

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202091672 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.02.01

(51) Int. Cl. A61K 47/68 (2017.01)
C07J 71/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.01.08

(54) СТЕРОИДЫ И ИХ АНТИТЕЛО-КОНЬЮГАТЫ

(31) 62/614,905

(32) 2018.01.08

(33) US

(86) PCT/US2019/012786

(87) WO 2019/136487 2019.07.11

(88) 2019.09.12

(71) Заявитель:

РЕГЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Хан Эми (US)

(74) Представитель:

Безрукова О.М. (RU)

(57) В настоящем документе описаны белковые стероидные конъюгаты, которые являются полезными, например, для направленной доставки глюкокортикоидов (ГК) к клеткам.

Влияние полезной нагрузки линкера на ГР активацию стероидных конъюгатов
ADC, согласно тестам в HEK293/PRLR/GRE-Luc клетках

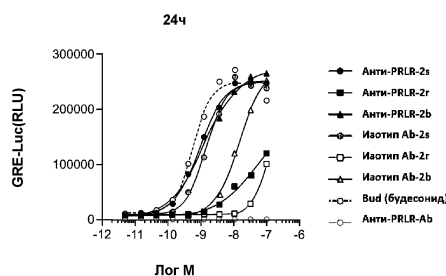
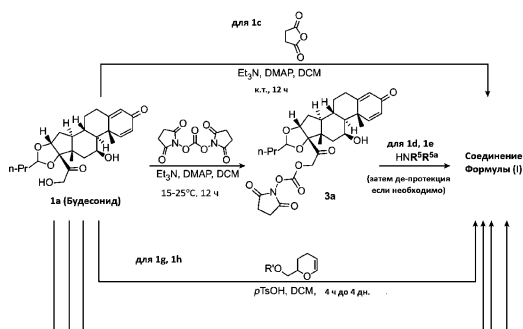


Схема 1 Синтез спейсер-будесонида 1с-1е, 1g-1i и 1j-1l



A1

202091672

202091672

A1

СТЕРОИДЫ И ИХ АНТИТЕЛО-КОНЬЮГАТЫ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Для настоящей заявки испрашивается приоритет относительно Предварительной патентной заявки США № 62/614,905, с названием "Стероиды и их антитело-конъюгаты", которая была подана 8 января 2018 года. Содержание этой предварительной патентной заявки включается в настоящий документ полностью посредством ссылки для любых целей.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка содержит Перечень последовательностей, который был предоставлен в формате ASCII посредством EFS-Web и включается в настоящий документ полностью посредством ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 3 января 2019 года, названа 114581_00228_ST25.txt и имеет размер 11186 байт.

ОБЛАСТЬ

[0003] В настоящем документе представлены стероиды, их белковые конъюгаты (*например*, антитело-конъюгаты), а также способы лечения заболеваний, нарушений и состояний, включающие введение стероидов и конъюгатов.

ИЗВЕСТНЫЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) представляет собой антитела, которые ковалентно связаны с биологически активными низкомолекулярными лекарственными средствами, объединяя таким образом направленную специфичность антител с механизмом действия и активностью низкомолекулярных лекарственных средств. Терапевтическая полезность ADC была подтверждена в лечении рака и в настоящее время является важным объектом исследований. ADCETRIS® (брентуксимаб ведотин) и KADCYLA® (адо-трастузумаб эмтанзин) представляет собой два ADC, разрешенные для лечения определенных типов рака, и в настоящее время несколько других ADC проходят клинические испытания.

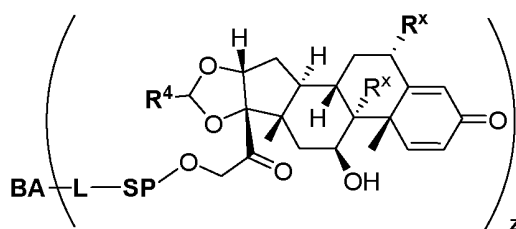
[0005] Глюкокортикоиды (ГК) представляет собой низкомолекулярные стероиды, которые связываются с глюкокортикоидными рецепторами (ГР) и применяются в противовоспалительной и иммуносуппресивной терапии. Тем не менее, ввиду повсеместной экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в клетках многих типов

недостатком глюкокортикоидной терапии является токсичность для большинства систем органов. Таким образом, существует необходимость в новых глюкокортикоидах и новых видах терапии, которые уменьшают побочные эффекты, связанные с введением глюкокортикоидов, особенно тех, которые связаны с активацией глюкокортикоидных рецепторов в нецелевых клетках. В настоящем описании изобретения приводятся решения для упомянутых выше задач, а также других невыполненных задач в области техники, к которой относится данное изобретение. В настоящее описание изобретения включаются конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие глюкокортикоидные нагрузки.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Здесь представлены соединения и способы, полезные для лечения различных заболеваний, нарушений или состояний.

[0007] Первый аспект направлен на Соединение Формулы (III):



(III);

или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, стереоизомер или производное, где:

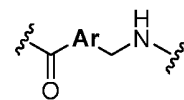
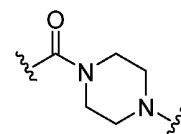
R⁴ представляет собой алкил, арил, ариалкил или N-содержащий гетероциклоалкил; оба **R⁵** представляют собой водород; и **SP** представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-**X¹**- где **X¹** присоединяется к **L** в Формуле (III), -C(O)-N(H)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-, где S присоединяется к **L** в Формуле (III), -C(O)-N(C₁₋

6алкил)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-, где S присоединяется к **L** в Формуле (III),

где точка присоединения на правой стороне (*m.e.* в N) представляет собой к **L** в

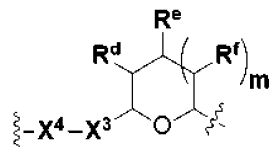
Формуле (III), -CH₂-NH-, где N присоединяется к **L** в Формуле (III),

N присоединяется к **L** в Формуле (III) и где **Ar** представляет собой опционально замещенный арилен или опционально замещенный гетероарилен, -(C₁-C₁₀-алкилен)-**NR^{50a}**C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-**NR^{50a}**- где **NR^{50a}** присоединяется к **L** в Формуле (III), -



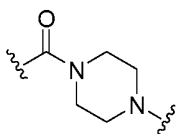
где

$C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III) и где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидроксигруппами, $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}\text{-алкилен}-C(O)NH-$

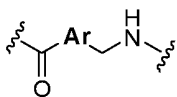


X^2 -, где X^2 присоединяется к **L** в Формуле (III), или присоединяется к **L** в Формуле (III); или

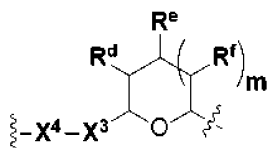
оба R^x представляют собой фтор; и **SP** представляет собой $-C(O)-C_1-C_{10}\text{-алкилен}-C(O)-$, $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-C_1-C_{10}\text{-алкилен}-X^{1b}$ -, где X^{1b} присоединяется к **L** в Формуле (III), $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-X^{1b}$ -, где X^{1b} присоединяется к **L** в Формуле (III),



где точка присоединения на правой стороне (*m.e.* в N) представляет собой к **L** в Формуле (III), $-CH_2-NH-$, где N присоединяется к **L** в Формуле (III),



где N присоединяется к **L** в Формуле (III) и где **Ar** представляет собой опционально замещенный арилен или опционально замещенный гетероарил, $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III), $-C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III) и где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо опционально замещается одним или несколькими гидроксигруппами, $-C(O)-N(R^5)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-C(O)NH-X^2$ -, где X^2 присоединяется к **L** в Формуле (III), или



где X^4 присоединяется к **L** в Формуле (III); и

X^1 представляет собой $-N(C_{1-6}\text{алкил})-$;

X^{1b} представляет собой $-S-$, $-NH-$ или $-N(C_{1-6}\text{алкил})-$;

X^2 представляет собой $-NH-$;

X^3 представляет собой $-CH_2-$, X^3 представляет собой $-CH_2-O-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-C(O)-$, где $C(O)$ присоединяется к X^4 или X^3 представляет собой $-C(O)-$;

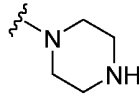
X^4 представляет собой $-O-$;

R^5 представляет собой H, $-OH$, $-OCH_3$ или $C_{1-6}\text{алкил}$;

The chemical structure shows a steroid nucleus with the following substituents: R^1 at C-3, R^2 at C-14, R^3 at C-17, R^4 at C-13, and R^5 at C-10. The structure includes a ketone at C-3, a double bond between C-4 and C-5, and a hydroxyl group at C-14.

$$\begin{array}{c} \text{R}^e \\ | \\ \text{R}^d \text{---} \text{C} \text{---} \text{C} \text{---} \text{R}^f \\ | \quad | \\ \text{R}^c \text{---} \text{O} \text{---} \text{C} \text{---} \text{C} \text{---} \text{R}^g \end{array}$$
$$\begin{array}{c} \text{Re} \\ | \\ \text{R}^{\text{d}} \text{---} \text{C} \text{---} \text{C} \text{---} \text{R}^{\text{f}} \\ | \quad | \\ \text{R}^{\text{c}} \text{---} \text{O} \text{---} \text{C} \text{---} \text{C} \text{---} \text{R}^{\text{e}} \end{array} \quad \text{m}$$

опционально замещается одной или несколькими гидрокси; $\text{---Ar---CH}_2\text{NH}_2$ где **Ar** представляет собой опционально замещенный арил или гетероарил; или $\text{NR}^{16}\text{R}^{16a}$; R^{16} представляет собой H или $\text{C}_1\text{--C}_6$ алкил и R^{16a} представляет собой $\text{---(C}_1\text{--C}_{10}\text{---алкилен)---}$

SH , $\text{---(C}_1\text{--C}_{10}\text{---алкилен)---NH}_2$, $\text{---(C}_1\text{--C}_{10}\text{---алкилен)---NH(C}_1\text{--C}_6\text{алкил)}$, , или $\text{---(C}_1\text{--C}_6\text{---алкилен)---C(O)NHNH}_2$; и

в каждом случае R^{50} , R^{50a} и R^{50b} представляет собой независимо водород или $\text{C}_1\text{--C}_6$ -алкил; один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой $\text{---CH}_2\text{OR}^g$, а другие представляет собой

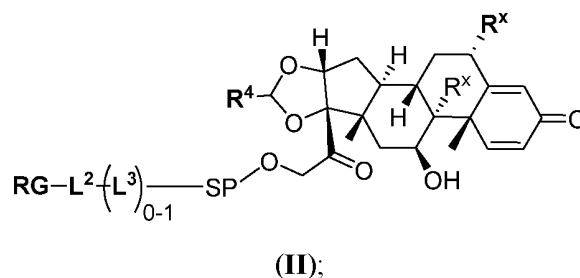
независимо ---H , ---OH , гидроксиалкил,

---C(O)OH или $\text{---CH}_2\text{OR}^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $\text{---(C}_1\text{--C}_6\text{---алкилен)---C(O)OH}$ или $\text{---(C}_1\text{--C}_6\text{---алкилен)---C(O)O(алкил)}$; или один из R^c , R^d , R^e и R^f

представляет собой гидроксиалкил, а другие представляет собой ---H ; и

m представляет собой 0 или 1.

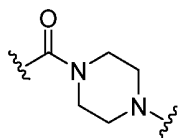
[0009] Третий аспект направлен на Соединение Формулы (II):



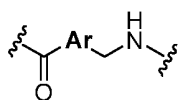
или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, стереоизомер или производное, где:

R^4 представляет собой алкил, арил, ариалкил или N-содержащий гетероциклоалкил;

оба R^x представляют собой водород; **SP** представляет собой $\text{---C(O)---C}_1\text{--C}_{10}\text{---алкилен---C(O)---}$, $\text{---C(O)---N(C}_1\text{--C}_6\text{алкил)---C}_1\text{--C}_{10}\text{---алкилен---X}^1\text{---}$, где X^1 присоединяется к $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $\text{---C(O)---N(H)---(C}_1\text{--C}_{10}\text{---алкилен)---S---}$, где S присоединяется к $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $\text{---C(O)---N(C}_1\text{--C}_6\text{алкил)---(C}_1\text{--C}_{10}\text{---алкилен)---S---}$, где S присоединяется к $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (II),

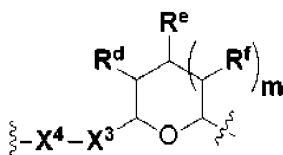


где точка присоединения на правой стороне (*m.e.* в N) представляет собой $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $\text{---CH}_2\text{---NH---}$, где N присоединяется к $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (II),



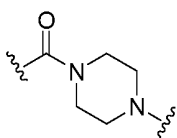
где N присоединяется к $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (II) и где **Ar** представляет

собой опционально замещенный арилен или опционально замещенный гетероарил, - (C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к (L³)₀₋₁ в Формуле (II), -C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к (L³)₀₋₁ в Формуле (II) и где в каждом случае C₁-C₁₀-алкилен независимо опционально замещается одной или несколькими гидрокси, -C(O)-N(R⁵)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)NH-X²-, где X² присоединяется к (L³)₀₋₁ в Формуле (II), или

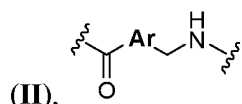


где X⁴ присоединяется к L³ в Формуле (II); или

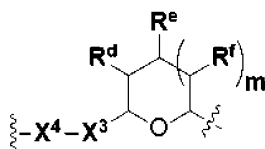
оба R^x представляют собой фтор; SP представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-X^{1b}-, где X^{1b} присоединяется к (L³)₀₋₁ в Формуле (II), -C(O)-N(H)-(C₁-C₁₀-алкилен)-X^{1b}-, где X^{1b} присоединяется к (L³)₀₋₁ в Формуле (II),



где точка присоединения на правой стороне (*m.e.* в N) представляет собой к (L³)₀₋₁ в Формуле (II), -CH₂-NH-, где N присоединяется к (L³)₀₋₁ в Формуле



(II), где N присоединяется к (L³)₀₋₁ в Формуле (II) и где Ar представляет собой опционально замещенный арилен или опционально замещенный гетероарил, -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к (L³)₀₋₁ в Формуле (II), -C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к (L³)₀₋₁ в Формуле (II) и где в каждом случае C₁-C₁₀-алкилен независимо опционально замещается одним или несколькими гидрокси, -C(O)-N(R⁵)-(C₁-C₁₀-алкилен)-C(O)NH-X²-, где X² присоединяется к (L³)₀₋₁ в



Формуле (II), или
(II); и

где X⁴ присоединяется к (L³)₀₋₁ в Формуле

X¹ представляет собой -N(C₁₋₆алкил)-;

X^{1b} представляет собой -S-, -NH- или -N(C₁₋₆алкил)-;

X² представляет собой -NH-;

X^3 представляет собой $-CH_2-$, X^3 представляет собой $-CH_2-O-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-C(O)-$, где $C(O)$ присоединяется к X^4 или X^3 представляет собой $-C(O)-$;

X^4 представляет собой $-O-$;

R^5 представляет собой H , $-OH$, $-OCH_3$ или C_{1-6} -алкил;

R^{50} и R^{50a} представляет собой независимо водород или C_1-C_6 -алкил;

R^d , R^e и R^f представляет собой независимо $-H$, $-OH$, гидроксипалкил, алкоксикарбонил, $-C(O)OH$ или $-CH_2OR^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-CH_2C(O)OH$ или $-CH_2C(O)O(\text{алкил})$; и

m представляет собой 0 или 1;

RG представляет собой реактивная группа;

L^2 представляет собой соединительный линкер; и

L^3 , если имеется представляет собой саморасщепляющийся линкер.

[00010] Другой аспект направлен на фармацевтические композиции, содержащие Соединение Формулы (I), Формулы I-P, Формулы I-P-1, Формулы (III-P), Формулы III-P-1, Формулы (3000) или Формулы (III) и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество.

[00011] Другой аспект направлен на способы, полезные для лечения различных заболеваний, нарушений или состояний, включающие введение Соединения Формулы I, Формулы I-P, Формулы I-P-1, Формулы (III-P), Формулы III-P-1, Формулы (3000) или Формулы (III) или введение фармацевтической композиции, содержащей Соединение Формулы I, Формулы I-P, Формулы I-P-1, Формулы (III-P), Формулы III-P-1, Формулы (3000) или Формулы (III) и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество.

КРАТКИЕ ОПИСАНИЯ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0010] На ФИГ. 1A, 1B и 1C и 2 показана ГР активация стероидных конъюгатов ADC, как описано в Примере 7.

[0011] На ФИГ. 3 показана Схема 1. Синтез спейсер-будесонида 1c-1e, 1g-1i и 1j-1l.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

А. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0012] В контексте настоящего документа “алкил” означает одновалентный и насыщенный углеводородный радикальный фрагмент. Если не указано иное, алкил является незамещенным и может быть линейным, разветвленным или циклическим, т.е. циклоалкилом. Алкил включает, помимо прочего, алкилы, имеющие 1-20 атомов углерода, т.е. C₁₋₂₀ алкил; 1-12 атомов углерода, т.е. C₁₋₁₂ алкил; 1-8 атомов углерода, т.е. C₁₋₈ алкил; 1-6 атомов углерода, т.е. C₁₋₆ алкил; и 1-3 атома углерода, т.е. C₁₋₃ алкил. Циклоалкил, который является подгруппой алкилов, включает, помимо прочего, группы, имеющие 3-20 атомов углерода, т.е. C₃₋₂₀ алкил; 3-12 атомов углерода, т.е. C₃₋₁₂ алкил; 3-10 атомов углерода, т.е. C₃₋₁₀ алкил; 3-8 атомов углерода, т.е. C₃₋₈ алкил; и 3-6 атомов углерода, т.е. C₃₋₆ алкил. Примеры алкильных фрагментов включают, помимо прочего, метил, этил, *n*-пропил, *i*-пропил, *n*-бутил, *s*-бутил, *t*-бутил, *i*-бутил, пентильный фрагмент, гексильный фрагмент, циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил.

[0013] В контексте настоящего документа “алкилен” означает двухвалентный алкил.

[0014] В контексте настоящего документа “аминоалкил” означает алкильную группу, замещенную одной или двумя -NH₂ группами.

[0015] В контексте настоящего документа “алкенил” означает моновалентный углеводородный радикальный фрагмент, содержащий минимум два атома углерода и одну или несколько неароматических углерод-углеродных двойных связей. Алкенил является незамещенным, если не указано иное, и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкенил включает, помимо прочего, алкенилы, имеющие 2-20 атомов углерода, т.е. C₂₋₂₀ алкенил; 2-12 атомов углерода, т.е. C₂₋₁₂ алкенил; 2-8 атомов углерода, т.е. C₂₋₈ алкенил; 2-6 атомов углерода, т.е. C₂₋₆ алкенил; и 2-4 атома углерода, т.е. C₂₋₄ алкенил. Циклоалкенил, который является подгруппой алкенилов, включает, помимо прочего, группы, имеющие 3-20 атомов углерода, т.е. C₃₋₂₀ алкенил; 3-12 атомов углерода, т.е. C₃₋₁₂ алкенил; 3-10 атомов углерода, т.е. C₃₋₁₀ алкенил; 3-8 атомов углерода, т.е. C₃₋₈ алкенил; и 3-6 атомов углерода, т.е. C₃₋₆ алкенил. Примеры алкенильных фрагментов включают, помимо прочего, винил, пропенил, бутенил и циклогексенил.

[0016] В контексте настоящего документа “алкенилен” означает двухвалентный алкенил.

[0017] В контексте настоящего документа "алкинил" означает моновалентный углеводородный радикальный фрагмент, содержащий минимум два атома углерода и одну или несколько углерод-углеродных тройных связей. Алкинил является незамещенным, если не указано иное, и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкинил включает, помимо прочего, алкинилы, имеющие 2–20 атомов углерода, т.е. C_{2–20} алкинил; 2–12 атомов углерода, т.е. C_{2–12} алкинил; 2–8 атомов углерода, т.е. C_{2–8} алкинил; 2–6 атомов углерода, т.е. C_{2–6} алкинил; и 2–4 атома углерода, т.е. C_{2–4} алкинил. Циклоалкинил, который является подгруппой алкинилов, включает, помимо прочего, группы, имеющие 3–20 атомов углерода, т.е. C_{3–20} алкинил; 3–12 атомов углерода, т.е. C_{3–12} алкинил; 3–10 атомов углерода, т.е. C_{3–10} алкинил; 3–8 атомов углерода, т.е. C_{3–8} алкинил; и 3–6 атомов углерода, т.е. C_{3–6} алкинил. Примеры алкинильных фрагментов включают, помимо прочего, этинил, пропинил и бутинил.

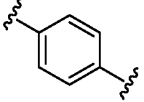
[0018] В контексте настоящего документа "алкинилен" означает двухвалентный алкинил.

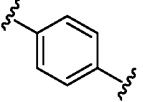
[0019] В контексте настоящего документа "алкокси" означает моновалентный и насыщенный углеводородный радикальный фрагмент, в котором углеводород включает одинарную связь с атомом кислорода и в котором радикал локализован на атоме кислорода, например, CH₃CH₂–O· для этокси. Заместители алкокси связываются с соединением, которое они замещают, через этот атом кислорода заместителя алкокси. Алкокси является незамещенным, если не указано иное, и может быть линейным, разветвленным или циклическим, например, циклоалкокси. Алкокси включает, помимо прочего, алкокси, имеющие 1–20 атомов углерода, т.е. C_{1–20} алкокси; 1–12 атомов углерода, т.е. C_{1–12} алкокси; 1–8 атомов углерода, т.е. C_{1–8} алкокси; 1–6 атомов углерода, т.е. C_{1–6} алкокси; и 1–3 атома углерода, т.е. C_{1–3} алкокси. Циклоалкокси, который является подгруппой алкокси, включает, помимо прочего, группы, имеющие 3–20 атомов углерода, т.е. C_{3–20} алкокси; 3–12 атомов углерода, т.е. C_{3–12} алкокси; 3–10 атомов углерода, т.е. C_{3–10} алкокси; 3–8 атомов углерода, т.е. C_{3–8} алкокси; и 3–6 атомов углерода, т.е. C_{3–6} алкокси. Примеры фрагментов алкокси включают, помимо прочего, метокси, этокси, *n*-пропокси, *i*-пропокси, *n*-бутокс, *s*-бутокс, *t*-бутокс, *i*-бутокс, фрагмент пентилокси, фрагмент гексилокси, циклопропилокси, циклобутилокси, циклопентилокси и циклогексилокси.

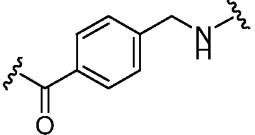
[0020] В контексте настоящего документа "арил" означает моновалентный фрагмент, являющийся радикалом моноциклической или полициклической кольцевой системы, содержащей минимум одно ароматическое кольцо, где атомами кольца являются атомы углерода. Арил опционально замещается. Если арил является моноциклическим,

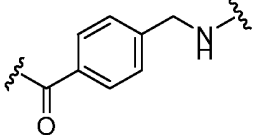
арилом является фенил. Если арил является полициклическим, например, бициклическим или трициклическим, минимум одно из колец является ароматическим, а другие кольца могут быть ароматическими или частично ненасыщенными. Примеры арильных фрагментов включают, помимо прочего, те, которые содержат от 6 до 20 атомов углерода кольца, т.е. C₆₋₂₀ арил; от 6 до 15 атомов углерода кольца, т.е. C₆₋₁₅ арил, и от 6 до 10 атомов углерода кольца, т.е. C₆₋₁₀ арил. Примеры арильных фрагментов включают, помимо прочего, фенил, нафтил, тетрагидронафтил, флуоренил, азуленил, антрил, фенантрил и пиренил.

[0021] В контексте настоящего документа "арилен" означает двухвалентную арильную группу, определение которой дается в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления арилен опционально замещается на одном из углеродов, что не дает точку присоединения для остальной части молекулы. В некоторых вариантах осуществления арилен опционально не замещается. В некоторых вариантах осуществления ариленом является фенилен. В некоторых вариантах осуществления

ариленом является , который опционально замещается. В некоторых вариантах

осуществления ариленом является , который опционально не замещается. В

некоторых вариантах осуществления фенилен в  опционально

замещается. В некоторых вариантах осуществления фенилен в  опционально не замещается.

[0022] В контексте настоящего документа "арилалкил" означает моновалентный фрагмент, который является радикалом алкильного соединения, в котором алкильное соединение замещается арильным заместителем, т.е. ароматическое соединение включает одинарную связь с алкильной группой, где радикал локализуется на алкильной группе. Арилалкильная группа связывается с показанной структурой посредством алкильной группы. В некоторых вариантах осуществления арилалкил включает биензил, фенилет-1-ил и фенилет-2-ил и подобные. Если не указано иное, арилалкил является

незамещенным. Тем не менее, если арилалкил является замещенным, арилалкил, т.е. арильная группа и/или алкильная группа, замещается так, как описано в настоящем документе. Примеры арилалкила включают, помимо прочего, бензил.

[0023] В контексте настоящего документа "галоалкил" означает алкил, определение которому дается в настоящем документе, где алкил включает минимум одного заместителя, выбранного из галогена, например, F, Cl, Br и I. В некоторых вариантах осуществления алкил замещается 1, 2, 3 или 4 гало атомами, которые независимо выбираются.

[0024] В контексте настоящего документа "галоалкокси" означает алкокси, определение которому дано в настоящем документе, где алкокси включает минимум одного заместителя, выбранного из галогена, например, F, Cl, Br или I.

[0025] В контексте настоящего документа "гетероалкил" означает алкил, в котором один или несколько атомов углерода замещаются гетероатомами. В контексте настоящего документа "гетероалкенил" означает алкенил, в котором один или несколько атомов углерода замещаются гетероатомами. В контексте настоящего документа "гетероалкинил" означает алкинил, в котором один или несколько атомов углерода замещаются гетероатомами. Подходящие гетероатомы включают, помимо прочего, атомы азота, кислорода и серы, которые выбираются независимым образом. Гетероалкил является незамещенным, если не указано иное. Примеры гетероалкильных фрагментов включают, помимо прочего, аминоалкил, сульфониалкил, сульфинилалкил. Примеры гетероалкильных фрагментов также включают, помимо прочего, метиламино, метилсульфонил и метилсульфинил.

[0026] В контексте настоящего документа "гетероарил" означает моновалентный фрагмент, который является радикалом ароматического соединения, где атомы кольца содержат атомы углерода и минимум один атом кислорода, серы, азота или фосфора. Гетероарил включает моноциклические, конденсированные бициклические или конденсированные трициклические радикалы, где кольцо, содержащее моноциклический радикал, является ароматическим и где минимум одно из конденсированных колец, содержащих бициклический или трициклический радикал, является ароматическим. Конденсированный бициклический радикал включает мостиковые кольцевые системы. Примеры гетероарильных фрагментов включают, помимо прочего, те, которые имеют от 5 до 20 атомов кольца; от 5 до 15 атомов кольца; и от 5 до 10 атомов кольца. Гетероарил является опционально незамещенным. В некоторых вариантах осуществления гетероарильное кольцо содержит 1, 2, 3 или 4 (в некоторых вариантах осуществления 1, 2

или 3; в некоторых вариантах осуществления 1 или 2; в некоторых вариантах осуществления 1) атомов кислорода, серы, азота и и/или фосфора, которые выбираются независимым образом. В некоторых вариантах осуществления гетероарилом является 1,2,4-триазолил, 1,3,5-триазолил, фталимидил, пиридинил, пирролил, имидазолил, тиенил, фуранил, индолил, 2,3-дигидро-1*H*-индолил (включая, помимо прочего, 2,3-дигидро-1*H*-индол-2-или или 2,3-дигидро-1*H*-индол-5-ил и подобные), изоиндолил, индолинил, изоиндолинил, бензимидазолил, бензодиоксол-4-ил, бензофуранил, циннолинил, индолизинил, нафтиридин-3-ил, фталазин-3-ил, фталазин-4-ил, птеридинил, пуринил, хиназолинил, хиноксалинил, тетразоил, пиразолил, пиразинил, пиримидинил, пиридазинил, оксазолил, изооксазолил, оксадиазолил, бензоксазолил, хинолинил, изохинолинил, тетрагидроизохинолинил (включая, например, тетрагидроизохинолин-4-ил или тетрагидроизохинолин-6-ил и подобные), пирроло[3,2-с]пиридинил (включая, например, пирроло[3,2-с]пиридин-2-ил или пирроло[3,2-с]пиридин-7-ил и подобные), бензопиранил, тиазолил, изотиазолил, тиадиазолил, бензотиазолил, бензотиенил.

[0027] В контексте настоящего документа "гетероарилен" означает двухвалентный гетероарил, определение которому дается в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления гетероарилен опционально замещается на одном из углеродов или замещаемых азотов, что не дает точку присоединения для остальной части молекулы. В некоторых вариантах осуществления гетероарилен опционально не замещается. В некоторых вариантах осуществления гетероариленом является пиридин-диил.

[0028] В контексте настоящего документа "гетероциклоалкил" означает циклоалкил, определение которому дано выше в пункте "алкил", в котором один или несколько атомов углерода замещаются гетероатомами, которые выбираются независимым образом. Подходящие гетероатомы включают, помимо прочего, атомы азота, кислорода и серы. Если не указано иное, гетероциклоалкил является незамещенным. Примеры гетероциклоалкильных фрагментов включают, помимо прочего, морфолинил, пиперидинил, тетрагидропиранил, пирролидинил, имидазолидинил, оксазолидинил, тиазолидинил, диоксоланил, дитиоланил, оксанил или тианил.

[0029] В контексте настоящего документа "гидроксиалкилен" означает алкилен, определение которому дано в настоящем документе, где алкилен включает минимум одну гидроксильную группу. В некоторых вариантах осуществления алкилен замещается 1, 2, 3 или 4 атомами гидроксильных групп.

[0030] В контексте настоящего документа "N-содержащий гетероциклоалкил" означает циклоалкил, определение которому дано выше в пункте "алкил", в котором один

или несколько атомов углерода замещаются гетероатомами и в котором минимум один гетероатом представляет собой атом азота. Подходящие гетероатомы, которые выбираются независимым образом, в дополнение к азоту, включают, помимо прочего, атомы кислорода и серы. N-содержащий гетероциклоалкил является опционально замещенным. Примеры N-содержащих гетероциклоалкильных фрагментов включают, помимо прочего, морфолинил, пиперидинил, пирролидинил, имидазолидинил, оксазолидинил или тиазолидинил.

[0031] В контексте настоящего документа термин “опционально замещенный”, используемый для описания радикального фрагмента (например, опционально замещенный арилен, опционально замещенный гетероарил, опционально замещенный арил, опционально замещенный гетероарил, опционально замещенный алкил и опционально замещенный арилалкил), означает, что такой фрагмент опционально связан с одним или несколькими заместителями на любом замещаемом атоме в этом фрагменте. Примеры таких заместителей включают, помимо прочего, гало, циано, нитро, галоалкил, азидо, эпокси, опционально замещенный гетероарил, опционально замещенный

гетероциклоалкил, $-\text{OR}^A$, $-\text{SR}^A$, $-\text{NR}^A\text{R}^B$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^A$, $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^A$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^A\text{R}^B$,

$-\text{NRC}(=\text{O})\text{R}^A$, $-\text{N}=\text{NR}^A\text{R}^B$, $-\text{NRC}=\text{NR}^A\text{R}^B$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}^A$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^A$, R^AN , O

или S , где R^A , R^B и R^C представляет собой независимо в каждом случае представляет собой атом водорода, алкил, алкенил, алкинил, арил, алкиларил, арилалкил, гетероалкил, гетероарил или гетероциклоалкил или R^A и R^B , вместе с атомами, с которыми они связываются, образуют насыщенное или ненасыщенное гетероциклическое кольцо (т.е. гетероциклоалкил или гетероарил), где кольцо является опционально замещенным и где, в дополнение к атому азота кольца, один или несколько атомов кольца опционально являются гетероатомом, независимым образом выбранным из азота, кислорода, серы и фосфора. В некоторых вариантах осуществления, когда радикальный фрагмент опционально замещается опционально замещенным гетероарилом, опционально замещенным гетероциклоалкилом или опционально замещенным насыщенным или ненасыщенным гетероциклическим кольцом (гетероциклоалкилом или гетероарилом), заместители на опционально замещенном гетероариле, опционально замещенном гетероциклоалкиле или опционально замещенном насыщенном или ненасыщенном гетероциклическом кольце (гетероциклоалкиле или гетероариле), если они являются

замещенными, не замещаются заместителями, которые далее опционально замещаются дополнительными заместителями. В некоторых вариантах осуществления, где описанная здесь группа является опционально замещенной, заместитель, связанный с этой группой, является незамещенным, если не указано иное, т.е. опционально замещенный арилен в качестве заместителя далее не замещается замещенным ариленом.

[0032] В контексте настоящего документа “связующий агент” означает любую молекулу на основе белка или пептида, способную связываться со специфичностью с указанным партнером по связыванию. В некоторых вариантах осуществления связующим агентом является антитело или его антиген-связывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления связующий агент не является альбумином.

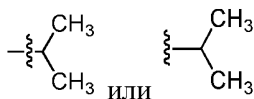
[0033] В контексте настоящего документа термин “условия синтеза амида” означает условия реакции, подходящие для содействия образованию амида, например, посредством реакции карбоновой кислоты, активированной карбоновой кислоты или ацилгалоида с амином. В некоторых вариантах осуществления “условия синтеза амида” означают условия реакции, подходящие для образования амидной связи между карбоновой кислотой и амином. В некоторых из этих вариантов осуществления карбоновая кислота сначала преобразуется в активированную карбоновую кислоту, прежде чем активированная карбоновая кислота вступает в реакцию с амином, в результате чего образуется амид. Подходящие условия для образования амида включают, помимо прочего, условия, при которых применяются реактивы для содействия реакции между карбоновой кислотой и амином, включая, помимо прочего, дициклогексилкарбодиимид (DCC), диизопропилкарбодиимид (DIC), (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат (BOP), (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyBOP), (7-азабензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyAOP), бромтрипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyBrOP), O-(бензотриазол-1-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-оксида гексафторфосфат (HATU), 2-этокси-1-этоксикарбонил-1,2-дигидрохинолин (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 вариантах осуществления карбоновая кислота сначала преобразуется в активированный эфир карбоновой кислоты перед реакцией с

амином, в результате чего образуется амидная связь. В определенных вариантах осуществления карбоновая кислота вступает в реакцию с реактивом. Этот реактив активирует карбоновую кислоту посредством депротонизации карбоновой кислоты и последующего образования комплекса продукта с депротонированной карбоновой кислотой в результате нуклеофильной атаки депротонированной карбоновой кислоты на протонированный реактив. Для определенных карбоновых кислот такой активированный эфир в последующем является более восприимчивым к нуклеофильной атаке амином по сравнению с карбоновой кислотой до ее преобразования. Это приводит к образованию амидной связи. В связи с этим карбоновая кислота описывается как активированная. Примерами реактивов являются DCC и DIC.

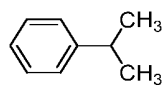
[0034] В контексте настоящего документа “терапевтически эффективное количество” означает количество (соединения), которое является достаточным для оказания терапевтического воздействия на пациента при лечении или контроле заболевания или нарушения либо откладывания или уменьшения одного или нескольких симптомов, ассоциируемых с этим заболеванием или нарушением.

[0035] В контексте настоящего документа "фармацевтически приемлемая соль" означает любую соль, подходящую для введения пациенту. Подходящие соли включают, помимо прочего, соли, описанные в работе Berge *et al.*, "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66:1, содержание которой включается в настоящий документ посредством ссылки. Примеры солей включают, помимо прочего, соли, полученные от кислот, соли, полученные от оснований, органические, неорганические соли, соли амина и соли щелочных и щелочно-земельных металлов, включая, помимо прочего, кальциевые соли, магниевые соли, калиевые соли, натриевые соли, соли соляной кислоты, бромистоводородной кислоты, серной кислоты, азотной кислоты, фосфорной кислоты, уксусной кислоты, пропионовой кислоты, гликолиевой кислоты, пировиноградной кислоты, щавелевой кислоты, малеиновой кислоты, малоновой кислоты, янтарной кислоты, фумаровой кислоты, винной кислоты, лимонной кислоты, бензойной кислоты, коричной кислоты, миндальной кислоты, метансульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, *p*-толуолсульфоновой кислоты и салициловой кислоты и подобные.

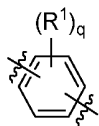
[0036] Определенные группы, фрагменты, заместители и атомы изображаются с волнистой линией, которая пересекает или покрывает связь или связи для указания атома, через который связываются группы, фрагменты, заместители, атомы. Например, фенильная группа, замещаемая пропильной группой, которая изображается следующим образом:



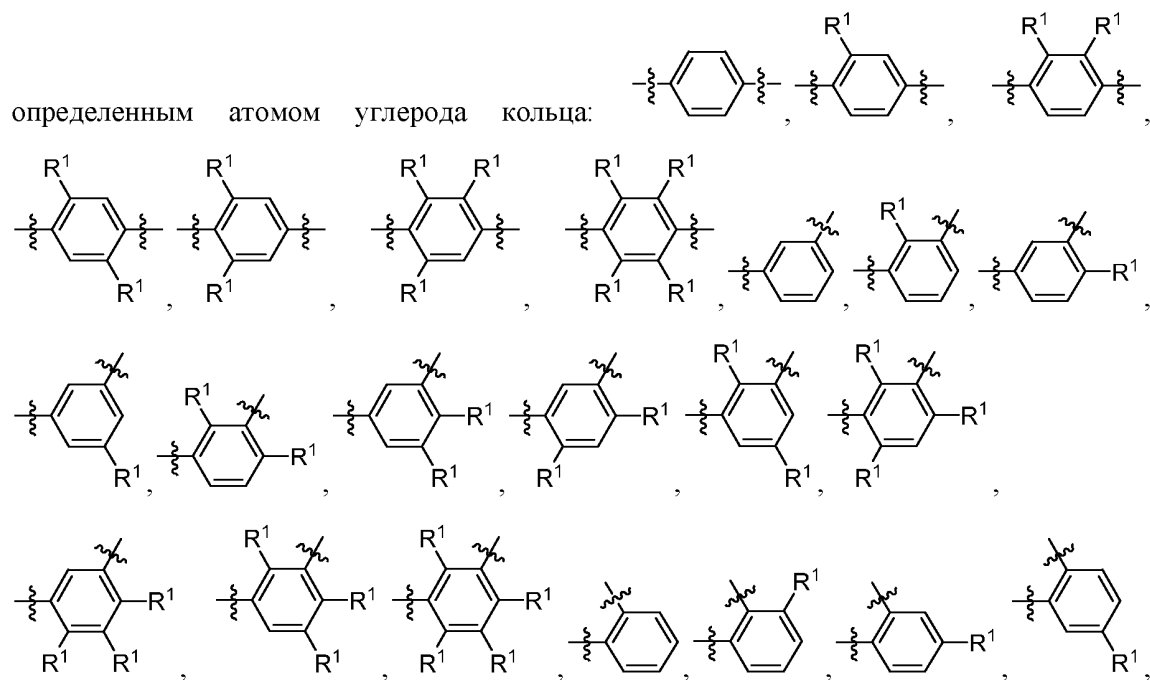
имеет следующую структуру:

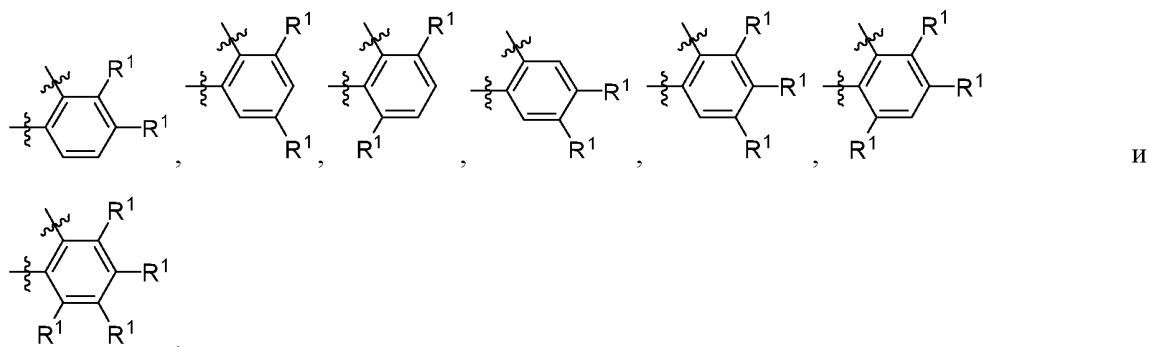


В контексте настоящего документа иллюстрации, изображающие заместителей, связанных с циклической группой (например, ароматическим, гетероароматическим, конденсированным кольцом и насыщенным или ненасыщенным циклоалкилом или гетероциклоалкилом) посредством связи между атомами кольца, показывают, если не указано иное, что эта циклическая группа может быть замещена таким заместителем в любом положении кольца в циклической группе или на любом кольце в группе конденсированного кольца, в соответствии с методами, изложенными в настоящем документе или известными в области, к которой относится данное описание



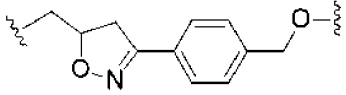
изобретения. Например, группа, в которой нижний индекс q представляет собой целое число, выбранное из 0 представляет собой 4, включительно, и в которой позиции заместителя R^1 описываются в общем, т.е. без прямого присоединения к любой вершине линейной структуры связи, т.е. определенному атому углерода кольца, включает следующие неограничивающие примеры групп, в которых заместитель R^1 связан с





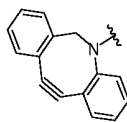
[0037] В случаях, когда название и структура соединения конфликтуют или являются несовместимыми, структура имеет преимущественное значение, за исключением случаев, когда контекст, например, характеристизационные данные ЯМР, может указывать на иное.

[0038] В контексте настоящего документа фраза "реактивная группа" ("RG") означает функциональную группу или фрагмент, которые вступают в реакцию с реактивной частью антитела, модифицированного антитела или его антиген-связывающим фрагментом. В определенных вариантах осуществления "реактивная группа" представляет собой это функциональная группа или фрагмент (, например, малеимид или эфир NHS), которые вступают в реакцию с цистеиновым или лизиновым остатком антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В определенных вариантах осуществления "реактивная группа" представляет собой это функциональная группа или фрагмент, способные вступать в реакцию клик-химии. В некоторых вариантах осуществления указанной реакции клик-химии реактивная группа содержит алкин, который способен вступать в реакцию 1,3 циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реактивные группы включают, помимо прочего, напряженные алкины, например, те, которые подходят для промотированных напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкины, например, циклооктины, бензаннелированные алкины и алкины, способные вступать в реакции 1,3 циклоприсоединения с азидами в отсутствие катализаторов на основе меди. Подходящие алкины также включают, помимо прочего, DIBAC (где -C(O)CH₂CH₂C(O)- часть DIBAC фрагмента накрывается L^2), DIBO (где -O- часть DIBO

фрагмента накрывается L^2), BARAC (где  часть BARAC фрагмента накрывается L^2), DIFO (где -O- часть накрывается L^2), замещенные алкины, например, фторированные алкины, аза-циклоалкины, BCN и их производные. Линкер-нагрузки, содержащие такие реактивные группы, полезны для конъюгирования антител,

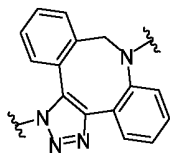
которые были функционализированы с азидогруппами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные с азидо-полиэтиленгликольными группами. В определенных вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают посредством реакции антитела, содержащего минимум один глутаминовый остаток, например, тяжелую цепь Q295 (номенклатура EU), и соединения в соответствии с Формулой $H_2N-LL-N_3$, где LL представляет собой двухвалентная полиэтиленгликольная группа, в присутствии фермента транслутаминазы.

[0039] В некоторых вариантах осуществления реактивная группа (**RG**)

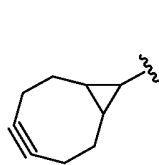


представляет собой алкин, например,

посредством клик-химии с азидом, например, $N=N=N$, в результате чего образуется

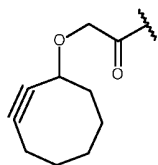


продукт клик-химии, например, его региоизомер или их смесь. В некоторых вариантах осуществления реактивная группа представляет собой алкин,



например,

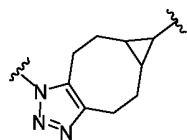
или



(где L^2 охватывает

$-OCH_2C(O)-$), который может вступать в реакцию посредством клик-химии с азидом,

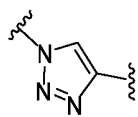
например, $N=N=N$ в результате чего образуется продукт клик-химии, например,



. В некоторых вариантах осуществления реактивная группа представляет

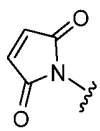
собой алкин, например, CH , который может вступать в реакцию посредством клик-

химии с азидом, например, $N=N=N$, в результате чего образуется продукт клик-химии,

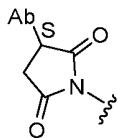


например, его региоизомер или их смесь. В некоторых вариантах

осуществления реактивная группа представляет собой функциональная группа, например,

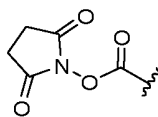


, которая вступает в реакцию с цистеиновым остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте, в результате чего образуется связь с ним, например,

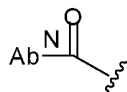


, где Ab означает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, а S означает S атом на цистеиновом остатке, через который функциональная группа связывается с Ab.

В некоторых вариантах осуществления реактивная группа представляет собой

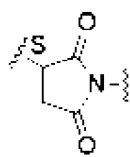


функциональная группа, например, , которая вступает в реакцию с лизиновым остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте, в результате

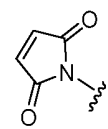


чего образуется связь с ним, например, , где Ab означает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, а N означает N атом на лизиновом остатке, через который функциональная группа связывается с Ab.

[0040] В контексте настоящего документа фраза “остаток реактивной группы” (**-L¹**) означает продукт реакции функциональной группы в линкерном фрагменте с реактивной частью связующего агента (**BA**), включая продукт клик-химии. Остаток реактивной группы образуется посредством реакции реактивной группы на аминокислоту связующего агента и присоединяется к связующему агенту (например, антителу) и к соединительному линкеру. В некоторых вариантах осуществления остаток реактивной группы представляет собой группа, которая содержит 1,2,3-тетразол, т.е. образуется посредством реакции алкина с азидом. В некоторых вариантах осуществления остаток реактивной группы

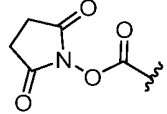


представляет собой (a), где S означает S атом на цистеиновом остатке, через

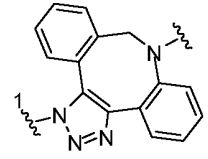


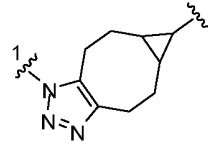
который (a) связывается с Ab, и который образуется посредством реакции с цистеиновым остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте. В некоторых

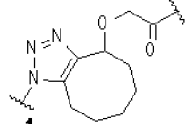
вариантах осуществления остаток реактивной группы , где N означает N атом на лизиновом остатке и который образуется посредством реакции функциональной группы,

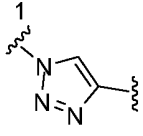
например, , с лизиновым остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте.

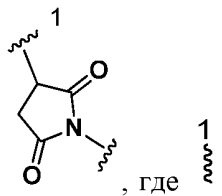
[0041] В некоторых вариантах осуществления линкер -L- содержит и L^1 представляет собой остаток реактивной группы в соответствии со следующим

фрагментом: , его региоизомер или их смесь, где  представляет собой связь со связующим агентом. В некоторых вариантах осуществления линкер -L- содержит и L^1 представляет собой остаток реактивной группы в соответствии со следующим

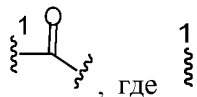
фрагментом: , его региоизомер или их смесь, где  представляет собой связь со связующим агентом. В некоторых вариантах осуществления линкер -L- содержит и L^1 представляет собой остаток реактивной группы в соответствии со следующим

фрагментом:  где -OCH₂C(O)- охватывается L^2 , его региоизомером или их смесью, где  представляет собой связь со связующим агентом. В некоторых вариантах осуществления линкер -L- содержит и L^1 представляет собой остаток реактивной группы

в соответствии со следующим фрагментом: , его региоизомер или их смесь, где  представляет собой связь со связующим агентом. В некоторых вариантах осуществления линкер -L- содержит и L^1 представляет собой остаток реактивной группы



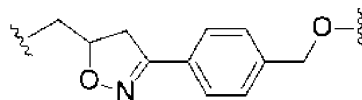
в соответствии со следующим фрагментом: , где $\sim$ представляет собой связь с цистеином антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкер **-L-** содержит и **L¹** представляет собой остаток реактивной группы



в соответствии со следующим фрагментом: , где $\sim$ представляет собой связь с лизином антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В этих примерах связь со связующим агентом прямая или посредством линкера. В конкретных вариантах осуществления связующий агент модифицируется азидом для содействия связи с линкером **-L-** или **L¹**, в результате чего образуется остаток реактивной группы.

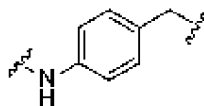
[0042] В контексте настоящего документа “соединительный линкер” (**L²**) означает двухвалентные группы, которые являются расщепляемыми или нерасщепляемыми. Расщепляемые линкеры представляет собой линкеры, которые расщепляются посредством внутриклеточного метаболизма после интернализации, например, расщепления через гидролиз, восстановления или ферментной реакции. Нерасщепляемые линкеры представляет собой линкеры, которые высвобождают присоединенную нагрузку через лизосомную деградацию антитела после интернализации. Подходящие соединительные линкеры включают, помимо прочего, кислотолабильные линкеры, гидролизлабильные линкеры, расщепляемые под воздействием ферментов линкеры, редукционно-лабильные линкеры и нерасщепляемые линкеры. Подходящие линкеры также включают, помимо прочего, линкеры, которые представляют собой или содержат глюкурониды, сукцинимид-тиоэфиры, полиэтиленгликольные (PEG) звенья, гидразоны, мал-капроильные звенья, дисульфидные звенья (например, $-S-S-$, $-S-C(R^{1b}R^{2b})-$, где R^{1b} и R^{2b} представляет собой независимо водород или гидрокарбил), карбаматные звенья, пара-амино-бензильные звенья (РАВ), фосфатные звенья, например, моно-, бис- или трис-фосфатные звенья и пептидные звенья, например, пептидные звенья, содержащие два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или более аминокислотных остатков, включая, помимо прочего, звенья остатка валин-цитруллина. В контексте настоящего документа “капроил” означает $-(CH_2)_5-C(O)-$ группу. В некоторых вариантах осуществления **L²** содержит циклодекстрин

(CD). В некоторых вариантах осуществления L^2 содержит $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$,



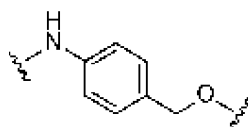
$-C(O)CH_2CH_2CH_2C(O)-$, $-OCH_2C(O)-$, $-O-$ или

[0043] В контексте настоящего документа “саморасщепляющийся линкер” в (L^3) означает любую такую группу, известную специалистам в данной области. В конкретных вариантах осуществления саморасщепляющаяся группа представляет собой



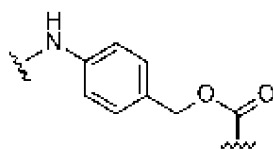
p-аминобензил (PAB), т.е.

или его производное. Полезные производные



включают *p*-аминобензилокси, т.е.

, и *p*-аминобензилоксикарбонил



(PABC), т.е.

. Специалистам в данной области известно, что

саморасщепляющаяся группа способна к проведению химической реакции, в ходе которой высвобождаются оставшиеся атомы линкера от нагрузки.

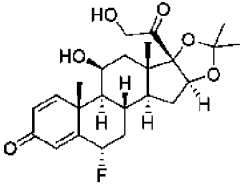
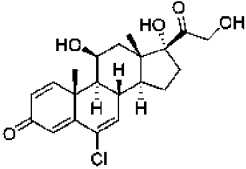
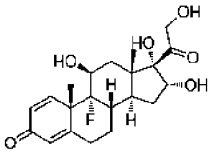
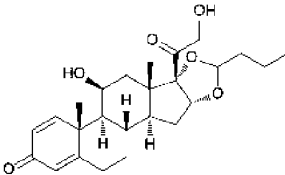
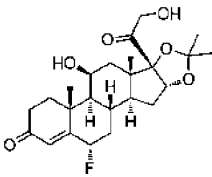
В. СТЕРОИДНЫЕ НАГРУЗКИ

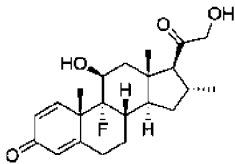
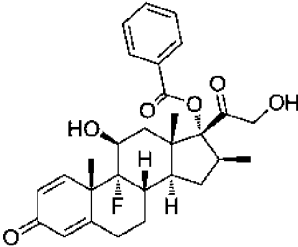
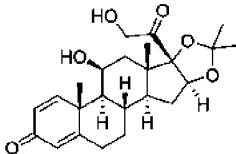
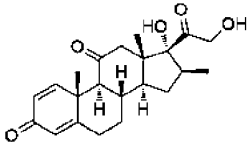
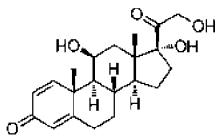
[0044] Стероиды, подходящие для описанных здесь конъюгатов, включают будесонид и его пролекарства, аналоги или производные будесонида (включая фторированные аналоги и производные) и их пролекарства, и стероиды, указанные в Таблице А, и их пролекарства. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты антитело-лекарственное средство высвобождают будесонид, пролекарство будесонида, аналог или производное будесонида (включая фторированные аналоги и производные), пролекарство аналога или производного будесонида (включая фторированные аналоги и производные), стероид в Таблице А или пролекарство стероида в Таблице А после связывания с целевым антигеном антитела. В Таблице А следующие соединения соединяются с ВА Соединения Формулы (III), Формулы (III-P), Формулы III-P-1 или (3000) через гидроксид $-C(O)CH_2OH$ группы, т.е. посредством $-C(O)CH_2-O-SP-L-$, или через гидроксид Мапракората, т.е. посредством $-O-SP-L-$; или связываются с RG Соединения Формулы (II), Формулы (II-P), Формулы II-P-1 или (2000) через гидроксид -

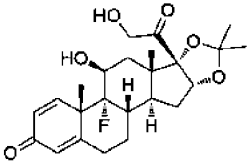
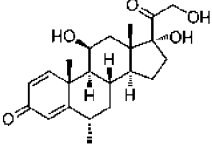
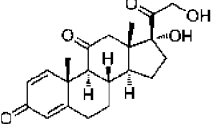
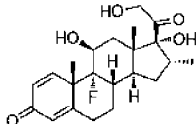
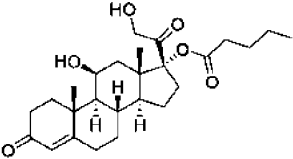
C(O)CH₂OH группы, т.е. посредством -C(O)CH₂-O-SP-(L³)₀₋₁-L²- или через гидроксимапракората, т.е. посредством -O-SP-(L³)₀₋₁-L²-.

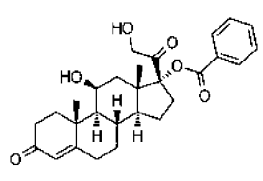
Таблица А.

Торговое название	Структура
Гидрокортизона бутират Locoid®	
Галометазон Sicorten®/ (C-48401-Ba)	
Бетаметазон Celestone®/Rinderon®/Diprosone® (NSC-39470; Sch-4831)	
Флуклоролон ацетонид Cutanit®/Topicon® (RS-2252)	
Флуоцинолон ацетонид Flucort®/Fluonid®/Iluvien®/Retisert®/Synalar®/Synalar-HP®/Synemol® (NSC-92339; DF-277)	

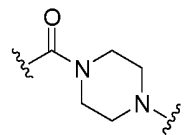
Торговое название	Структура
Флунизолит (RS-3999; RS-1320)	
Клопреднол (RS-4691)	
Триамцинолон Aristocort®/Kenacort®	
Будесонид	
Флурандренолит Cordran®	

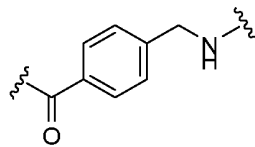
Торговое название	Структура
Дезоксиметазон Topicort® (DSXS)	
Бетаметазон бензоат Uticort® (W-5975)	
Дезонид Desonate® (D-2083)	
Мепреднизон (NSC-527579; Sch-4358)	
Преднизолон Delta-Cortef® (NCS-9120)	

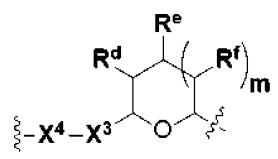
Торговое название	Структура
Триамцинолон ацетонид	
Метилпреднизолон Depo-Medrol; Medrol; Urbason® (NSC-19987)	
Преднизон Decortin®/Deltasone®/Lodotra®/Meticorten®/Rayos® (NSC-10023)	
Дексаметазон Decadron® (FT-4145; ENV-1105; IBI-10090; ISV-305; OTO-104)	
Гидрокортизон валерат Westcort®	
Мапракорат (BOL-242X; BOL-303242-X; ZK-245186; BAY-865319; BOL-303242-X)	

Торговое название	Структура
Бензодрокортизон	

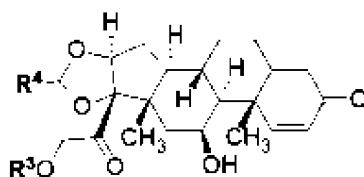
[0045] В некоторых или любых вариантах осуществления Соединение Формулы (3000) или Формулы (2000) содержит пролекарство стероида в Таблице А, где **SP** представляет собой $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен}-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{алкил})-\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен}-\text{X}^{1b}-$, где X^{1b} присоединен к **L** в Формуле (3000) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{H})-(\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен})-\text{X}^{1b}-$, где X^{1b} присоединен к **L** в Формуле (3000) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле

(2000),  где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет собой к **L** в Формуле (3000) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), $-\text{CH}_2-\text{NH}-$, где N

присоединяется к **L** в Формуле (3000) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (2000),  где N присоединяется к **L** в Формуле (3000) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), $-(\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен})-\text{NR}^{50}\text{C}(\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен})-\text{NR}^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (3000) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), $-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен})-\text{NR}^{50}\text{C}(\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен})-\text{NR}^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (3000) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (2000) и где в каждом случае $\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен}$ независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси, $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^5)-(\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен})-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{X}^2-$, где X^2 присоединяется

к **L** в Формуле (3000) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), или , где X^4 присоединяется к **L** в Формуле (3000) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (2000).

[0046] В некоторых вариантах осуществления Соединение в соответствии с Формулой (I-P):

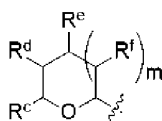


(I-P);

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,

где:

R^4 представляет собой алкил, арил, ариалкил или N-содержащий гетероциклоалкил;



R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$ или ;

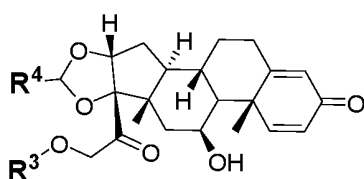
R^Z представляет собой $-C_{4-10}$ -алкилен- $C(O)OH$ или $NR^{15}R^{15a}$;

R^{15} представляет собой H или алкил и R^{15a} представляет собой $-(C_{1-6}$ -алкилен)- $C(O)NHNH_2$;

один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой $-CH_2OR^g$, а другие представляют собой независимо -H, -OH, гидроксиалкил, $-C(O)OH$ или $-CH_2OR^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-(C_{1-6}$ -алкилен)- $C(O)OH$ или $-(C_{1-6}$ -алкилен)- $C(O)O$ (алкил); или один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой гидроксиалкил, а другие представляют собой -H; и

m представляет собой 0 или 1.

[0047] В некоторых вариантах осуществления Соединение в соответствии с Формулой (I-P-1):

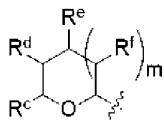


(I-P-1);

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,

где:

R^4 представляет собой алкил, арил, ариалкил или N-содержащий гетероциклоалкил;



R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$ или

R^Z is $-C_{4-10}$ -алкилен- $C(O)OH$ или NR^{5a} ;

R^{15} представляет собой H или алкил и R^{15a} представляет собой $-(C_{1-6}$ -алкилен)- $C(O)NHNH_2$;

один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой $-CH_2OR^g$, а другие представляют собой независимо $-H$, $-OH$, гидроксиалкил,

$-C(O)OH$ или $-CH_2OR^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-(C_{1-6}$ -алкилен)- $C(O)OH$ или $-(C_{1-6}$ -алкилен)- $C(O)O$ (алкил); или один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой гидроксиалкил, а другие представляют собой $-H$; и

m представляет собой 0 или 1.

[0048] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (I), Формулы (I-P) или Формулы (I-P-1), где R^4 представляет собой алкил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой не циклоалкил. В некоторых из этих вариантов осуществления R^4 представляет собой линейный или разветвленный алкил. В некоторых из этих вариантов осуществления R^4 представляет собой арил. В некоторых из этих вариантов осуществления R^4 представляет собой ариалкил. В некоторых из этих вариантов осуществления R^4 представляет собой N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой алкил, такой как, помимо прочего, метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил или нонил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой n-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой i-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой n-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой i-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой t-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой втор-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой пентил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гексил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гептил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой октил или нонил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой арил, такой как, помимо прочего, фенил, фенол или нафтил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой фенил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой нафтил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гетероарил – такой

как, помимо прочего, тиенил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой арилалкил – такой как, помимо прочего, бензил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой N-содержащий гетероциклоалкил, такой как, помимо прочего, пиперидинил. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) оба R^x представляют собой водород. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) оба R^x представляют собой фтор.

[0049] В некоторых или любых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (I), где оба R^x представляют собой фтор и R^3 представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}R^{50b}$ или $-C(O)R^Z$ и R^Z представляет собой $NR^{16}R^{16a}$ или $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}R^{50b}$, где в каждом случае $C_1-C_{10}\text{-алкилен}$ независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси.

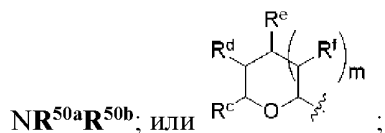
[0050] В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) оба R^x представляют собой водород и R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^Z представляет собой $-C_{4-10}\text{-алкилен}-C(O)OH$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^Z представляет собой $-C_{4-6}\text{-алкилен}-C(O)OH$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^Z представляет собой $-C_4\text{-алкилен}-C(O)OH$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^Z представляет собой $-C_5\text{-алкилен}-C(O)OH$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^Z представляет собой $-C_6\text{-алкилен}-C(O)OH$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^Z представляет собой $NR^{15}R^{15a}$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^{15} is H or $C_{1-3}\text{-алкил}$ и R^{15a} представляет собой $-(C_{1-3}\text{-алкилен})-C(O)NHNH_2$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^{15} представляет собой H или метил и R^{15a} представляет собой $-(C_{1-3}\text{-алкилен})-C(O)NHNH_2$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1), R^{15} представляет собой H и R^{15a} представляет собой $-(C_{1-3}\text{-алкилен})-C(O)NHNH_2$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^{15} представляет собой метил и R^{15a} is $-(C_{1-3}\text{-алкилен})-C(O)NHNH_2$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^{15} представляет собой H и R^{15a} представляет собой $-(C_1\text{-алкилен})-C(O)NHNH_2$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) R^{15} представляет собой метил и R^{15a} is $-(C_1\text{-алкилен})-C(O)NHNH_2$. В некоторых или любых вариантах

осуществления Формулы (I), R^{15} представляет собой H или C_1 - C_6 алкил и R^{15a} представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})\text{-SH}$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), R^{15} представляет собой H или C_1 - C_3 алкил и R^{15a} представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})\text{-SH}$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), R^{15} представляет собой H или CH_3 и R^{15a} представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})\text{-SH}$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) R^Z представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})\text{-NR}^{50}C(O)\text{-(}C_1-C_{10}\text{-алкилен)-NR}^{50a}R^{50b}$, где в каждом случае C_1 - C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) R^Z представляет собой $-(\text{разветвленный } C_1-C_6\text{-алкилен})\text{-NR}^{50}C(O)\text{-(}C_1-C_6\text{-гидрокси-алкилен)-NR}^{50a}R^{50b}$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) R^Z представляет собой $-(\text{разветвленный } C_1-C_6\text{-алкилен})\text{-NR}^{50}C(O)\text{-(}C_1-C_6\text{-алкилен)-NR}^{50a}R^{50b}$.

[0051] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (I), где

а) оба R^x представляют собой водород; и

R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$; $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})\text{-NR}^{50}C(O)\text{-(}C_1-C_{10}\text{-алкилен)-}$

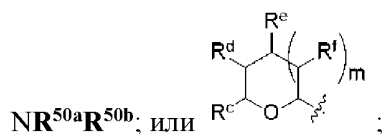


R^Z представляет собой $-C_{4-10}\text{-алкилен-C(O)OH}$; $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})\text{-NR}^{50}C(O)\text{-(}C_1-C_{10}\text{-алкилен)-NR}^{50a}R^{50b}$, где в каждом случае C_1 - C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси; или $NR^{15}R^{15a}$;

R^{15} is H or C_1 - C_6 алкил и R^{15a} представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})\text{-SH}$ или $-(C_1-C_6\text{-алкилен})\text{-C(O)NHNH}_2$; или

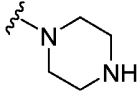
б) оба R^x представляют собой фтор; и

R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$; $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})\text{-NR}^{50}C(O)\text{-(}C_1-C_{10}\text{-алкилен)-}$



R^Z представляет собой $-C_{4-10}\text{-алкилен-C(O)OH}$; $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})\text{-NR}^{50}C(O)\text{-(}C_1-C_{10}\text{-алкилен)-NR}^{50a}R^{50b}$, где в каждом случае C_1 - C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси; или $NR^{16}R^{16a}$;

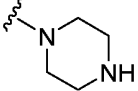
R¹⁶ представляет собой H или C₁-C₆алкил и **R^{16a}** представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-

SH, -(C₁-C₁₀-алкилен)-NH₂, -(C₁-C₁₀-алкилен)-NH(C₁₋₆алкил), , или -(C₁₋₆-алкилен)-C(O)NHNH₂; и

в каждом случае **R⁵⁰**, **R^{50a}** и **R^{50b}** представляет собой независимо водород или C₁-C₆-алкил; один из **R^c**, **R^d**, **R^e** и **R^f** представляет собой -CH₂OR^g, а другие представляет собой независимо -H, -OH, гидроксиалкил, -C(O)OH или -CH₂OR^g, где в каждом случае **R^g** представляет собой независимо -(C₁₋₆-алкилен)-C(O)OH или -(C₁₋₆-алкилен)-C(O)O(алкил); или один из **R^c**, **R^d**, **R^e** и **R^f** представляет собой гидроксиалкил, а другие представляет собой -H; и

m представляет собой 0 или 1.

[0052] В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) оба **R^x** представляют собой фтор и **R³** представляет собой -C(O)**R^Z**. В некоторых или любых вариантах

осуществления **R^Z** представляет собой . В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R^Z** представляет собой -C₄₋₁₀-алкилен-C(O)OH. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R^Z** представляет собой -C₄₋₆-алкилен-C(O)OH. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R^Z** представляет собой -C₄-алкилен-C(O)OH. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R^Z** представляет собой -C₃-алкилен-C(O)OH. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R^Z** представляет собой -C₆-алкилен-C(O)OH. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R^Z** представляет собой NR¹⁶R^{16a}. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R¹⁶** представляет собой H или C₁₋₃-алкил и **R^{16a}** представляет собой -(C₁₋₃-алкилен)-C(O)NHNH₂. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R¹⁶** представляет собой H или метил и **R^{16a}** представляет собой -(C₁₋₃-алкилен)-C(O)NHNH₂. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R¹⁶** представляет собой H и **R^{16a}** представляет собой -(C₁₋₃-алкилен)-C(O)NHNH₂. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R¹⁶** представляет собой метил и **R^{16a}** представляет собой -(C₁₋₃-алкилен)-C(O)NHNH₂. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R¹⁶** представляет собой H и **R^{16a}** представляет собой -(C₁-алкилен)-C(O)NHNH₂. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R¹⁶** представляет собой метил и **R^{16a}** представляет собой -(C₁-алкилен)-C(O)NHNH₂. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R¹⁶** представляет собой H или C₁-C₆алкил и **R^{16a}** -

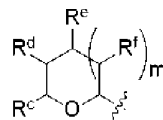
-(C₁-C₁₀-алкилен)-SH. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**¹⁶ представляет собой H или C₁-C₃алкил и **R**^{16a} представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-SH. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**¹⁶ представляет собой H или CH₃ и **R**^{16a} представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-SH. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**¹⁶ представляет собой H или C₁-C₆алкил и **R**^{16a} представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-NH₂. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**¹⁶ представляет собой H или C₁-C₃алкил и **R**^{16a} представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-NH₂. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**¹⁶ представляет собой H или CH₃ и **R**^{16a} представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-NH₂. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**¹⁶ представляет собой H или C₁-C₆алкил и **R**^{16a} представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-NH(C₁₋₆алкил). В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**¹⁶ представляет собой H или C₁-C₃алкил и **R**^{16a} представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-NH(C₁₋₆алкил). В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**¹⁶ представляет собой H или CH₃ и **R**^{16a} представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-NH(C₁₋₆алкил). В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**^Z представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}, где в каждом случае C₁-C₁₀-алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**^Z представляет собой -(разветвленный C₁-C₆-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₆-гидрокси-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) **R**^Z представляет собой -(разветвленный C₁-C₆-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₆-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}.

[0053] В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) оба **R**^x представляют собой водород и **R**³ представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) **R**³ представляет собой -(C₁-C₆-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₆-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) **R**³ представляет собой -(C₁-C₃-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₃-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) **R**³ представляет собой -(линейный C₁-C₃-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(линейный C₁-C₃-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}.

[0054] В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) оба **R**^x представляют собой фтор и **R**³ представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), **R**³ представляет собой -(C₁-C₆-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₆-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}. В некоторых

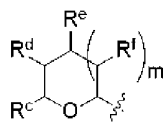
или любых вариантах осуществления Формулы (I), R^3 представляет собой $-(C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50a}R^{50b}$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I) R^3 представляет собой $-(\text{линейный } C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(\text{линейный } C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50a}R^{50b}$.

[0055] В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) оба R^x



представляют собой водород и R^3 is R^c . В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) m представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) m представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) m представляет собой 1 и R^f представляет собой $-H$ или $-OH$. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) m представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) m представляет собой 1 и один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой $-CH_2OR^g$, а другие представляют собой независимо $-H$, $-OH$, гидроксиалкил, $-C(O)OH$ или $-CH_2OR^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-(C_{1-6}\text{-алкилен})-C(O)OH$ или $-(C_{1-6}\text{-алкилен})-C(O)O(\text{алкил})$. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) m представляет собой 1 и R^c представляет собой $-CH_2OR^g$, а другие представляют собой независимо $-H$, $-OH$ или гидроксиалкил. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) m представляет собой 1 и один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой гидроксиалкил, а другие $-H$. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I), (I-P) или (I-P-1) m представляет собой 1 и R^c представляет собой гидроксиалкил и R^d , R^e и R^f представляет собой $-H$.

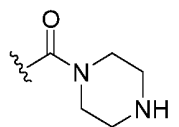
[0056] В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) оба R^x представляют



собой фтор и R^3 представляет собой R^c . В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) m представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) m представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) m представляет собой 1 и R^f представляет собой $-H$ или $-OH$. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) m представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) m представляет собой 1 и один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой $-CH_2OR^g$, а другие представляют собой независимо $-H$, $-OH$,

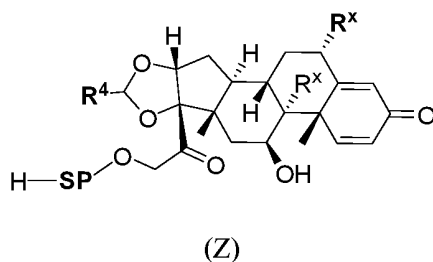
гидроксиалкил, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ или $-\text{CH}_2\text{OR}^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-(\text{C}_{1-6}\text{-алкилен})-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ или $-(\text{C}_{1-6}\text{-алкилен})-\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{алкил})$. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) m представляет собой 1 и R^c представляет собой $-\text{CH}_2\text{OR}^g$, а другие представляет собой независимо $-\text{H}$, $-\text{OH}$ или гидроксиалкил. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) m представляет собой 1 и один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой гидроксиалкил, а другие представляет собой $-\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) m представляет собой 1 и R^c представляет собой гидроксиалкил и R^d , R^e и R^f представляет собой $-\text{H}$.

[0057] В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) оба R^x представляют



собой фтор и R^3 представляет собой

[0058] В некоторых или любых вариантах осуществления Соединение с Формулой (Z):

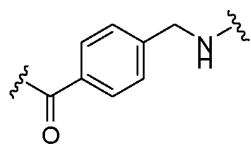


где

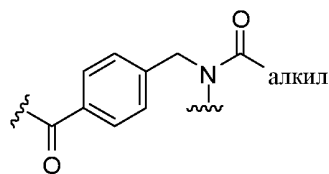
R^4 представляет собой алкил, арил, ариалкил или N-содержащий гетероциклоалкил;

оба R^x представляют собой водород или оба R^x представляют собой фтор; и

SP представляет собой $-\text{CH}_2\text{NH}-$, где NH соединяется с H или SP представляет собой

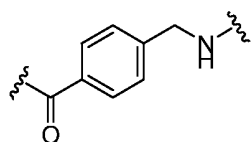


, где NH от SP соединяется с H в Формуле (Z), или SP представляет

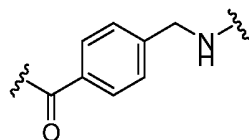


собой , где N от SP соединяется с H в Формуле (Z). В некоторых или любых вариантах осуществления оба R^x представляют собой водород. В некоторых или любых вариантах осуществления оба R^x представляют собой фтор. В некоторых или

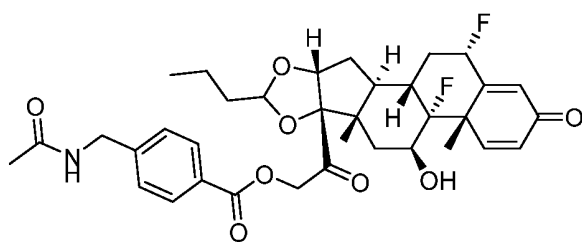
любых вариантах осуществления R^4 представляет собой алкил. В некоторых из этих вариантов осуществления R^4 представляет собой линейный алкил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой алкил, такой как, помимо прочего, метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил или нонил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^4 -n-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой i-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой n-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой i-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой t-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой втор-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой пентил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гексил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гептил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой октил или нонил. В некоторых или любых вариантах осуществления SP представляет собой $-CH_2NH-$, где NH соединяется с Н. В некоторых или любых вариантах осуществления SP представляет собой



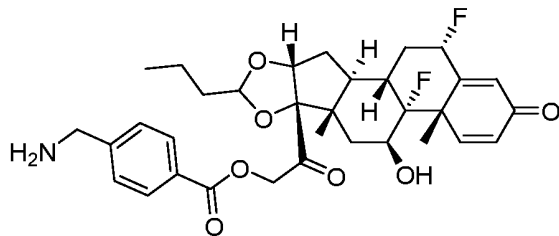
, где NH соединяется с Н в Формуле (Z). В некоторых или любых вариантах осуществления R^4 представляет собой алкил, оба R^x представляют собой фтор и



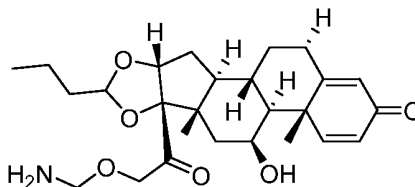
SP представляет собой , где NH соединяется с Н в Формуле (Z). В некоторых вариантах осуществления Соединение Формулы (Z) представляет собой



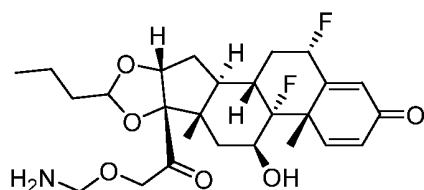
. В некоторых вариантах осуществления Соединение Формулы (Z) представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления



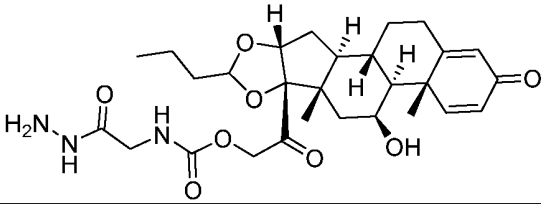
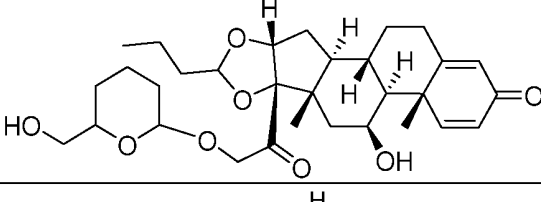
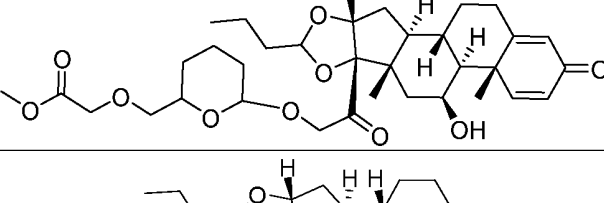
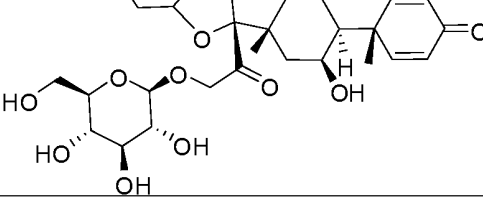
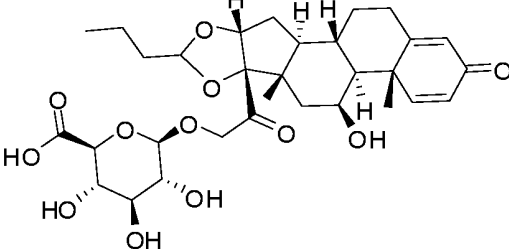
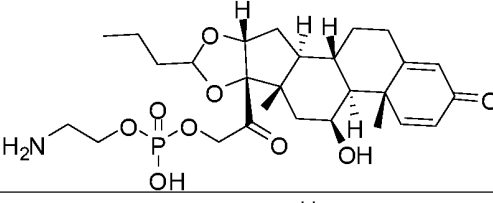
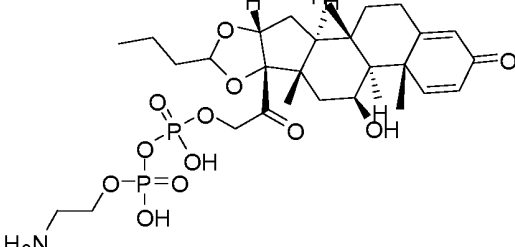
Соединение Формулы (Z) представляет собой . В некоторых вариантах осуществления Соединение Формулы (Z) представляет собой

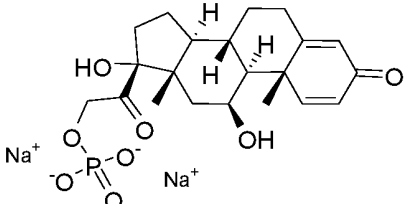
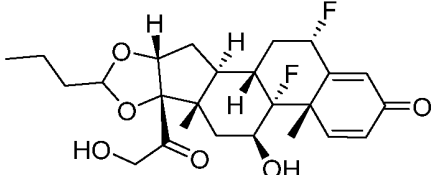
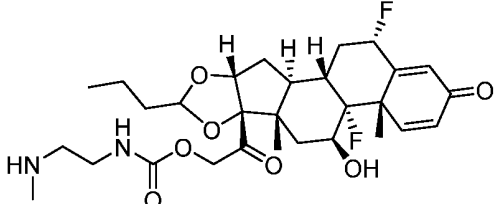
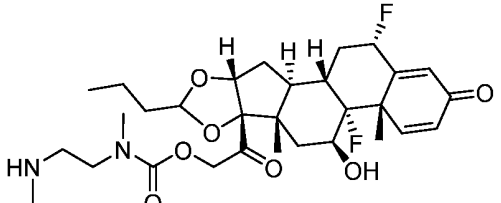
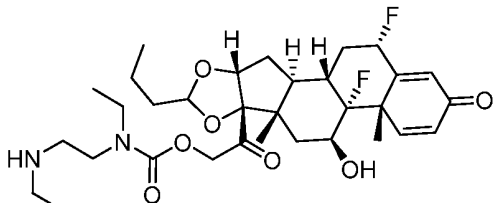
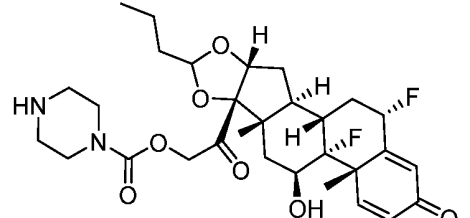
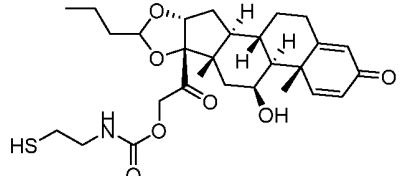
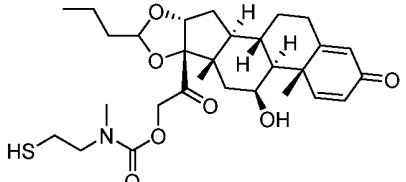


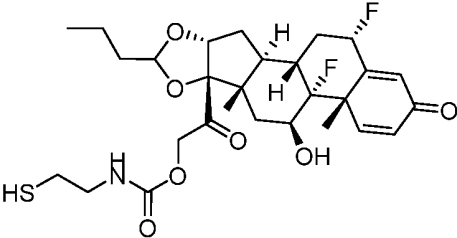
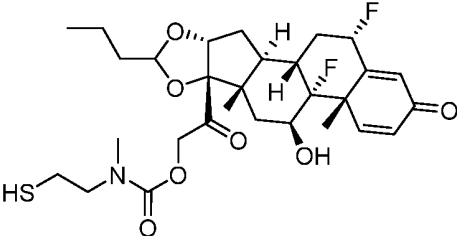
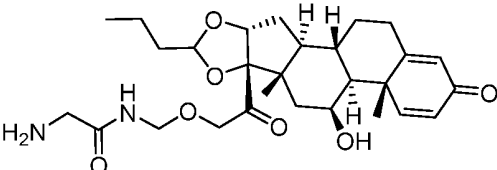
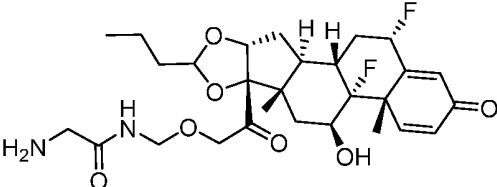
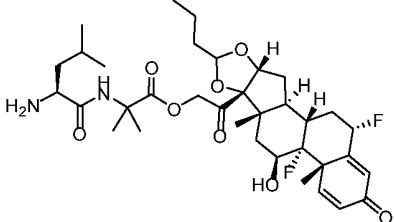
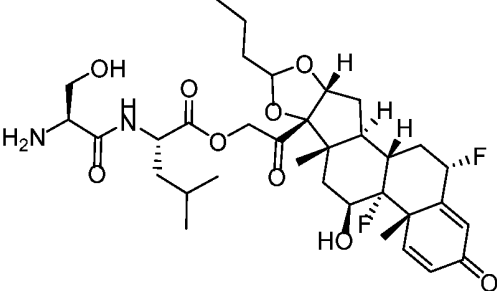
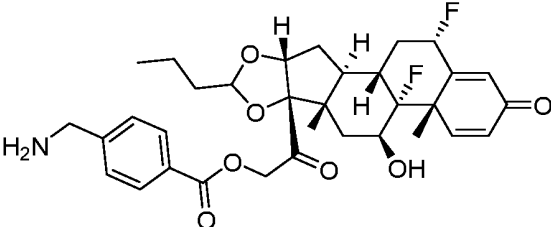
[0059] Подходящие стероиды для описанных здесь конъюгатов включают стероиды в следующей таблице.

