоль) взвешивали в круглодонной колбе, растворяли в THF (2.0 мл) и обрабатывали триэтиламино (0.010 мл, 0.0717 ммоль). Твердые компоненты не растворялись, поэтому добавляли DMF (1.0 мл), колбу запечатывали резиновой мембраной, продували через нее аргон и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды. По истечении 18 ч ЖХ-МС продемонстрировала полную конверсию соединения 2, поэтому реакционную смесь концентрировали до образования масла под вакуумом, растворяли в смеси MeCN/вода и очищали на колонке C18 Aq RediSep Gold в системе ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.05% уксусной кислоты). Содержащие продукт фракции объединяли, частично концентрировали под вакуумом, замораживали в сухом льде и лиофилизировали в течение 18 ч, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (19 мг, 86%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{41}H_{51}ClN_4O_{12}$ , 826.3; полученные значения 827.3 (M+H), 849.3 (M+Na).

Стадия В. Сукцинатный эфир майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-п-аминоадипиновой кислоты (10).

Продукт, полученный на предыдущей стадии (18 мг, 0.0218 ммоль), N-гидроксисукцинимид (19 мг, 0.165 ммоль) и EDC гидрохлорид (34 мг, 0.177 ммоль) взвешивали в круглодонной колбе, растворяли в DCM (3 мл), колбу запечатывали резиновой мембраной, продували через нее аргон и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды. По истечении 20 ч реакционную смесь концентрировали под вакуумом, растворяли в MeCN, добавляли 2 капли 10% водной уксусной кислоты и очищали на колонке C18 Aq RediSep Gold в системе ISCO (градиентное элюирование: 30-90% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.05% уксусной кислоты). Содержащие продукт фракции объединяли, частично концентрировали под вакуумом, замораживали в сухом льде и лиофилизировали в течение 18 ч, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (10 мг, 50%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{45}H_{54}N_5O_{14}Cl$ , 923.3; полученные значения 924.3 (M+H), 946.3 (M+Na).

$^1H$  ЯМР (500 МГц,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.62 (s, 1H), 7.54 (d, 2H, J = 9 Гц), 7.39 (d, 2H, J = 9 Гц), 6.84 (d, 1H, J = 2 Гц), 6.69 (d, m, J=2 Гц), 6.58 (s, 1H), 6.47 (dd, 1H, J = 16 Гц, 11 Гц), 6.18 (s, 1H), 6.10 (d, 1H, J = 11 Гц), 5.37 (dd, 1H, J = 16 Гц, 9 Гц), 4.81 (dd, 1H, J = 12 Гц, 2 Гц), 4.32 (t, 1H, J = 10 Гц), 4.00 (s, 3H), 3.50 (d, 1H, J = 14 Гц), 3.47 (d, 1H, J = 9 Гц), 3.31 (s, 3H), 3.27 (d, 1H, J = 13 Гц), 3.20 (s, 3H), 2.89 (m, 6H), 2.68 (m, 2H), 2.51 (dd, 1H, J = 14 Гц, 12 Гц), 2.43 (m, 2H), 2.26 (dd, 1H, J = 14 Гц, 2 Гц), 1.89 (m, 5H), 1.71 (s, 3H), 1.29 (m, 5H), 0.91 (s, 3H).

Пример 3.

Пример 3 относится к соединениям, проиллюстрированным на фиг. 11.

Сукцинатный эфир майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-п-амино-Цит-Вал-адипиновой кислоты (14).

Стадия А. Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-п-амино-Цит-Вал-Фмос (12).

Проводилась реакция сочетания между продуктом, полученным в примере 1 на стадии D (8, 54 мг, 0.071 ммоль), и Фмос-L-валин-L-цитруллином (11, 151 мг, 0.304 ммоль) с применением способа, описанного в примере 1, стадия Е, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (51 мг, 61%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{61}H_{73}ClN_8O_{14}$ , 1176.5; полученные значения 1178.1 (M+H), 1200.1 (M+Na).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-п-амино-Цит-Вал (13).

Продукт, полученный на предыдущей стадии (12, 49 мг, 0.042 ммоль), растворяли в 5% (отношение объемов) растворе пиперидина в DMF (2.0 мл) и смесь перемешивали при температуре окружающей среды. По истечении 20 ч реакционную смесь подкисляли несколькими каплями 10% водной уксусной кислоты, разбавляли MeCN и водой (прибл. по 1 мл каждого) и очищали на колонке C18 Aq RediSep Gold в системе ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.05% уксусной кислоты). Содержащие продукт фракции объединяли, частично концентрировали под вакуумом, замораживали в сухом льде и лиофилизировали в течение 18 ч, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества кремового цвета (34 мг, 81%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{46}H_{63}ClN_8O_{12}$ , 954.5; полученные значения 955.9 (M+H), 977.9 (M+Na).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-п-амино-Цит-Вал-адипиновая кислота.

Продукт, полученный на предыдущей стадии (13, 49 мг, 0.042 ммоль), и адипиновый ангидрид (называемый также оксепан-2,7-дионом, 20 мг, 0.156 ммоль) взвешивали в круглодонной колбе, растворяли в пиридине (2 мл), колбу герметично запечатывали резиновой мембраной, продували через нее аргон и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды. По истечении 18 ч реакционную смесь концентрировали досуха под высоким вакуумом, подкисляли несколькими каплями 10% водного раствора уксусной кислоты, растворяли в MeCN и очищали на колонке C18 Aq RediSep Gold в системе ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.05% уксусной кислоты). Содержащие продукт фракции объединяли, частично концентрировали под вакуумом, замораживали в сухом льде и лиофилизировали в течение 3 суток, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (14 мг, 40%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для

$C_{52}H_{71}ClN_8O_{15}$ , 1082.5; полученные значения 1084.0 (M+H), 1106.1 (M+Na).

Стадия D. Сукцинатный эфир майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-п-амино-Цит-Вал-адипиновой кислоты (14).

При использовании способа, описанного в примере 2, стадия B, из продукта, полученного на предыдущей стадии (13 мг, 0.012 ммоль), получали указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (7 мг, 50%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{56}H_{74}ClN_9O_{17}$ , 1179.5; полученные значения 1182.1 (M+H), 1203.2 (M+Na).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.91 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.08 (d, J = 7.6 Гц, 1H), 7.84 (d, J = 8.6 Гц, 1H), 7.54 (d, J = 8.8 Гц, 2H), 7.44 (d, J = 8.5 Гц, 2H), 7.26 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.59 - 6.46 (m, 1H), 6.36 (s, 1H), 5.98 (s, 1H), 5.53 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.30 (dd, J = 15.1, 9.1 Гц, 1H), 4.44-4.31 (m, 2H), 4.27-4.18 (m, 1H), 4.14 (t, J = 11.2 Гц, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.63 (d, J = 12.0 Гц, 1H), 3.42 (d, J = 9.1 Гц, 1H), 3.18 (s, 4H), 3.10 (s, 3H), 3.06-2.98 (m, 1H), 2.98 - 2.91 (m, 1H), 2.89 (d, J = 9.7 Гц, 1H), 2.81 (s, 4H), 2.73 - 2.65 (m, 2H), 2.30 - 2.22 (m, 1H), 2.21-2.14 (m, 1H), 2.06 (d, J = 13.2 Гц, 1H), 1.97(dd, J = 12.5, 5.6 Гц, 1H), 1.66 (s, 3H), 1.60 (d, J=5.5 Гц, 5H), 1.53 - 1.30 (m, 6H), 1.23 (s, 1H), 1.11 (d, J= 6.3 Гц, 3H), 0.85 (dd, J = 15.2, 6.7 Гц, 6H), 0.75 (s, 3H).

Пример 4.

Пример 4 относится к соединениям, проиллюстрированным на фиг. 12.

Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(амино-Цит-Вал-Кап-Мал) (19).

Стадия A. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-хлор-4-нитро)бензол (16).

В сухой круглодонной колбе взвешивали 2-хлор-4-нитрофенил изоцианат (15, 525 мг, 2.64 ммоль) и майтанзинол (6, 503 мг, 0.890 ммоль). Смесь растворяли в сухом DCM (10 мл) и добавляли по каплям 1.0M раствор цинка хлорида в диэтиловом эфире (1.20 мл, 1.20 ммоль). Колбу запечатывали резиновой мембраной, продували через иглу аргон и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды. По истечении 18 ч ЖХ-МС показала, что реакция не завершена, поэтому сверху устанавливали конденсатор с водным охлаждением и реакционную смесь нагревали до 50°C. По истечении 6 ч большая часть майтанзинола была израсходована, как показала ЖХ-МС, поэтому реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение ночи. По истечении следующих 18 ч реакционную смесь концентрировали под вакуумом, растворяли в смеси MeCN/DCM и очищали методом флэш-хроматографии на силикагеле (градиентное элюирование: 10-50% MeCN in DCM). Поздние фракции продукта объединяли, концентрировали и сушили под вакуумом в течение 3 суток, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде оранжевого твердого вещества (396 мг, 58%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{35}H_{40}Cl_2N_4O_{11}$ , 762.2; полученные значения 763.1 (M+H).

Стадия B. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-хлор-4-амино)бензол (17).

Указанное в заголовке соединение получали из продукта, полученного на предыдущей стадии (16, 388 мг, 0.509 ммоль), в виде белого твердого вещества (301 мг, 75%) при использовании способа, описанного в примере 1, стадия D, за исключением того, что вместо THF использовали MeCN и реакционную смесь перемешивали в течение всего лишь 2 ч. МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{35}H_{42}Cl_2N_4O_9$ , 732.2; полученные значения 733.1 (M+H).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, хлороформ- $d$ )  $\delta$ : 7.83 (d, J = 8.8 Гц, 1H), 6.85 (s, 2H), 6.79 (s, 1H), 6.74 (d, J = 2.6 Гц, 1H), 6.60 (dd, J = 8.8, 2.6 Гц, 1H), 6.42 (dd, J = 15.4, 11.0 Гц, 1H), 6.30 (d, J = 10.8 Гц, 1H), 6.20-6.13 (m, 1H), 5.23 (dd, J = 15.3, 9.0 Гц, 1H), 4.80 (dd, J = 11.8, 2.5 Гц, 1H), 4.37 (ddd, J = 12.4, 10.5, 2.0 Гц, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.56 (d, J = 13.0 Гц, 1H), 3.43 (d, J = 9.0 Гц, 1H), 3.26 (s, 4H), 3.20 (s, 3H), 3.04 (d, J = 9.8 Гц, 1H), 2.85-2.73 (m, 1H), 2.49 (dd, J = 13.7, 11.8 Гц, 1H), 2.23 (dd, J = 13.7, 2.5 Гц, 1H), 1.78 (d, J = 13.5 Гц, 1H), 1.69 (s, 3H), 1.54-1.43 (m, 2H), 1.31 (d, J = 6.4 Гц, 3H), 1.23 (t, J = 12.6 Гц, 1H), 0.88 (s, 3H).

Стадия C. Майтан-3-О-карбомоил-N-2-хлор-4-(аминофенил-Цит-Вал-Фмос).

Указанное в заголовке соединение получали из продукта, полученного на предыдущей стадии (17, 150 мг, 0.189 ммоль), при использовании способа, описанного в примере 3, стадия A, в виде белого твердого вещества (174 мг, 76%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{61}H_{72}Cl_2N_8O_{14}$ , 1210.5; полученные значения 1213.2 (M+H), 1235.3 (M+Na).

Стадия D. Майтан-3-О-карбомоил-N-2-хлор-4-(аминофенил-Цит-Вал) (18).

Указанное в заголовке соединение получали из продукта, полученного на предыдущей стадии (172 мг, 0.142 ммоль), при использовании способа, описанного в примере 3, стадия B) в виде белого твердого вещества (51 мг, 34%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{46}H_{62}Cl_2N_8O_{12}$ , 988.4; полученные значения 989.3 (M+H), 1011.3 (M+Na).

Стадия E. Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(амино-Цит-Вал-Кап-Мал) (19).

Продукт, полученный на предыдущей стадии (18, 14 мг, 0.013 ммоль) и сукцинатный эфир 6-малеимидил-капроновой кислоты (3, 20 мг, 0.065 ммоль) растворяли в MeCN (2.0 мл) и воде (0.5 мл), добавляли одну каплю насыщенного водного раствора  $NaHCO_3$ , колбу запечатывали резиновой мембраной, продували через нее аргон и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды. По истечении 20 ч реакционную смесь подкисляли несколькими каплями 10% водного раствора уксусной кислоты, растворяли в MeCN (са. 2 мл) и очищали на колонке C18 Aq RediSep Gold в системе

ISCO (градиентное элюирование: 30-90% MeCN в воде, в обоих случаях содержащей 0.05% уксусной кислоты). Содержащие продукт фракции объединяли, частично концентрировали под вакуумом, замораживали в сухом льде и лиофилизировали в течение 4 суток, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (10 мг, 63%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{56}H_{73}Cl_2N_9O_{15}$ , 1181.5; полученные значения 1183.1 (M+H), 1204.1 (M+Na).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.16 (s, 1H), 8.14 (d, J = 7.3 Гц, 1H), 7.93 (dd, J = 15.2, 2.3 Гц, 1H), 7.81 (d, J = 9.1 Гц, 2H), 7.71-7.59 (m, 1H), 7.46 (dd, J = 8.8, 2.4 Гц, 1H), 7.21 (d, J = 1.7 Гц, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.99 (d, J = 11.8 Гц, 2H), 6.90 (d, J = 8.2 Гц, 1H), 6.57 (dd, J = 15.1, 11.2 Гц, 1H), 6.45 (d, J = 10.6 Гц, 1H), 5.98 (d, J = 6.2 Гц, 1H), 5.91-5.84 (m, 1H), 5.47 - 5.34 (m, 3H), 4.45 (dd, J = 12.0, 2.6 Гц, 1H), 4.40-4.29 (m, 1H), 4.19 (dd, J = 8.6, 6.8 Гц, 1H), 4.13 (t, J = 11.1 Гц, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.57 (d, J = 12.4 Гц, 1H), 3.48 (d, J = 9.1 Гц, 1H), 3.21 (d, J = 3.7 Гц, 4H), 3.07 (s, 3H), 3.05 - 2.98 (m, 1H), 2.98-2.88 (m, 1H), 2.78 (d, J = 9.8 Гц, 1H), 2.43 (t, J = 13.1 Гц, 1H), 2.24 - 2.05 (m, 2H), 2.01 (d, J = 13.8 Гц, 1H), 1.98 - 1.91 (m, 1H), 1.69 (d, J = 7.9 Гц, 1H), 1.65 (s, 3H), 1.61 (dd, J = 9.2, 4.9 Гц, 1H), 1.54 - 1.40 (m, 8H), 1.40 - 1.30 (m, 1H), 1.19 (td, J = 15.8, 14.8, 8.2 Гц, 3H), 1.11 (d, J = 6.4 Гц, 3H), 0.88 (d, J = 6.7 Гц, 1H), 0.84 (dd, J = 17.0, 6.8 Гц, 6H), 0.81 (s, 2H).

Пример 5.

Пример 5 относится к соединениям, проиллюстрированным на фиг. 13.

Сукцинатный эфир майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(амино-Цит-Вал-адипиновой кислоты) (20).

Стадия А. Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(амино-Цит-Вал-адипиновая кислота).

Указанное в заголовке соединение было получено из продукта, полученного в примере 4, стадия D (18, 19 мг, 0.018 ммоль) в соответствии с описанием в примере 3, стадия С, в виде белого твердого вещества (11 мг, 55%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{52}H_{70}Cl_2N_8O_{15}$ , 1116.4; полученные значения 1119.2 (M+H), 1139.2 (M+Na).

Стадия В. Сукцинатный эфир майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(амино-Цит-Вал-адипиновой кислоты) (20).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 2, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (11 мг, 0.010 ммоль), в виде белого твердого вещества (4 мг, 33%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{56}H_{73}Cl_2N_9O_{17}$ , 1213.5; полученные значения 1216.2 (M+H), 1236.3 (M+Na).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.16 (s, 1H), 8.16 (d, J = 7.3 Гц, 1H), 7.91 (d, J = 2.4 Гц, 1H), 7.84 (d, J = 8.7 Гц, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.65 (d, J = 8.7 Гц, 1H), 7.45 (dd, J = 8.7, 2.4 Гц, 1H), 7.21 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.64-6.50 (m, 1H), 6.44 (d, J = 11.0 Гц, 1H), 5.97 (d, J = 6.2 Гц, 1H), 5.87 (d, J = 1.3 Гц, 1H), 5.41 (q, J = 7.6, 6.4 Гц, 3H), 4.50 - 4.39 (m, 1H), 4.34 (d, J = 7.0 Гц, 1H), 4.28 - 4.17 (m, 1H), 4.13 (t, J = 11.6 Гц, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.56 (d, J = 13.9 Гц, 1H), 3.52 - 3.42 (m, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.07 (s, 3H), 3.03 (dt, J = 13.1, 6.7 Гц, 2H), 2.98 - 2.90 (m, 2H), 2.82 - 2.74 (m, 5H), 2.69 - 2.64 (m, 2H), 2.24 (d, J = 9.9 Гц, 1H), 2.21 - 2.13 (m, 1H), 2.00 (d, J = 13.3 Гц, 1H), 1.98 - 1.93 (m, 1H), 1.64 (s, 3H), 1.60 (d, J = 6.5 Гц, 5H), 1.51 (d, J = 13.1 Гц, 1H), 1.47- 1.40 (m, 3H), 1.39 (d, J = 6.5 Гц, 1H), 1.11 (d, J = 6.4 Гц, 3H), 0.85 (dd, J = 16.2, 6.8 Гц, 6H), 0.80 (s, 3H).

Пример 6.

Пример 6 относится к соединениям, проиллюстрированным на фиг. 14.

Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(амино-Цит-Вал-6-Аhx) (22).

Стадия А. Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(амино-Цит-Вал-6-Аhx-Fmoc).