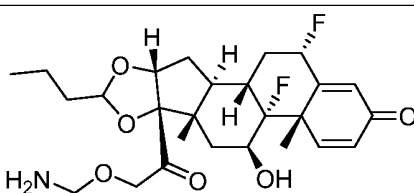
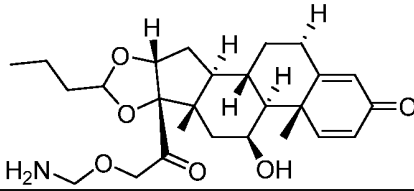
Таблица 1. Будесонид-спейсер (Будесонид-SP)

№ соединения	Структура
1a (Будесонид)	
1c	
1d	

№ соединения	Структура
1e	
1g	
1ч	
1i	
1j	
1k	
1l	

№ соединения	Структура
1m	
100	
101a	
101b	
101c	
101d	
102c	
102d	

№ соединения	Структура
102e	
102f	
103a	
103b	
104a	
104b	
105a	

№ соединения	Структура
106a	
107a	

или стереоизомер или смесь стереоизомеров; и опционально его фармацевтически

приемлемая соль, сольват или стереоизомер. В некоторых случаях n-пропил

в каждой из вышеуказанных структур представляет собой в R-конфигурации, т.е. на

углероде, показанном звездочкой. В некоторых случаях n-пропил

из вышеуказанных структур представляет собой в S-конфигурации, т.е. на углероде,

показанном звездочкой. В некоторых случаях n-пропил

вышеуказанных структур представляет собой смесь R- и S-конфигураций, т.е. на углероде,

показанном звездочкой. В некоторых случаях n-пропил

вышеуказанных структур представляет собой смесь R- и S-конфигураций, т.е. на углероде,

показанном звездочкой, где отношение R:S составляет около 1:1, около 2:1, около 3:1,

около 4:1, около 5:1, около 6:1, около 7:1, около 8:1, около 9:1 или около 10:1.

[0060] В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) представлено соединение формулы **1d**, **1e**, **1g**, **1h**, **101a**, **101b**, **101c**, **101d**, **102c**, **102d**, **102e**, **102f**, **103a**, **103b**, **104a** или **104b**, или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомер. В некоторых вариантах осуществления Формулы (I) представлено соединение формулы **1d**, **1e**, **1g**, или **1h** или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомер. В некоторых вариантах осуществления n-пропил соединений формулы **1d**, **1e**, **1g**, **1h**, **101a**, **101b**, **101c**, **101d**, **102c**, **102d**, **102e**, **102f**, **103a**, **103b**, **104a** и **104b** представляет собой в R-конфигурации. В некоторых вариантах осуществления n-пропил соединений формулы **1d**, **1e**, **1g**, **1h**, **101a**, **101b**, **101c**, **101d**, **102c**, **102d**, **102e**, **102f**, **103a**, **103b**, **104a** и **104b** представляет собой в S-конфигурации. В некоторых вариантах

осуществления n-пропил соединений формулы **1d**, **1e**, **1g**, **1h**, **101a**, **101b**, **101c**, **101d**, **102c**, **102d**, **102e**, **102f**, **103a**, **103b**, **104a** и **104b** представляет собой смесь R- и S-конфигураций. В некоторых вариантах осуществления n-пропил соединений формулы **1d**, **1e**, **1g**, **1h**, **101a**, **101b**, **101c**, **101d**, **102c**, **102d**, **102e**, **102f**, **103a**, **103b**, **104a** и **104b** представляет собой смесь R- и S-конфигураций, где отношение R:S составляет около 1:1, около 2:1, около 3:1, около 4:1, около 5:1, около 6:1, около 7:1, около 8:1, около 9:1 или около 10:1.

[0061] В объем настоящего описания изобретения входят фармацевтически приемлемые соли, сольваты, кристаллические формы, аморфные формы, полиморфные формы, региоизомеры, стереоизомеры, метаболиты и физиологические аддукты описанных здесь стероидных нагрузок.

С. БЕЛКОВЫЕ СТЕРОИДНЫЕ КОНЬЮГАТЫ

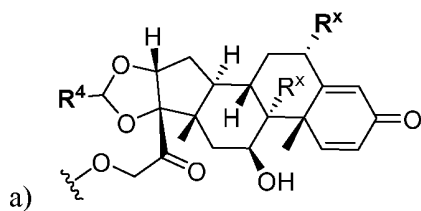
[0062] Здесь представлены белковые конъюгаты описанных здесь стероидов. Такие конъюгаты включают белки, например, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые ковалентно соединены, например, посредством **-L-** и **-L¹-L²-(L³)₀₋₁-**, описанных в настоящем документе, с соединениями, описанными выше в Разделе В.

[0063] В некоторых или любых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (3000):

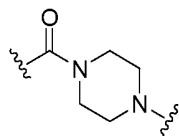


или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное, где

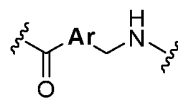
D выбирается из



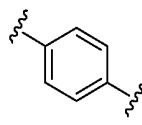
где оба **R^x** в формуле (a) представляет собой водород; **R⁴** представляет собой алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил; и **SP** представляет собой **-C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-**, **-C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-**X¹**-**, где **X¹** присоединяется к **L** в Формуле (3000), **-C(O)-N(H)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-**, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (3000), **-C(O)-N(C₁₋₆алкил)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-**, где



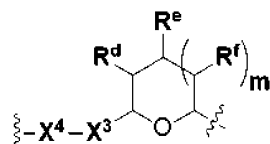
S присоединяется к **L** в Формуле (3000), где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет собой к **L** в Формуле (3000), $-\text{CH}_2\text{-NH}-$,



где N присоединяется к **L** в Формуле (3000), где N присоединяется к **L** в Формуле (3000) и где **Ar** представляет собой опционально замещенный арилен

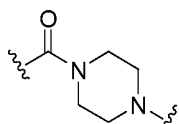


(в некоторых вариантах осуществления) или опционально замещенный гетероарилен, $-(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{-алкилен})\text{-NR}^{50}\text{C(O)}\text{-(C}_1\text{-C}_{10}\text{-алкилен})\text{-NR}^{50\text{a}}-$, где $\text{NR}^{50\text{a}}$ присоединяется к **L** в Формуле (3000), $-\text{C(O)}\text{-(C}_1\text{-C}_{10}\text{-алкилен})\text{-NR}^{50}\text{C(O)}\text{-(C}_1\text{-C}_{10}\text{-алкилен})\text{-NR}^{50\text{a}}-$, где $\text{NR}^{50\text{a}}$ присоединяется к **L** в Формуле (3000) и где в каждом случае $\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{-алкилен}$ независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси, $-\text{C(O)}\text{-N(R}^5\text{)-C}_1\text{-C}_{10}\text{-алкилен-C(O)NH-X}^2-$, где X^2

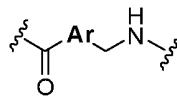


присоединяется к **L** в Формуле (3000) или $-\text{X}^4\text{-X}^3-$ где X^4 присоединяется к **L** в Формуле(3000); или

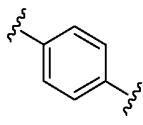
где оба R^x в формуле (a) представляет собой фтор; R^4 представляет собой алкил, арил, ариалкил или N-содержащий гетероциклоалкил; и **SP** представляет собой $-\text{C(O)}\text{-C}_1\text{-C}_{10}\text{-алкилен-C(O)-}$, $-\text{C(O)}\text{-N(C}_{1-6}\text{алкил)-C}_1\text{-C}_{10}\text{-алкилен-X}^{1\text{b}}-$, где $\text{X}^{1\text{b}}$ присоединяется к **L** в Формуле (3000), $-\text{C(O)}\text{-N(H)-(C}_1\text{-C}_{10}\text{-алкилен)-X}^{1\text{b}}-$, где $\text{X}^{1\text{b}}$



присоединяется к **L** в Формуле (3000), где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет собой к **L** в Формуле (3000), $-\text{CH}_2\text{-NH}-$, где

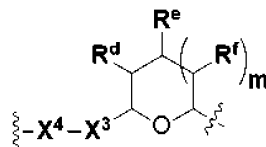


N присоединяется к **L** в Формуле (3000), где N присоединяется к **L** в Формуле (3000) и где **Ar** представляет собой опционально замещенный арилен (в



некоторых вариантах осуществления) или опционально замещенный

гетероарилен, $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (3000), $-C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (3000) и где в каждом случае $C_1-C_{10}\text{-алкилен}$ независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси, $-C(O)-N(R^5)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-C(O)NH-X^2-$, где X^2



присоединяется к **L** в Формуле (3000) или присоединяется к **L** в Формуле (3000); и

- b) соединения в вышеприведенной Таблице А, где соединения в Таблице А соединены с **ВА** Соединения Формулы (3000) через гидрокси $-C(O)CH_2OH$ группы, т.е. посредством $-C(O)CH_2-O-SP-L-$ или через гидрокси Мапракората, т.е. посредством $-O-SP-L-$:

X^1 представляет собой $-N(C_{1-6}\text{алкил})-$;

X^{1b} представляет собой $-S-$, $-NH-$ или $-N(C_{1-6}\text{алкил})-$;

X^2 представляет собой $-NH-$;

X^3 представляет собой $-CH_2-$, X^3 представляет собой $-CH_2-O-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-C(O)-$, где $C(O)$ присоединяется к X^4 или X^3 представляет собой $-C(O)-$;

X^4 представляет собой $-O-$;

R^5 представляет собой H , $-OH$, $-OCH_3$ или $C_{1-6}\text{алкил}$;

R^{50} и R^{50a} представляет собой независимо водород или $C_1-C_6\text{-алкил}$;

R^d , R^e и R^f представляет собой независимо $-H$, $-OH$, гидроксиалкил, алкоксикарбонил, $-C(O)OH$ или $-CH_2OR^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-CH_2C(O)OH$ или $-CH_2C(O)O(\text{алкил})$; и

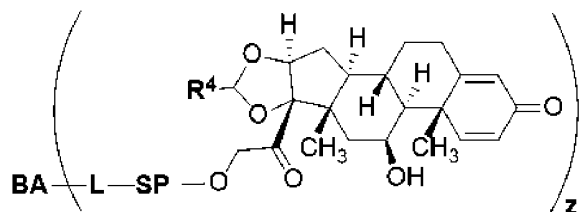
m представляет собой 0 или 1;

z представляет собой целое число, выбранное из 1-30, включительно;

L представляет собой линкер; и

ВА представляет собой связующий агент.

[0064] В некоторых или любых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III-P):



(III-P);

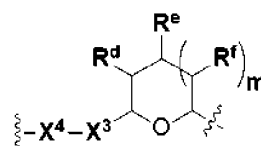
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,

где:

R⁴ представляет собой алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил;

SP представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₃алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-**X¹**-, где **X¹** присоединяется к **L** в Формуле (III), -C(O)-N(**R⁵**)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)NH-

X²-, где **X²** присоединяется к **L** в Формуле (III) или



, где **X⁴**

присоединяется к **L** в Формуле (III);

X¹ представляет собой -N(C₁₋₃алкил)-;

X² представляет собой -NH-;

X³ представляет собой -CH₂-, **X³** представляет собой -CH₂-O-(C₁-C₁₀-алкилен)-C(O)-, где C(O) присоединяется к **X⁴** или **X³** представляет собой -C(O)-;

X⁴ представляет собой -O-;

R⁵ представляет собой H, -OH, -OCH₃ или алкил;

R^d, **R^e** и **R^f** представляет собой независимо -H, -OH, гидроксиалкил, алкоксикарбонил, -C(O)OH или -CH₂OR^g, где в каждом случае **R^g** представляет собой независимо -CH₂C(O)OH или -CH₂C(O)O(алкил); и

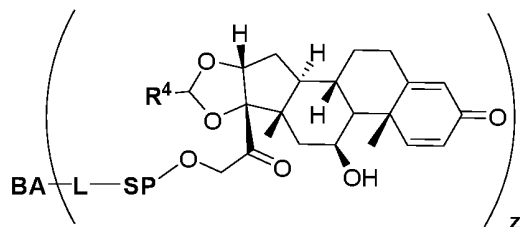
m представляет собой 0 или 1;

z представляет собой целое число, выбранное из 1-30, включительно;

L представляет собой линкер; и

BA представляет собой связующий агент.

[0065] В некоторых или любых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III-P-1):



(III-P-1);

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,

где:

R⁴ представляет собой алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил;

SP представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₃алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-**X¹**-, где **X¹** присоединяется к **L** в Формуле (III), -C(O)-N(**R⁵**)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)NH-

X²-, где **X²** присоединяется к **L** в Формуле (III) или

присоединяется к **L** в Формуле (III);

X¹ представляет собой -N(C₁₋₃алкил)-;

X² представляет собой -NH-;

X³ представляет собой -CH₂-, **X³** представляет собой -CH₂-O-(C₁-C₁₀-алкилен)-C(O)-, где C(O) присоединяется к **X⁴**, или **X³** представляет собой -C(O)-;

X⁴ представляет собой -O-;

R⁵ представляет собой H, -OH, -OCH₃ или алкил;

R^d, **R^e** и **R^f** представляет собой независимо -H, -OH, гидроксиалкил, алкоксикарбонил, -C(O)OH или -CH₂OR^g, где в каждом случае **R^g** представляет собой независимо -CH₂C(O)OH или -CH₂C(O)O(алкил); и

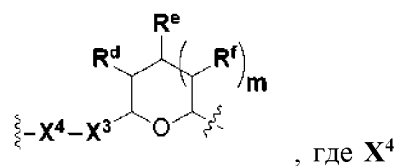
m представляет собой 0 или 1;

z представляет собой целое число, выбранное из 1-30, включительно;

L представляет собой линкер; и

BA представляет собой связующий агент.

[0066] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **R⁴** представляет собой алкил. В некоторых вариантах осуществления **R⁴** представляет собой не циклоалкил. В некоторых из этих вариантов осуществления **R⁴** представляет собой линейный или разветвленный алкил. В некоторых из этих вариантов осуществления **R⁴** представляет собой арил. В некоторых из этих вариантов осуществления **R⁴** представляет собой арилалкил. В некоторых из этих

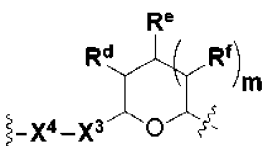


вариантов осуществления R^4 представляет собой N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой алкил, такой как, помимо прочего, метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил или нонил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой n-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой i-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой n-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой i-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой t-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой втор-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой пентил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гексил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гептил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой октил или нонил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой арил, такой как, помимо прочего, фенил, фенол или нафтил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой фенил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой нафтил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гетероарил – такой как, помимо прочего, тиенил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой арилалкил – такой как, помимо прочего, бензил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой N-содержащий гетероциклоалкил, такой как, помимо прочего, пиперидинил. В некоторых или любых вариантах осуществления оба R^x представляют собой водород. В некоторых или любых вариантах осуществления оба R^x представляют собой фтор. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой в R-конфигурации. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой в S-конфигурации. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой смесь R- и S-конфигураций. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой смесь R- и S-конфигураций, где отношение R:S составляет около 1:1, около 2:1, около 3:1, около 4:1, около 5:1, около 6:1, около 7:1, около 8:1, около 9:1 или около 10:1.

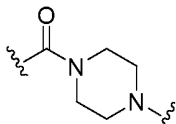
[0067] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), где

оба R^x представляют собой водород; и SP представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен- X^1 -, где X^1 присоединяется к L в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1); -C(O)-N(H)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-, где S присоединяется к L в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1); -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-, где S

присоединяется к **L** в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1); $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-$ $(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1); $-C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1), и где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси; $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}\text{-алкилен}-C(O)NH-X^2-$, где X^2 присоединяется к **L** в Формуле (III),

(III-P) или (III-P-1); или  где X^4 присоединяется к **L** в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1); или

оба R^x представляют собой фтор; и **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-C_1-C_{10}\text{-алкилен}-X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к **L** в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1); $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к **L** в Формуле (III), (III-P) или

(III-P-1);  где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N)

представляет собой к **L** в Формуле (III); $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1); $-C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1) и где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси, или $-C(O)-N(R^5)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-C(O)NH-X^2-$, где X^2 присоединяется к **L** в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1);.

[0068] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой $-C(O)-C_1-C_{10}\text{-алкилен}-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **SP** представляет собой $-C(O)-C_2-C_5\text{-алкилен}-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **SP** представляет собой $-C(O)-CH_2CH_2-C(O)-$.

[0069] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба R^x представляют собой фтор и **SP** представляет собой $-C(O)-C_1-C_{10}\text{-алкилен}-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение

Формулы (III), где SP представляет собой $-C(O)-C_2-C_5\text{-алкилен-}C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где SP представляет собой $-C(O)-CH_2CH_2-C(O)-$.

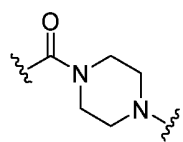
[0070] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где оба R^x представляют собой водород и SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-C_1-C_{10}\text{-алкилен-}X^1-$, где X^1 присоединяется к L^3 в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_1-C_{10}\text{-алкилен-}X^1-$ где X^1 присоединяется к L^3 в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где X^1 представляет собой $-N(C_{1-3}\text{алкил})-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_2-C_5\text{-алкилен-}X^1-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-CH_2CH_2-X^1-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где SP представляет собой $-C(O)-N(CH_3)-C_2-C_5\text{-алкилен-}N(CH_3)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где SP представляет собой $-C(O)-N(CH_3)-CH_2CH_2-N(CH_3)-$.

[0071] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба R^x представляют собой фтор и SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-C_1-C_{10}\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (III) или $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L в (III Формуле). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где SP представляет собой $-C(O)-N(H)-C_1-C_{10}\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где SP is $-C(O)-N(H)-C_1-C_6\text{-алкилен-}X^{1b}-$ где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение формулы (III), где SP представляет собой $-C(O)-N(H)-C_1-C_3\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где SP представляет собой $-C(O)-N(H)-CH_2CH_2-X^{1b}-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где SP представляет собой $-C(O)-N(H)-C_2-C_5\text{-алкилен-}N(CH_3)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где SP

представляет собой $-C(O)-N(H)-C_2-C_5\text{-алкилен-}N(CH_2CH_3)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-CH_2CH_2-N(CH_3)-$.

[0072] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба **R^x** представляют собой фтор и **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-C_1-C_{10}\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где **X^{1b}** присоединяется к **L³** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_1-C_6\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где **X^{1b}** присоединяется к **L³** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_1-C_3\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где **X^{1b}** присоединяется к **L³** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **X^{1b}** представляет собой $-N(C_{1-3}\text{алкил})-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_2-C_5\text{-алкилен-}X^{1b}-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-CH_2CH_2-X^{1b}-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(CH_3)-C_2-C_5\text{-алкилен-}N(CH_3)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(CH_2CH_3)-C_2-C_5\text{-алкилен-}N(CH_2CH_3)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(CH_3)-CH_2CH_2-N(CH_3)-$.

[0073] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба **R^x** представляют собой фтор и **SP** представляет собой



, где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N)- **L** в Формуле (III).

[0074] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба **R^x** представляют собой водород и **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III) или $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III) или $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых

вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** -х $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III).

[0075] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба **R^x** представляют собой фтор и **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III) или $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III) или $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** -х $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к **L** в Формуле (III).

[0076] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба **R^x** представляют собой водород и **SP** представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}-$, где **NR^{50a}** присоединяется к **L** в Формуле (III). В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), **SP** представляет собой $-(C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50a}-$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (III), **SP** представляет собой $-(C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50a}-$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (III), **SP** представляет собой $-(\text{линейный } C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(\text{линейный } C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50a}-$.

[0077] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба R^x представляют собой фтор и SP представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -, где NR^{50a} присоединяется к L в Формуле (III). В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), SP представляет собой $-(C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (III), SP представляет собой $-(C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (III), SP представляет собой $-(\text{линейный } C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(\text{линейный } C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -.

[0078] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба R^x представляют собой водород и SP представляет собой $-C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -, где NR^{50a} присоединяется к L в Формуле (III) и где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (III) SP представляет собой $-(\text{разветвленный } C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_6\text{-гидрокси-алкилен})-NR^{50a}$ -. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (III) SP представляет собой $-(\text{разветвленный } C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -.

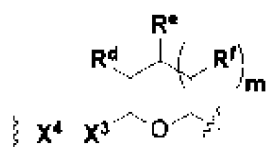
[0079] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба R^x представляют собой фтор и SP представляет собой $-C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -, где NR^{50a} присоединяется к L в Формуле (III) и где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (III) SP представляет собой $-(\text{разветвленный } C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_6\text{-гидрокси-алкилен})-NR^{50a}$ -. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (III) SP представляет собой $-(\text{разветвленный } C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -.

[0080] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба R^x представляют собой водород и SP представляет собой $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}\text{-алкилен}-C(O)NH-X^2$ -, где X^2 присоединяется к L^3 в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где SP представляет собой $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_5\text{-алкилен}-C(O)NH-NH$ -. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где SP представляет собой $-C(O)-N(R^5)-CH_2-C(O)NH-NH$ -. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где R^5 представляет собой H или алкил. В некоторых

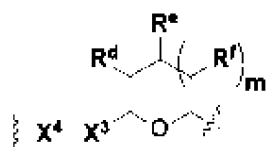
вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где R^5 представляет собой H или CH_3 .

[0081] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где оба R^x представляют собой фтор и SP представляет собой $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)NH-X^2$ -, где X^2 присоединяется к L^3 в Формуле (III). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где SP представляет собой $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_5$ -алкилен- $C(O)NH-NH$ -. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где SP представляет собой $-C(O)-N(R^5)-CH_2-C(O)NH-NH$ -. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где R^5 представляет собой H или алкил. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), где R^5 представляет собой H или CH_3 .

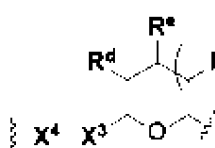
[0082] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где оба R^x водород и SP представляет собой

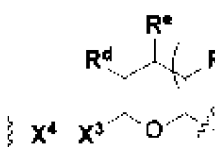


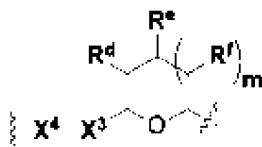
, где X^4 присоединяется к L^3 в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где оба R^x представляют собой фтор и SP представляет собой



, где X^4 присоединяется к L^3 в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-

P) или (III-P-1), где SP  и X^3 представляет собой $-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-

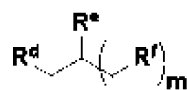
P) или (III-P-1), где SP представляет собой  и X^3 представляет собой $-CH_2-O-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $C(O)-$, где $C(O)$ присоединяется к X^4 . В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-



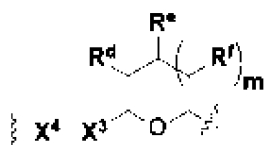
P-1), где **SP** представляет собой $\begin{array}{c} R^e \\ | \\ R^d - CH_2 - CH - (CH_2 - R^f)_m \\ | \\ X^4 - X^3 - O - \end{array}$ и X^3 представляет собой -C(O)-. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где R^d , R^e и R^f представляет собой независимо -H, -OH, гидроксиалкил, алкоксикарбонил, -C(O)OH или -CH₂OR^g, где в каждом случае R^g независимо

-CH₂C(O)OH или -CH₂C(O)O(алкил). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где R^d и R^e представляет собой независимо -H или -OH. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где m представляет собой 0. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где m представляет собой 1. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где m представляет собой 1 и R^f представляет собой -H или -OH.

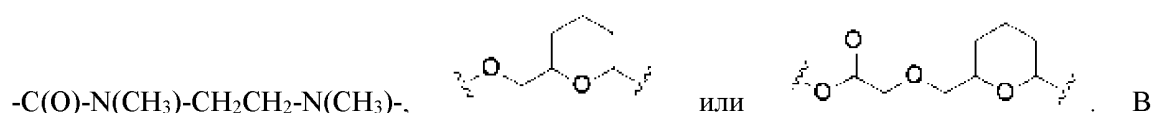
[0083] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой -C(O)-N(C₁₋₃алкил)-C₁-C₁₀-алкилен- X^1 -, где X^1 присоединяется к L^3 в Формуле (III),



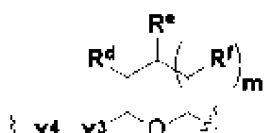
(III-P) или (III-P-1); **SP** представляет собой $\begin{array}{c} R^e \\ | \\ R^d - CH_2 - CH - (CH_2 - R^f)_m \\ | \\ X^4 - X^3 - O - \end{array}$, где X^3 представляет собой -CH₂-, m равно 1, и R^d , R^e и R^f представляет собой -H; или **SP** представляет собой

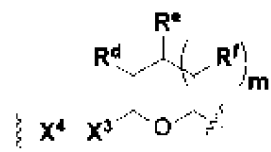


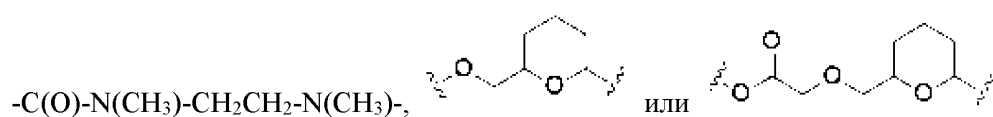
, где X^3 представляет собой -CH₂-O-(C₁-C₁₀-алкилен)-C(O)-, где C(O) присоединяется к X^4 , m представляет собой 1, и R^d , R^e и R^f -H. В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **SP** представляет собой



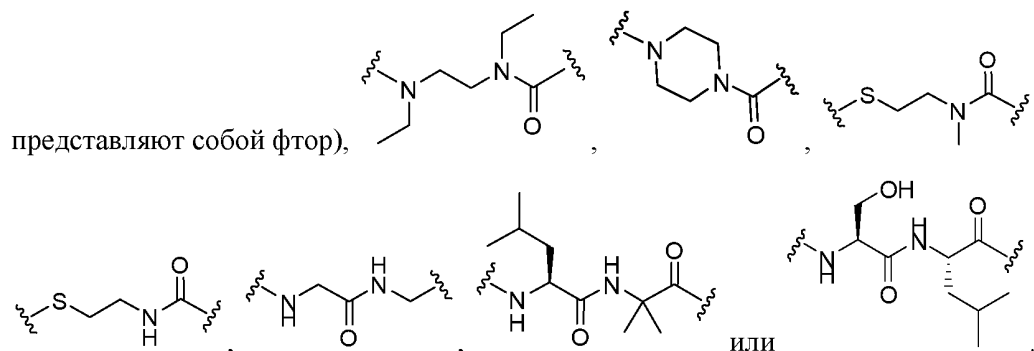
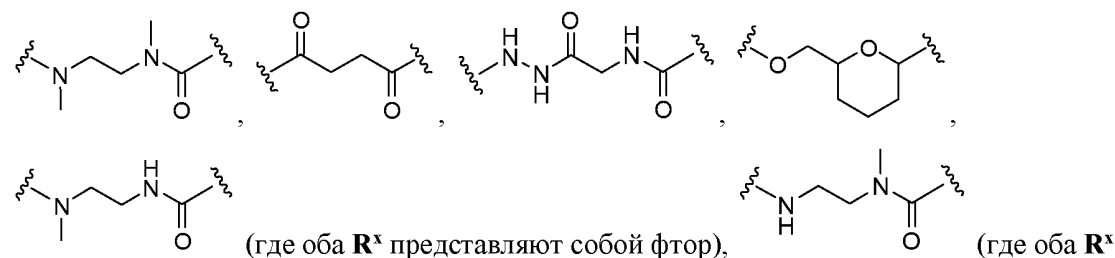
алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-X¹-, где X¹ присоединяется к L³ в Формуле (III), (III-P) или (III-P-

1); SP представляет собой , где X³ представляет собой -CH₂-, m равно 1, и R^d, R^e и R^f представляет собой -H; или SP представляет собой

, где X³ представляет собой -CH₂-O-(C₁-C₁₀-алкилен)-C(O)-, где C(O) присоединяется к X⁴, m представляет собой 1, и R^d, R^e и R^f представляет собой -H. В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где SP представляет собой



[0084] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение с Формулой (III), где оба R^x представляют собой фтор или оба R^x представляют собой водород или R^x соответствует тому, что описано в данном пункте; SP представляет собой



[0085] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где z представляет собой 1. В определенных вариантах осуществления z равен 2. В некоторых других вариантах осуществления z равен 3. В определенных вариантах осуществления z равен 4. В некоторых вариантах осуществления

z равен 5. В некоторых других вариантах осуществления z равен 6. В определенных вариантах осуществления z равен 7. В некоторых других вариантах осуществления z равен 8. В определенных вариантах осуществления z равен 9. В некоторых вариантах осуществления z равен 10. В некоторых других вариантах осуществления z равен 11. В некоторых других вариантах осуществления z равен 12. В некоторых других вариантах осуществления z равен 13. В некоторых других вариантах осуществления z равен 14. В некоторых других вариантах осуществления z представляет собой 15. В некоторых других вариантах осуществления z равен 15. В некоторых других вариантах осуществления z равен 16. В некоторых других вариантах осуществления z равен 17. В некоторых других вариантах осуществления z равен 18. В определенных вариантах осуществления z равен 19. В некоторых других вариантах осуществления z представляет собой 20. В некоторых других вариантах осуществления z равен 21. В некоторых других вариантах осуществления z равен 22. В некоторых других вариантах осуществления z равен 23. В некоторых других вариантах осуществления z равен 24. В некоторых других вариантах осуществления z равен 25. В некоторых других вариантах осуществления z равен 26. В некоторых других вариантах осуществления z равен 27. В некоторых других вариантах осуществления z равен 28. В некоторых других вариантах осуществления z равен 29. В некоторых других вариантах осуществления z равен 30. В некоторых вариантах осуществления z представляет собой целое число, выбранное из 1–15, включительно. В определенных вариантах осуществления z выбирается из 1-10. В определенных вариантах осуществления z выбирается из 1-5. В определенных вариантах осуществления z выбирается из 2-5. В определенных вариантах осуществления z выбирается из 2-4.

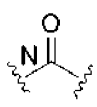
[0086] В некоторых вариантах осуществления $-L-$ или $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ в Формуле (III), (III-P) или (III-P-1) означает любую двухвалентную группу или фрагмент, который связывается или соединяется со связующим агентом (например, антителом или его антигенсвязывающим фрагментом) с соединением-нагрузкой, представленным в настоящем документе (например, стероидом). В общем, подходящие $-L-$ и $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ для описанных здесь конъюатов антител представляет собой те, которые являются достаточно стабильными для использования периода полужизни в кровотоке антитела и в то же время способными высвободить свою нагрузку после антиген-опосредованной интернализации конъюгата. Линкеры могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми. Расщепляемые линкеры представляет собой линкеры, которые расщепляются посредством внутриклеточного метаболизма после интернализации, например, расщепления через гидролиз, восстановления или ферментной реакции. Нерасщепляемые линкеры

представляет собой линкеры, которые высвобождают присоединенную нагрузку через лизосомную деградацию антитела после интернализации. Подходящие линкеры включают, помимо прочего, кислотолабильные линкеры, гидролизлабильные линкеры, расщепляемые под воздействием ферментов линкеры, редуционно-лабильные линкеры, саморасщепляющиеся линкеры и нерасщепляемые линкеры. Подходящие линкеры также включают, помимо прочего, линкеры, которые представляют собой или содержат глюкурониды, сукцинимид-тиоэфиры, полиэтиленгликольные (PEG) звенья, гидразоны, мал-капроильные звенья, дисульфидные звенья (например, $-S-S-$, $-S-C(R^{1b}R^{2b})-$, где R^{1b} и R^{2b} представляет собой независимо водород или гидрокарбил), карбаматные звенья, пара-амино-бензильные звенья (PAB), фосфатные звенья, например, моно-, бис- или трис-фосфатные звенья, пептиды, например, пептидные звенья, содержащие два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или более аминокислотных звеньев, включая, помимо прочего, звенья валин-цитруллина, звенья валин-аланина, звенья валин-аргинина, звенья валин-лизина, звенья лизин-валин-цитруллина и звенья лизин-валин-аланина. В некоторых вариантах осуществления $-L-$ и $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ получают от реакции “реактивной группы” (RG) с Формулой (II) (и ее вариантами осуществления) с реактивной частью антитела. Соединительной группой является любой двухвалентный фрагмент, который соединяет **ВА** с нагрузкой. Соединительной группой также может быть любой трехвалентный фрагмент, который соединяет **ВА**, нагрузку и циклодекстриновый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления $-L-$ и $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ являются трехвалентными и включают циклодекстриновый фрагмент, связанный с трехвалентной группой (например, лизиновым остатком) в соединительной группе. $-L-$ и $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ содержат остаток реактивной группы, который является функциональной группой или фрагментом, который вступает в реакцию с реактивной частью антитела, модифицированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

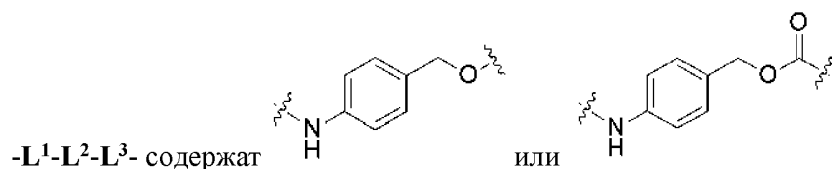
[0087] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **L** и



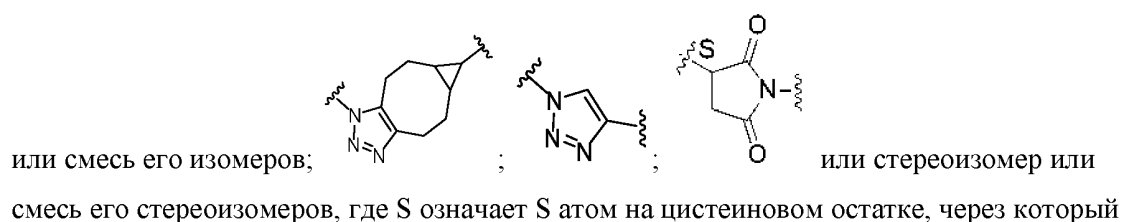
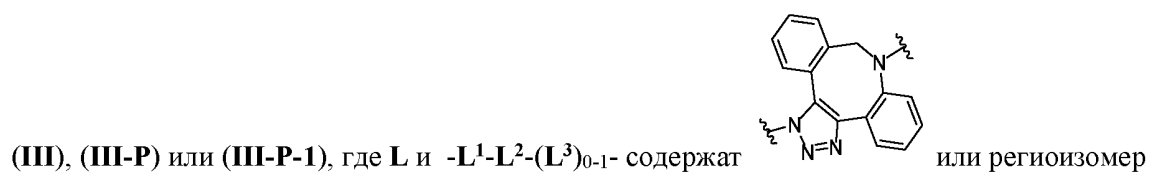
где S означает S атом на цистеиновом остатке, через который остаток реактивной группы

присоединяется к **ВА**; или  где N означает N атом на лизиновом остатке, через который остаток реактивной группы присоединяется к **ВА**.

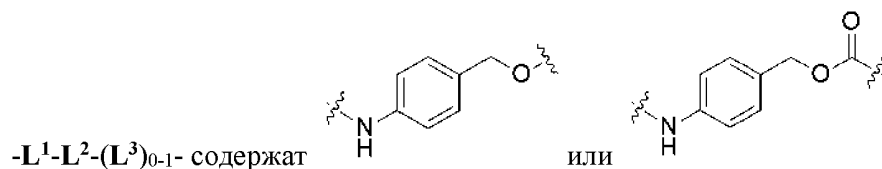
[0088] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **L** и



[0089] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы



остаток реактивной группы присоединяется к **ВА**; или  где N означает N атом на лизиновом остатке, через который остаток реактивной группы присоединяется к **ВА**; и **L** и

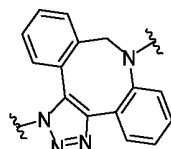


[0090] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **L** представляет собой

-L¹-L²-(L³)₀₋₁-. В некоторых вариантах осуществления **L³** присутствует. В некоторых вариантах осуществления **L³** отсутствует.

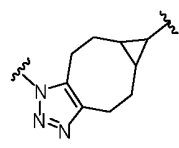
[0091] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **L** представляет собой

$-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ и L^1 выбирается из

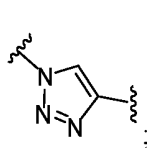


или региоизомера или смеси его

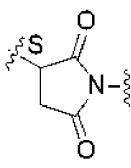
изомеров;



;



;



или стереоизомера или смеси его

стереоизомеров, где S означает S атом на цистеиновом остатке, через который остаток

реактивной группы присоединяется к **ВА**; и

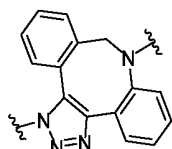


где N означает N атом на лизиновом

остатке, через который остаток реактивной группы присоединяется к **ВА**. В некоторых

вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1),

где **L** представляет собой

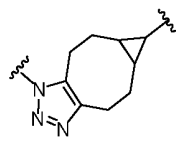


$-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ и L^1 is

.

В некоторых вариантах осуществления представлено

Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **L** представляет собой $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ и

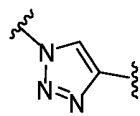


L^1 представляет собой

.

В некоторых вариантах осуществления

представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **L** представляет собой -

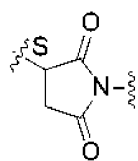


$L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ и L^1 представляет собой

.

В некоторых вариантах осуществления

представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **L** представляет собой



$-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ и L^1 is

.

В некоторых вариантах осуществления представлено

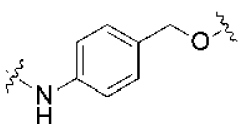
Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **L** представляет собой $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ и

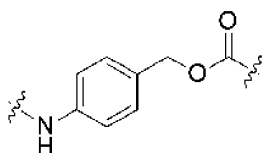


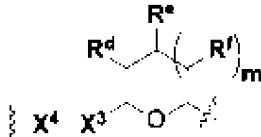
L^1 представляет собой

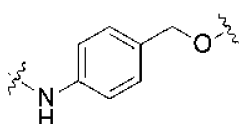
.

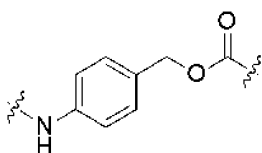
[0092] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где L представляет собой

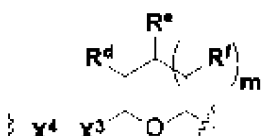
$-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ и L^3 is , где NH группа присоединяется к L^2 , когда SP представляет собой $-C(O)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)-$; или L^3 представляет собой

, где NH группа присоединяется к L^2 , когда SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_1-C_{10}$ -алкилен- X^1- или $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)NH-X^2-$; или

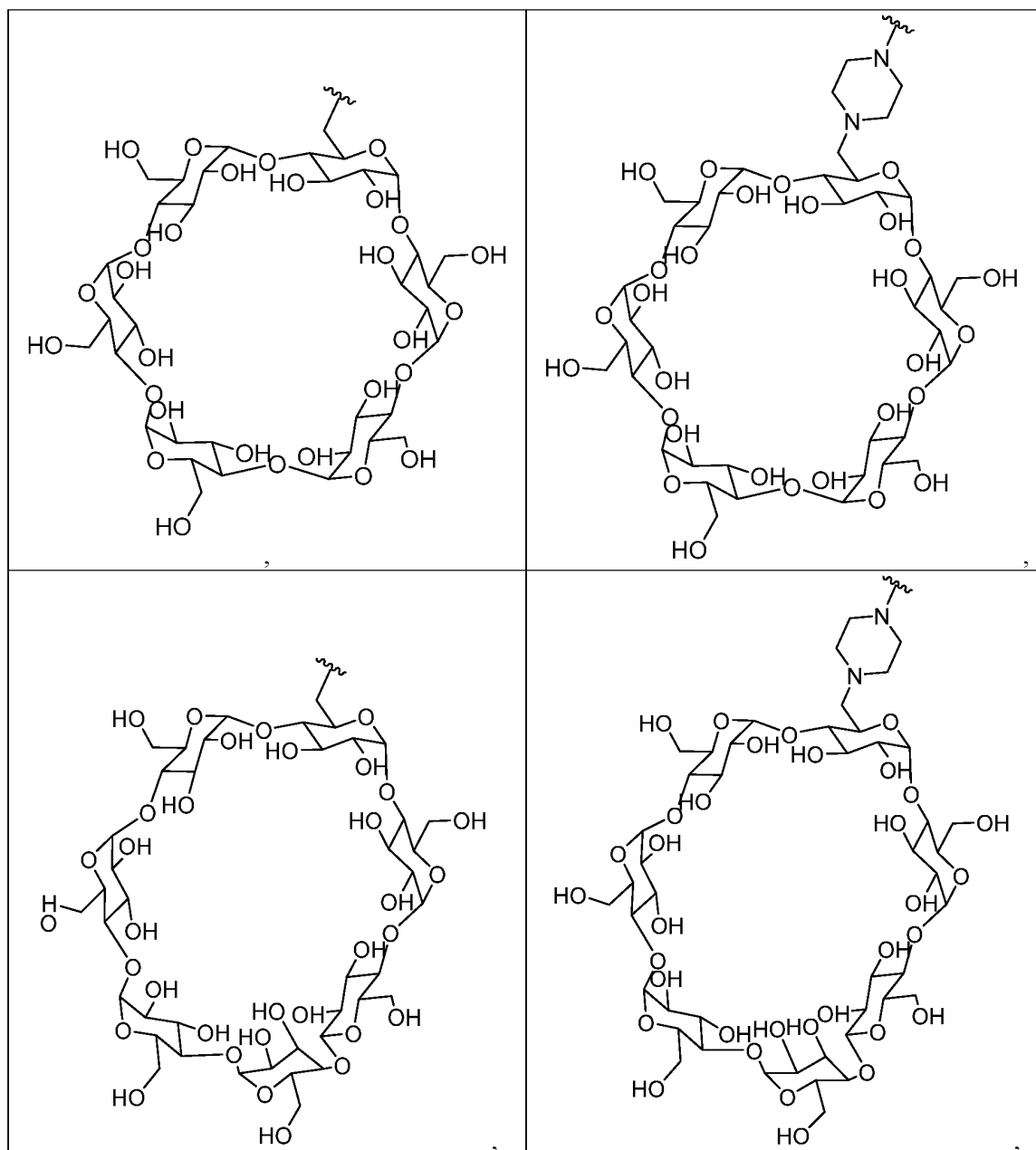
L^3 не присутствует, когда SP - . В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где L

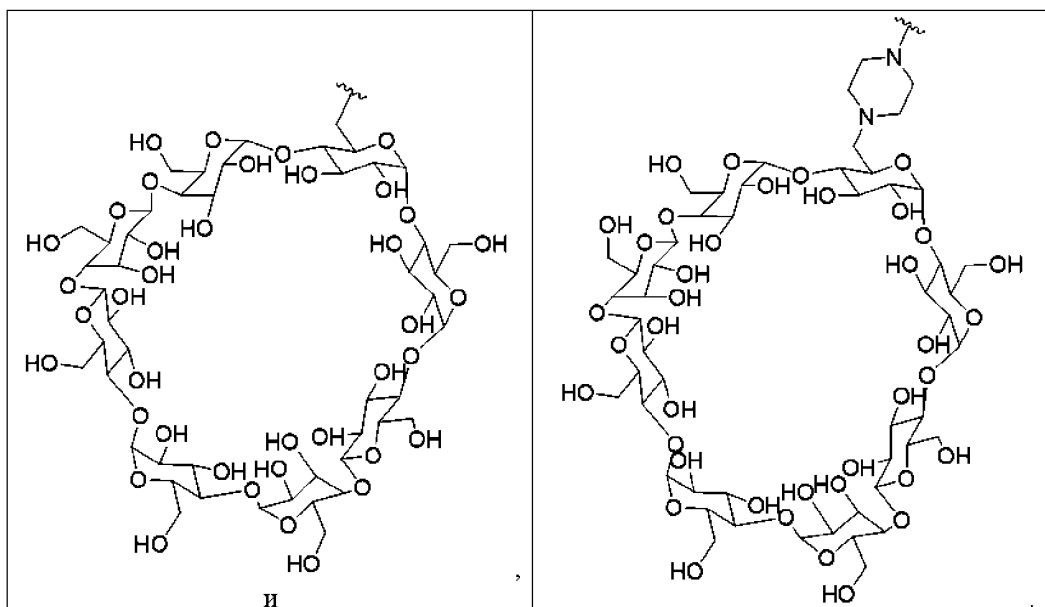
представляет собой $-L^1-L^2-(L^3)-$ и L^3 представляет собой , где NH группа присоединяется к L^2 , когда SP представляет собой $-C(O)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где L представляет собой

$-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ и L^3 представляет собой , где NH группа присоединяется к L^2 , когда SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_1-C_{10}$ -алкилен- X^1- или $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)NH-X^2-$. В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где L представляет собой -

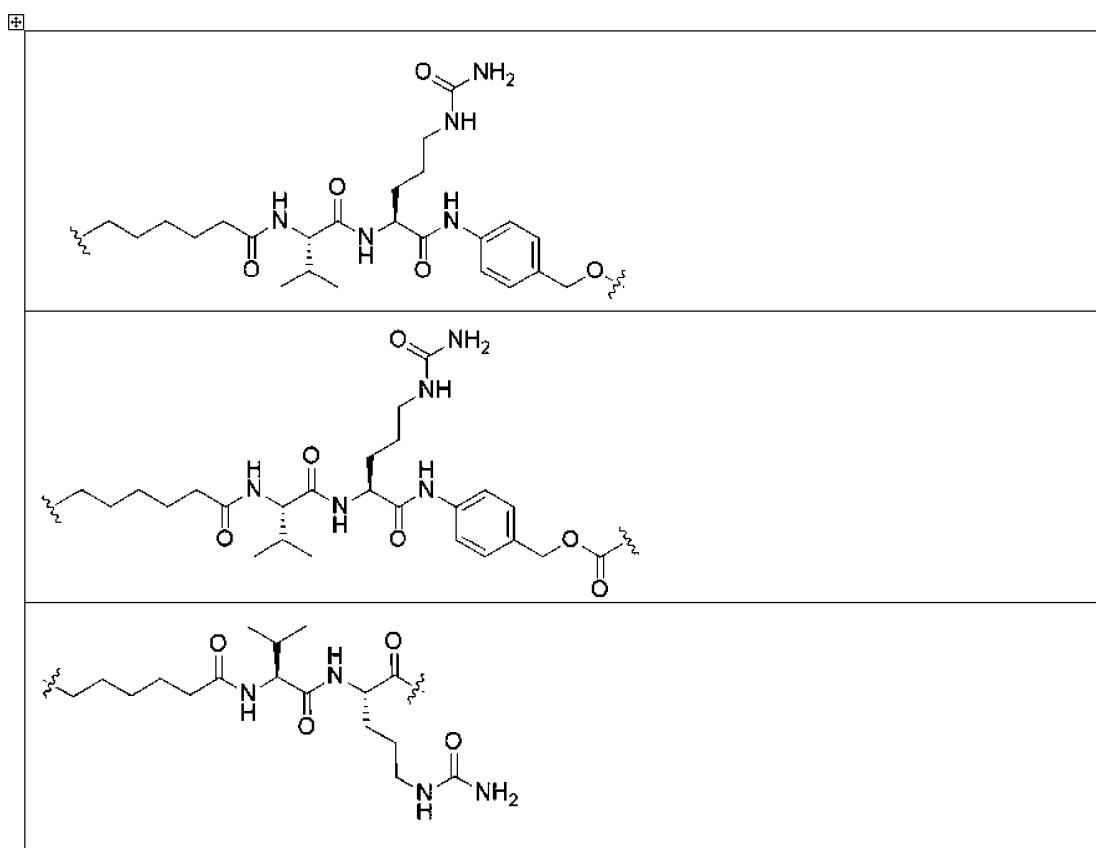
$L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ и L^3 не присутствует, когда SP представляет собой .

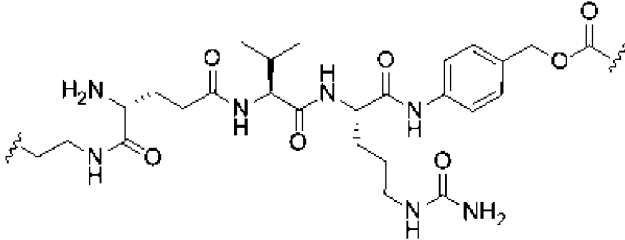
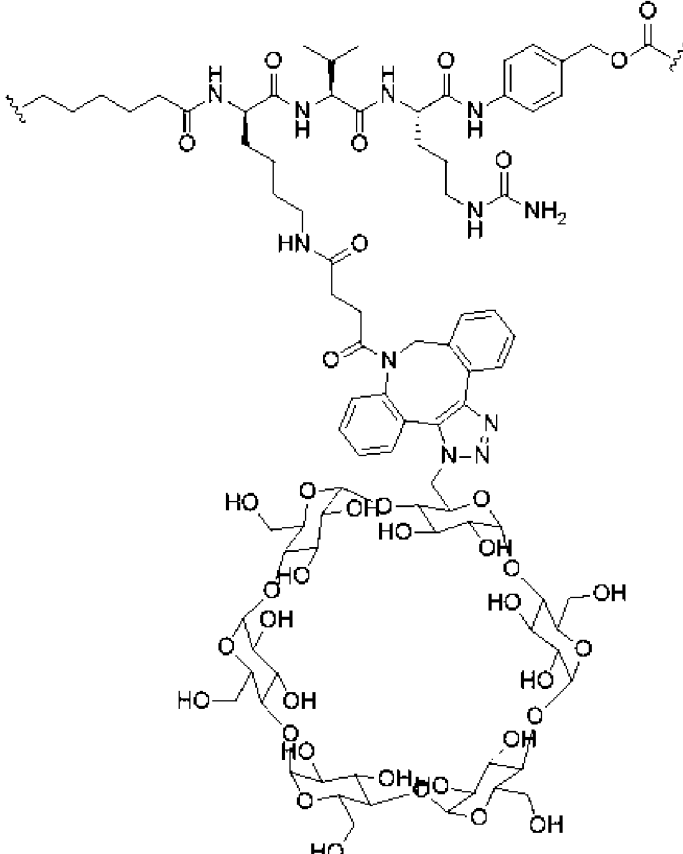
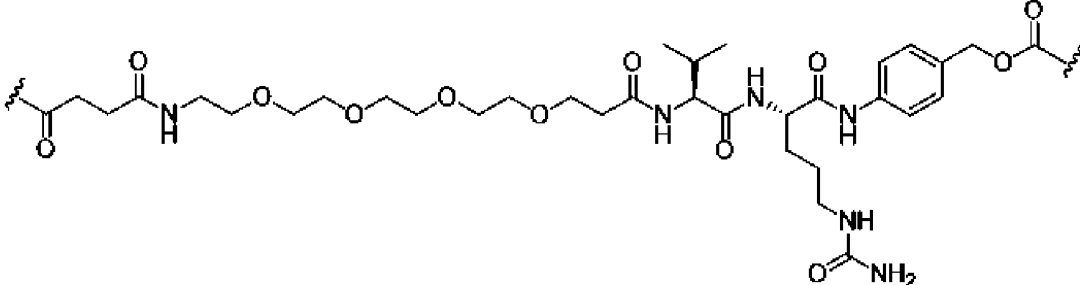
[0093] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где L представляет собой



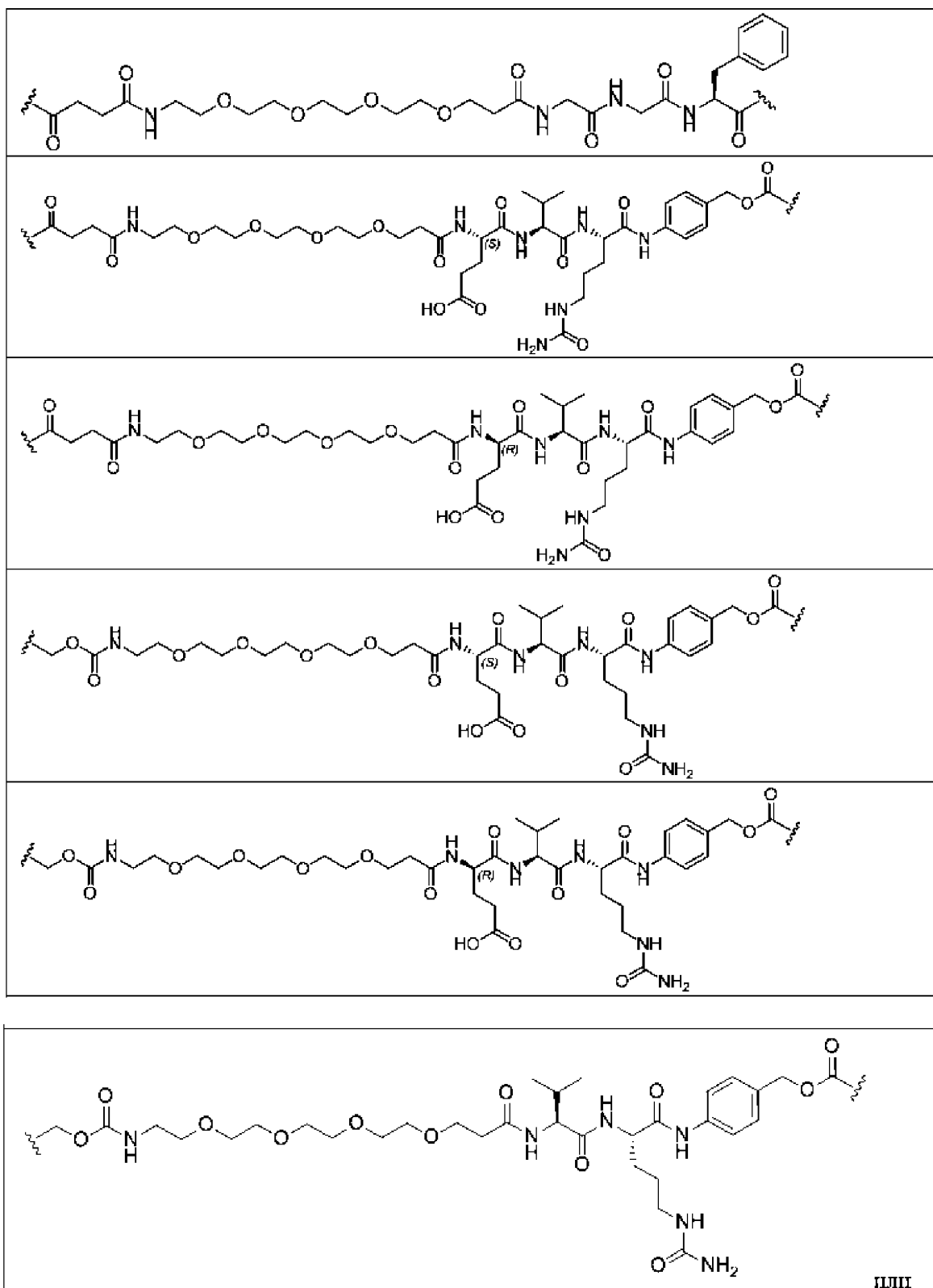


[0094] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где **L** представляет собой **-L¹-L²-(L³)₀₋₁-** и **-L²-(L³)₀₋₁-** содержат

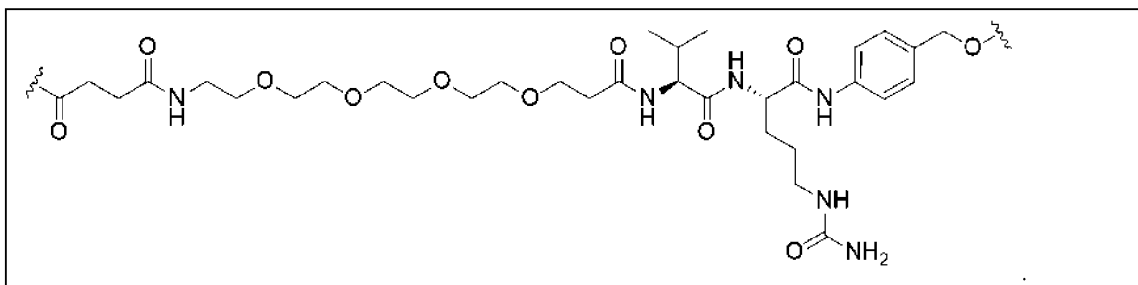


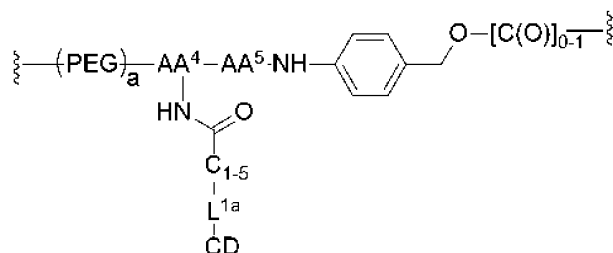


III



[0095] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (III), (III-P) или (III-P-1), где L^2 содержит



L^{1a} представляет собой остаток реактивной группы;

CD представляет собой циклодекстрин;

AA^4 представляет собой трехвалентный линкер;

AA^5 представляет собой пептидный остаток;

PEG представляет собой полиэтиленгликоль;

a представляет собой целое число, которые выбирается от 0 до 5, включительно.

В некоторых вариантах осуществления AA^4 представляет собой аминокислотный остаток;

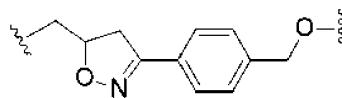
AA^5 представляет собой дипептидный остаток, трипептидный остаток, тетрапептидный остаток или пентапептидный остаток; PEG представляет собой полиэтиленгликольный

остаток; где  обозначает атом, через который указанная химическая группа связывается с примыкающими группами в формуле, CD , независимо в каждом случае, отсутствует или является циклодекстриновым остатком, где присутствует минимум один CD , индекс a представляет собой целое число, которые выбирается от 0 до 5, включительно; в этих примерах индекс a равен 0, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления индекс a равен 0. В некоторых вариантах осуществления индекс a равен 1. В некоторых вариантах осуществления индекс a равен 2. В некоторых вариантах осуществления индекс a равен 3. В некоторых вариантах осуществления индекс a равен 4. В некоторых вариантах осуществления индекс a равен 5. В некоторых вариантах осуществления любой из AA^4 или AA^5 содержит, независимо в каждом случае,

аминокислоту, которая выбирается из аланина, валина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана, фенилаланина, пролина, серина, треонина, цистеина, тирозина, аспарагина, глутамина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лизина, аргинина, гистидина или цитруллина, их производного или их комбинации. В определенных вариантах осуществления AA^4 представляет собой аминокислота, которая выбирается из аланина, валина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана, фенилаланина, пролина, серина, треонина, цистеина, тирозина, аспарагина, глутамина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лизина, аргинина, гистидина или цитруллина, их производного или их комбинации. В определенных вариантах осуществления AA^4 представляет собой лизин или производное лизина. В определенных вариантах осуществления AA^4 представляет собой лизин. В определенных вариантах осуществления AA^4 представляет собой D-лизин. В определенных вариантах осуществления AA^4 представляет собой L-лизин. В определенных вариантах осуществления AA^5 представляет собой дипептидный остаток. В определенных вариантах осуществления AA^5 представляет собой валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой глицин-валин. В определенных вариантах осуществления AA^5 представляет собой трипептидный остаток. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой тетрапептидный остаток. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой глицин-глицин-фенилаланин-глицин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой тетрапептидный остаток. В некоторых вариантах осуществления AA^5 представляет собой глицин-глицин-глицин-глицин-глицин.

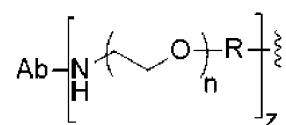
[0096] В определенных вариантах осуществления остаток реактивной группы получают от реакции **RG** с цистеиновым или лизиновым остатком антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В определенных вариантах осуществления остаток реактивной группы получают от реакции клик-химии. В некоторых вариантах осуществления указанной реакции клик-химии **L¹** получают от реакции 1,3 циклоприсоединения между алкином и азидом. Неограничивающие примеры такого

остатка реактивной группы включают остатки, полученные от напряженных алкинов, например, остатки, подходящие для промотированных напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкинов, например, циклооктинов, бензаннелированных алкинов и алкинов, способных вступать в реакции 1,3 циклоприсоединения с азидами в отсутствие катализаторов на основе меди. Подходящие L^1 также включают, помимо прочего, фрагменты, полученные от DIBAC (где $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ часть фрагмента DIBAC накрывается L^2), DIBO (где $-O-$ часть



фрагмента DIBO накрывается L^2), BARAC (где часть фрагмента BARAC накрывается L^2), замещенных алкинов, например, фторированных алкинов, аза-циклоалкинов, BCN и их производных. Конъюгаты, содержащие такие остатки реактивной группы, могут быть получены от антител, которые были функционализированы с азидогруппами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные с азидо-полиэтиленгликольными группами. В определенных вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают от реакции антитела, содержащего минимум один глутаминовый остаток, с соединением с формулой $H_2N-LL-N_3$, где LL представляет собой двухвалентная полиэтиленгликольная группа, в присутствии фермента транsgлутаминазы, например, микробной транsgлутаминазы. Подходящие глутаминовые остатки антитела включают Q295 или те, которые получают посредством инсерции или мутации, например, мутации N297Q.

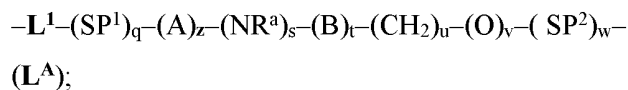
[0097] В некоторых вариантах осуществления **ВА** описанных здесь конъюгатов представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления описанные здесь конъюгаты получают от азидо-функционализированных антител. В определенных вариантах осуществления **ВА** описанных здесь конъюгатов представляет собой это:



где Ab представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, n представляет собой целое число, которое выбирают от 1 до 10, включительно, z представляет собой число линкер-нагрузок и $\{ \}$ представляет собой связь с L или $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$, например, связь с фрагментом, полученным от реакции 1,3-циклоприсоединения между алкином и азидом. В определенных вариантах осуществления z представляет собой

3. В определенных вариантах осуществления **z** представляет собой 2 или 4, т.е. конъюгат содержит 2 или 4 линкер-нагрузки.

[0098] В некоторых вариантах осуществления **-L-** и **-L¹-L²-L³-** представляет собой двухвалентный фрагмент Формулы (**L^A**);



где **L¹** соответствует приведенному здесь определению;

A представляет собой аминокислота или пептид;

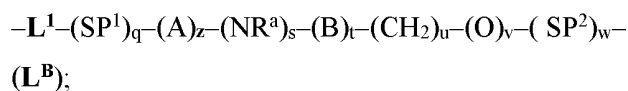
R^a представляет собой H или алкил;

B представляет собой арил, гетероарил или гетероциклоалкил, где арил, гетероарил или

гетероциклоалкил опционально замещается алкилом, **-OH** или **-NR^aR^b**;

SP¹ и **SP²** независимо являются спейсерными группами; и **q, z, s, t, u, v** и **w**, независимо в каждом случае, 0 или 1.

[0099] В некоторых других вариантах осуществления **-L-** и **-L¹-L²-(L³)₀₋₁-** представляет собой трехвалентный фрагмент с Формулой (**L^B**);



где **L¹** соответствует приведенному здесь определению;

A представляет собой трипептид или тетрапептид, где минимум одна из аминокислот в трипептиде или тетрапептиде связывается напрямую или опосредованно с циклодекстриновым фрагментом;

R^a представляет собой H или алкил;

B представляет собой арил, гетероарил или гетероциклоалкил, где арил, гетероарил или

гетероциклоалкил опционально замещается алкилом, **-OH** или **-NR^aR^b**;

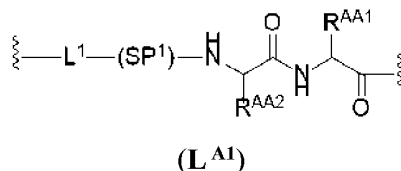
SP¹ и **SP²** независимо являются спейсерными группами; и **q, z, s, t, u, v** и **w**, независимо в каждом случае, 0 или 1.

[00100] В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин (**CD**) связывается напрямую с аминокислотным остатком, таким как остаток аминокислоты лизина. Это означает, что **CD** находится на расстоянии одной связи от ковалентного линкера аминокислоты лизина. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный

линкер также напрямую связывается с нагрузкой. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии одной связи от нагрузки, такой как, помимо прочего, описанная здесь стероидная нагрузка. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер также напрямую связывается с **CD**. Это означает, что ковалентный линкер на расстоянии одной связи от **CD**, например, описанных здесь **CD**. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер представляет собой аминокислота лизин или ее производное.

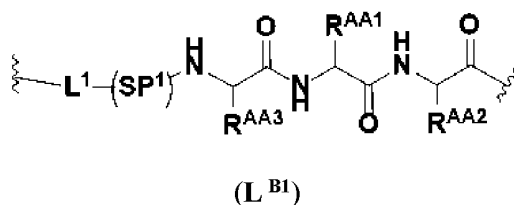
[00101] В некоторых вариантах осуществления **CD** опосредованно связывается с ковалентным линкером в соединительной группе (например, L , $-L^2-(L^3)_{0-1}$ и $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}$). Это означает, что **CD** находится на расстоянии более чем одной связи от ковалентного линкера. Это также означает, что **CD** связывается через другой фрагмент с ковалентным линкером. Например, **CD** может связываться с малеимидной группой, которая связывается с полиэтиленгликольной группой, которая связывается с ковалентным линкером. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер также опосредованно связывается с нагрузкой. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии более чем одной связи от нагрузки, такой как, помимо прочего, описанная здесь стероидная нагрузка. Это также означает, что ковалентный линкер связывается через другой фрагмент с нагрузкой. Например, ковалентный линкер может быть связан с дипептидом, таким как, помимо прочего, Val-Ala или Val-Cit, который может быть связан с пара-амино бензоилом, который может быть связан с нагрузкой. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер также опосредованно связывается с циклодекстрином. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии более чем одной связи от циклодекстрина, например, описанных здесь циклодекстринов. Это также означает, что ковалентный линкер связывается через другой фрагмент с циклодекстрином. Например, ковалентный линкер может быть связан с полиэтиленгликольной группой, которая может быть связана с реактивной группой с циклодекстрином. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер представляет собой аминокислота лизин или ее производное.

[00102] В некоторых вариантах осуществления $-L$ - и $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}$ - представляет собой $-L^1-(SP^1)_q-(A)_x-$. В некоторых вариантах осуществления $-L$ - и $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}$ - представляет собой $-L^1-(SP^1)_q-(A)_2-$. В некоторых вариантах осуществления $-L$ - и $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}$ - представляет собой фрагмент с Формулой (L^{A1})



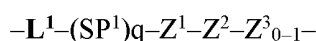
где $\text{R}^{\text{AA}1}$ и $\text{R}^{\text{AA}2}$ представляет собой в каждом случае, независимо, аминокислотные боковые цепи. В некоторых вариантах осуществления Формулы $\text{L}^{\text{A}1}$, SP^1 представляет собой двухвалентная полиэтиленгликольная группа и L^1 представляет собой продукт реакции 1,3-циклоприсоединения между алкином и азидом.

[00103] В некоторых вариантах осуществления $-\text{L}-$ и $-\text{L}^1-\text{L}^2-(\text{L}^3)_{0-1}-$ представляет собой $-\text{L}^1-(\text{SP}^1)_q-(\text{A})_x-$. В некоторых вариантах осуществления $-\text{L}-$ и $-\text{L}^1-\text{L}^2-(\text{L}^3)_{0-1}-$ представляет собой $-\text{L}^1-(\text{SP}^1)_q-(\text{A})_2-$. В некоторых вариантах осуществления $-\text{L}-$ и $-\text{L}^1-\text{L}^2-(\text{L}^3)_{0-1}-$ представляет собой фрагмент с Формулой $(\text{L}^{\text{B}1})$



где $\text{R}^{\text{AA}1}$ и $\text{R}^{\text{AA}2}$ представляет собой в каждом случае, независимо, аминокислотные боковые цепи. $\text{R}^{\text{AA}3}$ представляет собой аминокислотная боковая цепь, которая связана напрямую или опосредованно с циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления Формулы $\text{L}^{\text{B}1}$, SP^1 представляет собой двухвалентная полиэтиленгликольная группа и L^1 представляет собой продукт реакции 1,3-циклоприсоединения между алкином и азидом.

[00104] В некоторых вариантах осуществления $-\text{L}-$ или $-\text{L}^1-\text{L}^2-\text{L}^3-$ имеет следующую структуру:



где:

L^1 , SP^1 соответствуют приведенным здесь определениям;

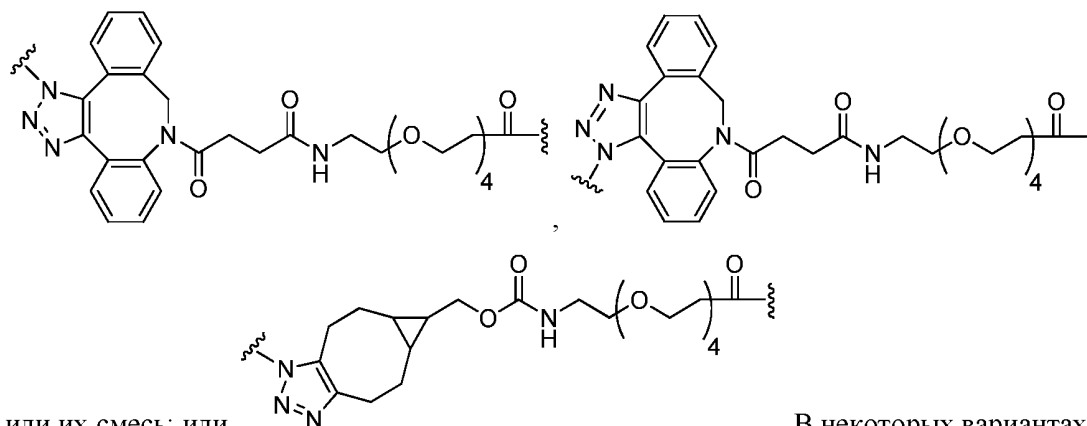
q представляет собой 0 или 1;

Z^1 представляет собой полиэтиленгликольная или капроильная группа;

Z^2 представляет собой дипептид, трипептид или тетрапептид; и

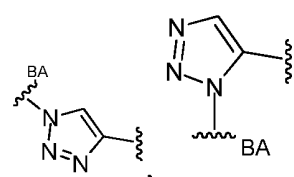
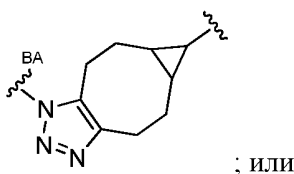
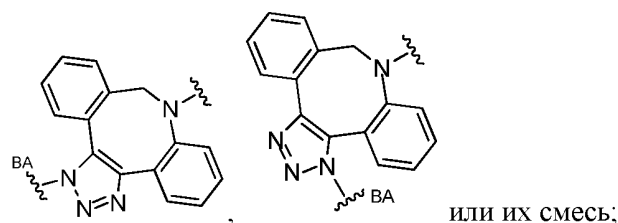
Z^3 представляет собой PAB группа.

В определенных вариантах осуществления L^1 получают от реактивной группы клик-химии и Z^1 представляет собой полиэтиленгликольная группа. В определенных вариантах осуществления $\text{L}^1-(\text{SP}^1)_q-\text{Z}^1-$ представляет собой это:



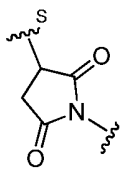
или их смесь; или . В некоторых вариантах осуществления дипептид представляет собой валин-цитруллин или валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления трипептид представляет собой глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления тетрапептид представляет собой глицин-глицин-фенилаланин-глицин.

[00105] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе L^1 получают от реактивной группы клик-химии. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой это:

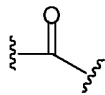


или их смесь; где BA представляет собой связь со связывающим агентом.

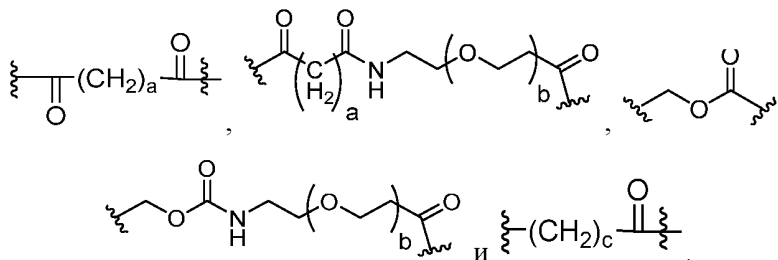
[00106] В некоторых других примерах в настоящем документе L^1 выбирают из группы, которая вступает в реакцию с цистеиновым или лизиновым остатком на антители или на его антигенсвязывающем фрагменте. В некоторых вариантах осуществления L^1



представляет собой ; где представляет собой связь с цистеином связующего агента, например, антитела. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой



[00107] В некоторых вариантах осуществления SP^1 выбирается из:



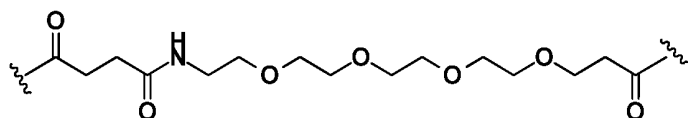
В некоторых вариантах осуществления SP^1 представляет собой . В

некоторых других примерах SP^1 представляет собой . В

других примерах SP^1 представляет собой . В других примерах SP^1

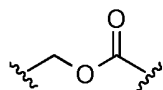
представляет собой . В некоторых других примерах SP^1 -

. В любых из приведенных выше примеров индексы a, b и c независимо, в каждом случае, являются целым числом, которое выбирается от 1 до 20, включительно.



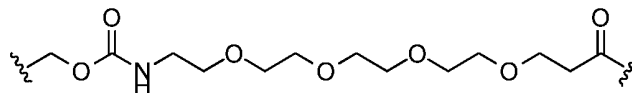
. В некоторых вариантах

осуществления SP^1 представляет собой

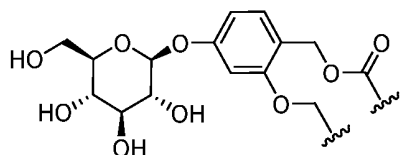


. В некоторых вариантах

осуществления SP^1 представляет собой

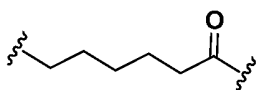


. В некоторых вариантах осуществления SP^1 представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления SP^1

представляет собой



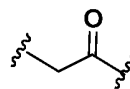
[00111]

В некоторых вариантах осуществления SP^1 представляет собой



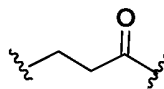
. В

некоторых вариантах осуществления SP^1 представляет собой



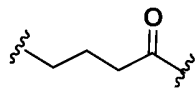
. В некоторых

вариантах осуществления SP^1 представляет собой



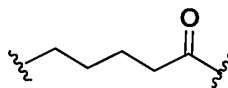
. В некоторых вариантах

осуществления SP^1 представляет собой



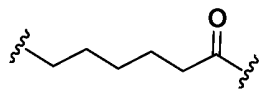
. В некоторых вариантах

осуществления SP^1 представляет собой



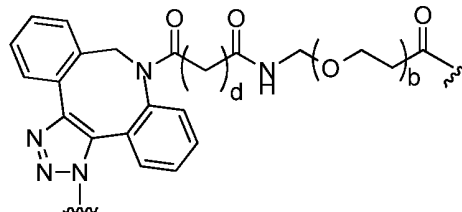
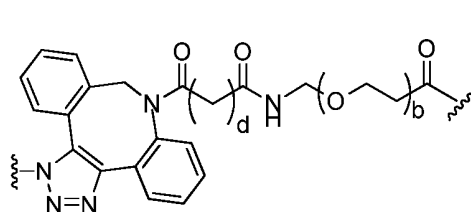
. В некоторых вариантах

осуществления SP^1 представляет собой

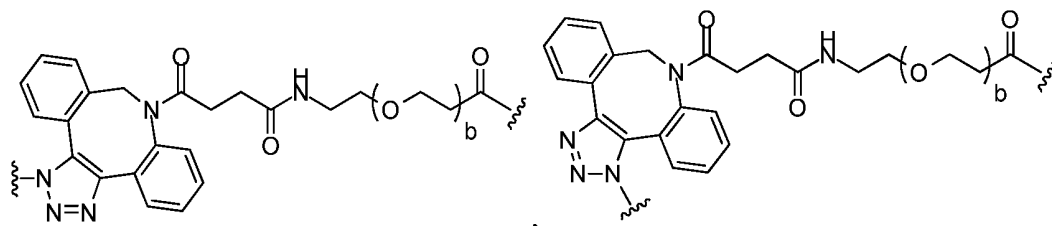


[00112]

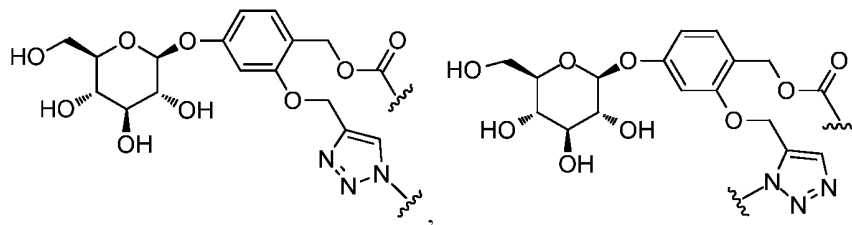
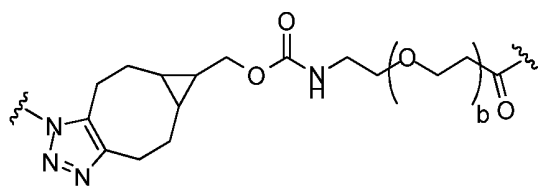
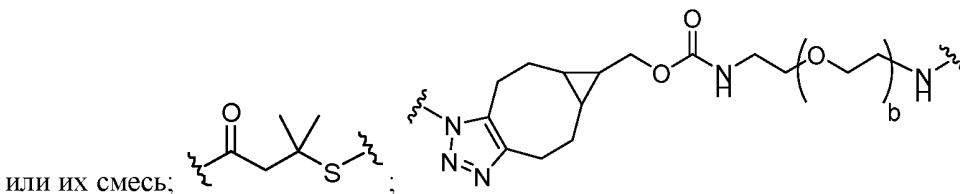
В некоторых вариантах осуществления $-L^1-L^2-$ содержат:



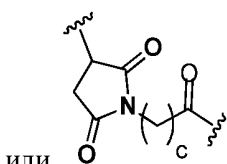
или их смесь;



или их смесь;

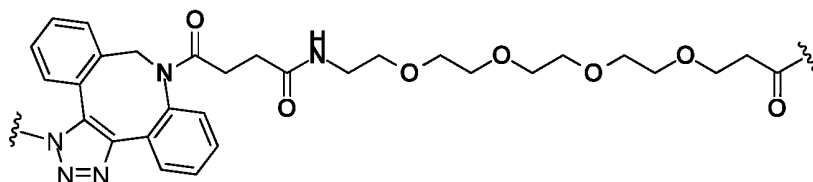


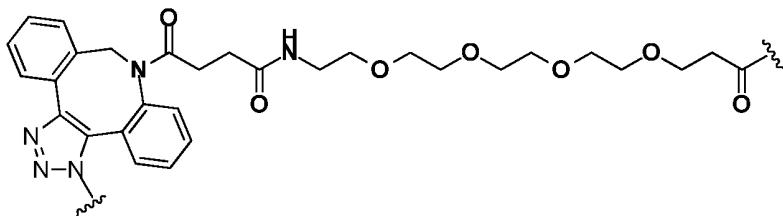
или их смесь;



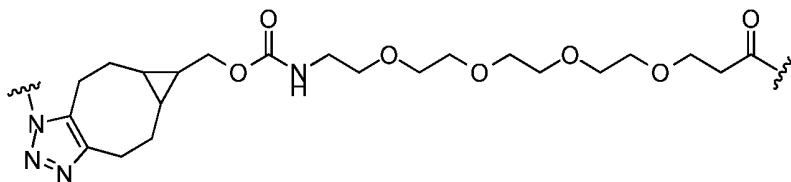
или где b , c и d независимо, в каждом случае, целое число, которое выбирается от 1 до 20, включительно. В некоторых из этих вариантов осуществления индексы b , c и d независимо, в каждом случае, являются целым числом, которое выбирается от 1 до 6, включительно.

[00113] В некоторых вариантах осуществления $-SP^1$ выбирается из:

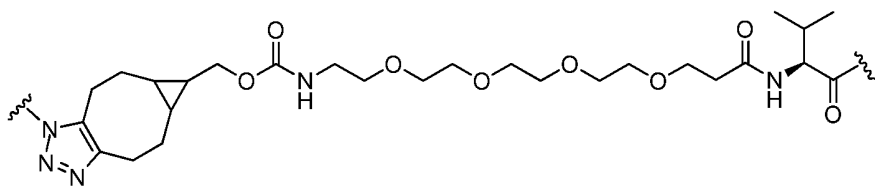




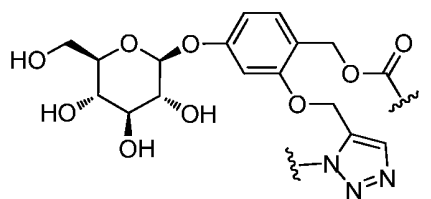
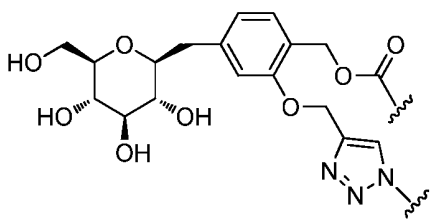
или их смеси;



;

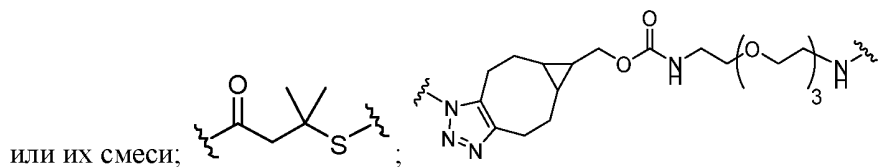


;



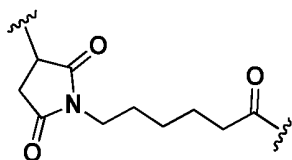
,

,



или их смеси;

; или



[00114] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой пептид, который выбирается из валин–цитруллина, цитруллин–валина, лизин–фенилаланина, фенилаланин–лизина, валин–аспарагина, аспарагин–валина, треонин–аспарагина, аспарагин–треонина, серин–аспарагина, аспарагин–серина, фенилаланин–аспарагина, аспарагин–фенилаланина, лейцин–аспарагина, аспарагин–лейцина, изолейцин–аспарагина, аспарагин–изолейцина, глицин–аспарагина, аспарагин–глицина, глутаминовая

кислота–аспарагина, аспарагин–глутаминовой кислоты, цитруллин–аспарагина, аспарагин–цитруллина, аланин–аспарагина или аспарагин–аланина.

[00115] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой валин–цитруллин или цитруллин–валин.

[00116] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой валин–аланин или аланин–валин.

[00117] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой лизин–валин–аланин или аланин–валин–лизин.

[00118] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой лизин–валин–цитруллин или цитруллин–валин–лизин.

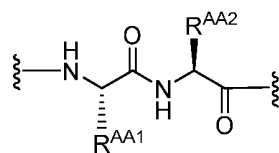
[00119] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой глутамат–валин–цитруллин или цитруллин–валин– глутамат.

[00120] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой валин.

[00121] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой аланин.

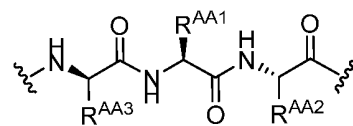
[00122] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой цитруллин.

[00123] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой



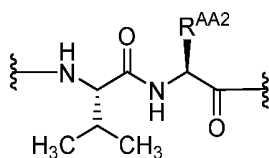
. В некоторых из этих вариантов осуществления R^{AA1} представляет собой аминокислотная боковая цепь и где R^{AA2} представляет собой аминокислотная боковая цепь.

[00124] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой

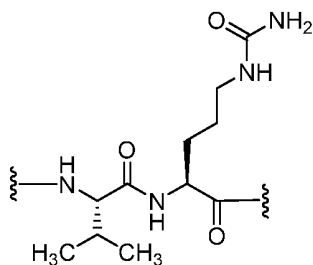


. В некоторых вариантах осуществления R^{AA1} представляет собой аминокислотная боковая цепь, R^{AA2} представляет собой аминокислотная боковая цепь и R^{AA3} представляет собой аминокислотная боковая цепь, которая связывается напрямую или опосредованно с циклодекстриновым фрагментом.