Проводилась реакция сочетания между продуктом, полученным в примере 4 на стадии D (18, 40 мг, 0.040 ммоль), и сукцинатным эфиром Fmoc-6-аминокапроновой кислоты (21, 92 мг, 0.204 ммоль) в соответствии со способом, описанным в примере 4, стадия Е, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (31 мг, 57%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{67}H_{83}Cl_2N_9O_{15}$ , 1323.5; полученные значения 1326.5 (M+H), 1346.6 (M+Na).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-2-хлор-4-(аминофенил-Цит-Вал-6-Аhx) (22).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного для примера 3, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (30 мг, 0.023 ммоль) в виде белого твердого вещества (9 мг, 35%) после повторной очистки методом препаративной ВЭЖХ на колонке Phenomenex Gemini 5u, 30x150 мм C18 (10-90% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.05% HOAc, в течение 22 мин при скорости потока 40 мл/мин). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{52}H_{73}Cl_2N_9O_{13}$ , 1101.5; полученные значения 1102.8 (M+H).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.93 - 7.85 (m, 1H), 7.65 (d, J = 8.7 Гц, 1H), 7.49 (d, J = 10.2 Гц, 1H), 7.21 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.57 (dd, J = 15.1, 11.1 Гц, 1H), 6.44 (d, J = 11.2 Гц, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.50 - 5.32 (m, 2H), 4.49-4.39 (m, 1H), 4.34 (s, 1H), 4.23 - 4.06 (m, 1H), 3.94 (s, 2H), 3.21 (s, 3H), 3.07 (s, 3H), 3.03 - 2.92 (m, 3H), 2.78 (d, J = 9.8 Гц, 1H), 2.41 (d, J = 12.7 Гц, 1H), 2.30 - 2.23 (m, 1H), 2.18 (q, J = 6.7 Гц, 2H), 2.05 - 1.93 (m, 3H), 1.81 (s, 2H), 1.75 - 1.67 (m, 1H), 1.65 (s, 3H), 1.54 - 1.41 (m, 7H), 1.41 - 1.32 (m, 4H), 1.30 - 1.17 (m, 5H), 1.11 (d, J = 6.3 Гц, 3H), 0.85 (dd, J = 11.5, 6.7 Гц, 6H), 0.80 (s, 2H).

Пример 7.

Пример 7 относится к соединениям, проиллюстрированным на фиг. 15.

Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(амино-Кап-Мал) (24).

Проводилась реакция сочетания между продуктом, полученным в примере 4, на стадии В (17, 20 мг, 0.025 ммоль), и 6-малеимидил-капроновой кислотой (23, 28 мг, 0.133 ммоль) в соответствии со способом, описанным в примере 1, стадия Е, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (21 мг, 91%) после второй очистки в системе ISCO. МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{45}H_{53}Cl_2N_5O_{12}$ , 925.3; полученные значения 926.2 (M+H), 948.2 (M+Na).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.96 (s, 1H), 7.90 (d, J = 2.4 Гц, 1H), 7.65 (d, J = 8.8 Гц, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.43 (dd, J = 8.8, 2.4 Гц, 1H), 7.21 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 7.04 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.72 (s, 1H), 6.58 (dd, J = 15.2, 11.1 Гц, 1H), 6.42 (d, J = 11.0 Гц, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.43 (dd, J = 15.3, 9.1 Гц, 1H), 4.51 (dd, J = 11.9, 2.6 Гц, 1H), 4.18 (ddd, J = 12.4, 10.4, 2.3 Гц, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.57 (d, J = 12.4 Гц, 1H), 3.50 (d, J = 9.1 Гц, 1H), 3.42 (t, J = 7.0 Гц, 2H), 3.09 (s, 4H), 2.79 (d, J = 9.8 Гц, 1H), 2.45 (dd, J = 13.8, 11.9 Гц, 1H), 2.31 (t, J = 7.4 Гц, 2H), 2.09 - 1.98 (m, 1H), 1.88 (s, 1H), 1.67 (s, 3H), 1.65 - 1.57 (m, 2H), 1.55 (q, J = 7.2 Гц, 3H), 1.46 (d, J = 12.7 Гц, 2H), 1.34-1.21 (m, 2H), 1.14 (d, J = 6.3 Гц, 3H), 0.83 (s, 3H).

Пример 8.

Пример 8 относится к соединениям, проиллюстрированным на фиг. 16.

Сукцинатный эфир майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(аминоадипиновой кислоты) (26).

Стадия А. Майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(аминоадипиновая кислота).

Проводилась реакция сочетания между продуктом, полученным в примере 4, на стадии В (17, 17 мг, 0.021 ммоль), и адипиновой кислотой (25, 18 мг, 0.123 ммоль) в соответствии со способом, описанным в примере 1, стадия Е, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (11 мг, 59%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{41}H_{50}Cl_2N_4O_{12}$ , 860.3; полученные значения 861 (M+H), 883 (M+Na).

Стадия В. Сукцинатный эфир майтан-3-О-карбомоил-N-фенил-2-хлор-4-(аминоадипиновой кислоты) (26).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 2, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (10 мг, 0.012 ммоль), в виде белого твердого вещества (11 мг, 100%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{45}H_{53}Cl_2N_5O_{14}$ , 957.3; полученные значения 958.0 (M+H), 980.0 (M+Na).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, хлороформ- $d$ )  $\delta$ : 8.18 (d, J = 2.4 Гц, 1H), 8.06 (d, J = 8.9 Гц, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.08 - 6.93 (m, 2H), 6.85 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 6.81 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 6.40 (dd, J = 15.0, 10.9 Гц, 1H), 6.33 (d, J = 11.0 Гц, 1H), 6.14 (d, J = 1.4 Гц, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.19 (dd, J = 15.1, 9.0 Гц, 1H), 4.81 (dd, J = 11.8, 2.6 Гц, 1H), 4.39-4.28 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.74 - 3.65 (m, 3H), 3.55 (d, J = 13.0 Гц, 1H), 3.41 (d, J = 8.8 Гц, 1H), 3.28 - 3.21 (m, 4H), 3.19 (s, 3H), 3.05 (d, J = 9.8 Гц, 1H), 2.93 - 2.87 (m, 6H), 2.86 (s, 6H), 2.82 (d, J = 5.4 Гц, 8H), 2.68 (d, J = 6.9 Гц, 2H), 2.51 (dd, J = 13.9, 11.9 Гц, 1H), 2.42 (t, J = 7.2 Гц, 2H), 2.23 (dd, J = 13.8, 2.6 Гц, 1H), 1.88 (d, J = 5.4 Гц, 5H), 1.74 (d, J = 13.7 Гц, 1H), 1.69 (s, 3H), 1.52 (s, 1H), 1.30 (d, J = 6.4 Гц, 3H), 1.25 - 1.18 (m, 1H), 0.87 (s, 3H).

Пример 9.

Примеры 9-25 относятся к соединениям, проиллюстрированным на фиг. 17, и отражают общую схему получения полезных нагрузок 30а-с.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(3-хлор-4-амино)бензол (30а).

Стадия А. 1-Изоцианато-3-хлор-4-нитробензол (28а).

В соответствии с методикой, описанной Cai et al. (Org. Lett. 2012, 14, 3332-35), трифосген (301 мг, 1.01 ммоль) растворяли в 2 мл сухого EtOAc, реакционную смесь охлаждали до 0°C в атмосфере аргона. По каплям в течение 20 мин добавляли раствор Et<sub>3</sub>N (15 мкл, 0.11 ммоль) и 3-хлор-4-нитроанилина (27а, 173 мг, 1.00 ммоль) в 3 мл сухого EtOAc. Колбу с реакционной смесью нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 1 ч, затем устанавливали сверху конденсатор с водным охлаждением и нагревали до 80°C в течение 18 ч. Растворитель выпаривали под вакуумом и остаток промывали смесью Et<sub>2</sub>O/гексан 1:1 (3×10 мл) на пористом фильтре. Фильтрат выпаривали и сушили под вакуумом, получая указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (177 мг, 89%).

$^1H$  ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.29 (d, J = 2.3 Гц, 1H), 7.14 (d, J = 2.3 Гц, 1H), 7.11 (d, J = 2.3 Гц, 1H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(3-хлор-4-нитро)бензол (29а).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 1, стадия С, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28а, 87 мг, 0.438 ммоль), и майтанзинола (6, 103 мг, 0.182 ммоль) в виде светло-желтого твердого вещества (78 мг, 56%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{35}H_{40}Cl_2N_4O_{11}$ , 762.2; полученные значения 763.1 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(3-хлор-4-амино)бензол (30а).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29а, 77 мг, 0.101 ммоль), в виде белого твердого вещества (59 мг, 74%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{35}H_{42}Cl_2N_4O_9$ , 732.2; полученные значения 733.1 (M+H).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ: 7.43 (s, 1H), 7.13 (d, J = 8.4 Гц, 1H), 6.83 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.46 (dd, J = 15.4, 11.1 Гц, 2H), 6.22 (s, 1H), 6.07 (d, J = 10.9 Гц, 1H), 5.38 (dd, J = 15.4, 8.7 Гц, 1H), 4.78 (d, J = 11.5 Гц, 1H), 4.34 (t, J = 11.5 Гц, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.98 (s, 1H), 3.53 - 3.44 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 3.26 (d, J = 14.5 Гц, 1H), 3.21 (s, 3H), 2.98 (s, 1H), 2.90 (d, J = 9.1 Гц, 1H), 2.50 (t, J = 12.8 Гц, 1H), 2.26 (d, J = 13.9 Гц, 1H), 1.87 (d, J = 13.6 Гц, 1H), 1.70 (s, 3H), 1.50 (dd, J = 10.8, 4.4 Гц, 2H), 1.30 (d, J = 6.3 Гц, 3H), 1.24 (t, J = 12.7 Гц, 1H), 0.90 (s, 3H).

Пример 10.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-хлор-2-амино)бензол (30b).

Стадия А. 1-Изоцианато-4-хлор-2-нитробензол (28b).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 4-хлор-2-нитроанилина (27b, 172 мг, 0.997 ммоль) в виде желтого твердого вещества (198 мг, 100%).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ: 8.14 (d, J = 2.5 Гц, 1H), 7.57 (dd, J = 8.6, 2.5 Гц, 1H), 7.21 (d, J = 8.6 Гц, 1H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-хлор-2-нитро)бензол (29b).

Указание в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия А, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28b, 98 мг, 0.493 ммоль), и майтанзинола (6, 54 мг, 0.096 ммоль) в виде оранжевого твердого вещества (46 мг, 63%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для C<sub>35</sub>H<sub>40</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>11</sub>, 762.2; полученные значения 763.5 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-хлор-2-амино)бензол (30b).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29b, 44 мг, 0.058 ммоль), в виде белого твердого вещества (34 мг, 74%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для C<sub>35</sub>H<sub>42</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>, 732.2; полученные значения 733.5 (M+H).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ: 7.43 (s, 1H), 7.13 (d, J = 8.4 Гц, 1H), 6.83 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.46 (dd, J = 15.4, 11.1 Гц, 2H), 6.22 (s, 1H), 6.07 (d, J = 10.9 Гц, 1H), 5.38 (dd, J = 15.4, 8.7 Гц, 1H), 4.78 (d, J = 11.5 Гц, 1H), 4.34 (t, J = 11.5 Гц, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.98 (s, 1H), 3.54 - 3.44 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 3.26 (d, J = 14.5 Гц, 1H), 3.21 (s, 3H), 2.98 (s, 1H), 2.90 (d, J = 9.1 Гц, 1H), 2.50 (t, J = 12.8 Гц, 1H), 2.26 (d, J = 13.9 Гц, 1H), 1.87 (d, J = 13.6 Гц, 1H), 1.70 (s, 3H), 1.50 (dd, J = 10.8, 4.4 Гц, 2H), 1.30 (d, J = 6.3 Гц, 3H), 1.24 (t, J = 12.7 Гц, 1H), 0.90 (s, 3H).

Пример 11.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-метил-4-амино)бензол (30с).

Стадия А. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-метил-4-нитро)бензол (29с).

Указанное в заголовке вещество было получено из 2-метил-4-нитрофенил изоцианата (28с, 41 мг, 0.230 ммоль) и майтанзинола (6, 53 мг, 0.094 ммоль) в виде желтого твердого вещества (10 мг, 14%) при использовании способа, описанного в примере 4, стадия А, за исключением того, чтобы была выполнена очистка на колонке C18 Aq RediSep Gold с использованием системы очистки Teledyne ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.05% уксусной кислоты). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для C<sub>36</sub>H<sub>43</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>11</sub>, 742.3; полученные значения 743.2 (M+H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-метил-4-амино)бензол (30с).

Указание в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29с, 10 мг, 0.014 ммоль), в виде твердого вещества кремового цвета (6 мг, 60%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для C<sub>35</sub>H<sub>42</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>, 712.3; полученные значения 713.2 (M+H).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ: 7.33 - 7.30 (m, 1H), 6.84 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.55 (d, J = 2.6 Гц, 1H), 6.52 (dd, J = 8.4, 2.7 Гц, 1H), 6.47 (dd, J = 15.5, 10.9 Гц, 1H), 6.24 (s, 1H), 6.22-6.15 (m, 1H), 6.10 (d, J = 10.9 Гц, 1H), 5.46 (dd, J = 15.5, 8.9 Гц, 1H), 4.80 (dd, J = 11.7, 2.4 Гц, 1H), 4.42 - 4.29 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.53 - 3.41 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 3.24 (d, J = 13.0 Гц, 1H), 3.19 (s, 3H), 3.14 (s, 1H), 2.89 (d, J = 9.8 Гц, 1H), 2.49 (dd, J = 13.7, 11.7 Гц, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.22 (d, J = 2.4 Гц, 1H), 1.94 (d, J = 13.6 Гц, 1H), 1.70 (s, 3H), 1.51 - 1.45 (m, 1H), 1.34 - 1.21 (m, 5H), 0.91 (s, 3H).

Пример 12.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-метил-3-амино)бензол (30d).

Стадия А. 1-Изоцианато-2-метил-3-нитробензол (28d).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 2-метил-3-нитроанилина (27d, 153 мг, 1.01 ммоль) в виде бледно-желтого твердого вещества (178 мг, 99%).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ: 7.68 (dd, J = 7.5, 1.8 Гц, 1H), 7.43 - 7.26 (m, 2H), 2.49 (s, 3H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-метил-3-нитро)бензол (29d).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия А, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28d, 70 мг, 0.393 ммоль), и майтанзинола (6, 73 мг, 0.129 ммоль) в виде желтого твердого вещества (41 мг, 43%). МС (ИЭР, полож. ион):

рассчитано для  $C_{36}H_{43}ClN_4O_{11}$ , 742.3; полученные значения 743.5 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-метил-3-амино)бензол (30d).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, за исключением того, что была выполнена повторная очистка методом препаративной ВЭЖХ на колонке Phenomenex Gemini 5 $\mu$ , 30 $\times$ 150мм C18 (20-80% MeCN в воде, в обоих случаях содержащей 0.05% НОАс, в течение 15 мин при скорости потока 50 мл/мин), из продукта, полученного на предыдущей стадии (29d, 44 мг, 0.058 ммоль), в виде белого твердого вещества (12 мг, 29%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{45}ClN_4O_9$ , 712.3; полученные значения 713.5 (M+H).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.92 (s, 1H), 7.19 (d, J = 1.9 Гц, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.90 (s, 2H), 6.63-6.53 (m, 1H), 6.49 (d, J = 11.1 Гц, 1H), 5.54 (dd, J = 15.0, 9.1 Гц, 1H), 4.48 (dd, J = 12.1, 2.7 Гц, 1H), 4.13 (t, J = 11.3 Гц, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.58 (d, J = 12.2 Гц, 1H), 3.25 (s, 3H), 3.16 (d, J = 12.1 Гц, 2H), 3.09 (s, 3H), 2.73 (d, J = 9.7 Гц, 1H), 2.45-2.38 (m, 1H), 2.06-1.94 (m, 5H), 1.66 (s, 3H), 1.56 (d, J = 13.3 Гц, 1H), 1.44 (d, J = 12.2 Гц, 2H), 1.10 (d, J = 6.3 Гц, 3H), 0.79 (s, 3H).

Пример 13.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(6-метил-3-амино)бензол (30e).

Стадия А. 1-Изоцианато-6-метил-3-нитробензол (28e).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 6-метил-3-нитроанилина (27e, 1.00 ммоль) в виде желтого твердого вещества (100 мг, 56%).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, хлороформ- $d$ )  $\delta$ : 7.98 (d, 1H, J = 2.5 Гц), 7.95 (dd, 1H, J = 2.5, 8.5 Гц), 7.36 (d, 1H, J = 8.5 Гц).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(6-метил-3-нитро)бензол (29e).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 1, стадия С, за исключением того, что была выполнена очистка на колонке C18 Aq RediSep Gold в системе ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде, 0 содержащей в обоих случаях 0.05% уксусной кислоты), из продукта, полученного на предыдущей стадии (28e, 0.422 ммоль), и майтанзинола (6, 100 мг, 0.176 ммоль) в виде желтого твердого вещества (21 мг, выход 16%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{43}ClN_4O_{11}$ , 742.3; полученные значения 725.2 (M+H- $H_2O$ ), 765.2 (M+Na).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(6-метил-3-амино)бензол (30e).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29e, 21 мг, 0.028 ммоль) в виде белого твердого вещества (6.0 мг, выход 29%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{45}ClN_4O_9$ , 712.3, полученные значения 713.3 (M+H), 695.3 (M+H- $H_2O$ ).

$^1H$  ЯМР (500 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.25-7.22 (m, 1H), 6.96 (d, 1H, J = 7.5 Гц), 6.84 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.45-6.40 (m, 1H), 6.26 (s, 1H), 6.10 (d, 1H, J = 11.0 Гц), 5.35 (dd, 1H, J = 8.5, 11.7 Гц), 4.77 (dd, 1H, J = 2.5, 11.7 Гц), 4.37 (dd, 1H, J = 10.5, 10.5 Гц), 3.99 (s, 3H), 3.48 (d, 1H, J = 13.5 Гц), 3.45 (d, 1H, J = 9.0 Гц), 3.28 (s, 3H), 3.24 (d, 1H, J = 13.5 Гц), 3.19 (s, 3H), 2.97 (d, 1H, J = 10.0 Гц), 2.50 (dd, 1H, J = 11.5, 11.5 Гц), 2.28-2.22 (m, 4H), 1.86 (d, 1H, J = 13.5 Гц), 1.70 (s, 3H), 1.53-1.49 (m, 1H), 1.31 (s, 3H), 1.27-1.22 (m, 1H), 0.89 (s, 3H).

Пример 14.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(6-метил-2-амино)бензол (30f).

Стадия А. 1-Изоцианато-6-метил-2-нитробензол (28f).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 6-метил-2-нитроанилина (27f, 1.00 ммоль) в виде желтого твердого вещества (135 мг, 76% yield).

$^1H$  ЯМР (500 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.92 (d, 1H, J = 8.5 Гц), 7.49 (d, 1H, J = 8.5 Гц), 7.22 (dd, 1H, J = 8.5, 8.5 Гц), 2.43 (s, 3H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(6-метил-2-нитро)бензол (29f).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 13, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28f, 0.422 ммоль), и майтанзинола (6, 100 мг, 0.176 ммоль) в виде желтого твердого вещества (33 мг, выход 25%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{43}ClN_4O_{11}$ , 742.3; полученные значения 743.2 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(6-метил-2-амино)бензол (30f).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29f, 33 мг, 0.044 ммоль) в виде желтого твердого вещества (15.0 мг, выход 53%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{45}ClN_4O_9$ , 712.3, полученные значения 713.30 (M+H).