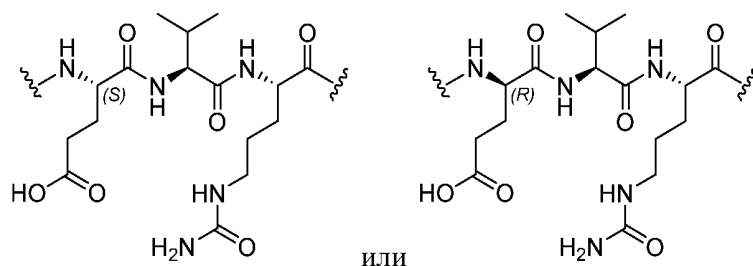
[00125] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой



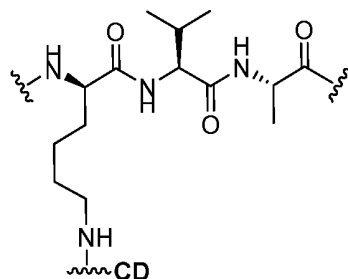
[00126] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой



[00127] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой

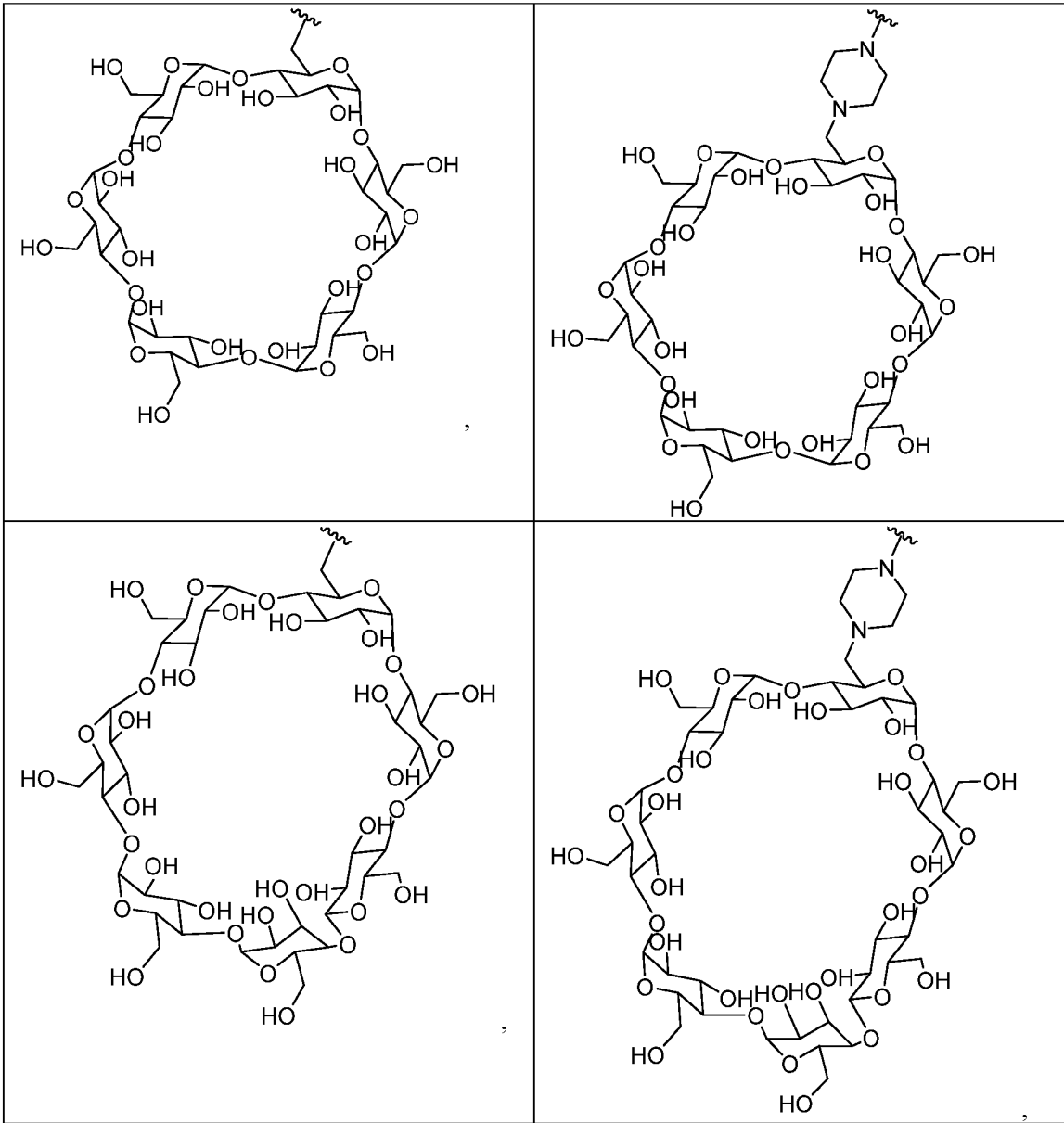


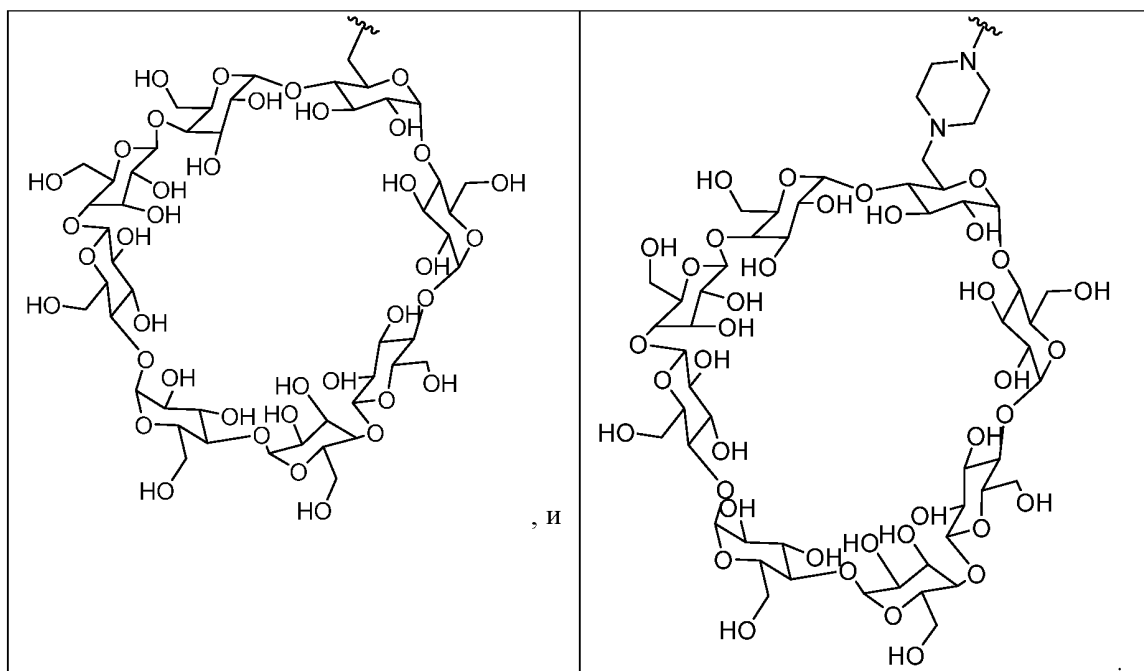
[00128] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой



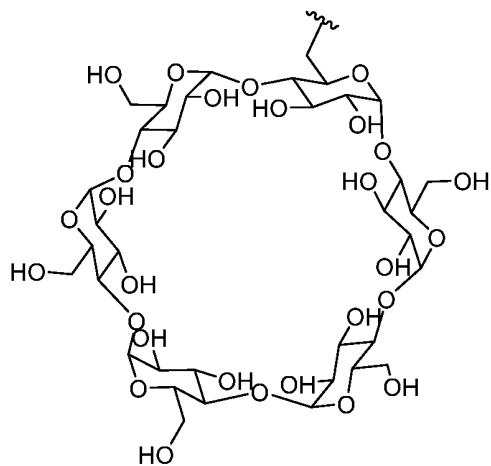
, где $\sim\sim\sim\text{CD}$ представляет прямую или опосредованную связь с циклодекстриновым фрагментом.

[00129] В некоторых вариантах осуществления, включая любые из указанных выше, **CD**, независимо в каждом случае, выбирается из

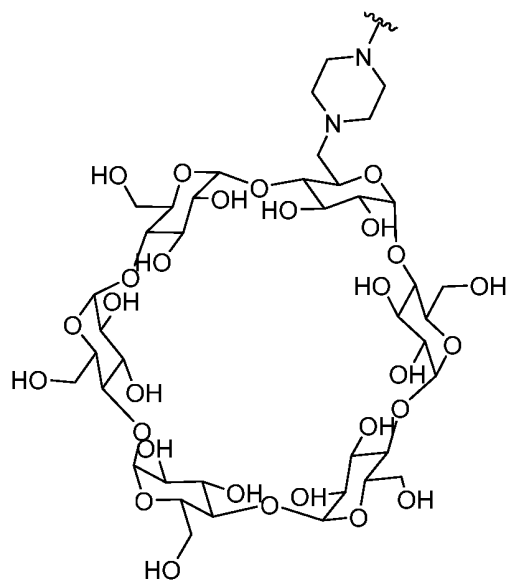




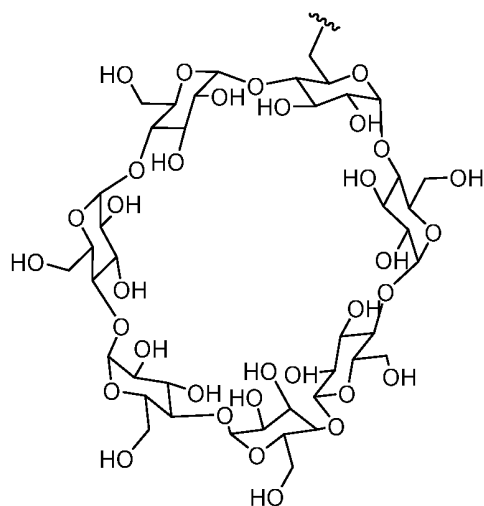
В некоторых вариантах осуществления **CD** представляет собой



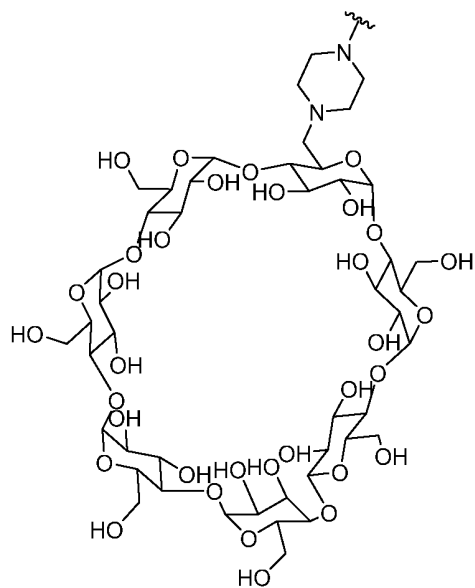
В некоторых вариантах осуществления **CD** представляет собой



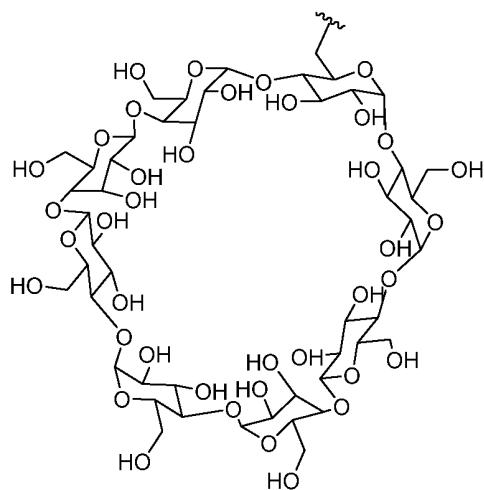
В некоторых вариантах осуществления **CD** представляет собой



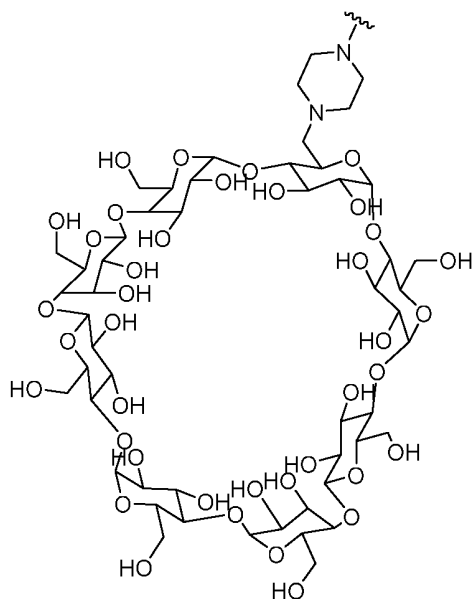
В некоторых вариантах осуществления **CD** представляет собой



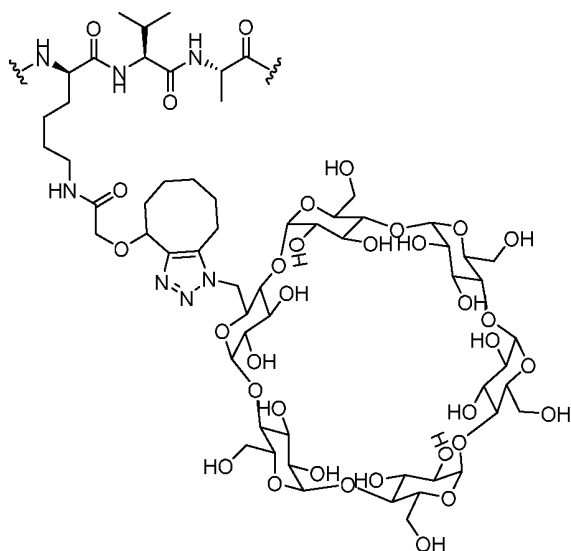
В некоторых вариантах осуществления **CD** представляет собой



В некоторых вариантах осуществления **CD** представляет собой



[00130] В некоторых вариантах осуществления **A** представляет собой



или его изомер.

[00131] В некоторых вариантах осуществления R^a представляет собой H

[00132] В некоторых вариантах осуществления R^a представляет собой алкил

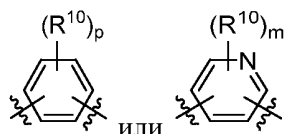
[00133] В некоторых вариантах осуществления R^a представляет собой метил, этил, n-пропил, i-пропил, n-бутил, t-бутил, i-бутил или пентил.

[00134] В некоторых вариантах осуществления **B** представляет собой арил.

[00135] В некоторых вариантах осуществления **B** представляет собой фенил.

[00136] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой фенил или пиридинил.

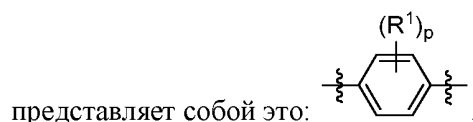
[00137] В некоторых вариантах осуществления здесь В представляет собой это:



В этих примерах R^{10} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкиларил, арилалкил, гало, галоалкил, галоалкокси, гетероарил, гетероциклоалкил,

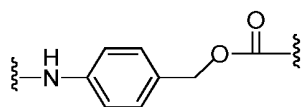
гидроксил, циано, нитро, $-\xi-OR^A$, $-\xi-SO_2R^A$, $-\xi-\overset{O}{\parallel}R^A$, NR^aR^b или азидо. В этих примерах индексы p и m независимо, в каждом случае, выбираются из целого числа, которое выбирается от 0 до 4, включительно.

[00138] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе В



В этих примерах p представляет собой 0, 1, 2, 3 или 4. В некоторых из этих вариантов осуществления R^1 , независимо в каждом случае, алкил, алкокси, галоалкил или гало. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой алкил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой галоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой гало.

[00139] В некоторых вариантах осуществления Формулы (L^A) , $-(NR^a)_s-(B)_t-(CH_2)_u-(O)_v-(SP^2)_w$ представляет собой это:



[00140] В любых вариантах осуществления L или $L^1-L^2-(L^3)_{0-1}$, описанных в настоящих документах, одна или несколько усиливающих групп могут быть соединены с боковой цепью любой аминокислоты в L или $L^1-L^2-(L^3)_{0-1}$. Полезные аминокислоты для соединения усиливающих групп включают лизин, аспарагин, аспартат, глутамин, глутамат и цитруллин. Связь с усиливающей группой может быть прямой связью с аминокислотной боковой цепью, или связь может быть опосредованной посредством спейсерной и/или реактивной группы. Полезные спейсеры и реактивные группы

включают любые описанные здесь. Усиливающей группой может быть любая группа, которая считается полезной специалистами в данной области. Например, усиливающей группой может быть любая группа, которая оказывает благотворное воздействие на соединение, нагрузку, линкер-нагрузку или конъюгат антитела, включая, помимо прочего, биологическое, биохимическое, синтетическое воздействие, воздействие в плане растворимости, визуализации, определяемости и реактивности и подобные воздействия. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является гидрофильная группа. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является алкил, гетероалкил, алкиленил, гетероалкиленил-сульфокислота, гетероалкиленил таурин, гетероалкиленил фосфорная кислота или фосфат, гетероалкиленил амин (например, четвертичное аммониевое соединение) или гетероалкиленильный сахар. В определенных вариантах осуществления сахара включают, без ограничений, моносахариды, дисахариды и полисахариды. Примеры моносахаридов включают глюкозу, рибозу, дезоксирибозу, ксилозу, арабинозу, маннозу, галактозу, фруктозу и подобные. В определенных вариантах осуществления сахара включают сахарные кислоты, такие как глюкуроновая кислота, которые далее включают конъюгированные формы, такие как глюкурониды (т.е. посредством глюкуронирования). Примеры дисахаридов включают мальтозу, сукрозу, лактозу, лактулозу, трегалозу и подобные. Примеры полисахаридов включают амилозу, амилопектин, гликоген, инулин, целлюлозу и подобные. Циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В определенных вариантах осуществления циклодекстрином является альфа циклодекстрин, бета циклодекстрин или гамма циклодекстрин или их смеси. В определенных вариантах осуществления циклодекстрином является альфа циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрином является бета циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрином является гамма циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа способна улучшать растворимость оставшейся части конъюгата.

[00141] В определенных вариантах осуществления усиливающей группой является алкил, гетероалкил, алкиленил, гетероалкиленил-сульфокислота, гетероалкиленил таурин, гетероалкиленил фосфорная кислота или фосфат, гетероалкиленил амин (например, четвертичное аммониевое соединение) или гетероалкиленильный сахар. В определенных вариантах осуществления сахара включают, без ограничений, моносахариды, дисахариды

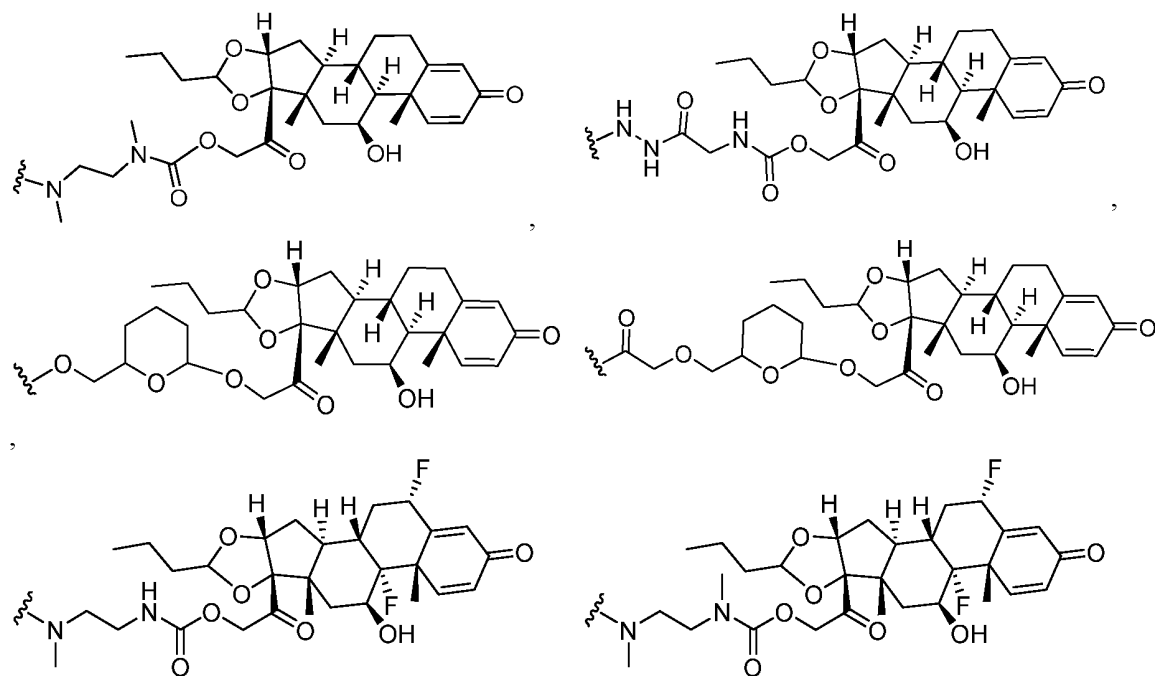
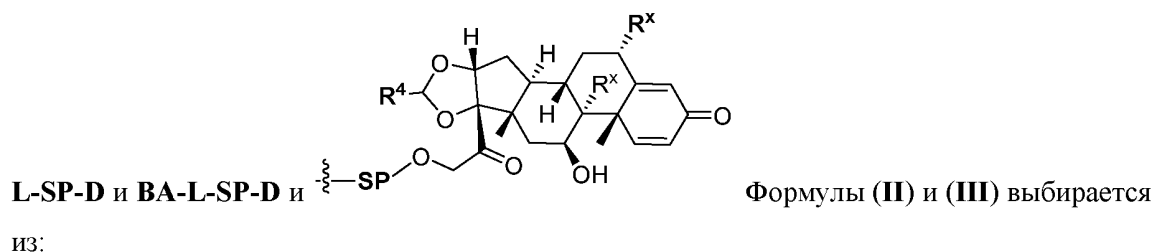
и полисахариды. Примеры моносахаридов включают глюкозу, рибозу, дезоксирибозу, ксилозу, арабинозу, маннозу, галактозу, фруктозу и подобные. В определенных вариантах осуществления сахара включают сахарные кислоты, такие как глюкуроновая кислота, которые далее включают конъюгированные формы, такие как глюкурониды (т.е. посредством глюкуронирования). Примеры дисахаридов включают мальтозу, сукрозу, лактозу, лактулозу, трегалозу и подобные. Примеры полисахаридов включают амилозу, амилопектин, гликоген, инулин, целлюлозу и подобные. Циклодекстрином может быть любой циклодекстрин, известный специалистам в данной области. В определенных вариантах осуществления циклодекстрином является альфа циклодекстрин, бета циклодекстрин или гамма циклодекстрин или их смеси. В определенных вариантах осуществления циклодекстрином является альфа циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрином является бета циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления циклодекстрином является гамма циклодекстрин. В определенных вариантах осуществления усиливающая группа способна улучшать растворимость оставшейся части конъюгата. В определенных вариантах осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил сульфокислота является замещенной или незамещенной. В определенных вариантах осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил сульфокислота представляет собой $-(CH_2)_n-SO_3H$, $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, or $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где **n** представляет собой 1, 2, 3, 4 или 5, и **m** представляет собой 1, 2, 3, 4 или 5. В одном варианте осуществления алкил или алкиленил сульфокислота представляет собой $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. В другом варианте осуществления гетероалкил или гетероалкиленил сульфокислота представляет собой $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где **n** представляет собой 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил сульфокислота представляет собой $-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где **n** представляет собой 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил сульфокислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, где **m** представляет собой 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил сульфокислота представляет собой $-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где **n** представляет собой 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил сульфокислота представляет собой

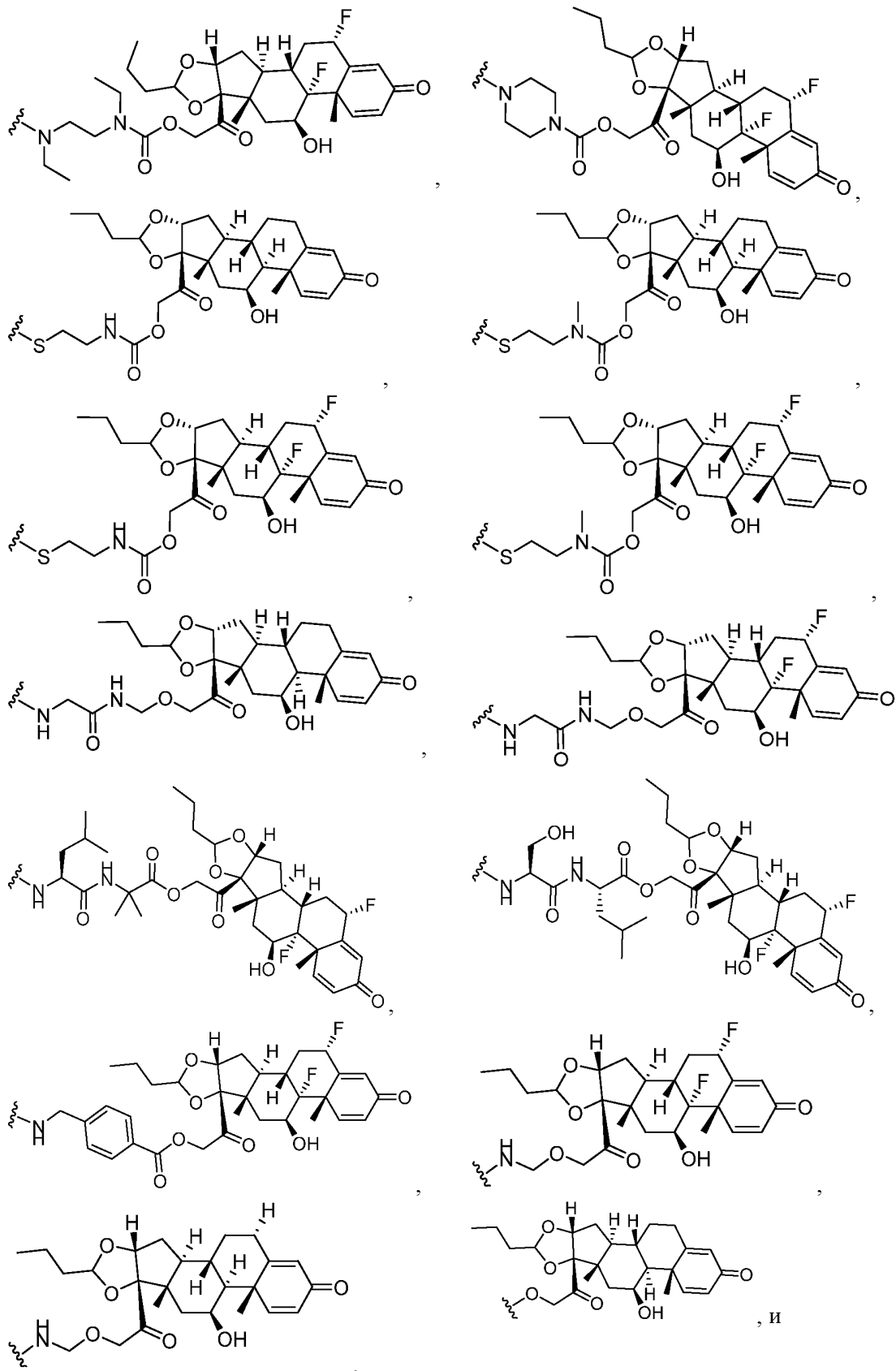
представляет собой
- 87 -

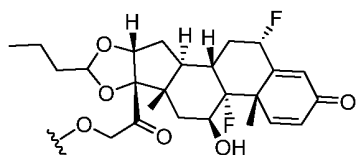
$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где **n** представляет собой 1, 2, 3, 4 или 5. В другом варианте осуществления алкил, гетероалкил, алкиленил или гетероалкиленил сульфокислота представляет собой $-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, где **m** представляет собой 1, 2, 3, 4 или 5.

[00142] Здесь представлены конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с соединением, выбранным из Таблицы 1. В некоторых вариантах осуществления соединение имеет формулу 1d, 1e, 1g или 1h.

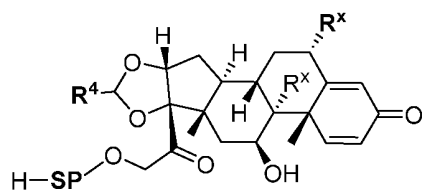
[00143] Здесь также представлены конъюгаты антитело-лекарственное средство формулы **Ab-L-SP-D** или **BA-L-SP-D**, где **D** представляет собой пролекарство будесонида или пролекарство аналога или производного будесонида (включая фторированные аналоги и производные), и где **Ab**, **BA**, **L** и **SP** соответствуют определениям в любом описанном здесь варианте осуществления. В некоторых вариантах осуществления **D** **Ab-**



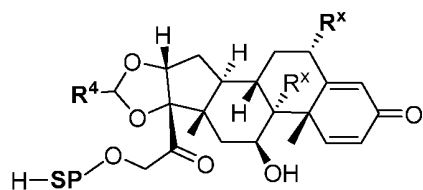




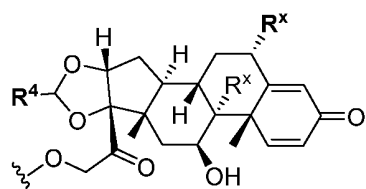
. В некоторых вариантах осуществления **Ab-L-SP-D**, **BA-L-SP-D** и Формулы (III), **SP** i- фрагмент, способный высвобождать **D** или



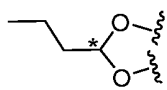
. В некоторых вариантах осуществления в физиологических условиях связь между **L** и **SP** расщепляется, в результате чего высвобождается стероидное пролекарство, т.е. **H-SP-D** или

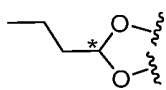


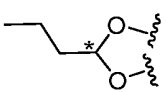
, и связь между **SP** и **D** или между **SP** и

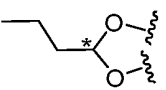


в последующем расщепляется, в результате чего высвобождается биологически активный стероид. В некоторых вариантах осуществления

n-пропил  в каждой из приведенных выше структур представляет собой в R-конфигурации, т.е. на углероде, показанном звездочкой. В некоторых вариантах

осуществления n-пропил  в каждой из приведенных выше структур представляет собой в S-конфигурации, т.е. на углероде, показанном звездочкой. В

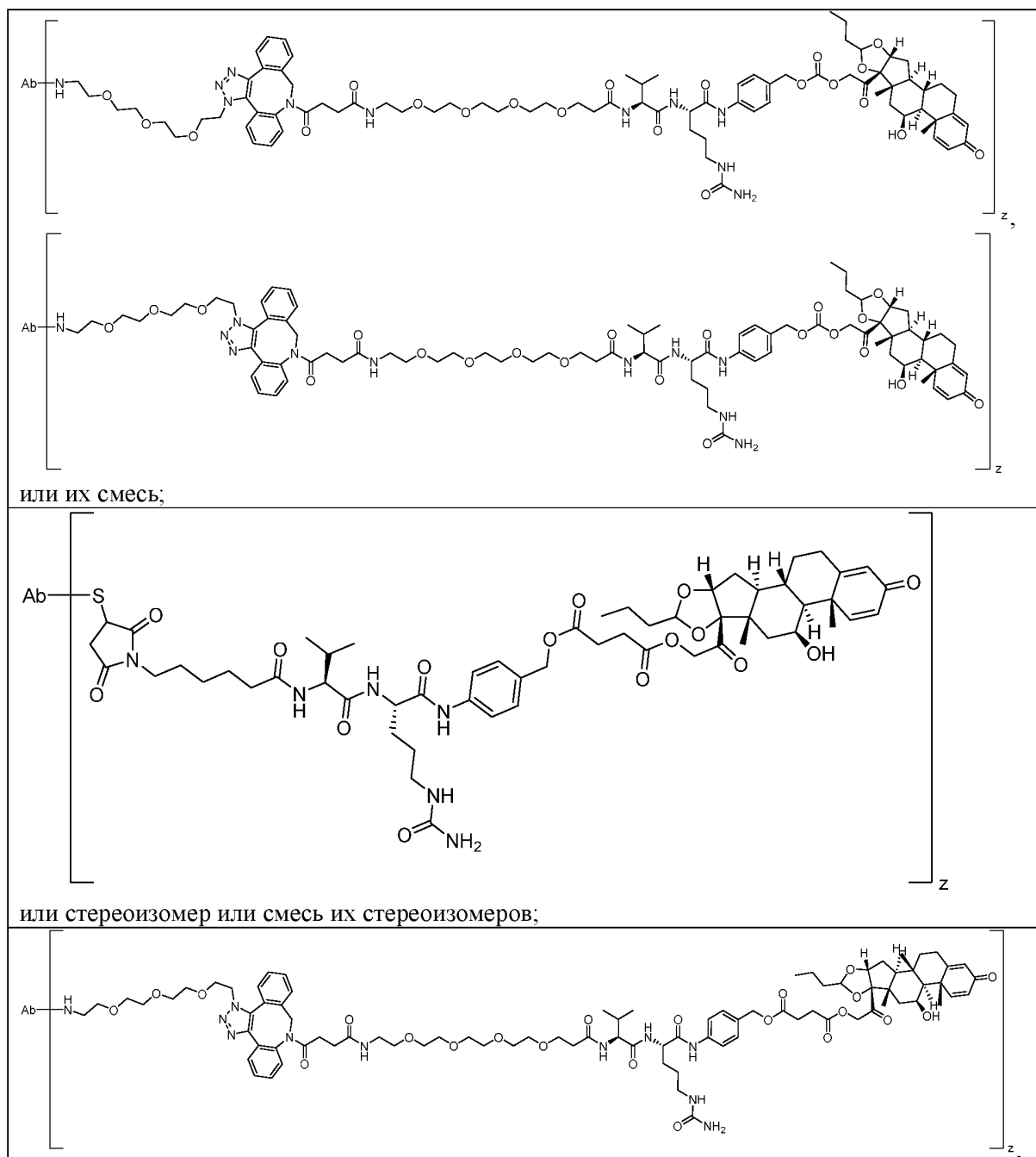
некоторых вариантах осуществления n-пропил  в каждой из приведенных выше структур представляет собой смесь R- и S-конфигураций, т.е. на углероде,

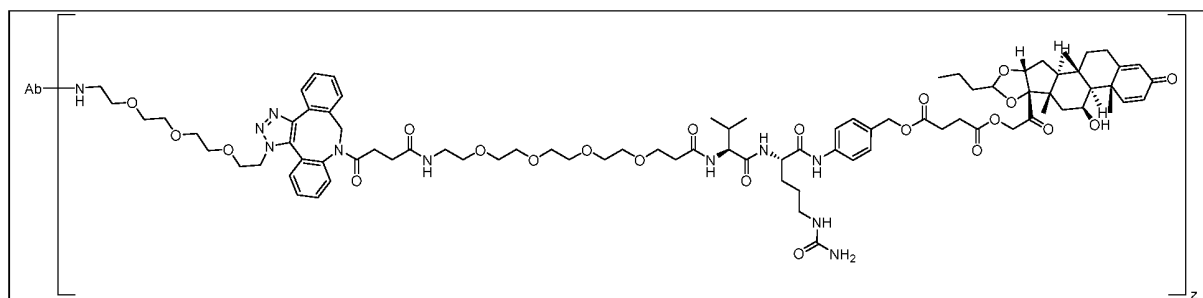
показанном звездочкой. В некоторых вариантах осуществления n-пропил  в каждой из приведенных выше структур представляет собой смесь R- и S-конфигураций, т.е. на углероде, показанном звездочкой, где соотношение R:S представляет собой около

1:1, около 2:1, около 3:1, около 4:1, около 5:1, около 6:1, около 7:1, около 8:1, около 9:1 или около 10:1.

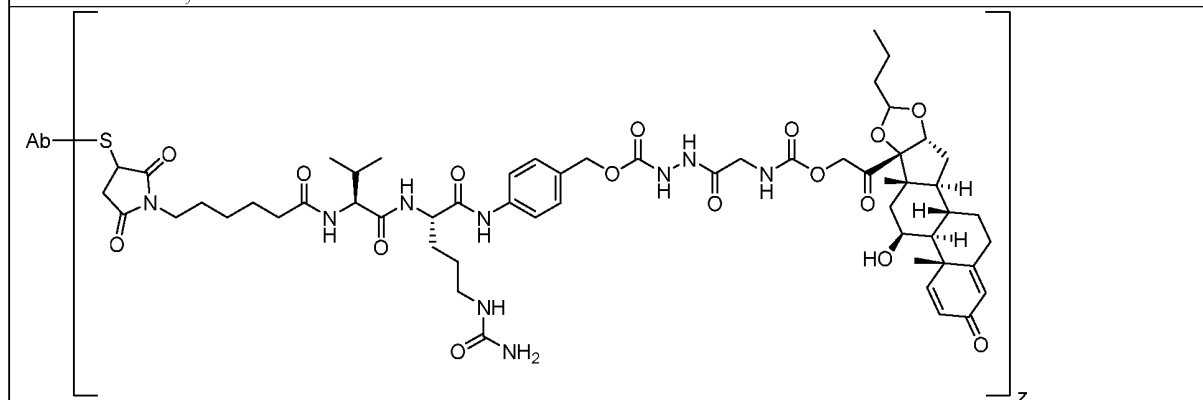
Таблица 3. Конъюгаты антитело-лекарственное средство

[00144] Здесь также представлены конъюгаты антитело-стероид, имеющие следующие формулы:

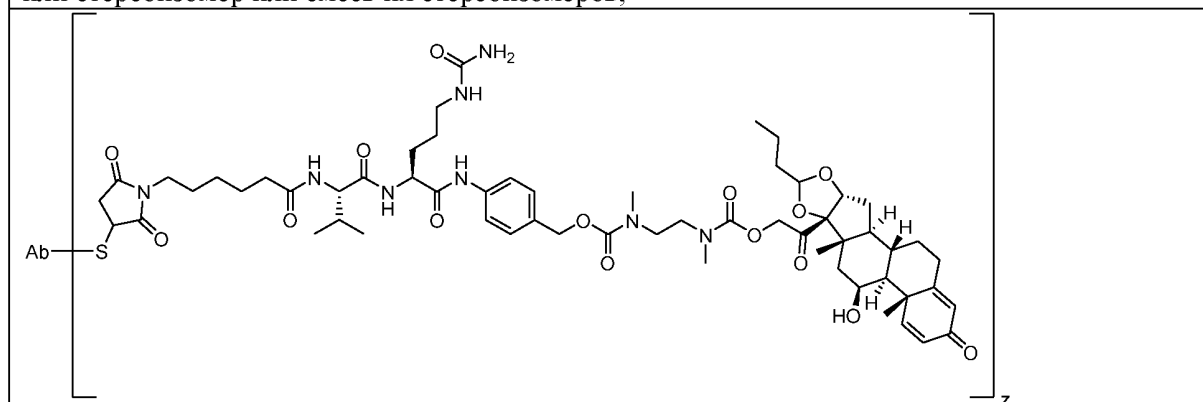




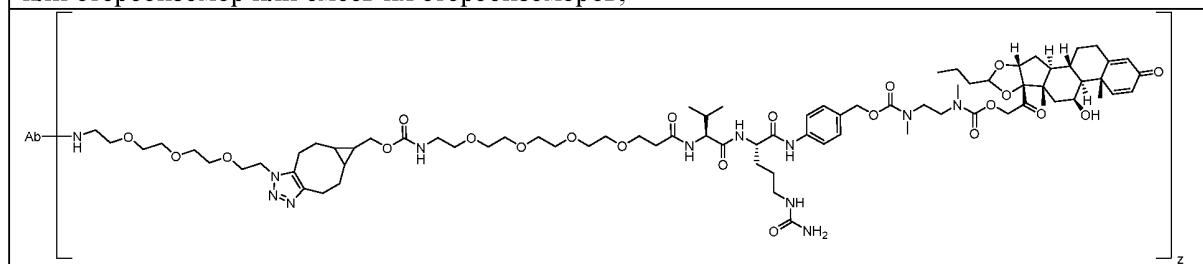
или их смесь;

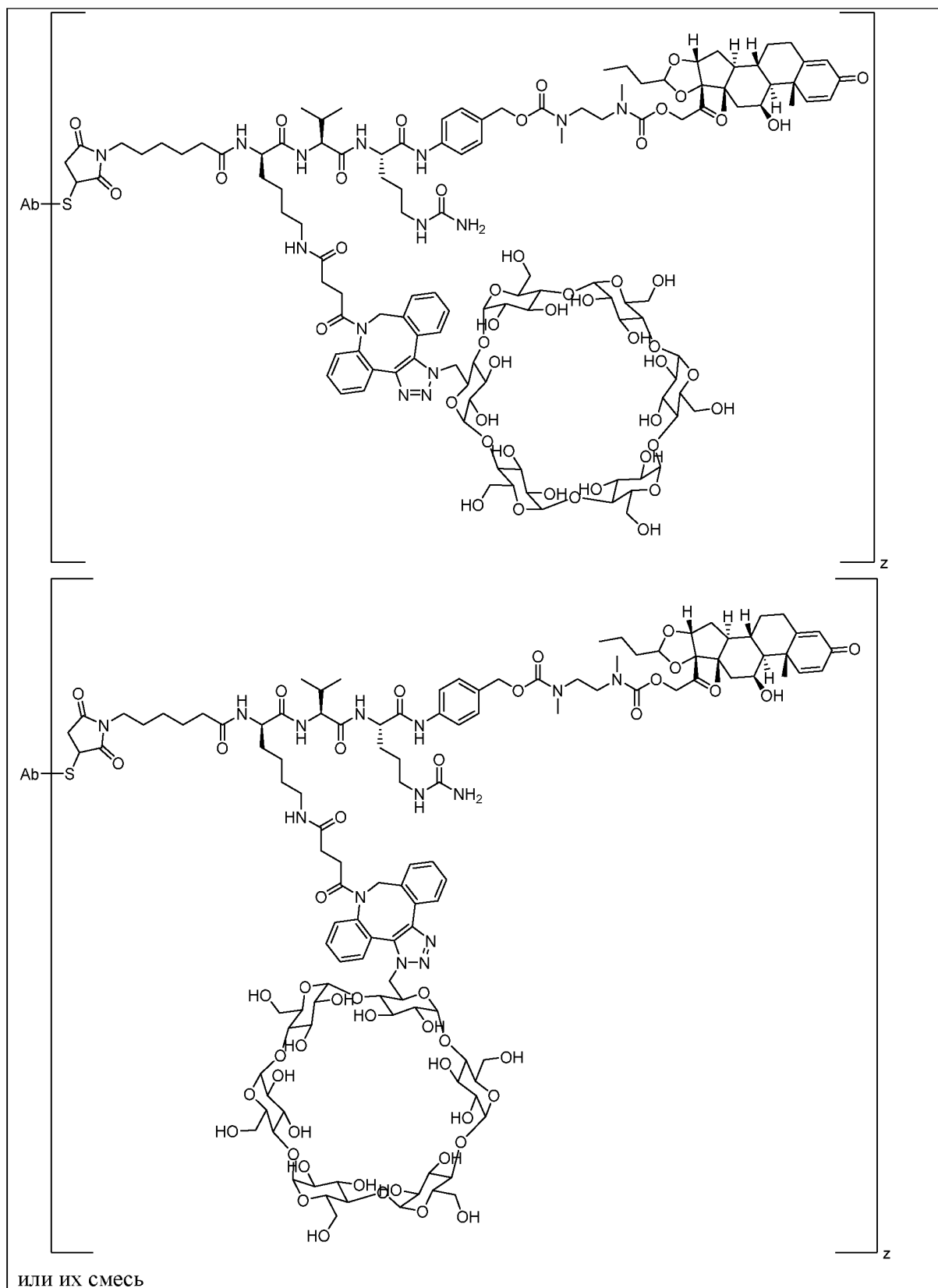


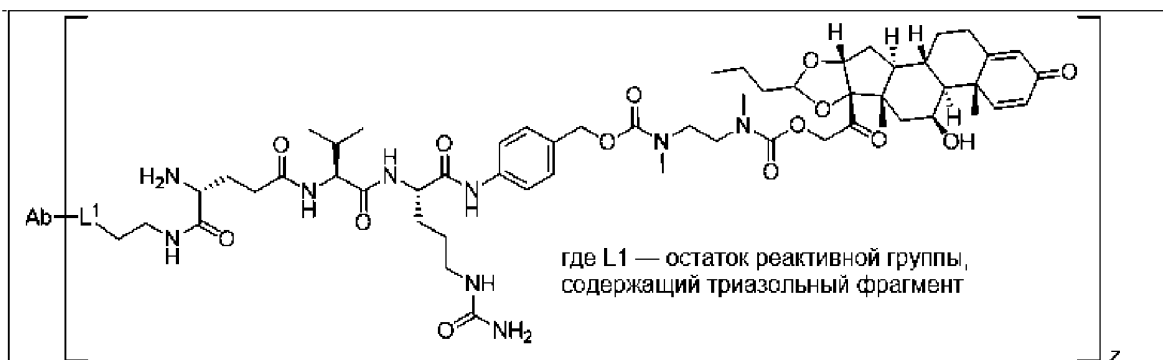
или стереоизомер или смесь их стереоизомеров;



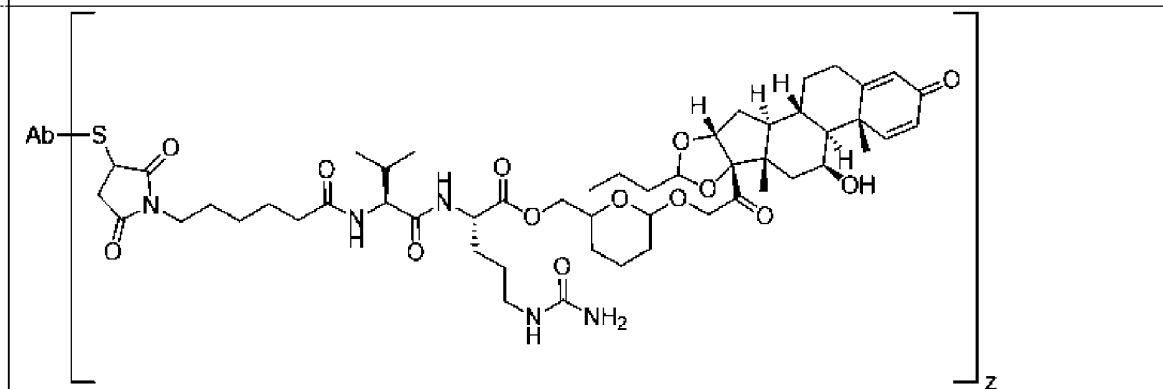
или стереоизомер или смесь их стереоизомеров;



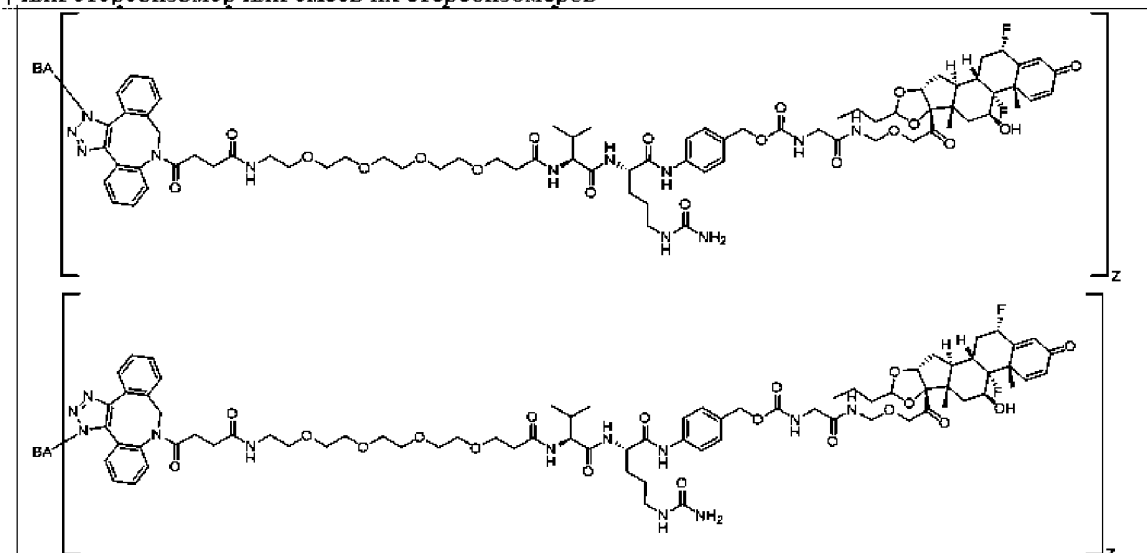




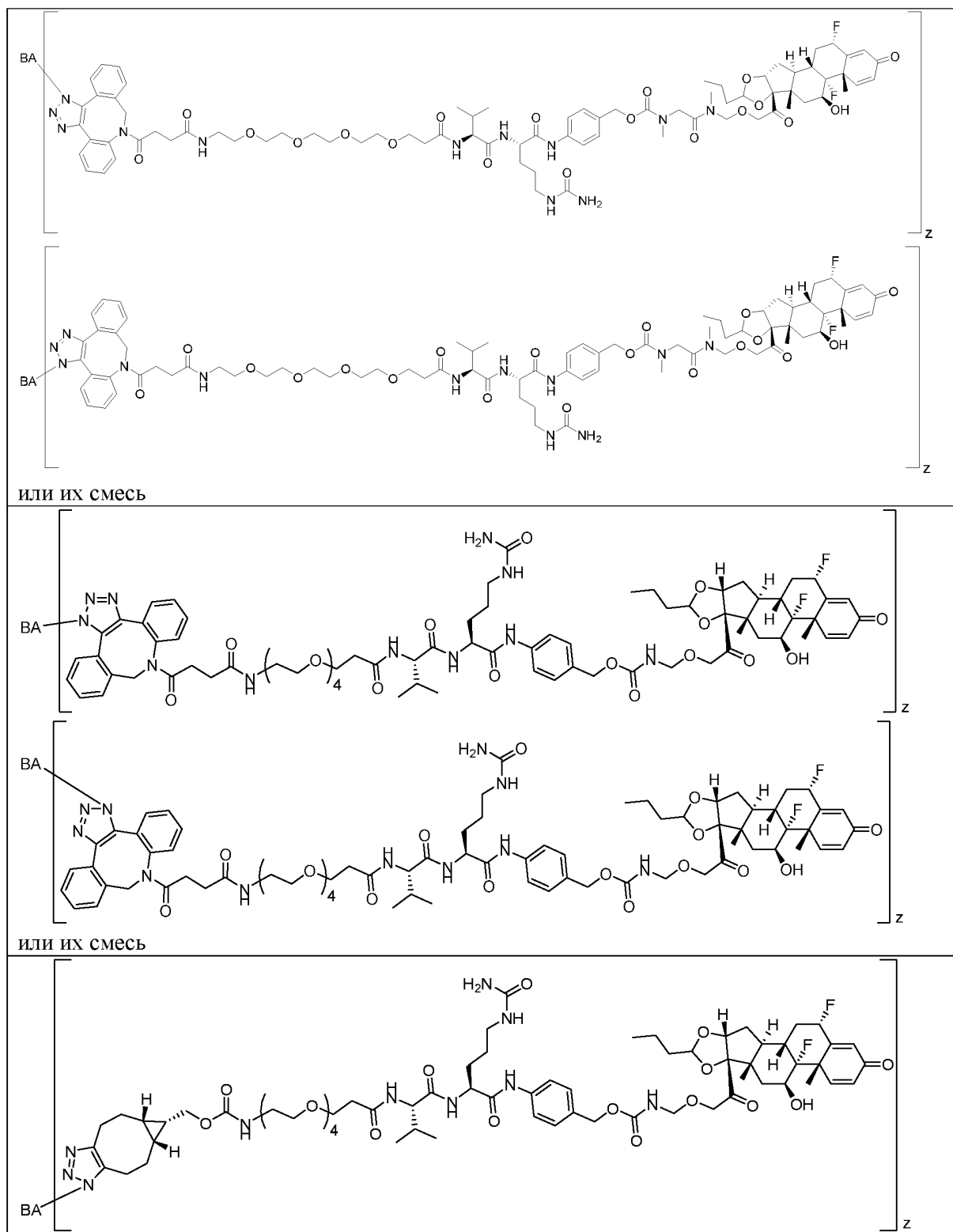
или их смесь

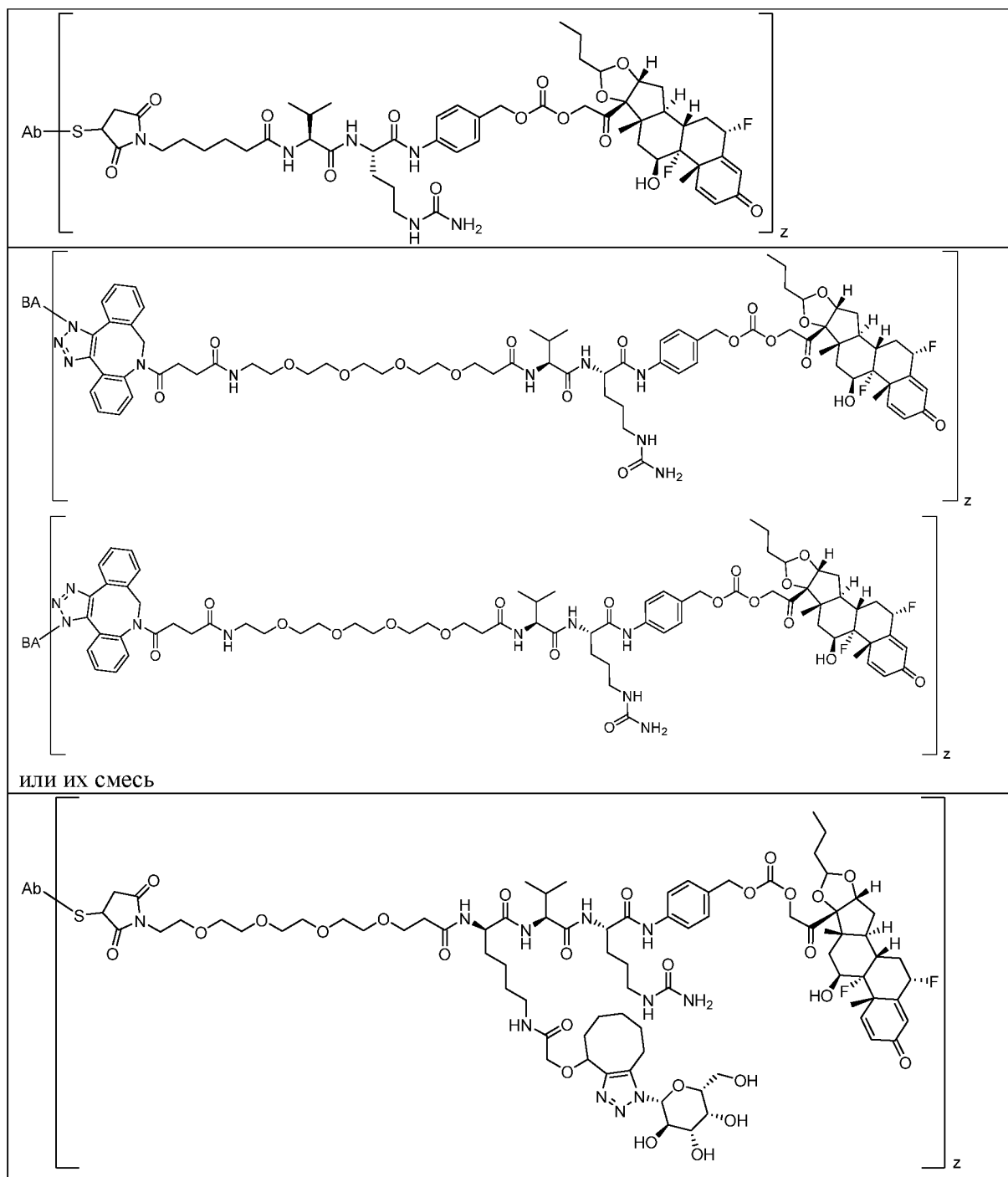


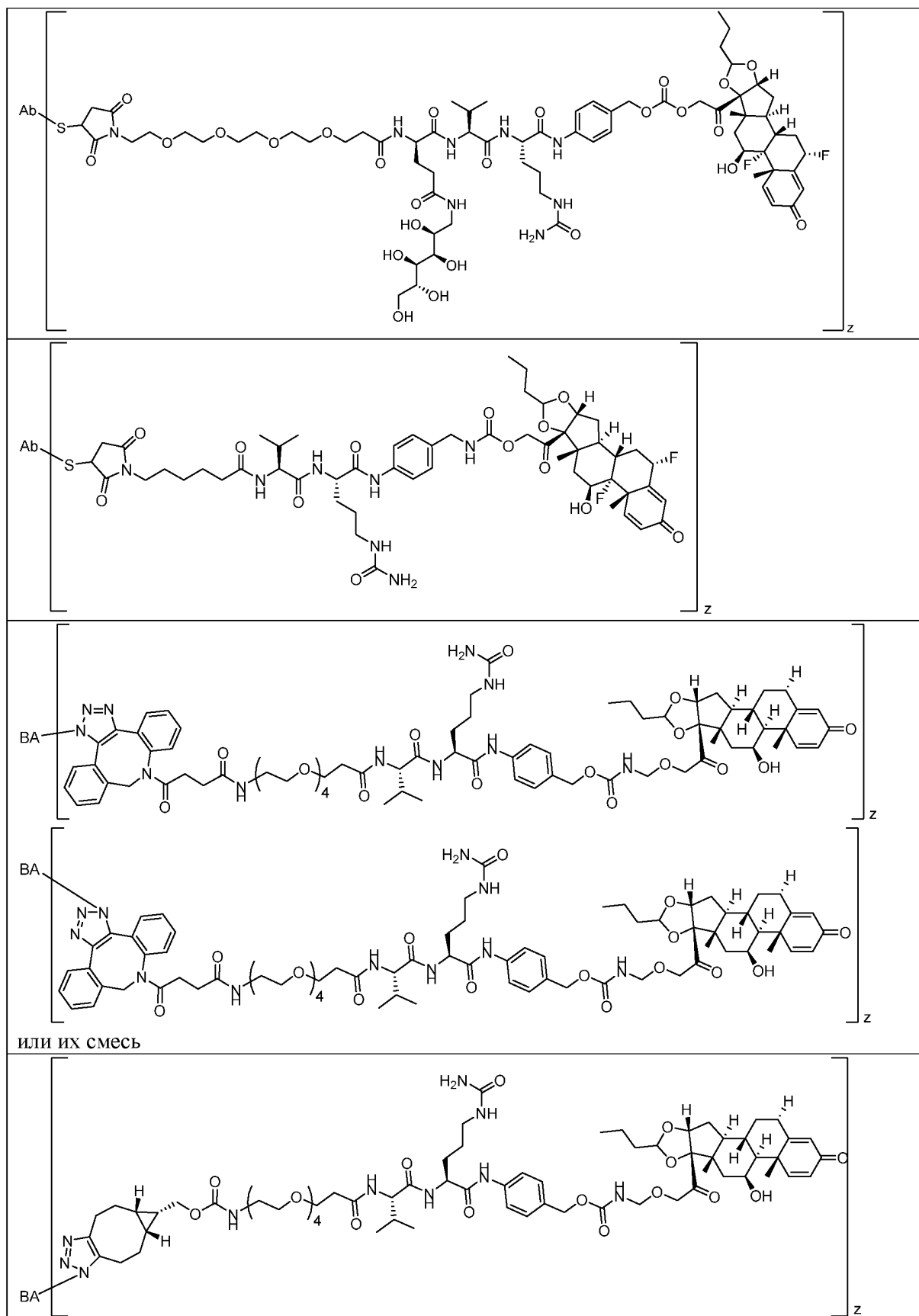
или стереоизомер или смесь их стереоизомеров

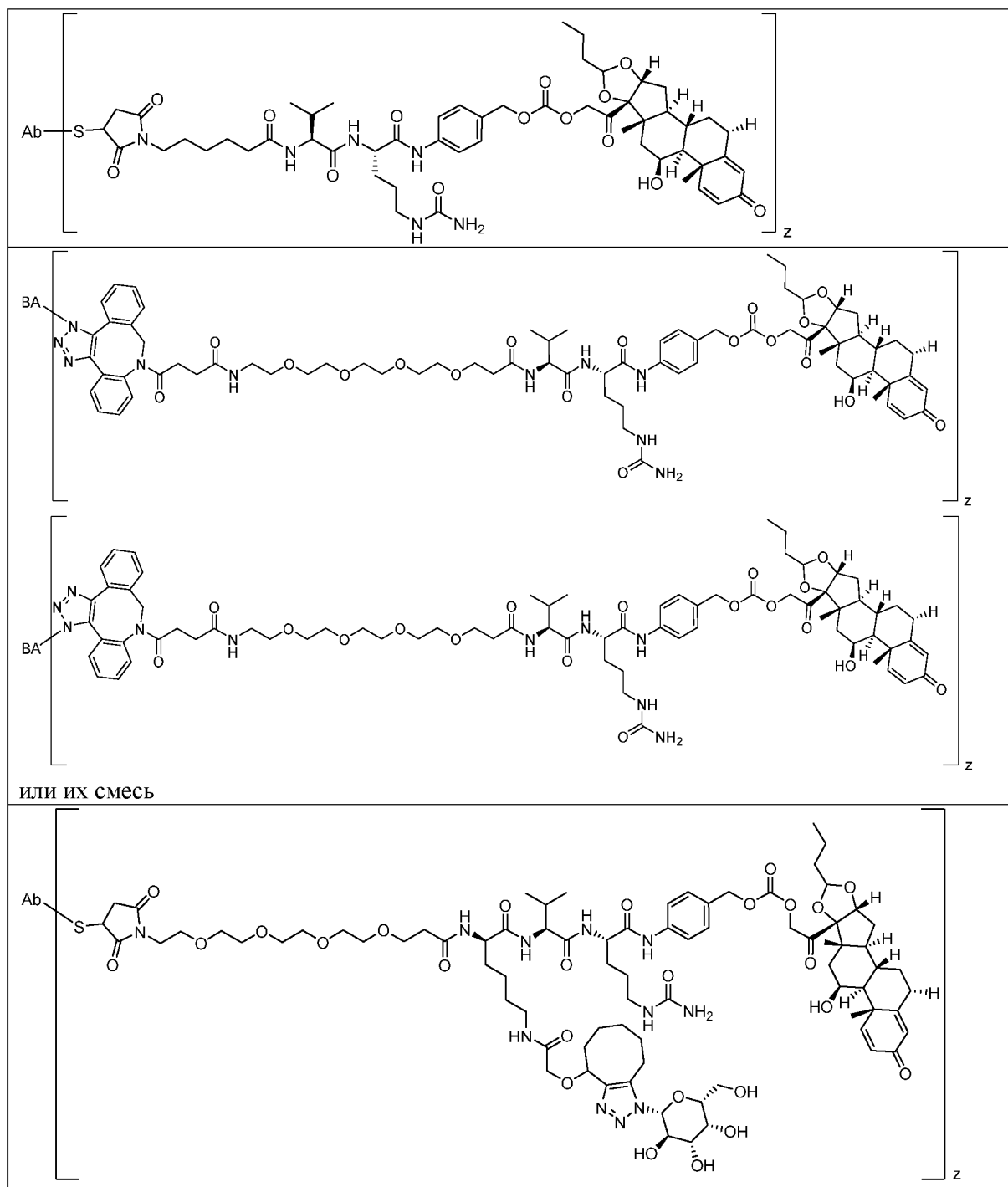


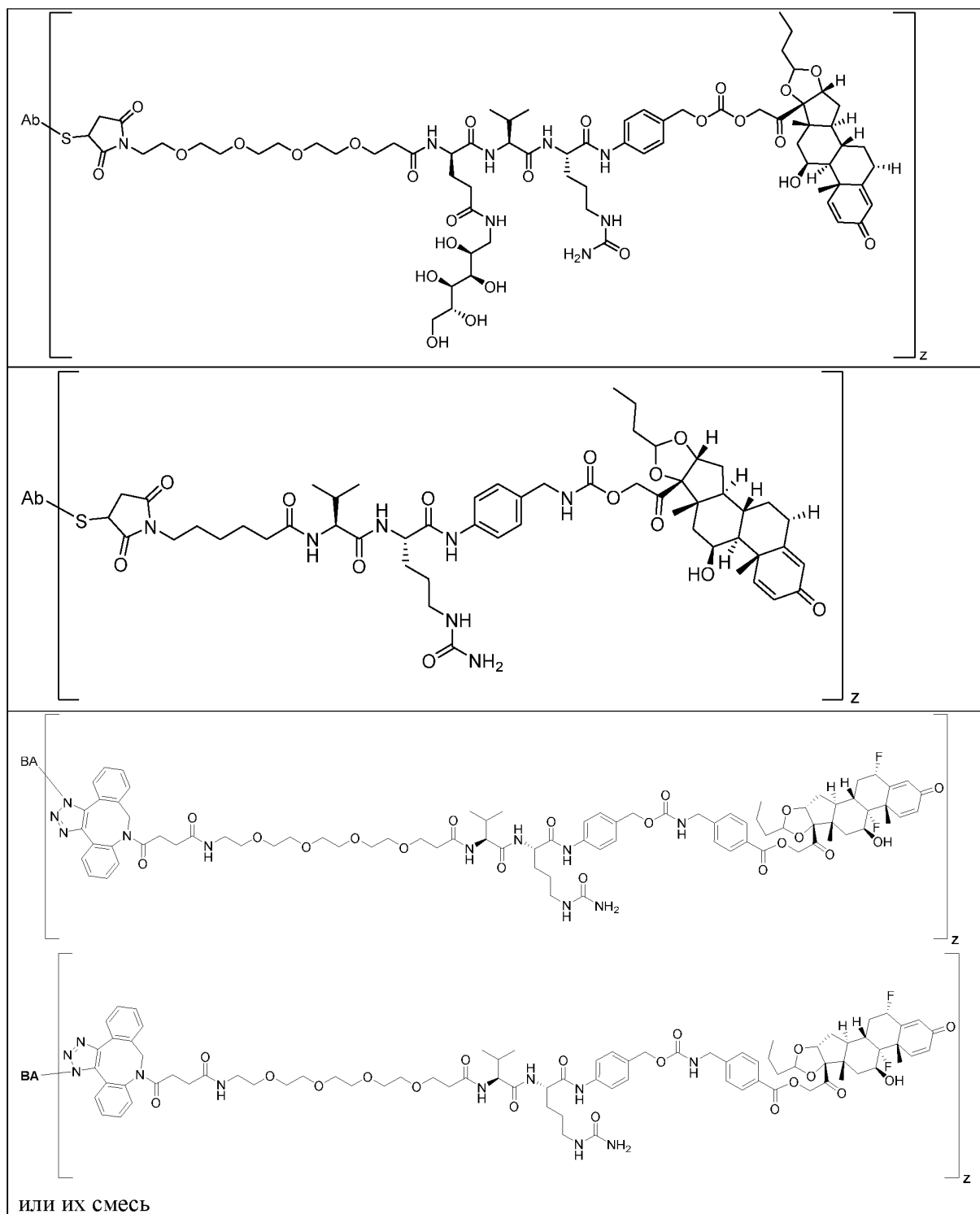
или их смесь

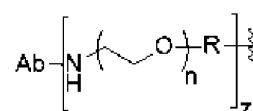
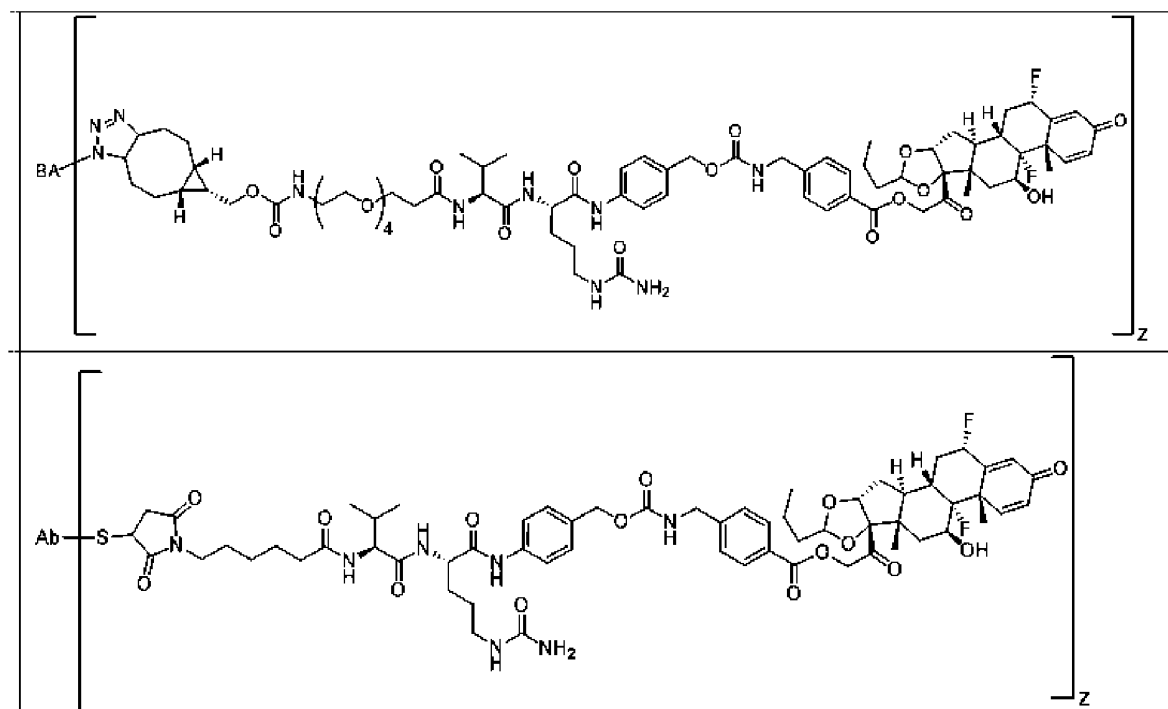








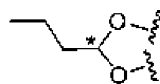




где **BA** содержит антитело, имеющее следующую структуру

моноклональное антитело, поликлональное антитело, фрагмент антитела или биспецифическое антитело; **R** представляет собой C_{2-4} -алкилен; **n** и **m** представляют собой целое число, которое выбирается от 2 до 4, включительно. В некоторых вариантах

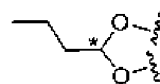
осуществления *n*-пропил



в каждой из приведенных выше структур

представляет собой в *R*-конфигурации, т.е. на углероде, показанном звездочкой. В

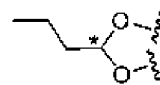
некоторых вариантах осуществления *n*-пропил



в каждой из приведенных

выше структур представляет собой в *S*-конфигурации, т.е. на углероде, показанном

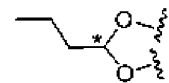
звездочкой. В некоторых вариантах осуществления *n*-пропил



в каждой из

приведенных выше структур представляет собой смесь *R*- и *S*-конфигураций, т.е. на

углероде, показанном звездочкой. В некоторых вариантах осуществления *n*-пропил



в каждой из приведенных выше структур представляет собой смесь *R*- и *S*-конфигураций, т.е. на углероде, показанном звездочкой, где соотношение *R*:*S*

представляет собой около 1:1, около 2:1, около 3:1, около 4:1, около 5:1, около 6:1, около 7:1, около 8:1, около 9:1 или около 10:1.

[00145] В конкретных вариантах осуществления **ВА** представляет собой антитело и **z** представляет собой целое число, которое выбирается от 1-30, включительно. В некоторых вариантах осуществления **z** представляет собой целое число, которое выбирается от 1 до 4, включительно. В некоторых вариантах осуществления **z** представляет собой 4. В некоторых вариантах осуществления **z** представляет собой 2.

[00146] В настоящем документе также представлены конъюгаты связующего агента будесонида, пролекарства будесонида, аналога или производного будесонида (включая фторированные аналоги и производные) или пролекарства аналога или производного будесонида (включая фторированные аналоги и производные).

[00147] Подходящие связующие агенты для любых из конъюгатов, представленных в настоящем описании изобретения, включают, помимо прочего, антитела, лимфокины, гормоны, факторы роста, вирусные рецепторы, интерлейкины или любые другие клеточно-связывающие или пептид-связывающие молекулы или субстанции.

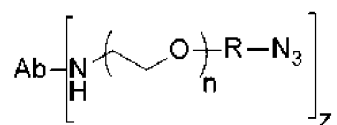
[00148] В некоторых вариантах осуществления связующим агентом является антитело. Термин “антитело” в контексте настоящего документа означает любую антиген-связывающую молекулу или молекулярный комплекс, содержащий минимум одну определяющую комплементарность область (CDR), которые специфически связываются с конкретным антигеном или взаимодействуют с ним. Термин “антитело” включает молекулы иммуноглобулина, содержащие четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные дисульфидными связями, а также их мультимеры (например, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (которая сокращается здесь как HCVR или V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена, C_H1, C_H2 и C_H3. Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (которая сокращается здесь как LCVR или V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (C_L1). V_H и V_L области могут быть далее разделены на области гипервариабельности, обозначаемые как определяющие комплементарность области (CDR), перемежающиеся с областями, которые более консервативны, обозначаемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, организованных от amino-конца до карбокси-конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В некоторых вариантах осуществления FR антитела (или его

антиген-связывающей части) могут быть идентичны человеческим последовательностям зародышевого типа или могут быть естественным или искусственным образом модифицированными. Аминокислотная консенсусная последовательность может быть определена на основании параллельного анализа двух или более CDR.

[00149] Термин “антитело” в контексте настоящего документа также включает антиген-связывающие фрагменты полных молекул антител. Термины “антигенсвязывающая часть” антитела, “антигенсвязывающий фрагмент” антитела и подобные, в контексте настоящего документа, включают любой природный, получаемый ферментативным путем, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывается с антигеном, в результате чего образуется комплекс. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, от полных молекул антител с использованием любых подходящих стандартных методов, таких как протеолитическое расщепление или методы рекомбинантной генетической инженерии, включающие манипуляции и экспрессию ДНК, кодирующей переменные и опционально константные домены антител. Такая ДНК известна, и/или ее можно легко получить, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, например, фаговые библиотеки антител) либо их можно синтезировать. ДНК можно секвенсировать или изменять химически или при помощи методов молекулярной биологии, например, организовывать один или несколько переменных и/или константных доменов в подходящей конфигурации или вводить кодоны, создавать цистеиновые остатки, изменять, добавлять или удалять аминокислоты и т.д.

[00150] Аминокислотная последовательность антитела может быть пронумерована с использованием любых известных схем нумерации, включая схемы, описанные Кабатом и др., (номенклатура Кабата); Al-Lazikani et al., 1997, *J. Mol. Biol.*, 273:927-948 (номенклатура Чотиа); MacCallum et al., 1996, *J. Mol. Biol.* 262:732-745 (номенклатура Contact); Lefranc et al., *Dev. Comp. Immunol.*, 2003, 27:55-77 (номенклатура ImGT); и Honegge and Plückthun, *J. Mol. Biol.*, 2001, 309:657-70 (номенклатура АНо). Если не указано иное, используемая в настоящем документе номенклатура представляет собой номенклатура Кабата. Номенклатура EU обычно применяется в отношении остатка в константной области тяжелой цепи антитела (например, как указывается в Kabat et al., *supra*). Тем не менее, выбор номенклатуры не предполагает наличие различий в последовательностях в случаях, когда они не существуют, и специалист в данной области может легко определить положение последовательности изучением аминокислотной последовательности одного или более антител.

[00151] В некоторых вариантах осуществления антитело **ВА** представляет собой функционализированное антитело, имеющее следующую структуру:



В некоторых вариантах осуществления R представляет собой алкилен, алкенилен или алкинилен. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой алкилен. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой C₂₋₄-алкилен. В определенных вариантах осуществления R представляет собой этилен. В определенных вариантах осуществления n представляет собой 3. В определенных вариантах осуществления z представляет собой 2 или 4.

[00152] В некоторых вариантах осуществления антитело **ВА** не является антителом против ПСМА (PSMA) или антителом против CD70.

[00153] Неограничивающие примеры антиген-связывающих фрагментов **ВА** включают: (i) Fab фрагменты; (ii) F(ab')₂ фрагменты; (iii) Fd фрагменты; (iv) Fv фрагменты; (v) одноцепочечные Fv (scFv) молекулы; (vi) dAb фрагменты; и (vii) минимальные рекогниционные единицы, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, изолированную CDR, такую, как CDR3 пептид) или FR3-CDR3-FR4 пептид с ограниченной конформационной свободой. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, верблюжьи антитела (фрагменты V_HH), антитела с удаленным доменом, химерные антитела, антитела с привитой CDR, диатела, триатела, тетратела, минитела, нанотела (например, одновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и т.д.), иммунофармацевтические средства на основе модульного белка малого размера (SMIP) и вариабельные домены IgNAR акулы, также включаются в выражение "антиген-связывающий фрагмент" в контексте настоящего документа.

[00154] Антиген-связывающий фрагмент антитела обычно содержит минимум один вариабельный домен. Этот вариабельный домент может быть любого размера и может иметь любой аминокислотный состав и обычно содержит минимум одну CDR, которая расположена рядом с одной или несколькими каркасными последовательностями или в рамке с ними. В антиген-связывающих фрагментах с V_H доменом, связанным с V_L доменом, V_H и V_L домены могут быть расположены относительно друг друга любым подходящим образом. Например, вариабельный участок может быть димерным и может

содержать V_H - V_H , V_H - V_L или V_L - V_L димеры. В другом варианте антиген-связывающий фрагмент антитела может содержать мономерный V_H или V_L домен.

[00155] В определенных вариантах осуществления антиген-связывающий фрагмент антитела может содержать минимум один переменный домен, ковалентно соединенный минимум с одним константным доментом. Неограничивающие типовые конфигурации переменных и константных доментов, которые могут находиться в антиген-связывающем фрагменте антитела настоящего изобретения, включают: (i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 ; и (xiv) V_L - C_L . В любой конфигурации переменных и константных доментов, включая любую из указанных выше типовых конфигураций, переменные и константные домены могут быть либо напрямую соединены друг с другом или могут быть соединены полным или частичным шарниром или участком линкера. Шарнир может состоять из минимум 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, в результате чего образуется гибкая или полугибкая связь между рядом расположенными переменными и/или константными доменами в одной полипептидной молекуле. Более того, антиген-связывающий фрагмент антитела настоящего описания изобретения может содержать гомо-димер или гетеро-димер (или другой мультимер) любой из конфигураций переменного и константного домена, описанных выше, в нековалентной связи друг с другом и/или с одним или более мономерным V_H or V_L доменом (например, дисульфидной связью (связями)).

[00156] Как и в случае с молекулами полного антитела, антиген-связывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими). Мультиспецифический антиген-связывающий фрагмент антитела обычно содержит минимум два различных переменных домена, при этом каждый переменный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или с другим эпитопом на том же самом антигене. Любой мультиспецифический формат антитела, включая описанные здесь биспецифические форматы антитела, могут быть адаптированы для использования в контексте антиген-связывающего фрагмента антитела настоящего изобретения при использовании применяемых в данной области стандартных методов.

[00157] Антитела настоящего описания изобретения могут функционировать через комплементзависимую цитотоксичность (CDC) или антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC). "Комплементзависимая

цитотоксичность " (CDC) означает лизис антиген-экспрессирующих клеток антителом настоящего описания изобретения в присутствии комплемента. "Антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность" (ADCC) означает клеточноопосредованную реакцию, в которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют Fc рецепторы (FcR) (например, естественные клетки-киллеры (NK), нейтрофилы и макрофаги), определяют связанное антитело на целевой клетке, приводя, таким образом, к лизису целевой клетки. CDC и ADCC могут быть измерены посредством видов анализа, которые хорошо известны и доступны в данной области. (См., например, Патенты США № 5,500,362 и 5,821,337, и Clynes *et al.* (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652-656). Константная область антитела важна для способности антитела фиксировать комплемент и опосредовать клеточнозависимую цитотоксичность. Таким образом, изотоп антитела может выбираться на основании того, желательно ли, чтобы антитело опосредовало цитотоксичность.

[00158] Антитела, полезные для описанных здесь соединений, включают антитела человека.

Предполагается, что термин "антитело человека" в контексте настоящего документа включает антитела, имеющие переменные и константные области, полученные от последовательностей иммуноглобулина человека зародышевого типа. Антитела человека могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина человека зародышевого типа (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*), например, в CDR и, в частности, в CDR3. Тем не менее, предполагается, что термин "антитело человека" в контексте настоящего документа не включает антитела, в которых CDR последовательности, полученные от зародышевой линии другого вида млекопитающего, например, мыши, были привиты к каркасным последовательностям человека. Термин "антитело человека" не включает молекулы естественного происхождения, которые обычно существуют без модификаций или вмешательства/манипуляций человека в немодифицированном живом организме, встречающемся в природе.

[00159] Антитела настоящего изобретения в некоторых вариантах осуществления могут быть рекомбинантными антителами человека. Предполагается, что термин "рекомбинантное антитело человека" в контексте настоящего документа включает все антитела человека, которые приготавливаются, экспрессируются, создаются или выделяются рекомбинантными способами, такие как антитела, экспрессированные при

помощи рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина (описано далее), антитела, выделенные из рекомбинантной, комбинаторной библиотеки антител человека (описано далее), антитела, выделенные из животного (например, мыши), трансгенного для генов иммуноглобулина человека (см., например, Taylor *et al.* (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, которые приготавливаются, экспрессируются, создаются или изолируются любыми другими способами, которые включают сплайсинг последовательностей гена иммуноглобулина человека в другие последовательности ДНК. Такие рекомбинантные антитела человека имеют переменные и константные области, полученные от последовательностей иммуноглобулина человека зародышевого типа. В некоторых вариантах осуществления, тем не менее, такие рекомбинантные антитела человека подвергаются *in vitro* мутагенезу (или, когда используется животное, трансгенное для последовательностей Ig человека, *in vivo* соматическому мутагенезу) и, таким образом, аминокислотные последовательности участков V_H и V_L рекомбинантных антител являются последовательностями, которые, если они получены от V_H и V_L последовательностей зародышевой линии человека или родственны им, не могут естественным образом существовать в зародышевом наборе антител человека *in vivo*.

[00160] Антитела человека могут существовать в двух формах, которые связаны с гетерогенностью шарнира. В одной форме молекула иммуноглобулина содержит стабильную четырехцепочечную конструкцию приблизительно 150-160 кДа, в которой димеры удерживаются вместе с помощью межцепочечной дисульфидной связи между тяжелыми цепями. Во второй форме димеры не связаны между собой через межцепочечные дисульфидные связи, и образуется молекула около 75-80 кДа, состоящая из ковалентно связанных легких и тяжелых цепей (полуантитело). Эти формы чрезвычайно трудно разделить, даже после аффинной очистки.

[00161] Частота появления второй формы в различных изотипах интактных IgG обусловлена, помимо прочего, структурными различиями, связанными с изотипом шарнирного участка антитела. Единичная аминокислотная замена в шарнирном участке шарнира IgG4 человека может значительно уменьшить появление второй формы (Angal *et al.* (1993) Molecular Immunology 30:105) до уровней, обычно наблюдаемых при использовании шарнира IgG1 человека. Настоящее изобретение охватывает антитела, имеющие одну или несколько мутаций в шарнире, C_H2 или C_H3 участке, что может оказаться желательным, например, в производстве для повышения выхода требуемой формы антитела.

[00162] Антителами, полезными для описанных здесь соединений, могут быть выделенные антитела. "Выделенное антитело" в контексте настоящего документа означает антитело, которое было идентифицировано и отделено и/или получено, по меньшей мере, от одного компонента его окружающей среды. Например, антитело, которое было отделено или удалено, по меньшей мере, из одного компонента организма или из ткани или клетки, в которой антитело существует естественным образом или образуется естественным образом, является "выделенным антителом" для целей настоящего изобретения. Выделенное антитело также включает антитело *in situ* внутри рекомбинантной клетки. Выделенными антителами являются антитела, которые подверглись, по меньшей мере, одной стадии очистки или выделения. В соответствии с определенными вариантами осуществления выделенное антитело может быть в существенной степени свободно от другого клеточного материала и/или химических веществ.