$^1H$  ЯМР (500 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.01-6.98 (m, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.67-6.62 (m, 2H), 6.50-6.45 (m, 1H), 6.35 (bs, 1H), 6.16 (d, 1H, J = 11.0 Гц), 5.98 (s, 1H), 5.63 (dd, 1H, J = 8.5, 14.7 Гц), 4.96 (d, 1H, J = 11.5 Гц), 4.28 (dd, 1H, J = 10.5, 10.5 Гц), 3.98 (s, 3H), 3.50-3.45 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 3.21 (d, 1H, J = 13.5 Гц), 3.18 (s, 3H), 2.81 (d, 1H, J = 10.0 Гц), 2.54 (dd, 1H, J = 13.5, 13.5 Гц), 2.25-2.23 (m, 4H), 1.90 (d, 1H, J = 12.5 Гц), 1.70 (s, 3H), 1.52-1.48 (m, 1H), 1.35-1.27 (m, 4H), 0.92 (s, 3H).

Пример 15.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-фтор-2-амино)бензол (30g).

Стадия А. 1-Изоианато-4-фтор-2-нитробензол (28g).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 4-фтор-2-нитроанилина (27g, 1.00 ммоль) в виде оранжевого твердого вещества (223 мг, выход 81%).

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.88 (dd, 1H,  $J = 3.0, 7.5$  Гц), 7.33 (dd, 1H,  $J = 3.0, 7.5$  Гц), 7.25 (dd, 1H,  $J = 4.0, 9.0$  Гц).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-фтор-2-нитро)бензол (29g).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 13, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28g, 0.422 ммоль), и майтанзинола (6, 10 мг, 0.176 ммоль) в виде желтого твердого вещества (16 мг, выход 12%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $\text{C}_{35}\text{H}_{40}\text{ClFN}_4\text{O}_{11}$ , 746.2; полученные значения 747.2 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-фтор-2-амино)бензол (30g).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29g, 16 мг, 0.021 ммоль), в виде желтого твердого вещества (4.0 мг, выход 26%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{ClFN}_4\text{O}_9$ , 716.3; полученные значения 717.2 (M+H).

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.25-7.21 (m, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.73 (bs, 1H), 6.52 (dd, 1H,  $J = 2.5, 8.5$  Гц), 6.50-6.48 (2H, m), 6.39 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 6.11 (1H, bs), 5.52 (dd, 1H,  $J = 8.5, 15.7$  Гц), 4.87 (dd, 1H,  $J = 2.5, 11.5$  Гц), 4.27 (dd, 1H,  $J = 11.5, 11.5$  Гц), 3.99 (s, 3H), 3.49 (d, 1H,  $J = 8.5$  Гц), 3.45 (bs, 1H), 3.34 (s, 3H), 3.21 (s, 3H), 3.18 (bs, 1H), 2.84-2.83 (m, 1H), 2.52 (dd, 1H,  $J = 11.5, 13.5$  Гц), 2.28 (d, 1H,  $J = 13.5$  Гц), 1.86 (d, 1H,  $J = 13.5$  Гц), 1.68 (s, 3H), 1.51-1.45 (m, 1H), 1.27 (d, 3H,  $J = 6.5$  Гц), 1.27-1.23 (m, 1H), 0.89 (s, 3H).

Пример 16.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-фтор-5-амино)бензол (30h).

Стадия А. 1-Изоцианато-2-фтор-5-нитробензол (28h).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 2-фтор-5-нитроанилина (27h, 155 мг, 0.99 ммоль) в виде оранжевого твердого вещества (168 мг, выход 93%).

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц, хлороформ-d)  $\delta$ : 8.10 (dd,  $J = 8.7, 4.1$  Гц, 1H), 8.01 (dd,  $J = 6.7, 2.8$  Гц, 1H), 7.31 (t,  $J = 8.8$  Гц, 1H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-фтор-5-нитро)бензол (29h).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 13, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28h, 61 мг, 0.335 ммоль), и майтанзинола (6, 67 мг, 0.119 ммоль) в виде оранжевого твердого вещества (21 мг, выход 24%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $\text{C}_{35}\text{H}_{40}\text{ClFN}_4\text{O}_{11}$ , 746.2; полученные значения 747.5 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-фтор-5-амино)бензол (30h).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29h, 20 мг, 0.027 ммоль), в виде белого твердого вещества (6 мг, выход 29%) после второй очистки на колонке с обращенной фазой в системе ИСО (градиентное элюирование: 30-90% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.05% уксусной кислоты). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{ClFN}_4\text{O}_9$ , 716.3; полученные значения 717.5 (M+H).

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 7.70 (s, 1H), 7.19 (d,  $J = 1.9$  Гц, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.03 (dd,  $J = 7.0, 2.8$  Гц, 1H), 6.90 (dd,  $J = 10.6, 8.7$  Гц, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.56 (dd,  $J = 15.3, 11.1$  Гц, 1H), 6.38 (d,  $J = 11.1$  Гц, 1H), 6.32 (dt,  $J = 8.7, 3.3$  Гц, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.49 (dd,  $J = 15.2, 9.1$  Гц, 1H), 4.90 (s, 2H), 4.50 (dd,  $J = 11.7, 2.5$  Гц, 1H), 4.14 (t,  $J = 11.2$  Гц, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.56 (d,  $J = 12.4$  Гц, 1H), 3.48 (d,  $J = 9.1$  Гц, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.07 (s, 3H), 2.79 (d,  $J = 9.7$  Гц, 1H), 2.44 (dd,  $J = 14.0, 11.9$  Гц, 2H), 2.03 (d,  $J = 13.7$  Гц, 1H), 1.66 (s, 3H), 1.52 (d,  $J = 13.5$  Гц, 1H), 1.44 (dd,  $J = 18.3, 10.2$  Гц, 2H), 1.12 (d,  $J = 6.3$  Гц, 3H), 0.80 (s, 3H).

Пример 17.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-метокси-2-амино)бензол (30i).

Стадия А. 1-Изоцианато-4-метокси-2-нитробензол (28i).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 4-метокси-2-нитроанилина (27i, 1.00 ммоль) в виде желтого твердого вещества (100 мг, 51% yield).

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.10 (dd, 1H,  $J = 3.0, 8.7$  Гц), 7.90 (d, 1H,  $J = 3.0$  Гц), 6.96 (d, 1H,  $J = 8.7$  Гц), 4.06 (s, 3H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-метокси-2-нитро)бензол (29i).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 13, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28i, 0.422 ммоль), и майтанзинола (6, 100 мг, 0.176 ммоль) в виде желтого твердого вещества (25 мг, выход 19%). МС (ИЭР, полож. ион):



рассчитано для  $C_{36}H_{43}ClN_4O_{12}$ , 758.3; полученные значения 759.2 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-метокси-2-амино)бензол (30i).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29i, 25 мг, 0.033 ммоль), в виде желтого твердого вещества (2.0 мг, выход 9%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{45}ClN_4O_{10}$ , 728.3; полученные значения 729.2 (M+H).

$^1H$  ЯМР (500 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.14 (d, 1H, J = 8.5 Гц), 6.83 (s, 1H), 6.49-6.38 (m, 2H), 6.30 (s, 1H), 6.20 (bs, 1H), 5.55-5.51 (m, 1H), 4.89 (d, 1H, J = 11 Гц), 4.30 (dd, 1H, J = 11.0, 11.0 Гц), 3.99 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.49-3.48 (m, 1H), 3.33 (s, 3H), 3.20-3.17 (m, 1H), 3.21 (s, 3H), 2.84 (m, 1H), 2.54-2.49 (m, 1H), 2.25 (d, 1H, J = 13.5 Гц), 1.90 (d, 1H, J = 13.5 Гц), 1.69 (s, 3H), 1.69-1.57 (m, 2H), 1.29 (s, 3H), 0.91 (s, 3H).

Пример 18.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(3-метокси-4-амино)бензол (30j).

Стадия А. 1-Изоцианато-3-метокси-4-нитробензол (28j).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 3-метокси-4-нитроанилина (27j, 169 мг, 1.00 ммоль) в виде желтого твердого вещества (102 мг, выход 52%).

$^1H$  ЯМР (300 МГц, хлороформ-d)  $\delta$ : 8.01 - 7.81 (m, 1H), 6.85 - 6.65 (m, 2H), 3.96 (s, 4H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(3-метокси-4-нитро)бензол (29j).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия А, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28j, 100 мг, 0.515 ммоль), и майтанзинола (6, 71 мг, 0.126 ммоль) в виде желтого твердого вещества (64 мг, 67%), за исключением того, что реакционную смесь поддерживали при температуре окружающей среды в течение 18 ч. МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{43}ClN_4O_{12}$ , 758.3; полученные значения 759.5 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(3-метокси-4-амино)бензол (30j).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29j, 63 мг, 0.083 ммоль), в виде белого твердого вещества (37 мг, 57%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{45}ClN_4O_{10}$ , 728.3; полученные значения 729.5 (M+H).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, хлороформ-d)  $\delta$ : 6.84 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.66 (d, J = 8.2 Гц, 1H), 6.56 (dd, J = 8.2, 2.3 Гц, 1H), 6.52 - 6.38 (m, 2H), 6.22 (s, 1H), 6.13 (d, J = 10.9 Гц, 1H), 5.41 (dd, J = 15.5, 8.6 Гц, 1H), 4.78 (d, J = 11.3 Гц, 1H), 4.33 (t, J = 11.2 Гц, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.55-3.39 (m, 2H), 3.31 (s, 3H), 3.27 (d, J = 13.3 Гц, 1H), 3.19 (s, 3H), 2.90 (d, J = 9.8 Гц, 1H), 2.49 (dd, J = 13.9, 11.6 Гц, 1H), 2.25 (d, J = 14.0 Гц, 1H), 2.11 (s, 2H), 1.87 (d, J = 13.4 Гц, 1H), 1.70 (s, 3H), 1.30 (d, J = 6.2 Гц, 3H), 1.25 (dd, J = 15.1, 10.5 Гц, 1H), 0.90 (s, 3H).

Пример 19.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-метокси-4-амино)бензол (30k).

Стадия А. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-метокси-4-нитро)бензол (29k).

Указанное в заголовке соединение было получено из 1-изоцианато-2-метокси-4-нитробензола (28k, 62 мг, 0.319 ммоль) и майтанзинола (6, 53 мг, 0.094 ммоль) при использовании способа, описанного в примере 4, стадия А, за исключением того, что реакционную смесь очищали на колонке C18 Aq RediSep Gold в системе ISCO (градиентное элюирование: 20-80% MeCN в воде, содержащей в обоих случаях 0.05% уксусной кислоты), в виде бледно-желтого твердого вещества (25 мг, 35%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{43}ClN_4O_{12}$ , 758.3; полученные значения 759.5 (M+H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-метокси-4-амино)бензол (30k).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29k, 24 мг, 0.032 ммоль), в виде белого твердого вещества (9 мг, 36%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{45}ClN_4O_{10}$ , 728.3; полученные значения 729.5 (M+H), 751.5 (M+Na).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, хлороформ-d)  $\delta$ : 7.83 (d, J = 8.3 Гц, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.86 (d, J = 1.9 Гц, 1H), 6.82 (d, J = 1.8 Гц, 1H), 6.42 (dd, J = 15.1, 10.9 Гц, 1H), 6.36 - 6.24 (m, 2H), 6.15 (s, 1H), 5.31 (dd, J = 15.1, 9.1 Гц, 1H), 4.79 (dd, J = 11.8, 2.4 Гц, 1H), 4.41-4.29 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.52 (d, J = 12.9 Гц, 1H), 3.41 (d, J = 9.1 Гц, 1H), 3.29 (d, J = 12.7 Гц, 1H), 3.25 (s, 3H), 3.19 (s, 3H), 3.02 (d, J = 9.9 Гц, 1H), 2.73 (s, 1H), 2.47 (dd, J = 13.8, 11.8 Гц, 1H), 2.22 (dd, J = 13.7, 2.4 Гц, 1H), 2.13 (s, 2H), 1.78 (d, J = 13.6 Гц, 1H), 1.70 (s, 3H), 1.50 (dd, J = 10.2, 6.4 Гц, 1H), 1.30 (d, J = 6.4 Гц, 3H), 1.20 (t, J = 12.9 Гц, 1H), 0.86 (s, 3H).

Пример 20.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(3-трифторметил-4-амино)бензол (30l).

Стадия А. 1-Изоцианато-3-трифторметил-4-нитробензол (28l).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 3-трифторметил-4-нитроанилина (27l, 103 мг, 0.500 ммоль) в виде маслянистого желтого твердого вещества (63 мг, выход 54%).

$^1H$  ЯМР (300 МГц, хлороформ-d)  $\delta$ : 7.95 (d, J = 8.7 Гц, 1H), 7.53 (dt, J = 2.4, 0.5 Гц, 1H), 7.41 (ddd,

$J=8.7, 2.3, 0.5$  Гц, 1H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(3-трифторметил-4-нитро)бензол (29l).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 19 стадия А, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28l, 59 мг, 0.254 ммоль), и майтанзинола (6, 57 мг, 0.101 ммоль) в виде желтого твердого вещества (27 мг, 34%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{40}ClF_3N_4O_{11}$ , 796.2; полученные значения 797.4 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(3-трифторметил-4-амино)бензол (30l).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29l, 25 мг, 0.031 ммоль), в виде белого твердого вещества (16 мг, 62%) после второй очистки на колонке с обращенной фазой в системем ISCO. МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{42}ClF_3N_4O_9$ , 766.3; полученные значения 767.5 (M+H).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, хлороформ-d)  $\delta$ : 7.47 (dd,  $J = 8.7, 2.6$  Гц, 1H), 7.40 (d,  $J = 2.5$  Гц, 1H), 6.84 (d,  $J = 1.9$  Гц, 1H), 6.73 (d,  $J = 8.7$  Гц, 1H), 6.71 - 6.61 (m, 1H), 6.50 (d,  $J = 2.3$  Гц, 1H), 6.49 - 6.42 (m, 1H), 6.22 (s, 1H), 6.06 (d,  $J = 10.9$  Гц, 1H), 5.37 (dd,  $J = 15.5, 8.5$  Гц, 1H), 4.79 (dd,  $J = 11.5, 2.2$  Гц, 1H), 4.32 (ddd,  $J = 12.2, 10.5, 1.9$  Гц, 1H), 4.11 (s, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.54-3.44 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 3.26 (d,  $J = 13.5$  Гц, 1H), 3.20 (s, 3H), 2.97 (s, 1H), 2.88 (d,  $J = 9.8$  Гц, 1H), 2.50 (dd,  $J = 14.0, 11.6$  Гц, 1H), 2.27 (dd,  $J = 14.0, 2.3$  Гц, 1H), 1.86 (d,  $J = 13.5$  Гц, 1H), 1.71 (s, 3H), 1.50 (td,  $J = 10.2, 6.3$  Гц, 1H), 1.29 (d,  $J = 6.4$  Гц, 3H), 1.25 (t,  $J = 12.6$  Гц, 1H), 0.90 (s, 3H).

Пример 21.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-бром-4-амино)бензол (30m).

Стадия А. 1-Изоцианато-2-бром-4-нитробензол (28m).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 2-бром-4-нитроанилина (27m, 108 мг, 0.498 ммоль) в виде желтого твердого вещества (109 мг, выход 90%).

$^1H$  ЯМР (300 МГц, хлороформ-d)  $\delta$ : 8.49 (d,  $J = 2.5$  Гц, 1H), 8.16 (dd,  $J = 8.8, 2.6$  Гц, 1H), 7.28 (dd,  $J = 8.8, 0.3$  Гц, 1H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-бром-4-нитро)бензол (29m).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 19, стадия А, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28m, 55 мг, 0.226 ммоль), и майтанзинола (6, 46 мг, 0.081 ммоль) в виде желтого твердого вещества (30 мг, 45%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{35}H_{40}BrClN_4O_{11}$ , 806.2; полученные значения 809.0 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(2-бром-4-амино)бензол (30m).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29m, 28 мг, 0.035 ммоль) в виде белого твердого вещества (10 мг, 34%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{35}H_{42}BrClN_4O_9$ , 776.2; полученные значения 779.0 (M+H).

$^1H$  ЯМР (300 МГц, хлороформ-d)  $\delta$ : 7.79 (d,  $J = 8.7$  Гц, 1H), 6.94 (d,  $J = 1.8$  Гц, 1H), 6.90 (d,  $J = 2.5$  Гц, 1H), 6.85 (d,  $J = 1.8$  Гц, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.64 (dd,  $J = 8.8, 2.6$  Гц, 1H), 6.50 - 6.29 (m, 2H), 6.19 (s, 1H), 5.22 (dd,  $J = 14.6, 9.0$  Гц, 1H), 4.79 (dd,  $J = 11.8, 2.6$  Гц, 1H), 4.38 (t,  $J = 11.1$  Гц, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.69 (s, 1H), 3.60 (d,  $J = 12.9$  Гц, 1H), 3.43 (d,  $J = 9.0$  Гц, 1H), 3.26 (s, 4H), 3.20 (s, 4H), 3.05 (d,  $J = 9.8$  Гц, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.49 (dd,  $J = 13.7, 11.9$  Гц, 1H), 2.22 (dd,  $J = 13.7, 2.6$  Гц, 1H), 1.79 (d,  $J = 13.5$  Гц, 1H), 1.69 (s, 4H), 1.49 (dd,  $J = 10.3, 6.2$  Гц, 1H), 1.31 (d,  $J = 6.3$  Гц, 3H), 1.28-1.16 (m, 2H), 0.87 (s, 3H).

Пример 22.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-трифторметокси-2-амино)бензол (30n).

Стадия А. 1-Изоцианато-4-трифторметокси-2-нитробензол (28n).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 4-трифторметокси-2-нитроанилина (27n, 223 мг, 1.00 ммоль) в виде маслянистого оранжевого твердого вещества (228 мг, выход 92%).

$^1H$  ЯМР (300 МГц, хлороформ-d)  $\delta$ : 8.03 (d,  $J = 2.8$  Гц, 1H), 7.52 - 7.44 (m, 1H), 7.32 (dt,  $J = 9.0, 0.6$  Гц, 1H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-трифторметокси-2-нитро)бензол (29n).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия А, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28n, 215 мг, 0.867 ммоль), и майтанзинола (6, 84 мг, 0.149 ммоль) в виде желтого твердого вещества (87 мг, 72%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{40}ClF_3N_4O_{12}$ , 812.2; полученные значения 813.5 (M+H), 835.4 (M+Na).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-трифторметокси-2-амино)бензол (30n).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29n, 85 мг, 0.105 ммоль) в виде белого твердого вещества (59 мг, 67%) после второй очистки на колонке с обращенной фазой в системе ISCO. МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{36}H_{42}ClF_3N_4O_{10}$ , 782.3; полученные значения 783.5 (M+H), 805.5 (M+Na).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ: 7.31 (d, J = 8.8 Гц, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.63 (m, 2H), 6.43 (dd, J = 15.4, 10.9 Гц, 1H), 6.09 (s, 1H), 5.58 (dd, J = 15.4, 8.8 Гц, 1H), 4.88-4.77 (m, 1H), 4.28 (t, J = 11.2 Гц, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.44 (d, J = 8.7 Гц, 2H), 3.39 (p, J = 1.7 Гц, 2H), 3.33 (s, 3H), 3.19 (s, 3H), 3.15 (d, J = 13.1 Гц, 1H), 2.84 (d, J = 9.6 Гц, 1H), 2.57 - 2.47 (m, 1H), 2.28 - 2.22 (m, 1H), 1.84 (d, J = 13.7 Гц, 1H), 1.65 (s, 3H), 1.54 - 1.43 (m, 1H), 1.30 (d, J = 12.6 Гц, 1H), 1.26 (d, J = 6.2 Гц, 3H), 0.87 (s, 3H).

Пример 23.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-фтор-5-хлор-2-амино)бензол (30o).

Стадия А. 1-Изоцианато-4-фтор-5-хлор-2-нитробензол (28o).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 9, стадия А, из 4-фтор-5-хлор-2-нитроанилина (27o, 70 мг, 0.367 ммоль) в виде желтого масла (72 мг, выход 91%).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ: 8.01 (d, J = 8.3 Гц, 1H), 7.35 (d, J = 6.5 Гц, 1H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-фтор-5-хлор-2-нитро)бензол (29o).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28o, 70 мг, 0.323 ммоль), и майтанзинола (6, 48 мг, 0.085 ммоль) в виде желтого твердого вещества (35 мг, выход 53%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>Cl<sub>2</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>11</sub>, 780.2; полученные значения 781.4 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-фтор-5-хлор-2-амино)бензол (30o).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29o, 34 мг, 0.044 ммоль), в виде белого твердого вещества (21 мг, выход 60%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для C<sub>35</sub>H<sub>41</sub>Cl<sub>2</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>9</sub>, 750.2; полученные значения 751.5 (M+H).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 7.97 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.73 (d, J = 11.4 Гц, 1H), 6.66-6.30 (m, 2H), 5.84 (s, 1H), 5.52 (dd, J = 14.9, 9.3 Гц, 1H), 5.17 (s, 2H), 4.52 (d, J = 11.8 Гц, 1H), 4.15 (t, J = 11.1 Гц, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.47 (d, J = 9.2 Гц, 1H), 3.24 (s, 3H), 3.17 (d, J = 12.2 Гц, 1H), 3.10 (s, 3H), 2.75 (d, J = 9.9 Гц, 1H), 2.43 (d, J = 13.4 Гц, 1H), 2.08 (d, J = 13.7 Гц, 1H), 1.81 (s, 1H), 1.66 (s, 3H), 1.52 (d, J = 13.5 Гц, 1H), 1.45 (t, J = 12.9 Гц, 2H), 1.11 (d, J = 6.3 Гц, 3H), 0.77 (s, 3H).

Пример 24.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-амино-2-метил-5-морфолин-4-ил)бензол (30p).

Стадия А. (4-Нитро-2-метил-5-морфолин-4-ил)фенил изоцианат (28p).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании методики, описанной в примере 9, стадия А, из 2-метил-5-морфолин-4-ил-4-нитрофениламина (237 мг, 1.00 ммоль) в виде ярко-оранжевого твердого вещества (230 мг, выход 87%).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.72 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 3.84 (t, 4H, J = 5 Гц), 3.01 (t, 4H, J = 5 Гц), 2.31 (s, 3H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-нитро-2-метил-5-морфолин-4-ил)бензол (29p).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 19, стадия А, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28p, 56 мг, 0.21 ммоль), и майтанзинола (6, 50 мг, 0.09 ммоль) в виде серовато-желтоватого твердого вещества (8 мг, 11%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для C<sub>40</sub>H<sub>50</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>12</sub>, 827.3; полученные значения 828.2 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-амино-2-метил-5-морфолин-4-ил)бензол (30p).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии (29p, 8 мг, 0.01 ммоль), в виде белого твердого вещества (3.2 мг, 42%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для C<sub>40</sub>H<sub>52</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>10</sub>, 797.3; полученные значения 798.2 (M+H), 820.2 (M+Na).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 7.54 (s, 1H), 7.17 (s, 2H), 6.88 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.62 - 6.52 (m, 2H), 6.51 (s, 1H), 5.69 - 5.51 (m, 2H), 4.69 (s, 2H), 4.45 (dd, J = 12.0, 2.7 Гц, 1H), 4.16 (t, J = 10.9 Гц, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.73 (t, J = 4.8 Гц, 4H), 3.64 (d, J = 12.3 Гц, 1H), 3.53 - 3.44 (m, 1H), 3.25 (s, 3H), 3.14 (d, J = 12.2 Гц, 1H), 3.05 (s, 3H), 2.77 (q, J = 4.2, 3.2 Гц, 4H), 2.69 (d, J = 9.6 Гц, 1H), 2.40 (d, J = 12.7 Гц, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.97 (d, J = 13.4 Гц, 1H), 1.65 (s, 3H), 1.56 (d, J = 13.6 Гц, 1H), 1.42 (t, J = 12.9 Гц, 2H), 1.09 (d, J = 6.4 Гц, 3H), 0.78 (s, 3H).

Пример 25.

Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-амино-2-метил-5-пирролидин-1-ил)бензол (30q).

Стадия А. (4-Нитро-2-метил-5-пирролидин-1-ил)фенил изоцианат (28q).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании методики, описанной в примере 9, стадия А, из 2-метил-4-нитро-5-пирролидин-1-ил-фениламина (221 мг, 1.00 ммоль) в виде ярко-оранжевого твердого вещества (210 мг, выход 85%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.65 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 3.25-3.14 (m, 4H), 2.00-1.94 (m, 4H).

Стадия В. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-нитро-2-метил-5-пирролидин-1-ил)фенил (29q).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании способа, описанного в примере 19, стадия А, из продукта, полученного на предыдущей стадии (28q, 53 мг, 0.21 ммоль), и майтан-

зинола (6, 50 мг, 0.09 ммоль) в виде серовато-желтоватого твердого вещества (28 мг, 39%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{40}H_{50}ClN_5O_{11}$ , 811.3; полученные значения 812.2 (M+H).

Стадия С. Майтан-3-О-карбомоил-N-(4-амино-2-метил-5-пирролидин-1-ил)бензол (30q).

Указанное в заголовке соединение было получено при использовании методики, описанной в примере 4, стадия В, из продукта, полученного на предыдущей стадии стадии (29q, 28 мг, 0.03 ммоль), в виде белого твердого вещества (8.6 мг, 32%). МС (ИЭР, полож. ион): рассчитано для  $C_{40}H_{52}ClN_5O_9$ , 781.3; полученные значения 782.2 (M+H), 804.2 (M+Na).

$^1H$  ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.53 (s, 1H), 7.19 (s, 2H), 6.93 - 6.86 (m, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.66 - 6.50 (m, 2H), 6.49 (s, 1H), 5.62 (dd, J = 14.6, 9.2 Гц, 1H), 5.56 (s, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.47 (dd, J = 12.0, 2.7 Гц, 1H), 4.17 (t, J = 11.1 Гц, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.65 (d, J = 12.2 Гц, 1H), 3.55-3.45 (m, 1H), 3.25 (s, 3H), 3.15 (d, J = 12.2 Гц, 1H), 3.07 (s, 3H), 2.93 (d, J = 6.7 Гц, 4H), 2.70 (d, J = 9.7 Гц, 1H), 2.41 (d, J = 12.9 Гц, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.98 (d, J = 13.2 Гц, 1H), 1.89 - 1.76 (m, 4H), 1.66 (s, 3H), 1.58 (d, J = 13.5 Гц, 1H), 1.43 (t, J = 12.9 Гц, 2H), 1.10 (d, J = 6.4 Гц, 3H), 0.79 (s, 3H).

Пример 26. Получение и определение характеристик конъюгатов.

При использовании описанной ниже методики были получены конъюгаты пяти антител с соединениями, представляющими собой линкер-полезную нагрузку. В этих экспериментах использовали четыре антитела с направленным воздействием: (1) антитело к PSMA с вариабельными доменами в тяжелой и легкой цепях, принадлежащие к клону АВ-PG1-XG1-006, описанное в международной заявке на патент № WO 2007/002222 A2, озаглавленной "Конъюгаты, образованные антителом к PSMA и лекарственным средством", (2) антитело к MUC16, имеющее вариабельные области, полученное из клона 3A5 и описанное в международной заявке на патент № WO 2007001851, озаглавленной "Композиции и способы диагностики и лечения опухоли", (3) антитело к HER2, имеющее вариабельные области, полученное из humAb4D5-8 и описанное в публикации Carter et al., PNAS 199289 4285, и (4) антитело к STEAP2. Эти заявки на патент и ссылки на публикации в научных журналах полностью и во всех отношениях включены в настоящую заявку посредством ссылки. Все моноклональные антитела были экспрессированы в клетках CHO и очищены с использованием белка А. Также в качестве контроля использовали несвязывающий изотип (5), полученный из иммунологического антигена, не имеющего отношения к онкологии.

Способ А. Антитело (10 мг/мл) в растворе, содержащем 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7.5, was, обрабатывали 1 mM дитиотреитолом при 37°C в течение 30 мин.

После гель-фильтрации (G-25, pH 4.5, натрия ацетат) производное, представляющее собой малеимидо-линкер-полезную нагрузку (для линкера-полезной нагрузки 9, 19, или эквивалентов/SH-групп 24; 1.2) в DMSO (10 мг/мл), добавляли к восстановленному антителу, и pH смеси корректировали до pH 7.0, используя 1M HEPES (pH 7.4). Реакцию конъюгации необязательно останавливали N-этилмалеимидом (NEM). Конъюгаты очищали с помощью эксклюзионной хроматографии и стерилизующего фильтрования. Для определения концентраций белков и соотношения полезная нагрузка/антитело использовали спектральный анализ в УФ-области в соответствии с методикой Hamblett et al. (Американская ассоциация научных исследований в области раковых заболеваний. 2004 Oct 15;10(20):7063-70) или анализ разности масс нативного и конъюгированного антитела. Результаты эксклюзионной ВЭЖХ показали, что все используемые конъюгаты являлись мономерами более чем на 95%, и ВЭЖХ с обращенной фазой показала, что содержание неконъюгированных продуктов линкер-полезная нагрузка составляло <0.5%. Выход и соотношение полезная нагрузка/антитело показаны в табл. 1.

Способ В. Проводилась конъюгация антител (в концентрации 10-20 мг/мл) в растворе, содержащем 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 8.0, и 10-15% (отношение объемов) DMA с содержащимися в 5-6-кратном избытке соединениями 10, 14, 20, 22, или 26 в течение 2 ч при температуре окружающей среды. Для очистки конъюгатов использовали эксклюзионную хроматографию или экстенсивную ультрафильтрацию с последующим стерилизующим фильтрованием. Концентрации белков определяли методом спектрального анализа в УФ-области. Результаты эксклюзионной ВЭЖХ показали, что все конъюгаты являлись мономерными на >90%, и ВЭЖХ с обращенной фазой показала, что содержание неконъюгированных продуктов линкер-полезная нагрузка составило <1%. Для всех конъюгированных антител был проведен анализ разности масс нативного и конъюгированного антитела. Соотношение полезная нагрузка/антитело показаны в табл. 1.

Способ С. Конъюгация бактериальной транслгутаминазы.

Негликозилированные, дегликозилированные или меченые глутамином антитела могут быть конъюгированы при концентрации 1-10 мг/мл в PBS pH 7.4. Можно добавить к антителу продукт линкер-полезная нагрузка 22 в 10-25-кратном молярном избытке и инициировать ферментативную реакцию добавлением 1-5 единиц бактериальной транслгутаминазы (Zedira, T1001) из расчета на 1 мг антитела с последующей инкубацией на качале при 37°C в течение 4-16 ч. Конъюгаты могут быть очищены методом эксклюзионной хроматографии и стерилизующего фильтрования. Для определения концентраций белка и продукта линкер-полезная нагрузка может применяться спектральный анализ в УФ-области. С помощью эксклюзионной ВЭЖХ можно установить, что полученные конъюгаты более чем на 95% представлены мономерами. Для определения соотношения полезная нагрузка/антитело может быть проведен анализ всех конъюгированных антител методом спектрального анализа в УФ-области в соответствии с

методикой Hamblett et al., Cancer Res 2004 10 7063. Дополнительно для анализа конъюгатов с целью определения соотношения линкер-полезная нагрузка/антитело может применяться метод ИЭР-МС с использованием масс-спектрометрии на приборе Waters Synapt G2-Si QTOF, сопряженной со свехпроизводительной ЖХ на оборудовании Acquity. Для хроматографического разделения может применяться колонка C4 (Waters protein BEH C4, 50 мМ × 1 мМ, 1.7 мкм) в условиях 25-минутного градиента (минута: процент подвижной фазы В; 0:20%, 1:20%, 18:40%, 18.1:90, 20:95%, 20.8:95%, 20.9:20% 25:20%). В качестве подвижной фазы А может применяться 0.1% раствор муравьиной кислоты в воде, и в качестве подвижной фазы В - раствор 0.1% муравьиной кислоты в ацетонитриле. Скорость потока может быть установлена на уровне 100 мкл/мин. Времяпролетный детектор может быть установлен, начиная с m/z 700-5000 в течение 25 мин, со следующими основными параметрами (напряжение на капилляре 3.2 кВ; пробоотборный конус 150; смещение источника 80; температура источника 120°C; температура десольватации 500°C; прерывание энергии столкновений 30; перенос энергии при столкновениях - Off; регулирование расхода газа OFF; уровень разрешения квадруполь: LM 4.7). Для деконволюции спектров, объединяющих множество пиков, может применяться функция MaxEnt, являющаяся частью программного обеспечения MassLynx.

Определение соотношения DAR (Л/А) в конъюгатах, полученных по способу А.

Для того чтобы определить нагрузку (антителом) на линкер-полезную нагрузку (конъюгирование через цистеин), было проведено дегликозилирование, восстановление конъюгатов с последующим анализом конъюгатов методом ЖХ-МС.

Для анализа 50 мкг конъюгата разбавляли водой качества Milli-Q до конечной концентрации 1 мг/мл. 10 мкл раствора ПНГ-азы F [для приготовления раствора ПНГ-азы F к разбавленному раствору конъюгата добавляли 150 мкл концентрированного раствора ПНГ-азы F (New England Biolabs, № по каталогу P0704L) и 850 мкл воды Milli-Q и тщательно перемешивали полученную смесь] с последующей инкубацией при 37°C в течение ночи. К образцу добавляли 2.4 мкл 0.5М ТСЕР, чтобы конечная концентрация ТСЕР в полученном материале составляла 20 мМ, и затем этот материал инкубировали при 50°C в течение 30 мин. В систему ЖХ-МС (Waters Synat G2-Si) вводили пробы каждого образца объемом 10 мкл и проводили элюцию в течение 25 мин при скорости потока 0.1 мл/мин в градиенте подвижной фазы с содержанием подвижной фазы В 20-40% (подвижная фаза А: 0.1% (отношение объемов) FA в H<sub>2</sub>O; подвижная фаза В: 0.1% (отношение объемов) FA в ацетонитриле). Для разделения методом ЖЗ использовали колонку Waters Acquity BEH C18 (1.0×50 мМ, 1.7 мкм мкм).

Выполняли деконволюцию масс-спектров, и по идентифицированным пикам легкой и тяжелой цепей значения, полученные для легкой цепи (L) с линкером-полезной нагрузкой, составили 0 и 1, значения, полученные для тяжелой цепи (H) с линкером-полезной нагрузкой, составили 0, 1, 2 и 3. Соотношение лекарственное средство/антитело (Л/А; DAR) рассчитывали исходя из значений интенсивности, полученных для каждого образца и используя представленное ниже уравнение 1 для гомодимерного конъюгированного антитела.

Уравнение 1:

$$DAR = 2 * \left[ \frac{L1}{L0 + L1} + \frac{H1 + 2*H2 + 3*H3}{H0 + H1 + H2 + H3} \right]$$

Определение соотношения DAR в конъюгатах, полученных по способу В.

Для того чтобы определить соотношение линкер-полезная нагрузка/антитело (конъюгирование через лизин), проводилось дегликозилирование конъюгатов с последующим анализом методом ЖХ-МС.

Для этого анализа 50 мкг конъюгата разбавляли водой Milli-Q до конечной концентрации 1 мг/мл. 10 мкл раствора ИНТ-азы F [для приготовления раствора ПНГ-азы F к разбавленному раствору конъюгата добавляли 150 мкл концентрированного раствора ПНГ-азы F (Нью Инглиш Биолабз, № по каталогу P0704L) и 850 мкл воды Milli-Q и тщательно перемешивали полученную смесь] с последующей инкубацией при 37°C в течение ночи. В систему ЖХ-МС (Waters Synat G2-Si) вводили пробы каждого образца объемом 5 мкл и проводили элюцию в течение 25 мин при скорости потока 0.1 мл/мин в градиенте подвижной фазы с содержанием подвижной фазы В 20-50% (подвижная фаза А: 0.1% (отношение объемов) FA в H<sub>2</sub>O; подвижная фаза В: 0.1% (отношение объемов) FA в ацетонитриле). Для разделения методом ЖЗ использовали колонку Waters Acquity BEH C4 (1.0×50 мМ, 1.7 мкм) при 80°C.

Для деконволюции масс-спектров использовали программное обеспечение Masslynx; для расчета соотношения лекарственное средство/антитело (DAR) использовали следующие уравнения (см. фиг. 18).

1. Относительное содержание (%) лекарственного средства (Dn), определенное по распределению интенсивности пиков (PI):

a.  $Dn\% = \frac{PIn}{\Sigma(Pi0+Pi1+Pi2+.....+Pii)} \times 100$ .

b. (n= 0, 1, 2, 3, ..., i).

2. Расчет среднего отношения DAR:

a.  $DAR = \Sigma(1 \times D1\% + 2 \times D2\% + 3 \times D3\% + \dots + i \times Di\%)$ .

Таблица 1

Антитело	$\epsilon_{252 \text{ нм}} (\text{см}^{-1} \text{ M}^{-1})$	$\epsilon_{280 \text{ нм}} (\text{см}^{-1} \text{ M}^{-1})$
PSMA	77652	224320
MUC16	85888	247360
HER2	81847	215388
STEAP2	-	-
Контрольный изотип	75113	218360
Конъюгат с антителом	Полезная нагрузка Антитело (УФ)	Выход %
PSMA-9	1.3	80
MUC16-9	1.4	70
HER2	1.5	75
Контрольный изотип -9	1.5	80
Конъюгат с антителом	Полезная нагрузка : Антитело (ИЭР-МС)	Выход %
STEAP2-14	2.7	50
STEAP2-20	1.2	45
STEAP2-24	3.0	40
HER2-10	2.3	60
HER2-20	0.7	50
HER2-24	3.3	40
Контрольный изотип -10	2.4	75
Контрольный изотип -14	1.3	70
Контрольный изотип -20	1.0	50
Контрольный изотип -24	3.6	40

Пример 27. Ферментативные анализы продукта линкер-полезная нагрузка в бесклеточной системе *in vitro*.

Инкубация с катепсином В.