[00163] Антитела, полезные для описанных здесь соединений, могут содержать одну или несколько аминокислотных замен, вставок и/или делеций в каркасном и/или CDR участках переменных доменов тяжелой и легкой цепи, по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевой линии, из которой антитела были получены. Такие мутации могут быть легко установлены путем сравнения аминокислотных последовательностей, описанных в настоящем документе, с последовательностями зародышевой линии, например, из общедоступных баз данных последовательностей антител. Настоящее изобретение включает антитела и его антиген-связывающие фрагменты, которые получены от любой из аминокислотных последовательностей, описанных в настоящем документе, где одна или несколько аминокислот в пределах одного или нескольких каркасных и/или CDR участков мутируют в соответствующий остаток (остатки) последовательности зародышевой линии, из которой антитело было получено, или соответствующий остаток (остатки) другой последовательности зародышевой линии человека, или в консервативную аминокислотную замену соответствующего остатка (остатков) зародышевой линии (такие изменения последовательности называются в настоящем документе в совокупности "герминативные мутации"). Специалист в данной области, начиная с последовательностей переменных участков тяжелой и легкой цепи, описанных в настоящем документе, может получить множество антител и антиген-связывающих фрагментов, которые содержат одну или несколько отдельных герминативных мутаций или их комбинации. В определенных вариантах осуществления все каркасные и/или CDR

остатки в V_H и/или V_L доменах мутируют обратно в остатки, обнаруживаемые в исходной герминативной последовательности, от которой антитело было получено. В других вариантах осуществления только определенные остатки мутируют обратно в исходную герминальную последовательность, например, только мутированные остатки, обнаруживаемые в пределах первых 8 аминокислот FR1 или в пределах последних 8 аминокислот FR4, или только мутированные остатки, обнаруживаемые в CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления один или несколько каркасных и/или CDR остатков (остаток) мутируют в соответствующие остатки (остаток) другой герминативной последовательности (т.е. герминативной последовательности, которая отличается от герминативной последовательности, от которой антитело было получено изначально). Более того, антитела настоящего изобретения могут содержать любую комбинацию из двух или более герминативных мутаций в пределах каркасного и/или CDR участка, например, где определенные индивидуальные остатки мутируют в соответствующий остаток определенной герминативной последовательности, в то время как некоторые другие остатки, которые отличаются от исходной герминативной последовательности, сохраняются или мутируют в соответствующий остаток другой герминативной последовательности. После их получения антитела и антиген-связывающие фрагменты, которые содержат одну или несколько герминативных мутаций, можно проверить на одно или более необходимых свойств, например, на улучшение специфичности связывания, увеличение аффинности связывания, улучшение или усиление антагонистических или агонистических биологических свойств (в зависимости от обстоятельств), снижение иммуногенности и т.д.

[00164] В некоторых вариантах осуществления антителом является моноклональное антитело, поликлональное антитело, фрагмент антитела (Fab, Fab' и F(ab)₂, минитело, диатело, триотело и подобные) или биспецифическое антитело. Описанные здесь антитела могут быть гуманизированными с использованием методов, описанных в Патенте США № 6,596,541 и Публикации США № 2012/0096572, содержание которых включается в настоящий документ полностью посредством ссылки.

[00165] Когда связующим агентом является антитело, оно связывается с антиген-связывающим партнером, который является полипептидом и может быть трансмембранной молекулой (например, рецептором) или фактором роста, который может быть гликозилированным или фосфорилированным.

[00166] Подходящие мишени, с которыми связывается связующий агент, включают любую мишень/антиген, для которой желательна избирательная доставка стероида. В

некоторых вариантах осуществления связующим агентом является антитело, модифицированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с мишенью, выбираемой из: AXL, BAFFR, BCMA, компонентов списка BCR, BDCA2, BDCA4, BTLA, BTNL2 BTNL3, BTNL8, BTNL9, C10orf54, CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR9, CCR10, CD11c, CD137, CD138, CD14, CD168, CD177, CD19, CD20, CD209, CD209L, CD22, CD226, CD248, CD25, CD27, CD274, CD276, CD28, CD30, CD300A, CD33, CD37, CD38, CD4, CD40, CD44, CD45, CD46, CD47, CD48, CD5, CD52, CD55, CD56, CD59, CD62E, CD68, CD69, CD70, CD74, CD79a, CD79b, CD8, CD80, CD86, CD90.2, CD96, CLEC12A, CLEC12B, CLEC7A, CLEC9A, CR1, CR3, CRTAM, CSF1R, CTLA4, CXCR1/2, CXCR4, CXCR5, DDR1, DDR2, DEC-205, DLL4, DR6, FAP, FcαR, FcγR, FcγR's, Fire, GPCR, HER2, HHLA2, HLA class II, HVEM, ICOSLG, IFNLR1, IL10R1, IL10R2, IL12R, IL13RA1, IL13RA2, IL15R, IL17RA, IL17RB, IL17RC, IL17RE, IL20R1, IL20R2, IL21R, IL22R1, IL22RA, IL23R, IL27R, IL29R, IL2Rg, IL31R, IL36R, IL3RA, IL4R, IL6R, IL5R, IL7R, IL9R, Integrins, LAG3, LIFR, MAG/Siglec-4, MMR, MSR1, NCR3LG1, NKG2D, NKp30, NKp46, PDCD1, PRLR, PROKR1, PVR, PVRIG, PVRL2, PVRL3, RELT, SIGIRR, Siglec-1, Siglec-10, Siglec-5, Siglec-6, Siglec-7, Siglec-8, Siglec-9, SIRPA, SLAMF7, TACI, компонентов/ассоц. списка TCR, PTCRA, TCRb, CD3z, CD3, TEK, TGFB1, TGFB2, TGFB3, TIGIT, TLR2, TLR4, TNF-α, TROY, TSLPR, TYRO, VLDLR, VSIG4 и VTCN1. В некоторых вариантах осуществления связующим агентом является адалимумаб или инфликсимаб. В некоторых вариантах осуществления связующим агентом является алемтузумаб, муромонаб, ритуксимаб, тоситузумаб или агонистические антитела (где иммунная стимуляция может быть частью желаемого механизма действия).

[00167] Экспрессионный рецептор пролактина, "PRLR," и подобные, в контексте настоящего документа, означают рецептор пролактина человека, содержащий аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO:404 в документе WO2015026907, содержание которого включается в настоящий документ полностью посредством ссылки. Экспрессионный "PRLR" включает молекулы и мономерного, и мультимерного PRLR. В контексте настоящего документа экспрессионный "мономерный человеческий PRLR" означает белок PRLR или его часть, которая не содержит или включает любые мультимеризирующие домены и которая существует в нормальных условиях как одиночная молекула PRLR без прямого физического соединения с другой молекулой PRLR. Примером молекулы мономерного PRLR является молекула, обозначаемая здесь как "hPRLR.mmh", содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:401 в документе WO2015026907 (см., например, Пример 3 в WO2015026907).

В контексте настоящего документа экспрессионный "димерный человеческий PRLR" означает конструктор, содержащий две молекулы PRLR, соединенные друг с другом при помощи линкера, ковалентной связи, нековалентной связи или при помощи мультимеризационного домена, такого как домен Fc антитела. Примером молекулы димерного PRLR является молекула, которая обозначается здесь как "hPRLR.mFc", содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:402 в WO2015026907 (см., например, Пример 3 в WO2015026907).

[00168] Примеры антител против PRLR перечислены в Таблице 1 в WO2015026907, где изложены идентификаторы аминокислотной последовательности представляет собой или существенно похожей последовательности, идентичной минимум на 90%, минимум на 95%, минимум на 98% или минимум на 99% представляет собой переменных областей тяжелой цепи (HCVR), переменных областей легкой цепи (LCVR), определяющих комплементарность областей тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и определяющих комплементарность областей легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) примеров антител против PRLR. В Таблице 2 в WO2015026907 представлены идентификаторы нуклеотидной последовательности представляет собой или существенно похожей последовательности, идентичной минимум на 90%, минимум на 95%, минимум на 98% или минимум на 99% представляет собой HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2 HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 примеров антител против PRLR.

[00169] В некоторых вариантах осуществления антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, конъюгированным с линкер-нагрузкой или нагрузкой, может быть антитело, мишенью для которого является человеческий рецептор пролактина (PRLR). Примеры антител против PRLR можно обнаружить, например, в WO 2015/026907. В некоторых вариантах осуществления антитело против PRLR содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR)-1, содержащую SEQ ID NO: 17; HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 19; HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 20; определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR)-1, содержащую SEQ ID NO: 22; LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 23; и LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления антитело против PRLR содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую SEQ ID NO: 17, и переменную область легкой цепи (LCVR), содержащую SEQ ID NO: 21. В любом из вышеприведенных вариантов осуществления антитело против PRLR можно приготовить посредством сайт-направленного мутагенеза с целью включения глутаминового остатка в сайт без "отключения" функции антитела или связывания. Например, в любом из

вышеприведенных вариантов осуществления антитело против PRLR может содержать Asn297Gln (N297Q) мутацию. Такие антитела, имеющие N297Q мутацию, также могут содержать одну или более дополнительных природных глутаминовых остатков в их переменных областях, которые могут быть доступны для трансглутаминазы и, следовательно, способны к конъюгации с нагрузкой или линкер-нагрузкой (Таблица В).

Таблица В. Последовательности иллюстративного антитела H1H6958N (против PRLR)

SEQ ID NO:	Молекула / Антитело	Область	Последовательность
17	H1H6958N	HCVR	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCGASGFTFRNYGMQWVRQGP GKGLEWVTLISFDGNDKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQM NSLRTEDTAVYYCARGGDFDYWGQGTLVTVSS
18	H1H6958N	HCDR1	GFTFRNYG
19	H1H6958N	HCDR2	ISFDGNDK
20	H1H6958N	HCDR3	ARGGDFDY
21	H1H6958N	LCVR	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDIRKDLGWYQQKPGK APKRLIYAASSLHSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCLQHNSYPMYTFGQGTKLEIK
22	H1H6958N	LCDR1	QDIRKD
23	H1H6958N	LCDR2	AAS
24	H1H6958N	LCDR3	LQHNSYPMYT
25	hPRLR экто- ММН		MHRPRRRGTRPPPLALLAALLAARGADAQLPPGKPEIFKCR SPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSLTYHREGETLMHECPDYI TGGPNSCHFGKQYTSMWRTYIMMVNATNQ _{Mr} SSFSDELYVD VTYIVQDPPLELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLKTG WFTLLYEIRLKPEKAAEWEIH FAGQQTEFKILSLHPGQKYL VQ VRCKPDHGYWSAWSPATFIQIPSDFTMNDEQKLISEEDLGGE QKLISEEDLHHHHHH

[00170] В любом из представленных вариантов осуществления соединения или конъюгата ВА представляет собой антитело или его антиген-связывающий фрагмент, которые связываются с PRLR. В любом из представленных вариантов осуществления соединения или конъюгата ВА представляет собой антитело или его антиген-связывающий фрагмент, и конъюгация осуществляется минимум через один остаток Q295. В любом из представленных вариантов осуществления соединения или конъюгата ВА представляет собой антитело или его антиген-связывающий фрагмент, и конъюгация осуществляется через два остатка Q295. В любом из представленных вариантов осуществления соединения или конъюгата ВА представляет собой антитело N297Q или

его антиген-связывающий фрагмент. В любом из представленных вариантов осуществления соединения или конъюгата ВА представляет собой антитело N297Q или его антиген-связывающий фрагмент, и конъюгация осуществляется минимум через один остаток Q295 и минимум один остаток Q297. В любом из представленных вариантов осуществления соединения или конъюгата ВА представляет собой антитело N297Q или его антиген-связывающий фрагмент, и конъюгация осуществляется через два остатка Q295 и два остатка Q297. В конкретных вариантах осуществления номенклатура соответствует номенклатуре EU.

[00171] В любом из вышеприведенных вариантов осуществления ВА представляет собой антитело против MSR1. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело против MSR1 H1H21234N. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело против MSR1 H1H21234N N297Q. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело против MSR1, содержащее HCVR в соответствии с SEQ ID NO:2 и LCVR в соответствии с SEQ ID NO:10. В определенных вариантах осуществления ВА представляет собой антитело против MSR1, содержащее одну, две, три, четыре, пять или шесть HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 в соответствии с SEQ ID NOS:4, 6, 8, 12, 14 и 16, соответственно. В определенных вариантах осуществления HCVR кодируется SEQ ID NO:1. В определенных вариантах осуществления LCVR кодируется SEQ ID NO: 9. В определенных вариантах осуществления одна, две, три, четыре, пять или шесть HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 кодируются полинуклеотидными последовательностями SEQ ID NOS: 3, 5, 7, 11, 13 и 15, соответственно. N297Q показывает, что один или более остатков 297 мутированные из аспарагина (N) в глутамин (Q). Предпочтительно, каждый остаток 297 мутированный в Q. В предпочтительных вариантах осуществления номенклатура соответствует номенклатуре EU. В определенных вариантах осуществления данного пункта z представляет собой от 1 до 4. В определенных вариантах осуществления z представляет собой 1, 2, 3 или 4. В определенных вариантах осуществления z представляет собой 2. В определенных вариантах осуществления z представляет собой 4.

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Молекула / Антитело</u>	<u>Область</u>	<u>Последовательность</u>
1			caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc acctgcactg tctactggtg ctcctcagc aggaactact ggagttgat ccggcagccc ccagggaagg gactggaatg gattggatat atctattaca gtgggagtat cgactacaat ccctccctca agagtcgagt caccatata gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg aagctgagtt ctatgaccgc tgcggacacg gccgtatact actgtgcgag agatcggtgg

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Молекула / Антитело</u>	<u>Область</u>	<u>Последовательность</u>
			aactggaaat acggtatgga cgtctggggc caagggaacca cggtcacgt ctcgtca
2			Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Gly Ser Ile Ser Arg Asn Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ile Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Met Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Trp Asn Trp Lys Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Ile Val Ser Ser
3			ggtggctcca tcagtaggaa ctac
4			Gly Gly Ser Ile Ser Arg Asn Tyr
5			atctattaca gtgggagtat c
6			Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ile
7			gcgagagatc ggtggaactg gaaatacggg atggacgtc
8			Ala Arg Asp Arg Trp Asn Trp Lys Tyr Gly Met Asp Val
9			gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtcttgt ctccagggga aagagccacc ctctcctgca gggccagtca gactgttaga aacaactact tagcctggta ccaccagaaa cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatcca gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag cctgaagatt ttacagtgtg ttactgtcac cagtatggta actcaccttg gacgttcggc caagggaacca aaatggaaat caaacga
10			Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Arg Asn Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Thr Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Met Glu Ile Lys Arg
11			cagactgtta gaaacaacta c
12			Gln Thr Val Arg Asn Asn Tyr
13			ggtgcatcc
14			Gly Ala Ser
15			caccagtatg gtaactcacc ttggacg
16			His Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Trp Thr

[00172] Связующий агент, например, антитело или антиген-связывающая молекула, может содержать линкер, связанный со связывающим агентом через присоединение на определенной аминокислоте в пределах антитела или антиген-связывающей молекулы. Иллюстративные аминокислотные присоединения, которые могут использоваться в контексте данного аспекта настоящего описания изобретения, включают, например, лизин (см., например, US 5,208,020; US 2010/0129314; Hollander *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 2008, 19:358–361;

WO 2005/089808; US 5,714,586; US 2013/0101546; и US 2012/0585592), цистеин (см., например, US 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; US 2013/0101546; и US 7,750,116), селеноцистеин (см., например, WO 2008/122039; и Hofer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2008, 105:12451–12456), формил глицин (см., например, Carrico *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3:321–322; Agarwal *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2013, 110:46–51, и Rabuka *et al.*, *Nat. Protocols*, 2012, 10:1052–1067), неприродные аминокислоты (см., например, WO 2013/068874 и WO 2012/166559), и кислые аминокислоты (см., например, WO 2012/05982). Линкеры могут быть конъюгированы через глутамин через хемо-ферментную конъюгацию на основе транsgлутаминазы (см., например, Dennler *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 2014, 25, 569–578). Линкеры также могут быть конъюгированы с антиген-связывающим белком через присоединение к углеводам (см., например, US 2008/0305497, WO 2014/065661 и Ryan *et al.*, *Food & Agriculture Immunol.*, 2001, 13:127–130) и дисульфидным линкерам (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 связующим агентом является антитело, и антитело связывается с линкером через лизиновый остаток. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с линкером через цистеиновый остаток.

[00173] В любом из вышеприведенных вариантов осуществления **ВА** представляет собой антитело против PRLR. В определенных вариантах осуществления **ВА** представляет собой антитело против PRLR H1H6958N. В определенных вариантах осуществления **ВА** представляет собой антитело против PRLR H1H6958N N297Q. В определенных вариантах осуществления **ВА** представляет собой антитело против PRLR, содержащее HCVR в соответствии с SEQ ID NO:17 и LCVR в соответствии с SEQ ID NO:21. В определенных вариантах осуществления **ВА** представляет собой антитело против PRLR, содержащее одну, две, три, четыре, пять или шесть HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 в соответствии с SEQ ID NOS:18, 19, 20, 22, 23 и 24, соответственно. N297Q показывает, что один или более остатков 297 мутированные из аспарагина (N) в глутамин (Q). Предпочтительно, каждый остаток 297 мутированный в Q. В предпочтительных вариантах осуществления номенклатура соответствует номенклатуре EU. В определенных вариантах осуществления данного пункта k представляет собой от 1 до 4. В определенных вариантах осуществления k представляет собой 1, 2, 3 или 4. В определенных вариантах осуществления k представляет собой 4.

D. СПОСОБЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ СОЕДИНЕНИЙ

[00174] Описанные здесь конъюгаты могут быть синтезированы посредством связи с линкер-нагрузками, описанными здесь, со связующим агентом, например, антителом в стандартных условиях конъюгации (см., например, *Drug Deliv.* 2016 Jun;23(5):1662-6; *AAPS Journal*, Vol. 17, No. 2, March 2015; и *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 561, содержания которых включены в настоящий документ полностью посредством ссылки). Линкер-нагрузки представляет собой синтетические промежуточные компоненты, содержащие представляющую интерес нагрузку и соединительный фрагмент, который в конечном итоге служит фрагментом (или его частью), который соединяет связующий агент с нагрузкой. Линкер-нагрузки содержат реактивную группу, которая вступает в реакцию со связующим агентом, в результате чего образуются описанные здесь конъюгаты. Когда связующим агентом является антитело, это антитело может быть связано с линкер-нагрузкой посредством одного или более цистеиновых, лизиновых или других остатков антитела. Линкер-нагрузки могут быть соединены с цистеиновыми остатками, например, посредством воздействия на антитело восстанавливающим агентом, например, дитиотреитолом, чтобы расщепить дисульфидные связи антитела, опционально очищая восстановленное антитело, например, посредством гель-фильтрации, и впоследствии подвергая антитело реакции с линкер-нагрузкой, содержащей реактивный фрагмент, например, малеимидо группу. Подходящие сольвенты включают, помимо прочего, воду, DMA, DMF и DMSO. Линкер-нагрузки, содержащие реактивную группу, например, активированный эфир или галоидангидридную группу, могут быть связаны с лизиновыми остатками. Подходящие сольвенты включают, помимо прочего, воду, DMA, DMF и DMSO. Конъюгаты могут быть очищены с использованием известных белковых методов, включая, например, эксклюзионную хроматографию по размеру, диализ и ультрафильтрацию/диафильтрацию.

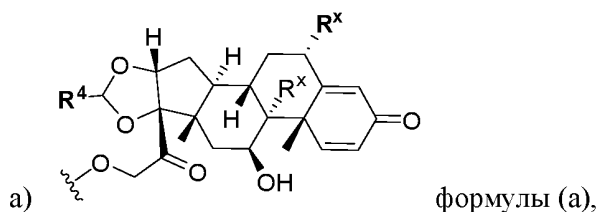
ЛИНКЕР-СТЕРОИДНЫЕ ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

[00175] Здесь представлены линкер-стероиды в соответствии с Формулой (2000),

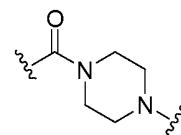


или их фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное, которые полезны в приготовлении конъюгатов антитело-лекарственное средство, где

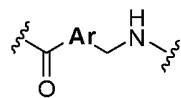
D выбирается из



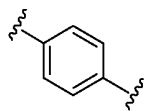
где оба R^x в Формуле (a) представляет собой водород; R^4 представляет собой алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил; и SP представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен- X^1 - где X^1 присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), -C(O)-N(H)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-, где S присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-,



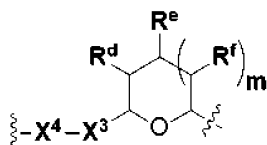
где S присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет собой к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), -CH₂-NH-, где N присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000),



, где N присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000) и где Ar представляет собой опционально замещенный арилен (в некоторых вариантах

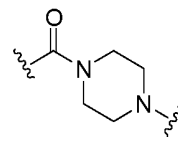


осуществления) или опционально замещенный гетероарил, -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), -C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000) и где в каждом случае C₁-C₁₀-алкилен независимо и опционально замещается одной или более гидроксигруппами, -C(O)-N(R⁵)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)NH- X^2 - где X^2 присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле

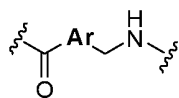


(2000) или $-X^4-X^3-$ где X^4 присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000); или

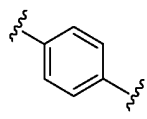
где оба R^x в Формуле (a) представляет собой фтор; R^4 представляет собой алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил; и SP представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен- X^{1b} -, где X^{1b} присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), -C(O)-N(H)-(C₁-C₁₀-алкилен)- X^{1b} -, где



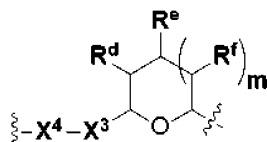
X^{1b} присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет собой к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), $-CH_2-NH-$, где N присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000),



, где N присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000) и где Ar опционально замещенный арилен (в некоторых вариантах осуществления



) или опционально замещенный гетероарилен, $-(C_1-C_{10}-алкилен)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-алкилен)-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000), $-C(O)-(C_1-C_{10}-алкилен)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-алкилен)-NR^{50a}-$ где NR^{50a} присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000) и где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо опционально замещается одной или более гидроксигруппами, $-C(O)-N(R^5)-(C_1-C_{10}-алкилен)-C(O)NH-X^2-$, где X^2 присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (2000) или



где X^4 присоединяется к $(L^3)_{0-1}^3$ в Формуле (2000); и

- b) соединения в вышеприведенной Таблице A, где соединения в Таблице A связаны с RG Соединения с Формулой (2000) через гидроксигруппы $-C(O)CH_2OH$ группы, т.е. при помощи $-C(O)CH_2-O-SP-(L^3)_{0-1}-$ или через гидроксигруппы Мапракората, т.е. при помощи $-O-SP-(L^3)_{0-1}-$:

X^1 представляет собой $-N(C_{1-6}алкил)-$;

X^{1b} представляет собой $-S-$, $-NH-$ или $-N(C_{1-6}алкил)-$;

X^2 представляет собой $-NH-$;

X^3 представляет собой $-CH_2-$, X^3 представляет собой $-CH_2-O-(C_1-C_{10}-алкилен)-C(O)-$, где $C(O)$ присоединяется к X^4 или X^3 представляет собой $-C(O)-$;

X^4 представляет собой $-O-$;

R^5 представляет собой H, $-OH$, $-OCH_3$ или $C_{1-6}алкил$;

R^{50} и R^{50a} представляет собой независимо водород или C_{1-6} -алкил;

R^d, **R^e** и **R^f** представляет собой независимо -H, -OH, гидроксикал, алкоксикарбонил, -C(O)OH или -CH₂OR^g, где в каждом случае **R^g** представляет собой независимо -CH₂C(O)OH или -CH₂C(O)O(алкил); и

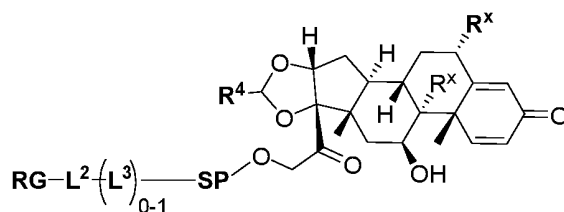
m представляет собой 0 или 1;

RG представляет собой реактивная группа;

L² представляет собой соединительный линкер; и

L³, если имеется представляет собой саморасщепляющийся линкер.

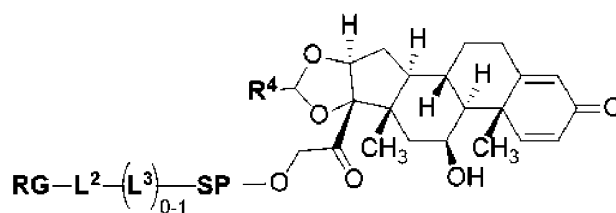
[00176] Здесь представлены линкер-стероиды в соответствии с Формулой (II),



(II);

которые являются полезными в приготовлении конъюгатов антитело-лекарственное средство; где **RG**, **L²**, **L³**, **SP**, **R⁴** и **R^x** соответствуют приведенным здесь определениям.

[00177] В некоторых или любых вариантах осуществления соединение Формулы (II-P) представлено ниже:

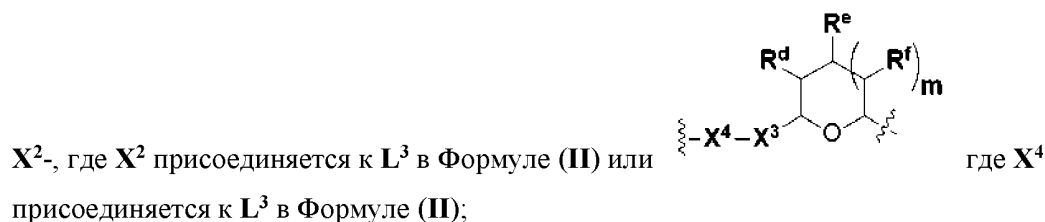


(II-P);

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное, где:

R⁴ представляет собой алкил, арил, ариалкил или N-содержащий гетероциклоалкил;

SP представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₃алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-X¹-, где **X¹** присоединяется к **L³** в Формуле (II), -C(O)-N(R⁵)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)NH-



X¹ представляет собой -N(C₁₋₃алкил)-;

X² представляет собой -NH-;

X³ представляет собой -CH₂-, **X³** представляет собой -CH₂-O-(C₁-C₁₀-алкилен)-C(O)-, где C(O) присоединяется к **X⁴** или **X³** представляет собой -C(O)-;

X⁴ представляет собой -O-;

R⁵ представляет собой H, -OH, -OCH₃ или алкил;

R^d, **R^e** и **R^f** представляет собой независимо -H, -OH, гидроксиалкил, алкоксикарбонил, -C(O)OH или -CH₂OR^g, где в каждом случае **R^g** представляет собой независимо -CH₂C(O)OH или -CH₂C(O)O(алкил); и

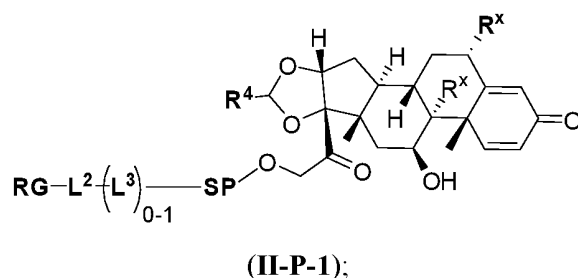
m представляет собой 0 или 1;

RG представляет собой реактивная группа;

L² представляет собой соединительный линкер; и

L³, если имеется представляет собой саморасщепляющийся линкер.

[00178] В некоторых или любых вариантах осуществления соединение Формулы (II-P-1) представлено ниже:



X^3 представляет собой $-CH_2-$, X^3 представляет собой $-CH_2-O-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-C(O)-$, где $C(O)$ присоединяется к X^4 или X^3 представляет собой $-C(O)-$;

X^4 представляет собой $-O-$;

R^5 представляет собой H , $-OH$, $-OCH_3$ или алкил;

R^d , R^e и R^f представляет собой независимо $-H$, $-OH$, гидроксиалкил, алкоксикарбонил, $-C(O)OH$ или $-CH_2OR^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-CH_2C(O)OH$ или $-CH_2C(O)O(\text{алкил})$; и

m представляет собой 0 или 1;

RG представляет собой реактивная группа;

L^2 представляет собой соединительный линкер; и

L^3 , если имеется представляет собой саморасщепляющийся линкер.

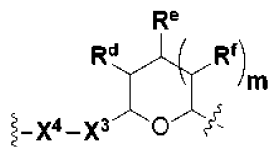
[00179] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где оба R^x представляют собой водород. В некоторых или любых вариантах осуществления оба R^x представляют собой фтор.

[00180] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) и (II-P-1), где R^4 представляет собой алкил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой не циклоалкил. В некоторых из этих вариантов осуществления R^4 представляет собой линейный или разветвленный алкил. В некоторых из этих вариантов осуществления R^4 представляет собой арил. В некоторых из этих вариантов осуществления R^4 представляет собой арилалкил. В некоторых из этих вариантов осуществления R^4 представляет собой N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой алкил, такой как, помимо прочего, метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил или нонил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой n-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой i-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой n-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой i-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой t-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой втор-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой пентил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гексил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гептил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой октил или нонил. В

некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой арил, такой как, помимо прочего, фенил, фенол или нафтил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой фенил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой нафтил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой гетероарил – такой как, помимо прочего, тиенил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой арилалкил – такой как, помимо прочего, бензил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой N-содержащий гетероциклоалкил, такой как, помимо прочего, пиперидинил. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где оба R^x представляют собой водород. В некоторых или любых вариантах осуществления оба R^x представляют собой фтор. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой в R-конфигурации. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой в S-конфигурации. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой смесь R- и S-конфигураций. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой смесь R- и S-конфигураций, где отношение R:S составляет около 1:1, около 2:1, около 3:1, около 4:1, около 5:1, около 6:1, около 7:1, около 8:1, около 9:1 или около 10:1.

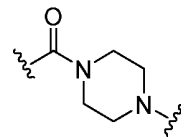
[00181] В некоторых вариантах осуществления, представлено Соединение Формулы (II), где

оба R^x представляют собой водород; и SP представляет собой $-C(O)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)-$, $-C(O)-N(C_{1-6}$ алкил)- C_1-C_{10} -алкилен- X^1- , где X^1 присоединяется к L в Формуле (II), $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $S-$, где S присоединяется к L в Формуле (II), $-C(O)-N(C_{1-6}$ алкил)- $(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $S-$, где S присоединяется к L в Формуле (II), $-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к L в Формуле (II), $-C(O)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к L в Формуле (II) и где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси, $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)NH-X^2-$, где X^2 присоединяется к L в Формуле (II) или



где X^4 присоединяется к L в Формуле (II); или

оба R^x представляют собой фтор; и SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-6}$ алкил)- C_1-C_{10} -алкилен- $X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L в Формуле (II), $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)-



X^{1b} -, где X^{1b} присоединяется к **L** в Формуле (II), где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет собой к **L** в Формуле (II), - (C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (II), -C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III) и где в каждом случае C₁-C₁₀-алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидроксидными или -C(O)-N(R⁵)-(C₁-C₁₀-алкилен)-C(O)NH-X²-, где X² присоединяется к **L** в Формуле (II).

[00182] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где оба R^x представляют собой водород и SP представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой -C(O)-C₂-C₅-алкилен-C(O)-. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой -C(O)-CH₂CH₂-C(O)-.

[00183] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где оба R^x представляют собой фтор и SP представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой -C(O)-C₂-C₅-алкилен-C(O)-. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой -C(O)-CH₂CH₂-C(O)-.

[0100] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где оба R^x представляют собой водород и SP представляет собой -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-X¹-, где X¹ присоединяется к L³ в Формуле (II), (II-P) или (II-P-1). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой -C(O)-N(C₁₋₃алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-X¹-, где X¹ присоединяется к L³ в Формуле (II), (II-P) или (II-P-1). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где X¹ представляет собой -N(C₁₋₃алкил)-. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой -C(O)-N(C₁₋₃алкил)-C₂-C₅-алкилен-X¹-. В некоторых

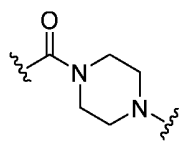
вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-CH_2CH_2-X^1-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(CH_3)-C_2-C_5\text{-алкилен-}N(CH_3)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(CH_3)-CH_2CH_2-N(CH_3)-$.

[00184] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где оба R^x представляют собой фтор и **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-C_1-C_{10}\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (II) или $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (II) в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-C_1-C_{10}\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-C_1-C_6\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-C_1-C_3\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-CH_2CH_2-X^{1b}-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-C_2-C_5\text{-алкилен-}N(CH_3)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-C_2-C_5\text{-алкилен-}N(CH_2CH_3)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-CH_2CH_2-N(CH_3)-$.

[00185] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где оба R^x представляют собой фтор и **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-C_1-C_{10}\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_1-C_6\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_1-C_3\text{-алкилен-}X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где X^{1b} представляет собой $-N(C_{1-3}\text{алкил})-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP**

представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_2-C_5\text{-алкилен-}X^{1b}$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-CH_2CH_2-X^{1b}$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(CH_3)-C_2-C_5\text{-алкилен-}N(CH_3)$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(CH_2CH_3)-C_2-C_5\text{-алкилен-}N(CH_2CH_3)$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(CH_3)-CH_2CH_2-N(CH_3)$.

[00186] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где оба R^x представляют собой фтор и **SP** представляет собой



, где точка присоединения на правой стороне (например, на N) представляет собой **L** в Формуле (II).

[00187] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где S присоединяется к L^3 в Формуле (II) в Формуле (II) или $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где S присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где S присоединяется к L^3 в Формуле (II) или $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где S присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где S присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где S присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где S присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где S присоединяется к L^3 в Формуле (II).

[00188] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение с Формулой (II), где оба R^x представляют собой фтор и **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где S присоединяется к L^3 в Формуле (II) или $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где S присоединяется к L^3 в Формуле (II) в Формуле (II). В некоторых

вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к L^3 в Формуле (II) или $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-(C_1-C_6\text{-алкилен})-S-$, где **S** присоединяется к L^3 в Формуле (II).

[00189] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), **SP** представляет собой $-(C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50a}-$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (II), **SP** представляет собой $-(C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50a}-$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (II), **SP** представляет собой $-(\text{линейный } C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(\text{линейный } C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50a}-$.

[00190] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где оба R^x представляют собой фтор и **SP** представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к L^3 в Формуле (II). В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (I), **SP** представляет собой $-(C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-NR^{50a}-$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (II), **SP** представляет собой $-(C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50a}-$. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (II), **SP** представляет собой $-(\text{линейный } C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(\text{линейный } C_1-C_3\text{-алкилен})-NR^{50a}-$.

[00191] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой $-C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к L^3 в

Формуле (II) и где в каждом случае C₁-C₁₀-алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (II), SP представляет собой -(разветвленный C₁-C₆-алкилен)-NR^{50a}C(O)-(C₁-C₆-гидрокси-алкилен)-NR^{50a}-. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (II), SP представляет собой -(разветвленный C₁-C₆-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₆-алкилен)-NR^{50a}-.

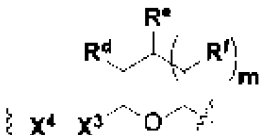
[00192] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение с Формулой (II), где оба R^x представляют собой фтор и SP представляет собой -C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a}- присоединяется к L³ в Формуле (II) и где в каждом случае C₁-C₁₀-алкилен независимо опционально и замещается одной или несколькими гидрокси. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (II), SP представляет собой -(разветвленный C₁-C₆-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₆-гидрокси-алкилен)-NR^{50a}-. В некоторых или любых вариантах осуществления Формулы (II), SP представляет собой -(разветвленный C₁-C₆-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₆-алкилен)-NR^{50a}-.

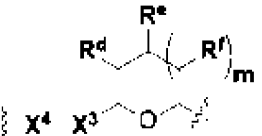
[0100] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где оба R^x представляют собой водород и SP представляет собой -C(O)-N(R⁵)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)NH-X²-, где X² присоединяется к L³ в Формуле (II), (II-P) или (II-P-1). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой -C(O)-N(R⁵)-C₁-C₅-алкилен-C(O)NH-NH-. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой -C(O)-N(R⁵)-CH₂-C(O)NH-NH-. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где R⁵ представляет собой H или алкил. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где R⁵ представляет собой H или CH₃.

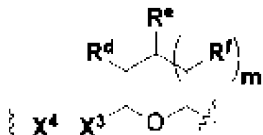
[00193] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где оба R^x представляют собой фтор и SP представляет собой -C(O)-N(R⁵)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)NH-X²-, где X² присоединяется к L³ в Формуле (II). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой -C(O)-N(R⁵)-C₁-C₅-алкилен-C(O)NH-NH-. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой -C(O)-N(R⁵)-CH₂-C(O)NH-NH-. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-

1), где R^5 представляет собой H или алкил. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где R^5 представляет собой H или CH_3 .

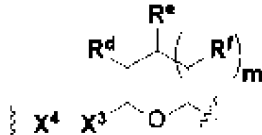
[00194] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где оба R^x представляют собой водород и SP

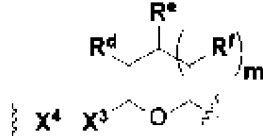
представляет собой , где X^4 присоединяется к L^3 в Формуле (II), (II-P) или (II-P-1). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где оба R^x представляют собой фтор и SP представляет

собой , где X^4 присоединяется к L^3 в Формуле (II), (II-P) или (II-P-1). В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II),

(II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой  и X^3 представляет собой

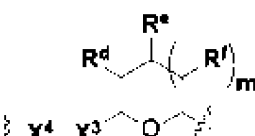
$-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы

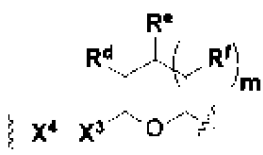
(II), (II-P) или (II-P-1), где SP-  и X^3 представляет собой $-CH_2-O-(C_1-C_{10}-алкилен)-C(O)-$, где $C(O)$ присоединяется к X^4 . В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP

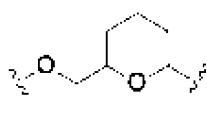
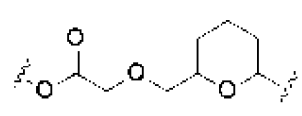
представляет собой  и X^3 представляет собой $-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где R^d , R^e и R^f представляет собой независимо $-H$, $-OH$, гидроксиалкил, алкоксикарбонил, $-C(O)OH$ или $-CH_2OR^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-CH_2C(O)OH$ или $-CH_2C(O)O(алкил)$. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где R^d и R^e представляет

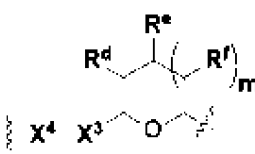
собой независимо –Н или –ОН. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где m равно 0. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где m равно 1. В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где m представляет собой 1 и R^f представляет собой –Н или –ОН.

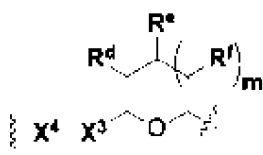
[00195] В некоторых вариантах осуществления, представлено Соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где оба R^x представляют собой водород и SP представляет собой –C(O)-N(C₁₋₃алкил)-C₁-C₁₀-алкилен- X^1 -, где X^1 присоединяется к L^3 в Формуле (II), (II-P)

или (II-P-1); SP представляет собой , где X^3 представляет собой –CH₂-, m равно 1, и R^d , R^e и R^f представляет собой –Н; или SP представляет собой

, где X^3 представляет собой –CH₂-O-(C₁-C₁₀-алкилен)-C(O)-, где C(O) присоединяется к X^4 , m представляет собой 1, и R^d , R^e и R^f представляет собой –Н. В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP представляет собой

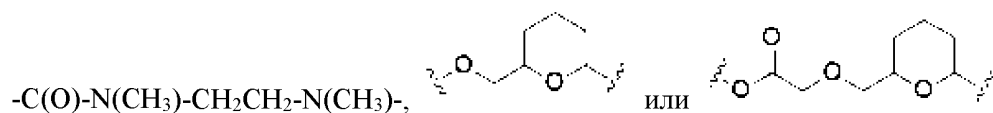
–C(O)-N(CH₃)-CH₂CH₂-N(CH₃)-,  или . В некоторых вариантах осуществления, представлено Соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где оба R^x представляют собой фтор и SP представляет собой –C(O)-N(C₁₋₃алкил)-C₁-C₁₀-алкилен- X^1 -, где X^1 присоединяется к L^3 в Формуле (II), (II-P) или (II-P-1);

SP представляет собой , где X^3 представляет собой –CH₂-, m равно

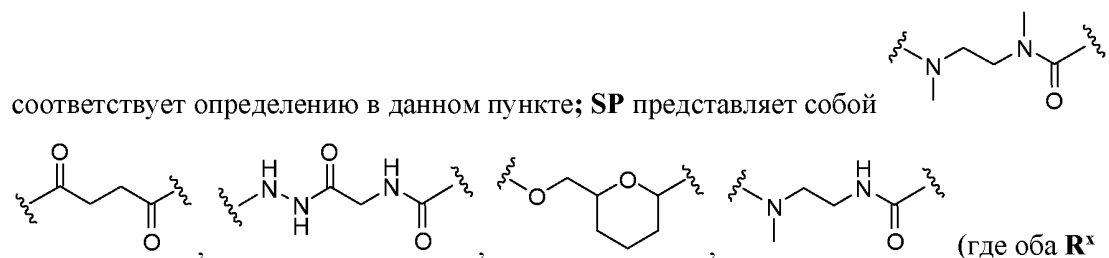
1, и R^d , R^e , и R^f представляет собой –Н; или SP представляет собой , где X^3 представляет собой –CH₂-O-(C₁-C₁₀-алкилен)-C(O)-, где C(O) присоединяется к X^4 , m представляет собой 1, и R^d , R^e и R^f представляет собой –Н. В некоторых вариантах осуществления, представлено Соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где SP

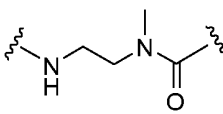
представляет

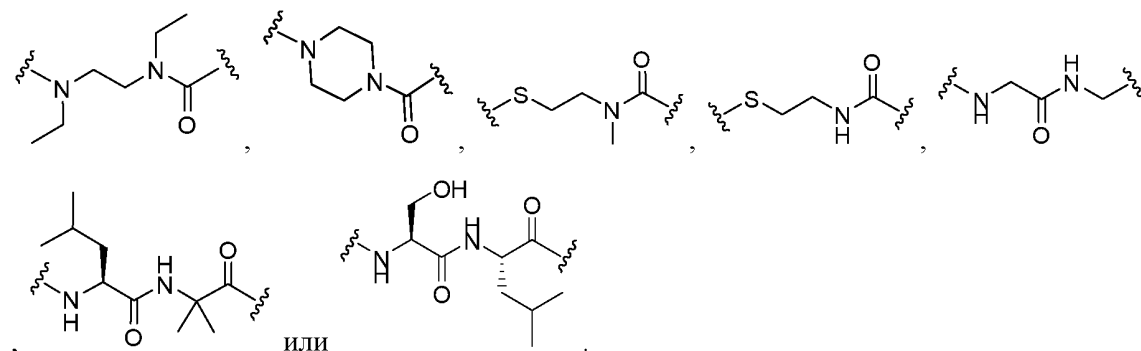
собой



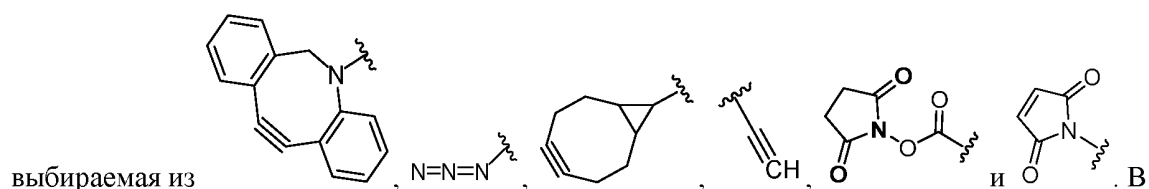
[00196] В некоторых вариантах осуществления, представлено Соединение Формулы (II), где оба $\mathbf{R}^x$ представляют собой фтор или оба $\mathbf{R}^x$ представляют собой водород, или $\mathbf{R}^x$



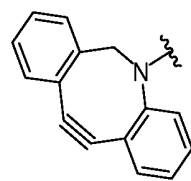
представляют собой фтор),  (где оба $\mathbf{R}^x$ представляют собой фтор),



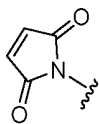
[00197] В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где $\mathbf{RG}$ представляет собой реактивная группа,



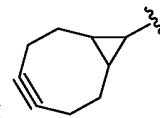
некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P)

или (II-P-1), где $\mathbf{RG}$ представляет собой . В некоторых вариантах

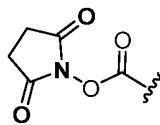
осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где $\mathbf{RG}$



представляет собой . В некоторых вариантах осуществления здесь представлено



соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где **RG** представляет собой . В некоторых вариантах осуществления здесь представлено соединение Формулы (II), (II-P)

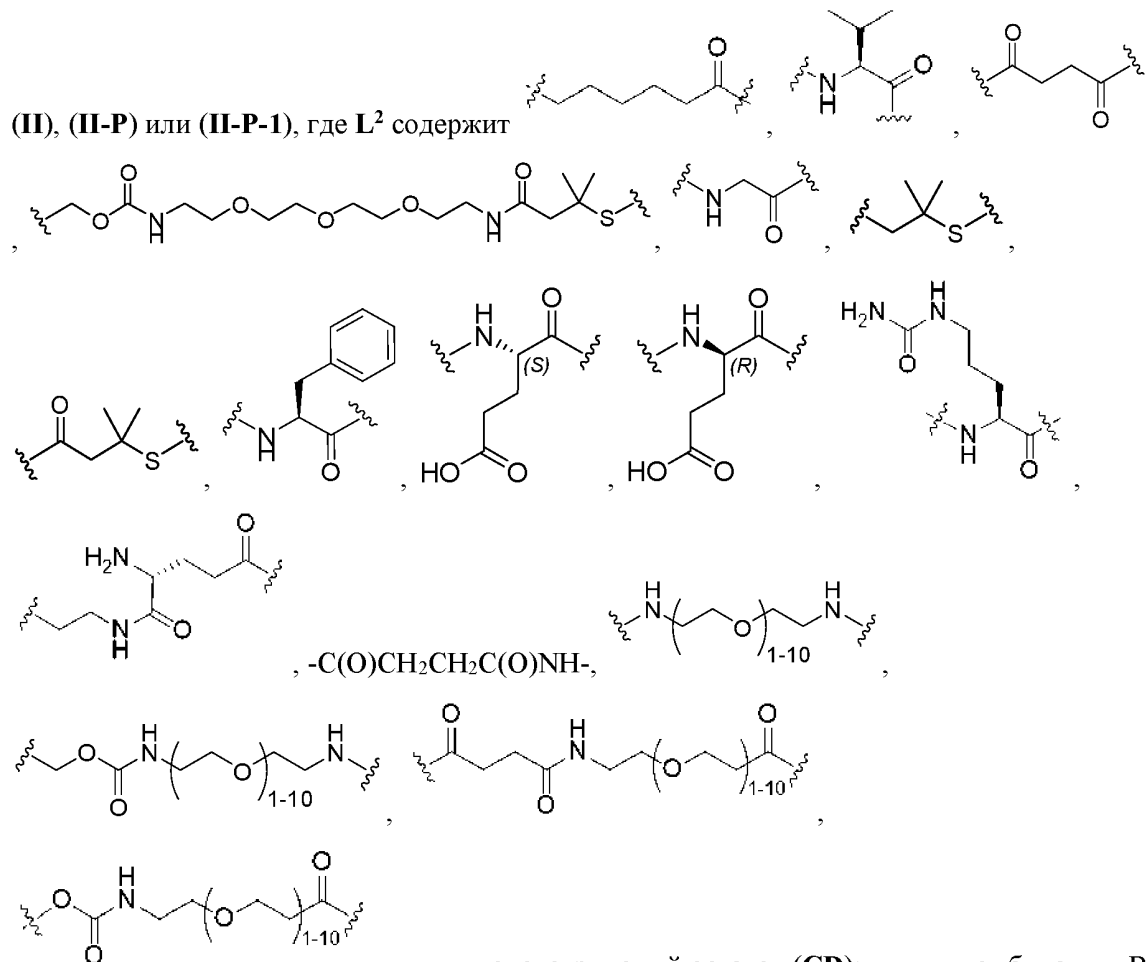


или (II-P-1), где **RG** представляет собой

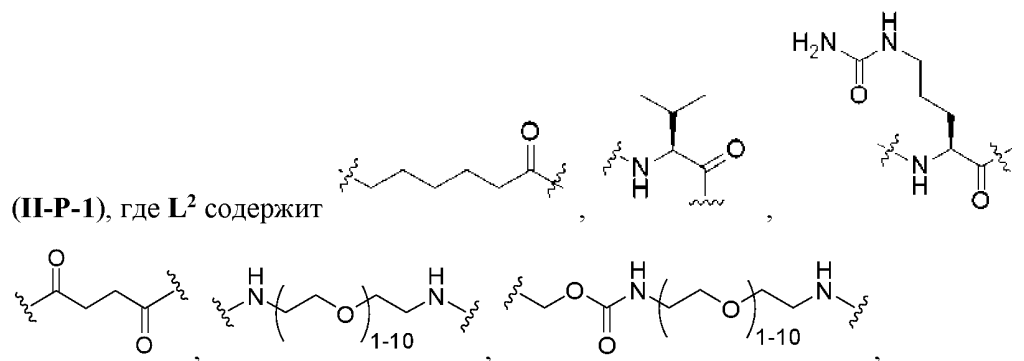
[00198] В некоторых вариантах осуществления $-L^2-(L^3)_{0-1}-$ в Формуле (II), (II-P) или (II-P-1) означает любую двухвалентную группу или фрагмент, который соединяет или связывает реактивную группу (**RG** в Формуле (II), (II-P) или (II-P-1) с соединением-нагрузкой, представленным здесь (например, стероидом). В общем, подходящие $-L^2-(L^3)_{0-1}-$ представляет собой те, которые являются достаточно стабильными для использования периода полужизни в кровотоке антитела и в то же время способными высвобождать свою нагрузку после антиген-опосредованной интернализации конъюгата. представляет собой $L^2-(L^3)_{0-1}$ могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми линкерами. Расщепляемые линкеры представляет собой линкеры, которые расщепляются посредством внутриклеточного метаболизма после интернализации, например, расщепления через гидролиз, восстановления или ферментной реакции. Нерасщепляемые линкеры представляет собой линкеры, которые высвобождают присоединенную нагрузку через лизосомную деградацию антитела после интернализации. Подходящие линкеры включают, помимо прочего, кислотолабильные линкеры, гидролизлабильные линкеры, расщепляемые под воздействием ферментов линкеры, редуционно-лабильные линкеры, саморасщепляющиеся линкеры и нерасщепляемые линкеры. Подходящие линкеры также включают, помимо прочего, линкеры, которые представляют собой или содержат глюкуроны, сукцинимид-тиоэфиры, полиэтиленгликольные (PEG) звенья, гидразоны, мал-капроильные звенья, дисульфидные звенья (например, $-S-S-$, $-S-C(R^{1b}R^{2b})-$, где R^{1b} и R^{2b} представляет собой независимо водород или гидрокарбил), карбаматные звенья, пара-амино-бензильные звенья (PAB), фосфатные звенья, например, моно-, бис- или трис-фосфатные звенья, пептиды, например, пептидные звенья, содержащие два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или более аминокислотных звеньев, включая, помимо прочего, звенья валин-цитруллина, звенья валин-аланина, звенья валин-аргинина, звенья валин-лизина, звенья лизин-валин-цитруллина и звенья лизин-валин-аланина. В некоторых

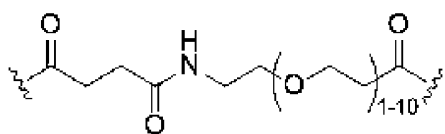
вариантах осуществления $-L^2-(L^3)_{0-1}-$ является трехвалентным и включает циклодекстриновый фрагмент, связанный с трехвалентной группой (например, лизиновым остатком) в $-L^2-(L^3)_{0-1}-$. В некоторых вариантах осуществления L^3 присутствует. В некоторых вариантах осуществления L^3 отсутствует.

[00199] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы



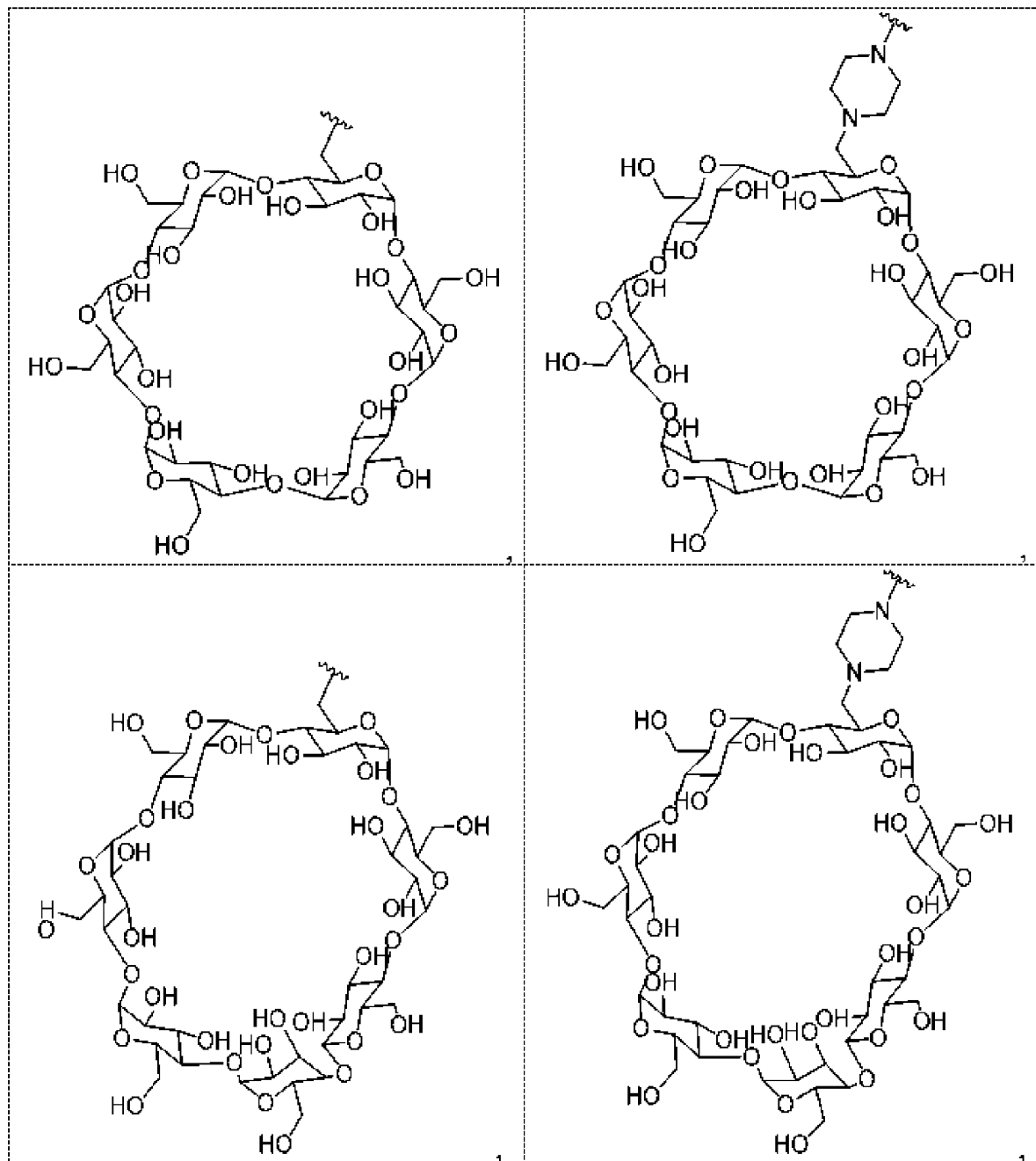
или циклодекстриновый остаток (CD); или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (II), (II-P) или

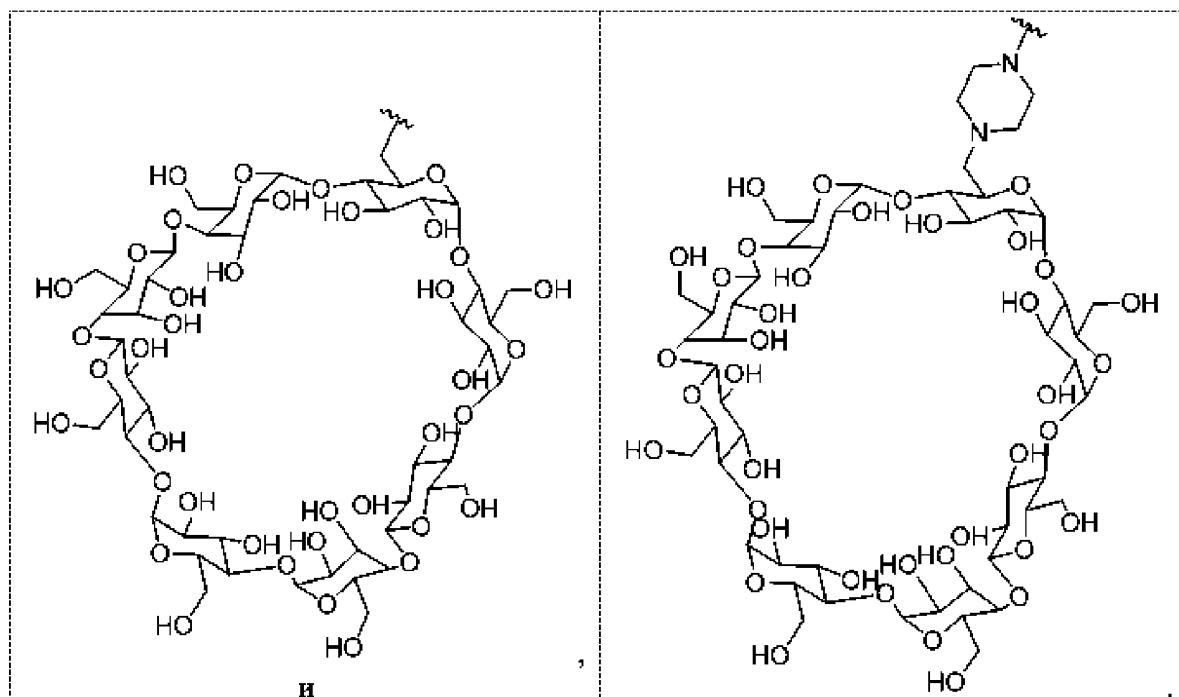




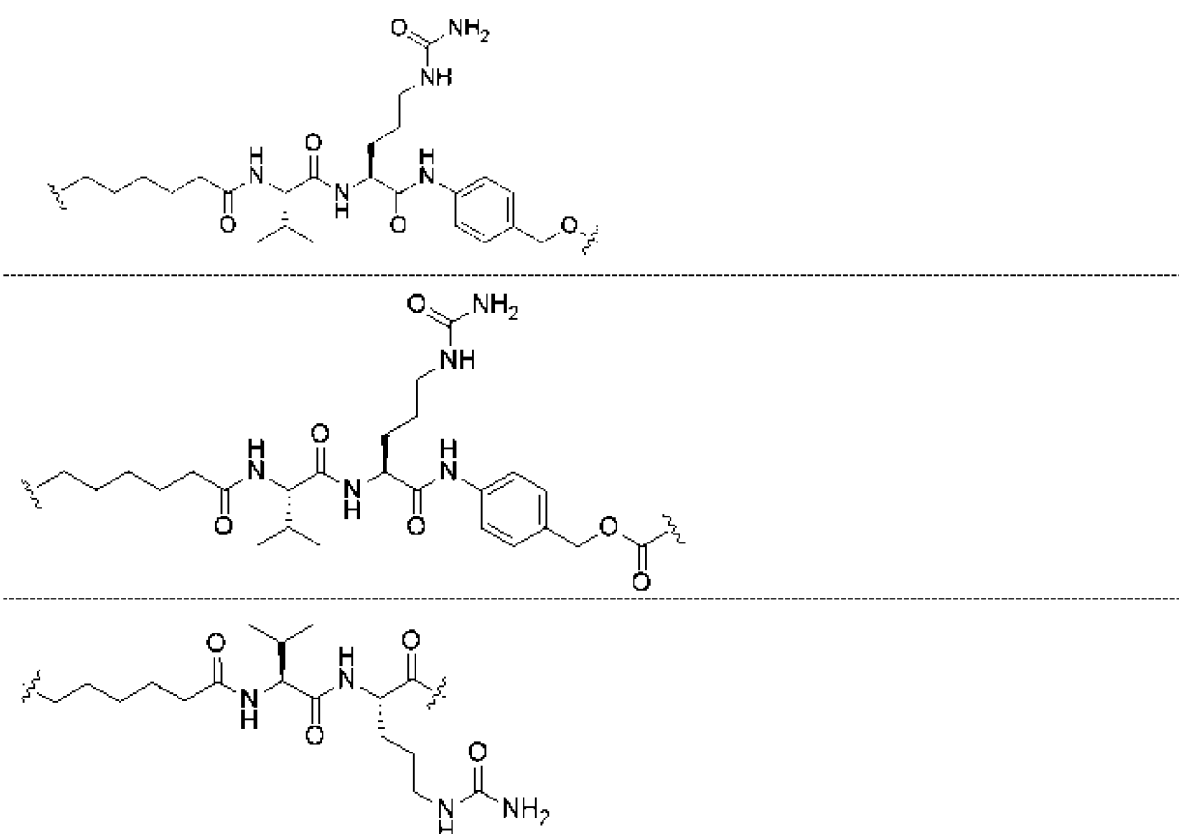
или **CD** или их комбинации. В некоторых вариантах

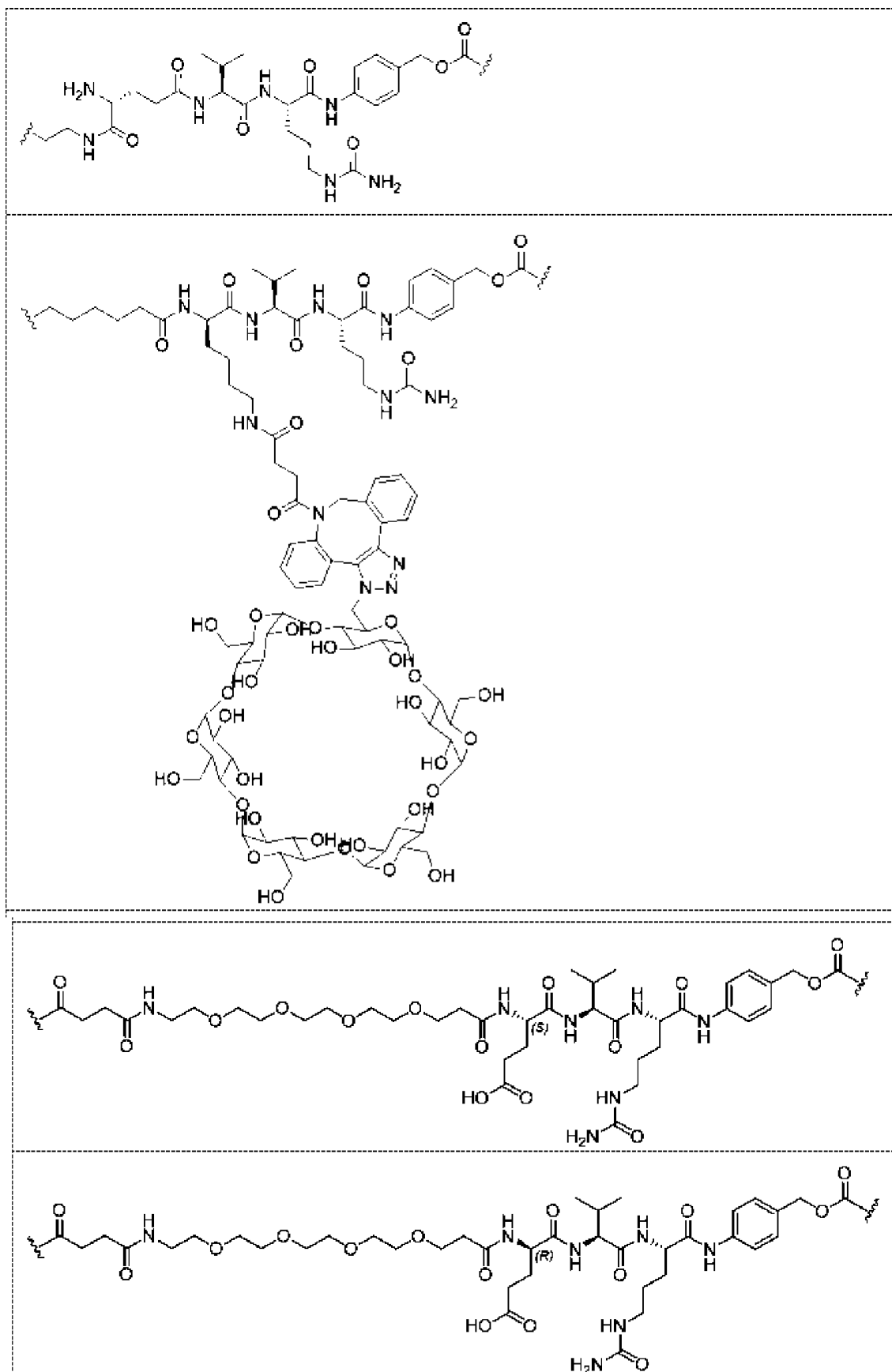
осуществления представлено Соединение Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где L^2 содержит **CD**, где **CD** выбирается из группы, состоящей из

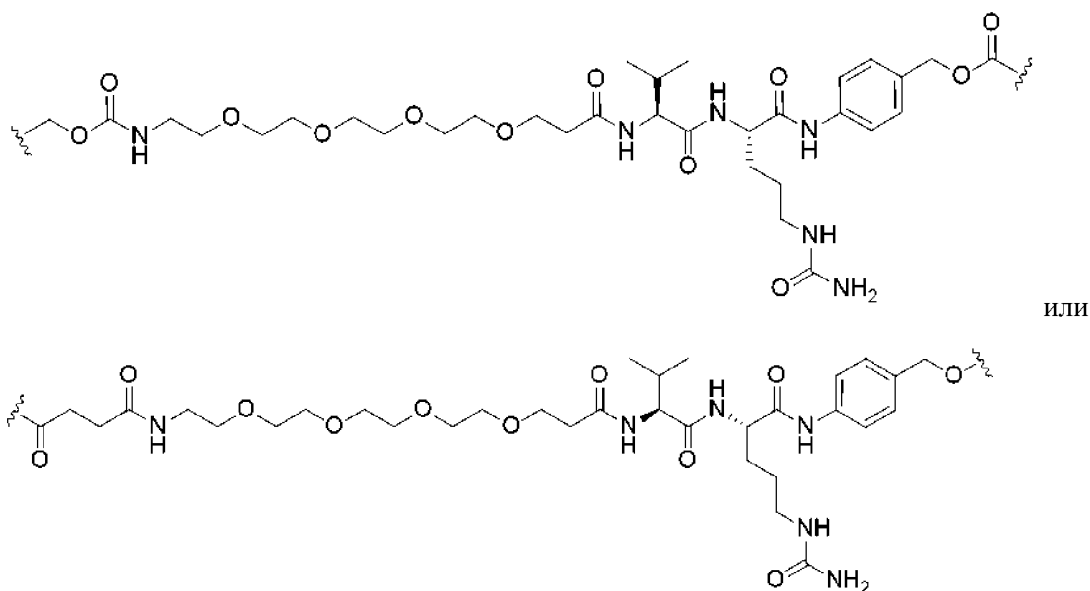




[00200] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (II), (II-Р) или (II-Р-1), где $-L^2-(L^3)_{0-1}$ - содержит

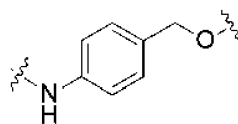






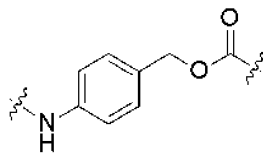
[00201] В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы

(II), (II-P) или (II-P-1), где L^3 представляет собой
присоединяется к L^2 , когда SP представляет собой



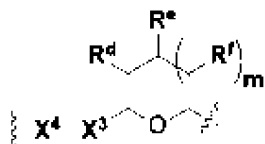
где NH группа

$-C(O)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)-$; или L^3 is

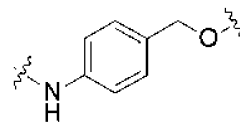


, где NH группа

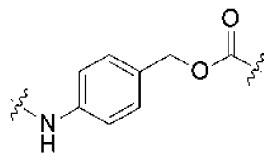
присоединяется к L^2 , когда SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_1-C_{10}$ -алкилен- X^1 -
или $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)NH-X^2-$; или L^3 отсутствует, когда SP -



. В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение



Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), где L^3 представляет собой
группа присоединяется к L^2 , когда SP представляет собой $-C(O)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)-$. В
некоторых вариантах осуществления, представлено Соединение Формулы (II), (II-P) или

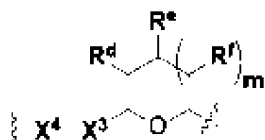


(II-P-1), где L^3 представляет собой

где NH группа присоединяется к

L^2 , когда SP представляет собой

$-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_1-C_{10}\text{-алкилен-}X^1-$ или $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}\text{-алкилен-}C(O)NH-X^2-$. В некоторых вариантах осуществления представлено Соединение Формулы (II), (II-P) или



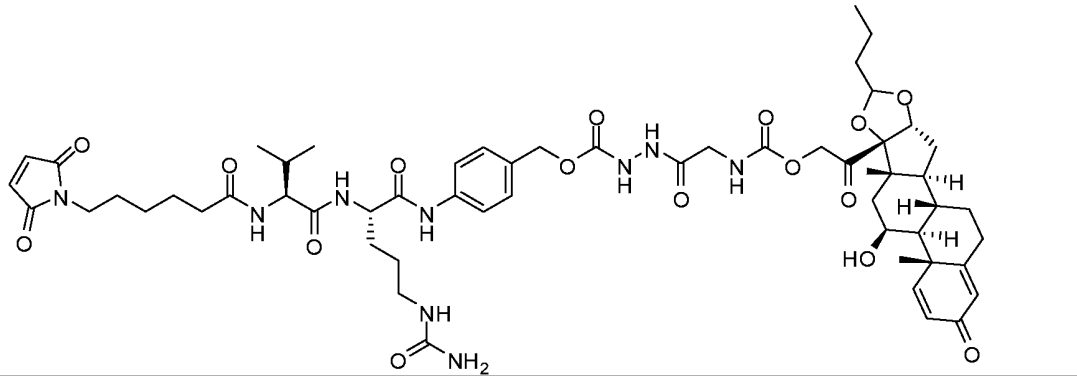
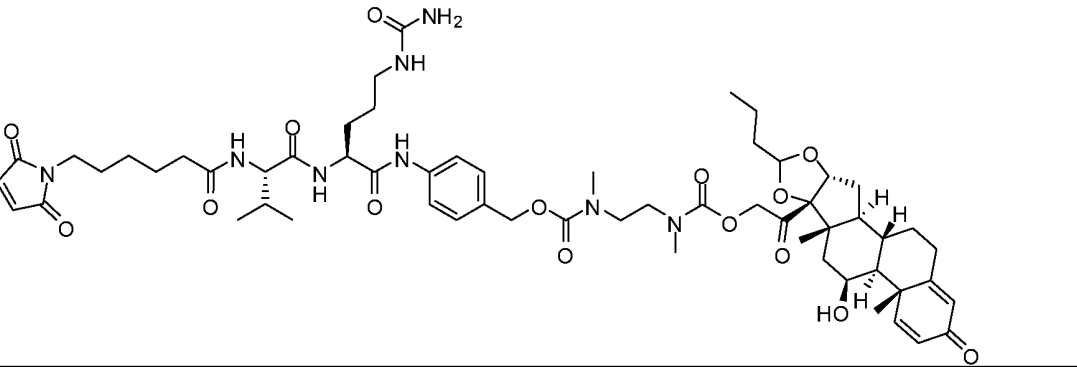
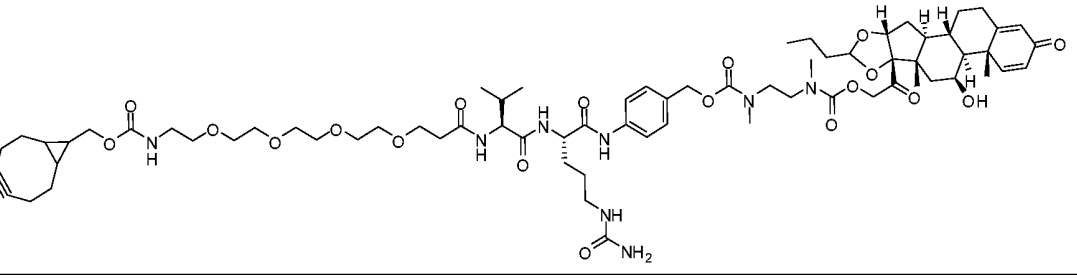
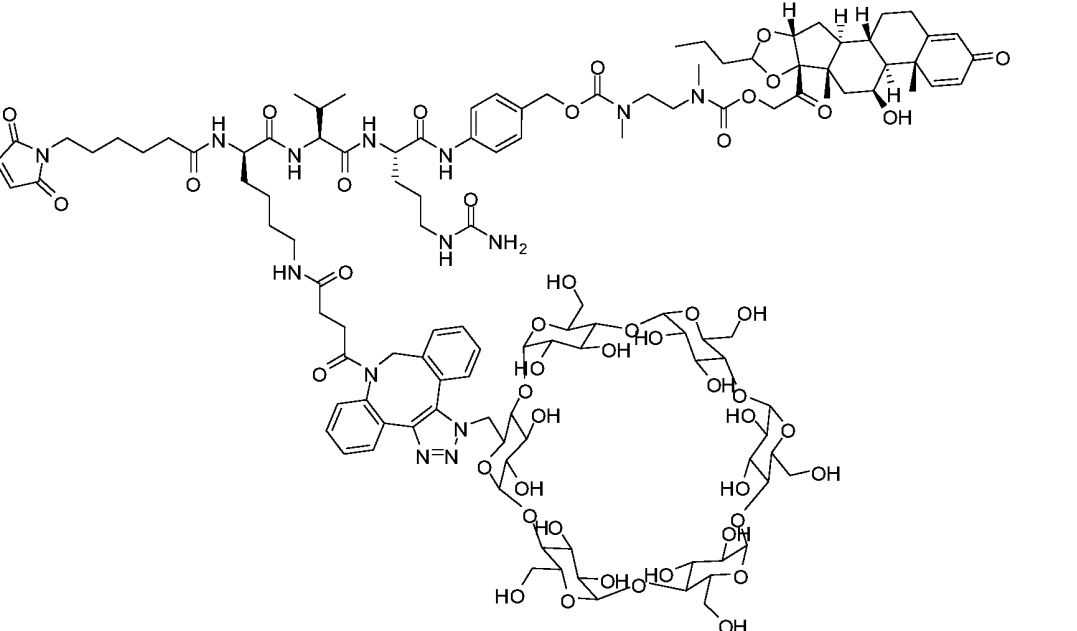
(II-P-1), где L^3 отсутствует, когда SP -

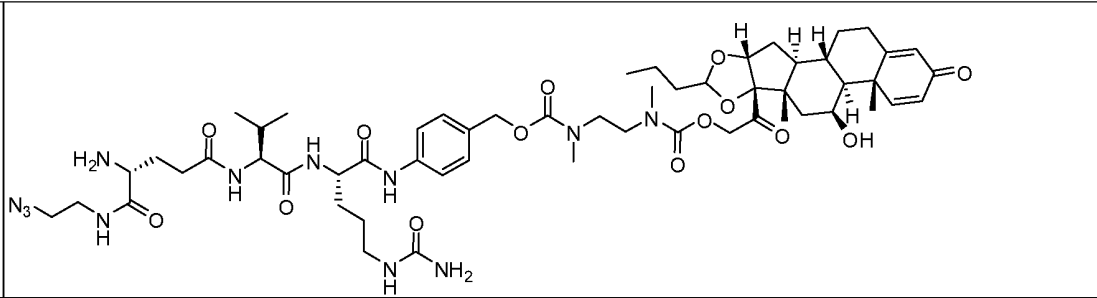
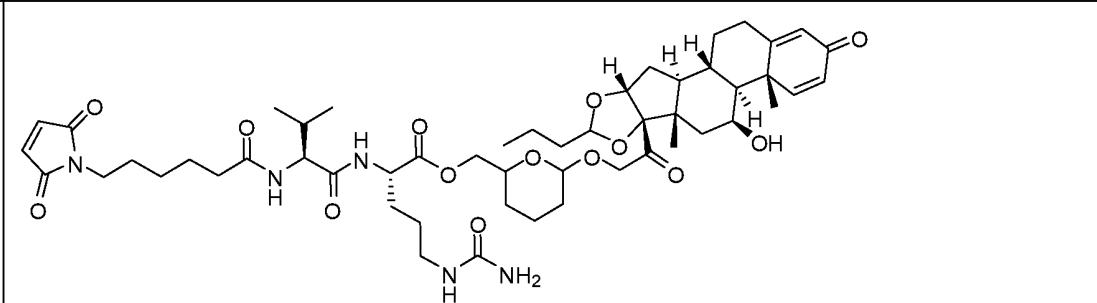
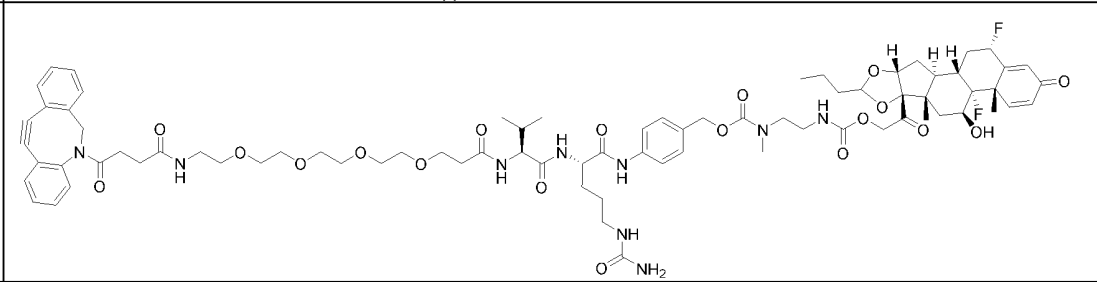
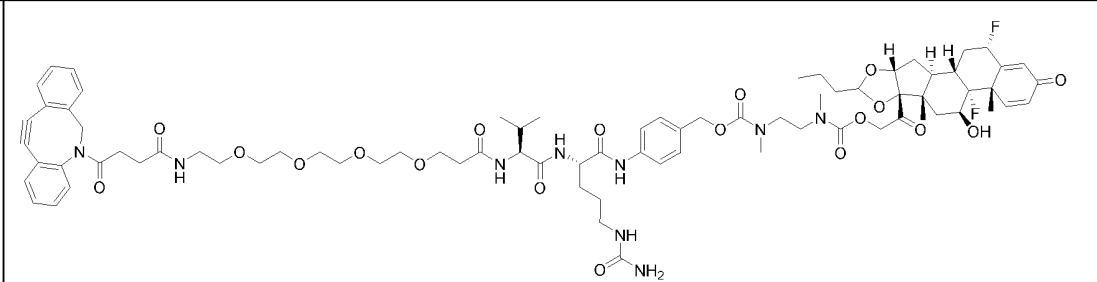
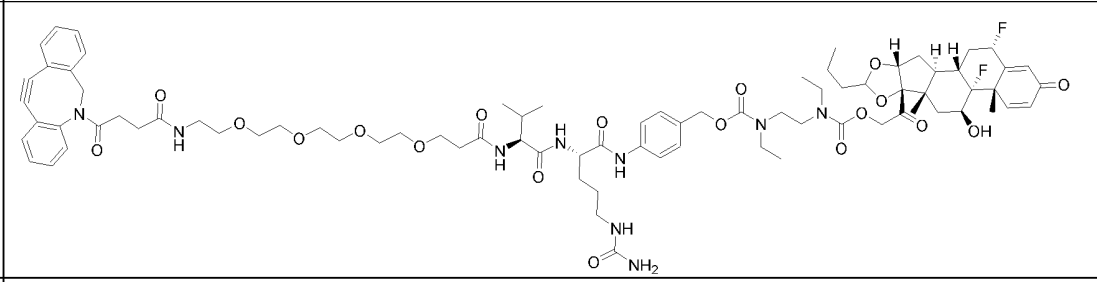
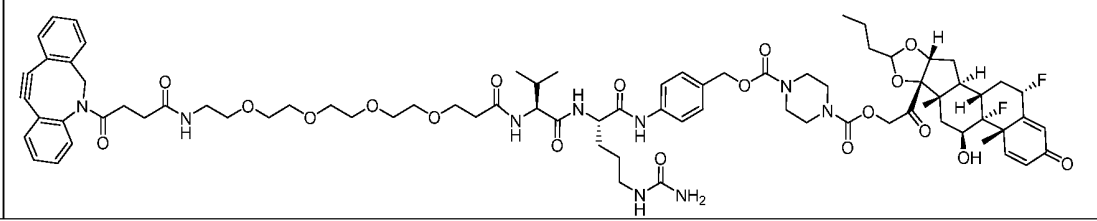


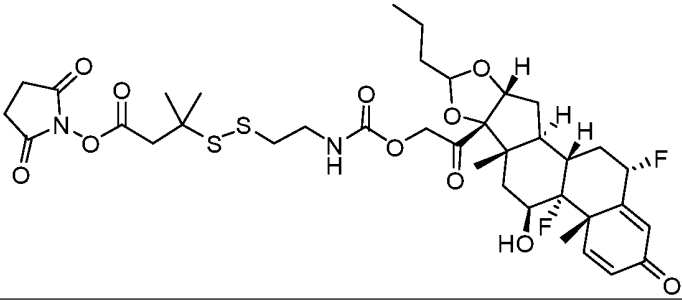
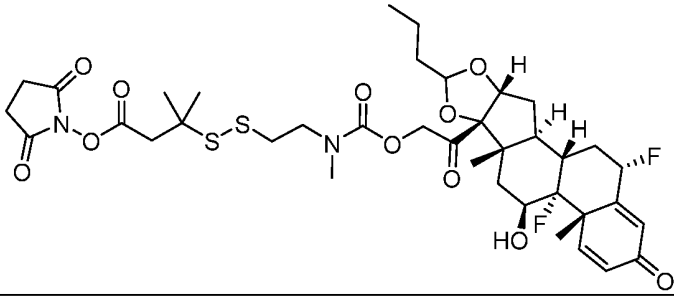
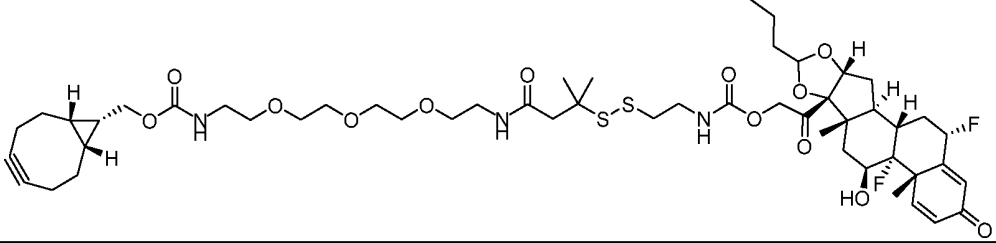
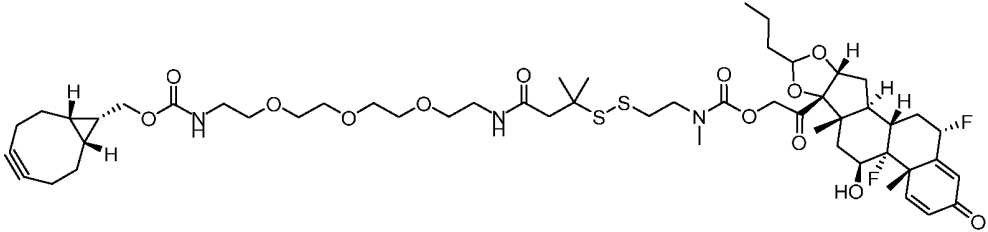
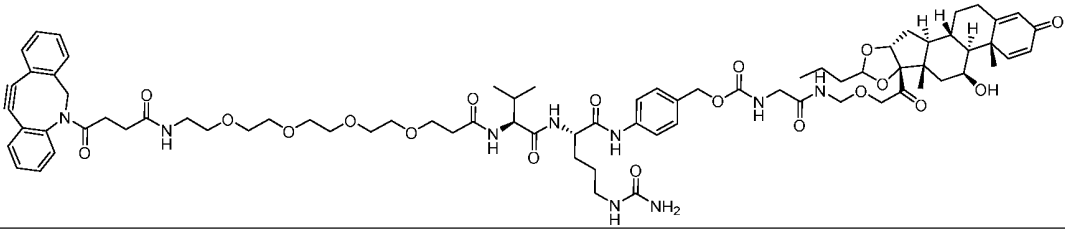
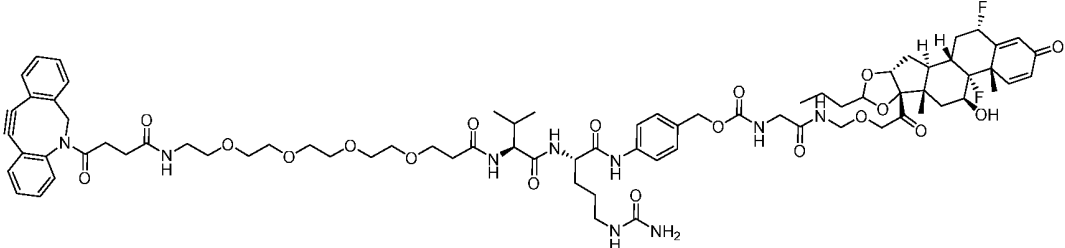
[00202] Здесь также представлены соединения, имеющие следующие структуры:

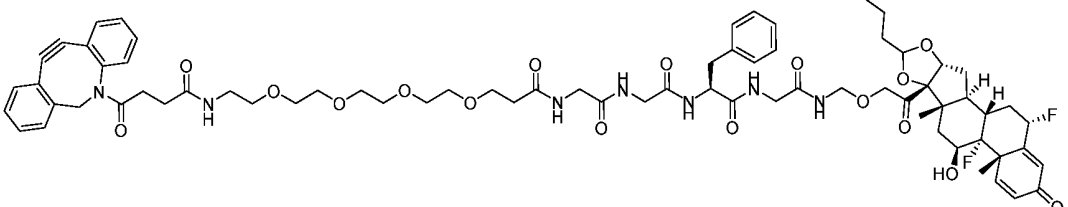
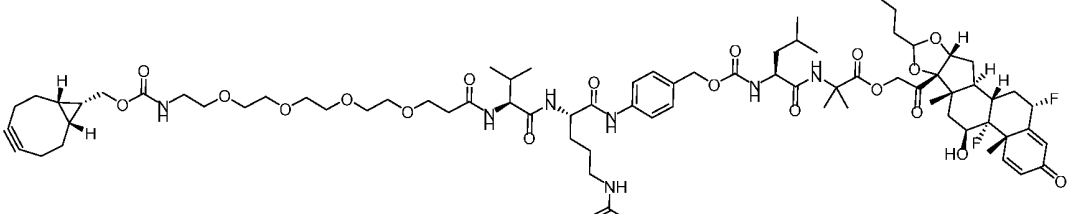
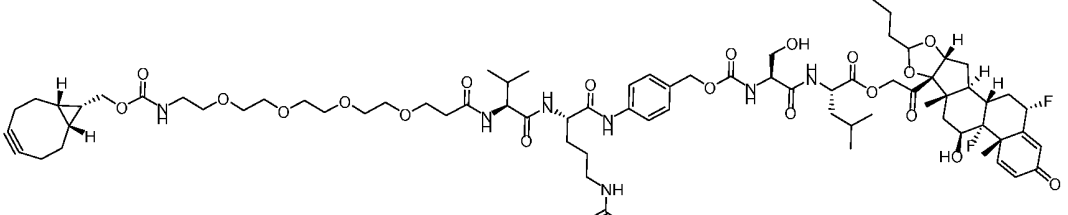
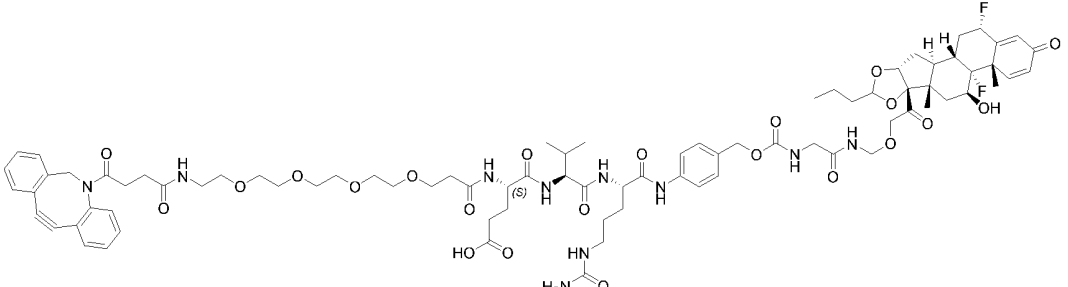
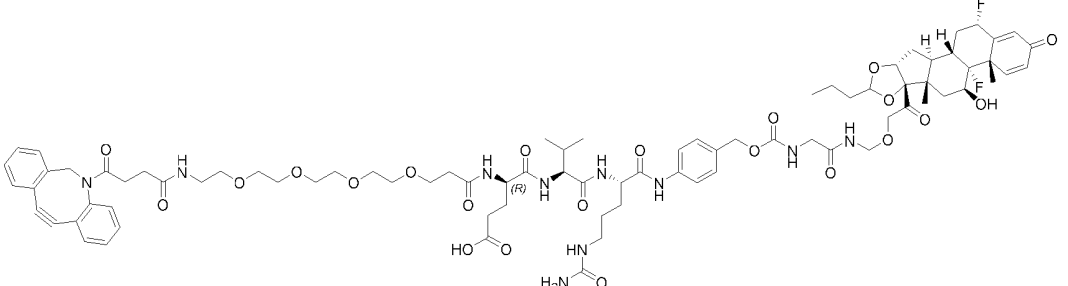
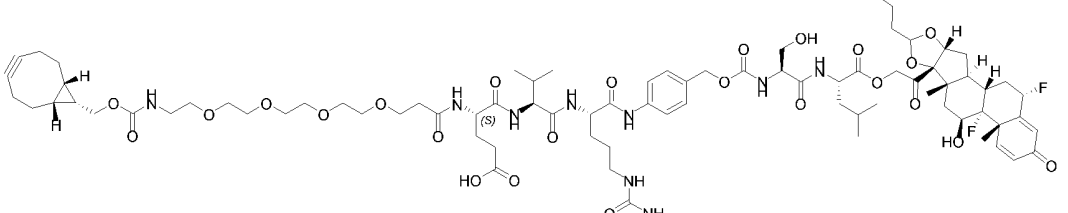
Таблица 2. Будесонид-спейсер-линкер-реактивная группа

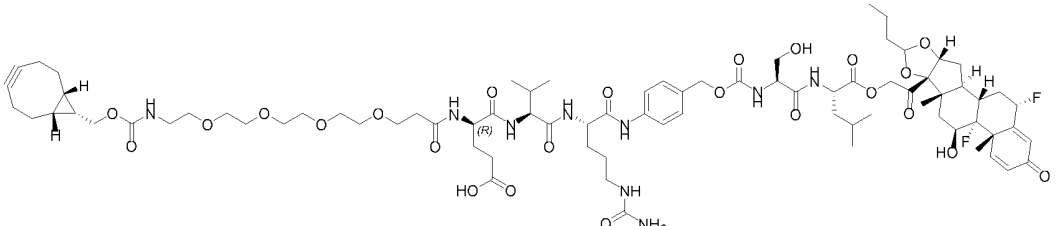
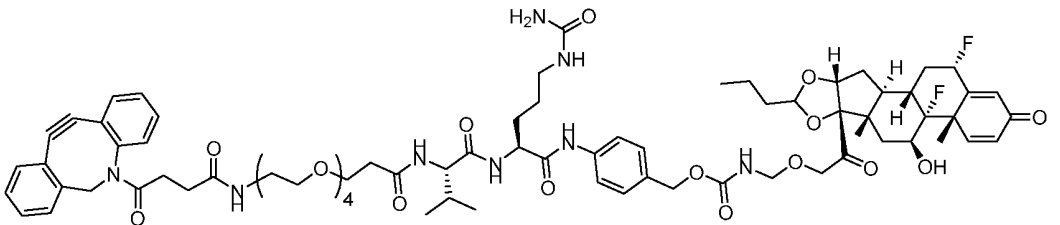
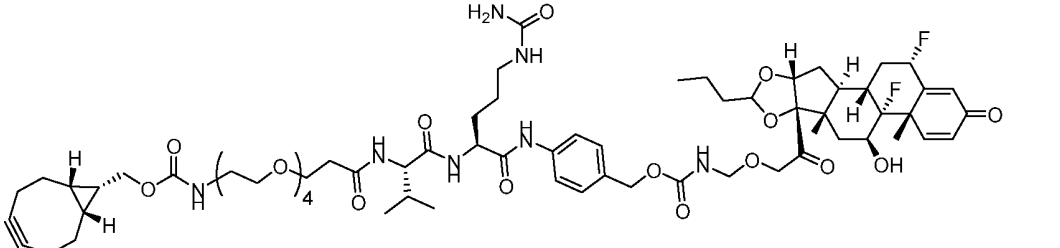
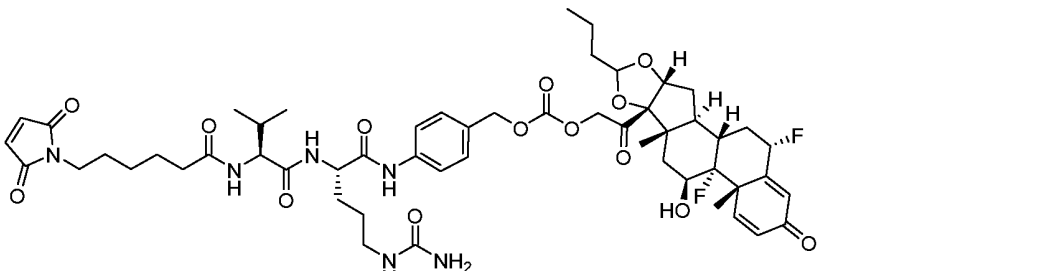
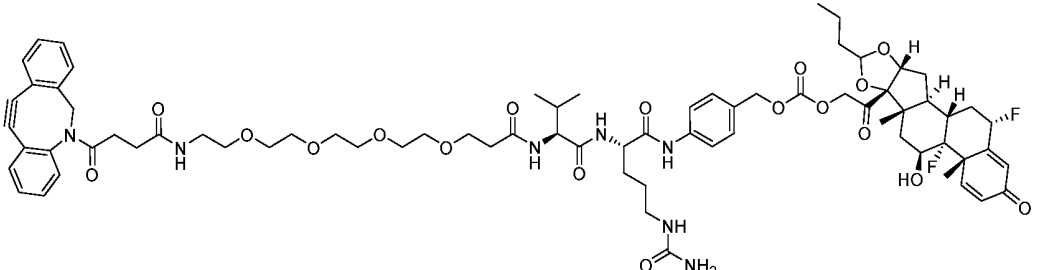
2b	
2f	
2g	

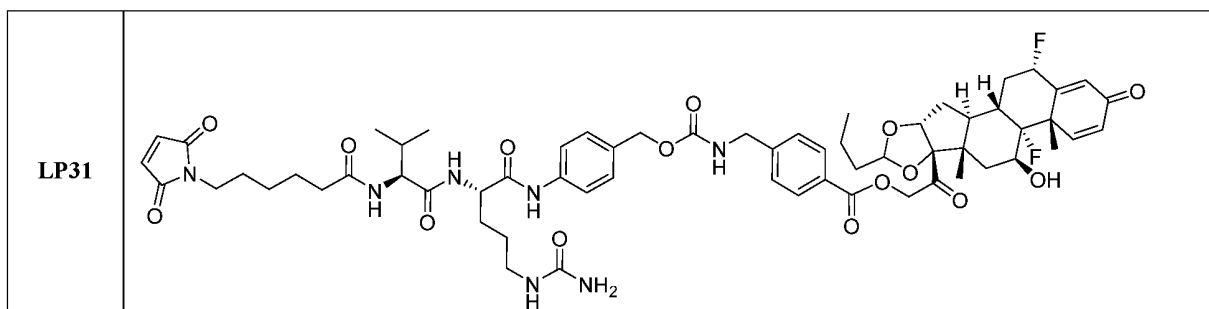
2j	
2k	
2l	
2m	

2n	
2q	
LP1	
LP2	
LP3	
LP4	

LP5	
LP6	
LP7	
LP8	
LP9	
LP10	

LP11	
LP12	
LP13	
LP18	
LP19	
LP20	

LP21	
LP22	
LP23	
LP24	
LP25	



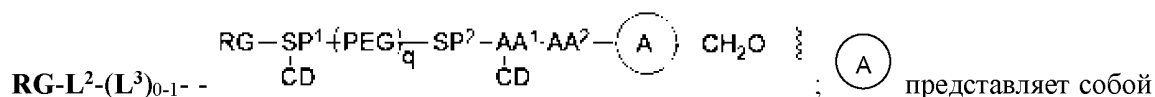
[00203] Связующие агенты, например, антитела, также могут быть конъюгированы посредством реакции клик-химии. В некоторых вариантах осуществления упомянутой реакции клик-химии линкер-нагрузка содержит реактивную группу, например, алкин, который способен вступать в реакцию 1,3 циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реактивные группы включают, помимо прочего, напряженные алкины, например, те, которые подходят для промотированных напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкины, например, циклооктины, бензаннелированные алкины и алкины, способные вступать в реакции 1,3 циклоприсоединения с азидами в отсутствие катализаторов на основе меди. Подходящие алкины также включают, помимо прочего, DIBAC, DIBO, BARAC, DIFO, замещенные алкины, например, фторированные алкины, аза-циклоалкины, BCN. Линкер-нагрузки, содержащие такие реактивные группы, полезны для конъюгирования антител, которые были функционализированы с азидогруппами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные с азидо-полиэтиленгликольными группами. В определенных вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают посредством реакции антитела, содержащего минимум один глутаминовый остаток, например, тяжелую цепь Q295, и соединения по формуле $H_2N-LL-N_3$, где LL представляет собой двухвалентная полиэтиленгликольная группа, в присутствии фермента трансглутаминазы. Для удобства, в определенных представленных здесь формулах антитело Ab представляет собой модифицированное антитело с одной или несколькими ковалентно связанными $-LL-N_3$ группами или их остатками. Предпочтительно, в каждом случае $-LL-N_3$ ковалентно связан с аминокислотной боковой цепью глутаминового остатка антитела. Также предпочтительно, $-LL-N_3$ вступает или может вступить в реакцию с реактивной группой RG, в результате чего образуется ковалентная связь с линкер-нагрузкой. Опять же для удобства, в определенных представленных здесь формулах $-LL-N_3$ группы представлены в явно выраженной форме.

[00204] Здесь представлены способы синтеза конъюгатов, включающие контакт между связующим агентом, , например, антителом, и описанной здесь линкер-нагрузкой. В определенных вариантах осуществления линкер-нагрузка включает циклодекстриновый фрагмент.

[00205] Соединения Формулы (II), (II-P) или (II-P-1) представляет собой линкер-нагрузки, которые являются полезными для синтетических промежуточных соединений в синтезе описанных здесь конъюгатов. Эти линкер-нагрузки содержат реактивную группу, которая вступает в реакцию с антителом, в результате чего образуются описанные здесь конъюгаты.

[00206] В некоторых вариантах осуществления Формулы (II), (II-P) или (II-P-1) R⁴ представляет собой алкил. В некоторых вариантах осуществления Формулы (II), (II-P) или (II-P-1), R⁴ представляет собой метил, этил, *n*-пропил, *i*-пропил, *n*-бутил, *s*-бутил, *t*-бутил, *i*-бутил, пентильный фрагмент, гексильный фрагмент, циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил. В некоторых вариантах осуществления Формулы (II), (II-P) или (II-P-1) R⁴ представляет собой алкил. В некоторых вариантах осуществления Формулы (II), (II-P) или (II-P-1) R⁴ представляет собой метил, этил, *n*-пропил, *i*-пропил, *n*-бутил, *s*-бутил, *t*-бутил, *i*-бутил, пентильный фрагмент или гексильный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления Формулы (II), (II-P) или (II-P-1) R⁴ представляет собой *n*-пропил.

[00207] В определенных вариантах осуществления

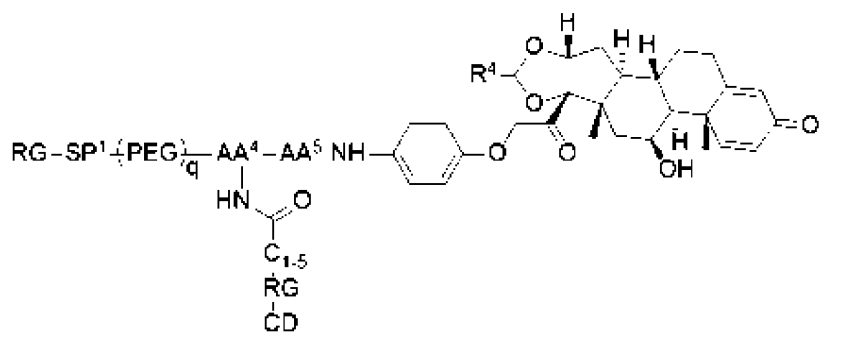


арил или гетероарил; **RG** представляет собой реактивная группа, определение которой дано ниже; **SP**¹ и **SP**² в каждом случае, независимо в каждом примере, отсутствует или является остатком спейсерной группы, и где **SP**¹ содержит трехвалентный линкер; **AA**¹ представляет собой трехвалентный линкер, содержащий аминокислотный остаток; **AA**² представляет собой пептидный остаток; **PEG** представляет собой полиэтиленгликольный остаток; где  обозначает атом, через который указанная химическая группа связывается с соседними группами в формуле, **CD** представляет собой независимо в каждом случае, отсутствует или является циклодекстриновым остатком, где присутствует минимум один **CD**, индекс **q** представляет собой целое число, которое выбирается от 0 до 5, включительно. В этих примерах индекс **q** равен 0, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых

вариантах осуществления индекс q равен 0. В некоторых вариантах осуществления индекс q равен 1. В некоторых вариантах осуществления индекс q равен 2. В некоторых вариантах осуществления индекс q равен 3. В некоторых вариантах осуществления индекс q равен 4. В некоторых вариантах осуществления индекс q равен 5. В некоторых вариантах осуществления любой из AA^1 или AA^2 содержит, независимо в каждом случае, аминокислоту, которая выбирается из аланина, валина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана, фенилаланина, пролина, серина, треонина, цистеина, тирозина, аспарагина, глутамина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лизина, аргинина, гистидина или цитруллина, их производного или их комбинации. В определенных вариантах осуществления AA^1 представляет собой аминокислота, которая выбирается из аланина, валина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана, фенилаланина, пролина, серина, треонина, цистеина, тирозина, аспарагина, глутамина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лизина, аргинина, гистидина или цитруллина, их производного или их комбинации. В определенных вариантах осуществления AA^1 представляет собой лизин или производное лизина. В определенных вариантах осуществления AA^1 представляет собой лизин. В определенных вариантах осуществления AA^1 представляет собой D-лизин. В определенных вариантах осуществления AA^1 представляет собой L-лизин. В определенных вариантах осуществления AA^2 представляет собой дипептидный остаток, трипептидный остаток, тетра-пептидный остаток или пента-пептидный остаток. В определенных вариантах осуществления AA^2 представляет собой дипептидный остаток. В определенных вариантах осуществления AA^2 представляет собой валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой глицин-валин. В определенных вариантах осуществления AA^2 представляет собой трипептидный остаток. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой тетрапептидный остаток. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой глицин-глицин-фенилаланин-глицин. В некоторых вариантах осуществления AA^2 представляет собой

пентапептидный остаток. В некоторых вариантах осуществления **AA²** представляет собой глицин-глицин-глицин-глицин-глицин. В некоторых вариантах осуществления **SP¹** независимо в каждом случае выбирается из группы, состоящей из C₁₋₆ алкилена, -NH-, -C(O)-, (-CH₂-CH₂-O)_e, -NH-CH₂-CH₂-(-O-CH₂-CH₂)_e-C(O)-, -C(O)-(CH₂)_u-C(O)-, -C(O)-NH-(CH₂)_v- и их комбинаций, где индекс **e** представляет собой целое число, которое выбирается от 0 до 4, включительно, индекс **u** представляет собой целое число, которое выбирается от 1 до 8, включительно, и индекс **v** представляет собой целое число, которое выбирается от 1 до 8, включительно. В некоторых вариантах осуществления **SP²** независимо в каждом случае выбирается из группы, состоящей из C₁₋₆ алкилена, -NH-, -C(O)-, (-CH₂-CH₂-O)_e, -NH-CH₂-CH₂-(-O-CH₂-CH₂)_e-C(O)-, -C(O)-(CH₂)_u-C(O)-, -C(O)-NH-(CH₂)_v- и их комбинаций, где индекс **e** представляет собой целое число, которое выбирается от 0 до 4, включительно, индекс **u** представляет собой целое число, которое выбирается от 1 до 8, включительно, и индекс **v** представляет собой целое число, которое выбирается от 1 до 8, включительно.

[00208] В определенных вариантах осуществления здесь представлено соединение, имеющее структуру Формулы (IIIc-R):



Формула (IIIc-R)

RG представляет собой реактивная группа;

CD представляет собой циклодекстрин;

SP¹ представляет собой спейсерная группа;

AA⁴ представляет собой аминокислотный остаток;

AA⁵ представляет собой дипептидный остаток;

PEG представляет собой полиэтиленгликоль;

q представляет собой целое число, которое выбирается от 0 до 5, включительно;

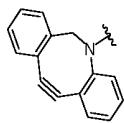
x целое число, которое выбирается от 0 до 30, включительно;

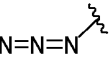
R⁴ соответствует приведенному здесь определению;

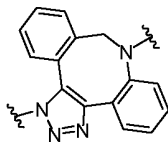
SP¹ и **SP²** независимо в каждом случае отсутствуют или являются остатком спейсерной группы и где **SP¹** содержит трехвалентный линкер; **AA⁴** представляет собой трехвалентный линкер, содержащий аминокислотный остаток; **AA⁵** представляет собой дипептидный остаток; **PEG** представляет собой полиэтиленгликольный остаток; где  обозначает атом, через который указанная химическая группа связывается с соседними группами в формуле, **CD** независимо в каждом случае отсутствует или является циклодекстриновым остатком, где присутствует минимум один **CD**, индекс **q** представляет собой целое число, которое выбирается от 0 до 5, включительно; в этих примерах индекс **q** равен 0, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления индекс **q** равен 0. В некоторых вариантах осуществления индекс **q** равен 1. В некоторых вариантах осуществления индекс **q** равен 2. В некоторых вариантах осуществления индекс **q** равен 3. В некоторых вариантах осуществления индекс **q** равен 4. В некоторых вариантах осуществления индекс **q** равен 5. В некоторых вариантах осуществления любой из **AA⁴** или **AA⁵** содержит, независимо в каждом случае, аминокислоту, которая выбирается из аланина, валина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана, фенилаланина, пролина, серина, треонина, цистеина, тирозина, аспарагина, глутамина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лизина, аргинина, гистидина или цитруллина, их производного или их комбинации. В определенных вариантах осуществления **AA⁴** представляет собой аминокислота, которая выбирается из аланина, валина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана, фенилаланина, пролина, серина, треонина, цистеина, тирозина, аспарагина, глутамина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лизина, аргинина, гистидина или цитруллина, их производного или их комбинации. В определенных вариантах осуществления **AA⁴** представляет собой лизин. В определенных вариантах осуществления **AA⁴** представляет собой лизин или производное лизина. В определенных вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой глицин-валин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой лизин-валин-цитруллин. В

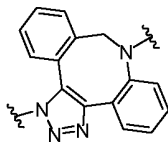
некоторых вариантах осуществления **AA⁵** представляет собой глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **SP¹** независимо в каждом случае выбирается из группы, состоящей из C₁₋₆ алкилена, -NH-, -C(O)-, (-CH₂-CH₂-O)_e, -NH-CH₂-CH₂-(-O-CH₂-CH₂)_e-C(O)-, -C(O)-(CH₂)_u-C(O)-, -C(O)-NH-(CH₂)_v- и их комбинаций, где индекс **e** представляет собой целое число, которое выбирается от 0 до 4, включительно, индекс **u** представляет собой целое число, которое выбирается от 1 до 8, включительно, и индекс **v** представляет собой целое число, которое выбирается от 1 до 8, включительно. В некоторых вариантах осуществления **SP²** независимо в каждом случае выбирается из группы, состоящей из C₁₋₆ алкилена, -NH-, -C(O)-, (-CH₂-CH₂-O)_e, -NH-CH₂-CH₂-(-O-CH₂-CH₂)_e-C(O)-, -C(O)-(CH₂)_u-C(O)-, -C(O)-NH-(CH₂)_v- и их комбинаций, где индекс **e** представляет собой целое число, которое выбирается от 0 до 4, включительно, индекс **u** представляет собой целое число, которое выбирается от 1 до 8, включительно, и индекс **v** представляет собой целое число, которое выбирается от 1 до 8, включительно. Реактивная группа (**RG**) представляет собой функциональная группа или фрагмент, которые вступают в реакцию с реактивной частью антитела, модифицированного антитела или его антиген-связывающим фрагментом. В определенных вариантах осуществления "реактивная группа" представляет собой это функциональная группа или фрагмент (, например, малеимид или эфир NHS), которые вступают в реакцию с цистеиновым или лизиновым остатком антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В определенных вариантах осуществления "реактивная группа" представляет собой это функциональная группа или фрагмент, способные вступать в реакцию клик-химии. В некоторых вариантах осуществления указанной реакции клик-химии реактивная группа содержит алкин, который способен вступать в реакцию 1,3 циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реактивные группы включают, помимо прочего, напряженные алкины, например, те, которые подходят для промотированных напряжением алкин-азидных циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкины, например, циклооктины, бензаннелированные алкины и алкины, способные вступать в реакции 1,3 циклоприсоединения с азидами в отсутствие катализаторов на основе меди. Подходящие алкины также включают, помимо прочего, DIBAC, DIBO, BARAC, DIFO, замещенные алкины, например, фторированные алкины, аза-циклоалкины, BCN. Линкер-нагрузки, содержащие такие реактивные группы, полезны для конъюгирования антител, которые были функционализированы с азидогруппами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные с азидо-полиэтиленгликольными группами. В определенных вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают посредством реакции антитела, содержащего минимум один глутаминовый

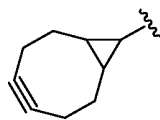
остаток, например, тяжелую цепь Q295, и соединения по формуле $H_2N-LL-N_3$, где LL представляет собой трехвалентная полиэтиленгликольная группа, которая включает полиэтиленгликоль и циклодекстриновый фрагмент, в присутствии фермента трансклутаминазы. В некоторых вариантах осуществления реактивная группа

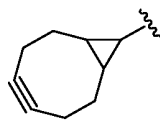


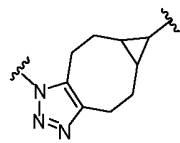
представляет собой алкин, например, , который может вступать в реакцию посредством клик-химии с азидом, например, $N=N=N$, в результате чего образуется

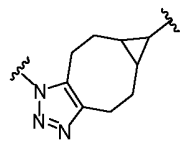


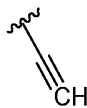
продукт клик-химии, например, , его региоизомер или их смесь. В некоторых вариантах осуществления реактивная группа представляет собой алкин,

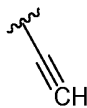


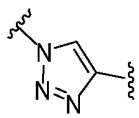
например, , который может вступать в реакцию посредством клик-химии с азидом, например, $N=N=N$ в результате чего образуется продукт клик-химии,

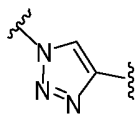


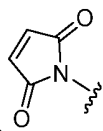
например, . В некоторых вариантах осуществления реактивная группа

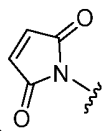


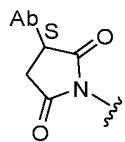
представляет собой алкин, например, , который может вступать в реакцию посредством клик-химии с азидом, например, $N=N=N$, в результате чего образуется



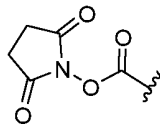
продукт клик-химии, например, , его региоизомер или их смесь. В некоторых вариантах осуществления реактивная группа представляет собой функциональная группа,



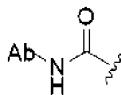
например, , которая вступает в реакцию с цистеиновым остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте, в результате чего образуется связь с ним, например,



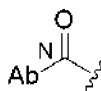
, где Ab означает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, а S означает S атом на цистеиновом остатке, через который функциональная группа связывается с Ab. В некоторых вариантах осуществления реактивная группа представляет собой



функциональная группа, например, , которая вступает в реакцию с лизиновым остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте, в результате

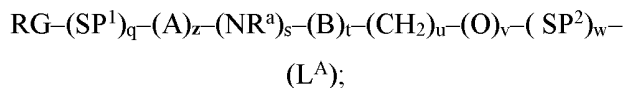


чего образуется связь с ним, например, , где Ab означает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, а N означает N атом на лизиновом остатке, через который функциональная группа связывается с Ab. В некоторых вариантах осуществления этот N атом на лизиновом остатке, через который связывается функциональная группа,



обозначается здесь как буква N над связью, например, .

[00209] В некоторых вариантах осуществления $\text{RG-L}^2\text{-(L}^3\text{)}_{0-1}$ - моновалентный фрагмент Формулы (L^A);



где RG представляет собой реактивная группа;

A представляет собой аминокислота или пептид;

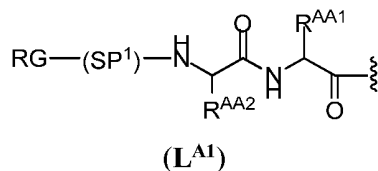
R^a представляет собой H или алкил;

B представляет собой арил, гетероарил или гетероциклоалкил, где арил, гетероарил или

гетероциклоалкил дополнительно замещается алкилом, -OH или $-\text{N-R}^a\text{R}^b$;

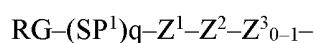
SP^1 и SP^2 независимо являются спейсерными группами; и q, z, s, t, u, v и w, независимо в каждом случае, 0 или 1.

[00210] В некоторых вариантах осуществления $\text{RG-L}^2\text{-(L}^3\text{)}_{0-1}$ - представляет собой $\text{RG}-(\text{SP}^1)_q-(\text{A})_z-$. В некоторых вариантах осуществления $\text{RG-L}^2\text{-(L}^3\text{)}_{0-1}$ - представляет собой $\text{RG}-(\text{SP}^1)_q-(\text{A})_{2-}$. В некоторых вариантах осуществления $\text{RG-L}^2\text{-(L}^3\text{)}_{0-1}$ - фрагмент Формулы (L^{A1})



где $\text{R}^{\text{AA}1}$ и $\text{R}^{\text{AA}2}$ представляет собой в каждом случае, независимо, аминокислотные боковые цепи. В некоторых вариантах осуществления Формулы $\text{L}^{\text{A}1}$ SP^1 представляет собой двухвалентная полиэтиленгликольная группа и RG представляет собой группа, содержащая алкин, который способен вступать в реакцию 1,3-циклоприсоединения с азидом.

[00211] В некоторых вариантах осуществления $\text{RG-L}^2-(\text{L}^3)_{0-1}$ имеет следующую структуру:



где:

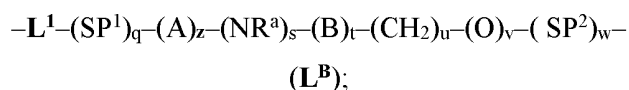
RG , SP^1 и q представляет собой соответствую приведенным здесь определениям;

Z^1 представляет собой полиэтиленгликольная или капроильная группа;

Z^2 представляет собой дипептид; и

Z^3 представляет собой PAB группа.

[00212] В некоторых других вариантах осуществления $-\text{L}^1-\text{L}^2-(\text{L}^3)_{0-1}$ представляет собой трехвалентный фрагмент с Формулой (L^{B}) ;



где L^1 соответствует приведенному здесь определению;

A представляет собой трипептид или тетрапептид, где минимум одна из аминокислот в трипептиде или тетрапептиде связывается напрямую или опосредованно с циклодекстриновым фрагментом;

R^{a} представляет собой H или алкил;

B представляет собой арил, гетероарил или гетероциклоалкил, при этом арил, гетероарил или гетероциклоалкил опционально замещается алкилом, $-\text{OH}$ или $-\text{NR}^{\text{a}}\text{R}^{\text{b}}$;

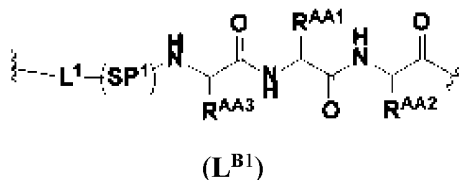
SP^1 и SP^2 представляет собой независимо спейсерные группы; и в Формуле L^{B} , q , z , s , t , u , v и w , независимо в каждом случае представляет собой 0 или 1.

[00213] В некоторых вариантах осуществления циклодекстрин (CD) связывается напрямую с аминокислотным остатком, таким как остаток аминокислоты лизина. Это

означает, что **CD** находится на расстоянии одной связи от ковалентного линкера аминокислоты лизина. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер также напрямую связывается с нагрузкой. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии одной связи от нагрузки, такой как, помимо прочего, описанная здесь стероидная нагрузка. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер также напрямую связывается с **CD**. Это означает, что ковалентный линкер на расстоянии одной связи от **CD**, например, описанных здесь **CD**. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер представляет собой аминокислота лизин или ее производное.

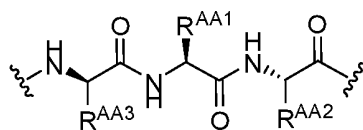
[00214] В некоторых вариантах осуществления **CD** опосредованно связывается с ковалентным линкером в соединительной группе (например, L , $-L^2-(L^3)_{0-1}$ и $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}$). Это означает, что **CD** находится на расстоянии более чем одной связи от ковалентного линкера. Это также означает, что **CD** связывается через другой фрагмент с ковалентным линкером. Например, **CD** может связываться с малеимидной группой, которая связывается с полиэтиленгликольной группой, которая связывается с ковалентным линкером. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер также опосредованно связывается с нагрузкой. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии более чем одной связи от нагрузки, такой как, помимо прочего, описанная здесь стероидная нагрузка. Это также означает, что ковалентный линкер связывается через другой фрагмент с нагрузкой. Например, ковалентный линкер может быть связан с дипептидом, таким как, помимо прочего, Val-Ala или Val-Cit, который может быть связан с пара-амино бензоилом, который может быть связан с нагрузкой. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер также опосредованно связывается с циклодекстрином. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии более чем одной связи от циклодекстрина, например, описанных здесь циклодекстринов. Это также означает, что ковалентный линкер связывается через другой фрагмент с циклодекстрином. Например, ковалентный линкер может быть связан с полиэтиленгликольной группой, которая может быть связана с реактивной группой с циклодекстрином. В некоторых из этих вариантов осуществления ковалентный линкер представляет собой аминокислота лизин или ее производное.

[00215] В некоторых вариантах осуществления $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}$ представляет собой $-L^1-(SP^1)_q-(A)_z-$. В некоторых вариантах осуществления $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}$ представляет собой $-L^1-(SP^1)_q-(A)_2-$. В некоторых вариантах осуществления $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}$ представляет собой фрагмент Формулы (**L^{B1}**)



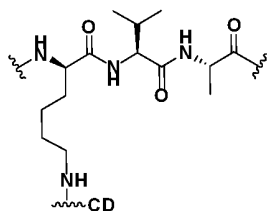
где R^{AA1} и R^{AA2} представляет собой в каждом случае, независимо, аминокислотные боковые цепи. R^{AA3} представляет собой аминокислотная боковая цепь, которая связана напрямую или опосредованно с циклодекстрином. В некоторых вариантах осуществления Формулы L^{B1}, SP¹ представляет собой двухвалентная полиэтиленгликольная группа и L¹ представляет собой продукт реакции 1,3-циклоприсоединения между алкином и азидом.

[00216] В некоторых вариантах осуществления A представляет собой



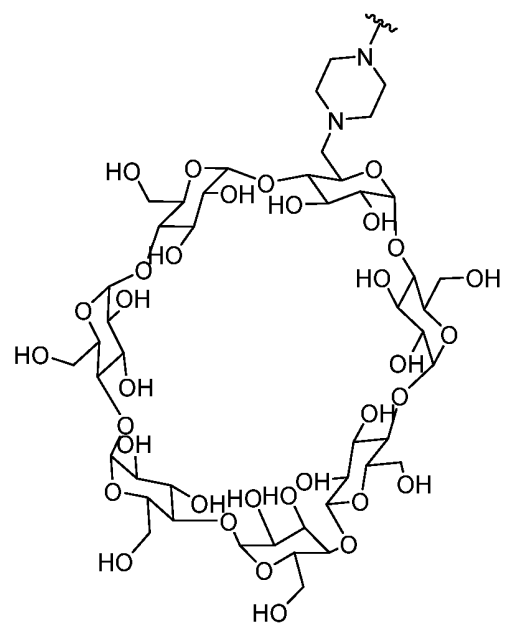
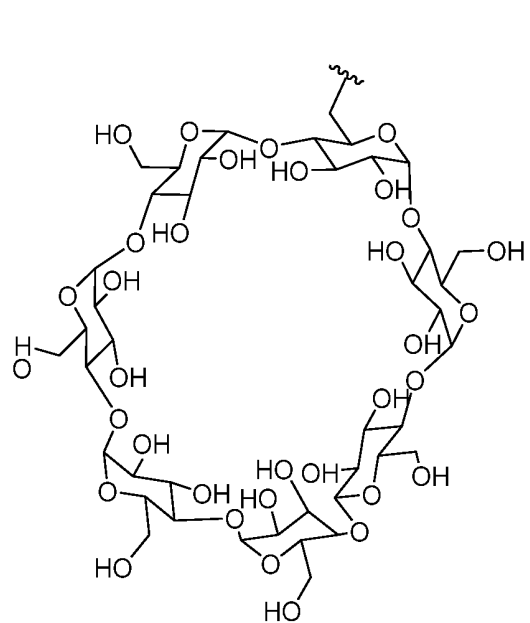
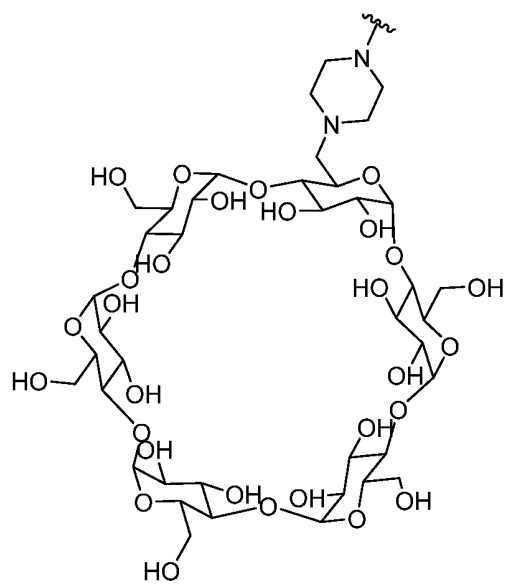
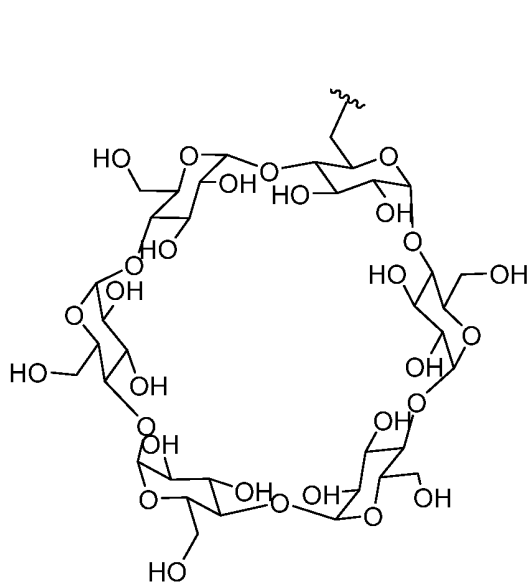
. В некоторых вариантах осуществления R^{AA1} представляет собой аминокислотная боковая цепь, R^{AA2} представляет собой аминокислотная боковая цепь и R^{AA3} представляет собой аминокислотная боковая цепь, которая связывается напрямую или опосредованно с циклодекстриновым фрагментом.

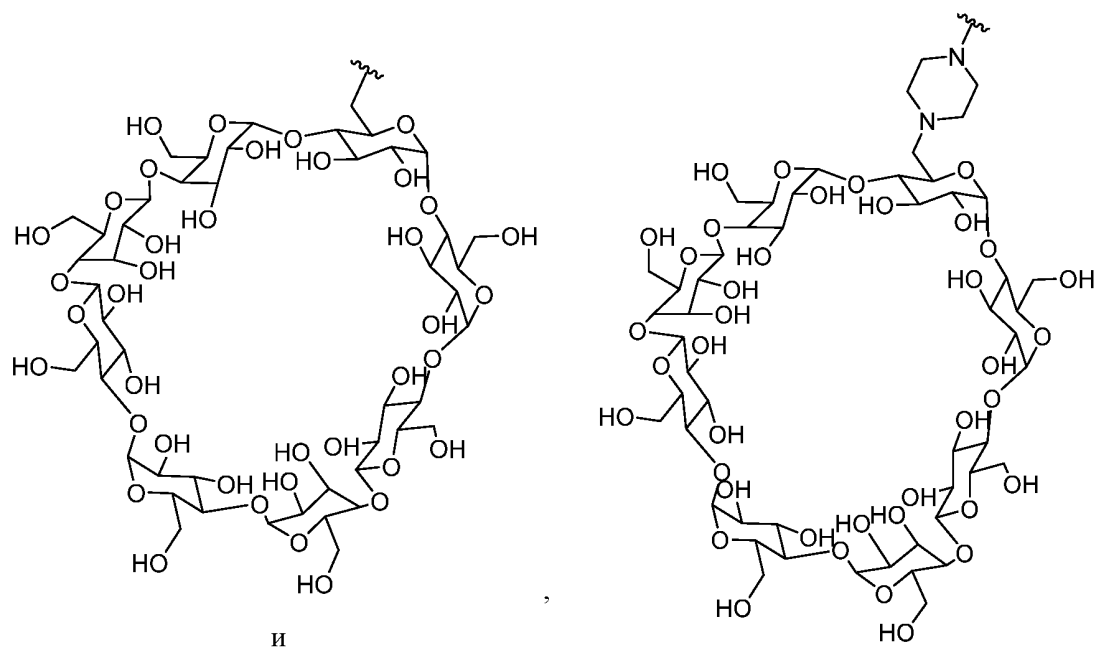
[00217] В некоторых вариантах осуществления A представляет собой



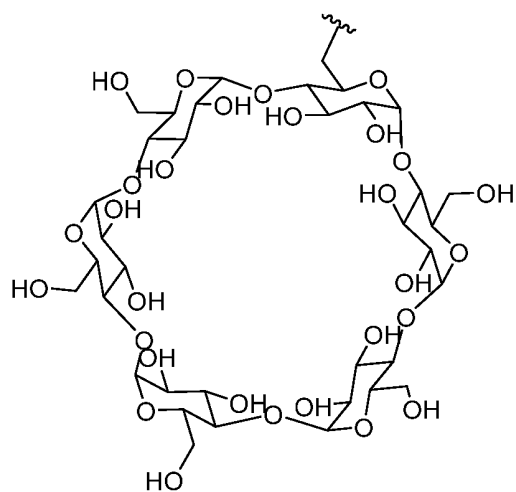
, где $\sim\sim\sim\text{CD}$ представляет прямую или опосредованную связь с циклодекстриновым фрагментом.

[00218] В некоторых вариантах осуществления, включая любые из указанных выше, CD, независимо в каждом случае, выбирается из

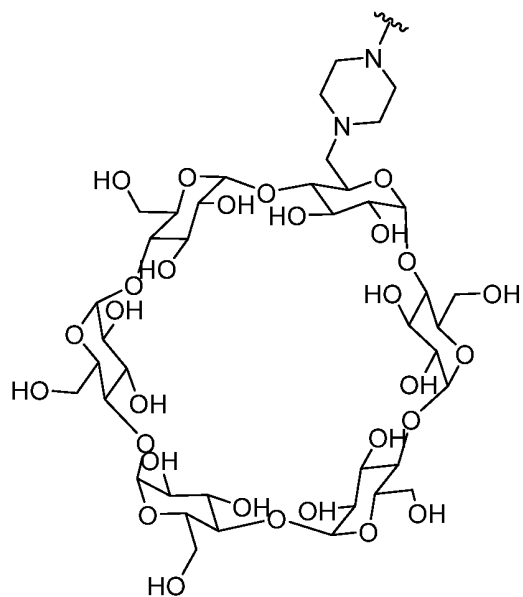




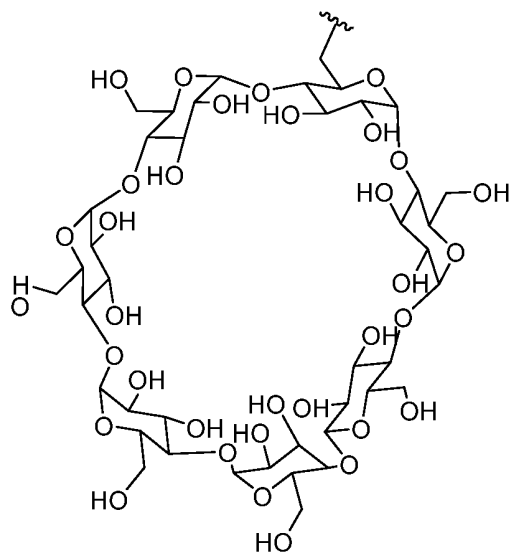
В некоторых вариантах осуществления **CD** представляет собой



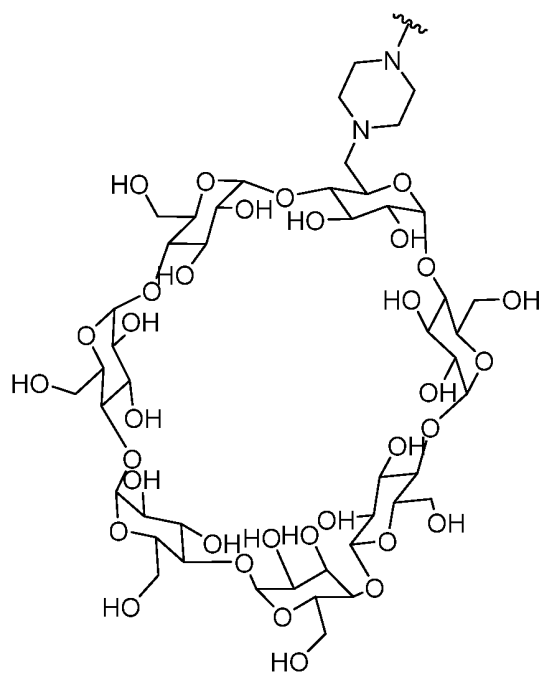
В некоторых вариантах осуществления **CD** представляет собой



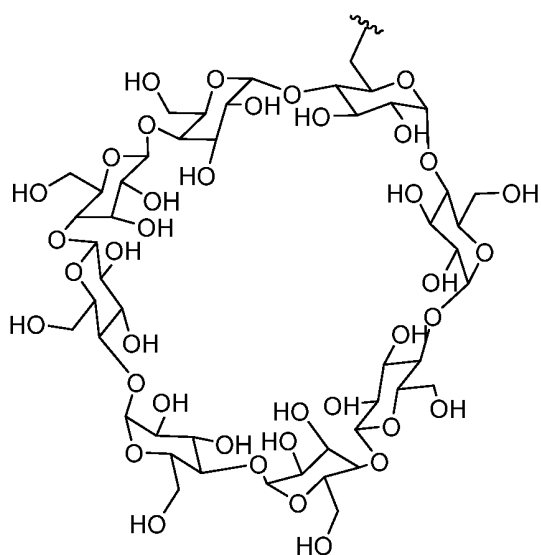
В некоторых вариантах осуществления **CD** представляет собой



В некоторых вариантах осуществления **CD** представляет собой

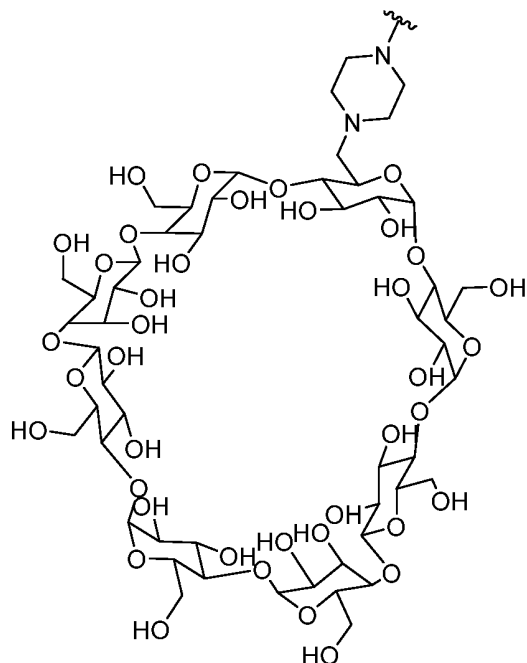


. В некоторых вариантах осуществления **CD**



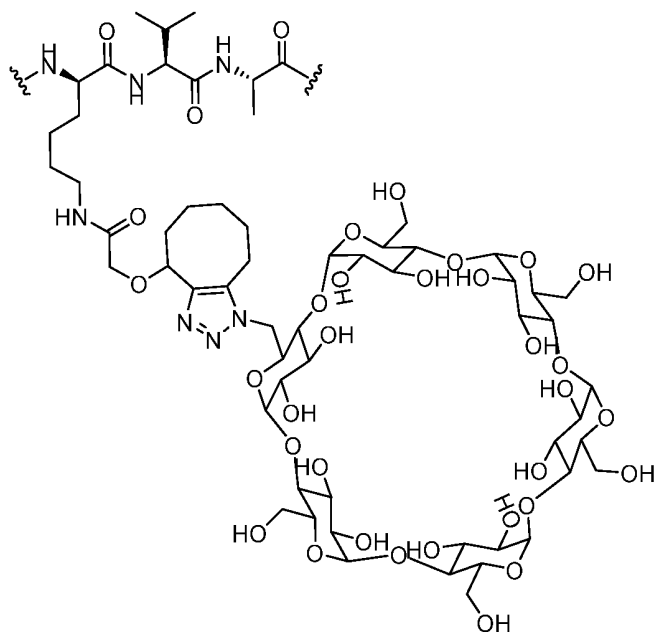
представляет собой

. В некоторых вариантах



осуществления **CD** представляет собой

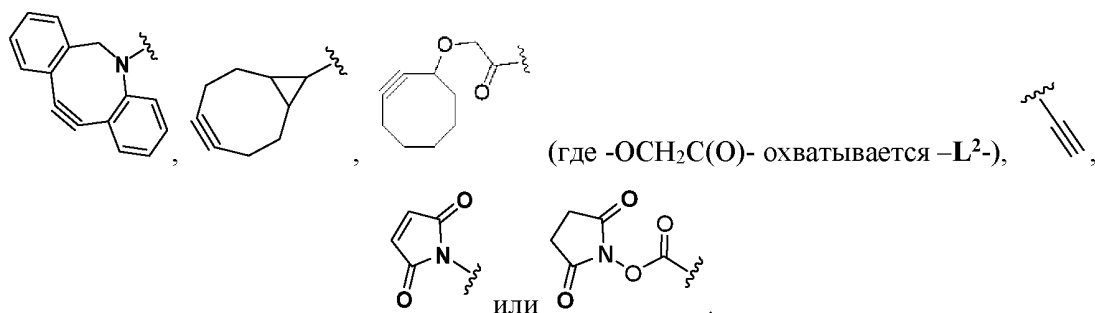
[00219] В некоторых вариантах осуществления **A** представляет собой



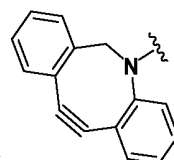
[00220] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе **RG** выбирается из реактивной группы клик-химии.

[00221] В некоторых других примерах в настоящем документе **RG** выбирают из группы, которая вступает в реакцию с цистеиновым или лизиновым остатком на антителе или на его антигенсвязывающем фрагменте.

[00222] В некоторых вариантах осуществления **RG** представляет собой

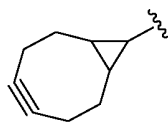


В некоторых вариантах осуществления **RG** представляет собой



. В других

примерах **RG** представляет собой

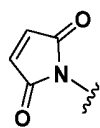


. В некоторых других примерах **RG**

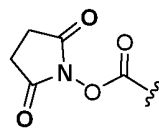
представляет собой



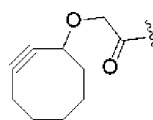
. В некоторых вариантах осуществления **RG** представляет собой



. В других примерах **RG** представляет собой

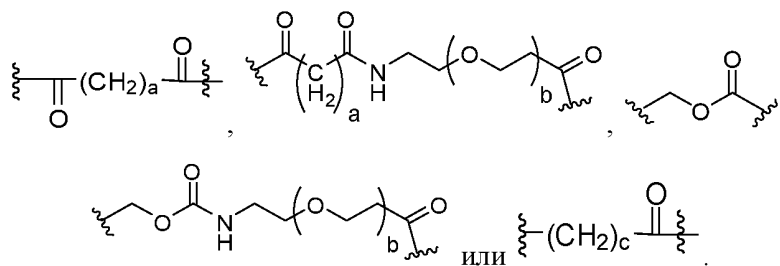


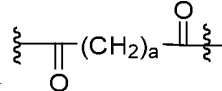
В других примерах **RG** представляет собой

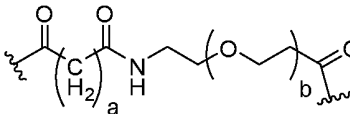


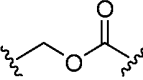
, где $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{O})-$ охватывается $-\text{L}^2-$.

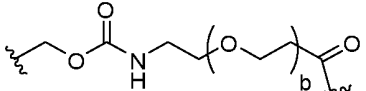
[00223] В некоторых вариантах осуществления SP^1 охватывается $-\text{L}^2-$. В некоторых вариантах осуществления SP^1 можно выбрать из:

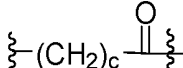


В некоторых вариантах осуществления SP^1 представляет собой . В

некоторых других примерах SP^1 представляет собой .

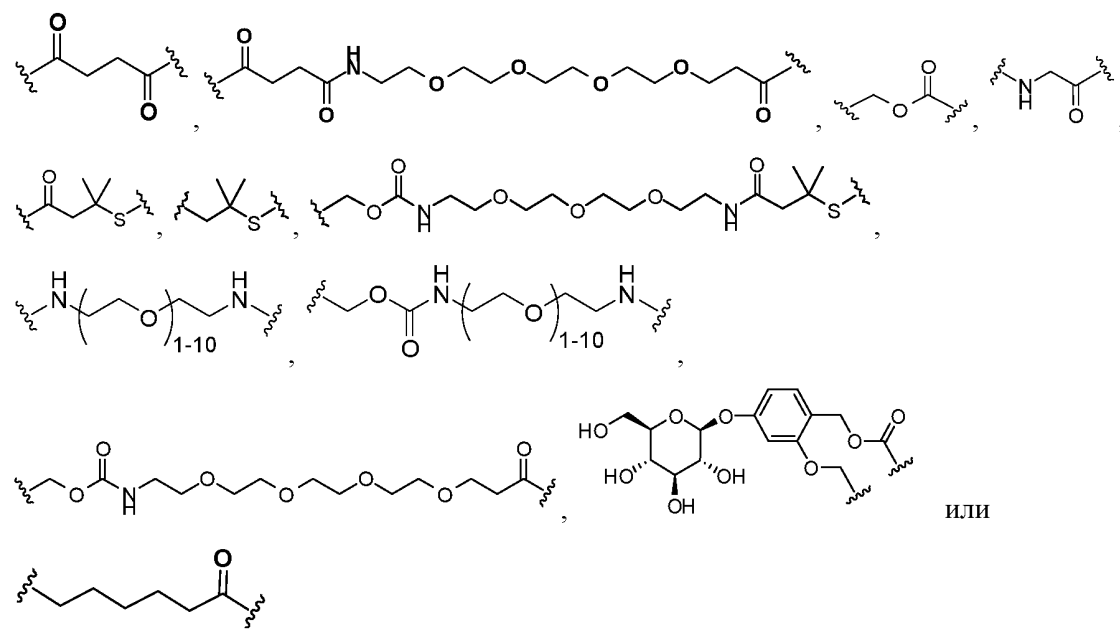
В других примерах SP^1 представляет собой . В других примерах SP^1

представляет собой . В некоторых других примерах SP^1 -

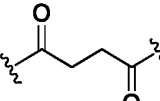
.

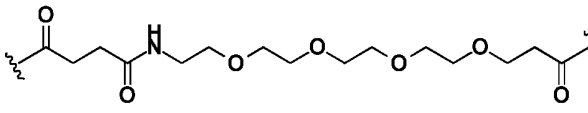
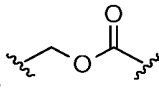
[00224] В любых из приведенных выше примеров индексы a, b и c независимо, в каждом случае, являются целым числом, которое выбирается от 1 до 20, включительно.

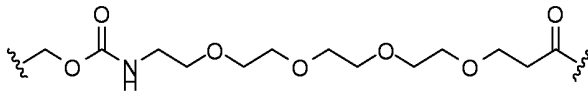
[00225] В некоторых вариантах осуществления SP^1 охватывается $-L^2-$. В любом из соединений SP^1 -:

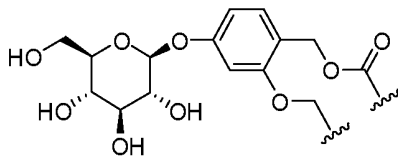


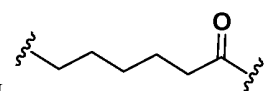
[00226] В некоторых вариантах осуществления SP^1 охватывается $-L^2-$. В некоторых

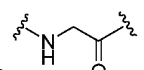
вариантах осуществления SP^1 - . В некоторых вариантах осуществления SP^1

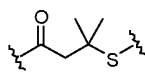
представляет собой  ,  . В некоторых вариантах осуществления SP¹ представляет собой

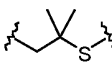
 . В некоторых вариантах осуществления

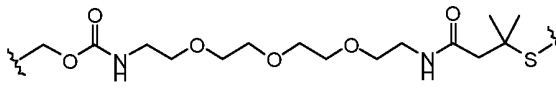
SP¹ представляет собой  . В некоторых вариантах

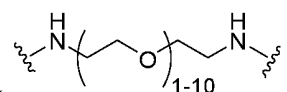
осуществления SP¹ представляет собой  . В некоторых вариантах

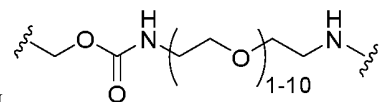
осуществления SP¹ представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления

SP¹ представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления SP¹

представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления SP¹ представляет

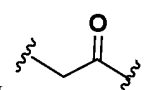
собой  . В некоторых вариантах

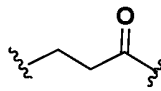
осуществления SP¹ представляет собой  . В некоторых вариантах

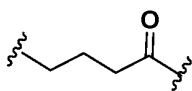
осуществления SP¹ представляет собой  .

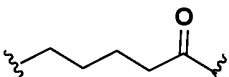
[00227] В некоторых вариантах осуществления SP¹ охватывается -L²-. В некоторых

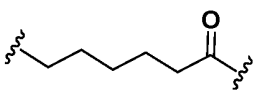
вариантах осуществления SP¹ представляет собой  . В некоторых вариантах

осуществления SP¹ представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления

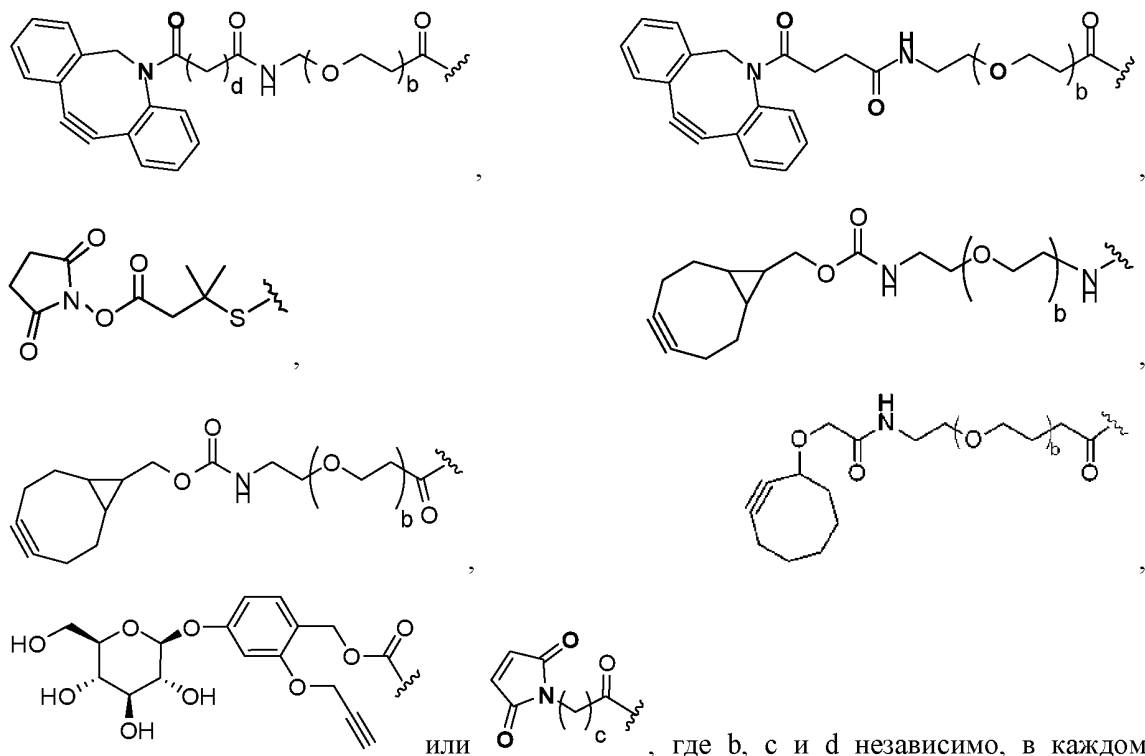
SP¹ представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления SP¹

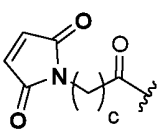
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления SP¹

представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления SP^1

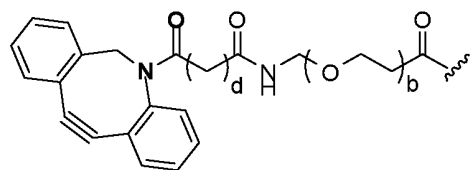
представляет собой  .

[00228] В некоторых вариантах осуществления $RG-SP^1$ (где SP^1 охватывается $-L^2-$) можно выбрать из группы, состоящей из:

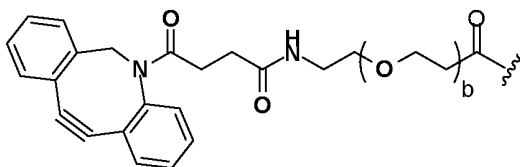


или  , где b, c и d независимо, в каждом случае, являются целым числом от 1 до 20, включительно. В некоторых из этих вариантов осуществления индексы b, c и d независимо, в каждом случае, являются целым числом, которое выбирается от 1 до 6, включительно.

[00229] В некоторых вариантах осуществления $RG-SP^1$ — представляет собой



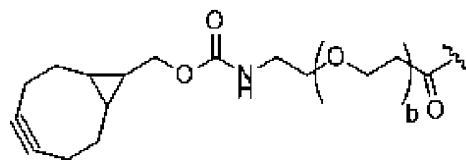
. В некоторых вариантах осуществления $RG-SP^1$



представляет собой

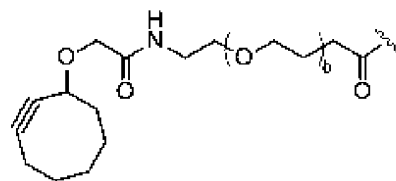
. В некоторых вариантах

осуществления RG-SP¹ представляет собой

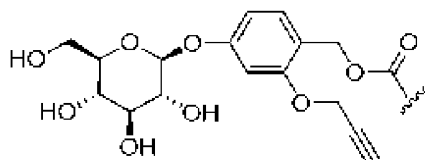


. В

некоторых вариантах осуществления RG-SP¹ -

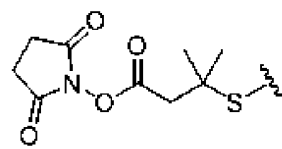


В некоторых вариантах осуществления RG-SP¹ представляет собой



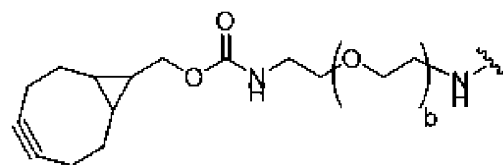
. В некоторых вариантах осуществления RG-SP¹

представляет собой



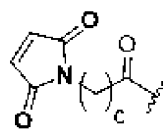
. В некоторых вариантах осуществления RG-SP¹

представляет собой



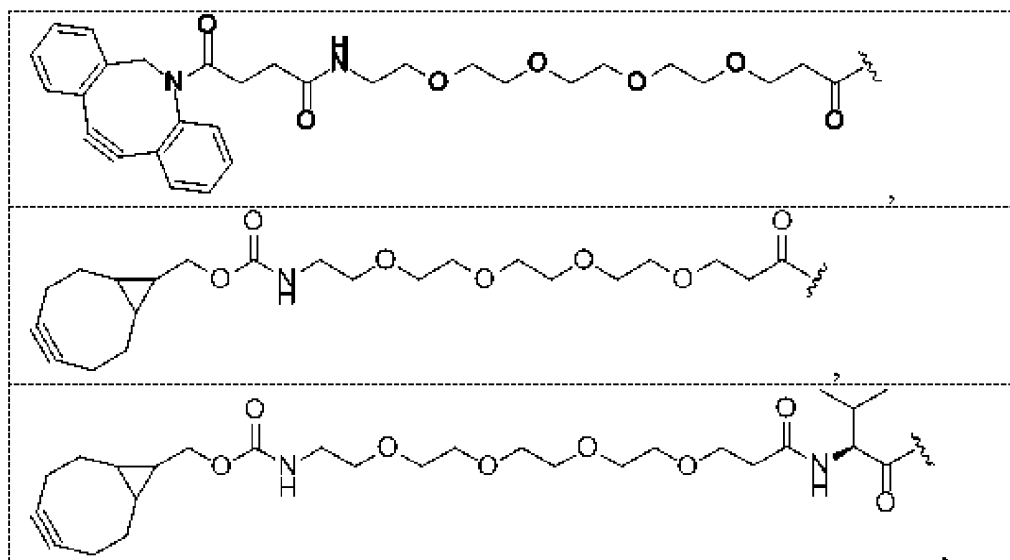
, в некоторых вариантах

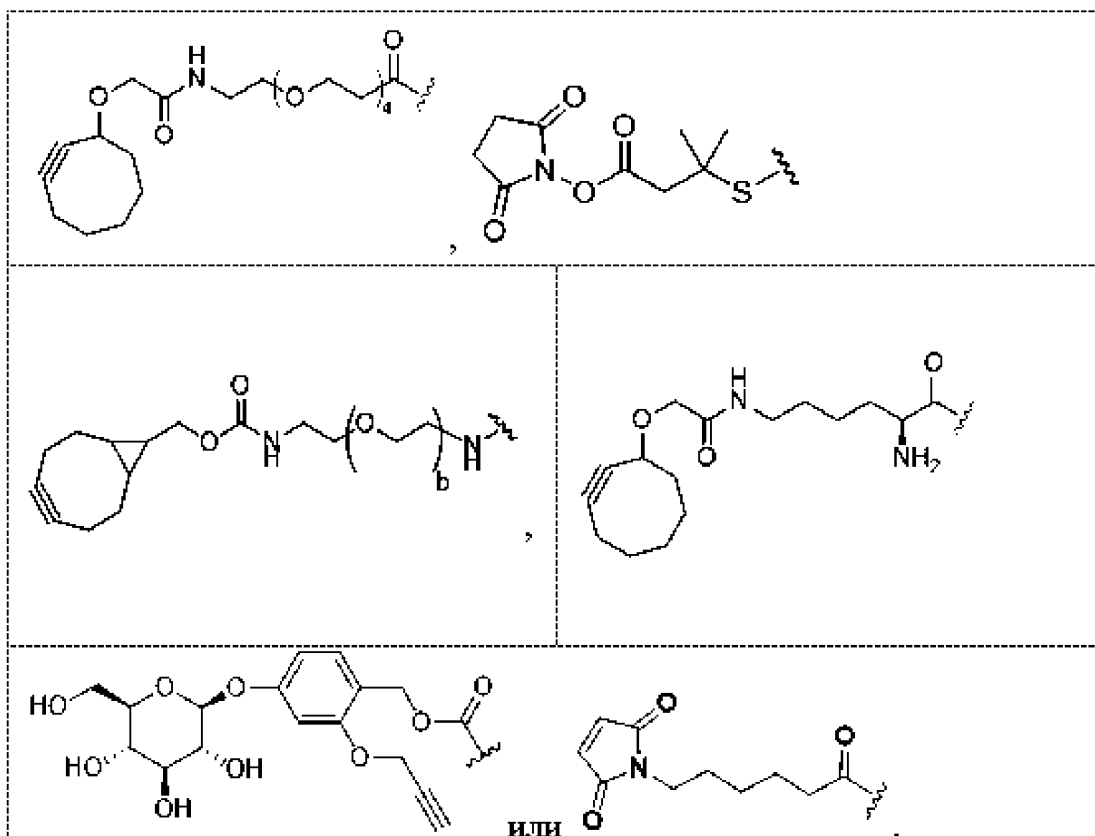
осуществления RG-SP¹ представляет собой



[00230]

В любом из соединений RG-SP¹ -:





[00231] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой пептид, который выбирается из валин-цитруллина, цитруллин-валина, лизин-фенилаланина, фенилаланин-лизина, валин-аспарагина, аспарагин-валина, треонин-аспарагина, аспарагин-треонина, серин-аспарагина, аспарагин-серина, фенилаланин-аспарагина, аспарагин-фенилаланина, лейцин-аспарагина, аспарагин-лейцина, изолейцин-аспарагина, аспарагин-изолейцина, глицин-аспарагина, аспарагин-глицина, глутаминовая кислота-аспарагина, аспарагин-глутаминовой кислоты, цитруллин-аспарагина, аспарагин-цитруллина, аланин-аспарагина или аспарагин-аланина.

[00232] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой валин-цитруллин или цитруллин-валин.

[00233] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой валин-аланин или аланин-валин.

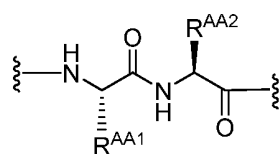
[00234] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой глутамат-валин-цитруллин или цитруллин-валин- глутамат.

[00235] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой валин.

[00236] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой аланин.

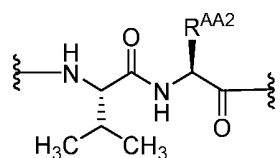
[00237] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой цитруллин.

[00238] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой

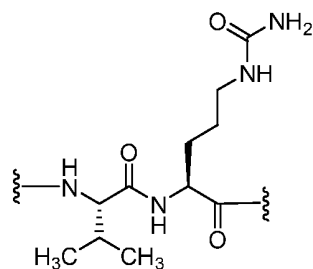


. В некоторых из этих вариантов осуществления R^{AA1} представляет собой аминокислотная боковая цепь и где R^{AA2} представляет собой аминокислотная боковая цепь.

[00239] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой



[00240] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой



[00241] В некоторых вариантах осуществления R^a представляет собой H.

[00242] В некоторых вариантах осуществления R^a представляет собой алкил.

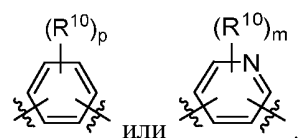
[00243] В некоторых вариантах осуществления R^a представляет собой метил, этил, n-пропил, i-пропил, n-бутил, t-бутил, i-бутил или пентил.

[00244] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой арил.

[00245] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой фенил.

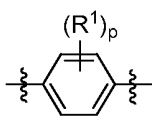
[00246] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой фенил или пиридинил.

[00247] В некоторых вариантах осуществления здесь В представляет собой это:



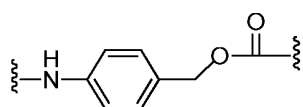
[00248] В этих примерах R^{10} представляет собой алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкиларил, арилалкил, гало, галоалкил, галоалкокси, гетероарил, гетероциклоалкил, гидроксил, циано, нитро, $-\overset{\zeta}{-}OR^A$, $-\overset{\zeta}{-}SO_2R^A$, $-\overset{\zeta}{-}\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-R^A$, NR^aR^b или азида. В этих примерах индексы p и m независимо, в каждом случае, выбираются из целого числа, которое выбирается от 0 до 4, включительно. В некоторых вариантах осуществления в настоящем

документе B представляет собой это:

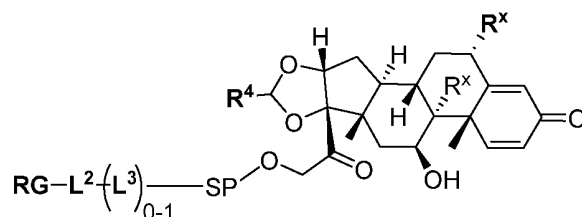


[00249] В этих примерах p представляет собой 0, 1, 2, 3 или 4. В некоторых из этих вариантов осуществления R^1 , независимо в каждом случае, алкил, алкокси, галоалкил или гало. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой алкил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой галоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой гало.

[00250] В некоторых вариантах осуществления Формулы $(L^A)-(NR^a)_s-(B)_t-(CH_2)_u-(O)_v-(SP^2)_w$:



[00251] В настоящем документе также представлены линкер-нагрузки будесонида, пролекарства будесонида, аналога или производного будесонида (включая фторированные аналоги и производные) или пролекарства аналога или производного будесонида (включая фторированные аналоги и производные). В некоторых вариантах осуществления здесь представлена линкер-нагрузка со следующей структурой:



где RG , R^4 , L^2 , L^3 и SP соответствуют приведенным здесь определениям.

Е. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ

[00252] В настоящем описании изобретения представлены способы лечения заболеваний, состояний или нарушений, например, воспалительных заболеваний и аутоиммунных нарушений, или контроля их симптомов, включающие введение терапевтически эффективного количества одного или более представленных здесь соединений. Включаются любые заболевания, нарушения или состояния, ассоциируемые с глюкокортикоидным рецептором, глюкокортикоидным связыванием и/или сигнализацией глюкокортикоидного рецептора. Такие способы включают введение стероидной нагрузки или ее белкового конъюгата, представленного здесь, пациенту. Таким образом, в настоящее описание изобретения включаются способы лечения заболевания, нарушения или состояния, связанного с глюкокортикоидным рецептором, включающие введение соединения Формулы (I), Формулы I-P, Формулы I-P-1, Формулы (III-P), Формулы III-P-1, Формулы (3000) или (III) пациенту, у которого имеется упомянутое заболевание, нарушение или состояние.

[00253] Настоящее описание изобретения включает способы профилактики определенных заболеваний или состояний, включающие введение терапевтически эффективного количества одного или более представленных здесь соединений (т.е. профилактическое применение). Примеры включают, помимо прочего, профилактику синдрома высвобождения цитокинов для CD3 биспецифических соединений и адаптивную клеточную терапию, такую как Т-клетки с CAR, систематическое введение IL-2, профилактики реакции «трансплантат против хозяина» и послеоперационной тошноты и рвоты. Примеры также включают, помимо прочего, терапевтические антитела, такие как алемтузумаб, муромонаб, ритуксимаб, тоситузумаб и агонистические Ab, где иммунная стимуляция может быть частью необходимого механизма действия.

[00254] В некоторых вариантах осуществления таким заболеванием, нарушением или состоянием является аллергическое состояние, включая, помимо прочего, астму, атопический дерматит, контактный дерматит, аллергический дерматит, гиперчувствительность к лекарственному препарату, анафилактический ринит, круглогодичный или сезонный аллергический ринит и сывороточную болезнь; дерматологические заболевания и состояния, включая, помимо прочего, кожный зуд, себорейный дерматит, нейродерматит, экзему, герпетиформный буллезный дерматит, эксфолиативную эритродермию, фунгоидный микоз, пемфигус и серьезную многоформную эритему (синдром Стивенса–Джонсона); эндокринные нарушения, включая, помимо прочего, первичную или вторичную адренокортикальную

недостаточность, врожденную гиперплазию надпочечников, гиперкальцемию, ассоциируемую с раком, и гранулематозный зоб Де Кервена; желудочно--кишечные заболевания; гематологические нарушения, включая, помимо прочего, приобретенную (аутоиммунную) гемолитическую анемию, врожденную (эритроидную) гипопластическую анемию (анемию Даймонда-Блекфана), идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру у взрослых, истинную эритроцитарную аплазию и вторичную тромбоцитопению; трихинеллез; туберкулезный менингит с субарахноидальным блоком или развивающимся блоком; неопластические заболевания, включая, помимо прочего, лейкемии и лимфомы; нарушения нервной системы, включая, помимо прочего, выраженные обострения рассеянного склероза, отек головного мозга, связанный с первичной или метастатической опухолью головного мозга, краниотомию или травму головы; офтальмологические заболевания, включая, помимо прочего, симпатическую офтальмию, височный артериит, увеит, ксерофтальмию, и воспалительные состояния глаз, не поддающиеся лечению местными кортикостероидами; заболевания почек, включая, помимо прочего, для индуцирования диуреза или ремиссии протеинурии при идиопатическом нефротическом синдроме или обусловленном эритематозной волчанкой; респираторные заболевания, включая, помимо прочего, бериллиоз, прогрессирующий или диссеминированный туберкулез легких при одновременном применении с соответствующей противотуберкулезной химиотерапией, идиопатическую эозинофильную пневмонию, симптоматический саркоидоз; и ревматические нарушения, включая, помимо прочего, применение в качестве дополнительной терапии для краткосрочного введения (для преодоления острого эпизода или обострения у пациента) при остром подагрическом артрите, остром ревматическом кардите, анкилозирующем спондилоартрите, псориатическом артрите, ревматоидном артрите, включая ювенильный ревматоидный артрит, и для применения при дерматомиозите, полимиозите, стоматите и системной красной волчанке.

[00255] В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ лечения заболевания, нарушения или состояния, которые выбираются из следующих: аутоиммунное заболевание, аллергия, артрит, астма, расстройство дыхания, заболевание крови, рак, коллагеновая болезнь, нарушения со стороны соединительной ткани, дерматологическое заболевание, заболевание глаз, эндокринное нарушение, иммунологическое заболевание, воспалительное заболевание, кишечные нарушения, заболевание желудочно-кишечного тракта, неврологическое нарушение, состояния при трансплантации, ревматоидное нарушение, кожное заболевание, состояние отечности,

состояние заживления раны и их комбинации, включающий введение стероидной нагрузки или представленного здесь конъюгата.

[00256] В некоторых вариантах осуществления аутоиммунное нарушение выбирается из рассеянного склероза, аутоиммунного гепатита, опоясывающего лишая, системной красной волчанки (т.е. волчанки), миастении гравис, миодистрофии Дюшенна и саркоидоза. В некоторых вариантах осуществления расстройство дыхания выбирается из астмы, хронического респираторного заболевания, хронической обструктивной болезни легких, воспаления бронхов и острого бронхита. В некоторых вариантах осуществления рак выбирается из лейкемии, лимфобластической лейкемии, острой лимфобластической лейкемии, хронической лимфобластической лейкемии, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы (NHL) и множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления коллагеновой болезнью является системная красная волчанка. В некоторых вариантах осуществления заболеванием глаз является кератит. В некоторых вариантах осуществления эндокринное нарушение выбирается из Аддисоновой болезни, недостаточности надпочечников, дисфункции коры надпочечников, адренокортикальной гиперплазии и врожденной гиперплазии надпочечников. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание выбирается из воспаления после операции по удалению катаракты, воспаления сустава, иммунного воспаления, воспаления связок, бурсита, эпикондилита, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, липоидного пневмонита, тиреоидита, крапивницы, перикардита, нефротического синдрома и увеита. В некоторых вариантах осуществления кишечное нарушение выбирается из коллагенозного колита, язвенного колита, болезни Крона и воспалительного заболевания кишечника. В некоторых вариантах осуществления ревматоидное нарушение выбирается из ревматоидного артрита, ревматической полимиалгии, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита и системной красной волчанки. В некоторых вариантах осуществления кожное заболевание выбирается из псориаза, экземы и дерматита в результате контакта с ядовитым плющом. В некоторых вариантах осуществления неврологическим нарушением является хроническая воспалительная демиелинизирующая полирадикулонейропатия.

[00257] В некоторых вариантах осуществления описанные здесь соединения вводятся пациенту для лечения острого воспалительного события, включая, помимо прочего, шок, отек головного мозга и реакцию «трансплантат против хозяина». В некоторых вариантах осуществления описанные здесь соединения вводятся для лечения лимфолитических эффектов, включая, помимо прочего, эффекты, связанные с

гематологическими злокачественными опухолями, например, лейкомиями, лимфомами и миеломами.

[00258] В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ уменьшения воспаления у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества стероида или его описанного здесь конъюгата. В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ модуляции иммунной системы у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества стероида или его описанного здесь конъюгата. В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ модуляции уровней кортизола у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества стероида или его описанного здесь конъюгата. В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ уменьшения миграции лимфоцитов у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества стероида или его описанного здесь конъюгата. В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ лечения гиперкальцемии, развившейся вследствие рака, синдрома Меньера, мигрени, кластерной головной боли, тяжелой афтозной язвы, ларингита, тяжелого туберкулеза, реакции Герксаймера на сифилис, декомпенсированной сердечной недостаточности, аллергического ринита или полипов носовой полости, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества стероида или его описанного здесь конъюгата. В некоторых вариантах осуществления представленные здесь соединения можно использовать для лечения воспалительного заболевания кишечника, болезни Крона или язвенного колита. В некоторых вариантах осуществления упомянутым заболеванием, нарушением или состоянием является хроническое воспалительное состояние, включая, помимо прочего, астму, кожные инфекции и глазные инфекции. В некоторых вариантах осуществления представленные здесь соединения используются для иммуносупрессии у пациентов, проходящих трансплантацию органов.

[00259] В некоторых вариантах осуществления стероидные нагрузки и их конъюгаты, описанные в настоящем документе, вводятся пациенту для лечения заболевания нервной системы, связанного с сигнализацией ГР, включая, помимо прочего, психиатрические нарушения, такие как шизофрения, наркотическая зависимость, посттравматическое нервно-психическое расстройство и расстройства настроения, злоупотребление алкоголем или психоактивными веществами, стресс и беспокойство.

[00260] В некоторых вариантах осуществления стероидные нагрузки и их конъюгаты, описанные в настоящем документе, вводятся пациенту для лечения нарушения зрительной системы, включая, помимо прочего, глазное воспаление (например, конъюнктивит, кератит, увеит), макулярный отек и макулярную дегенерацию. В некоторых вариантах осуществления стероидные нагрузки и их конъюгаты, описанные в настоящем документе, вводятся пациенту для лечения сердечно-сосудистого заболевания. В некоторых вариантах осуществления стероидные нагрузки и их конъюгаты, описанные в настоящем документе, вводятся пациенту для лечения нарушения в плане содержания глюкозы и/или нарушения метаболизма печени. В некоторых вариантах осуществления стероидные нагрузки и их конъюгаты, описанные в настоящем документе, вводятся пациенту для лечения заболевания скелетно-мышечной системы. В некоторых вариантах осуществления стероидные нагрузки и их конъюгаты, описанные в настоящем документе, вводятся пациенту для лечения кожного воспаления, такого как экзема и псориаз.