Использовали метод ферментативного анализа в бесклеточной системе *in vitro*, описанный в публикации Dubowchik, et al. *Bioconjugate Chem.* 2002 13 855, содержание которой полностью и во всех отношениях включено в настоящую заявку посредством ссылки. Продукт линкер-полезная нагрузка 9 с конечной концентрацией 100 мкг/мл в растворе, содержащем 25 мМ натрий-ацетатный буфер, 1 мМ EDTA, pH 5.0, подвергали преинкубации при 37°C. Катепсин В (Sigma # C8571) активировали в течение 15 мин при комнатной температуре, для этого к 2 экв. концентрированного катепсина В добавляли 1 экв. 30 мМ DTT и 15 мМ EDTA. Раствор активированного катепсина В добавляли к растворам субстратов в молярном отношении 1:20 (в контрольный образец вместо активированного катепсина В добавляли очищенную H<sub>2</sub>O). Образцы инкубировали при 37°C в течение ночи и для анализа полученные в итоге образцы использовали метод ЖХ-МС с детекцией в режиме Q1 Scan.

Детекция методом ЖХ-МС.

Образцы центрифугировали при 12000 g в течение 5 мин. Собирали надосадочную жидкость и выполняли ее анализ методом жидкостной хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией (Waters Xevo TQ-S), осуществляя объединенную инфузию надосадочной жидкости со скоростью 20 мкл/мин подвижной фазой В:А (30:70) (подвижная фаза А: 0.1%FA в H<sub>2</sub>O; подвижная фаза В: 0.1% FA в ацетонитриле) при скорости потока подвижной фазы 0.3 мл/мин. Параметры МС1 устанавливают в надлежащем диапазоне для детекции молекулярного иона продукта линкер-полезная нагрузка или полезная нагрузка. Надосадочная жидкость содержала прогнозируемую полезную нагрузку, майтан-3-О-карбомойл-N-(4-аминобензол) (8), с массой 720.9 (M+Na) (рассчитанная моноизотопная масса C<sub>35</sub>H<sub>43</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>Cl, 698.3), и

контрольные образцы, в которых отсутствовал катепсин В, содержали соединение 9 с массой 1170.4 (M+Na) (рассчитанная моноизотопная масса  $C_{60}H_{80}ClN_9O_{16}$ , 1147.50). В контрольных образцах молекулярный ион, соответствующий прогнозируемой полезной нагрузке, не обнаружен.

Полученные в этом примере результаты имеют частичную значимость, поскольку протеолиз соединения 9 под действием катепсина В должен происходить только после интернализации конъюгата антитело-лекарственное средство (КАЛ) в клетке, в которой присутствует фермент. Побочные эффекты должны быть менее выраженными, поскольку антитело доставляет цитотоксичную полезную нагрузку прямо в клетки-мишени.

Пример 28. Анализ цитотоксичности *in vitro*.

В этом примере выполнена *in vitro* оценка способности различных конъюгатов, образованных антителом и лекарственным веществом, и отдельно лекарственных веществ вызывать гибель экспрессирующих антигены опухолевых клеток *in vitro*.

Клетками Ovsar3 (Muc16+), помещенными в полные ростовые среды, заседали 96-луночные планшеты по 3000 клеток в лунку и выращивали клетки в течение ночи. Для построения кривых жизнеспособности клеток к клеткам добавляли серийные разведения конъюгатов или полезную нагрузку без антитела в конечных концентрациях от 100 нМ до 5 нМ с последующей инкубацией клеток в течение 3 суток. Для измерения жизнеспособности клетки инкубировали вместе с ССК8 (Dojindo) в течение последних 2 ч и измеряли оптическую плотность при длине волны 450 нм ( $OD_{450}$ ) на приборе Victor (Perkin Elmer). Из значений  $OD_{450}$ , полученных для всех лунок, вычитали фоновые значения, определенные для клеток, обработанных дигитонином (40 нМ), и выражали жизнеспособность в процентах от значений, полученных для необработанного контроля. Для определения значений  $IC_{50}$  (концентрации полумаксимального ингибирования) использовали основанное на 4 параметрах логистическое уравнение и характеристическую кривую, построенную по 10 точкам (GraphPad Prism). Значение  $IC_{50}$  для КАЛ MUC16-9 составило +++, из чего следует, что значение  $IC_{50}$  (нМ) было  $\geq 0.1$  и  $< 1.0$ . Во все кривые и значения  $IC_{50}$  была внесена поправка на эквиваленты полезной нагрузки. График зависимости жизнеспособности клеток (в %) от  $\text{Log}_{10}$  [M] лекарственного средства показан на фиг. 1. Значения  $IC_{50}$  для неконъюгированной полезной нагрузки и выраженная в процентах гибель клеток показаны в табл. 2.

Клетками SKBR3 (Her2+), помещенными в полные ростовые среды, заседали в 96-луночные планшеты по 8000 клеток в лунку и выращивали клетки в течение ночи. Для построения кривых жизнеспособности клеток к клеткам добавляли серийные разведения конъюгатов или полезную нагрузку без антитела в конечных концентрациях от 100 нМ до 5 нМ с последующей инкубацией клеток в течение 3 суток. Для измерения жизнеспособности клетки инкубировали вместе с ССК8 (Dojindo) в течение последних 2 ч и измеряли оптическую плотность при длине волны 450 нм ( $OD_{450}$ ) на приборе Victor (Perkin Elmer). Из значений  $OD_{450}$ , полученных для всех лунок, вычитали фоновые значения, определенные для клеток, обработанных дигитонином (40 нМ), и выражали жизнеспособность в процентах от значений, полученных для необработанного контроля. Для определения значений  $IC_{50}$  использовали основанное на 4 параметрах логистическое уравнение и характеристическую кривую, построенную по 10 точкам (GraphPad Prism). Значения  $IC_{50}$  для КАЛ HER2-9, 10, 20 и 24 КАЛ составили +++, +++, +++ и +++ соответственно, где +++ указывает на значение  $IC_{50}$  (нМ)  $\geq 0.1$  и  $< 1.0$ . Во все кривые и значения  $IC_{50}$  была внесена поправка на эквиваленты полезной нагрузки. График зависимости жизнеспособности клеток (в %) от  $\text{Log}_{10}$  [M] лекарственного средства показан на фиг. 2-5. Значения  $IC_{50}$  для неконъюгированной полезной нагрузки и выраженная в процентах гибель клеток показаны в табл. 2.

Клетками C4-2 (STEAP2+), помещенными в полные ростовые среды, заседали 96-луночные планшеты по 4000 клеток в лунку и выращивали клетки в течение ночи. Для построения кривых жизнеспособности клеток к клеткам добавляли серийные разведения конъюгатов или полезную нагрузку без антитела в конечных концентрациях от 100 нМ до 5 нМ с последующей инкубацией клеток в течение 5 суток. Для измерения жизнеспособности клетки инкубировали вместе с реагентами CellTiter-Glo в течение 5 мин и измеряли люминесценцию на планшетном спектрофотометре Victor (Perkin Elmer). Для определения значений  $IC_{50}$  использовали основанное на 4 параметрах логистическое уравнение и характеристическую кривую, построенную по 10 точкам (GraphPad Prism). Значения  $IC_{50}$  для КАЛ STEAP2-14, 20 и 24 КАЛ составили ++, +++, + нМ соответственно. Значение +++ указывает на  $IC_{50}$  (нМ)  $\geq 0.1$  и  $< 1.0$ ; ++ указывает на  $IC_{50}$  (нМ)  $\geq 1.0$  и  $< 10$ ; и значение + указывает на  $IC_{50}$  (нМ)  $\geq 10$ .

Все значения  $IC_{50}$ s выражены, как концентрация в нМ, для самой высокой дозы показан % гибели клеток. Во все кривые и значения  $IC_{50}$  была внесена поправка на эквиваленты полезной нагрузки. График зависимости жизнеспособности клеток (в %) от  $\text{Log}_{10}$  [M] лекарственного средства показан на фиг. 6-8. Значения  $IC_{50}$  для неконъюгированной полезной нагрузки и выраженная в процентах гибель клеток показаны в табл. 2.

Описанные в настоящем документе варианты осуществления изобретения и примеры предназначены лишь для иллюстративных целей и не являются ограничивающими. Специалисты в данной области техники будут осознавать или смогут установить с использованием не более чем рутинных экспериментов, многочисленные эквиваленты конкретных соединений материалов и процедур. Все такие эквивален-

ты входят в объем данного изобретения и на них распространяется представленная в приложении формула изобретения.

Таблица 2

Соединение №	Ovcар3		C4-2		SKBr-3	
	IC <sub>50</sub> (нМ)	% гибели клеток	IC <sub>50</sub> (нМ)	% гибели клеток	IC <sub>50</sub> (нМ)	% гибели клеток
8	++	**	+	****	++	****
17	+++++	***	+++	****	++++	*****
30a	+++	***	++	*****	+++	****
30b			+	*	+++	****
30c	++	**	+	**	++	***
30d			++	****	++	****
30e			++	****	++	***
30f			++	****	+++	*****
30g			++	*****	+++	*****
30h			++	*	+++	****
30i			+	*****	++	*****
30j	++	**	+	***	+++	****
30k	+++	***	+		++	*****
30l	+++	***	+		+++	*****
30m	+++++	**	++++	*****	++++	*****
30n			+	*****	++	*****
30o			+	*	+++	*****
30p			+		+	*
30q			+	***	++	*****

+++++ указывает на значение IC<sub>50</sub> (нМ) ≥0.001 и <0.01;

++++ указывает на значение IC<sub>50</sub> (нМ) ≥0.01 и <0.1;

+++ указывает на значение IC<sub>50</sub> (нМ) ≥0.1 и <1.0;

++ указывает на значение IC<sub>50</sub> (нМ) ≥1.0 и <10; и

+ указывает на значение IC<sub>50</sub> (нМ) ≥10.

\*\*\*\*\* указывает на % погибших клеток ≥99;

\*\*\*\* указывает на % погибших клеток ≥95 и <99;

\*\*\* указывает на % погибших клеток ≥90 и <95;

\*\* указывает на % погибших клеток ≥85 и <90; и

\* указывает на % погибших клеток <85.

Вышеописанные варианты осуществления изобретения и примеры предназначены лишь для иллюстративных целей и не являются ограничивающими.

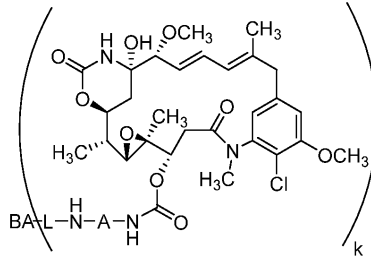
Специалисты в данной области техники будут осознавать или смогут установить с использованием не более чем рутинных экспериментов многочисленные эквиваленты конкретных соединений материалов и процедур. Все такие эквиваленты входят в объем данного изобретения, и на них распространяется



представленная формула изобретения.

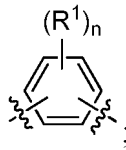
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение по формуле (I)



(I)

или его фармацевтически приемлемая соль или стереоизомер, где А представляет собой



$R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил;

n представляет собой целое число от 0 до 4;

каждый  $\frac{1}{2}$  и  $\frac{1}{3}$  является связью от А к -NH-;

L представляет собой линкер;

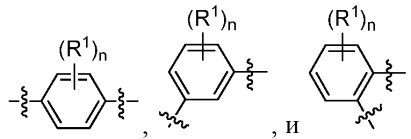
ВА является связующим агентом, где связующий агент представляет собой антитело или его антиген-связывающий фрагмент; и

k представляет собой целое число от 1 до 30.

2. Соединение по п.1, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила и гетероциклоалкила.

3. Соединение по любому из пп.1 или 2, где

А выбирают из



и n равен 0, 1, 2 или 3.

4. Соединение по любому из пп.1-3, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из метила, метокси, фтора, хлора, брома, трифторметила, пирролидинила и морфолинила.

5. Соединение по любому из пп.1-4, где  $R^1$  представляет собой метил.

6. Соединение по любому из пп.1-4, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из фтора, хлора и брома.

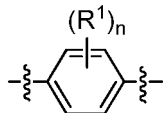
7. Соединение по любому из пп.1-4, где  $R^1$  представляет собой хлор.

8. Соединение по любому из пп.1-4, где  $R^1$  представляет собой трифторметил.

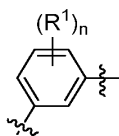
9. Соединение по любому из пп.1-4, где  $R^1$  представляет собой метокси.

10. Соединение по любому из пп.1-4, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из метила, морфолинила и пирролидинила.

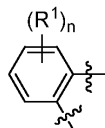
11. Соединение по любому из пп.1-10, где А является



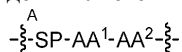
12. Соединение по любому из пп.1-10, где А является



13. Соединение по любому из пп.1-10, где А является



14. Соединение по любому из пп.1-13, где L является



где SP представляет собой спейсер;

$\overset{\text{A}}{\text{---}}$  является одной или несколькими связями со связующим агентом;

$\text{---}$  является связью от -NH-A-;

AA<sup>1</sup> является аминокислотой и

AA<sup>2</sup> является аминокислотой.

15. Соединение по любому из пп.1-13, где L является



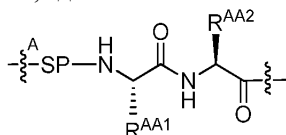
где SP представляет собой спейсер;

$\overset{\text{A}}{\text{---}}$  является одной или несколькими связями со связующим агентом и

$\text{---}$  является связью от -NH-A-.

16. Соединение по п.14, где AA<sup>1</sup>-AA<sup>2</sup> представляет собой валин-цитруллин, цитруллин-валин, лизин-фенилаланин, фенилаланин-лизин, валин-аспарагин, аспарагин-валин, треонин-аспарагин, аспарагин-треонин, серин-аспарагин, аспарагин-серин, фенилаланин-аспарагин, аспарагин-фенилаланин, лейцин-аспарагин, аспарагин-лейцин, изолейцин-аспарагин, аспарагин-изолейцин, глицин-аспарагин, аспарагин-глицин, глутаминовая кислота-аспарагин, аспарагин-глутаминовая кислота, цитруллин-аспарагин, аспарагин-цитруллин, аланин-аспарагин, аспарагин-аланин, валин-аланин, аланин-валин, валин-глицин или глицин-валин.

17. Соединение по любому из пп.1-14, где L является



где SP представляет собой спейсер;

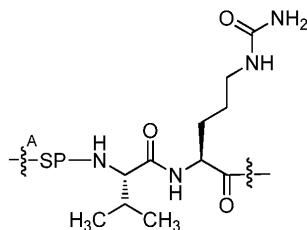
$\overset{\text{A}}{\text{---}}$  является одной или несколькими связями со связующим агентом;

$\text{---}$  является связью от -NH-A-;

R<sup>AA1</sup> является боковой цепью аминокислоты и

R<sup>AA2</sup> является боковой цепью аминокислоты.

18. Соединение по п.17, где L является



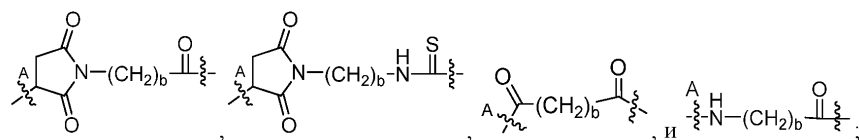
где SP представляет собой спейсер;

$\overset{\text{A}}{\text{---}}$  является одной или несколькими связями со связующим агентом и

$\text{---}$  является связью от -NH-A-.

19. Соединение по любому из пп.14-18, где SP содержит C<sub>5-7</sub>алкилен.

20. Соединение по любому из пп.14-19, где SP выбирают из

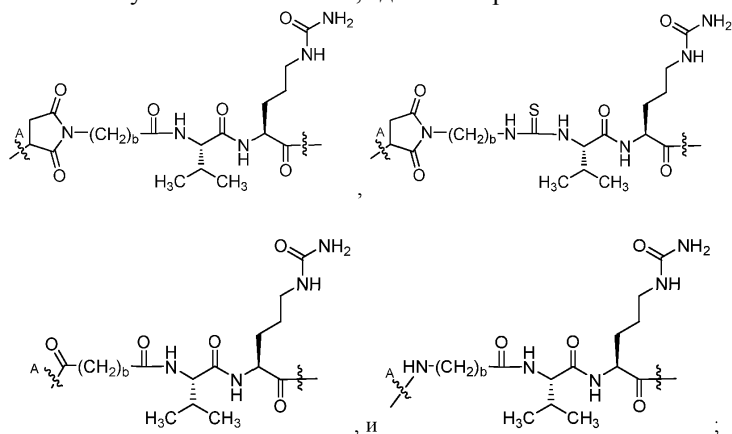


где  $b$ , независимо в каждом случае, представляет собой целое число от 2 до 8;

$\text{---}\overset{\text{A}}{\text{C}}\text{---}$  является одной или несколькими связями со связующим агентом и

$\text{---}\text{C}\text{---}$  является связью от  $\text{-NH-A-}$ .

21. Соединение по любому из пп. 1-14 и 16-20, где L выбирают из

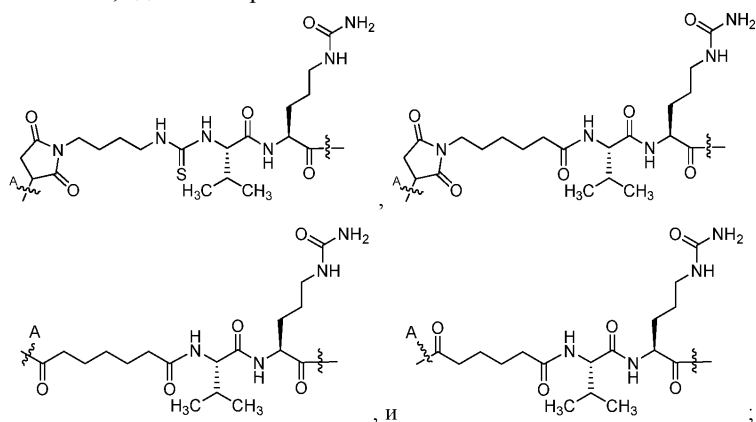


где  $b$  представляет собой целое число от 2 до 8;

$\text{---}\overset{\text{A}}{\text{C}}\text{---}$  является одной или несколькими связями со связующим агентом и

$\text{---}\text{C}\text{---}$  является связью от  $\text{-NH-A-}$ .

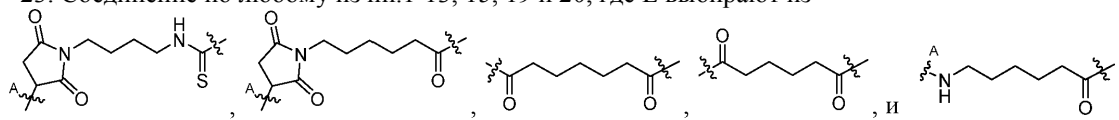
22. Соединение по п.21, где L выбирают из



где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{C}}\text{---}$  является связью со связующим агентом и

$\text{---}\text{C}\text{---}$  является связью от  $\text{-NH-A-}$ .

23. Соединение по любому из пп. 1-13, 15, 19 и 20, где L выбирают из

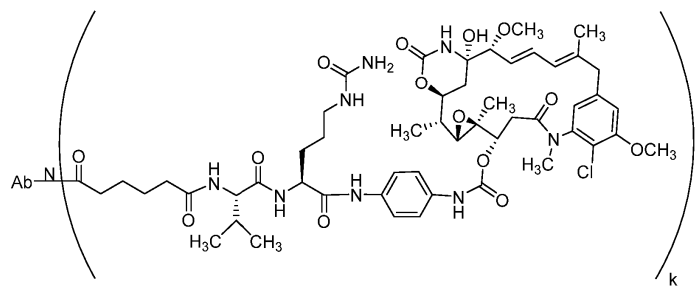
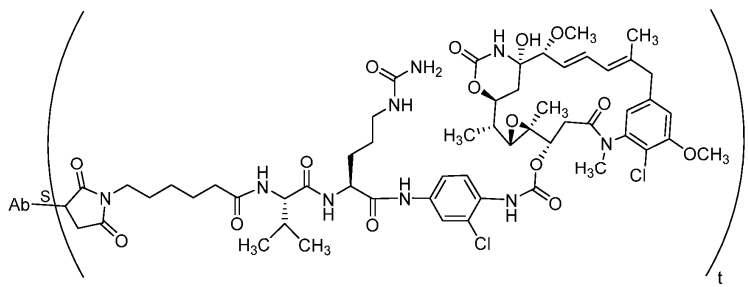
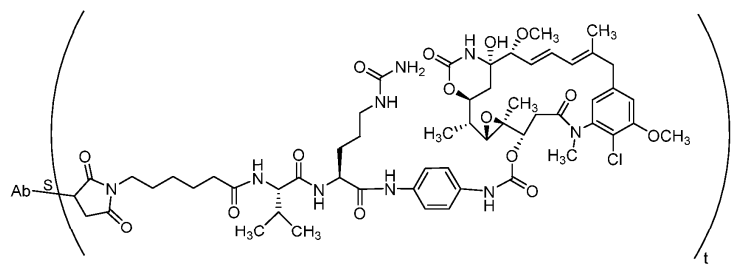


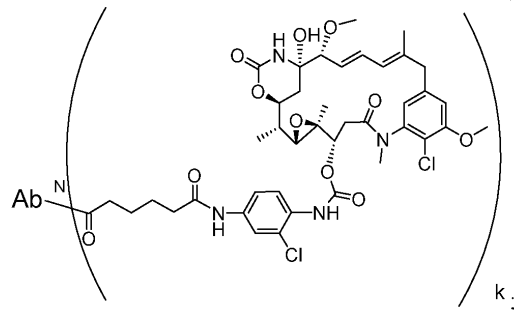
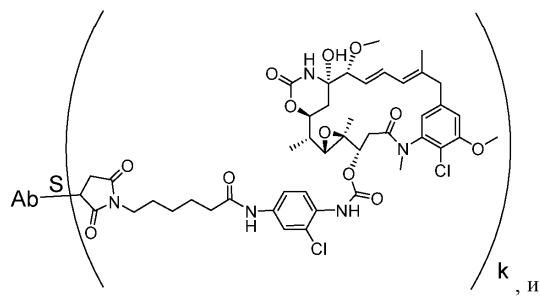
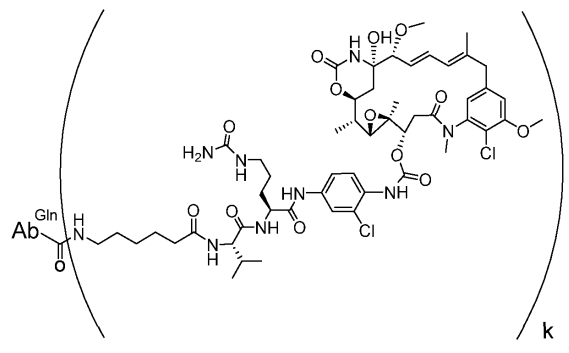
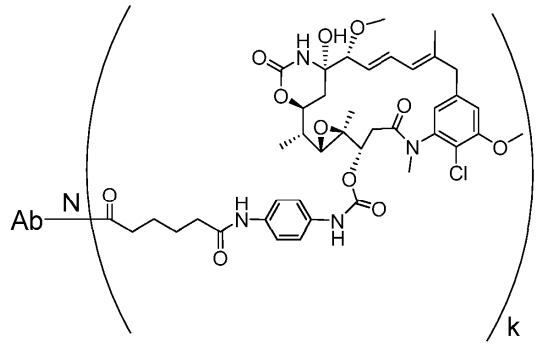
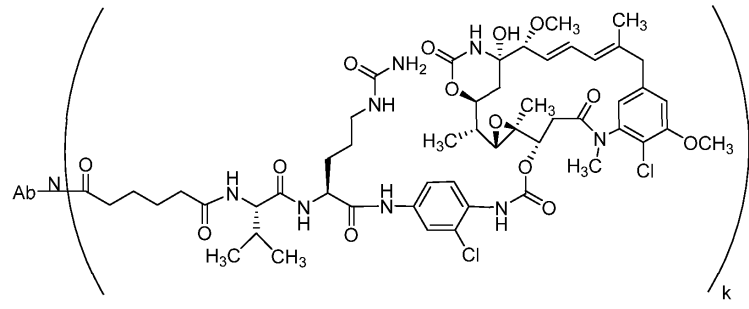
где  $\text{---}\overset{\text{A}}{\text{C}}\text{---}$  является связью со связующим агентом и

$\text{---}\text{C}\text{---}$  является связью от  $\text{-NH-A-}$ .

24. Соединение по п.1, где соединение выбирают из

039072





где Ab представляет собой антитело или антиген-связывающий фрагмент;  
S представляет собой связь с цистеином в молекуле антитела или антиген-связывающего фрагмента;

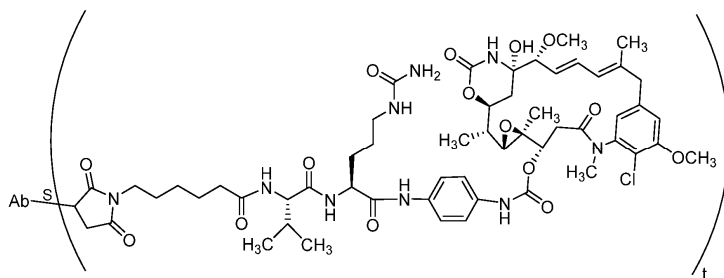
N представляет собой связь с лизином в молекуле антитела или антиген-связывающего фрагмента;

Gln представляет собой связь с глутамином антитела или его антигенсвязывающего фрагмента;

k представляет собой целое число от 1 до 30 и

t представляет собой целое число от 1 до 8.

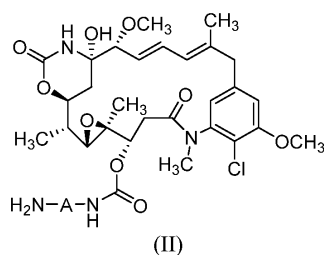
25. Соединение по п.24, где соединение представляет собой



26. Соединение по любому из пп.1-23, где ВА представляет собой антитело.

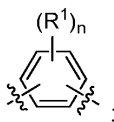
27. Соединение по любому из пп.1-23, 25 или 26, где антителом является антитело к MUC16, антитело к PSMA, антитело к STEAP2 или антитело к HER2.

28. Соединение по формуле (II)



(II)

или его фармацевтически приемлемая соль либо стереоизомер, где А представляет собой



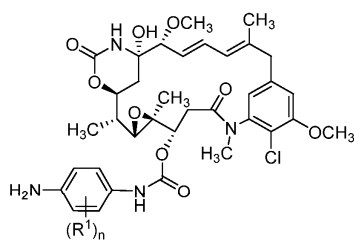
$R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\text{OR}^A$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^A$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил и

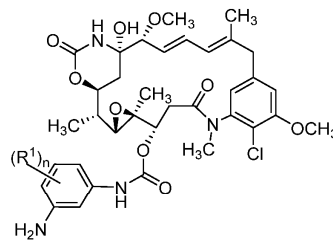
n представляет собой целое число от 0 до 4.

29. Соединение по п.28, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила и гетероциклоалкила.

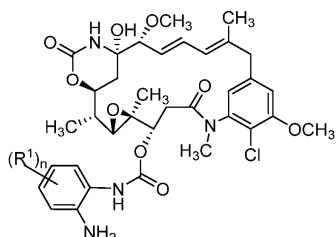
30. Соединение по любому из пп.28 или 29, где соединение по формуле (II) выбирают из соединения по формуле (IIA1), соединения по формуле (IIA2) и соединения по формуле (IIA3)



(IIA1)

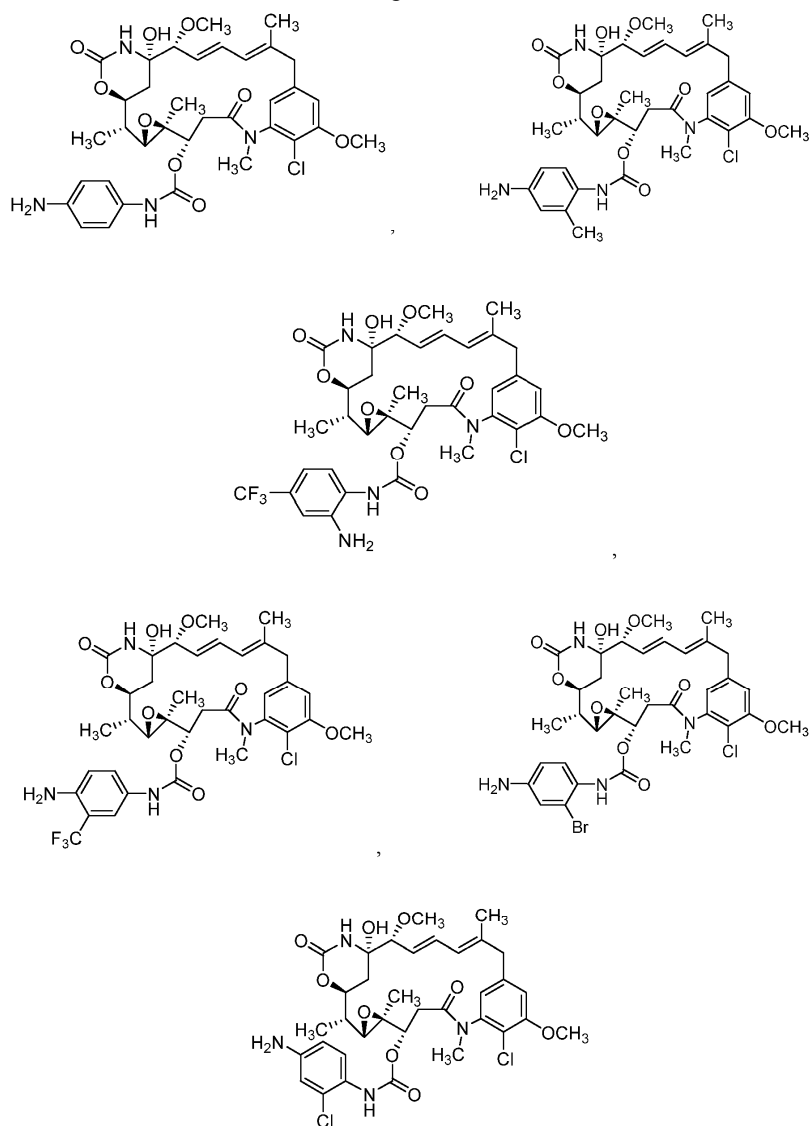


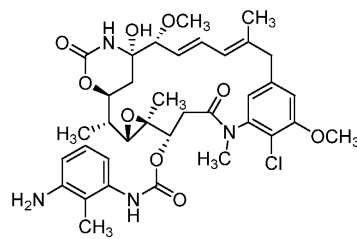
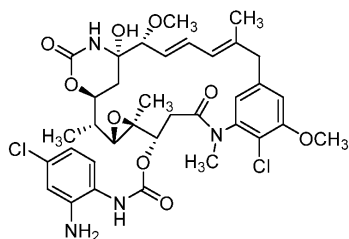
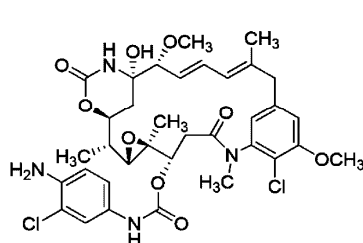
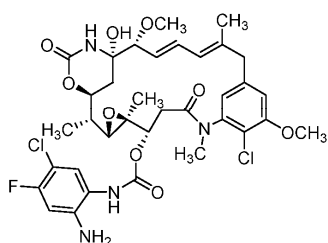
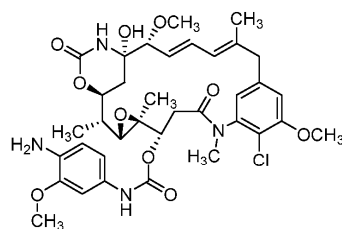
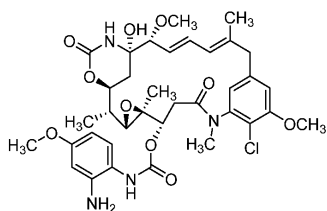
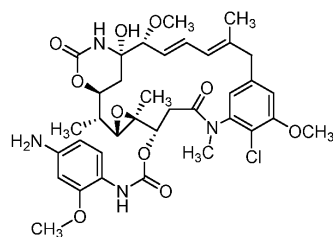
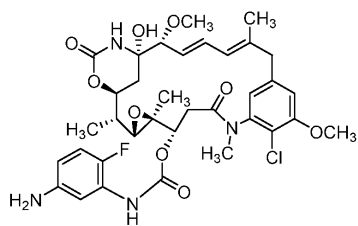
(IIA2)



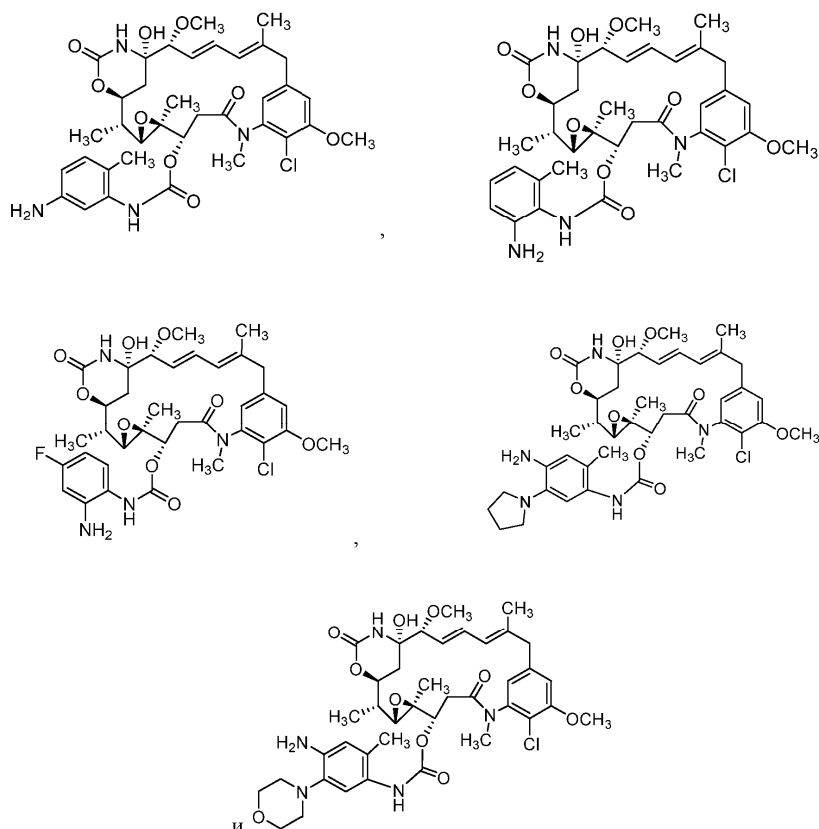
(IIA3).

31. Соединение по любому из пп.28-30, где  $n$  равен 0, 1, 2 или 3.
32. Соединение по любому из пп.28-31, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ -алкила,  $C_{1-6}$ -алкокси, гало,  $C_{1-6}$ -галоалкила и гетероциклоалкила.
33. Соединение по любому из пп.28-32, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из метила, метокси, фтора, хлора, брома, трифторметила, пирролидинила и морфолинила.
34. Соединение по любому из пп.28-32, где  $R^1$  является метилом.
35. Соединение по любому из пп.28-32, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из фтора, хлора, брома.
36. Соединение по любому из пп.28-32, где  $R^1$  является хлором.
37. Соединение по любому из пп.28-32, где  $R^1$  является трифторметилом.
38. Соединение по любому из пп.28-32, где  $R^1$  является метокси.
39. Соединение по любому из пп.28-32, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из метила, морфолинила и пирролидинила.
40. Соединение по п.29, где соединение выбирают из





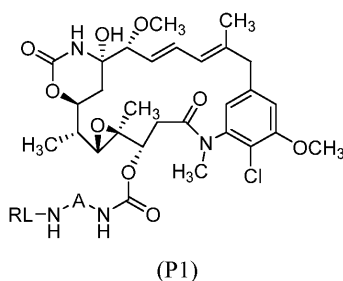




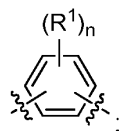
41. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-40 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

42. Способ лечения пролиферативного заболевания, включающий введение пациенту с таким нарушением терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-40 или композиции по п.41.

43. Соединение по формуле (P1)



где А представляет собой



$R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}C(=O)R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

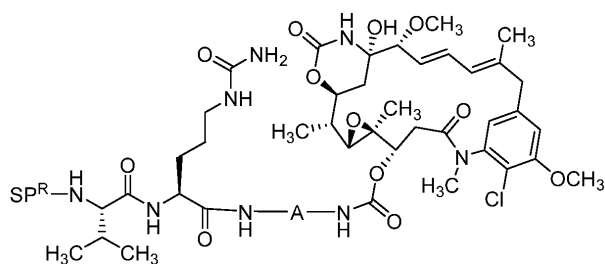
$R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом;

n представляет собой целое число от 0 до 4 и

RL представляет собой реакционноспособный линкер.

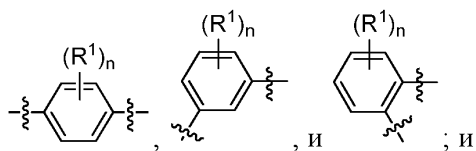
44. Соединение по п.43, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила и гетероциклоалкила.