[00261] Описанные здесь белковые конъюгаты являются средством для направленной доставки стероидной нагрузки к конкретным клеткам или системам органов, что позволяет уменьшать или предотвращать побочные действия, связанные с введением свободной неконъюгированной стероидной нагрузки. Примеры таких потенциальных побочных действий, которые требуется уменьшить или предотвратить, включают действия, указанные в инструкции по применению разрешенного препарата для Decadron® (дексаметазона), содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления побочное действие, которое требуется уменьшить или предотвратить, выбирается из повышения артериального давления; задержки натрия; задержки воды/жидкости (отек, ангиоэдема, отек легких); повышенного выведения калия; обратимой супрессии гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы; потенциальной кортикостероидной недостаточности после завершения лечения; восприимчивости к инфекциям; обострения системных грибковых инфекций; повышения тяжести ветряной оспы у пациентов детского возраста и взрослых; повышения тяжести кори у пациентов детского возраста и взрослых; задней субкапсулярной катаракты; глаукомы с возможным повреждением зрительных нервов; усиления проявления вторичных глазных инфекций, обусловленных воздействием бактерий, грибов или вирусов; увеличения новых эпизодов неврита зрительного нерва; саркомы Капоши; индуцированной лекарственными препаратами вторичной адренокортикальной недостаточности; повышенного риска перфорации при наличии

активной или скрытой пептической язвы, дивертикулита, новой энтероэнтеростомии и неспецифического язвенного колита; перитонеального раздражения после желудочно-кишечной перфорации; уменьшенного остеогенеза; повышенной резорбции кости; ингибирования функции остеобластов; ингибирования роста кости у пациентов детского возраста; развития остеопороза в любом возрасте; острой миопатии (возможно, затрагивающей мышцы зрительной или дыхательной системы и, возможно, приводящей к квадрипарезу); повышения креатинин-киназы; психических нарушений, варьирующихся от эйфории, бессоницы, перемен настроения, изменений личности и тяжелой депрессии до выраженных манифестаций психоза; ухудшения существующей эмоциональной нестабильности или психотических тенденций; повышенного внутриглазного давления; брадикардии; остановки сердечной деятельности; сердечных аритмий; увеличения сердца; сосудистого коллапса; хронической сердечной недостаточности; жировой эмболии; гипертензии; гипертрофической кардиомиопатии у недоношенных новорожденных; перфорации миокарда после недавно перенесенного инфаркта миокарда; синкопы; тахикардии; тромбоэмболии; тромбоза; васкулита; акне; аллергического дерматита; сухих шелушащихся высыпаний; экхимоз и петехий; эритемы; нарушенного заживления ран; повышенного потоотделения; сыпи; стрий; подавления реакций на кожные тесты; сниженного тургора кожных тканей; поредения волос на голове; крапивницы; снижения толерантности к углеводам и глюкозе; развития кушингоидного состояния; гипергликемии; гликозурии; гирсутизма; гипертрихоза; повышенной потребности в инсулине или пероральных антидиабетических средств при диабете (резистентность к инсулину); проявлений латентного сахарного диабета; нарушений менструального цикла; вторичной надпочечниковой и гипоталамической невосприимчивости (особенно при стрессе; как при травме, операции или заболевании); задержки роста у пациентов детского возраста; хронической сердечной недостаточности у восприимчивых пациентов; задержки жидкости; гипонатриемического алкалоза; снижения уровня калия; задержки натрия; вздутия живота; повышения в уровнях печеночного фермента в сыворотке (обычно обратимого при прекращении приема); гепатомегалии; повышенного аппетита; тошноты; панкреатита; пептической язвы с возможной перфорацией и кровоизлиянием; перфорации тонкой и толстой кишки (особенно у пациентов с воспалительным заболеванием кишечника); язвенного эзофагита; отрицательного азотистого баланса ввиду катаболизма белка; асептического некроза головок бедренной и плечевой костей; потери мышечной массы; мышечной слабости; остеопороза; патологического перелома длинных костей; стероидной миопатии; разрыва сухожилия; компрессионных переломов позвоночника; конвульсий; депрессии; эмоциональной нестабильности; эйфории; головной боли;

повышенного внутричерепного давления с отеком диска зрительного нерва (доброкачественной внутричерепной гипертензией) обычно после прекращения лечения; бессонницы; перемен настроения; неврита; нейропатии; парестезии; изменений личности; психиатрических нарушений; вертиго; экзофтальма; глаукомы; повышенного внутриглазного давления; задних субкапсулярных катаракт; аномальных жировых отложений; пониженной резистентности к инфекции; икоты; повышенной или пониженной подвижности и числа сперматозоидов; общего недомогания; лунообразного лица и прибавке в весе; а также побочных действий, связанных с межлекарственными взаимодействиями. В некоторых вариантах осуществления побочными действиями, которые требуется уменьшить или предотвратить, являются действия, связанные с межлекарственными взаимодействиями. В некоторых вариантах осуществления побочное действие, которое требуется уменьшить или предотвратить, ассоциируется с межлекарственными взаимодействиями от использования кортикостероида с аминоглутетимидом, включая уменьшение угнетения функции надпочечников кортикостероидами; инъекцией амфотерицина В и калий-несберегающими средствами, включая развитие гипокалемии, увеличение сердца и хроническую сердечную недостаточность; антибиотиков, включая значительное снижение в кортикостероидном клиренсе; антихолинэстеразных средств, включая развитие сильной слабости у пациентов с миастенией гравис; антикоагулянтов для перорального применения, включая ингибирование ответа на варфарин; противодиабетических средств, включая повышенные концентрации глюкозы в крови; противотуберкулезных препаратов, включая пониженные концентрации в сыворотке изониазида; холестирамина, включая повышенный клиренс кортикостероидов; циклоспорина, включая повышенную активность и циклоспорина, и кортикостероидов и частоту конвульсий; влиянием теста подавления дексаметазона, включая ложно-отрицательные результаты у пациентов, получающих лечение индометацином; дигиталисными гликозидами, включая повышенный риск аритмий из-за гипокалемии; эфедрина, включая увеличение метаболического клиренса кортикостероидов, которое приводит к пониженным уровням в крови и снижению физиологической активности; эстрогенов, включая пероральные контрацептивы, включая пониженный печеночный метаболизм определенных кортикостероидов и соответствующее повышение их воздействия; индукторов, ингибиторов и субстратов печеночного фермента (лекарственных препаратов, которые индуцируют ферментную активность цитохрома Р450 3А4 (СYP 3А4), например, барбитуратов, фенитоина, карбамазепина, рифампина), включая усиление метаболизма кортикостероидов; лекарственных препаратов, которые ингибируют СYP 3А4 (например, кетоконазола,

макролидных антибиотиков, таких как эритромицин), включая возможность повышения концентрацией кортикостероидов в плазме; лекарственных препаратов, которые метаболизируются CYP 3A4 (например, индинавира, эритромицина), включая повышение в их клиренсе, которое приводит к пониженной концентрации в плазме; кетоконазола, включая сниженный метаболизм определенных кортикостероидов до 60%, который приводит к повышенному риску побочных действий кортикостероидов, и ингибирование синтеза надпочечников, что может вызвать недостаточность надпочечников во время отмены кортикостероидов; нестероидных противовоспалительных средств (NSAIDS), включая повышенный риск желудочно-кишечных побочных действий и повышенный клиренс салицилатов; фенитоина, включая повышение или снижение уровня фенитоина, изменение контроля судорог; кожных тестов, включая подавление реакций на кожные тесты; талидомида, включая токсический эпидермальный некролиз; и вакцин, включая пониженный ответ на токсины и живые или неактивированные вакцины из-за ингибирования ответа антител или потенциации репликации некоторых организмов, содержащихся в живых аттенюированных вакцинах).

[00262] Таким образом, здесь представлены способы лечения заболевания, нарушения или состояния, связанных с глюкокортикоидным рецептором, включающие введение конъюгата Формулы (III) пациенту с упомянутым заболеванием, нарушением или состоянием, при которых побочные действия, связанные с введением свободной стероидной нагрузки упомянутого конъюгата, уменьшаются. Более того, здесь представлены способы доставки соединения Формулы (III-P), Формулы III-P-1, Формулы (3000) или Формулы (III) в клетку, включающие воздействие на упомянутую клетку белковым конъюгатом соединения Формулы (III-P), Формулы III-P-1, Формулы (3000) или Формулы (III), когда белковый конъюгат содержит антитело или его антиген-связывающий фрагмент, который связывается с поверхностным антигеном упомянутой клетки.

[00263] Описанные здесь соединения могут быть введены по-отдельности или вместе с одним или несколькими дополнительными лекарственными препаратами. Такие один или несколько лекарственных препаратов могут вводиться непосредственно до, одновременно или вскоре после введения описанных здесь соединений. Настоящее описание изобретения включает фармацевтические композиции, содержащие любое из описанных здесь соединений в сочетании с одним или несколькими лекарственными препаратами, и способы лечения, включающие введение таких комбинаций нуждающимся в них субъектам.

[00264] Подходящие дополнительные лекарственные препараты включают, помимо прочего: второй глюкокортикоид, аутоиммунный лекарственный препарат, гормон, биологический препарат или моноклональное антитело. Подходящие лекарственные препараты также включают, помимо прочего, любые фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные указанного здесь соединения.

[00265] Описанные здесь соединения также могут вводиться и/или комбинироваться с противовирусными препаратами, антибиотиками, обезболивающими средствами, кортикостероидами, стероидами, кислородом, антиоксидантами, ингибиторами ЦОГ, кардиопротективными средствами, металлохелаторами, ИФН-гамма и и/или нестероидными противовоспалительными препаратами.

[00266] В некоторых вариантах осуществления описанных здесь способов несколько доз описанного здесь соединения (или фармацевтической композиции, содержащей комбинацию описанного здесь соединения и любого из упомянутых здесь дополнительных лекарственных средств) могут быть введены субъекту в течение определенного периода времени. В соответствии с данным аспектом изобретения такие способы включают последовательное введение субъекту нескольких доз описанного здесь соединения. В контексте настоящего документа “последовательное введение” означает, что каждая доза соединения вводится субъекту в разные моменты времени, например, в различные дни, разделенные заранее установленным интервалом (например, часами, днями, неделями или месяцами). Настоящее изобретение включает способы, которые включают последовательное введение пациенту одной первоначальной дозы описанного здесь соединения, а затем одной или нескольких вторичных доз соединения и далее необязательно одной или нескольких третичных доз соединения.

[00267] Термины “первоначальная доза”, “вторичные дозы” и “третичные дозы” означают временную последовательность введения описанных здесь соединений. Так, “первоначальная доза” представляет собой это доза, которая вводится в начале курса лечения (также называемая “базовая доза”); “вторичные дозы” представляет собой это дозы, которые вводятся после первоначальной дозы; а “третичные дозы” представляет собой это дозы, которые вводятся после вторичных доз. Первоначальная, вторичные и третичные дозы все могут включать одинаковое количество описанного здесь соединения, но, как правило, отличаются друг от друга в плане частоты введения. В некоторых вариантах осуществления количество соединения, включенного в первичную, вторичные и/или третичные дозы различается (например, увеличивается или уменьшается в соответствии с обстоятельствами) в ходе лечения. В некоторых вариантах осуществления

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

[00268] В определенных иллюстративных вариантах осуществления настоящего изобретения каждая вторичная и/или третичная доза вводится через 1 представляет собой 26 (например, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ или более) недель после непосредственно предшествующей ей дозе. Фраза “непосредственно предшествующая доза” в контексте настоящего документа означает, в последовательности нескольких введений, дозу соединения, которая вводится пациенту перед введением следующей дозы в последовательности без промежуточных доз.

[00269] Способы в соответствии с данным аспектом изобретения могут включать введение пациенту любого количества вторичных и/или третичных доз соединения. Например, в некоторых вариантах осуществления пациенту вводится только одна вторичная доза. В других вариантах осуществления пациенту вводятся две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичных доз. Аналогичным образом, в некоторых вариантах осуществления пациенту вводится только одна третичная доза. В других вариантах осуществления пациенту вводятся две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) третичных доз. Режим введения может выполняться неопределенный период времени на протяжении жизни определенного субъекта либо до тех пор, пока такое лечение более не потребуется в терапевтическом плане либо не будет приносить пользу.

[00270] В вариантах осуществления, включающих несколько вторичных доз, каждая вторичная доза может вводиться с такой же частотой, что и другие вторичные дозы. Например, каждая вторичная доза может вводиться пациенту через 1-2 недели либо 1-2 месяца после непосредственно предшествующей дозы. Аналогичным образом, в вариантах осуществления, включающих третичные дозы, каждая третичная доза может вводиться с такой же частотой, что и другие третичные дозы. Например, каждая третичная доза может вводиться пациенту через 2-12 недель после непосредственно предшествующей дозы. В некоторых вариантах осуществления изобретения частота, с которой вторичные и/или третичные дозы вводятся пациенту, могут различаться на протяжении курса лечения. Частота введения также может регулироваться на протяжении

лечения врачом в зависимости от потребностей конкретного пациента после клинического осмотра.

[00271] Настоящее изобретение включает режимы введения, в которых пациенту вводятся от 2 до 6 ударных доз с первой частотой (например, раз в неделю, раз в две недели, раз в три недели, раз в месяц, раз в два месяца и т.д.), после чего пациенту вводятся две или более поддерживающих доз с меньшей частотой. Например, в соответствии с данным аспектом изобретения, если ударные дозы вводятся с частотой раз в месяц, тогда пациенту могут вводиться поддерживающие дозы раз в шесть недель, раз в два месяца, раз в три месяца и т.д.

[00272] Настоящее изобретение включает фармацевтические композиции и/или конъюгаты, описанные в настоящем изобретении, например, соединения **Формулы (I)**, **Формулы I-P**, **Формулы I-P-1**, **Формулы (III-P)**, **Формулы III-P-1**, **Формулы (3000)** и **Формулы (III)**, например, композиции, содержащие описанное здесь соединение, его соль, стереоизомер, полиморф, а также фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество. Примеры подходящих носителей, разбавителей и вспомогательных веществ включают, помимо прочего, буферы для поддержания надлежащего pH композиции (например, цитратные буферы, сукцинатные буферы, ацетатные буферы, фосфатные буферы, лактатные буферы, оксалатные буферы и подобные им), белки-носители (например, человеческий сывороточный альбумин), физиологический раствор, полиолы (например, трегалозу, сахарозу, ксилит, сорбит и подобные им), поверхностно-активные вещества (например, полисорбат 20, полисорбат 80, полиоксолат и подобные им), противомикробные препараты и антиоксиданты.

[00273] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе изложен способ лечения заболевания, нарушения или состояния, включающий введение пациенту с указанным нарушением терапевтически эффективного количества соединения **Формулы (I)**, **Формулы I-P**, **Формулы I-P-1**, **Формулы (III-P)**, **Формулы III-P-1**, **Формулы (3000)** или **Формулы (III)** или его фармацевтической композиции.

[00274] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе изложен способ лечения заболевания, нарушения или состояния, включающий введение пациенту с указанным нарушением терапевтически эффективного количества представленного здесь соединения **Формулы** или его фармацевтической композиции.

[00275] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе изложен способ лечения заболевания, нарушения или состояния, выбираемого из группы,

состоящей из иммунологического нарушения, аутоиммунного заболевания, воспаления, астмы или воспалительного заболевания кишечника, болезни Крона, язвенного колита.

[00276] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе изложен способ лечения заболевания, нарушения или состояния посредством направленного действия на антиген, например, клеточно-поверхностный антиген, для которого стероидная доставка может оказать терапевтическое воздействие, включающий введение описанных здесь конъюгатов. В некоторых вариантах осуществления таким антигеном является AXL, BAFFR, BCMA, компоненты перечня BCR, BDCA2, BDCA4, BTLA, BTNL2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C10orf54, CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR9, CCR10, CD11c, CD137, CD138, CD14, CD168, CD177, CD19, CD20, CD209, CD209L, CD22, CD226, CD248, CD25, CD27, CD274, CD276, CD28, CD30, CD300A, CD33, CD37, CD38, CD4, CD40, CD44, CD45, CD47, CD46, CD48, CD5, CD52, CD55, CD56, CD59, CD62E, CD68, CD69, CD70, CD74, CD79a, CD79b, CD8, CD80, CD86, CD90.2, CD96, CLEC12A, CLEC12B, CLEC7A, CLEC9A, CR1, CR3, CRTAM, CSF1R, CTLA4, CXCR1/2, CXCR4, CXCR5, DDR1, DDR2, DEC-205, DLL4, DR6, FAP, FcγR, FcγR's, Fire, GITR, HHLA2, HLA class II, HVEM, ICOSLG, IFNLR1, IL10R1, IL10R2, IL12R, IL13RA1, IL13RA2, IL15R, IL17RA, IL17RB, IL17RC, IL17RE, IL20R1, IL20R2, IL21R, IL22R1, IL22RA, IL23R, IL27R, IL29R, IL2Rg, IL31R, IL36R, IL3RA, IL4R, IL6R, IL5R, IL7R, IL9R, Integrins, LAG3, LIFR, MAG/Siglec-4, MMR, MSR1, NCR3LG1, NKG2D, NKp30, NKp46, PDCD1, PROKR1, PVR, PVRIG, PVRL2, PVRL3, RELT, SIGIRR, Siglec-1, Siglec-10, Siglec-5, Siglec-6, Siglec-7, Siglec-8, Siglec-9, SIRPA, SLAMF7, TACI, TCR-list components/assoc, PTCRA, TCRb, CD3z, CD3, TEK, TGFB1, TGFB2, TGFB3, TIGIT, TLR2, TLR4, TROY, TSLPR, TYRO, VLDLR, VSIG4 или VTCN1. В некоторых вариантах осуществления таким антигеном является IL2R-γ.

[00277] В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ лечения заболевания, нарушения или состояния, которые выбираются из иммунологического заболевания, аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания, дерматологического заболевания, дерматологического заболевания или желудочно-кишечного заболевания.

[00278] В некоторых вариантах осуществления таким заболеванием является болезнь Крона, язвенный колит, синдром Кушинга, недостаточность надпочечников или врожденная гиперплазия надпочечников.

[00279] В некоторых вариантах осуществления таким заболеванием является воспаление, астма или воспалительное заболевание кишечника.

[00280] В некоторых вариантах осуществления таким заболеванием является аутоиммунное заболевание, выбираемое из рассеянного склероза, ревматоидного артрита, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, псориаза или экземы.

[00281] В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ уменьшения или облегчения побочных действий химиотерапии, включающий введение пациенту, имеющему упомянутое заболевание, терапевтически эффективного количества описанного здесь соединения или композиции.

[00282] В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ уменьшения или облегчения побочных действий иммуносуппрессивной терапии, включающий введение пациенту, имеющему упомянутое заболевание, терапевтически эффективного количества описанного здесь соединения или композиции.

[00283] В некоторых вариантах осуществления здесь представлен способ лечения рака, включающий введение пациенту, имеющему упомянутое заболевание, терапевтически эффективного количества описанного здесь соединения или композиции. В некоторых вариантах осуществления такой рак выбирается из острой лимфобластической лейкемии, хронической лимфобластической лейкемии, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы или множественной миеломы, а таких других.

[00284] F. ПРИМЕРЫ

[00285] Определенные варианты осуществления иллюстрируются следующими неограничивающими примерами.

[00286] Реактивы и сольвенты были получены из коммерческих источников, таких как Sinopharm Chemical Reagent Co. (SCRC), Sigma–Aldrich, Alfa или других поставщиков, если явным образом не указано иное.

[00287] ¹H ЯМР и другие ЯМР спектры были записаны на Bruker AVIII 400 или Bruker AVIII 500. Данные были обработаны при помощи программного обеспечения Nuts или программного обеспечения MestReNova, измеряющего протонные сдвиги в частях на миллион (ppm) в сторону слабого поля от внутреннего эталонного тетраметилсилана.

[00288] Измерения HPLC–MS (ВЭЖХ–МС) проводились на системе Agilent 1200 HPLC/6100 SQ System с использованием следующих условий:

[00289] Способ А для измерения ВЭЖХ–МС включал, в качестве Подвижной Фазы: А: Воду (0.01% трифторуксусная кислота (TFA)) и В: ацетонитрил (0.01% TFA). Градиентной Фазой являлся 5% В, который увеличили до 95% В за временной период в

15 минут (мин) и с расходом в 1.0 мл/мин. В качестве колонки использовали SunFire C18, 4.6x50 мм, 3.5 мкм. Температурой колонки была 50°C. Детекторы включали испарительный детектор светорассеяния АЦП (в дальнейшем именуемый “ADC ELSD”), DAD (детектор на диодной матрице, 214 нм и 254 нм) и ионизацию электрораспылением-ионизацию при атмосферном давлении (ES-API).

[00290] Способ В для измерений HPLC–MS включал, в качестве Подвижной фазы: А: Воду (10 мМ NH₄HCO₃) и В: ацетонитрил. Градиентной Фазой являлся 5% В, который увеличили до 95% В за временной период в 15 минут (мин) и с расходом в 1.0 мл/мин. В качестве колонки использовали XBridge C18, 4.6x50 мм, 3.5 мкм. Температурой колонки была 50 °C. Детекторы включали ADC ELSD, DAD (214 нм и 254 нм) и масс-селективный детектор (MSD ES-API).

[00291] ЖХ–МС измерения проводились на системе Agilent 1200 HPLC/6100 SQ System с использованием следующих условий:

[00292] Способ А для измерений LC–MS был реализован с использованием прибора WATERS 2767. Колонкой была Shimadzu Shim-Pack, PRC-ODS, 20x250мм, 15мкм, две, соединенные последовательно. Подвижной фазой была А: Вода (0.01% TFA) и В: ацетонитрил (0.01% TFA). Градиентной Фазой являлся 5% В, который увеличили до 95% В за временной период в 3 минуты (мин) и с расходом в 1.8–2.3 мл/мин. В качестве колонки использовали SunFire C18, 4.6x50 мм, 3.5 мкм. Температурой колонки была 50°C. Детекторы включали ADC ELSD (испарительный детектор светорассеяния), DAD (детектор на диодной матрице) (214 нм и 254 нм) и ES-API.

[00293] Способ В для измерений LC–MS был реализован с использованием прибора Gilson GX–281. В качестве колонки использовали Xbridge Prep C18 10 um OBD, 19x250 мм. Подвижной фазой была А: Вода (10мМ NH₄HCO₃) и В: Ацетонитрил. Градиентной Фазой являлся 5% В, который увеличили до 95% В за временной период в 3 минуты (мин) и с расходом в 1.8 – 2.3 мл/мин. В качестве колонки использовали XBridge C18, 4.6x50 мм, 3.5мкм. Температурой колонки была 50°C. Детекторы включали ADC ELSD, DAD (214 нм и 254 нм) и масс-селективный детектор (MSD) (ES-API).

[00294] Препаративную жидкостную хроматографию высокого давления (Prep-HPLC) провели с использованием прибора Gilson GX–281. Применили две системы растворителей, одну кислую и одну основную. Система кислого растворителя включала колонку Waters SunFire 10 мкм C18 (100 Å, 250 x 19 мм). Растворителем А для prep-HPLC была 0.05% TFA в воде, а растворителем В был ацетонитрил. Условием элюирования был

линейный градиент, который повышал растворитель В от 5% до 100% за период времени в 20 минут и при расходе в 30 мл/мин. Система основного растворителя включала колонку Waters Xbridge 10 мкм C18 (100 Å, 250 x 19 мм). Растворителем А для prep-HPLC был 10 mM бикарбонат аммония (NH₄HCO₃) в воде, а растворителем В был ацетонитрил. Условием элюирования был линейный градиент, который повышал растворитель В от 5% до 100% за период времени в 20 минут и при расходе в 30 мл/мин.

[00295] Флэш-хроматографию провели с использованием прибора Biotage, с кварцевой флэш-колонкой Agela Flash Column silica-CS. Обращенно-фазовую флэш-хроматографию провели с использованием прибора Biotage, с Boston ODS или Agela C18, если явным образом не указано иное.

[00296] Следующие сокращения используются в Примерах и во всей спецификации:

Сокращение	Термин
ADC	Конъюгат антитело-лекарственное средство
Агликозилированное антитело	Антитело, у которого нет гликанов
вод.	Водный
BARAC	Биарилазациклооктинон
BCN	(1 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i>)-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-ил
Вос	N-трет-бутоксикарбонил
ВирН™	Thermo Scientific Prod# 28372, с содержанием 100 mM фосфата натрия и 150 mM хлорида натрия, без калия, pH откорректировали с 7.2 до 7.6-7.8 MQ, если не указано иное.
CD	Циклодекстрин
COT	Циклооктинол
Да	Дальтон
DAR	Отношение лекарственное средство-антитело.
DCM	Дихлорометан
DIBAC	Дибенз[<i>b</i> , <i>f</i>]азоцин, 11,12-дидегидро-5,6-дигидро-; дибензоциклооктин; или дибенз[<i>b</i> , <i>f</i>]азоцин-5(6H)-бутановая кислота, 11,12-дидегидро
DIBAC-Suc	Дибенз[<i>b</i> , <i>f</i>]азоцин-5(6H)-бутановая кислота, 11,12-дидегидро
DIBACT	3 <i>H</i> -Бензо[<i>c</i>]-1,2,3-триазоло[4,5- <i>e</i>][1]бензазоцин, 8,9-дигидро-
DIBO	Дибензоциклооктин
DIFO	Двуфтористый циклооктин
DIPEA	Диизопропилэтиламин
DMA	N,N-диметилацетамид
DMAP	4-Di-метиламинопиридин
DMF	N,N-диметилформамид
DMSO	Диметилсульфоксид
ESI	Ионизация электрораспылением

Сокращение	Термин
г	грамм
HATU	2-(7-Аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония гексафторфосфат
HC	Тяжелая цепь иммуноглобулина
HEK	Эмбриональные клетки почки человека
HPLC	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ч	час
LC	Легкая цепь иммуноглобулина
LC	Жидкостная хроматография
MC	Малеимидакапроил
мг	миллиграмм
мин	минута
мл	миллилитр
мМ	миллимоляр
MMAE	Монометил ауристатин Е
MS	Масс-спектрометрия
MsCl	Метансульфонил хлорид
MSD	Масс-селективный детектор
MTG	Микробная трансглутаминаза
MB	Молекулярный вес
ncADC	Нецитотоксичный конъюгат антитело-лекарственное средство
NHS	N-гидроксисукцинимид
nM	наномолярный
ЯМР	Ядерный магнитный резонанс
NOESY	Спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера
PAB	Пара-аминобензилокси(карбонил)
PBS	10 mM натрий-фосфатный буфер и 150 mM хлорид натрия
PBSg	10 mM фосфат, 150 mM хлорид натрия, 5% глицерин
PEG	Полиэтиленгликоль
PNP	p-нитрофенол
ppm	Частей на миллион (химический сдвиг)
RP	Обращенная фаза
КТ	Комнатная температура
SDS-PAGE	Электрофорез в полиакриламидном геле с использованием додецилсульфата натрия
SEC	Эксклюзионная хроматография по размеру
Suc	Янтарная кислота
TCEP	Трис(2-карбоксиэтил)фосфин гидрохлорид
TEA	Триэтиламин
TFA	Трифторуксусная кислота
TG	Трансглутаминаза
THF	Тетрагидрофуран

Сокращение	Термин
ВП	Время пролета
UPLC	Сверхпроизводительная жидкостная хроматография
УФ	Ультрафиолет
VA	Валин-анилин
VC	Валин-цитруллин
мкл	микролитр
мкМ	микромольный

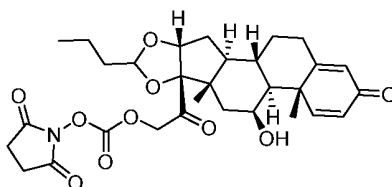
СПОСОБЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ

ПРИМЕР 1

[00297] На Схеме 1 на ФИГ. 3 показан синтез будесонид-спейсеров, содержащих реактивные группы, янтарную кислоту (соединение **1c**), аналоги карбамата (**1d**, **1e**), аналоги ТНР (**1g** и **1h**), аналоги глюкозы (**1i** и **1j**), аналоги фосфата (**1k** и **1l**) и коммерческий аналог фосфата (**1m**).

Промежуточное соединение 3a

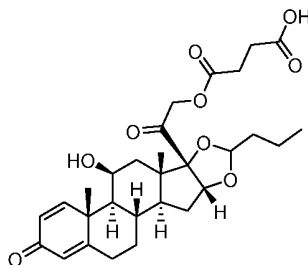
1-[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)окси]пирролидин-2,5-дион (3a)



[00298] К раствору будесонида **1a** (0.10 г, 0.26 ммоль) в DCM (1 мл) добавили бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) карбонат (71 мг, 0.30 ммоль), триэтиламин (47 мг, 0.52 ммоль) и DMAP (3.0 мг, кат.). Реакционную смесь перемешивали при 15-25°C на протяжении 12 часов до разрушения будесонида, что контролировали посредством LCMS. Затем реакционную смесь разбавили DCM и промыли водой. Органический раствор высушили над сульфатом натрия. После фильтрации раствор сконцентрировали in vacuo и остаток (сырой **3a**) использовали для следующего этапа сразу же без очистки. (93 мг, выход 71%). ESI м/з: 572.2 (M + H)⁺.

Пример 1с

4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}-4-оксобутановая кислота (1с)

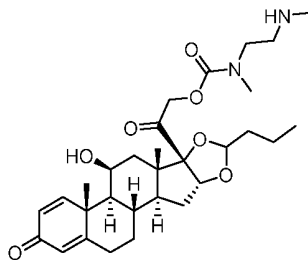


[00299] См. WO2015005459; WO2013074988; *Research in Pharmaceutical Science*, **2011**, 6(2), 107-116; и *International Journal of Pharmaceutics*, **2009**, 365(1-2), 69-76.

[00300] К раствору будесонида (**1a**, 0.10 г, 0.26 ммоль) в DCM (1 мл) добавили янтарный ангидрид (30 мг, 0.30 ммоль), триэтиламин (47 мг, 0.52 ммоль) и DMAP (3 мг, катализатор, 0.02 ммоль). Смесь перемешивали при КТ на протяжении 12 часов до разрушения будесонида, что контролировали посредством TLC и LCMS. Затем реакционную смесь разбавили DCM и промыли водой. Органический раствор высушили над сульфатом натрия. После фильтрации раствор сконцентрировали *in vacuo* и остаток очистили посредством *pre*-HPLC, в результате чего получили титульное соединение **1c** (22 мг, выход 18%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 531.3 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7.48 (d, *J* = 10 Гц, 1H), 6.28-6.26 (m, 1H), 6.04-6.02 (m, 1H), 5.23-5.11 (m, 1H), 5.06-4.99 (m, 1H), 4.83-4.68 (m, 1H), 4.45-4.43 (m, 1H), 2.76-2.63 (m, 5H), 2.41-2.39 (m, 1H), 2.26-2.12 (m, 2H), 1.99-1.66 (m, 6H), 1.57-1.38 (m, 6H), 1.32 (s, 1H), 1.16-0.94 (m, 8H) ppm.

Пример 1d

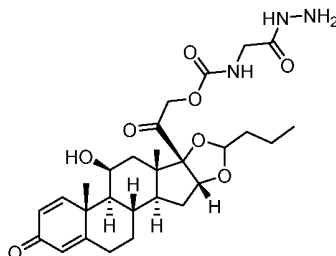
2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-метил-*N*-[2-(метиламино)этил]карбамат (1d)



[00301] К раствору сырого промежуточного вещества **3a** (63 мг, 0.11 ммоль) в DCM (5 мл) добавили *N,N'*-диметилаэтан-1,2-диамин (28 мг, 0.32 ммоль) и триэтиламин (38 мг, 0.38 ммоль) при КТ. Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении 2 часов до разрушения большей части **3a**, что контролировали посредством LCMS. Летучие соединения удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством *prep*-HPLC (способ B), в результате чего получили **1d** (4 мг, выход 4.5%) в виде твердого белого вещества. ESI *m/z*: 545.3 (*M* + *H*)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7.32-7.30 (m, 1H), 6.28-6.25 (m, 1H), 6.02-6.01 (m, 1H), 4.42 (br s, 1H), 3.50-3.23 (m, 3H), 3.10-3.02 (m, 3H), 2.82-2.71 (m, 3H), 2.57-2.55 (m, 1H), 2.35-2.33 (m, 1H), 2.15-2.06 (m, 2H), 1.96-1.79 (m, 12H), 1.60-1.56 (m, 3H), 1.46 (m, 3H), 1.37-1.33 (m, 2H), 1.23-1.04 (m, 4H), 0.92-0.86 (m, 3H) ppm.

Пример 1e

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапента цикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]-икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-[(гидразинкарбонил)метил]карбамат (1e**)**

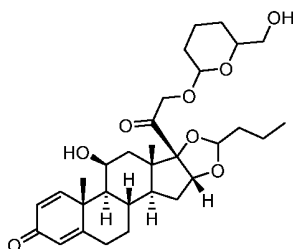


[00302] К смеси сырого соединения **3a** (0.16 г, 0.28 ммоль) в DMF (3 мл) добавили Вос-2-(2-аминоацетил)гидразин (80 мг, 0.42 ммоль) и триэтиламин (85 мг, 0.84 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 25 °C на протяжении 16 часов до разрушения промежуточного соединения **3a**, что контролировали посредством LCMS. Затем смесь охладили водой и экстрагировали этилацетатом. Комбинированный органический раствор высушили над безводным сульфатом натрия. После фильтрации раствор сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с

силикагелем (30-50% этилацетат в петролейном эфире) и получили **Вос-1e** (70 мг) в виде белого твердого вещества (ESI м/з: 646 (M + H)⁺), которое растворили в DCM (2 мл). К раствору добавили по каплям TFA (1 мл) при 0°C. Смесь перемешивали при 25°C в течение 2 часов до разрушения **Вос-1e**, что контролировали посредством LCMS. Летучие соединения удалили in vacuo и остаток очистили посредством прер-HPLC и получили титульное соединение **1e** (7 мг, выход 12%) в виде твердого белого вещества. ESI м/з: 546 (M + H)⁺.

Пример 1g

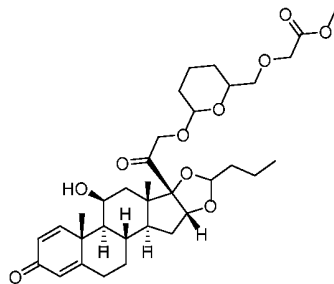
(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-8-(2-{[6-(гидроксиметил)оксан-2-ил]окси}ацетил)-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (1g)



[00303] К раствору будесонида (**1a**, 50 мг, 0.12 ммоль) в безводном DCM (4 мл) добавили (3,4-дигидро-2H-пиран-2-ил)метанол (0.11 г, 0.93 ммоль) и *p*-толуолсульфоновую кислоту (31 мг, 0.18 ммоль) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 4 дней, что контролировали посредством LCMS. Летучие вещества удалили in vacuo и остаток растворили в DMF и разделили посредством прер-HPLC (способ B) и получили титульное соединение **1g** (13 мг, выход 20%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 545 (M + H)⁺.

Пример 1h

Метил 2-[(6-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}оксан-2-ил)метокси]ацетат (1h)

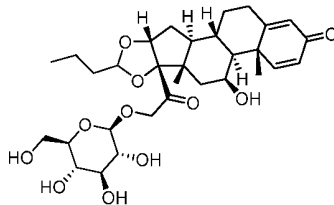


[00304] К раствору (3,4-дигидро-2*H*-пиран-2-yl)метанола (2.0 г, 18 ммоль) в THF (30 мл) добавили гидрид натрия (60% в минеральном масле, 0.88 г, 22 ммоль) частями при 0 °С в защитной атмосфере азота. Суспензию перемешивали при 0 °С до окончания выделения водорода. Затем к полученной смеси добавили раствор этил 2-бromoацетата (4.0 г, 26 ммоль) в THF (18 мл). Смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи до практически полного разрушения исходного материала согласно LCMS. После охлаждения до 0 °С реакционную смесь охладили водой в защитной атмосфере азота и экстрагировали этилацетатом. Комбинированный органический раствор промыли водой и рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-8% этил ацетат в петролейном эфире) для получения этил 2-((3,4-дигидро-2*H*-пиран-2-ил)метокси)ацетат (0.70 г, 21% выход) в виде бесцветного масла. (¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 6.36 (d, *J* = 6.0 Гц, 1H), 4.67 (m, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.92 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.57 (d, *J* = 5.5 Гц, 2H), 2.50-1.99 (m, 1H), 1.93-1.82 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.60 (m, 1H) ppm.)

[00305] К раствору будесонида (**1a**, 0.11 г, 0.25 ммоль) в безводном DCM (8 мл) добавили этил 2-((3,4-дигидро-2*H*-пиран-2-ил)метокси)ацетат (0.35 г, 1.9 ммоль), полученный способом, описанным выше, и *p*-толуолсульфоновую кислоту (66 мг, 0.35 ммоль) при 0 °С. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 4 часов, что контролировали посредством LCMS. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток растворили в DMF и разделили посредством ргеп-НPLC (способ А) и получили титульное соединение **1h** (46 мг, выход 29%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 617 (M + H)⁺.

Пример 1i

(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-8-(2-((2*R*,3*R*,4*S*,5*S*,6*R*)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксан-2-ил)окси)ацетил)-5,7-диоксапентацикло[10.8.00^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (1i, с эписмерами)

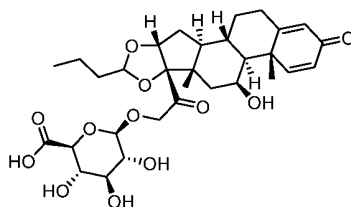


[00306] К смеси будесонида (**1a**, 0.22 г, 0.50 ммоль) и ацетобромо- α -D-глюкозы (0.33 г, 0.80 ммоль) в DCM (15 мл) добавили 4 Å молекулярные сита (1.0 г) и смесь перемешивали при КТ в течение получаса, а затем добавили трифторметансульфонат серебра (0.19 г, 0.75 ммоль) при 0 °С. Суспензию перемешивали в темноте при КТ на протяжении выходных (72 часов) в защитной атмосфере азота. Смесь отфильтровали через целит и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством ргеп-HPLC (способ В) и получили **Ac-1i** (25 мг, выход 9.2%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 761 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (DMSO-*d*₆, 400 МГц) (с эписмерами) δ 7.34-7.30 (m, 1H), 6.19-6.14 (m, 1H), 5.91 (s, 1H), 5.29 (t, *J* = 9.2 Гц, 1H), 5.17-5.15 (m, 0.5H), 5.03-5.01 (m, 0.5H), 4.96-4.90 (m, 1H), 4.85-4.74 (m, 3H), 4.70-4.67 (m, 1H), 4.64-4.63 (m, 0.5H), 4.59-4.56 (m, 0.5H), 4.39-4.28 (m, 2H), 4.20-4.16 (m, 1H), 4.05-3.99 (m, 2H), 2.56-2.40 (m, 1H), 2.32-2.26 (m, 1H), 2.13-1.89 (m, 14H), 1.83-1.63 (m, 3H), 1.59-1.48 (m, 3H), 1.44-1.21 (m, 6H), 1.15-0.91 (m, 2H), 0.86-0.81 (m, 6H) ppm.

[00307] К раствору соединения **Ac-1i** (30 мг, 39 мкмоль), полученному выше, в воде (1 мл) и метанола (3 мл) добавили моногидрат гидроокиси лития (17 мг, 0.40 ммоль) при 0 °С. После перемешивания при 0 °С в течение одного часа смесь очистили напрямую посредством ргеп-HPLC (способ В) и получили **1i** (24 мг, 98% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 593 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD-*d*₄, 400 МГц) (с эписмерами) δ 7.46 (t, *J* = 10.4 Гц, 1H), 6.26 (dt, *J* = 10.0 и 2.0 Гц, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.21 и 4.64 (t, *J* = 4.8 Гц, 1H), 5.16 (t, *J* = 7.2 Гц, 0.5H), 4.94-4.80 (m, 2.5H), 4.57-4.47 (m, 1H), 4.44-4.41 (m, 1H), 4.34-4.31 (m, 1H), 3.90-3.87 (m, 1H), 3.70-3.64 (m, 1H), 3.39-3.24 (m, 4H), 2.70-2.62 (m, 1H), 2.41-2.36 (m, 1H), 2.27-2.08 (m, 2H), 2.00-1.93 (m, 1H), 1.88-1.81 (m, 1H), 1.74-1.32 (m, 9H), 1.22-0.90 (m, 8H) ppm.

Пример 1j

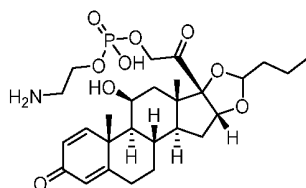
(2*S*,3*S*,4*S*,5*R*,6*R*)-3,4,5-тригидрокси-6-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.00^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}оксан-2-карбоновая кислота (**1j**, с эписмерами)



[00308] После аналогичных процедур, что и для **1i**, за исключением замены ацетобромо- α -D-глюкуроновой кислоты метиловым эфиром ацетобромо- α -D-глюкозы, получили соединение **1j** (24 мг, 9.2% выход за 2 этапа) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 607 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 400 МГц) δ 7.48 (t, *J* = 10.0 Гц, 1H), 6.28-6.24 (m, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.22-5.15 (m, 1H), 4.98-4.81 (m, 2.5H), 4.65-4.56 (m, 1.5H), 4.45-4.39 (m, 2H), 3.62-3.59 (m, 1H), 3.52-3.46 (m, 1H), 3.41 (t, *J* = 8.8 Гц, 1H), 3.30-3.28 (m, 1H), 2.70-2.62 (m, 1H), 2.40-2.36 (m, 1H), 2.27-2.10 (m, 2H), 1.95-1.92 (m, 2H), 1.75-1.54 (m, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.51-1.32 (m, 3H), 1.12-0.90 (m, 8H) ppm.

Пример 1k

(2, 2113этокс)(2 1H)*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)13окс)(2 1H), 3.30-3.28 (m, 1H), 2.70-2.62 (m, 1H), 2.40-2.36 (m, 1H)^{2,9,0^{4,8},0^{13,18}]икоса)(2 1H), 3.30-3.28 оксоэтокс)}фосфиновая кислота (**1k**)}



[00309] К раствору триэтиламина (0.67 г, 6.6 ммоль) в хлороформе (4 мл) добавили оксихлорид фосфора (0.51 мг, 3.3 ммоль) при 0 °C, а затем добавили раствор будесонида (**1a**, 1.3 г, 3.0 ммоль) в хлороформе (4 мл). После перемешивания при 20 °C в течение 2 часов смесь охладил до 0 °C и добавили раствор Вос-этанолamina (0.41 мг, 2.6 ммоль) в хлороформе (4 мл) и пиридине (3 мл). После перемешивания при 20 °C в течение одного часа до завершения реакции согласно LCMS, реакционную смесь охладил добавлением воды (2 мл) при 0 °C. Смесь перемешивали при 20 °C на протяжении ночи. Летучие вещества удалили *in vacuo* и остаток очистили посредством *prep*-HPLC (способ B) и получили сырой **Вос-1k** (330 мг, 17%) в виде желтой пленки. ESI м/з: 676 (M + Na)⁺.

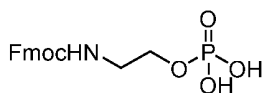
[00310] К раствору **Вос-1k** (0.18 г, 0.28 ммоль) в DCM (5 мл) добавили трифторуксусную кислоту (0.5 мл) при 0 °C. Полученную смесь перемешивали при 23 °C

на протяжении 2 часов до полного удаления Вос согласно LCMS. Летучие вещества удалили *in vacuo*. Остаток очистили посредством prep-HPLC (способ В) и получили **1k** в виде белого твердого вещества (90 мг, 59% выход). ESI м/з: 554 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD-*d*₄) δ 7.49 (d, *J* = 10.1 Гц, 1H), 6.28 (d, *J* = 10.1 Гц, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.24-5.15 (m, 1H), 4.87-4.62 (m, 3H), 4.45 (d, *J* = 6.1 Гц, 1H), 4.18-4.15 (m, 2H), 3.22-3.20 (m, 2H), 2.71-2.64 (m, 1H), 2.40 (d, *J* = 13.4 Гц, 1H), 2.29-1.71 (m, 6H), 1.65-1.32 (m, 9H), 1.22-0.91 (m, 7H) ppm. Анал. HPLC: > 99.9%, время удерживания: 3.90 мин (способ В).

Пример 11

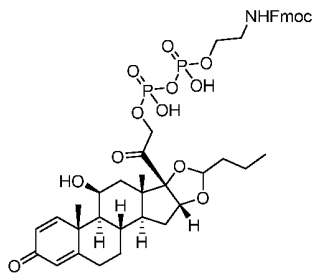
(2-{[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}этокси)фосфоновая кислота

[00311] См. J. Am. Chem. Soc., **2016**, 138(4), 1430-1445; WO2015153401; и Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements, **2000**, 165, 83-90.



[00312] К смеси Fmoc-этанолamina (1.1 г, 3.9 ммоль) в THF (16 мл) добавили дифосфорил хлорид (2.2 г, 8.8 ммоль) шприцом при -40 °C. После перемешивания при -40 °C в течение одного часа до полного разрушения исходного материала, что контролировали посредством LCMS, реакционную смесь охладил водой (1 мл) при -40 °C, воздействовали на нее насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (200 мл) и выдержали при 10-20 °C на протяжении ночи. Полученную смесь подкислили *конц.* HCl до pH 2 и затем экстрагировали этилацетатом. Комбинированный органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали и получили сырое титульное соединение (1.6 г, сырое) в виде белого твердого вещества, которое использовали для следующего этапа без очистки. ESI м/з: 364 (M + H)⁺.

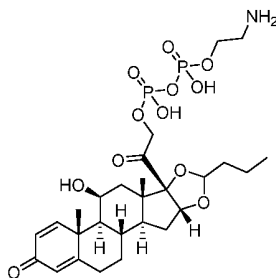
(2-{[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}этокси){[гидрокси(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси)}фосфорил[окси]}фосфиновая кислота (Fmoc-11)



[00313] В соответствии с описанной выше процедурой, за исключением замены будесонидом (**1a**, 0.86 г, 20 ммоль) Fmoc-этанолamina, получили фосфоновое промежуточное соединение будесонида **1a-PO₃H₂** (1.1 г, сырой) в виде белого твердого вещества (ESI м/з: 551 (M + H)⁺).

[00314] К раствору сырой (2-{{(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил}амино}этокси)фосфоновой кислоты (0.29 г, 0.80 ммоль) в DMF (5 мл) добавили триэтиламин (81 мг, 0.80 ммоль) и 1,1'-карбонилдиимидазол (CDI, 0.32 г, 2.0 ммоль) при 10 °C. Смесь перемешивали при 10-20 °C на протяжении 30 минут и затем добавили полученное выше фосфоновое промежуточное вещество **1a-PO₃H₂** (0.41 г, 0.80 ммоль) и хлорид цинка (0.87 г, 6.4 ммоль) к реакционной смеси. Полученную смесь перемешивали при 10-20 °C на протяжении ночи и исходный материал был полностью разрушен согласно LCMS. Затем реакционную смесь охладил разбавленной вод. HCl (1 N, 50 мл) и экстрагировали этилацетатом. Комбинированный органический раствор сконцентрировали и остаток очистили посредством ргеп-HPLC (способ B) и получили **Fmoc-11** (0.32 г, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 856 (M + H)⁺.

(2-аминоэтокси)({[гидрокси({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси})фосфорил]окси})фосфиновая кислота (**11**)



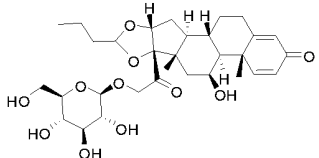
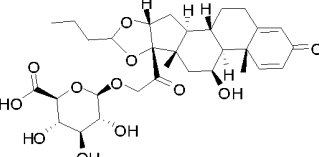
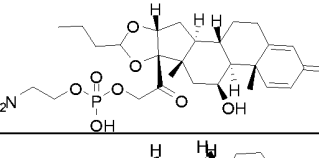
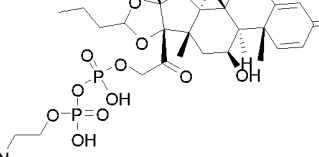
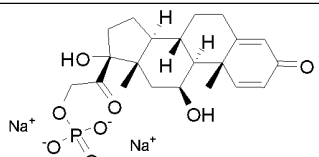
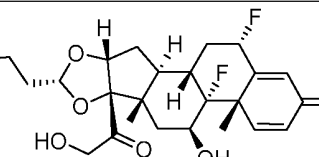
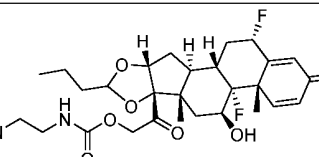
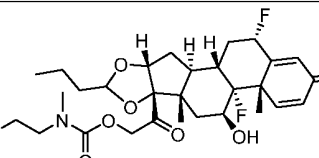
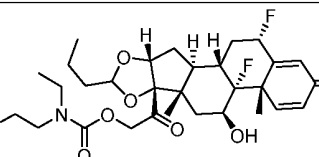
[00315] См. WO2015153401.

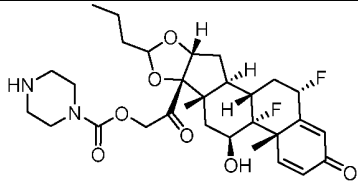
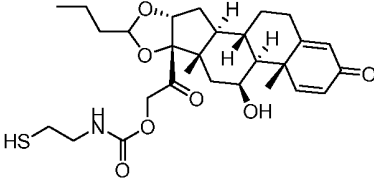
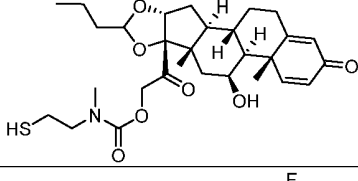
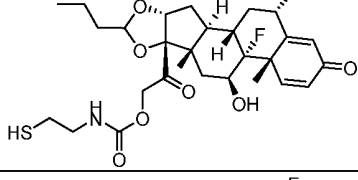
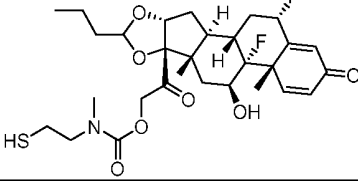
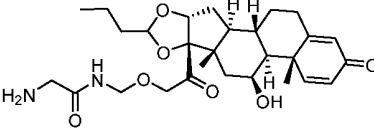
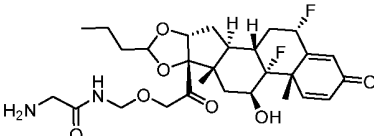
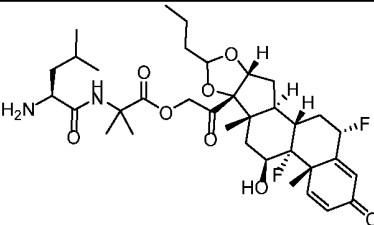
[00316] К раствору **Фмос-11** (0.10 г, 0.12 ммоль) в DCM (2 мл) добавили пиперидин (67 мг, 0.79 ммоль) при 10 °С. Реакционную смесь перемешивали при 10-20 °С на протяжении 16 часов. Соединение **Фмос-11** было полностью разрушено согласно LCMS. Летучие соединения удалили in vacuo и остаток очистили посредством prep-HPLC (способ В) и получили **11** (50 мг, выход 68%) в виде твердого белого вещества. ESI м/з: 634 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7.50 (d, J = 10.0 Гц, 1H), 6.28 (d, J = 9.9 Гц, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.23-5.16 (m, 1H), 5.02-4.97 (m, 1H), 4.88-4.67 (m, 1H), 4.45 (d, J = 3.4 Гц, 1H), 4.23 (s, 2H), 3.24 (s, 2H), 2.67 (dd, J = 13.5, 8.3 Гц, 1H), 2.40 (d, J = 11.3 Гц, 1H), 2.28-1.32 (m, 15H), 1.23-0.92 (m, 8H) ppm. Анал. HPLC: > 99.9%, время удерживания: 2.74 мин (способ В).

[00317] В приведенной далее Таблице 1а представлены стероиды, полученные с использованием описанных здесь способов.

Таблица 1а – Структура и химико-физические свойства соединений

№	Структура	Чистота HPLC	cLogP	MF	MB (Кал.)	MS (M+H)
1a		95	2.73	C ₂₅ H ₃₄ O ₆	430.55	431.3
1c		98	3.00	C ₂₉ H ₃₈ O ₉	530.25	531.2
1d		93	2.92	C ₃₀ H ₄₄ N ₂ O ₇	544.69	545.3
1e		100	1.44	C ₂₈ H ₃₉ N ₃ O ₈	545.62	546.2
1g		92	3.65	C ₃₁ H ₄₄ O ₈	544.68	545.3
1ч		98	3.19	C ₃₄ H ₄₈ O ₁₀	616.32	616.3 2

№	Структура	Числота HPLC	cLogP	MF	MB (Кал.)	MS (M+H)
1i		100	0.96	C ₃₁ H ₄₄ O ₁₁	592.67	593.4
1j		98	1.28	C ₃₁ H ₄₂ O ₁₂	606.66	607.3
1k		100	1.18	C ₂₇ H ₄₀ NO ₉ P	553.58	554.1
1l		100	0.55	C ₂₇ H ₄₁ NO ₁₂ P ₂	633.56	634.0
1m		100	1.15	C ₂₁ H ₂₇ Na ₂ O ₈ P	484.39	590.3
100		100	2.44	C ₂₅ H ₃₂ F ₂ O ₆	466.51	467
101a		>95	2.40	C ₂₉ H ₄₀ F ₂ N ₂ O ₇ .C ₂ HF ₃ O ₂	663.66	567
101b		>95	2.63	C ₃₀ H ₄₂ F ₂ N ₂ O ₇ .C ₂ HF ₃ O ₂	678.69	581
101c		100	3.34	C ₃₂ H ₄₆ F ₂ N ₂ O ₇ .C ₂ HF ₃ O ₂	722.74	609

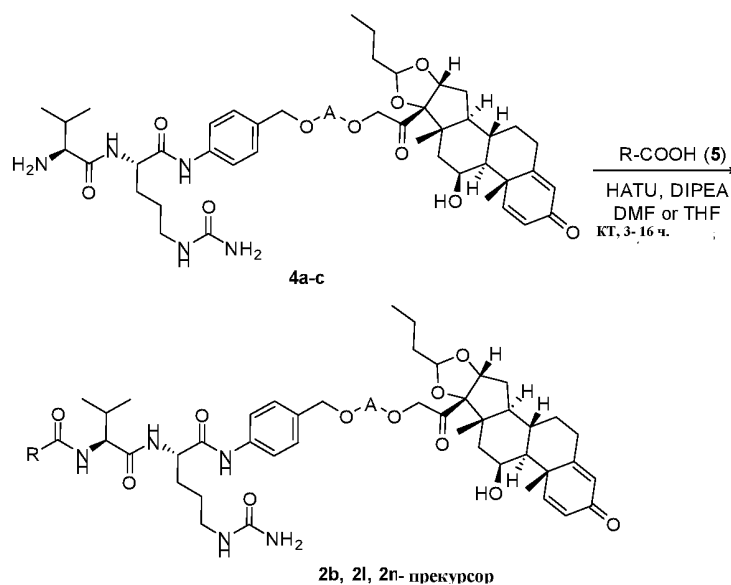
№	Структура	Числота HPLC	cLogP	MF	MB (Кал.)	MS (M+H)
101d		100	2.46	$C_{30}H_{40}F_2N_2O_7$	578.64	579
102c		>95	3.47	$C_{28}H_{39}NO_7S$	533.68	531
102d		>95	3.69	$C_{29}H_{41}NO_7S$	547.71	548
102e		>95	3.17	$C_{28}H_{37}F_2NO_7S$	569.66	570
102f		>95	3.40	$C_{29}H_{39}F_2NO_7S$	583.69	584
103a		98	1.58	$C_{28}H_{40}N_2O_7$	516.64	517
103b		98	1.29	$C_{28}H_{38}F_2N_2O_7$	552.62	553
104a		>90	3.67	$C_{35}H_{50}F_2N_2O_8$	664.79	665

(1.5-3.0 эквив.) в представленной далее таблице и DIPEA (2.0 эквив.) при КТ. Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи, пока эфир NHS и большая часть амина не были разрушены согласно спектрам LCMS. После фильтрации реакционный раствор напрямую очистили посредством prep-HPLC или обращенно-фазовой флэш-хроматографии и получили необходимый амид **2** (ca. 17% выход) в виде белого твердого вещества.

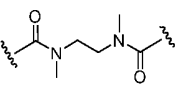
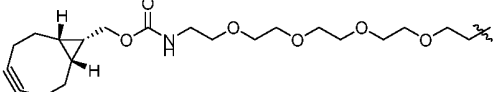
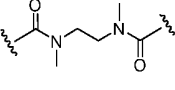
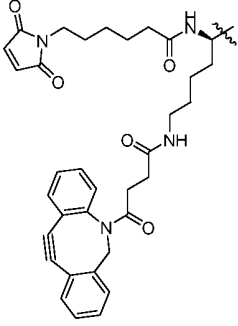
Амины		Активированный эфир 5		База/реактивы	Растворитель	Время (ч)	Очистка	Продукт 2
4a^c	50 мг, 56 мкмоль	5a	28 мг, 91 мкмоль	DIPEA (23 мг, 0.18 ммоль)	DMF (3 мл)	16	Prep-HPLC (способ А)	2a (10 мг, 17%)
реакционный раствор 9		5b	8.8 мг, 20 мкмоль	DIPEA (4.0 мг, 31 мкмоль)	DMF (1 мл)	16	Prep-HPLC (способ А)	2c (3.5 мг, 4%)

c. Соль TFA

Общая процедура В для синтеза амидов **2b**, **2l**, **2n**-прекурсора от кислоты



Продукты	Амины	Кислоты	A	R
2b	4a	5c		

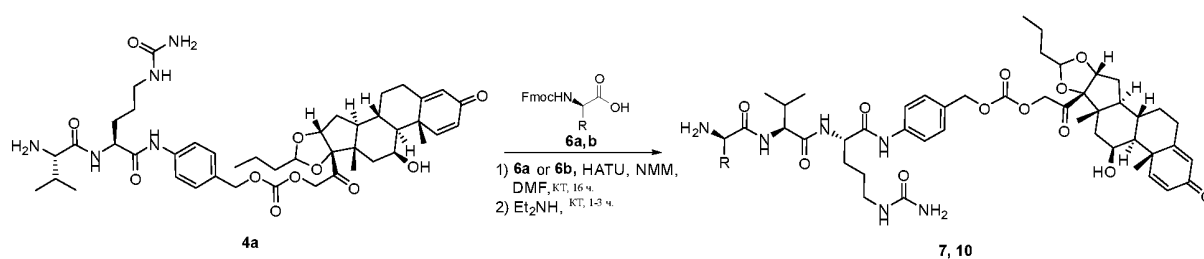
Продукты	Амины	Кислоты	A	R
2l	4c	5d		
2m представляет собой прекурсор	4c	5e		

[00319] К раствору кислоты **5** (1.0-1.5 эквив.) в DMF или DCM или THF (1 мл на 5 мг **5**) добавили DIPEA (2.0-5.0 эквив.) и HATU (1.4-2.2 эквив.) при КТ. Полученную смесь перемешивали при данной температуре в течение 0.5-1 часа, а затем добавили vsPAB-будесонид (**4**, 1.0 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 3-16 часов до полного разрушения амина, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь отфильтровали через мембрану и затем фильтрат разделили посредством ргср-HPLC или обращенно-фазовой флэш-хроматографии, в результате чего получили амид **2** (21-54% выход) в виде белого твердого вещества. В нижеприведенной таблице дана дополнительная информация.

Амины		кислота		База/ реактивы	Растворитель	Время (ч)	Очистка	Продукт 2
4b	10 мг, 11 мкмоль	5c	10 мг, 18 мкмоль	DIPEA (6.2 мг, 48 мкмоль) HATU (9.0 мг, 24 мкмоль)	DMF (1 мл)	16	Prep- HPLC (способ B)	2b (3.0 мг, 21%)
4c	58 мг, 61 мкмоль	5c	37 мг, 67 мкмоль	DIPEA (15 мг, 0.12 ммоль) HATU (34 мг, 89 мкмоль)	DMF (5 мл)	3	Prep- HPLC (способ B)	2i (21 мг, 24%)
4c	8.9 мг, 9.4	5d	6.3 мг, 14	DIPEA (3.6 мг,	DMF (1 мл)	16	Prep- HPLC	2l (7 мг, 54%)

Амины		кислота		База/ реактивы	Растворитель	Время (ч)	Очистка	Продукт 2
	мкмоль		мкмоль	27 мкмоль) HATU (8.0 мг, 20 мкмоль)			(способ B)	
4c	20 мг, 21 мкмоль	5e	13 мг, 21 мкмоль	DIPEA (8.0 мг, 62 мкмоль) HATU (12 мг, 31 мкмоль)	THF (5 мл)	16	Преп- HPLC (способ A)	2m представляет собой прекурсор (5 мг)

Общая процедура C для синтеза промежуточного соединения 7 и 10



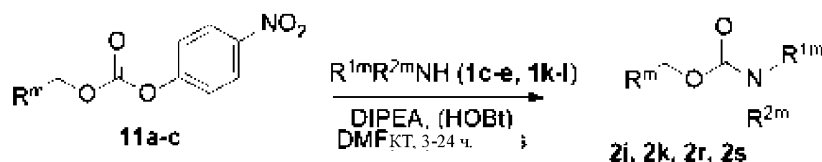
Фмос-аминокислота 6	Продукт	R
6a	7	
6b	10	

[00320] К раствору промежуточного соединения **6** (1.2-1.4 эквив.) в DMF добавили HATU (1.5-1.7 эквив.) при КТ. Полученный раствор перемешивали при КТ на протяжении часа. К данной суспензии добавили раствор всРАВ-будесонида (**4a**, 1.0 эквив.) в DMF (0.10 мл на мг of **4a**) и затем NMM (2.3-3.0 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 16 часов, пока она не стала прозрачной. Реакцию контролировали посредством LCMS до полного разрушения соединения **4a**. К реакционной смеси затем добавили диэтиламин (излишек) и затем полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении 1-3 часов до удаления Fmoc согласно LCMS. Летучие вещества удалили *in*

vasio и остаток очистили посредством rper-HPLC (способ А), в результате чего получили соединение **7** (18% выход от соединения **4a**), или очистили посредством rper- HPLC (способ В), в результате чего получили соединение **10** (5-% выход) в виде белого твердого вещества. В нижеприведенной таблице дана дополнительная информация.

Амины		Промежуточное соединение 6		База/реактивы	Растворитель	Время	Очистка	Продукт
4a	60 мг, 64 мкмоль	6a	46 мг, 86 мкмоль	NMM (15 мг, 0.15 ммоль) HATU (41 мг, 0.11 ммоль) затем Et ₂ NH (0.5 мл)	DMF (3 мл)	16 ч затем 3 ч	Преп- HPLC (способ А)	7 (13 мг, 18%)
4a	0.19 г, 0.20 ммоль	6b	0.15 г, 0.24 ммоль	NMM (61 мг, 0.60 ммоль) HATU (0.11 г, 0.29 ммоль) затем Et ₂ NH (1 мл)	DMF (5 мл)	16 ч затем 1 ч	Преп- HPLC (способ В)	10 (13 мг, 5%)

Общая процедура D для синтеза карбаматов **2j**, **2k**, **2r** и **2s**



[00321] Смесь перемешивали при КТ на протяжении 3-24 часов до полного разрушения **PNP активированного эфира**, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь отфильтровали через мембрану и фильтрат разделили напрямую посредством rper-HPLC, в результате чего получили соединение **2** (с диастереоизомерами или без них, 11-63% выход) в виде белого твердого вещества. В нижеприведенной таблице дана дополнительная информация.

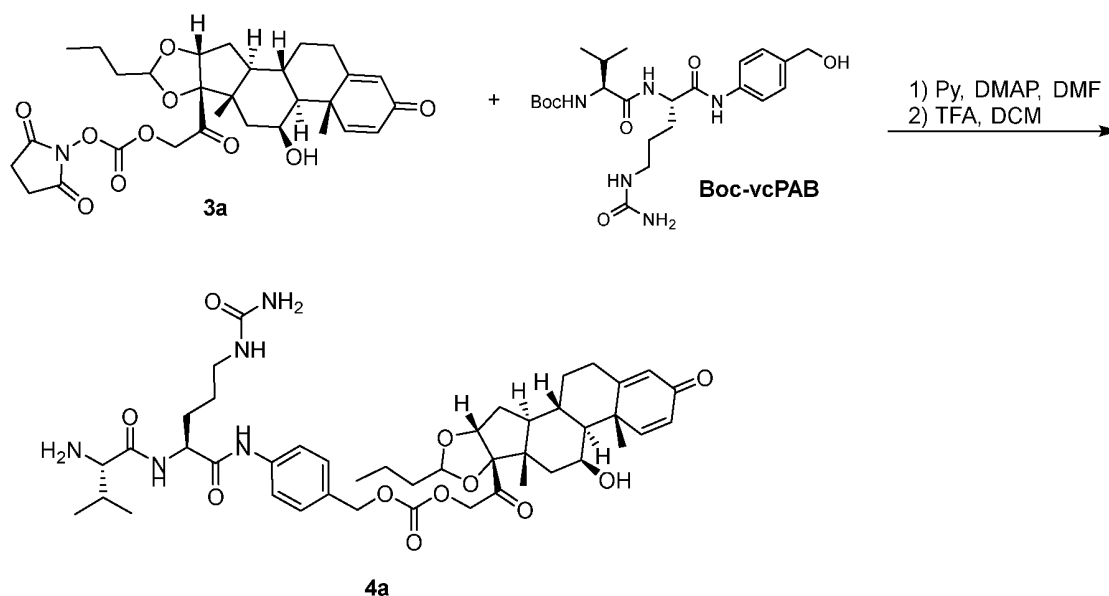
Спейсер-будесонид 21		Активированный эфир 23		База/реактивы	Растворитель	Время (ч)	Очистка	Продукт 2
1e	15 мг, 28 мкмоль	11a	15 мг, 20 мкмоль	DIPEA (12 мг, 93 мкмоль) HOBt (4.0 мг, 30 мкмоль)	DMF (1 мл)	12	Преп- HPLC (способ А)	2j (3.0 мг, 13%)
1d	20 мг, 37 мкмоль	11a	22 мг, 30 мкмоль	DIPEA (12 мг, 93 мкмоль) HOBt (6.0 мг, 44 мкмоль)	DMF (1 мл)	12	Преп- HPLC (способ А)	2k-A (3.3 мг, 10%) 2k-B (4.1 мг, 12%)

Спейсер-будесонид 21		Активированный эфир 23		База/реактивы	Растворитель	Время (ч)	Очистка	Продукт 2
				МКМОЛЬ)				
1k	50 мг, 90 МКМОЛЬ	11c	30 мг, 95 МКМОЛЬ	DIPEA (50 мг, 0.39 ммоль)	DMF (1 мл)	3	Преп- HPLC (способ В)	2r (40 мг, выход 61%)

Синтез 2a-d

[00322] Будесонид-линкеры **2a-d** приготовили в соответствии с тремя подходами согласно Схеме 2. Первый подход заключался непосредственно в реакциях связывания амидов от *vc*PAB-будесонида (**4a**), который получили от активированного эфира будесонида **3a** с линкерами **5**. Второй подход был через первоначальные реакции связывания амидов от *vc*PAB-будесонида (**4a**) с промежуточным соединением **6a**, в результате чего получили будесонид-линкеры **7**, за этим последовала 3+2 циклизация с галактоза-азидом (**8a**), в результате чего получили промежуточные соединения **9**, за чем последовали вторичные реакции связывания амидов с **5**. Третий подход осуществлялся через первые реакции связывания амидов **4** с промежуточным соединением **6b**, за чем последовало образование амидов **5b** и последовательное снятие защиты с ацетона, в результате чего получили **2d**.

Промежуточное соединение 4a

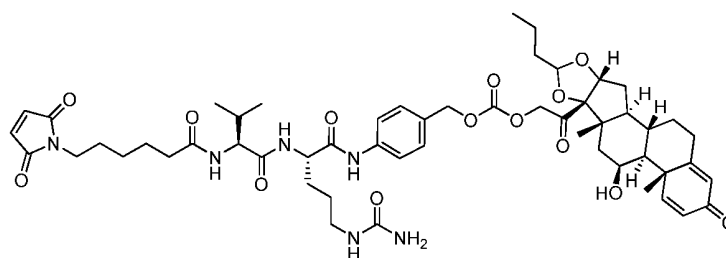


[00323] 1.4 ммоль) в сухом DMF (10 мл) добавили Бос-vc-PAB (**12a**) [WO2008/34124 A2] (0.59 г, 1.2 ммоль), DMAP (0.30 г, 2.4 ммоль) и пиридин (0.29 г, 3.7 ммоль). Смесь

перемешивали при КТ на протяжении 16 часов до полного разрушения **3a** согласно LCMS. Реакционную смесь напрямую очистили при обращенно-фазовой флэш-хроматографии (50-80% ацетонитрил в воде), в результате чего получили промежуточное соединение **Вос-4a** (0.74 g, выход 38%, ESI м/з: 936 (M + H)⁺) в виде белого твердого вещества, которое растворили в DCM (40 мл). К 5 мл раствора DCM (содержащего 94 мг **Вос-4a**) добавили TFA (0.5 мл) по каплям при 0 °C. После перемешивания при КТ на протяжении 1.5 часов до разрушения **Вос-4a**, что контролировали посредством LCMS, полученную смесь сконцентрировали in vacuo и получили сырой титульный продукт **4a** (83 мг, выход 34% из будесонида) как соль TFA в виде бесцветного масла, что можно использовать без очистки для синтеза следующего этапа. 20 мг сырого продукта **4a** очистили при rper-HPLC (способ B) и получили чистый продукт **4a** (8 мг) в виде свободного основания для теста на стабильность в плазме. ESI м/з: 836 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.17 (s, 1H), 8.12 (br s, 1H), 7.62 (d, *J* = 8.5 Гц, 2H), 7.31 (d, *J* = 10.2 Гц, 3H), 6.17 (d, *J* = 10.1 Гц, 1H), 5.97 (t, *J* = 5.7 Гц, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.22-5.01 (m, 4H), 4.89-4.62 (m, 3H), 4.53-4.40 (m, 1H), 4.30 (s, 1H), 3.09-2.87 (m, 3H), 2.36-2.22 (m, 1H), 2.14-1.87 (m, 4H), 1.81 (d, *J* = 5.6 Гц, 2H), 1.75 (s, 2H), 1.62-1.52 (m, 4H), 1.51-1.41 (m, 2H), 1.40-1.19 (m, 8H), 1.18-0.92 (m, 2H), 0.92-0.82 (m, 9H), 0.78 (d, *J* = 6.8 Гц, 3H) ppm.

Пример 2a

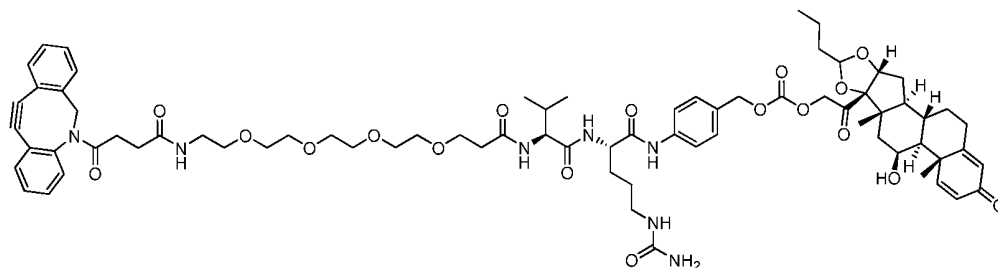
N-[[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{[(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]-6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1*H*-пиррол-1-ил)гексанамида (**2a**)



[00324] В соответствии с общей процедурой A получили титульное соединение **2a** (10 мг, 17% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 1029 (M + H)⁺. Анал. HPLC: 92.5%, время удерживания: 7.66 мин (способ A).

Пример 2b

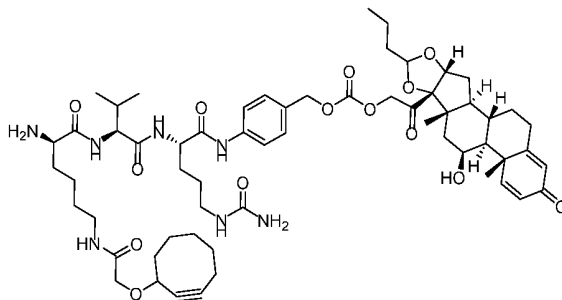
1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанам-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-идо]-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{[(2-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (2b)



[00325] В соответствии с общей процедурой В получили титульное соединение **2b** (3.0 мг, 21% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 686 (M/2 + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.05 (s, 1H), 8.15 (d, *J* = 7.5 Гц, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.8 Гц, 1H), 7.77 (t, *J* = 5.7 Гц, 1H), 7.71-7.66 (m, 1H), 7.66-7.59 (m, 3H), 7.52-7.27 (m, 9H), 6.17 (d, *J* = 10.0 Гц, 1H), 6.03-5.95 (m, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.79-5.74 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.22-4.99 (m, 6H), 4.88-4.84 (m, 1H), 4.84-4.60 (m, 2H), 4.42-4.34 (m, 1H), 4.33-4.26 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 3H), 3.48-3.44 (m, 12H), 3.32-3.26 (m, 2H), 3.12-2.91 (m, 4H), 2.63-2.54 (m, 1H), 2.41-2.19 (m, 3H), 2.03-1.94 (m, 4H), 1.84-1.78 (m, 2H), 1.63-1.22 (m, 14H), 1.03-0.82 (m, 15H) ppm. Анал. HPLC: 96.9%, время удерживания: 8.10 мин (способ В).

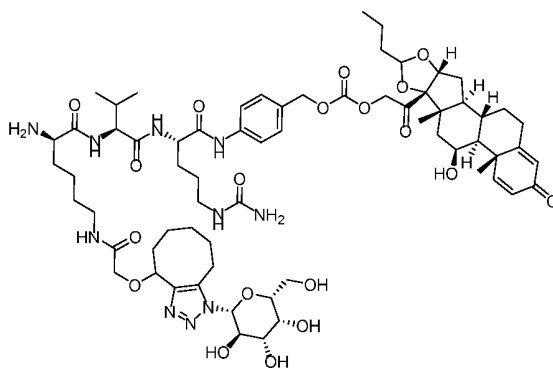
Пример 2с

(2*R*)-2-амино-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{[(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетамидо]гексанамида (7)



[00326] ESI m/z : 565 ($M/2 + H$)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.17-10.00 (m, 1H), 8.47-7.73 (m, 2H), 7.69-7.57 (m, 3H), 7.38-7.26 (m, 3H), 6.17 (d, $J = 10.0$ Гц, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.23-5.01 (m, 4H), 4.88-4.61 (m, 3.4H), 4.43-4.16 (m, 4.6H), 3.85 (d, $J = 14.7$ Гц, 1H), 3.73 (d, $J = 14.5$ Гц, 1H), 3.23-3.18 (m, 1H), 3.09-2.90 (m, 4H), 2.33-2.18 (m, 3H), 2.18-2.04 (m, 3H), 2.03-1.66 (m, 10H), 1.64-1.50 (m, 7H), 1.49-1.22 (m, 13H), 1.17-0.90 (m, 4H), 0.90-0.79 (m, 12H) ppm.

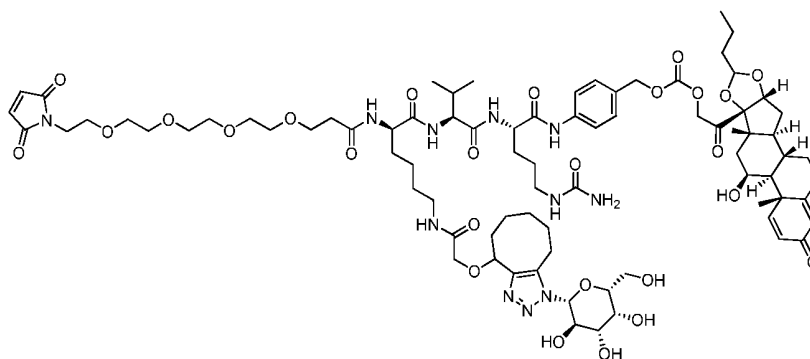
(2*R*)-2-амино-*N*-[(1*S*)-1-[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-[(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]-6-[2-({1-[(2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,6*R*)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксан-2-ил]-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-4-ил}окси)ацетамидо]гексанамид (9)



[00327] После фильтрации полученный раствор **9** использовали напрямую для следующего этапа. ESI m/z : 667 ($M/2 + H$)⁺

N-[(1*R*)-1-[(1*S*)-1-[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-[(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-

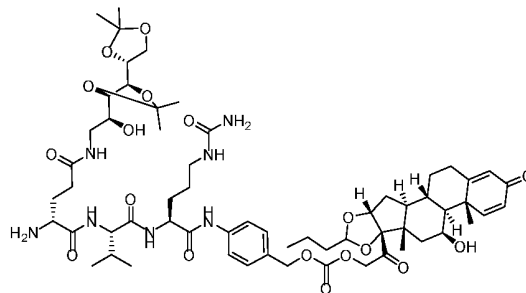
диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)окси[метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-[2-({1-[(2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,6*R*)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксан-2-ил]-4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил}окси)ацетамидо]пентил]-1-(2,5-диоксопиррол-1-ил)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (Mc-PEG₄-N(сахар-COT)Lys-vc-РАВ-будесонид) (2с)



[00328] ESI м/з: 831 (M/2 + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9.73 (s, 1H), 8.21-8.07 (m, 3H), 7.94-7.82 (m, 1H), 7.71-7.59 (m, 3H), 7.39-7.26 (m, 4H), 7.02 (s, 1H), 6.17 (d, *J* = 10.0 Гц, 1H), 6.09-5.98 (m, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.56-5.28 (m, 4H), 5.25-5.01 (m, 4H), 4.90-4.62 (m, 5H), 4.39-4.13 (m, 5H), 3.84-3.69 (m, 4H), 3.59-3.40 (m, 16H), 3.17-2.79 (m, 9H), 2.43-1.71 (m, 13H), 1.71-1.42 (m, 15H), 1.40-1.19 (m, 11H), 1.04-0.77 (m, 15H) ppm. Анал. HPLC: 97.6%, время удерживания: 7.63 мин (способ А).

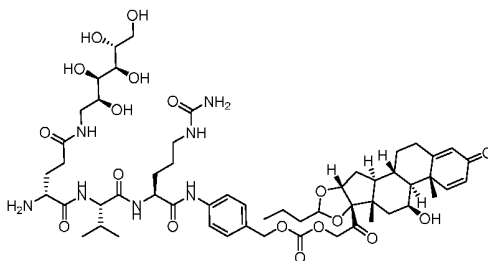
Пример 2d

(2*R*)-2-амино-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{{(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)окси[метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]-*N'*-[(2*S*)-2-[(4*R*,5*R*)-5-[(4*R*)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил]-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил]-2-гидроксиэтил]пентандиамид (10)



[00329] В соответствии с общей процедурой C соединение **10** (13 мг, 5% выход) получили в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 605 (M/2 + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.08 (s, 1H), 8.34-8.17 (m, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.93-7.81 (m, 1H), 7.62 (d, *J* = 8.4 Гц, 2H), 7.42-7.26 (m, 3H), 6.17 (d, *J* = 10.1 Гц, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.23-5.01 (m, 4H), 4.91-4.61 (m, 4H), 4.43-4.20 (m, 3H), 4.10-3.72 (m, 6H), 3.60-3.54 (m, 1H), 3.24-3.09 (m, 2H), 3.07-2.91 (m, 2H), 2.32-2.25 (m, 1H), 2.22-2.10 (m, 2H), 2.04-1.93 (m, 2H), 1.88-1.67 (m, 5H), 1.64-1.22 (m, 27H), 1.17-0.93 (m, 3H), 0.91-0.81 (m, 12H) ppm.

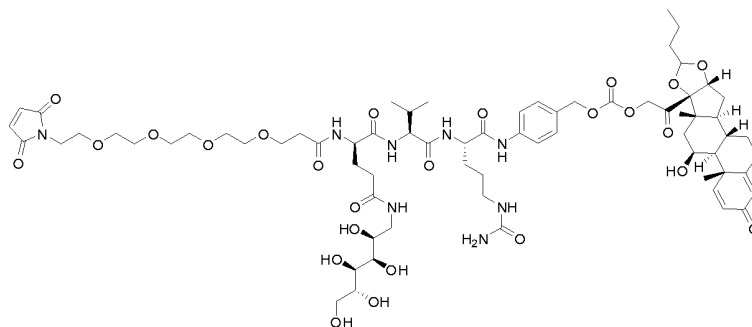
(2R)-2-амино-N-[(1S)-1-[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]-N'-[(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил]пентандиамид (10A)



[00330] К смеси соединения **10** (13 мг, 11 мкмоль) в DCM (1 мл) добавили TFA (1 мл) по каплям. Смесь перемешивали при КТ на протяжении часа, что контролировали посредством LCMS. Летучие вещества удалили *in vacuo* и получили сырой продукт со снятием защиты **10A** (13 мг) в виде светло-желтого масла, который использовали для следующего этапа без дальнейшей очистки. ESI м/з: 565 (M/2 + H)⁺.

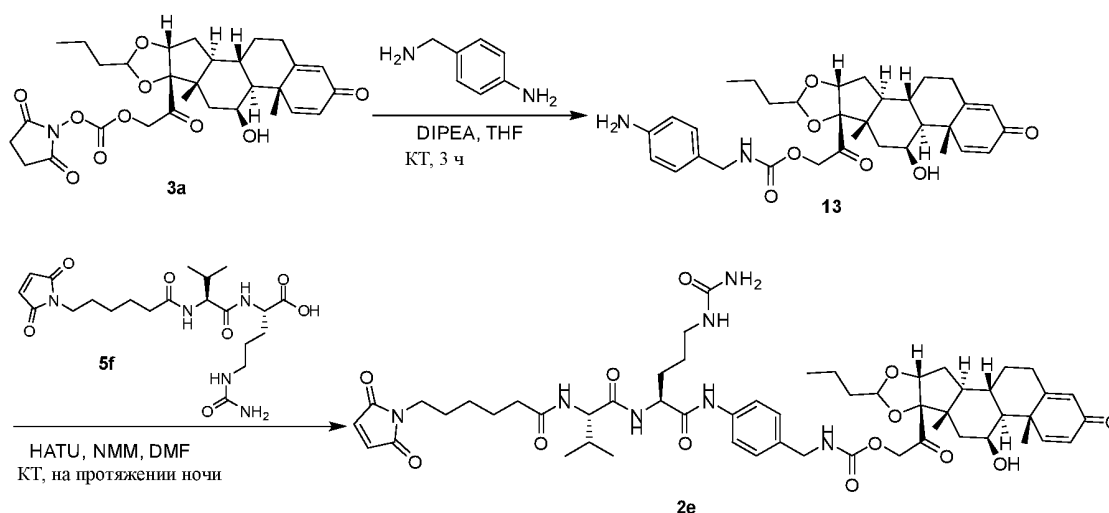
(2R)-N-[(1S)-1-[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-

9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)окси[метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]-2-[1-(2,5-диоксопиррол-1-ил)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-N'-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*R*)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил]пентандиамид (2d**)**



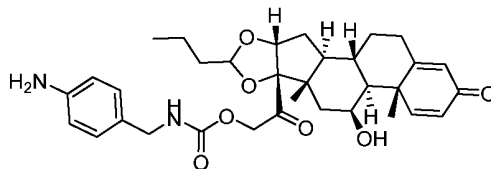
[00331] В соответствии с общей процедурой А получили титульное соединение **2d** (3.5 мг, 1% общий выход от **4a**) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 829.7 (M/2 + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.10 (s, 0.25H), 9.79 (s, 0.75H), 8.22 (d, *J* = 7.1 Гц, 1H), 8.12 (d, *J* = 7.5 Гц, 1H), 8.07 (d, *J* = 7.8 Гц, 1H), 7.79-7.71 (m, 1H), 7.69-7.60 (m, 2H), 7.38-7.27 (m, 4H), 7.02 (d, *J* = 1.4 Гц, 2H), 6.17 (dt, *J* = 7.6, 1.6 Гц, 1H), 6.03-5.97 (m, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.46-5.40 (m, 2H), 5.35-5.02 (m, 4H), 4.89-4.61 (m, 4H), 4.50-4.45 (m, 1H), 4.40-4.16 (m, 7H), 3.65-3.37 (m, 21H), 3.07-2.90 (m, 3H), 2.44-2.23 (m, 4H), 2.17-1.93 (m, 6H), 1.90-1.71 (m, 4H), 1.62-1.20 (m, 15H), 1.06-0.76 (m, 15H) ppm. Анал. HPLC: >99%, время удерживания: 6.40 мин (способ А).

Схема 3. Синтез 2e



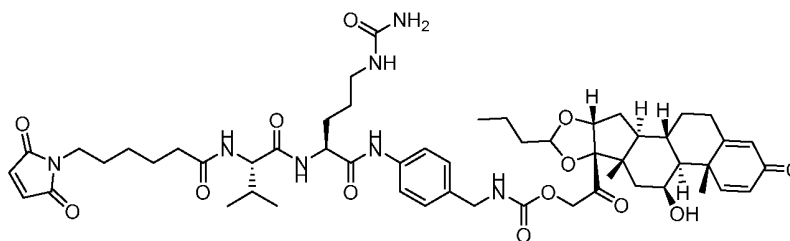
Пример 2е

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-[(4-аминофенил)метил]карбамат (13)



[00332] К раствору 4-аминобензиламина (9.7 мг, 79 мкмоль) и DIPEA (12 мг, 93 мкмоль) в THF (10 мл) добавили раствор **3a** (24 мг, 44 мкмоль) в THF (5.0 мл) по каплям при КТ. Смесь перемешивали при КТ на протяжении 3 часов до полного разрушения **3a**, что контролировали посредством LCMS. Летучие соединения удалили *in vacuo* и остаток очистили при *pre*-HPLC (способ В) и получили соединение **13** (5.6 мг, выход 22%) в виде твердого белого вещества. ESI *m/z*: 579.2 (*M* + *H*)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD-*d*₄) δ 7.48-7.45 (m, 3H), 7.31-7.28 (m, 2H), 6.27-6.24 (m, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.22 (m, 1H), 5.12-5.11 (m, 1H), 4.96 (m, 1H), 4.86-4.81 (m, 2H), 4.66 (m, 1H), 4.44-4.35 (m, 3H), 2.66-2.65 (m, 1H), 2.40-2.36 (m, 1H), 2.15-2.10 (m, 2H), 1.97-1.60 (m, 6H), 1.53-1.36 (m, 6H), 1.09-0.92 (m, 7H) ppm.