45. Соединение по любому из пп.43 или 44, где соединением по формуле (P1) является соединение по формуле (P2A1-3)



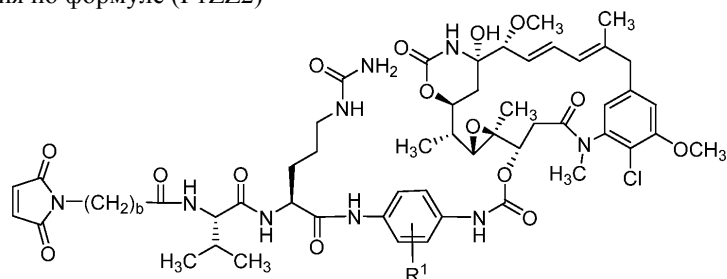
(P2A1-3)

где А выбирают из

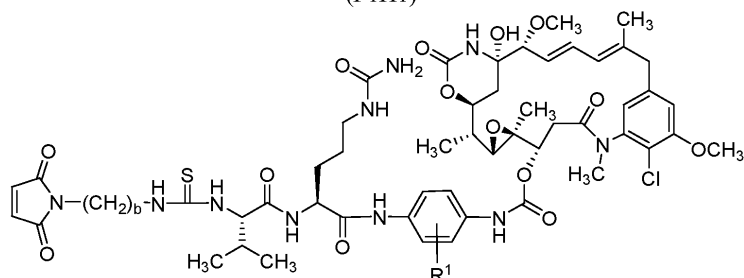


SP<sup>R</sup> представляет собой группу, реагирующую со спейсером.

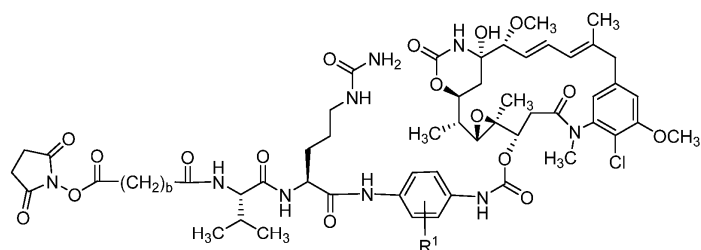
46. Соединение по любому из пп.43-45, где соединение по формуле (P1) выбирают из соединения по формуле (P1H1), соединения по формуле (P1I1), соединения по формуле (P1V1), соединения по формуле (P1W1), соединения по формуле (P1K1), соединения по формуле (P1TG1), соединения по формуле (P1ZZ1) и соединения по формуле (P1ZZ2)



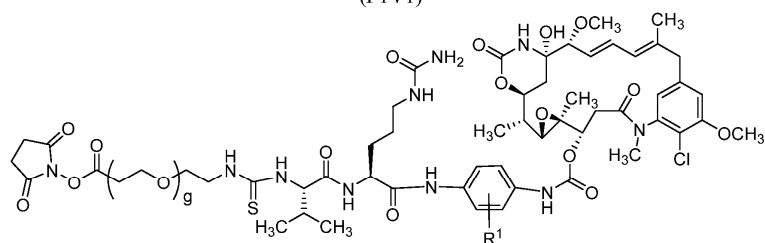
(P1H1)



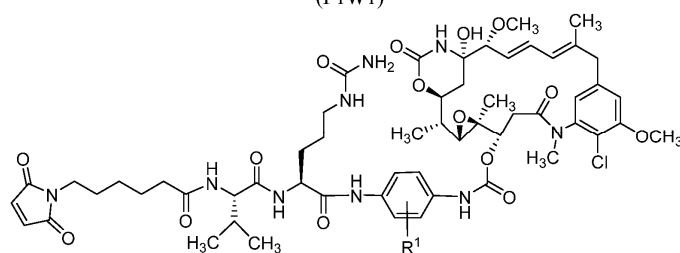
(P1I1)



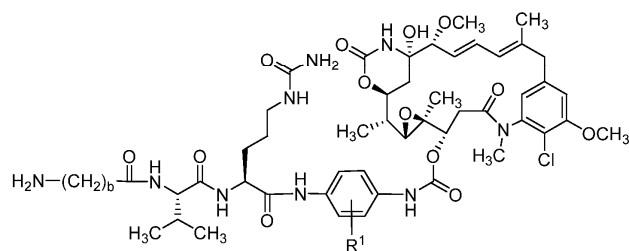
(P1V1)



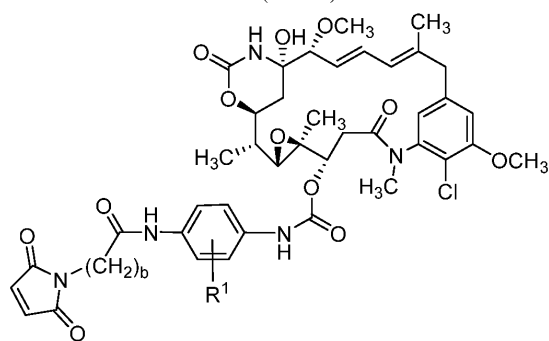
(P1W1)



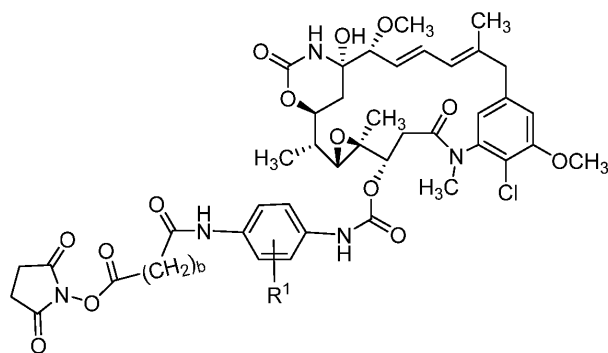
(P1K1)



(P1TG1)

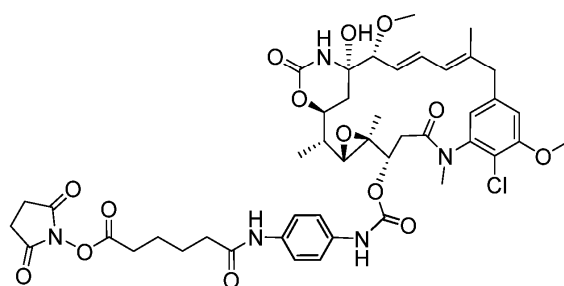
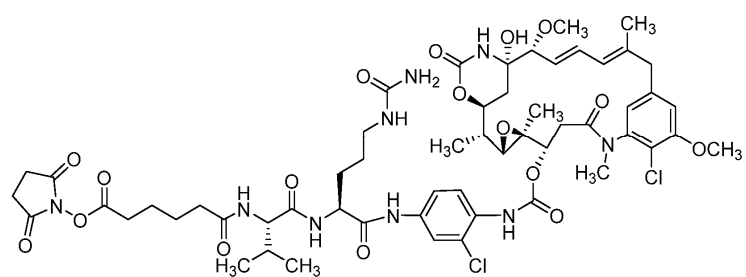
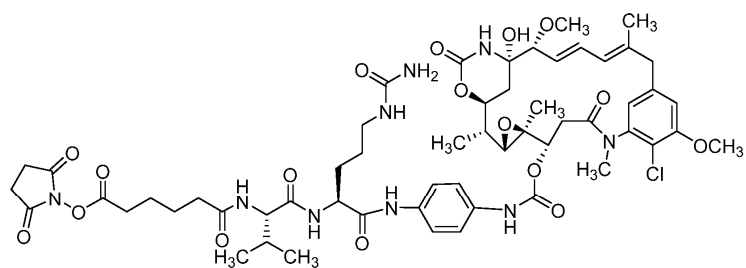
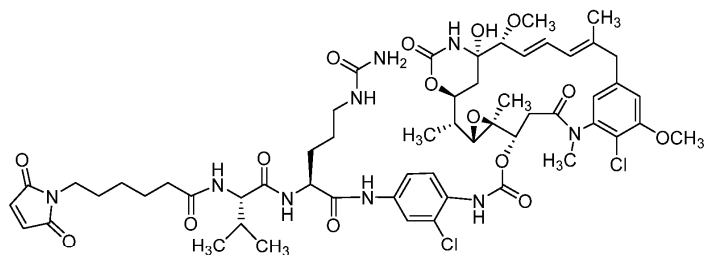
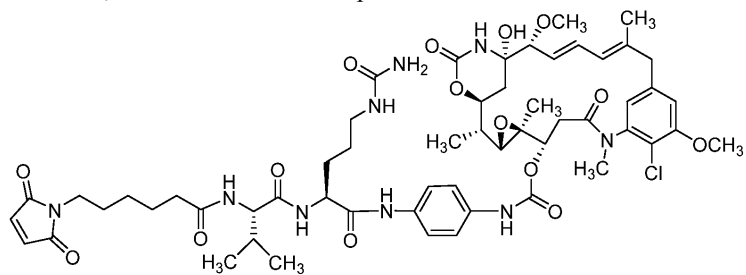


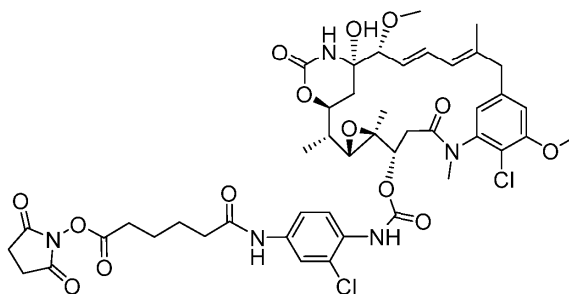
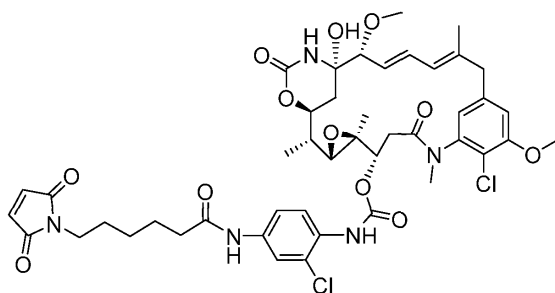
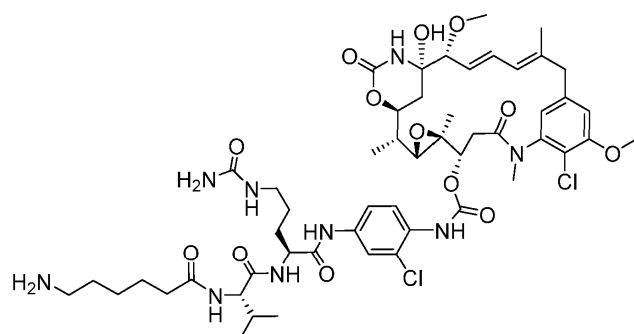
(P1ZZ1)



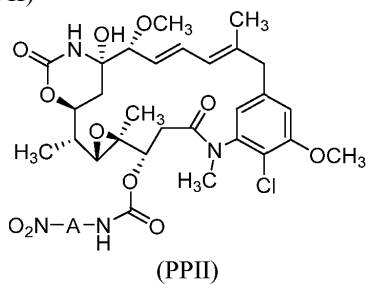
(P1ZZ2)

47. Соединение по п.43, где соединения выбирают из

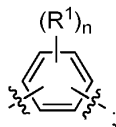




48. Соединение по формуле (PPII)



где А представляет собой



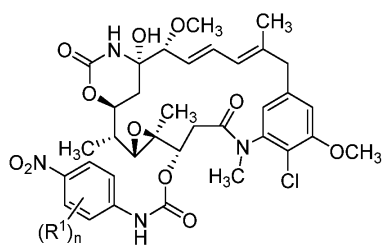
$R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}-OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}-SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}-\overset{O}{\parallel}-R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом; и

n представляет собой целое число от 0 до 4.

49. Соединение по п.48, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила и гетероциклоалкила.

50. Соединение по любому из пп.48 или 49, где соединением по формуле (PPII) является соединением по формуле (PP5A1)

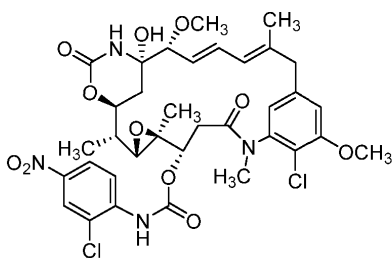
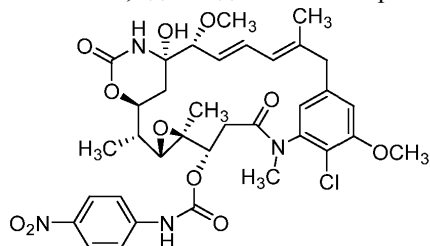


(PP5A1)

где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила и гетероциклоалкила; и

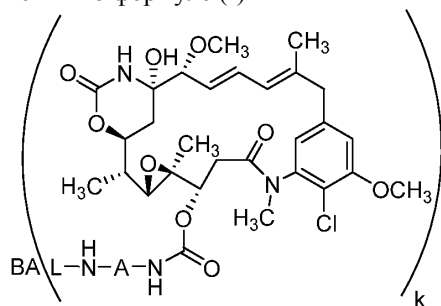
$n$  представляет собой целое число от 0 до 4.

51. Соединение по любому из пп.48-50, где соединение выбирают из



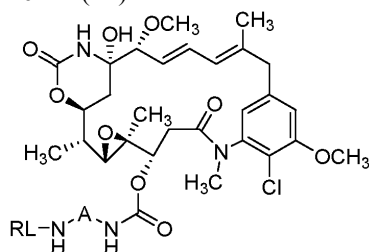
и

52. Способ получения соединения по формуле (I)



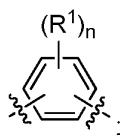
(I)

включающий приведение соединения (P1)



(P1)

в контакт со связующим агентом в условиях, обеспечивающих конъюгацию, где  $A$  представляет собой



$R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,

$C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}-OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}-SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}-\overset{O}{\parallel}-R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом;

$n$  представляет собой целое число от 0 до 4;

$L$  представляет собой линкер;

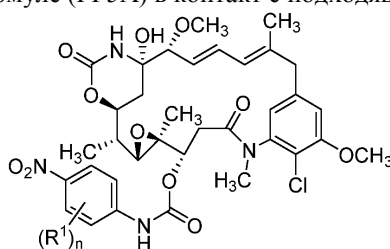
$VA$  является связующим агентом, где связующий агент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент;

$k$  представляет собой целое число от 1 до 10 и

$RL$  является реакционноспособным линкером.

53. Способ по п.52, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила и гетероциклоалкила и  $n$  представляет собой целое число от 0 до 4.

54. Способ по п.52, где соединение по формуле (P1) получают приведением соединения по формуле (II) в контакт с  $RL$ ,  $RL$  является реакционноспособным линкером; и соединение по формуле (II) получают приведением соединения по формуле (PP5A) в контакт с подходящим восстановителем



(PP5A)

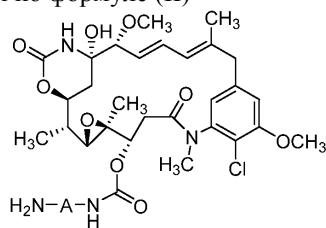
где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}-OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}-SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}-\overset{O}{\parallel}-R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом;

$n$  представляет собой целое число от 0 до 4; и

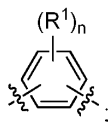
подходящий восстановитель выбирают из металла, металлической фольги, порошкообразного металла, металлической пыли, амальгамы металла или металлических опилок.

55. Способ получения соединения по формуле (II)



(II),

где  $A$  представляет собой

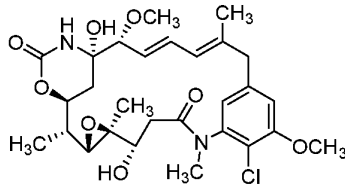


$R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}-OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}-SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}-\overset{O}{\parallel}-R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

$R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом и

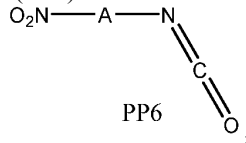
n представляет собой целое число от 0 до 4;  
включающий:

(a) приведение соединения по формуле (P2)



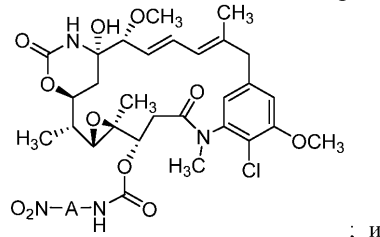
P2

в контакт с соединением по формуле (PP6)



PP6

в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса, с образованием соединения (PPII)



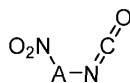
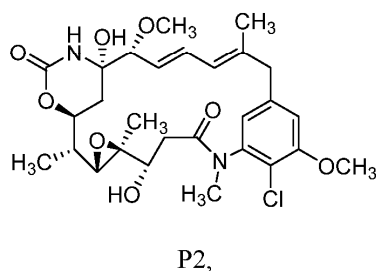
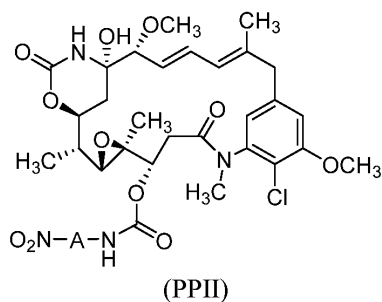
(PPII)

(b) восстановление соединения по формуле (PPII) посредством приведения соединения по формуле (PPII) в контакт с восстановителем с образованием соединения по формуле (II).

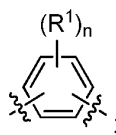
56. Способ по п.55, где R<sup>1</sup>, независимо в каждом случае, выбирают из C<sub>1-6</sub>алкила, C<sub>1-6</sub> алкокси, гало, C<sub>1-6</sub>галоалкила и гетероциклоалкила.

57. Способ получения соединения по формуле (PPII), включающий приведение соединения по формуле (P2) в контакт с соединением по формуле (PP6) в условиях синтеза, катализируемого кислотой Льюиса





где А представляет собой



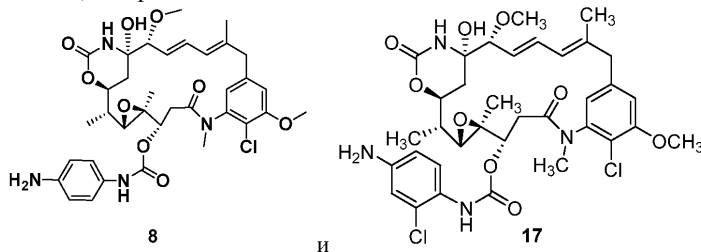
$R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{6-10}$ арила,  $C_{1-6}$ алк- $C_{6-10}$ арила,  $C_{6-10}$ арил- $C_{1-6}$ алкила, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила,  $C_{1-6}$ галоалкокси, гетеро- $C_{1-6}$ алкила, гетероарила, гетероциклоалкила, циано, нитро,  $-\frac{1}{2}OR^A$ ,  $-\frac{1}{2}SO_2R^A$ ,  $-\frac{1}{2}C(=O)R^A$ , и азидо; где гетероарил имеет от 5 до 10 кольцевых атомов и включает по меньшей мере один атом кислорода, серы, азота или фосфора, где остальные кольцевые атомы являются атомами углерода; и где гетероциклоалкил представляет собой морфолинил или пирролидинил;

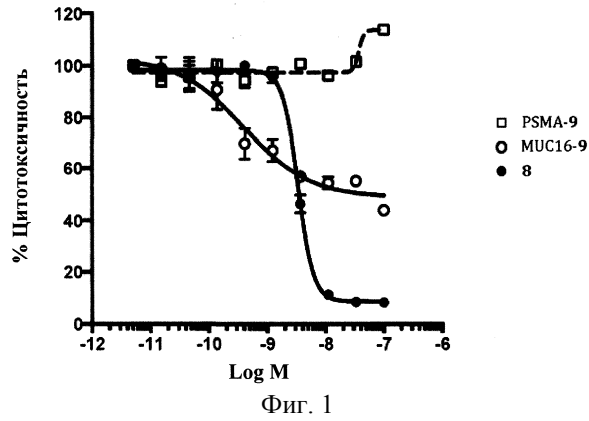
$R^A$  является  $C_{1-6}$ алкилом и

n представляет собой целое число от 0 до 4.