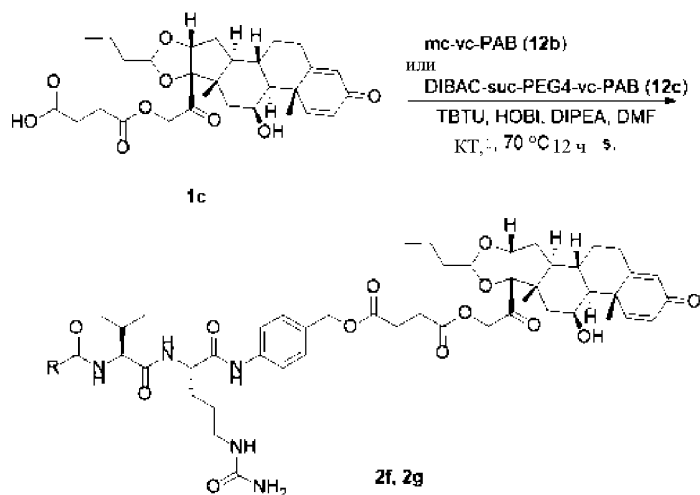
2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-({4-[(2*S*)-5-(карбамоиламино)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1*H*-пиррол-1-ил)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метил)карбамат (2e)



[00333] К смеси MC-VC-OH **5f** (WO2014/191578 A1) (5.7 мг, 12 мкмоль) в сухом DMF (1.5 мл) добавили HATU (4.6 мг, 12 мкмоль) и NMM (4.0 мг, 40 мкмоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ на протяжении 10 минут, после чего соединение **13** (4.7 мг, 8.1 мкмоль) добавили в реакционную смесь. Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Соединение **13** было полностью разрушено и детекцию желаемого

продукта проводили как детекцию главного продукта согласно LCMS. Смесь очистили напрямую при rper-HPLC и получили соединение **2e** (2.9 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества. ES м/з: 1029.1 (M + H)⁺, 514.7 (M/2 + H)⁺. Анал. HPLC: >99%, время удерживания: 7.54 мин (способ А).

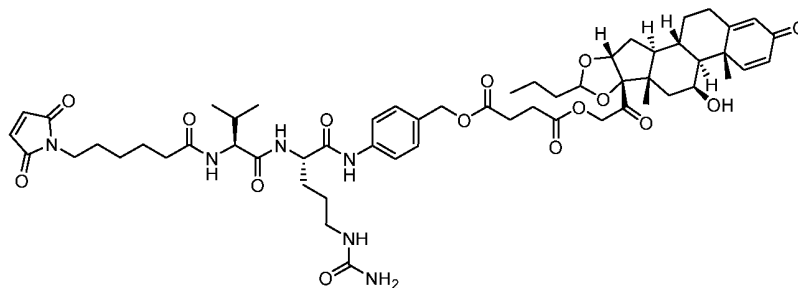
Схема 4. Синтез линкер-спейсер-будесонида (через эфир) 2f и 2g



Соединение №	R
2f	MC
2g	DIBAC-suc-PEG4

Пример 2f

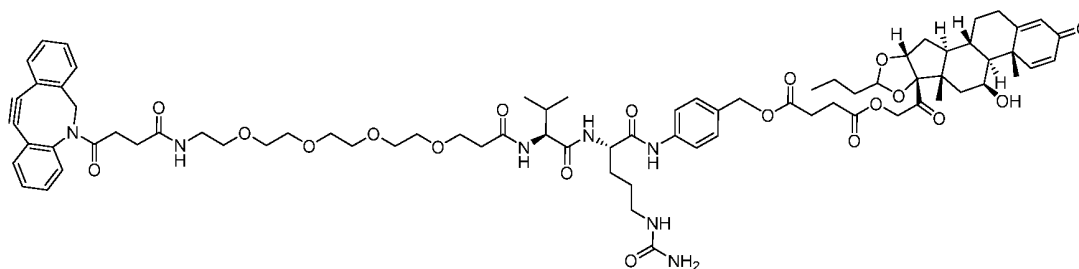
1-{4-[(2*S*)-5-(карбамоиламино)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1*H*-пиррол-1-ил)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]фенил}метил 4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил} бутандиоат (**2f**)



[00334] К раствору **1c** (20 мг, 38 мкмоль) в DMF (2 мл) добавили MC-VCPAB (**12b**, 0.11 г, 0.19 ммоль), TBTU (63 мг, 0.19 ммоль), HOBt (26 мг, 0.19 ммоль) и DIPEA (41 мг, 0.19 ммоль) при КТ. Полученную смесь перемешивали при 70 °С на протяжении 12 часов. Более продукта **2f** не образовалось, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь очистили напрямую при ргсг-HPLC и получили титульное соединение **2f** (2.6 мг, выход 6%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 1085.3 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7.55-7.52 (m, 1H), 7.34-7.30 (m, 1H), 6.67 (br s, 1H), 6.30-6.27 (m, 1H), 6.03 (br s, 1H), 5.16-5.11 (m, 2H), 5.09-4.87 (m, 2H), 4.80-4.61 (m, 1H), 4.60-4.30 (m, 2H), 3.47-3.44 (m, 1H), 3.21-3.10 (m, 1H), 3.03-2.96 (m, 2H), 2.79-2.55 (m, 4H), 2.35-1.73 (m, 28H), 1.71-1.32 (m, 15H), 1.29-1.07 (m, 4H), 0.99-0.85 (m, 9H) ppm.

Пример 2g

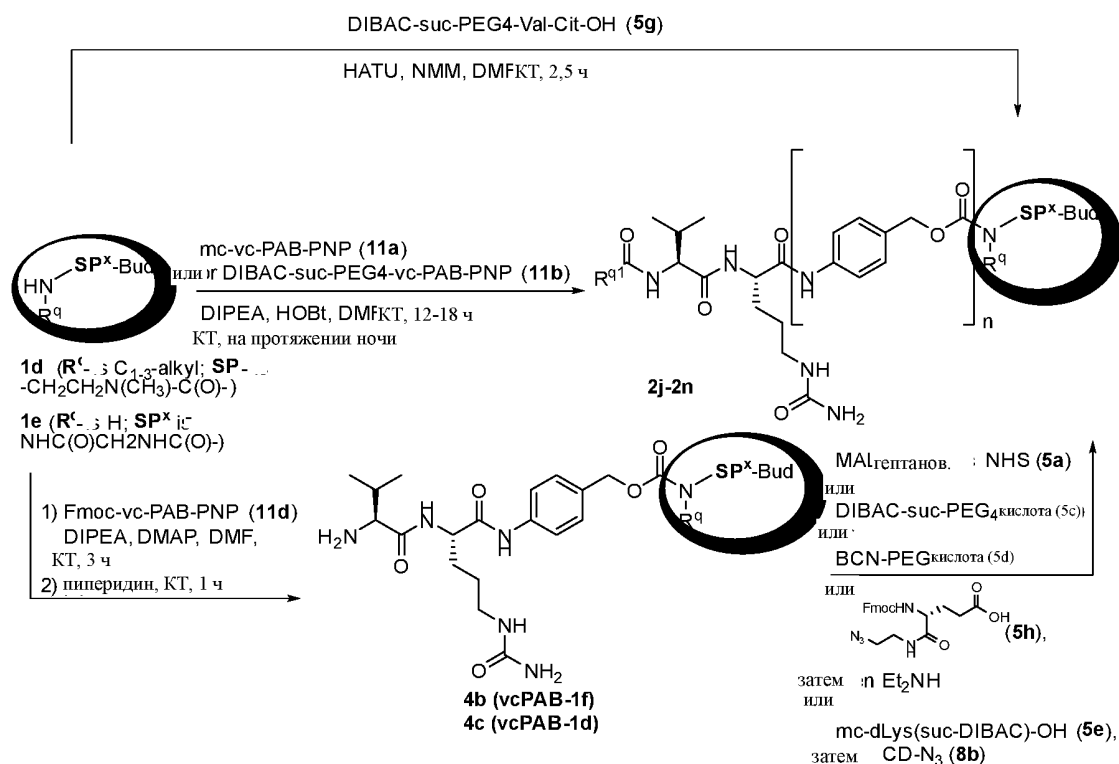
1-{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил 4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил} бутандиоат (**2g**)



[00335] В соответствии с процедурами **примера 2f**, за исключением использования DIBAC-suc-PEG4-vc-PAB (**12c**) вместо **12b**, было получено соединение **2g** (15 мг, выход 19%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 714 (M/2 + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц,

MeOD_{d4}) δ 7.67-7.60 (m, 4H), 7.48-7.46 (m, 4H), 7.38-7.32 (m, 4H), 7.26 (d, J = 6.8 Гц, 1H), 6.27 (d, J = 10.0 Гц, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.24-5.10 (m, 4H), 5.02-4.97 (m, 1H), 4.85-4.66 (m, 2H), 4.61 (s, 1H), 4.53 (dd, J = 9.1, 4.9 Гц, 1H), 4.45-4.43 (m, 1H), 4.22 (dd, J = 6.7, 4.7 Гц, 1H), 3.78-3.69 (m, 3H), 3.60-3.55 (m, 11H), 3.47-3.40 (m, 2H), 3.26-3.10 (m, 4H), 2.78-2.54 (m, 8H), 2.41-2.35 (m, 2H), 2.25-2.11 (m, 4H), 2.02-1.31 (m, 17H), 1.21-0.92 (m, 14H) ppm. Анал. HPLC: 99.5%, время удерживания: 7.86 мин (способ В).

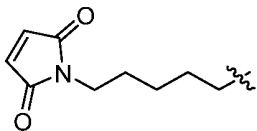
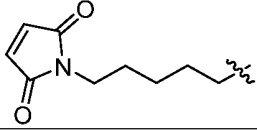
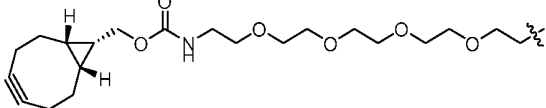
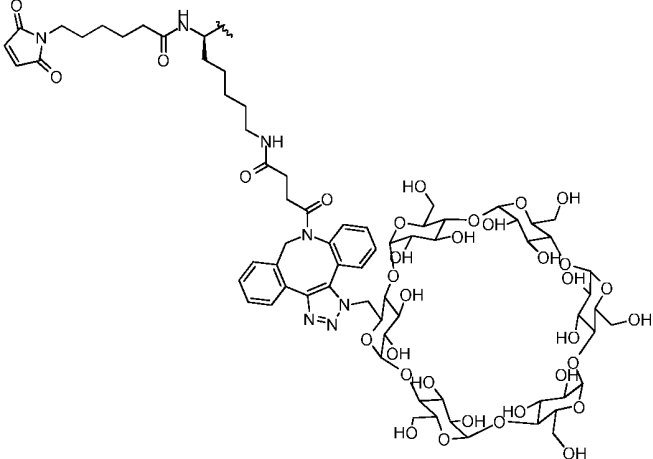
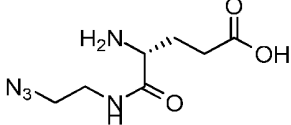
Схема 5. Синтез линкер-спейсер-будесонида 2j-2n (через амид или карбамат)



[00336] В Схеме 5 Bud означает будесонид.

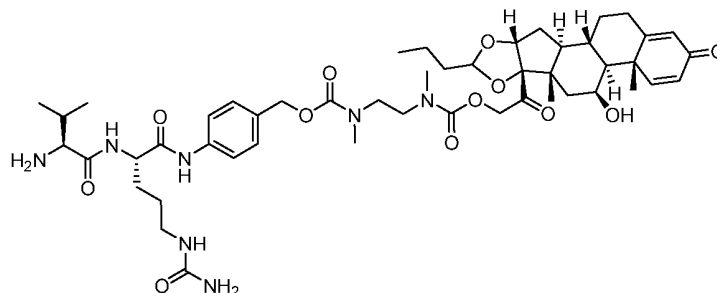
[00337] Большинство будесонид-линкеров (**2**), имеющих фрагмент VC-PAB, были синтезированы с применением трех подходов через амид или карбамат (Схема 5).

Соединения **1d**, **1e** были отдельно конъюгированы с линкерами посредством связывания амидов, и был получен амид или карбамат (Схема 5). В нижеприведенной таблице дана дополнительная информация.

№ соедине ния	R ^{q1} in 2j, 2k, 2l, 2m, 2n	n in 2j-n	R ^q -NH- спейсер- будесонид
2j		1	1e
2k		1	1d
2l		1	1d
2m		1	1d
2n		1	1d

Промежуточное соединение 4с

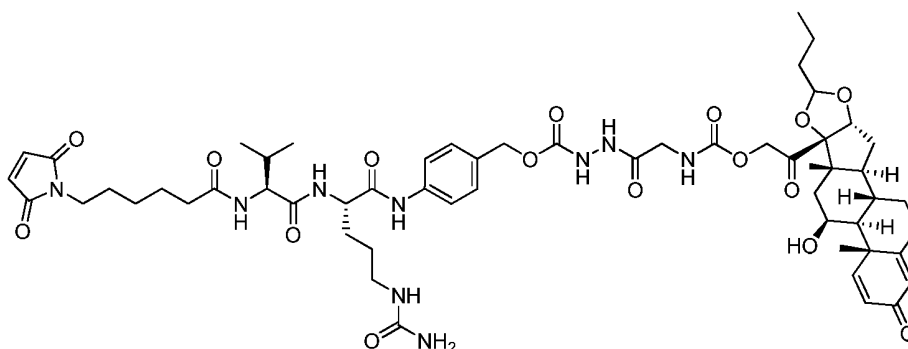
2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-(2-{{{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил}(метил)амино}этил)-*N*-метилкарбамат (4с)



[00338] К раствору соединения **1d** (40 мг, 73 мкмоль) в DMF (3 мл) добавили Fmoc-vcPAB-PNP (**11d**, 60 мг, 78 мкмоль), DMAP (9.0 мг, 74 мкмоль) и DIPEA (20 мг, 0.16 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении 3 часов до разрушения большей части исходного материала, что контролировали посредством LCMS. Затем к реакционной смеси добавили пиперидин (1 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение часа до завершения реакции de-Fmoc, что контролировали посредством LCMS, реакционную смесь напрямую очистили при rper-HPLC (способ B) и получили соединение **4c** (9.0 мг, выход 13%, 2-ой пик в LC) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 951 (M + H)⁺, 973 (M + Na)⁺.

Пример 2j

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил N-({N'-[({4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метокси)карбонил]гидразинкарбонил}метил)карбамат (2j)

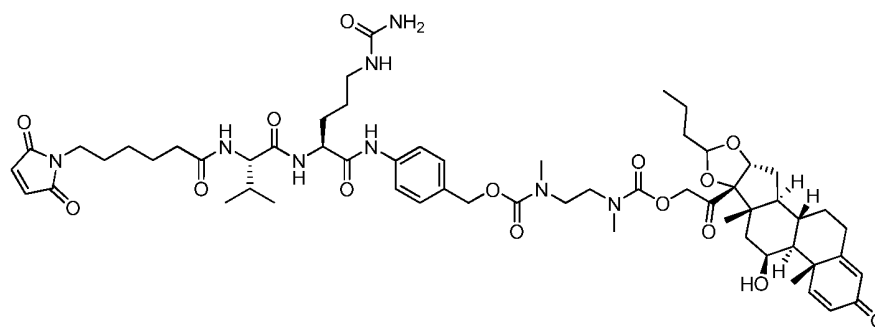


[00339] ESI м/з: 1144.3 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 10.02 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 9.18 (s, 1H), 8.12 (d, J = 7.2 Гц, 1H), 7.83 (d, J = 8.4 Гц, 1H), 7.73-7.70 (m, 1H), 7.61-7.59

(m, 2H), 7.32-7.29 (m, 3H), 7.01 (s, 2H), 6.19-6.16 (m, 1H), 6.00-5.92 (m, 2H), 5.05-5.00 (m, 2H), 4.95-4.85 (m, 2H), 4.71-4.62 (m, 2H), 4.40-4.17 (m, 3H), 3.71-3.58 (m, 2H), 3.45-3.39 (m, 2H), 3.06-2.89 (m, 3H), 2.33-2.28 (m, 2H), 2.20-2.07 (m, 3H), 2.02-1.91 (m, 3H), 1.81-1.75 (m, 2H), 1.75-1.62 (m, 2H), 1.60-1.44 (m, 11H), 1.42-1.20 (m, 6H), 1.19-1.12 (m, 4H), 1.00-0.92 (m, 2H), 0.88-0.81 (m, 10H) ppm.

Пример 2k

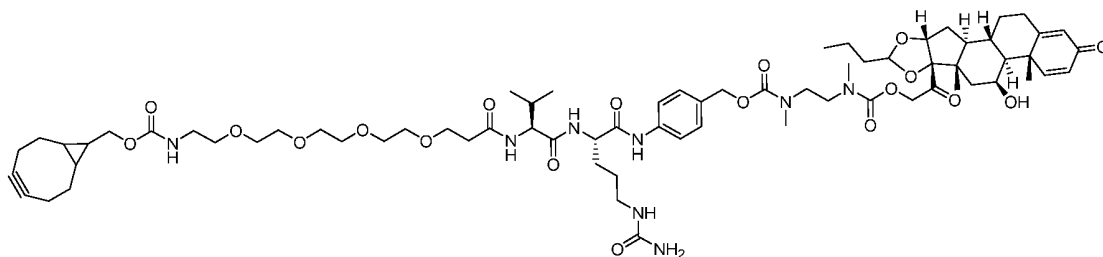
2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-(2-{[(4-[(2*S*)-5-(карбамоиламино)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1*H*-пиррол-1-ил)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метокси)карбонил](метил)амино}этил)-*N*-метилкарбамат (2k-A и 2k-B)



[00340] В соответствии с общей процедурой D были получены титульные соединения **2k-A** (3.3 мг, выход 10%, второй пик в LC) и **2k-B** (4.1 мг, выход 12%, первый пик в LC) как диастереоизомеры в виде белых твердых веществ. **2k-A**: ESI м/з: 1143.4 (M + H)⁺, время удерживания 1.70 мин (способ A). **2k-B**: ESI м/з: 1143.4 (M + H)⁺, время удерживания: 1.65 мин (способ A).

Пример 2l

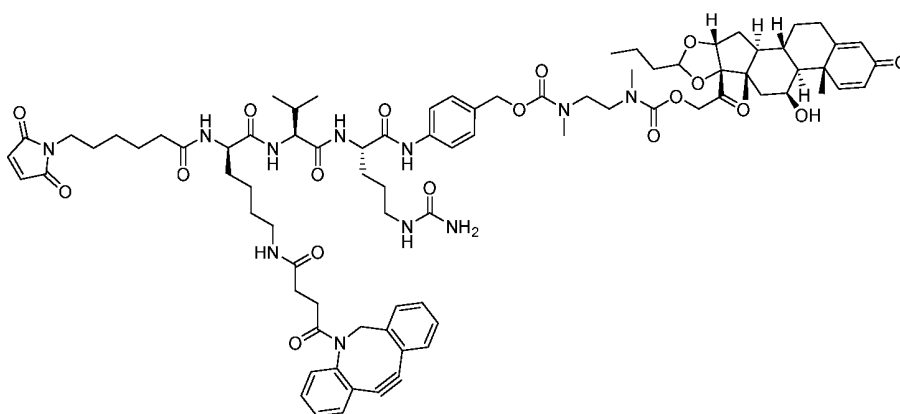
Бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметил *N*-(14-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{[(2-[(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)(метил)амино]этил}(метил)карбамоил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-3,6,9,12-тетраоксатетрадекан-1-ил)карбамат (2l)



[00341] ESI m/z : 687.5 ($M/2 + H$)⁺, 1396.8 ($M + Na$)⁺ (50%), ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD-*d*₄) δ 7.66 (d, $J = 7.5$ Гц, 2H), 7.50 (d, $J = 10.0$ Гц, 1H), 7.36 (d, $J = 7.0$ Гц, 2H), 6.28 (d, $J = 10.0$ Гц, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.15-5.05 (m, 2H), 4.87-4.62 (m, 4H), 4.53 (s, 1H), 4.46 (s, 1H), 4.21 (d, $J = 6.5$ Гц, 1H), 4.16 (d, $J = 8.0$ Гц, 2H), 3.83-3.72 (m, 2H), 3.66-3.60 (m, 12H), 3.56-3.52 (m, 3H), 3.49-3.42 (m, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.25-3.09 (m, 3H), 3.02-2.96 (m, 4H), 2.87 (dd, $J = 16.6, 4.8$ Гц, 2H), 2.72-2.64 (m, 1H), 2.58 (t, $J = 6.0$ Гц, 2H), 2.40 (d, $J = 13.1$ Гц, 1H), 2.31-2.10 (m, 9H), 2.01-1.91 (m, 3H), 1.81-1.70 (m, 2H), 1.63 (s, 7H), 1.51 (s, 3H), 1.48-1.30 (m, 4H), 1.11 (s, 1H), 1.02-0.91 (m, 15H) ppm. Анал. HPLC: > 99.9%, время удерживания: 9.40 мин (способ А).

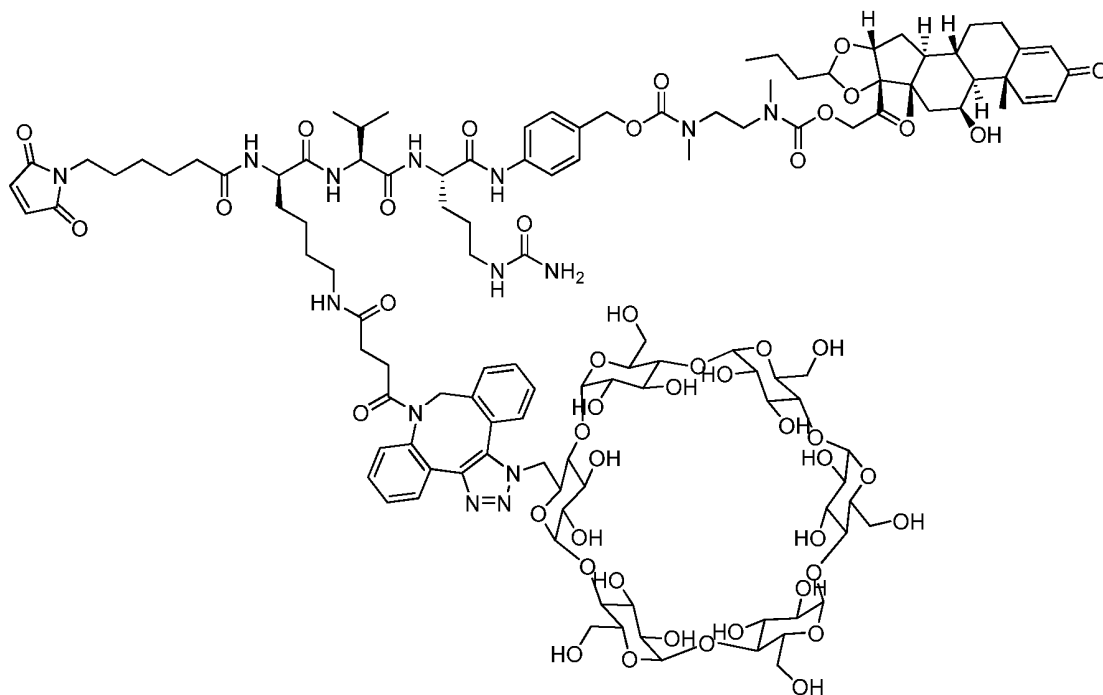
Пример 2m

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-(2-[(4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-6-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил]-4-оксобутанамидо)-2-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1*H*-пиррол-1-ил)гексанамидо]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил]метокси)карбонил](метил)амино)этил)-*N*-метилкарбамат (2m-прекурсор)



[00342] В соответствии с общей процедурой В получили сырое соединение **2m**-прекурсор (прекурсор **2m**) (5 мг) в виде светло-желтого масла, которое напрямую использовали для следующего этапа. ESI м/з: 780 (M/2 + H)⁺

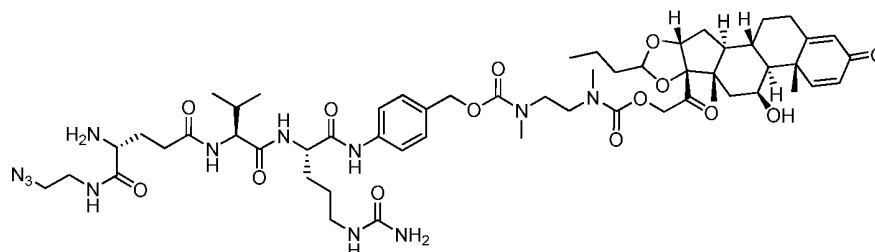
2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]-икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил N-(2-{[(4-[(2*S*)-5-(карбамоиламино)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1*H*-пиррол-1-ил)гексанамидо]-6-[4-(3-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]-дотетраконтан-5-ил)метил}-3,4,5,13-тетраазатетрацикло[13.4.0.0^{2,6}.0^{7,12}]-нонадека-1(15),2(6),4,7(12),8,10,16,18-октаен-13-ил)-4-оксобутанамидо]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метокси) карбонил](метил)амино}этил)-*N*-метилкарбамат (2m**)**



[00343] К раствору сырого продукта **2m** (5 мг) в DMF (1 мл) добавили CD-N₃ (**8b**, 63 мг, 63 мкмоль). Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении 72 часов, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь сразу же очистили при ргср-НPLC (способ А) и получили соединение **2m** (2 мг, 4% выход от **4c**) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 1278.8 (M/2 + H)⁺. Анал. HPLC: 97.9%, время удерживания: 6.49 мин (способ А).

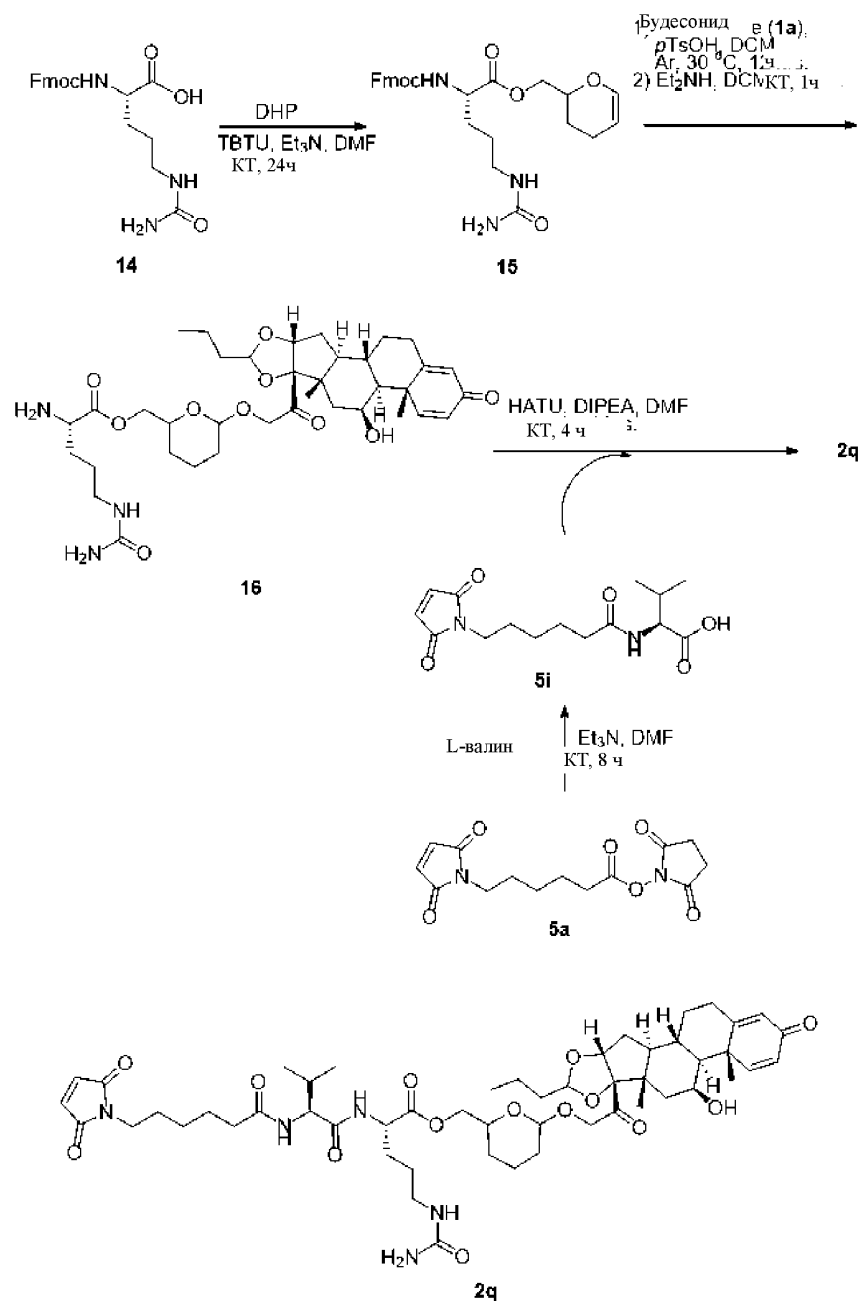
Пример 2п

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-(2-{{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(4*R*)-4-амино-4-[(2-азидоэтил)карбамоил]бутанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил](метил)амино}этил)-*N*-метилкарбамат (2п)



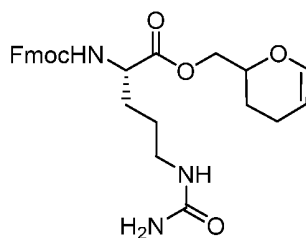
[00344] Затем реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Соединение **4c** было полностью разрушено согласно LCMS. Смесь разделили при ргер-HPLC (способ А) и после лиофилизации получили соединение **Fmoc-2n** (20 мг), которое затем растворили в DMF (2 мл). К раствору DMF добавили диэтиламин (4 капли, *c.a.* 0.08 мл). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 часов до завершения реакции de-Fmoc, что контролировали посредством LCMS. Смесь отфильтровали через фильтровочную мембрану и раствор очистили при ргер-HPLC (способ А) и получили титульное соединение **2n** (10 мг, выход 8.4%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 1147 (M + H)⁺. Анал. HPLC: 99.6%, время удерживания: 5.67 мин (способ А); 7.72 мин (способ В).

Схема 6. Синтез линкер-будесонида 2q (THP аналог)



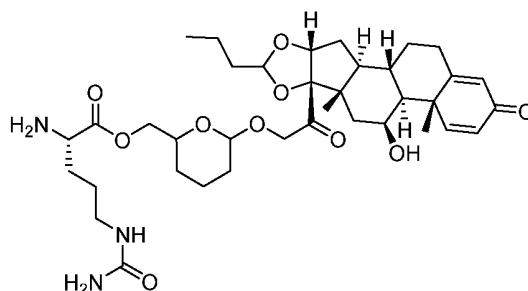
Пример 2q

(2*S*)-(3,4-дигидро-2*H*-пиран-2-ил)метил 2-(((9*H*-флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)-5-уреидопентаноат (15)



[00345] К смеси Fmoc-Cit-OH (**14**, 0.29 г, 0.73 ммоль) в DMF (5 мл) добавили DHP (0.10 мг, 0.88 ммоль), TBTU (0.70 г, 2.2 ммоль) и триэтиламин (0.37 г, 3.7 ммоль) при КТ. Полученую смесь перемешивали при КТ в течение 24 часов. Детекцию 15% необходимой массы осуществили посредством LCMS. Реакционную смесь охладили водой (30 мл) и экстрагировали этил ацетатом (10 мл x 3). Комбинированный органический раствор промыли водой и рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Сырой продукт очистили при обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде) и получили соединение **15** (110 мг, выход 30%) в виде бесцветного масла. ESI *m/z*: 494 (*M* + *H*)⁺.

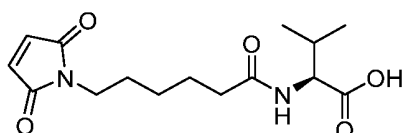
(6-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}оксан-2-ил)метил (2*S*)-2-амино-5-(карбамоиламино)пентаноат (16)



[00346] К раствору соединения **15** (80 мг, 0.16 ммоль) в безводном DCM (3 мл) добавили раствор будесонида (**1a**, 70 мг, 0.16 ммоль) и *p*-толуолсульфоновую кислоту (42 мг, 0.24 ммоль) в безводном DCM (2 мл) шприцом в защитной атмосфере аргона при КТ. Реакционную смесь перемешивали при 30 °C в защитной атмосфере аргона на протяжении

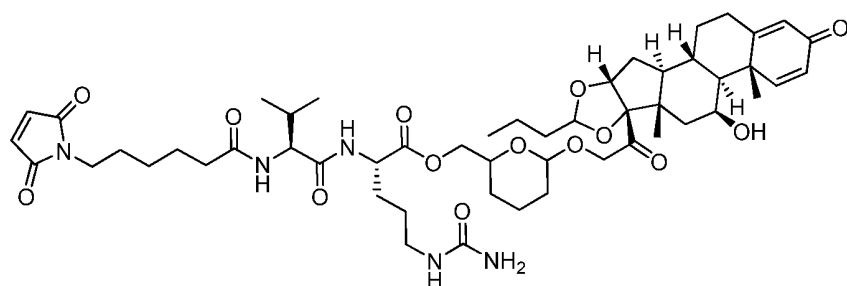
12 часов. Большая часть соединения **15** была разрушена согласно LCMS. Реакционную смесь охладили до КТ и к реакционной смеси добавили диэтиламин (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 1 часа до завершения реакции de-Fмос, что контролировали посредством LCMS. Летучие соединения удалили in vacuo и остаток очистили посредством ргеп-HPLC (способ В) и получили титульное соединение **16** (17 мг, выход 31%) в виде твердого белого вещества. ESI м/з: 702 (M + H)⁺.

(S)-2-(6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамидо)-3-метилбутановая кислота (5i)



[00347] К раствору L-валина (0.12 г, 1.0 ммоль) в безводном DMF (2 мл) добавили соединение **5a** (0.31 г, 1.0 ммоль) и триэтиламин (0.51 г, 5.0 ммоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ на протяжении 8 часов до полного разрушения соединения **5a**, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь отфильтровали через фильтрационную мембрану и фильтрат сразу же очистили при ргеп-HPLC (способ А) и получили титульное соединение **5i** (0.14 г, выход 46%) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 311 (M + H)⁺.

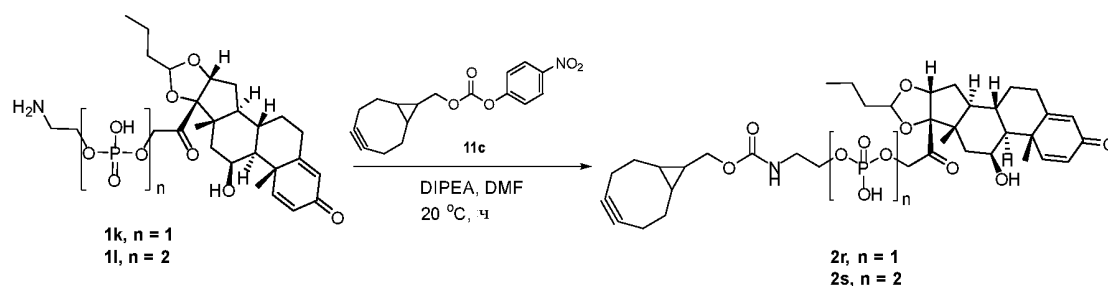
6-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}оксан-2-ил)метил (2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]пентаноат (2q)



[00348] К раствору соединения **5i** (5.8 мг, 19 мкмоль) в DMF (1 мл) добавили HATU (10 мг, 26 мкмоль) и DIPEA (6.6 мг, 51 мкмоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ на протяжении 15 минут и затем к раствору добавили соединение **16** (12 мг, 17 мкмоль) при

КТ. Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении 4 часов до полного разрушения соединения **5i**, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь затем отфильтровали через фильтрующую мембрану и фильтрат очистили напрямую при прер-НPLC (способ А) дважды и получили титальное соединение **2q** (2 мг, выход 12%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 995.3 (M + H)⁺. Анал. HPLC: 83.5%, время удерживания: 10.36 мин (способ В).

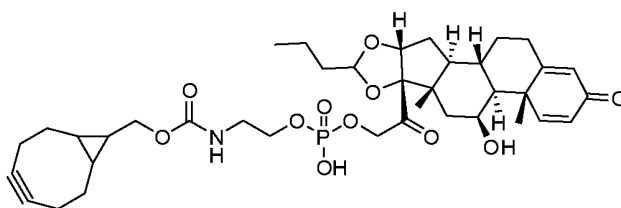
Схема 7. Синтез линкер-фосфат-будесонида 2r и 2s



[00349] Фосфат-будесониды связали с BCN-PNP (**11c**) и получили BCN-фосфат-будесониды (соединение **2r** и **2s**) (схема 7).

Пример 2r

{2-[(бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметокси)карбонил)амино]этокс}{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокс)}фосфиновая кислота (**2r**)

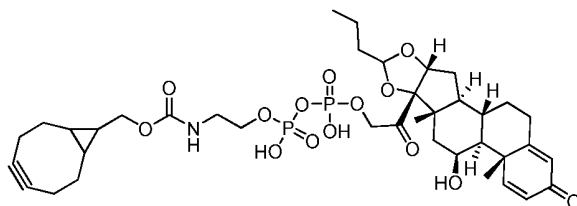


[00350] В соответствии с общей процедурой D соединение **2r** (40 мг, 61% выход) получили в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 730 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7.49 (d, J = 10.1 Гц, 1H), 6.29-6.26 (m, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.23-5.16 (m, 1H), 4.88-4.64 (m, 3H), 4.45 (dd, J = 8.0, 3.1 Гц, 1H), 4.23-4.13 (m, 2H), 3.97 (dd, J = 11.9, 5.7 Гц, 2H), 3.36 (t, J = 4.7 Гц, 2H), 2.67 (td, J = 13.4, 5.3 Гц, 1H), 2.40 (d, J = 9.6 Гц, 1H), 2.30-1.34 (m,

23H), 1.21-0.92 (m, 10H) ppm. Анал. HPLC: > 99.9%, время удерживания: 5.26 мин (способ В).

Пример 2s

{2-[(бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметокси)карбонил]амино]этокси}([гидрокси({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси})фосфорил]оксн})фосфиновая кислота (2s)



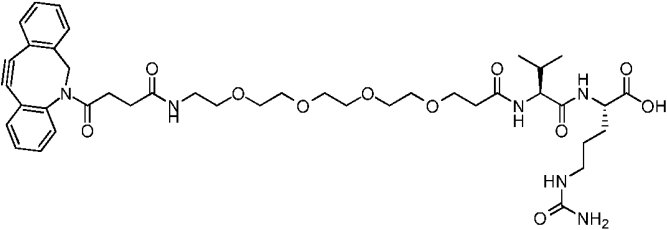
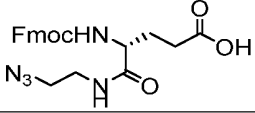
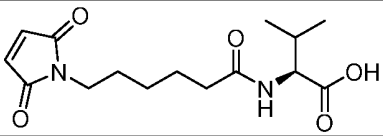
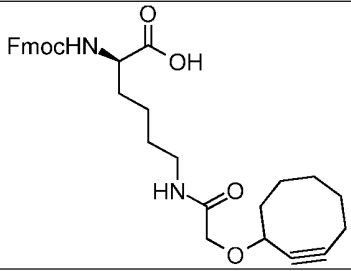
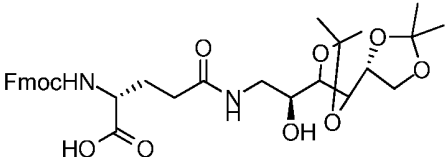
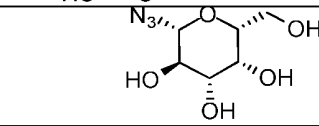
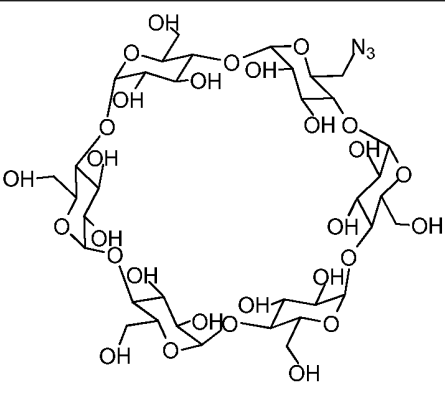
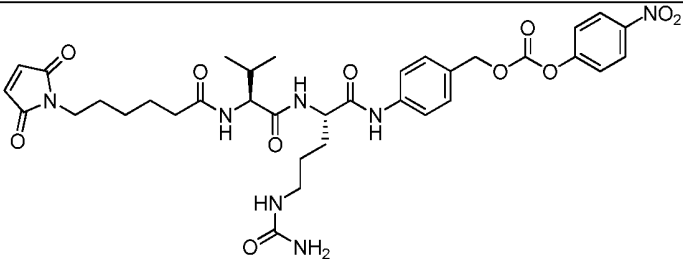
[00351] ESI м/з: 810 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7.51 (d, J = 10.1 Гц, 1H), 6.28 (d, J = 10.0 Гц, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.22-5.16 (m, 1H), 4.98-4.66 (m, 3H), 4.46 (s, 1H), 4.12 (dt, J = 45.0, 13.0 Гц, 4H), 3.39 (t, J = 11.9 Гц, 2H), 2.67 (dd, J = 13.3, 8.0 Гц, 1H), 2.40 (d, J = 11.2 Гц, 1H), 2.30-1.32 (m, 23H), 1.22-0.92 (m, 10H) ppm. Анал. HPLC: > 99.9%, время удерживания: 4.03 мин (способ В).

Экспериментальные процедуры для промежуточных соединений

Таблица 4. Ключевые промежуточные соединения и исходные материалы

Структуры	Промежуточное соединение	Ссылки или синтез
	1a (будесонид)	Имеется в продаже (51333-22-3)
	4a (vcPAB-будесонид)	См. схему 2

Структуры	Промежуточное соединение	Ссылки или синтез
	4c (vcPAB-1d)	См. схему 5
	5a (mc-NHS)	Имеется в продаже (55750-63-5)
	5b (MAL-PEG4-NHS)	Имеется в продаже (1325208-25-0)
	5c (DIBAC-сук-PEG4-кислота)	Имеется в продаже (1537170-85-6)
	5d (BCN-PEG4-кислота)	Имеется в продаже (1421932-54-8)
	5e	Схема 8
	5f (mc-Val-Cit-OH)	WO2014/191578 A1

Структуры	Промежуточно е соединение	Ссылки или синтез
	5g (DIBAC-suc- PEG4-Val-Cit- OH)	Схема 9
	5h	Схема 10
	5i	См. схему 6
	6a	Схема 11
	6b	<i>J. Org. Chem.</i> 2010 , 75, 3685- 3691
	8a	Имеется в продаже (35899-89-9)
	8b	<i>Synth. Commun.</i> , 2002 , 32(21), 3367-3372 <i>J. Am. Chem.</i> <i>Soc.</i> , 2012 , 134(46), 19108- 19117 <i>J. Med. Chem.</i> , 1997 , 40(17), 2755-2761 <i>J. Am. Chem.</i> <i>Soc.</i> , 1993 , 115(12), 5035- 5040
	11a (MC-VC- PAB-PNP)	Имеется в продаже (159857-81-5) WO2014/191578 A1

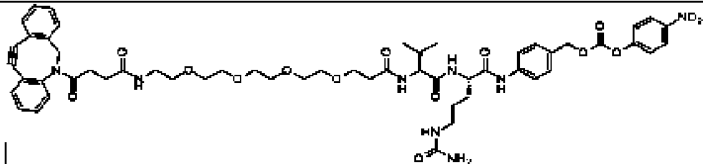
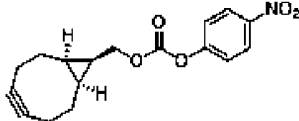
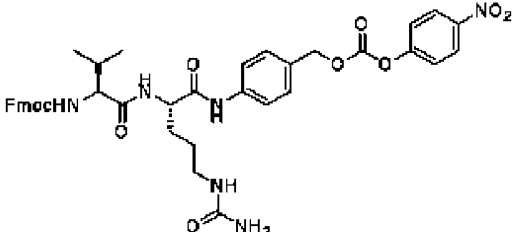
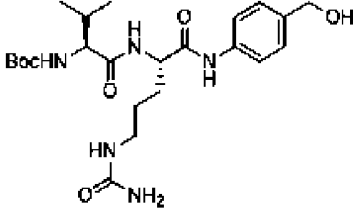
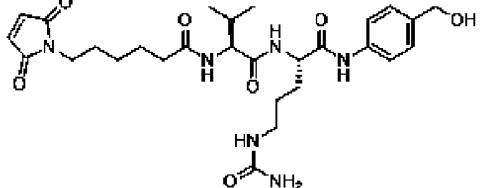
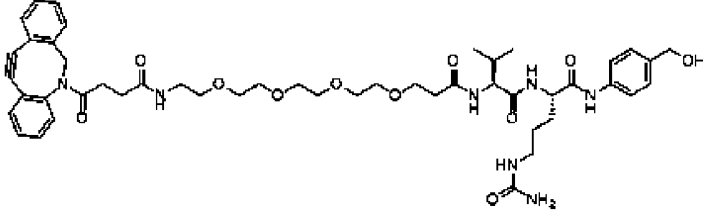
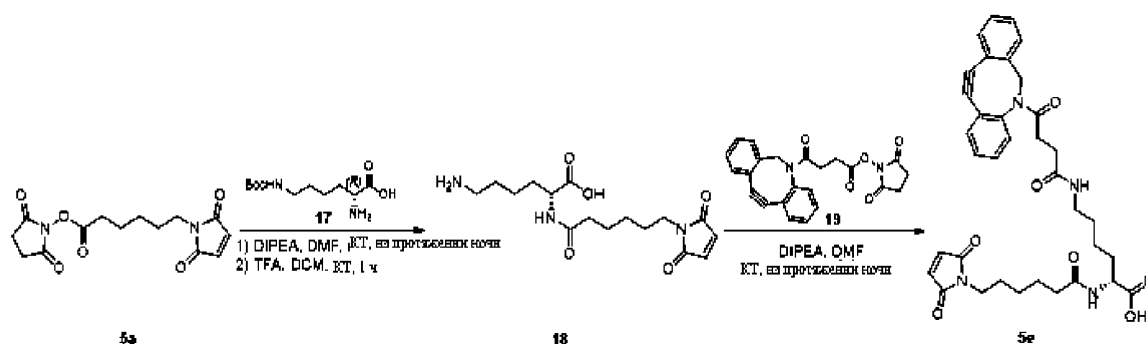
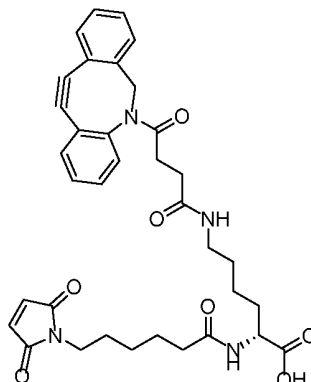
Структуры	Промежуточное соединение	Ссылки или синтез
	11b (DIBAC-suc-PEG4-vc-PAB-PNP)	Схема 12
	11c (BCN-PNP)	WO2013/181697 A1 <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> , 2010, 49 (49), 9422-9425
	11d (Fmoc-vc-PAB-PNP)	Имеется в продаже 863971-53-3
	12a (Boc-vc-PAB)	Имеется в продаже (870487-09-5) WO2008/34124 A2
	12b (MC-VC-PAB)	Имеется в продаже 159857-80-4
	12c (DIBAC-suc-PEG4-vc-PAB)	Схема 12

Схема 8. Синтез 5e

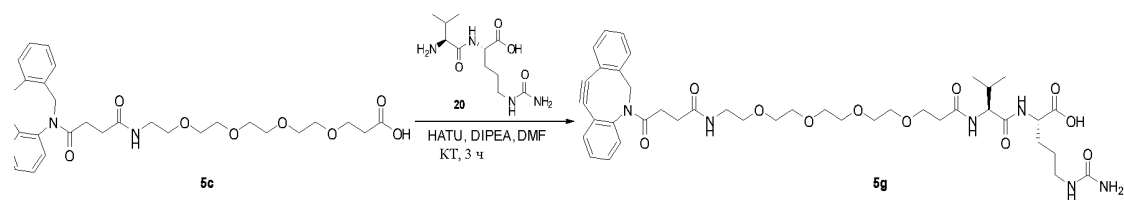


(2*R*)-6-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4,6,8,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-2-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1*H*-пиррол-1-ил)гексанамидо]гексановая кислота (**5e**)

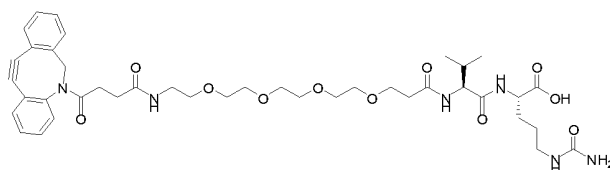


[00352] К смеси *H-D*-Lys(Boc)-OH (**17**, 0.25 g, 1.0 ммоль) в DMF (10 мл) добавили 6-малеимидокапроновую кислоту-NHS (**5a**, 0.31 g, 1.0 ммоль) и диизопропилэтиламин (DIPEA, 0.26 g, 2.0 ммоль) при КТ. После этого реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи, соединение **5a** было полностью разрушено. Смесь напрямую разделили при обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде (0.05% TFA)) и получили промежуточный продукт **Boc-18** (ESI *m/z*: 440 (*M* + *H*)⁺) в виде бесцветного масла, который растворили в DCM (5 мл). К раствору добавили TFA (0.5 мл) по каплям при 0 °C и смесь перемешивали при КТ на протяжении часа. Реакцию контролировали посредством LCMS, промежуточный продукт **Boc-18** был полностью разрушен. Летучие вещества удалили *in vacuo* и получили сырой продукт **18** (ESI *m/z*: 340 (*M*/2 + *H*)⁺), который использовали для следующего этапа без дальнейшей очистки. К смеси сырого соединения **18** (0.21 г, 0.62 ммоль) в DMF (5 мл) добавили активированный эфир **19** (0.20 г, 0.50 ммоль) и DIPEA (50 мг, 0.39 ммоль) при КТ. Затем реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи, соединение **19** было полностью разрушено, что контролировали посредством LCMS. Затем реакционную смесь напрямую разделили при обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде) и получили титульное соединение **5e** (0.10 г, 20% выход за 3 этапа из **5a**) в виде белого твердого вещества. ESI *m/z*: 627 (*M* + *H*)⁺. ¹H ЯМР (DMSO-*d*₆, 400 МГц): δ 7.89 (d, *J* = 13.2 Гц, 1H), 7.69-7.62 (m, 3H), 7.48-7.47 (m, 3H), 7.36-7.28 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 5.03 (d, *J* = 13.6 Гц, 1H), 4.09-4.04 (m, 1H), 3.60 (d, *J* = 13.6 Гц, 1H), 3.38-3.34 (m, 1H), 2.90-2.87 (m, 2H), 2.61-2.55 (m, 1H), 2.25-2.17 (m, 1H), 2.08-1.51 (m, 5H), 1.46-1.15 (m, 12H) ppm.

Схема 9. Синтез 5g

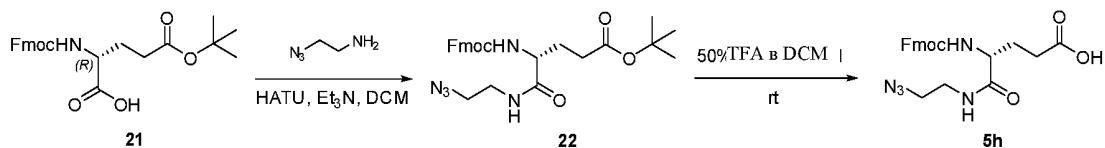


(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбуанамидо]-5-(карбамоиламино)пентановая кислота (5g)

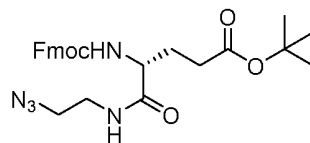


[00353] К раствору соединения **5c** (0.30 г, 0.54 ммоль) в DMF (10 мл) добавили HATU (0.31 г, 0.81 ммоль) и DIPEA (0.14 г, 1.1 ммоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ на протяжении 15 минут. К реакционной смеси добавили Val-Cit-ОН (**20** (CAS-номер 159858-33-0), 0.21 г, 0.76 ммоль) при КТ и полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении 3 часов до разрушения большей части материалов, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь отфильтровали через фильтрующую мембрану и фильтрат напрямую очистили при обращенной флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде (с 10 ммоль/л бикарбонат аммония)) и получили титульный промежуточный продукт **5g** (0.25 г, выход 57%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 809.5 (M + H)⁺.

Схема 10. Синтез промежуточных соединений 5h

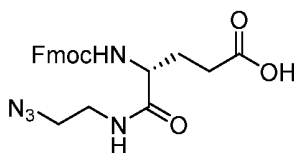


трет-бутил (4R)-4-[(2-азидоэтил)карбамоил]-4-{[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}бутаноат (22)



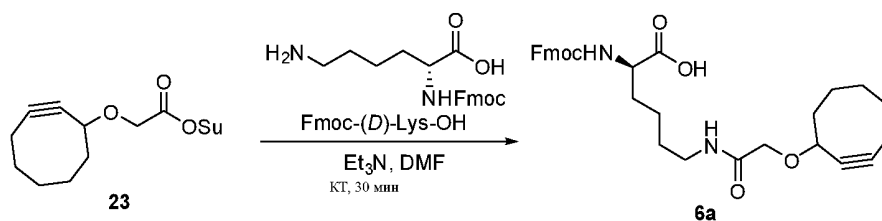
[00354] К смеси Fmoc-*D*-Glu(OTBU)-OH (**21**, (104091-08-9), 0.30 г, 0.71 ммоль) и 2-азидоэтанамина (87156-40-9, 73 мг, 0.85 ммоль) в DCM (50 мл) добавили HATU (0.41 г, 1.1 ммоль) и триэтиламин (0.3 мл) при КТ. Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Большая часть соединения **21** была разрушена согласно TLC и LCMS. Затем реакционную смесь охладил водой (50 мл) при КТ, органический раствор промыли водой и рассолом, высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили при *prep*-TLC (силикагель, элюирование петролевым эфиром / этил ацетатом (об/об = 1)) и получили титульное соединение **22** (0.30 г, выход 76%) в виде желтого вязкого масла. ESI *m/z*: 494 (*M* + *H*)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆): δ 8.09 (m, 1H), 7.84-7.90 (m, 4H), 7.33-7.44 (m, 4H), 6.28 (s, 2H), 3.35 (m, 6H), 3.26 (m, 1H), 2.50 (m, 2H), 2.25 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.39 (s, 9H) ppm.

(4R)-4-[(2-азидоэтил)карбамоил]-4-{[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}бутановая кислота (5h)

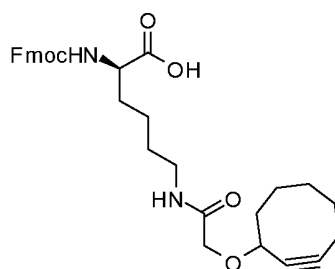


[00355] Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении 2 часов до полного разрушения соединения **22**, что контролировали посредством TLC и LCMS. Летучие вещества удалили *in vacuo* и получили сырой продукт **5h** (17 мг, выход 96%) в виде желтого масла, который использовали для следующего этапа без дальнейшей очистки. ESI *m/z*: 438 (*M* + *H*)⁺.

Схема 11. Синтез промежуточных продуктов 6a

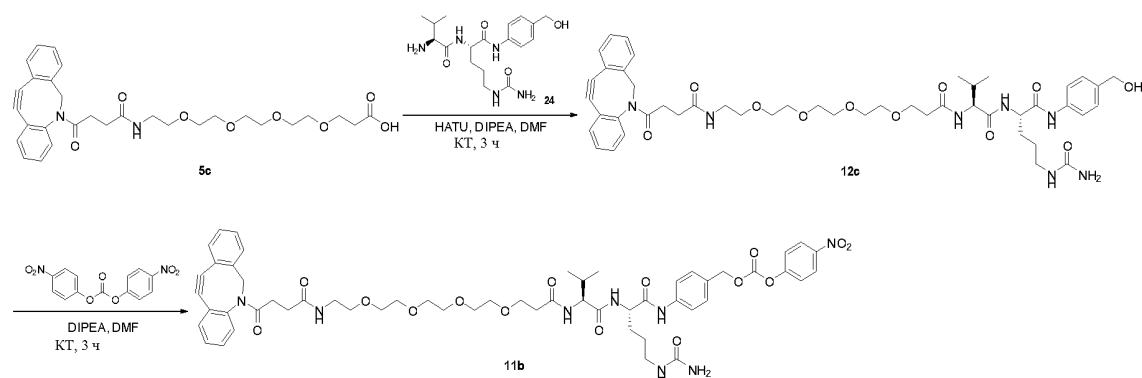


(2R)-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетида]-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}гексановая кислота (6a)

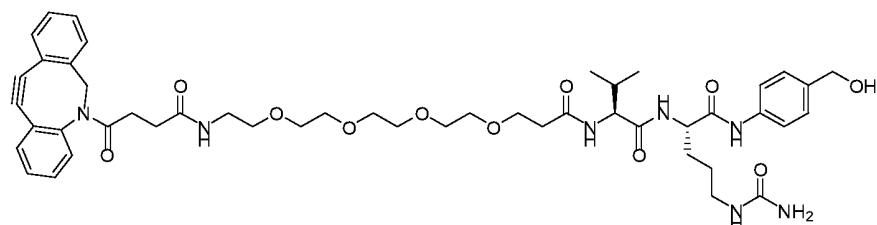


[00356] К смеси коммерческого соединения **23** (65 мг, 0.23 ммоль, CAS: 1425803-45-7) в DMF (2 мл) добавили Fmoc-*D*-Lys-OH (85 мг, 0.23 ммоль) и триэтиламин (52 мг, 0.51 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 30 минут. Смесь напрямую разделили при обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде (0.05% TFA)) и получили промежуточный продукт **6a** (85 мг, выход 70%) в виде белого твердого вещества. ESI m/z : 533 ($M + H$)⁺. ¹H ЯМР (MeOD-*d*₄, 500 МГц): δ 7.70 (d, J = 7.5 Гц, 2H), 7.59 (t, J = 8.0 Гц, 2H), 7.30 (t, J = 7.5 Гц, 2H), 7.22 (t, J = 7.4 Гц, 2H), 4.35-4.22 (m, 2H), 4.22-4.09 (m, 2H), 4.09-3.99 (m, 1H), 3.94-3.81 (m, 1H), 3.79-3.67 (m, 1H), 3.15 (t, J = 6.9 Гц, 2H), 2.17-1.96 (m, 3H), 1.96-1.86 (m, 1H), 1.85-1.66 (m, 4H), 1.66-1.41 (m, 5H), 1.41-1.25 (m, 3H) ppm.

Схема 12. Синтез промежуточных продуктов 11b и 12c

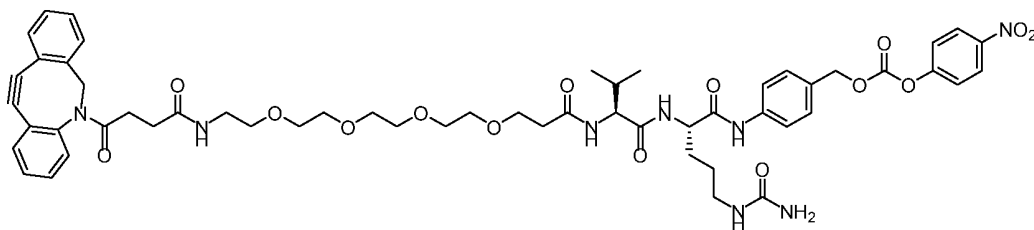


1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-{[4-(гидроксиметил)фенил]карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (12c)



[00357] Смесь перемешивали при КТ на протяжении 15 минут. К реакционному раствору добавили *vc*-РАВ (**24** (159857-79-1), 0.21 г, 0.54 ммоль) при КТ и полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении 3 часов до разрушения большей части материалов, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь отфильтровали через фильтрующую мембрану и фильтрат напрямую очистили при обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде (с 10 ммоль/л бикарбонат аммония)) и получили титульный промежуточный продукт **12c** (0.30 г, выход 60%) в виде белого твердого вещества. ESI *m/z*: 617 (*M* + *H*)⁺.

{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадеканн-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил 4-нитрофенил карбонат (11b)



[00358] К раствору соединения **12c** (0.15 г, 0.16 ммоль) в DMF (10 мл) добавили бис(4-нитрофенил) карбонат (0.15 г, 0.49 ммоль) и DIPEA (63 мг, 0.49 ммоль) при 0 °С. Затем смесь перемешивали при КТ на протяжении 3 часов до тех пор, пока соединение **12c** не было разрушено практически полностью, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь отфильтровали через фильтрующую мембрану и фильтрат напрямую очистили при обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в воде (с 10 ммоль/л бикарбонат аммония)) и получили титульный промежуточный продукт **11b** (50 мг, выход 28%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 1079 (M+H)⁺.

[00359] В нижеприведенной Таблице 5 представлены линкер-нагрузки, приготовленные с использованием описанных здесь способов.

Таблица 5. Примеры линкер-нагрузок

LP (ЛН)	Нагрузка	Название линкера	Структуры
2a	1a	MC-VC-PAB	

LP (ЛН)	Нагрузка	Название линкера	Структуры
2b	1a	DIBAC-suc-vc-PAB	
2c	1a	mc-PEG4-(сахар-COT)dLys-vc-PAB	
2d	1a	mc-PEG4-(сахар2)dGlu-vc-PAB	
2e	1a	MC-VC-PABA	

LP (ЛН)	Нагрузка	Название линкера	Структуры
2f	1c	MC-VC-PAB	
2g	1c	DIBAC-suc-vc-PAB	
2j	1c	MC-VC-PAB	
2k	1d	MC-VC-PAB	
2l	1d	BCN-PEG4-vc-PAB	

LP (ЛН)	Нагрузка	Название линкера	Структуры
2m	1d	mc-N5(CD-DIBAC-suc)Lys-vc-PAB	
2n	1d	азидоэтил-Glu-vc-PAB	
2q	1g	MC-VC	
2r	1k	BCN	
2s	1l	BCN	

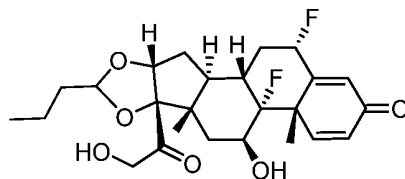
Таблица 6. Характеризационные данные для линкер-нагрузок

LP (ЛН)	cLogP	MF	MB	Чистота HPLC (%)	HPLC КТ (мин)	МС (м/з) 100%	Высо- чайший пик м/з
2a	4.18	C ₅₄ H ₇₂ N ₆ O ₁₄	1029.2	92	7.6 (A)	1029 (M+H)	1029 (M+H)
2b	5.42	C ₇₄ H ₉₅ N ₇ O ₁₈	1370.6	97	8.1 (B)	685.8 (M/2+H)	685.8 (M/2+H)
2c	1.03	C ₈₁ H ₁₁₇ N ₁₁ O ₂₆	1660.9	97	7.0 (A)	830.8 (M/2+H)	830.8 (M/2+H)
2d	-1.87	C ₇₀ H ₁₀₂ N ₈ O ₂₅	1455.6	100	6.48 (A)	728 (M/2+H)	1456 (M+H) (10%)
2e	3.45	C ₅₄ H ₇₃ N ₇ O ₁₃	1028.2	100	7.54 (A)	1028.3 (M+H)	1028.3 (M+H)
2f	3.54	C ₅₇ H ₇₆ N ₆ O ₁₅	1085.2	98	1.71 (LCMS)	1085.3 (M+H)	1085.3 (M+H)
2g	4.77	C ₇₇ H ₉₉ N ₇ O ₁₉	1426.7	> 99	7.86 (B)	714.0 (M/2+H)	1427 (M+H) (15%)
2j	2.16	C ₅₇ H ₇₇ N ₉ O ₁₆	1144.3	98	1.57 (LCMS)	1144.3 (M+H)	1144.3 (M+H)
2k	3.54	C ₅₉ H ₈₂ N ₈ O ₁₅	1143.3	98	1.70 (LCMS)	1143.4 (M+H)	1143.4 (M+H)
2l	4.66	C ₇₁ H ₁₀₄ N ₈ O ₁₉	1373.6	100	9.40 (A)	687.5 (M/2+H)	1396.8 (M+Na) (50%)
2m	-4.89	C ₁₂₀ H ₁₆₆ N ₁₄ O ₄₇	2556.7	100	6.49 (A)	1278.8 (M/2+H)	1278.8 (M/2+H)
2n	1.68	C ₅₆ H ₈₂ N ₁₂ O ₁₄	1147.3	100	7.72 (B)	1147.5 (M+H)	1147.5 (M+H)
2q	3.52	C ₅₂ H ₇₅ N ₅ O ₁₄	994.2	79	10.36 (B)	995.3 (M+H)	995.3 (M+H)
2r	4.88	C ₃₈ H ₅₂ NO ₁₁ P	729.8	100	5.26 (B)	686.2 (слаб. мас.)	1459.1 (2M+H)
2s	0.55	C ₃₈ H ₅₃ NO ₁₄ P ₂	809.8	100	4.03 (B)	766.1 (M- 44)	810.1 (M+H) (70%)

Схема 101. Синтез нагрузки 100, ее спейсер-нагрузки 101a-d и линкер-нагрузок LP1-4

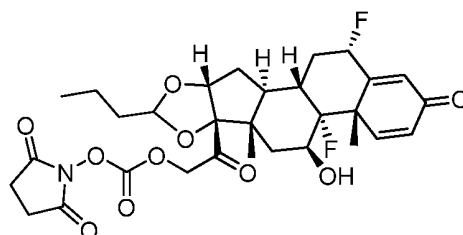


(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметиламин-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (100)



[00360] К смеси флуоцинолон ацетонида (10 г, 22 ммоль) и силика геля (100 г) в гептанах (900 мл) добавили бутиральдегид (3.0 мл, 33 ммоль) ниже 10 °С и суспензию перемешивали при 10-20 °С на протяжении 30 минут. К смеси добавили перхлорную кислоту (70%, 7.6 мл, 91 ммоль) по каплям при 0 °С. Затем реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Большая часть флуоцинолон ацетонида была разрушена согласно TLC и LCMS. Реакционную смесь разбавили петролейным эфиром и охладили *нас. вод.* карбонатом натрия. Суспензию отфильтровали и твердое вещество промыли DCM/метанолом (об/об = 1:1). Комбинированный фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством флэш-хроматографии (0-1.5% метанол в DCM) и получили соединение **100** (8.0 г, выход: 78%) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 467.1 (M + H)⁺.

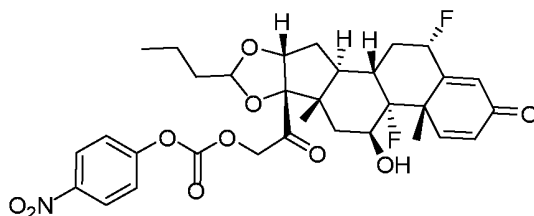
1-[(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси)карбонил)окси]пирролидин-2,5-дион (101-1a)



[00361] К раствору соединения **100** (0.47 г, 1.0 ммоль) в DCM (20 мл) добавили бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) карбонат (0.28 г, 1.1 ммоль), триэтиламин (0.40 г, 4.0 ммоль) и DMAP (3.0 мг, кат.). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 4 часов до разрушения соединения **100**, что контролировали посредством LCMS. Затем реакционную смесь разбавили DCM и промыли водой. Органический раствор высушили над сульфатом натрия. После фильтрации раствор сконцентрировали *in vacuo* и остаток

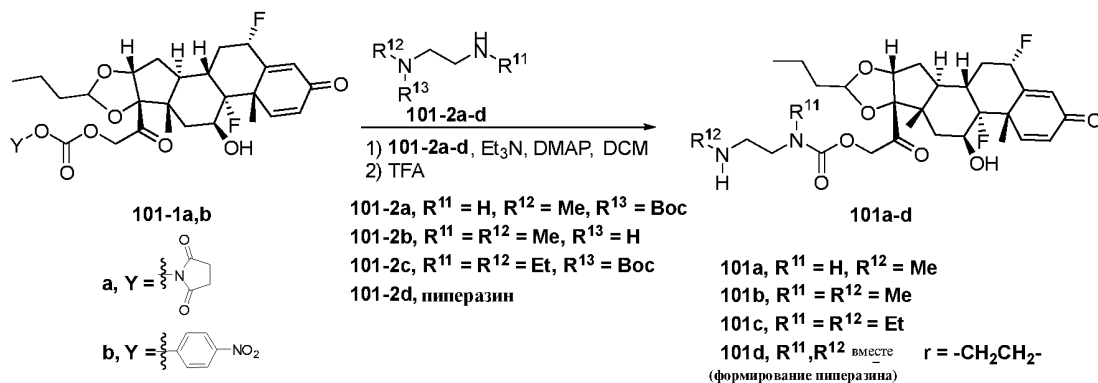
(сырой продукт **101-1a**) использовали для следующего этапа напрямую без очистки. ESI м/з: 608.2 (M + H)⁺.

(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-8-{2-[(4-нитрофеноксикарбонил)окси]ацетил}-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (101-1b)



[00362] Смесь соединения **100** (0.80 г, 1.7 ммоль), бис(4-нитрофенил) карбоната (1.6 г, 5.2 ммоль) и DIPEA (1.1 г, 8.6 ммоль) в THF (20 мл) перемешивали при КТ на протяжении 4 часов, что контролировали посредством LCMS. Смесь сконцентрировали *in vacuo*. Сырой продукт очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (50% этил ацетат в петролейном эфире) и получили соединение **101-1b** (0.75 г, 69 % выход) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 632 (M + H)⁺.

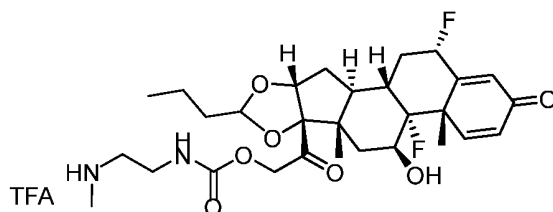
Общая процедура для соединения 101



[00363] К раствору соединения **101-1a** или **101-1b** (сырой продукт, по расчетам представляет собой 1.0 ммоль) в DCM (20 мл) добавили диамин **101-2(a, b, c или d)** (1.1 ммоль) и DMAP (0.1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 4 часов и добавили TFA (1 мл). Смесь перемешивали при КТ на протяжении получаса (для R¹³ = Boc, реакционную смесь перемешивали до полного удаления Boc, что контролировали посредством LCMS). Полученную смесь сконцентрировали *in vacuo* и

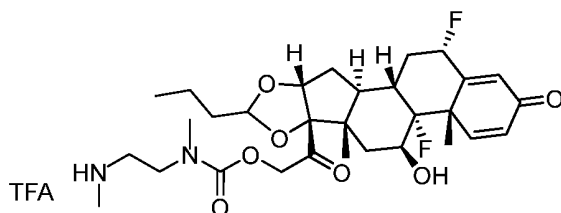
остаток очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (50-80% ацетонитрила в *вод.* TFA (0.5%)) и получили соединение **101(a, b, c или d)** в виде бесцветного масла.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-[2-(метиламино)этил]карбамат (101a**)**



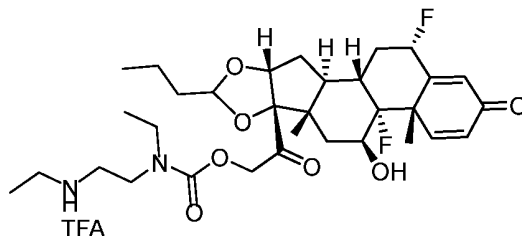
[00364] В соответствии с общей процедурой и при использовании соединения **101-1a** с Вос-диамином **101-2a** получили соединение **101a** (0.38 г, 57% за 2 этапа, соль TFA) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 567 (M + H)⁺.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-метил-*N*-[2-(метиламино)этил]карбамат (101b**)**



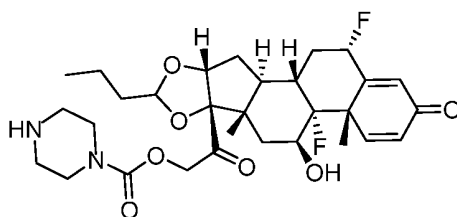
[00365] В соответствии с общей процедурой и при использовании соединения **101-1a** с диамином **101-2b** получили соединение **101b** (0.45 г, 66% выход за 2 этапа, соль TFA) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 581 (M + H)⁺.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-этил-*N*-[2-(этиламино)этил]карбамат (101c**)**



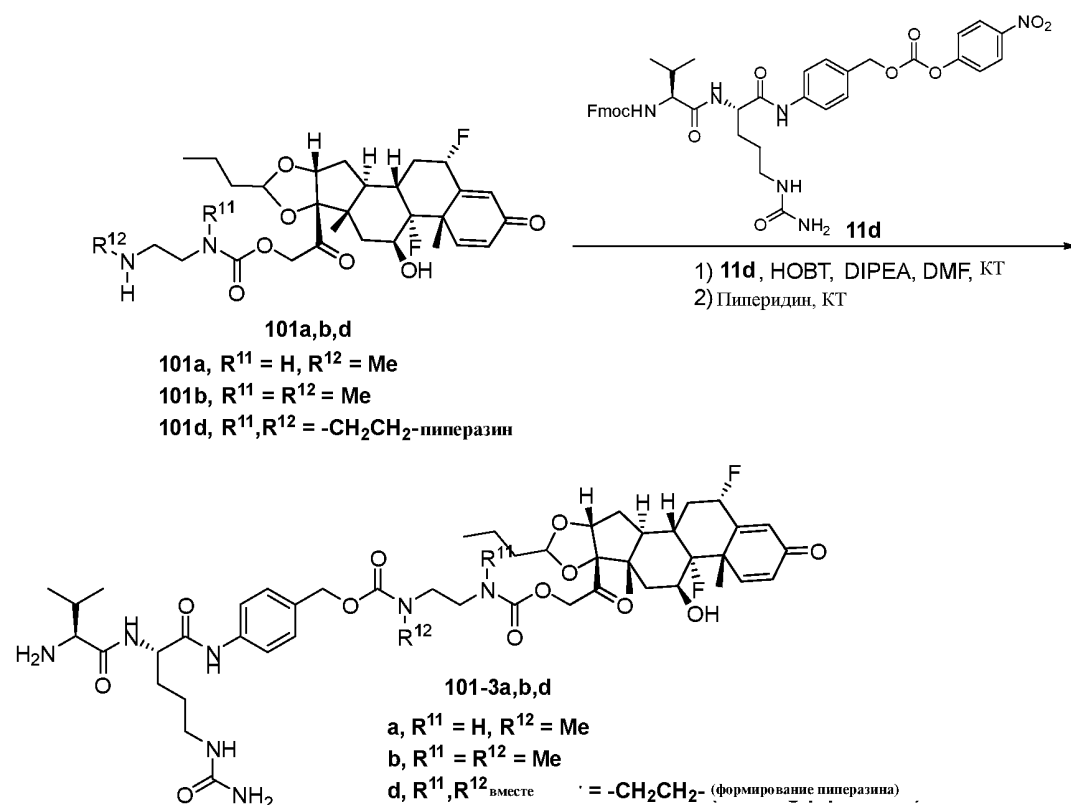
[00366] В соответствии с общей процедурой и при использовании соединения **101-1b** с диамином **101-2c** получили соединение **101c** (24 мг, 18% выход за 2 этапа, соль TFA) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 609 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8.38 (s, 2H), 7.30 (d, J = 10.5 Гц, 1H), 6.24 (dd, J = 10.5 Гц, 2.0 Гц, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.70-5.54 (m, 2H), 5.10-4.91 (m, 1H), 4.85-4.65 (m, 3H), 4.25-4.16 (m, 1H), 3.60-3.40 (m, 2H), 3.33-3.20 (m, 4H), 3.20-2.90 (m, 4H), 2.67-2.53 (m, 1H), 2.30-2.20 (m, 1H), 2.10-2.00 (m, 2H), 1.80-1.70 (m, 1H), 1.64-1.51 (m, 4H), 1.49 (s, 3H), 1.40-1.30 (m, 2H), 1.20-1.10 (m, 4H), 1.10-1.00 (m, 1H), 0.90-0.80 (m, 6H) ppm.

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил пиперазин-1-карбоксилат (101d)



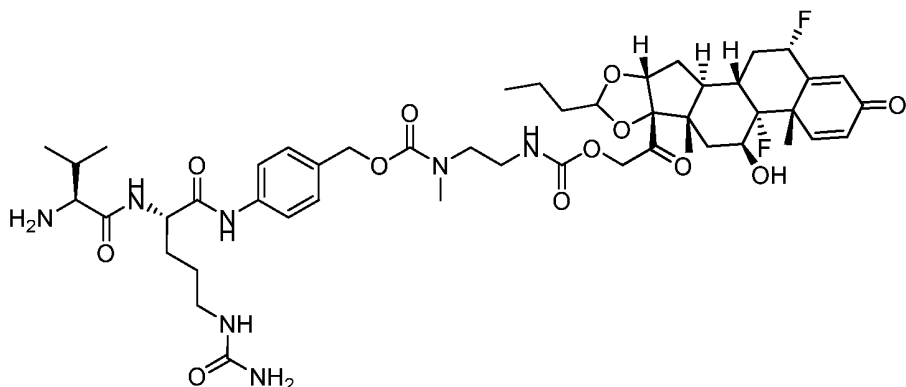
[00367] В соответствии с общей процедурой и при использовании соединения **101-1b** с пиперазином (**101-2d**) без воздействия TFA и при очистке посредством колоночной хроматографии с силика гелем (0-10% метанол в DCM) получили соединение **101d** (0.21 г, 49% выход за 2 этапа, свободное основание) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 579 (M + H)⁺.

Общая процедура для соединения 101-3



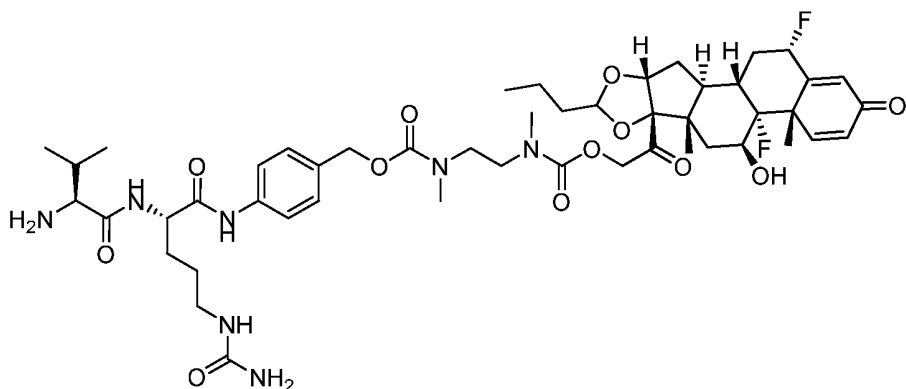
[00368] К раствору соединения **101a, b или d** (0.20 ммоль) в DMF (3 мл) добавили Fmoc-VC-PAВ-PNP **11d** (0.17 г, 0.22 ммоль), HOBT (41 мг, 0.30 ммоль) и DIPEA (77 мг, 0.60 ммоль). Смесь перемешивали при КТ на протяжении 3 часов, что контролировали посредством LCMS. Затем к смеси добавили пиперидин (0.3 мл). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении часа до полного удаления Fmoc согласно LCMS. Полученную смесь напрямую очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (50-80% ацетонитрил в вод. NH_4HCO_3 (10 мМ)) и получили соединение **101-3a, b или d** в виде белого твердого вещества.

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил N-(2-[(4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил(метил)амино}этил)карбамат (101-3a)



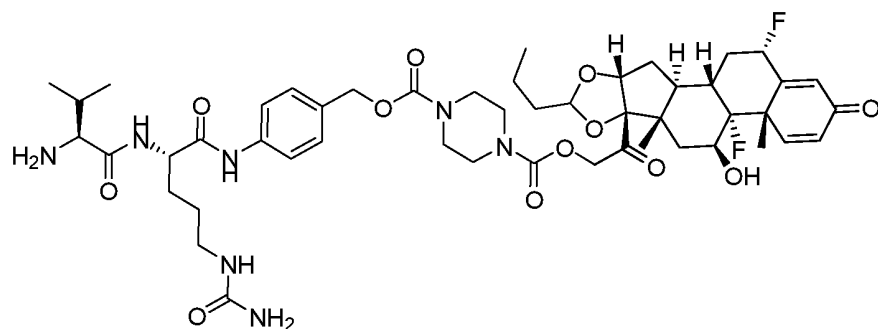
[00369] С соблюдением общей процедуры и при использовании соединения **101a** получили соединение **101-3a** (0.11 г, 57% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 972 (M + H)⁺.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-метил-*N*-[2-(метиламино)этил]карбамат (101-3b)



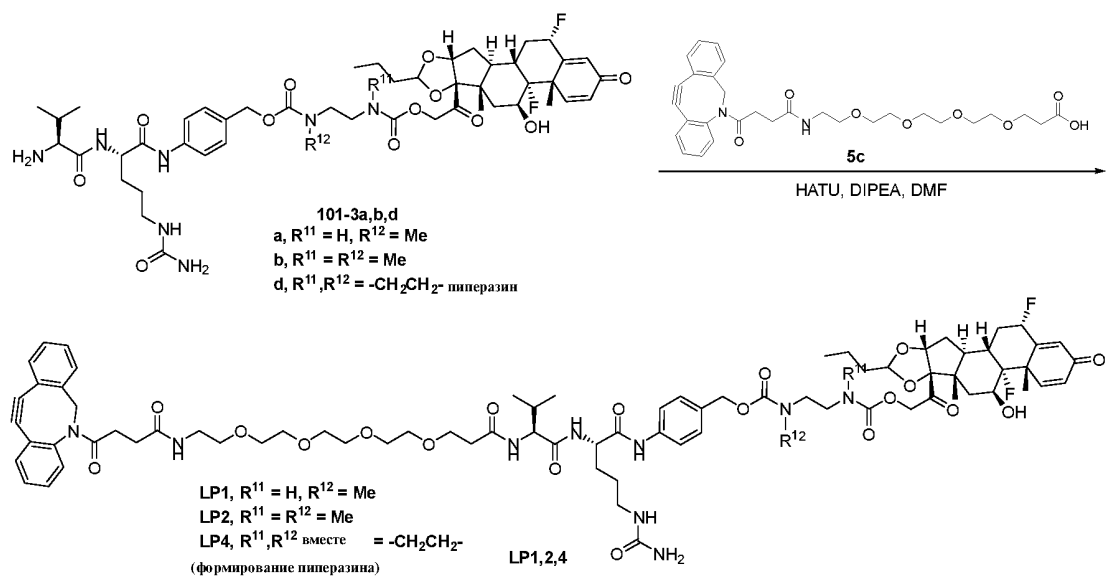
[00370] С соблюдением общей процедуры и при использовании соединения **101b** получили соединение **101-3b** (0.13 г, 65% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 986 (M + H)⁺.

1-{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил 4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил} пиперазин-1,4-дикарбоксилат (101-3d)



[00371] С соблюдением общей процедуры и при использовании соединения **101d** (58 мг, 0.10 ммоль) получили соединение **101-3d** (52 мг, 53% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 984 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.0 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 7.5 Гц, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.5 Гц, 2H), 7.31 (d, *J* = 8.5 Гц, 2H), 7.26 (d, *J* = 8.5 Гц, 1H), 6.30 (dd, *J* = 1.5 Гц, 10.5 Гц, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.02-5.88 (m, 1H), 5.70-5.50 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.20-4.92 (m, 3H), 4.80-4.62 (m, 3H), 4.50-4.45 (m, 1H), 4.25-4.15 (m, 1H), 3.50-3.35 (m, 8H), 3.05-2.90 (m, 3H), 2.70-2.54 (m, 2H), 2.32-2.20 (m, 1H), 2.10-1.50 (m, 10H), 1.46 (s, 3H), 1.45-1.30 (m, 5H), 0.95 (d, *J* = 7.5 Гц, 1H), 0.90-0.80 (m, 9H), 0.77 (d, *J* = 7.0 Гц, 3H) ppm.