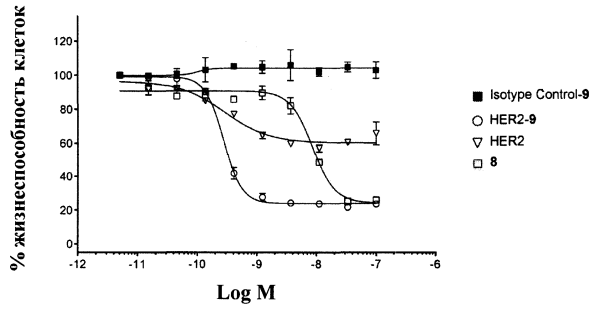
58. Способ по п.57, где  $R^1$ , независимо в каждом случае, выбирают из  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси, гало,  $C_{1-6}$ галоалкила и гетероциклоалкила.

59. Соединение по п.28, выбранное из

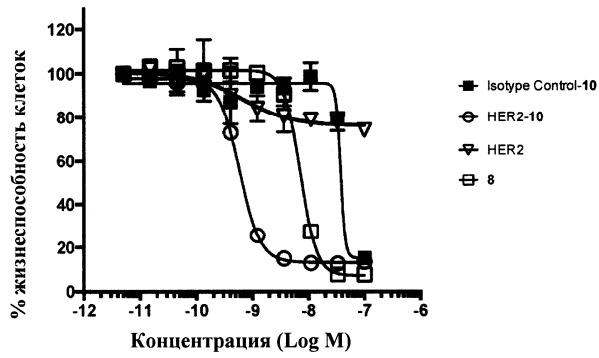




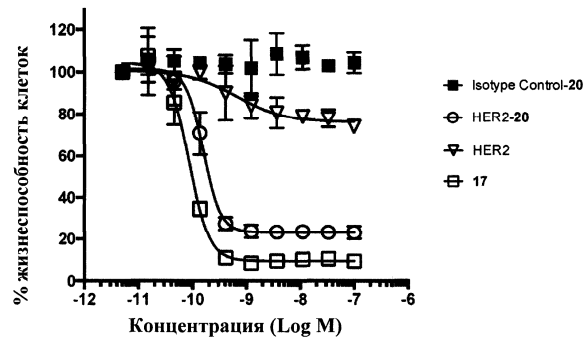
Фиг. 1



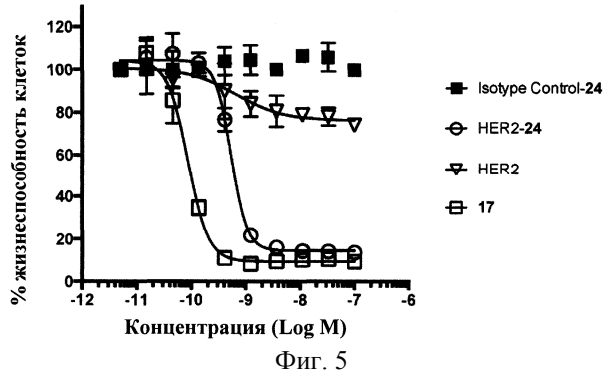
Фиг. 2



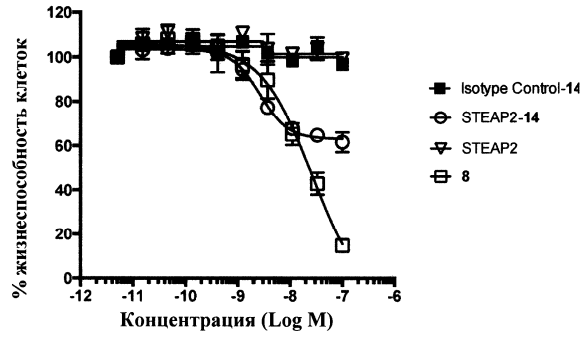
Фиг. 3



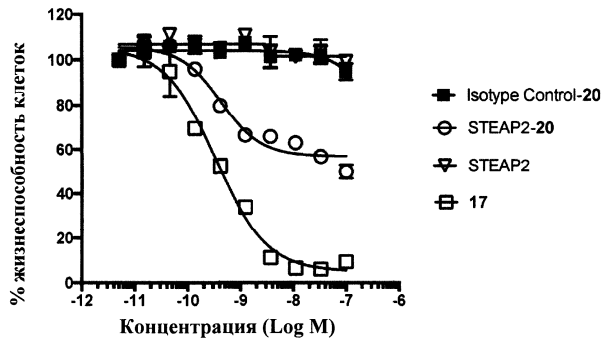
Фиг. 4



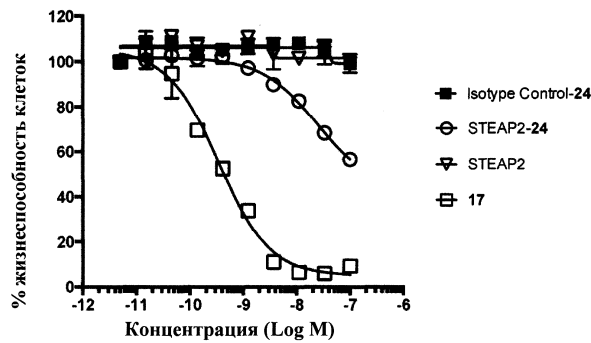
Фиг. 5



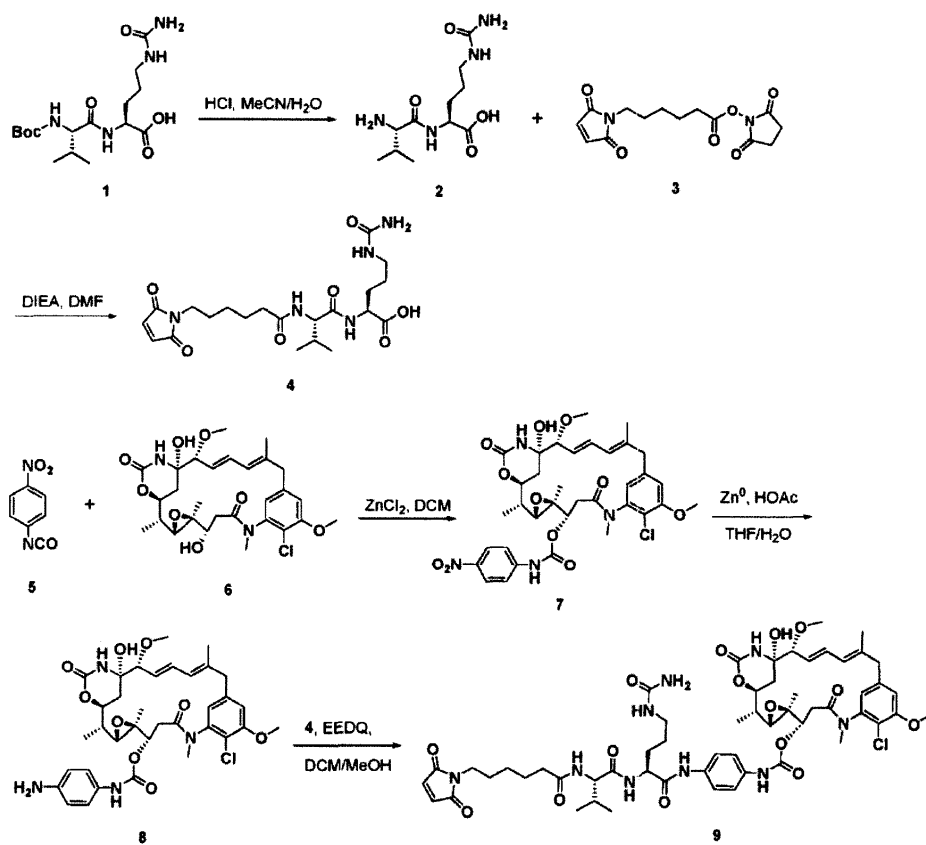
Фиг. 6



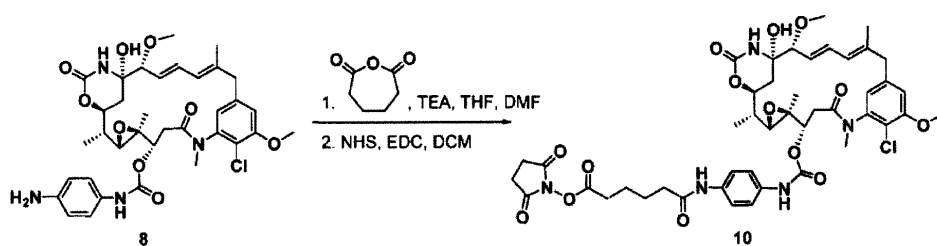
Фиг. 7



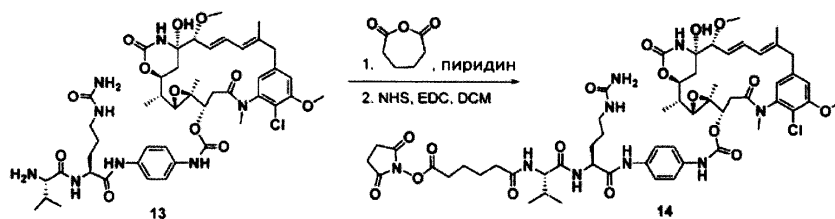
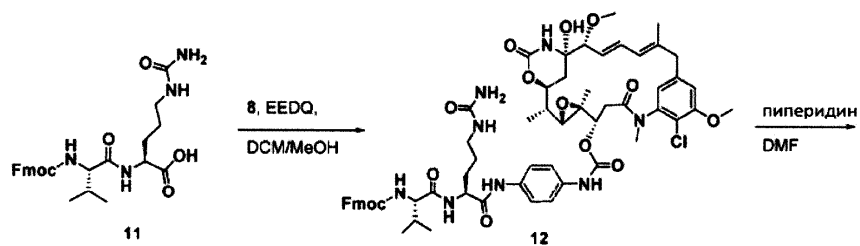
Фиг. 8



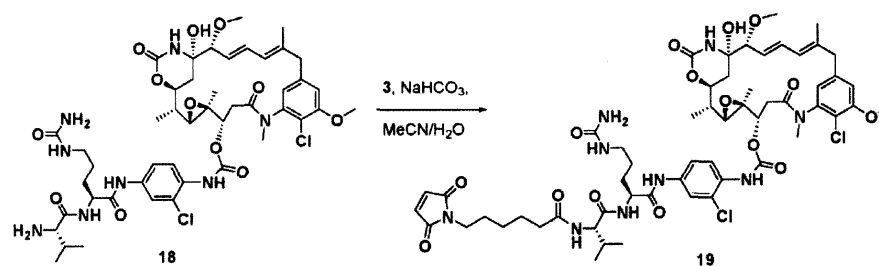
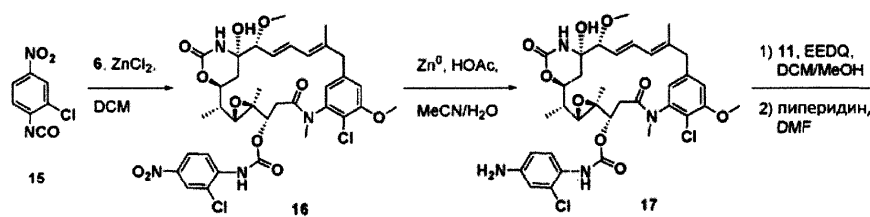
Фиг. 9



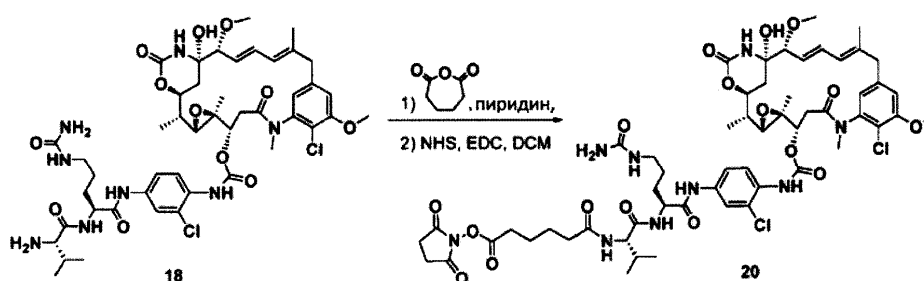
Фиг. 10



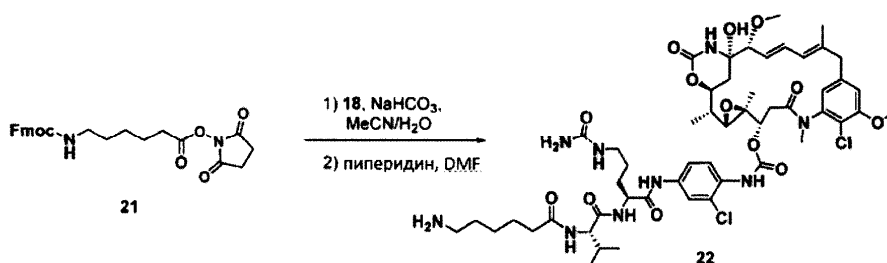
Фиг. 11



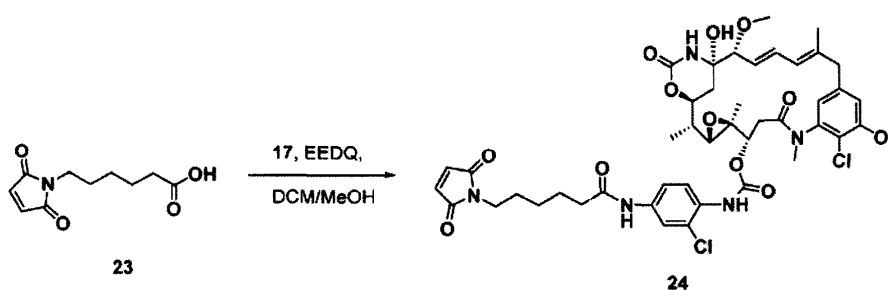
Фиг. 12



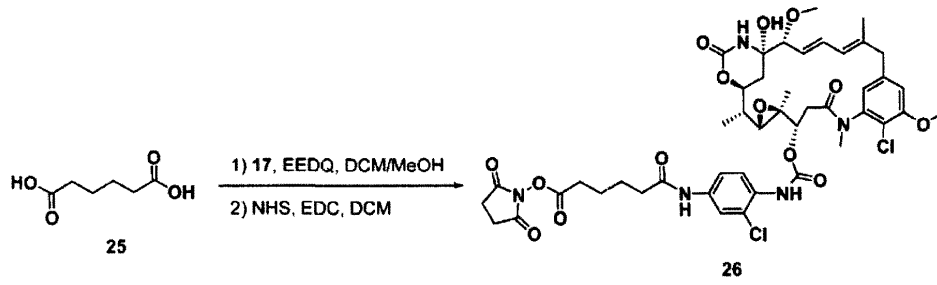
Фиг. 13



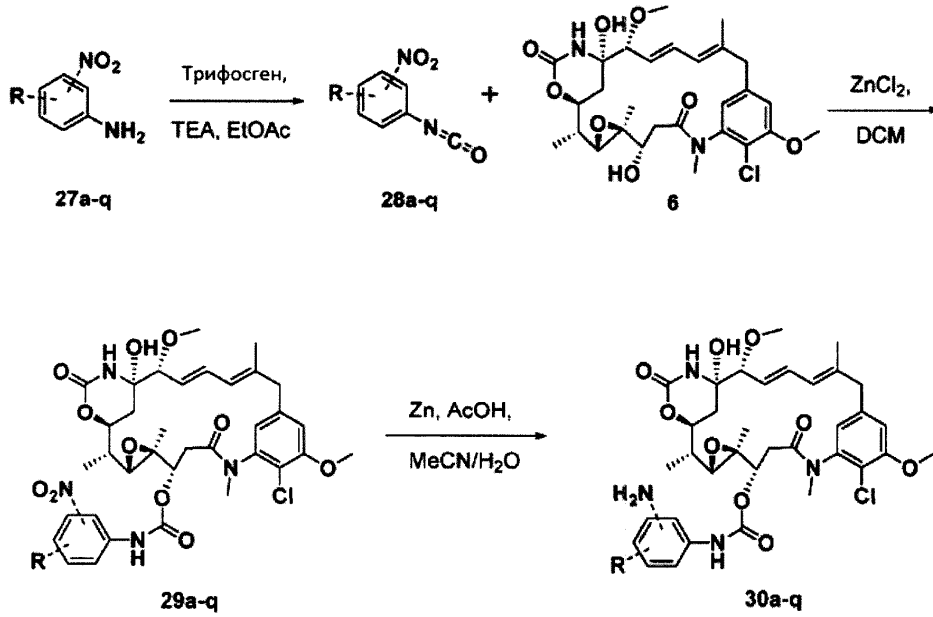
Фиг. 14



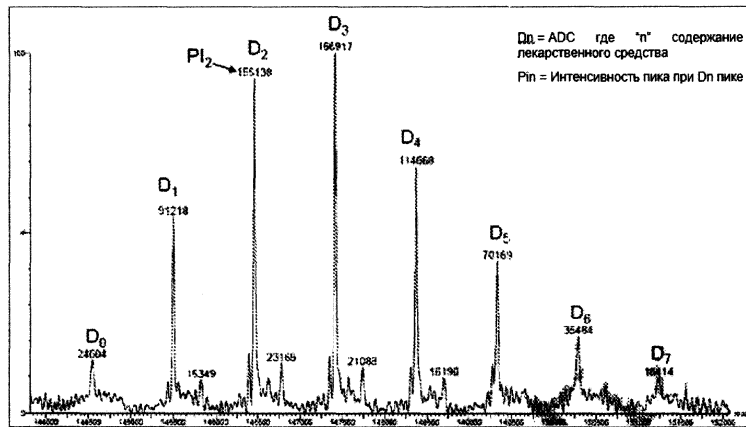
Фиг. 15



Фиг. 16



Фиг. 17



Фиг. 18



Евразийская патентная организация, ЕАПО

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2