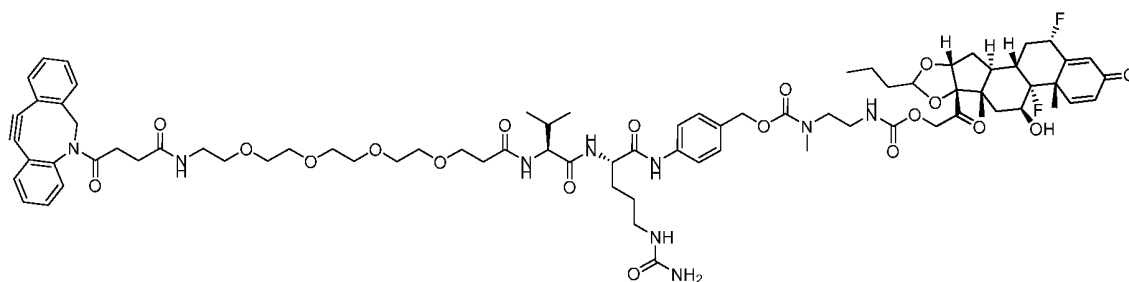
Общая процедура для соединений LP1, LP2 и LP4



[00372] К раствору соединения **5c** (34 мг, 60 мкмоль) в DMF (1 мл) добавили HATU (27 мг, 71 мкмоль) и DIPEA (20 мг, 0.15 ммоль). Смесь перемешивали при КТ на протяжении 5 минут и к смеси добавили соединение **101-3a, b или d** (50 мкмоль). Смесь перемешивали при КТ на протяжении 2 часов, что контролировали посредством LCMS.

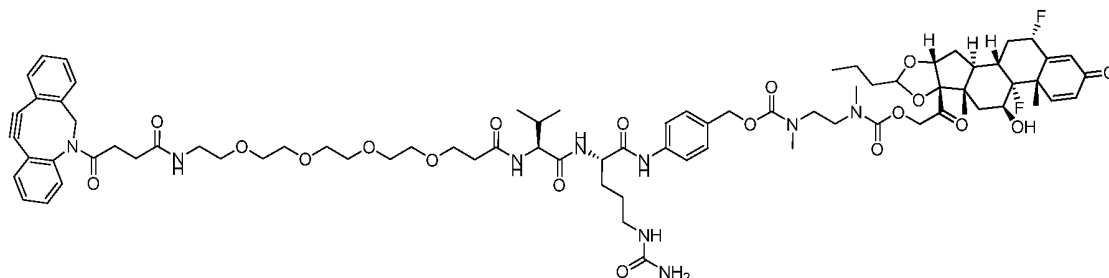
Полученную смесь напрямую очистили при ргер-HPLC (способ В) и получили соединение **LP1**, **2** или **4в** в виде белого твердого вещества.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-(2-[(4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0⁴,⁹]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил](метил)амино}этил)карбамат (LP1**)**



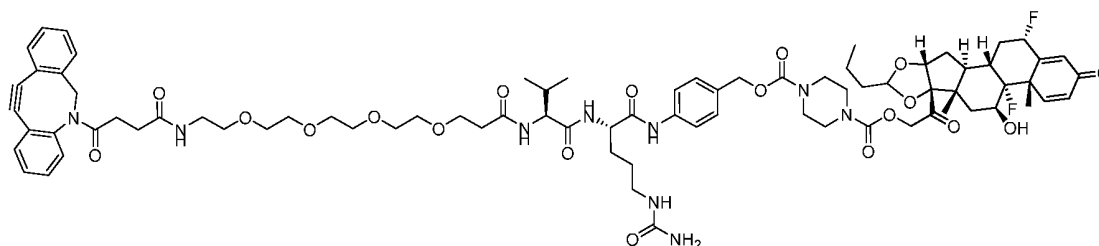
[00373] С соблюдением общей процедуры и при использовании соединения **101-3a** получили линкер-нагрузку **LP1** (20 мг, 26% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 754 (M/2 + H)⁺.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-(2-[(4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0⁴,⁹]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил](метил)амино}этил)-*N*-метилкарбамат (LP2**)**



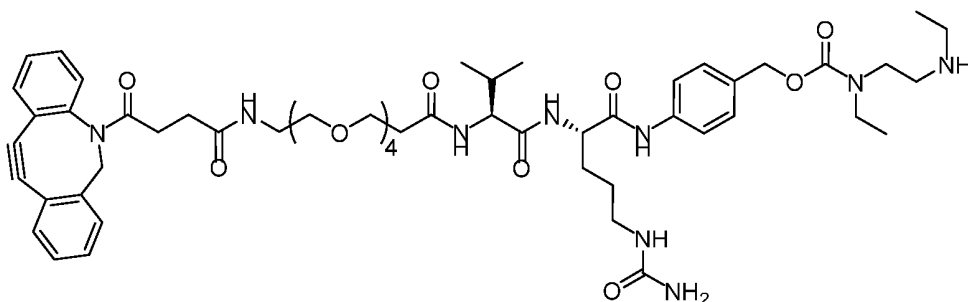
[00374] С соблюдением общей процедуры и при использовании соединения **101-3b** получили линкер-нагрузку **LP2** (20 мг, 26% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 761 (M/2 + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9.98 (s, 1H), 8.12 (d, *J* = 7.4 Гц, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.6 Гц, 1H), 7.76 (t, *J* = 5.4 Гц, 1H), 7.69-7.66 (m, 1H), 7.64-7.57 (m, 3H), 7.51-7.44 (m, 3H), 7.40-7.33 (m, 2H), 7.32-7.25 (m, 4H), 6.33-6.27 (m, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.98 (t, *J* = 5.5 Гц, 1H), 5.70-5.55 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.08-4.91 (m, 4H), 4.79-4.66 (m, 2H), 4.41-4.35 (m, 1H), 4.25-4.17 (m, 2H), 3.64-3.56 (m, 3H), 3.49-3.41 (m, 15H), 3.30-3.27 (m, 2H), 3.13-3.00 (m, 3H), 2.98-2.75 (m, 8H), 2.65-2.54 (m, 2H), 2.48-2.43 (m, 1H), 2.41-2.34 (m, 1H), 2.28-2.19 (m, 2H), 2.07-1.94 (m, 4H), 1.81-1.67 (m, 3H), 1.63-1.53 (m, 5H), 1.48 (s, 3H), 1.45-1.31 (m, 5H), 0.88-0.82 (m, 13H) ppm.

1-{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил 4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил} пиперазин-1,4-дикарбоксилат (LP4)



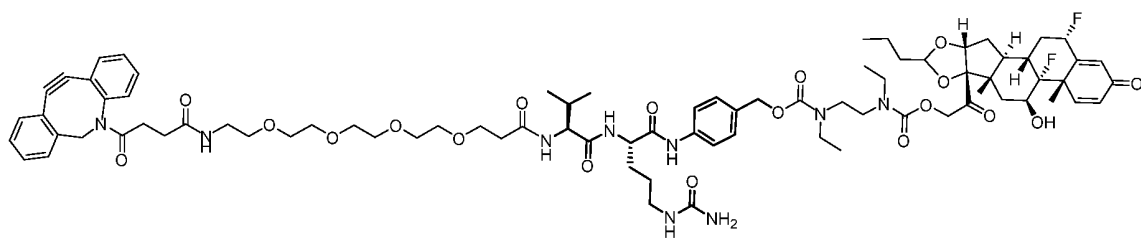
[00375] С соблюдением общей процедуры и при использовании соединения **101-3d** получили линкер-нагрузку **LP4** (35 мг, 44% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 760 (M/2 + H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.0 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 7.5 Гц, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.5 Гц, 1H), 7.77 (t, *J* = 5.0 Гц, 1H), 7.70-7.66 (m, 1H), 7.63-7.55 (m, 3H), 7.52-7.43 (m, 3H), 7.40-7.27 (m, 6H), 6.30 (d, *J* = 10.5 Гц, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.02-5.88 (m, 1H), 5.70-5.50 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.20-4.92 (m, 4H), 4.80-4.62 (m, 3H), 4.40-4.35 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 2H), 3.64-3.55 (m, 3H), 3.50-3.35 (m, 17H), 3.30-3.25 (m, 3H), 3.15-2.90 (m, 4H), 2.64-2.54 (m, 2H), 2.50-2.45 (m, 1H), 2.41-2.34 (m, 1H), 2.32-2.20 (m, 2H), 2.10-1.92 (m, 4H), 1.80-1.68 (m, 3H), 1.62-1.50 (m, 5H), 1.46 (s, 3H), 1.45-1.40 (m, 2H), 1.40-1.30 (m, 3H), 1.22-1.20 (m, 1H), 0.90-0.80 (m, 13H) ppm.

{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-этил-*N*-[2-(этиламино)этил]карбамат (101-4)



[00376] К раствору DIBAC-suc-PEG₄-vcPAB-PNP **11b** (0.11 г, 0.10 ммоль) в DMF (5 мл) добавили *N,N*-диэтилэтилендиам (58 мг, 0.50 ммоль) и DMAP (1 мг, 0.01 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 4 часов, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь напрямую очистили при ргр-НPLC (способ В) и получили соединение **101-4** в виде бесцветного масла. ESI м/з: 1056.6 (*M* + *H*)⁺, 529 (*M*/2 + *H*)⁺.

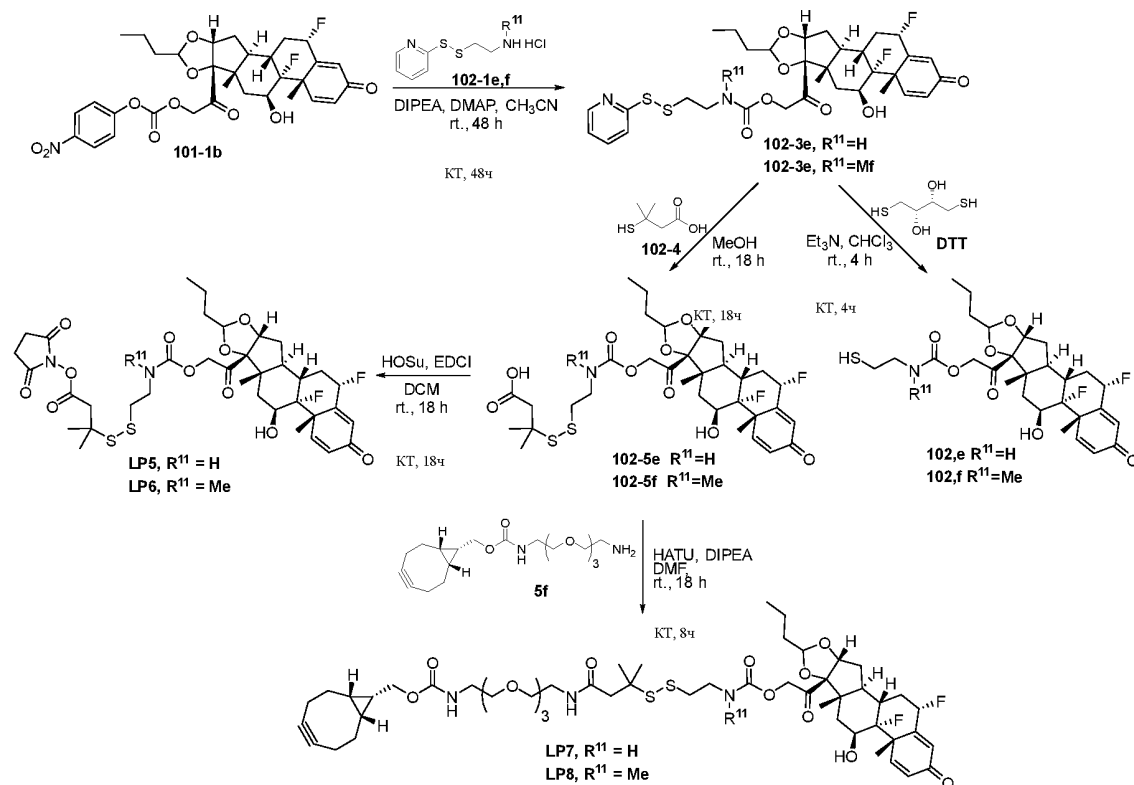
2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-(2-{[(4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил](этил)амино}этил)-*N*-этилкарбамат (LP3)



[00377] Смесь соединения **101-4** (16 мг, 15 мкмоль), **101-1b** (11 мг, 17 мкмоль) и DIPEA (4.0 мг, 31 мкмоль) в DMF (5 мл) перемешивали при КТ на протяжении 4 часов, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь очистили напрямую при ргр-НPLC (способ В) и получили линкер-нагрузку **LP3** (3 мг, 13% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 775 (*M*/2 + *H*)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.0 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 7.5 Гц, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.5 Гц, 1H), 7.77 (t, *J* = 5.0 Гц, 1H), 7.70-7.66 (m, 1H), 7.63-7.55 (m, 3H), 7.52-7.43 (m, 3H), 7.40-7.27 (m, 7H), 6.30 (d, *J* = 10.5 Гц, 1H), 6.11 (s, 1H),

6.02-5.88 (m, 1H), 5.70-5.50 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.20-4.92 (m, 4H), 4.80-4.62 (m, 3H), 4.40-4.35 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 2H), 3.64-3.55 (m, 4H), 3.50-3.35 (m, 18H), 3.12-2.90 (m, 7H), 2.64-2.54 (m, 3H), 2.41-2.34 (m, 2H), 2.32-2.20 (m, 3H), 2.10-1.92 (m, 5H), 1.88-1.68 (m, 3H), 1.62-1.50 (m, 6H), 1.50-1.40 (m, 6H), 1.40-1.30 (m, 4H), 1.22-1.20 (m, 1H), 1.02-0.90 (m, 4H), 0.90-0.78 (m, 6H) ppm.

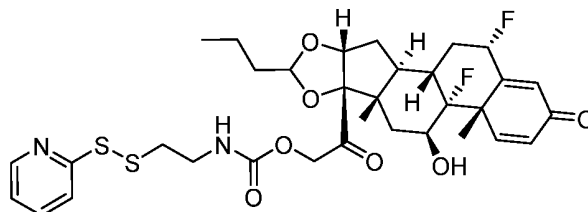
Синтез пролекарств цистеина: линкер-нагрузки LP5, 6, 7 и LP8



[00378] 2-(пиридин-2-илдисульфанил)этанамин гидрохлорид (102-1e) имелся в продаже с CAS 83578-21-6. *трет*-бутил (2-меркаптоэтил)(метил)карбамат (102-1f) синтезировали в соответствии с *Eur. J. Med. Chem.*, **2015**, 95, 483-491.

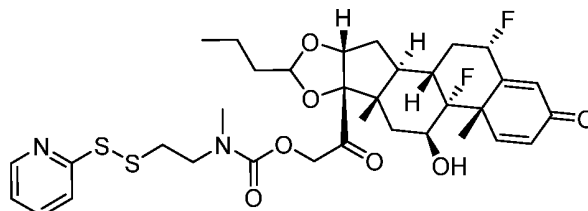
[00379] *эндо*-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметил *N*-(2-{2-[2-(2-аминоэтокси)этокси]этокси}этил)карбамат (5f) синтезировали в соответствии с WO2016168769.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацiclo[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-[2-(пиридин-2-илдисульфанил)этил]карбамат (102-3e)



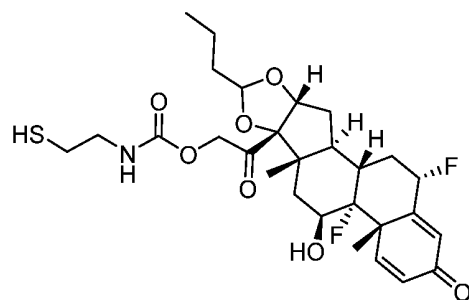
[00380] К раствору соединения **101-1b** (0.54 г, 0.86 ммоль) в ацетонитриле (10 мл) добавили DIPEA (0.22 г, 1.7 ммоль), **102-1e** (0.19 г, 0.86 ммоль) и DMAP (10 мг, 86 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 48 часов до полного разрушения **101-1b** согласно LCMS. Затем смесь отфильтровали и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаточное масло очистили при колоночной хроматографии с силика гелем (20-50% этил ацетат в гексане) и получили соединение **102-3e** (0.47 г, 80% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 679.2 (M + H)⁺.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацiclo[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-метил-*N*-[2-(пиридин-2-илдисульфанил)этил]карбамат (102-3f)



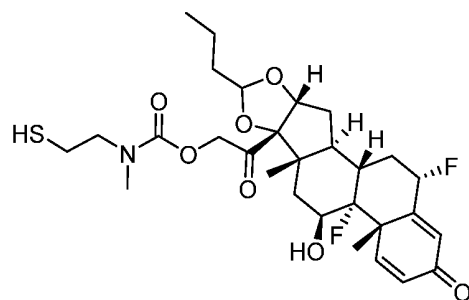
[00381] С соблюдением процедуры для **102-3e**, за исключением замены **102-1f** вместо **102-1e**, получили соединение **102-3f** (0.45 г, 75% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 693.2 (M + H)⁺.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-(2-сульфанилэтил)карбамат (102e)



[00382] К раствору соединения **102-3e** (1.4 г, 2.1 ммоль) в хлороформе (30 мл) добавили триэтиламин (0.82 мл, 5.9 ммоль) и 1,4-дитиотреитол (реактив Келланда, **ДТТ**) (1.2 г, 7.8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в атмосфере азота на протяжении 4 часов, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили при колоночной хроматографии с силика гелем (50-70% этил ацетат в гексане) и получили соединение **102e** (0.95 г, 83% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 570.2 (M + H)⁺.

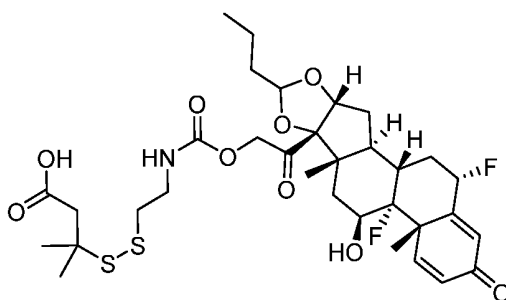
2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил *N*-метил-*N*-(2-сульфанилэтил)карбамат (102f)



[00383] С соблюдением процедуры для **102e**, за исключением замены **102-3f** вместо **102-3e**, получили соединение **102f** (0.97 г, 83% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 584.3 (M + H)⁺.

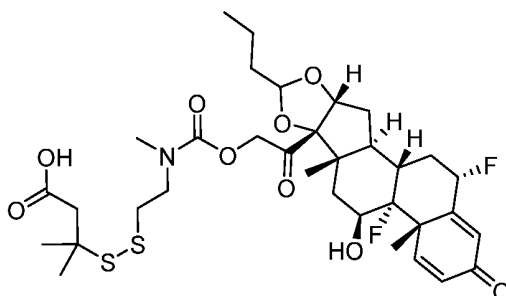
3-((2-[(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-

14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)амино]этил}дисульфанил)-3-метилбутановая кислота (102-5e)



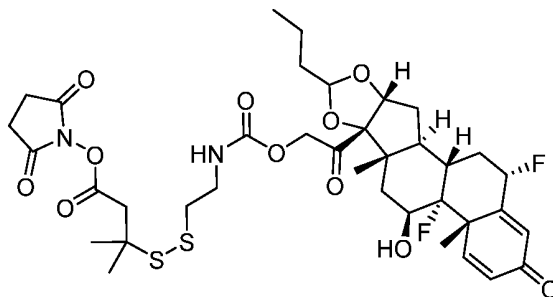
[00384] К раствору соединения **102-3e** (0.68 г, 1.0 ммоль) в метаноле (5 мл) добавили соединение **102-4** (0.13 г, 1.0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 18 часов, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь напрямую очистили при ргср-HPLC (способ В) и получили соединение **102-5e** (0.39 г, 55% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 702.2 (M + H)⁺.

3-({2-[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)(метил)амино]этил}дисульфанил)-3-метилбутановая кислота (102-5f)



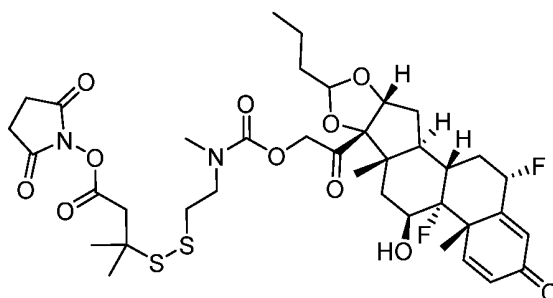
[00385] С соблюдением процедуры для **102-5e**, за исключением замены **102-3f** вместо **102-3e**, получили соединение **102-5f** (0.29 г, 40% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 716.3 (M + H)⁺.

2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-({2-[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)амино]этил}дисульфанил)-3-метилбутаноат (LP5)



[00386] К раствору соединения **102-5e** (0.20 г, 0.29 ммоль) в DCM (10 мл) добавили HOSu (73 мг, 0.64 ммоль) и EDCI (0.12 г, 0.64 ммоль) и смесь перемешивали при КТ на протяжении 24 часов, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь разбавили DCM (50 мл) и органический раствор промыли водой и рассолом, высушили над безводным сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили при ргеп-HPLC (способ А) и получили **LP5** (85 мг, 37% выход) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 799.3 (M + H)⁺.

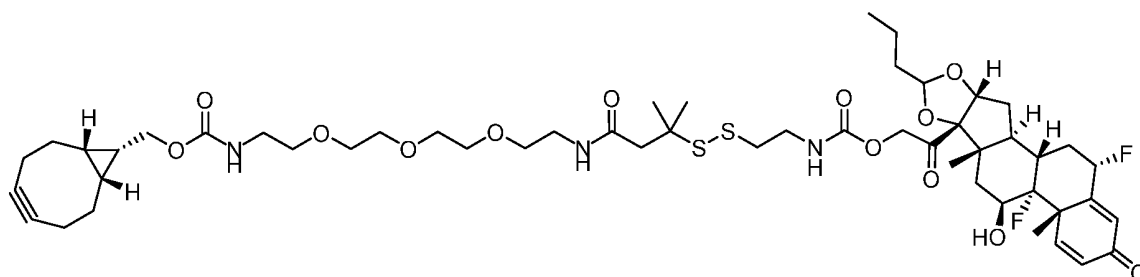
2,5-диоксопирролидин-1-yl 3-({2-[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)(метил)амино]этил}дисульфанил)-3-метилбутаноат (LP6)



[00387] С соблюдением процедуры для **LP5**, за исключением замены **102-5f** вместо **102-5e**, получили соединение **LP6** (86 мг, 36% выход) в виде бесцветного масла. ESI м/з: 813.3 (M + H)⁺.

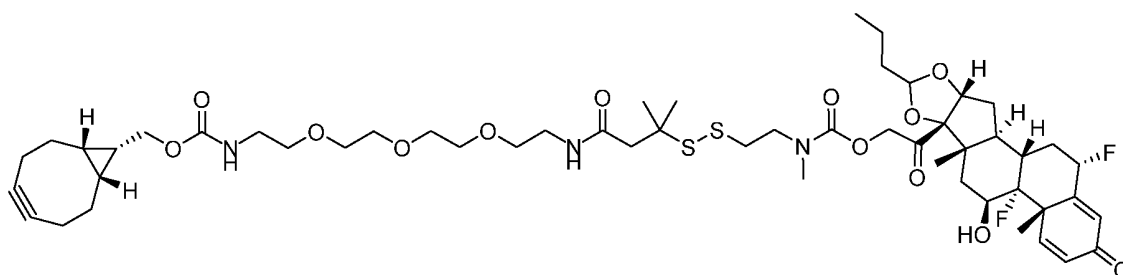
эндо-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметил N-{2-[2-(2-{2-[3-({2-[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-

оксоэтокси}карбонил)амино]этил}дисульфанил)-3-метилбутанамидо]этокси}этокси)этокси]этил}карбамат (LP7)



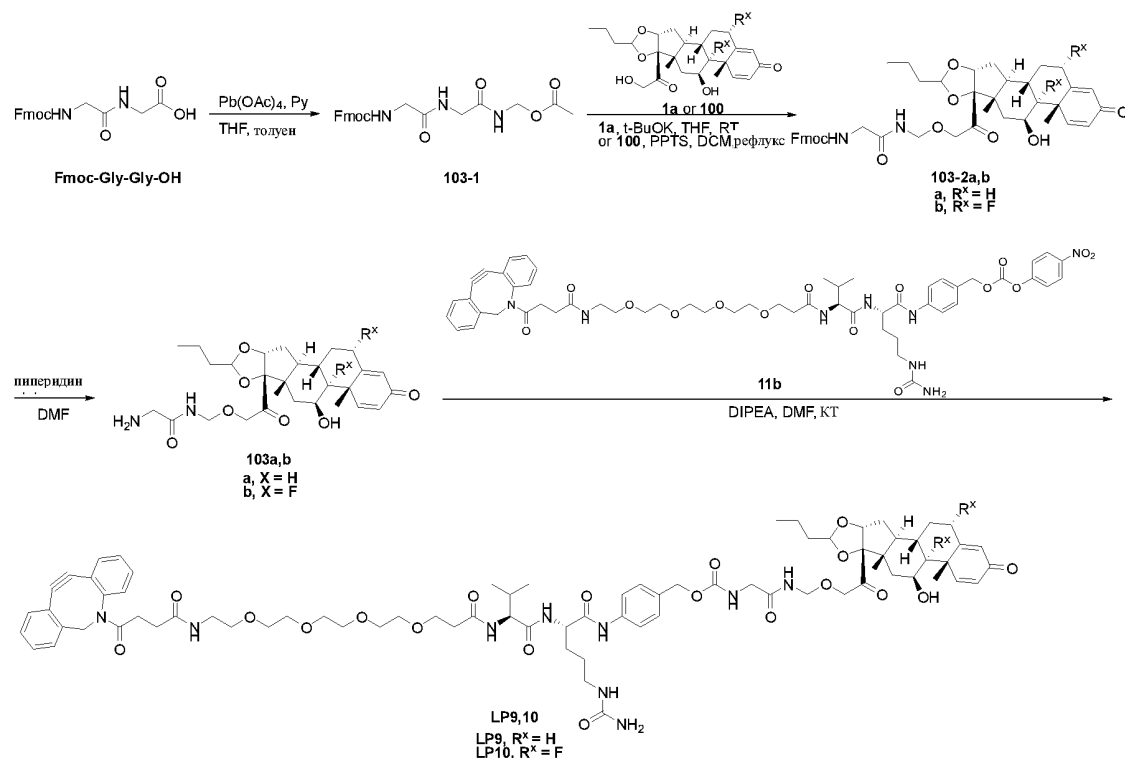
[00388] К раствору соединения **102-5e** (0.20 г, 0.29 ммоль) в DMF (10 мл) добавили HATU (0.11 г, 0.29 ммоль) и DIPEA (75 мг, 0.58 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 10 минут и затем добавили соединение **5f** (0.11 г, 0.29 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 18 часов, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь напрямую очистили при рггер-HPLC (способ В) и и получили соединение **LP7** (0.16 г, 55% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 526.7 (M/2 + H)⁺.

этоксиэндо-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметил N-{2-[2-(2-{2-[3-({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}карбонил)(метил)амино]этил}дисульфанил)-3-метилбутанамидо]этокси}этокси)этокси]этил}карбамат (LP8)

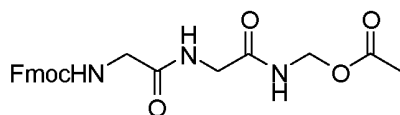


[00389] С соблюдением процедуры для **LP7**, исключением замены **102-5f** вместо **102-5e**, получили соединение **LP8** (0.13 г, 41% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 533.8 (M/2 + H)⁺.

Схема 103А. Синтез нагрузок 103a,b и линкер-нагрузок LP9-10

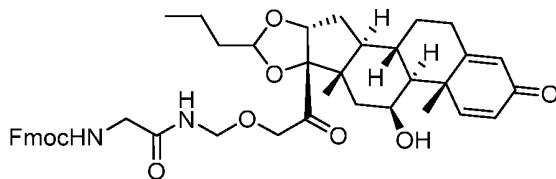


(2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)ацетамидо)метил ацетат (103-1)



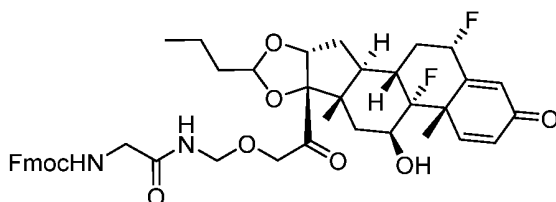
[00390] К смеси Fmoc-Gly-Gly-OH (4.3 г, 12 ммоль) в THF (0.12 л) и толуола (40 мл) добавили пиридин (1.2 мл, 15 ммоль) и тетраацетат свинца (6.8 г, 15 ммоль). Реакционную смесь нагревали в колбе с обратным холодильником на протяжении 5 часов, что контролировали посредством LCMS. После охлаждения до КТ реакцию смесь отфильтровали через целит для удаления нерастворимого материала и фильтрат сконцентрировали *in vacuo*. Остаток растворили в этил ацетате и раствор промыли водой и рассолом. Органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (10% этил ацетат в петролейном эфире) и получили соединение **103-1** (3.0 г, 67% выход) в виде бесцветного твердого вещества. ESI м/з: 391 (M + Na)⁺.

9H-флуорен-9-илметил N-[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}метил)карбамоил]метил}карбамат (103-2a)



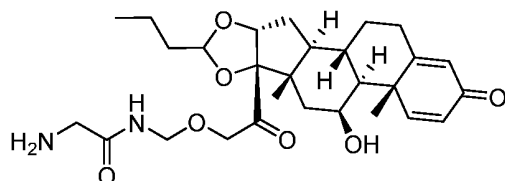
[00391] К раствору соединения **103-1** (0.37 г, 1.0 ммоль) и будесонида **1a** (1.3 г, 3.0 ммоль) в THF (4 мл) добавили калия *трет*-бутоксид (0.22 г, 2.0 ммоль) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 15 минут, что контролировали посредством TLC. К реакционному раствору добавили этил ацетат и воду при 0 °C и экстрагировали его с использованием этил ацетата и хлороформа. Комбинированный органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (30-35% этил ацетат в петролейном эфире) и получили соединение **103-2a** (0.19 г, 40% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 739 (M + H)⁺.

9H-флуорен-9-илметил N-[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}метил)карбамоил]метил}карбамат (103-2b)



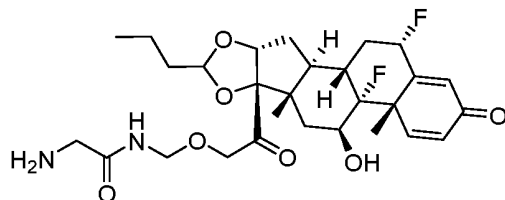
[00392] В запаянный сосуд добавили раствор соединения **103-1** (0.30 г, 0.81 ммоль) и соединения **100** (0.38 г, 0.81 ммоль) в DCM (4 мл) и пиридиния *p*-толуолсульфонат (21 мг, 81 мкмоль) при КТ. Реакционный сосуд запаяли и встряхивали при 50 °C в течение 24 часов, что контролировали посредством LCMS. После охлаждения реакционную смесь сконцентрировали *in vacuo* и остаток очистили посредством *prep*-HPLC (способ A) и получили соединение **103-2b** (0.23 г, 37% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 775 (M + H)⁺.

2-амино-*N*-(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]-икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}метил)ацетамид (103a)

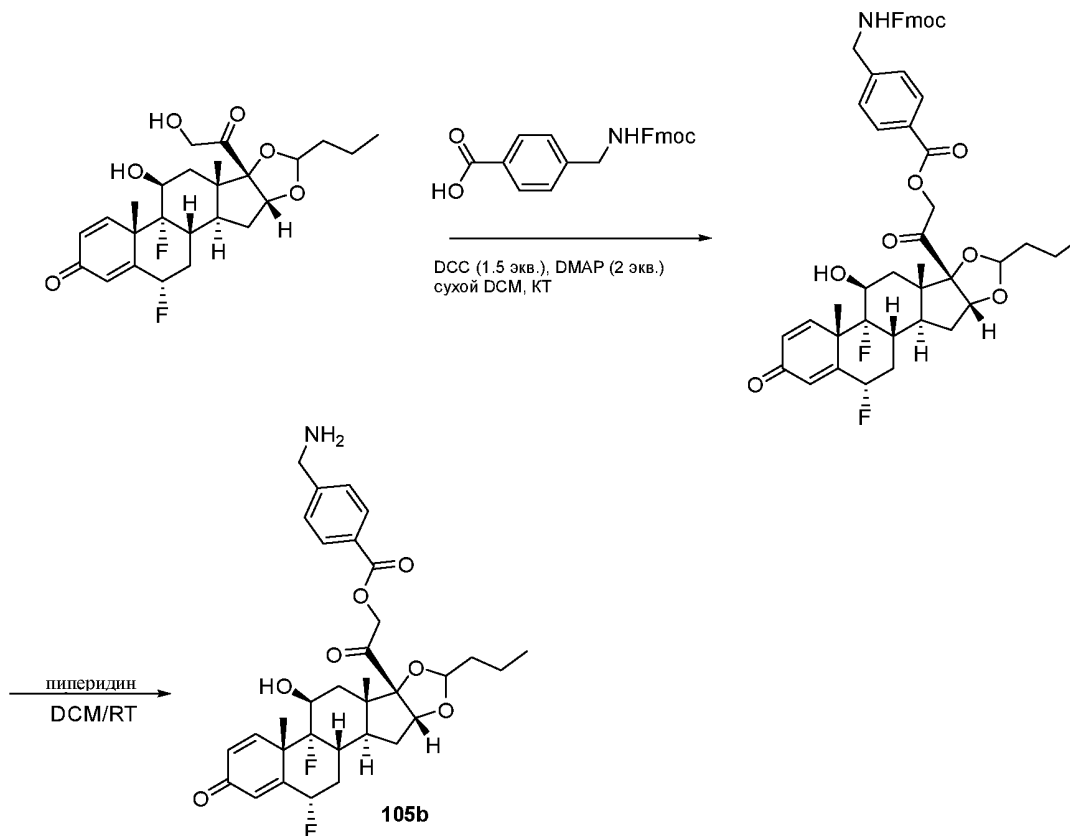


[00393] К раствору соединения **103-2a** (0.10 г, 0.14 ммоль) в DMF (2 мл) добавили пиперидин (35 мг, 0.41 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 часов до полного удаления Fmoc, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь напрямую очистили посредством обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрил в *вод*. TFA (0.05%)) и получили соединение **103a** (50 мг, 70% выход) в виде белого твердого вещества. ESI *m/z*: 517.6 (M + H)⁺.

2-амино-*N*-(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]-икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}метил)ацетамид (103b)

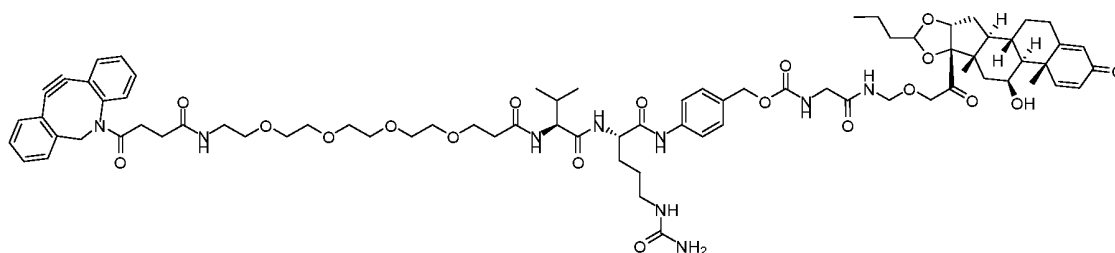


[00394] С соблюдением процедуры для **103a**, за исключением замены **103-2b** вместо **103-2a**, получили соединение **103b** (0.26 г, 65% выход) в виде белого твердого вещества. ESI *m/z*: 553.2 (M/2 + H)⁺.



[00395] Соединение 105(b) приготовили в соответствии с вышеуказанной процедурой.

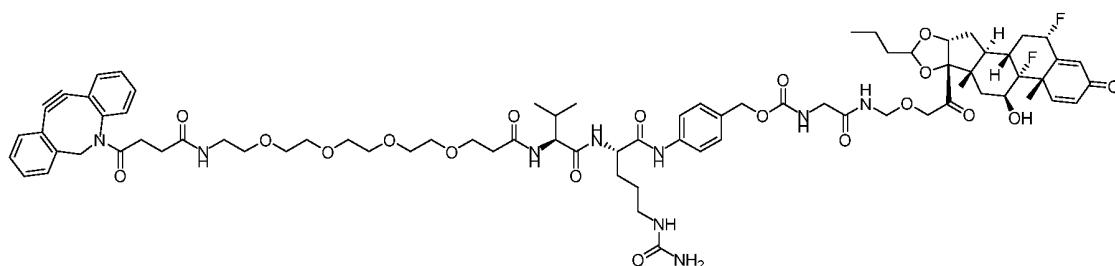
4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.⁰₄,⁹]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-{[(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.⁰₂,⁹,⁰₄,⁸,⁰₁₃,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}метил)карбамоил]метил}карбамат (LP9)



[00396] К раствору соединения **103a** (15 мг, 29 мкмоль) в DMF (1.0 мл) добавили соединение **11b** (30 мг, 28 мкмоль), НОВТ (2.0 мг, 15 мкмоль) и DIPEA (7.7 мг, 60

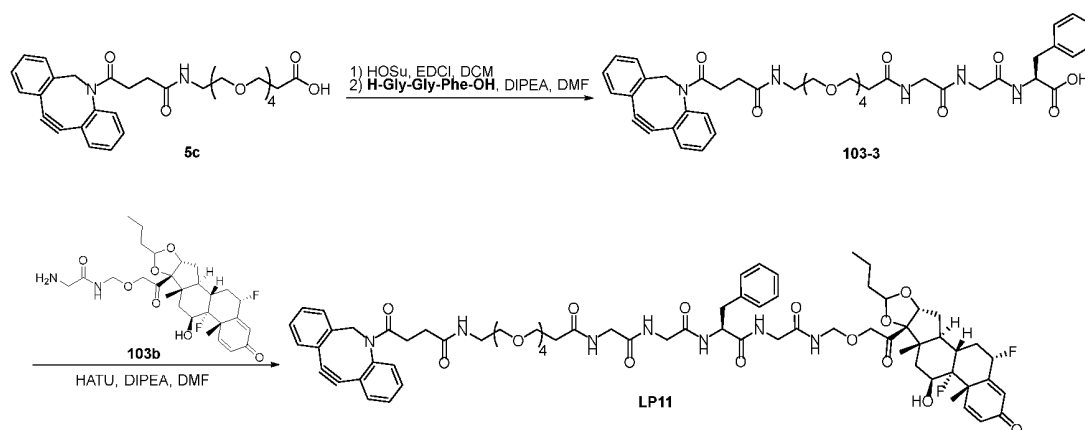
мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 часов, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь очистили напрямую при рггер-HPLC (способ В) и получили линкер-нагрузку **LP9** (5.0 мг, 11% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 729 (M/2 + H)⁺.

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-затрицикло[10.4.0.0⁴,⁹]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-{[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}етил)карбамоил]метил}карбамат (LP10)

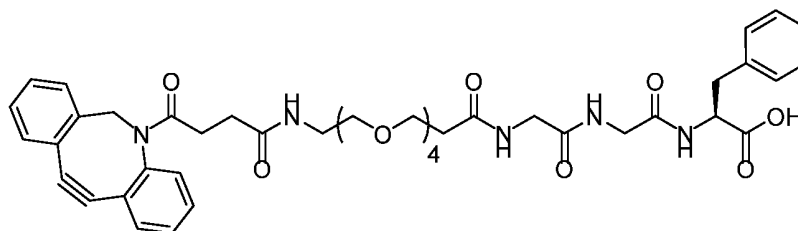


[00397] С соблюдением процедуры для **LP9**, за исключением замены **103b** вместо **103a**, получили линкер-нагрузку **LP10** (23 мг, 58% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 747.0 (M/2 + H)⁺; 513.8 (расщеплено на фрагменты посредством LCMS, расщеплено на части при NHCH₂-O) ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10.02 (s, 1H), 8.80-8.72 (m, 1H), 8.15 (d, *J* = 6.8 Гц, 1H), 7.89 (d, *J* = 8.8 Гц, 1H), 7.80-7.75 (m, 1H), 7.68 (d, *J* = 7.6 Гц, 1H), 7.64-7.58 (m, 3H), 7.54-7.22 (m, 9H), 6.29 (d, *J* = 10.0 Гц, 1H), 6.10 (s, 1H), 6.04-5.96 (m, 1H), 5.78-4.10 (m, 15H), 3.66-3.54 (m, 5H), 3.54-3.42 (m, 13H), 3.32-3.26 (m, 2H), 3.20-2.50 (m, 7H), 2.42-2.20 (m, 4H), 2.05-1.90 (m, 4H), 1.85-1.25 (m, 15H), 0.90-0.80 (m, 13H) ppm.

Схема 103В. Синтез линкер-нагрузки LP11



(2*S*)-2-(2-{2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]ацетидамо}ацетидамо)-3-фенилпропановая кислота (103-3)

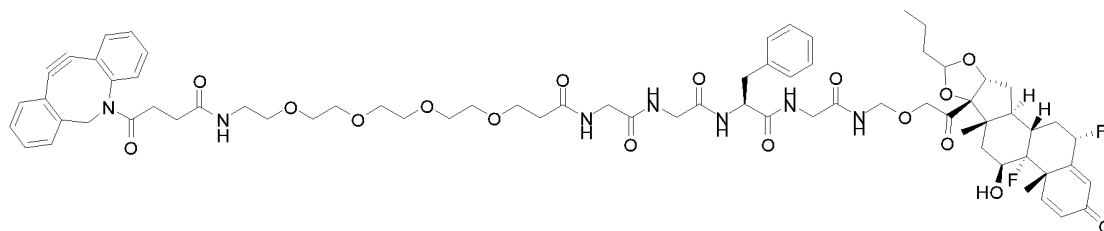


[00398] К раствору соединения **5c** (0.16 г, 0.29 ммоль) в DCM (20 мл) добавили HOSu (73 мг, 0.64 ммоль) и EDCI (0.12 г, 0.64 ммоль). Смесь перемешивали при КТ на протяжении 24 часов до полного разрушения соединения **5c** согласно LCMS. Полученную смесь разбавили DCM (50 мл) и органический раствор промыли водой (50 мл) и рассолом (50 мл), высушили безводным сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo* и получили OSu активный эфир (0.16 г, 84% выход) в виде бесцветного масла, который использовали напрямую для следующего этапа.

К раствору **H-Gly-Gly-Phe-OH** (10 мг, 36 мкмоль) в DMF (0.5 мл) добавили OSu активный эфир (23 мг, 36 мкмоль), полученный так, как было описано выше, и DIPEA (9.0 мг, 72 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Смесь напрямую очистили при rper-HPLC (способ В) и получили соединение **103-3** (15 мг, 51% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 408.2 (M/2 + H)⁺.

1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-N-{{{(1*S*)-1-({[(2-[(1*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9},0^{4,8},0^{13,18}]икоса-

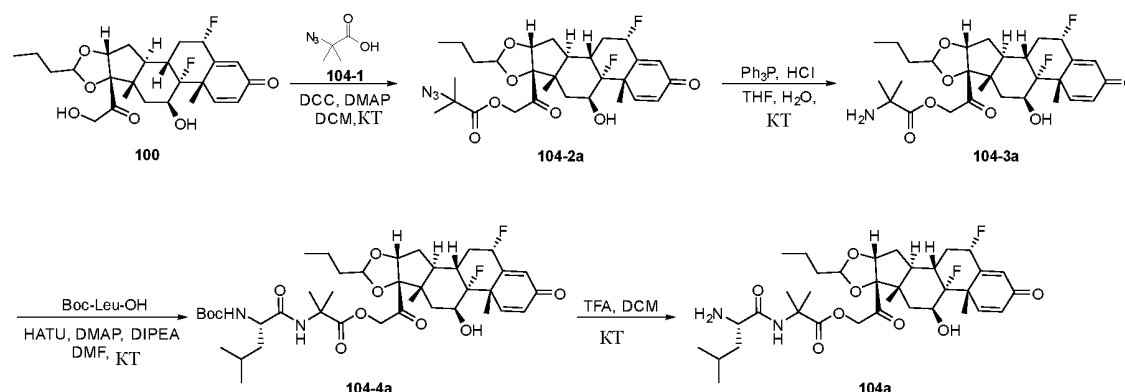
14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}метил)карбамоил]метил}карбамоил)-2-фенилэтил]карбамоил}метил)карбамоил]метил}-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (LP11)



[00399] К раствору соединения **103-3** (15 мг, 18 мкмоль) в DMF (0.5 мл) добавили HATU (14 мг, 36 мкмоль) и DIPEA (9.3 мг, 72 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 10 мин и затем к смеси добавили соединение **103b** (10 мг, 18 мкмоль). Затем реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Полученную смесь очистили напрямую при ргср-HPLC (способ В) и получили линкер-нагрузку **LP11** (5.0 мг, 20% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 420.2 (М/з + Н)⁺.

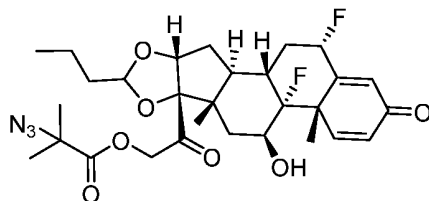
Синтез дипептидного пролекарства: линкер-нагрузка LP12

Схема 104А. Синтез нагрузки 104а



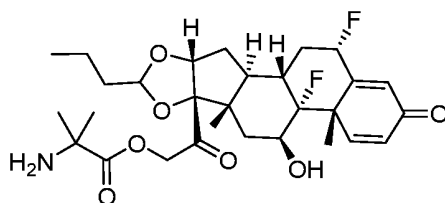
[00400] *Альфа*-азидоизомасляную кислоту **104-1** синтезировали согласно *Org. Lett.*, 2001, 3(5), 781-783.

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-азидо-2-метилпропаноат (104-2а)



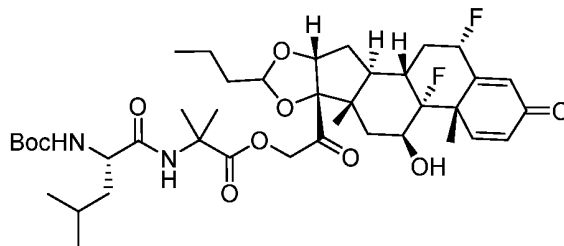
[00401] К раствору соединения **100** (0.10 г, 0.21 ммоль) в DCM (30 мл) добавили соединение **104-1** (52 мг, 0.40 ммоль), DCC (90 мг, 0.44 ммоль) и DMAP (10 мг) и смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь сконцентрировали *in vacuo* и остаток очистили при ргер-HPLC (способ А) и получили соединение **104-2a** (80 мг, 70% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 578.3 (M + H)⁺.

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-амино-2-метилпропаноат (104-3a)



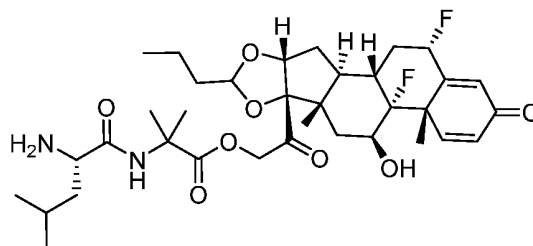
[00402] К раствору соединения **104-2a** (75 мг, 0.15 ммоль) в THF (5 мл) добавили PPh₃ (0.15 г, 0.57 ммоль), воду (5 мл) и *конц.* HCl (1 капля) и реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи. Смесь сконцентрировали *in vacuo* и разбавили DMF. Осадок удалили фильтрацией. Фильтрат очистили при ргер-HPLC (способ А) и получили соединение **104-3a** (45 мг, 54% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 552.3 (M + H)⁺.

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-[(2S)-2-{[(*трет*-бутоксикарбонил)амино]-4-метилпентанамидо]-2-метилпропаноат (104-4a)



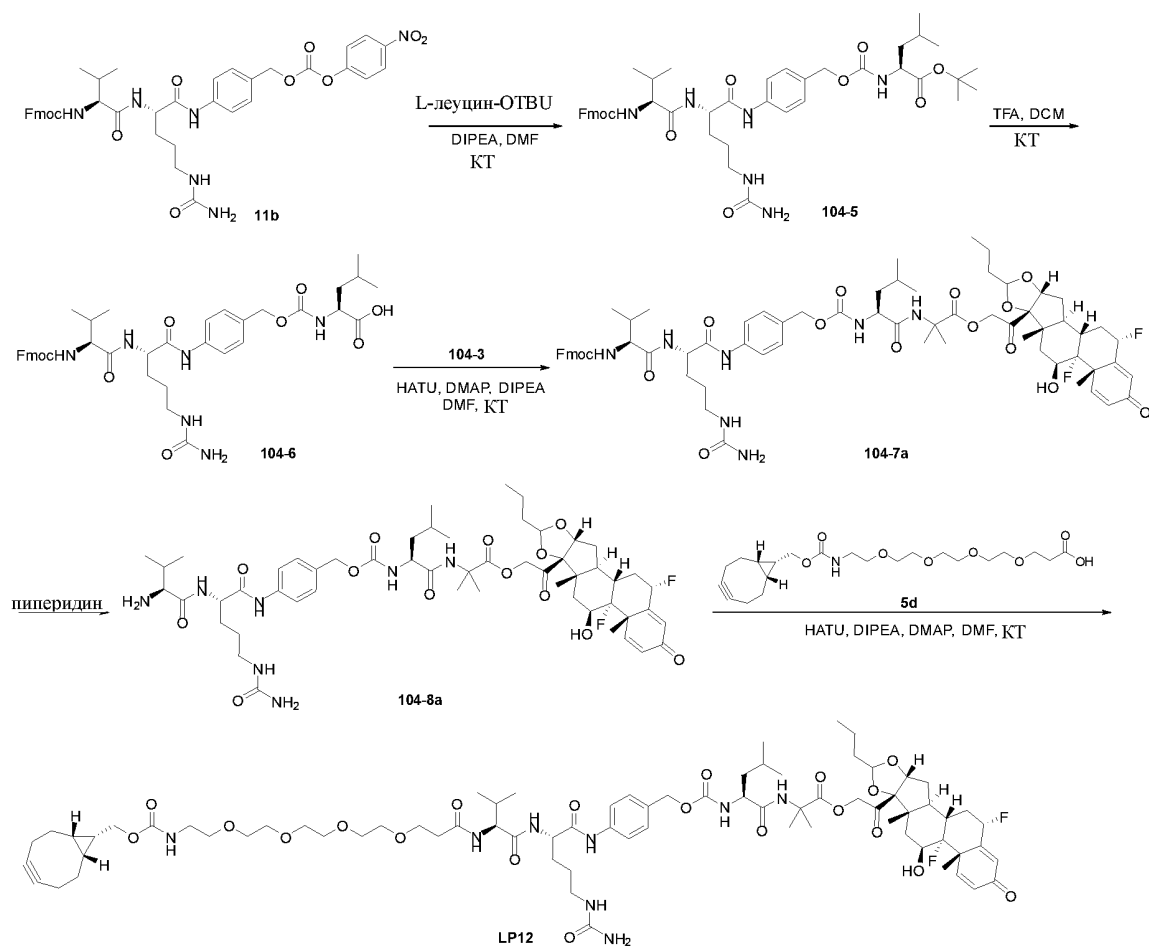
[00403] К смесь Вос-Leu-OH (20 мг, 87 мкмоль) и HATU (50 мг, 0.13 ммоль) в DMF (3 мл) добавили DIPEA (30 мг, 0.23 ммоль), DMAP (2 мг) и соединение **104-3a** (30 мг, 54 мкмоль). Смесь перемешивали при КТ на протяжении часа, что контролировали посредством LCMS. Смесь напрямую очистили при ргеп-HPLC (способ А) и получили соединение **104-4a** (25 мг, 55% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 787.4 (M + Na)⁺.

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-[(2S)-2-амино-4-метилпентанамидо]-2-метилпропаноат (104a)

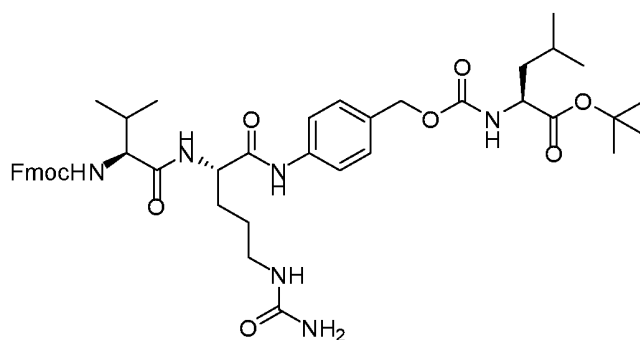


[00404] К смеси соединения **104-4a** (25 мг, 33 мкмоль) в DCM (1.5 мл) добавили TFA (0.15 мл), и смесь перемешивали при КТ в течение часа до полного удаления Вос согласно LCMS. Реакционную смесь сконцентрировали *in vacuo* и остаток очистили при ргеп-HPLC (способ А) и получили соединение **104a** (13 мг, 61% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 665.4 (M + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 8.39 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.27 (d, *J* = 10.0 Гц, 1H), 6.31 (d, *J* = 10.1 Гц, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.63 (t, *J* = 24.2 Гц, 2H), 5.30-5.05 (m, 1H), 4.96 (d, *J* = 17.7 Гц, 1H), 4.81-4.65 (m, 2H), 4.20 (s, 1H), 2.69-2.54 (m, 1H), 2.36-2.15 (m, 1H), 2.12-1.94 (m, 2H), 1.85-1.63 (m, 2H), 1.63-1.53 (m, 3H), 1.52-1.41 (m, 11H), 1.41-1.10 (m, 6H), 0.97-0.76 (m, 12H) ppm.

Схема 104В. Синтез линкер-нагрузки LP12



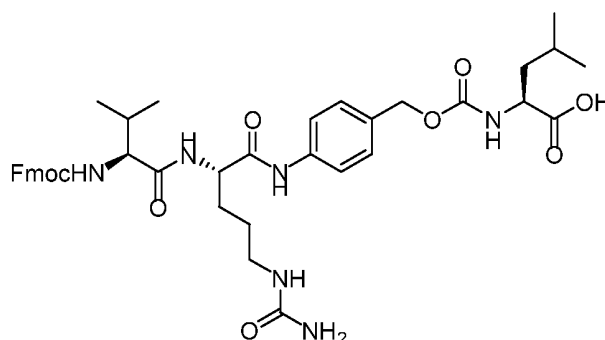
трет-бутил (2S)-2-[[({4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метокси)карбонил]амино]-4-метилпропаноат (104-5)



[00405] К раствору соединения **11b** (0.30 г, 0.39 ммоль) и **H-Leu-ОТБУ-ОН** (0.14 г, 0.63 ммоль) в **DMF** (3 мл) добавили **DIPEA** (0.26 г, 2.0 ммоль), и реакционную смесь

перемешивали при КТ на протяжении 2 часов. Полученную смесь напрямую очистили при rpre-HPLC (способ А) и получили соединение **104-5** (0.11 г, 35% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 815.4 (M + H)⁺.

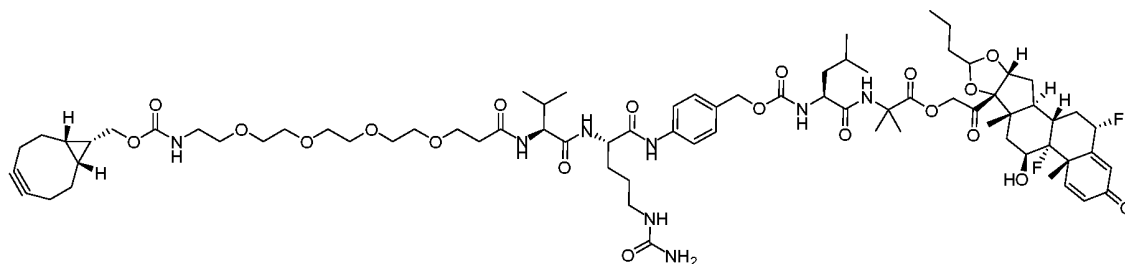
(2S)-2-{{4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метокси)карбонил]амино}-4-метилпентановая кислота (104-6)



[00406] К раствору соединения **104-5** (25 мг, 31 мкмоль) в DCM (4 мл) добавили TFA (0.8 мл) и смесь перемешивали при КТ на протяжении 2 часов. Полученную смесь сконцентрировали *in vacuo* и остаток очистили при rpre-HPLC (способ А) и получили соединение **104-6** (15 мг, 67% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 759.3 (M + H)⁺.

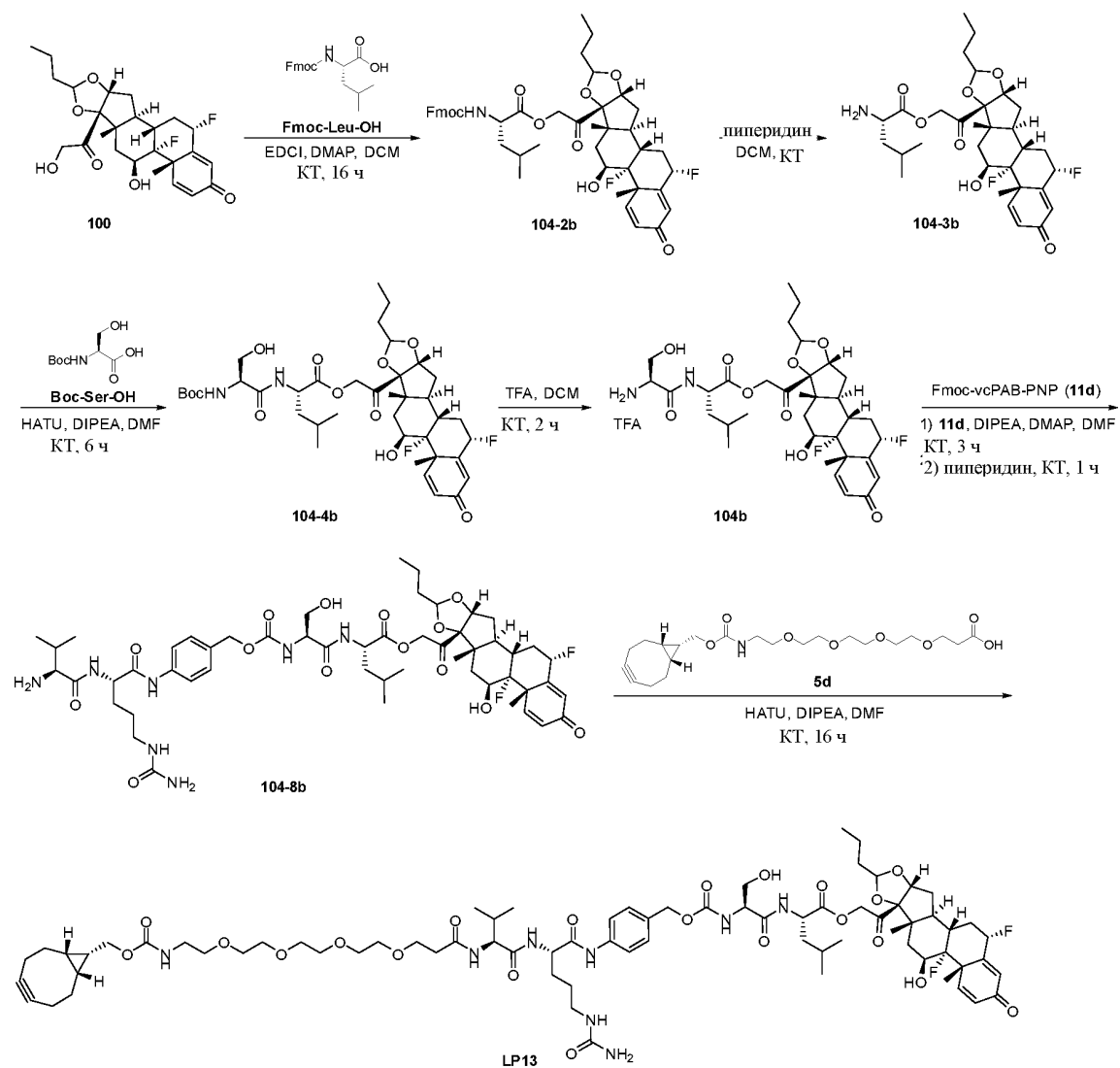
2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-[(2S)-2-{{4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метокси)карбонил]амино}-4-метилпентанамидо]-2-метилпропаноат (104-7a)

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-[(2*S*)-2-{{(4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-({[эндо-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметокси]карбонил}амино)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил}амино}-4-метилпентанамидо]-2-метилпропаноат (LP12)

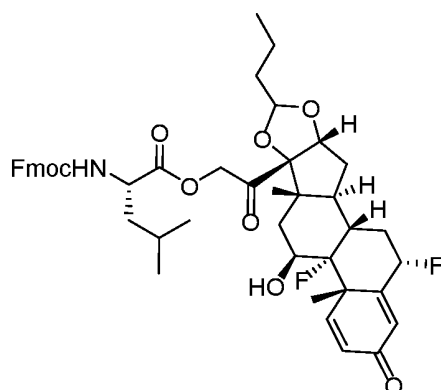


[00409] К раствору соединения **104-8a** (20 мг, 26 мкмоль) и соединения **5d** (14 мг, 32 мкмоль) в DMF (2 мл) добавили HATU (22 мг, 58 мкмоль), DIPEA (15 мг, 0.12 ммоль) и DMAP (1 мг) и реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 2 часов, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь очистили напрямую при prep-HPLC (способ А) и получили линкер-нагрузку **LP12** (10 мг, 21% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 747.6 (M/2 + H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9.97 (s, 1H), 8.35-8.25 (m, 1H), 8.11 (d, *J* = 7.4 Гц, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.6 Гц, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.2 Гц, 2H), 7.34-7.18 (m, 4H), 7.17-7.04 (m, 1H), 6.30 (d, *J* = 10.1 Гц, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.03-5.90 (s, 1H), 5.72-5.50 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.34-3.91 (m, 12H), 3.66-3.38 (m, 15H), 3.15-2.88 (m, 4H), 2.73-2.53 (m, 1H), 2.50-2.45 (m, 1H), 2.41-2.31 (m, 1H), 2.30-1.90 (m, 9H), 1.83-1.62 (m, 2H), 1.63-1.17 (m, 27H), 0.92-0.77 (m, 20H) ppm.

Схема 104С. Синтез нагрузки 104b и ее линкер-нагрузки LP13

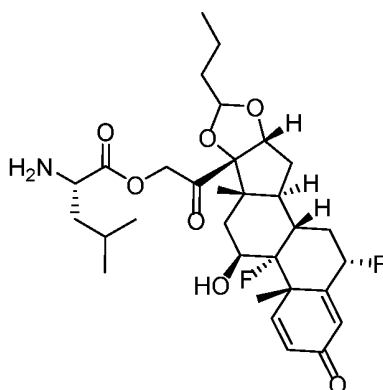


2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил (2*S*)-2-[(9*H*-флуорен-9-илметокси)карбонил]амино}-4-метилпентаноат (104-2b)



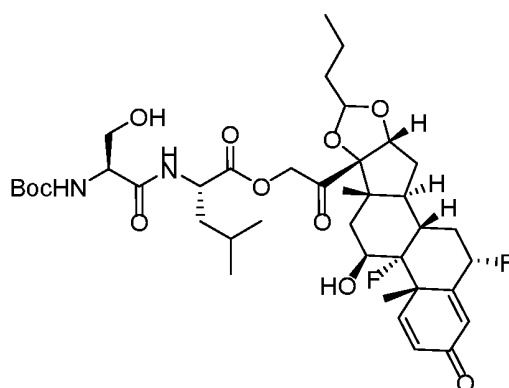
[00410] К раствору соединения **100** (0.47 г, 1.0 ммоль) и **Fmoc-Leu-OH** (0.39 г, 1.1 ммоль) в DCM (10 мл) добавили EDCI (0.23 г, 1.2 ммоль) и DMAP (12 мг, 0.10 ммоль). Смесь перемешивали при КТ в течение 16 часов, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь разбавили водой (50 мл) и экстрагировали при помощи DCM (50 мл x 2). Комбинированный органический раствор высушили над сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (10-50% этил ацетат в петролейном эфире) и получили соединение **104-2b** (0.52 г, 65% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 802.4 (M + H)⁺.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил (2*S*)-2-амино-4-метилпентаноат (104-3b)



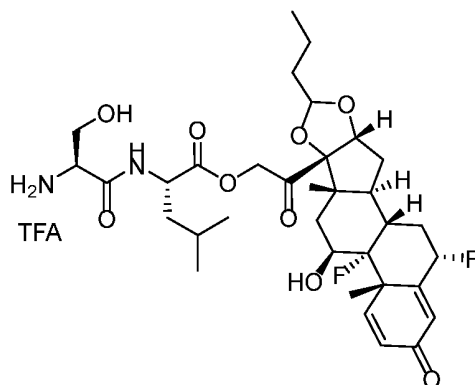
[00411] К раствору соединения **104-2b** (0.50 г, 0.62 ммоль) в DCM (9 мл) добавили пиперидин (1 мл) и реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 30 минут до полного удаления Fmoc согласно LCMS. Полученную смесь сконцентрировали *in vacuo*. Остаток очистили посредством колоночной хроматографии с силикагелем (5-10% метанол в DCM) и получили соединение **104-3b** (0.32 г, 90% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 580.3 (M + H)⁺.

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифторо-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил (2S)-2-[(2S)-2-[(*трет*-бутоси)карбонил]амино}-3-гидроксипропанамидо]-4-метилпентаноат (104-4b)



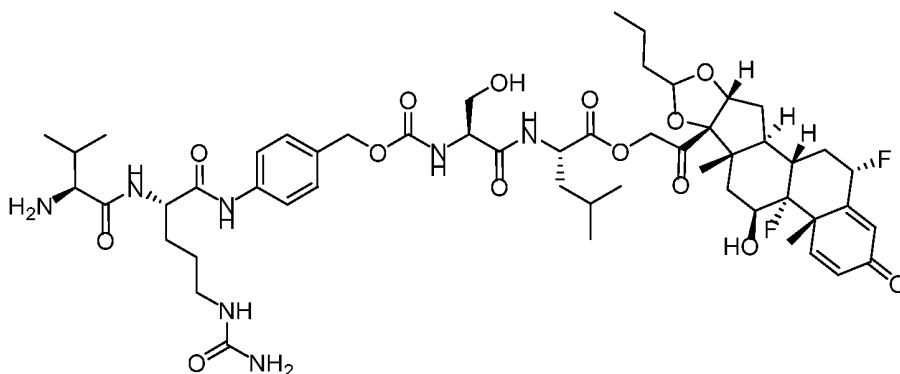
[00412] К смеси соединения **104-3b** (0.32 г, 0.55 ммоль) и **Boc-Ser-OH** (0.14 г, 0.66 ммоль) в DMF (3 мл) добавили HATU (0.25 г, 0.66 ммоль) и DIPEA (0.21 г, 1.6 ммоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ в течение 6 часов, что контролировали посредством LCMS. Полученную смесь сконцентрировали *in vacuo* и остаток очистили при колоночной хроматографии с силикагелем (10-50% этил ацетат в петролейном эфире) и получили соединение **104-4b** (0.34 мг, 80% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 767.4 (M + H)⁺.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил (2*S*)-2-[(2*S*)-2-амино-3-гидроксипропанамидо]-4-метилпропаноат трифторуксусной кислоты соль (104b)



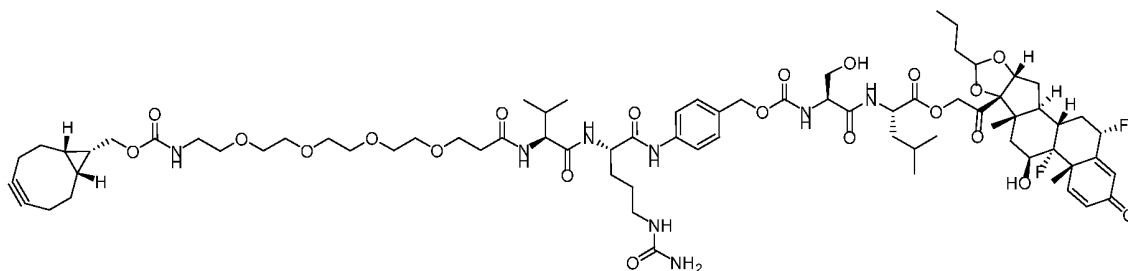
[00413] К раствору соединения **104-4b** (0.34 г, 0.44 ммоль) в DCM (5 мл) добавили TFA (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 2 часов до полного удаления Вос согласно LCMS. Полученную смесь сконцентрировали, и остаток (0.33 г, 95% выход) был достаточно чистым для следующего этапа. 100 мг сырого продукта очистили далее посредством ргеп-HPLC (способ А) и получили соединение **104b** (80 мг, 80% выход) в виде желтого твердого вещества. ESI м/з: 667.3 (M + H)⁺.

2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил (2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил]амино}-3-гидроксипропанамидо]-4-метилпропаноат (104-8b)



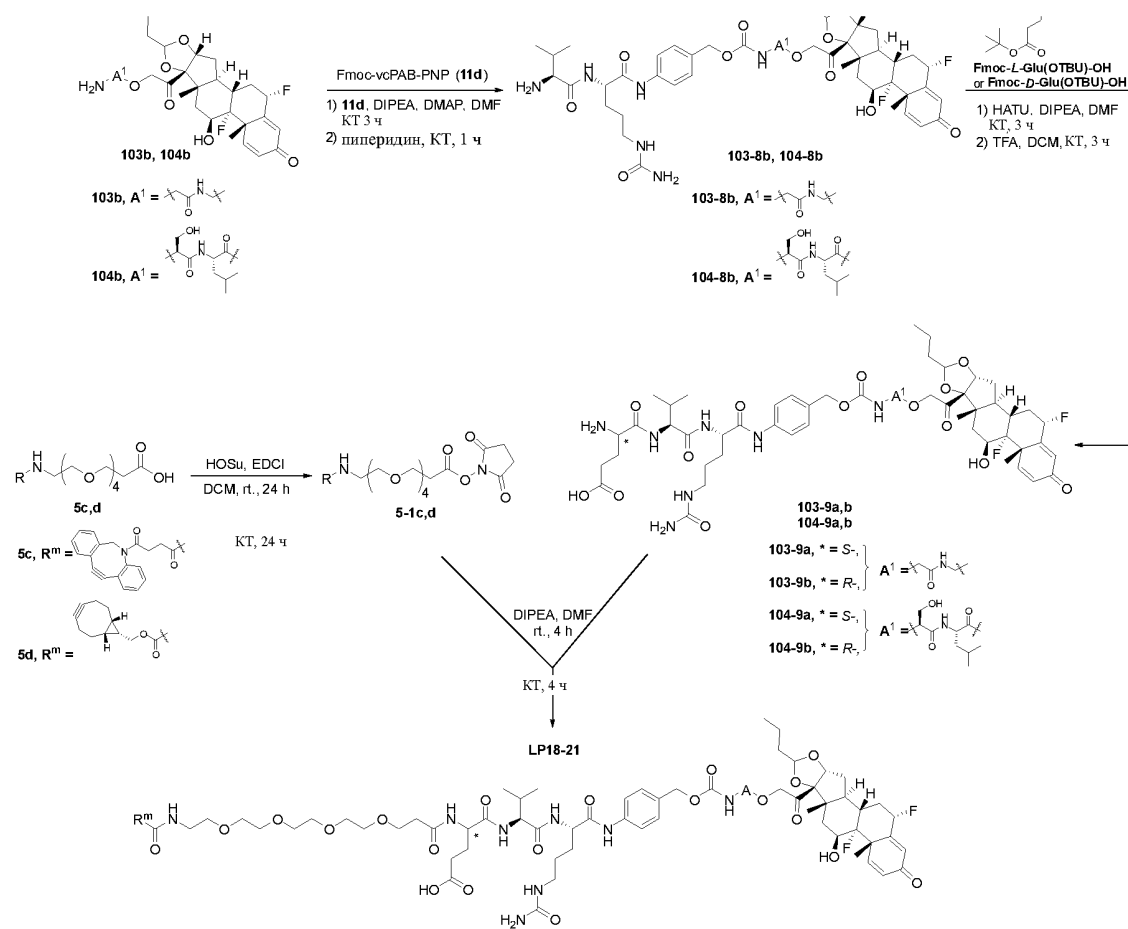
[00414] К раствору свежего сырого соединения **104b** (0.10 г, 0.13 ммоль), полученному так, как было описано выше, в DMF (3 мл) добавили Fmoc-vcPAB-PNP (**11d**) (0.12 г, 0.16 ммоль), DMAP (16 мг, 0.13 ммоль) и DIPEA (50 мг, 0.39 ммоль) при КТ. Смесь перемешивали при КТ на протяжении 3 часов до разрушения большей части исходных материалов, что контролировали посредством LCMS. Затем к реакционной смеси добавили пиперидин (1 мл). Затем перемешивали смесь при комнатной температуре на протяжении часа до полного удаления Fmoc согласно LCMS. Полученную смесь очистили напрямую при rper-HPLC (способ B) и получили соединение **104-8b** (28 мг, 20% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 536.8 (M/2 + H)⁺.

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил (2S)-2-[(2S)-2-[(4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-({эндо-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-уlметокси}карбонил}амино)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метокси)карбонил]амино}-3-гидроксипропанамидо]-4-метилпропаноат (LP13)

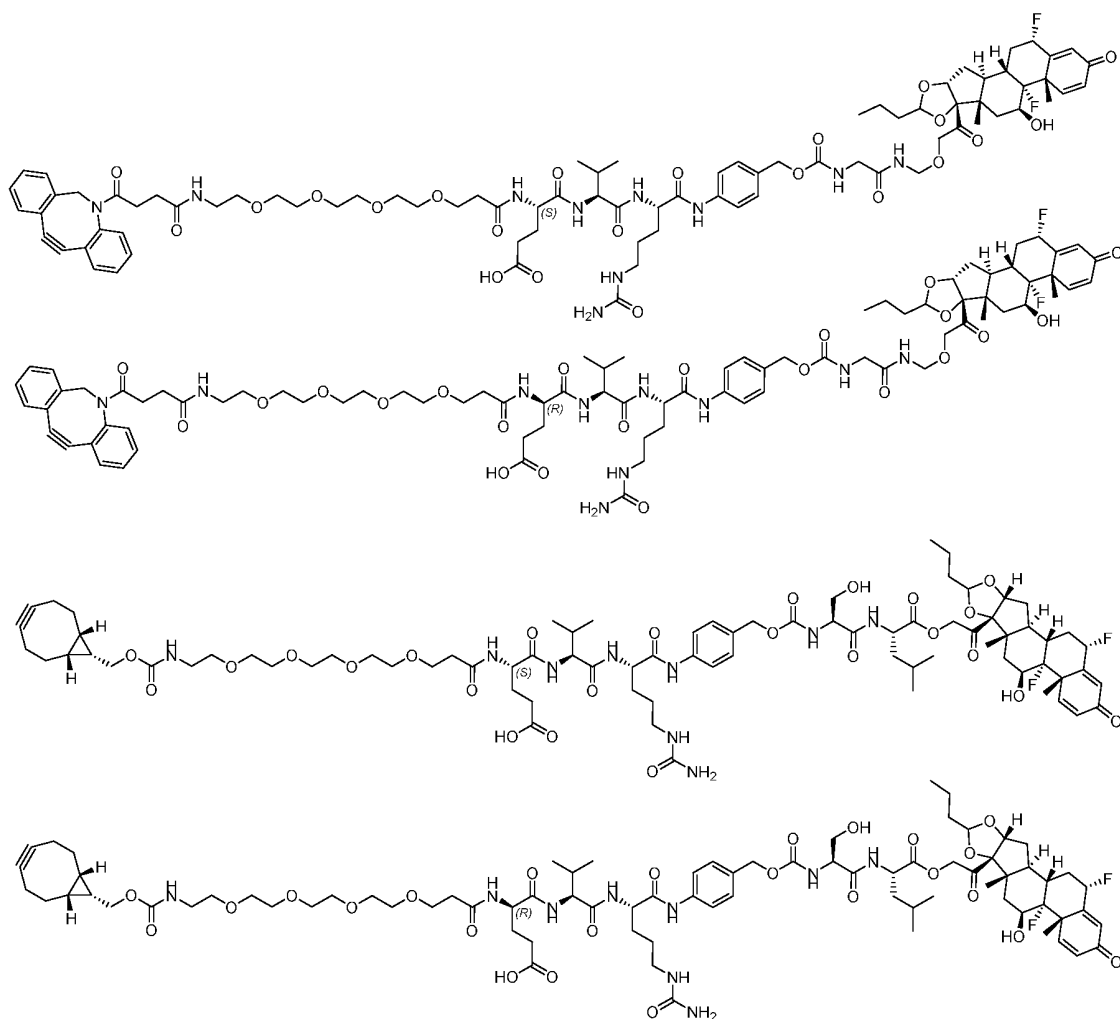


[00415] К раствору соединения **5d** (10 мг, 22 мкмоль) в DMF (1 мл) добавили HATU (9 мг, 22 мкмоль) и DIPEA (8.0 мг, 62 мкмоль) последовательно при КТ. Смесь перемешивали при КТ на протяжении получаса и добавили раствор соединения **104-8b** (20 мг, 19 мкмоль) в DMF (1 мл). Полученную смесь перемешивали при КТ на протяжении 2 часов до разрушения соединения **104-8b**, что контролировали посредством LCMS. После фильтрации через мембрану фильтрат напрямую очистили посредством rper-HPLC (способ B) и получили линкер-нагрузку **LP13** (10 мг, 35% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 748.4 (M/2 + H)⁺.

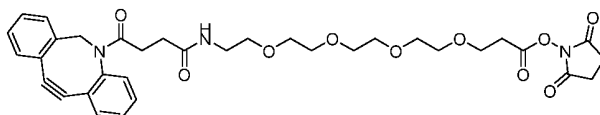
Схема 105. Синтез LP18-21



ПРОДОЛЖЕНИЕ НА СЛЕДУЮЩЕЙ СТРАНИЦЕ

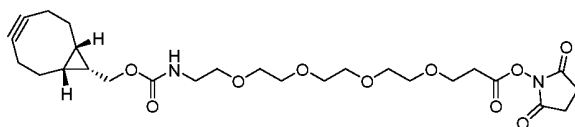


2,5-диокспирролидин-1-ил 1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оат (5-1c)



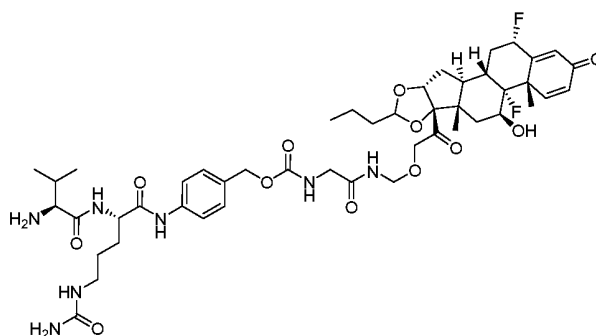
[00416] К раствору соединения **5c** (160 мг, 0.290 ммоль) в DCM (20 мл) добавили HOSu (73.3 мг, 0.637 ммоль) и EDCI (122 мг, 0.637 ммоль) и смесь перемешивали при КТ в течение 24 часов, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь разбавили DCM (50 мл) и органический слой промыли водой (50мл) и рассолом, высушили безводным Na₂SO₄ и сконцентрировали *in vacuo* и получили соединение **5-1c** (159 мг, 84% выход) в виде бесцветного масла, которое использовали напрямую для следующего этапа. ESI м/з: 650 (M + H)⁺.

2,5-диоксопирролидин-1-ил 1-[(*эндо*-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметокси}карбонил)амино]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оат (5-1d)



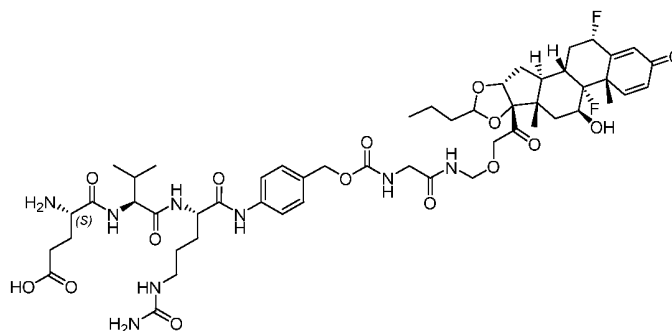
[00417] При соблюдении процедуры для **5-1c**, за исключением замены **5d** вместо **5c**, получили соединение **5-1d** (150 мг, 54% выход) в виде бесцветного масла, которое использовали напрямую для следующего этапа без дальнейшей очистки. ESI м/з: 539 (M + H)⁺.

4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-{[(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}метил)карбамоил}метил}карбамат (103-8b)



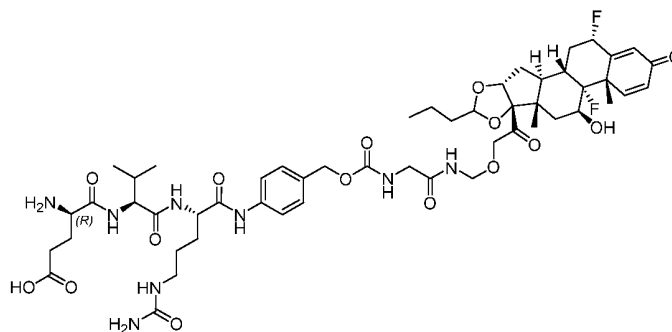
[00418] С соблюдением процедуры для **104-8b** (см. схему 104C), за исключением замены **103b** вместо **104b**, получили соединение **103-8b** (28 мг, 20% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 480 (M/2 + H)⁺.

(4*S*)-4-амино-4-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{[(2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}метил)карбамоил}метил}карбамоил)окси]метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}бутановая кислота (103-9a)



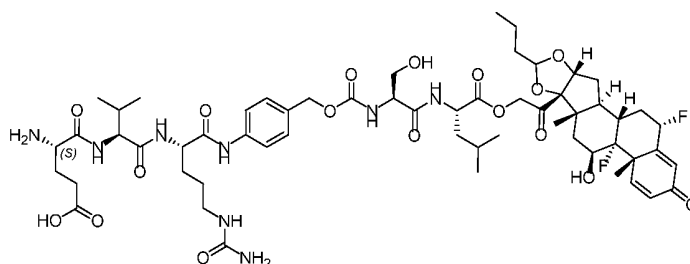
[00419] К раствору соединения **Вос-*L*-Glu(OTBU)-OH** (0.15 г, 0.50 ммоль) в DMF (5 мл) добавили NATU (0.19 г, 0.50 ммоль) и DIPEA (0.13 г, 1.0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 10 минут, затем к реакционной смеси добавили соединение **103-8b** (0.48 г, 0.50 ммоль). Затем реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 3 часов до полного разрушения **103-8b** согласно LCMS. Смесь экстрагировали посредством EtOAc и комбинированный органический раствор промыли водой, высушили над безводным сульфатом натрия и сконцентрировали *in vacuo*. Остаток растворили в DCM (10 мл). К раствору добавили TFA (2 мл) и реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении 3 часов, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь сконцентрировали и остаток напрямую очистили при rper-HPLC (способ B) и получили соединение **103-9a** (0.41 г, 75% выход) в виде белого твердого вещества. ESI m/z : 536.8 ($M/2 + H$)⁺.

(4R)-4-амино-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{[(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}метил)карбамоил}метил}карбамоил)окси}метил}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}бутановая кислота (103-9b)



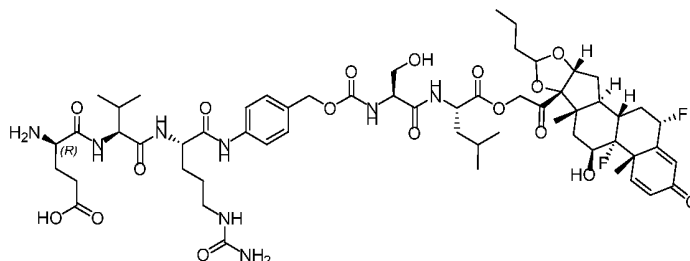
[00420] С соблюдением процедуры для **103-9a**, за исключением замены **Вос-D-Glu(OTBU)-ОН** вместо **Вос-L-Glu(OTBU)-ОН**, получили соединение **103-9b** (0.40 г, 74% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 536.8 (M/2 + H)⁺.

(4S)-4-амино-4-{{(1S)-1-{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-({4-[(1S)-1-{{(2S)-1-2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил}-2-оксоэтокси}-4-метил-1-оксопентан-2-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамоил}окси)метил]фенил}карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}бутановая кислота (**104-9a**)



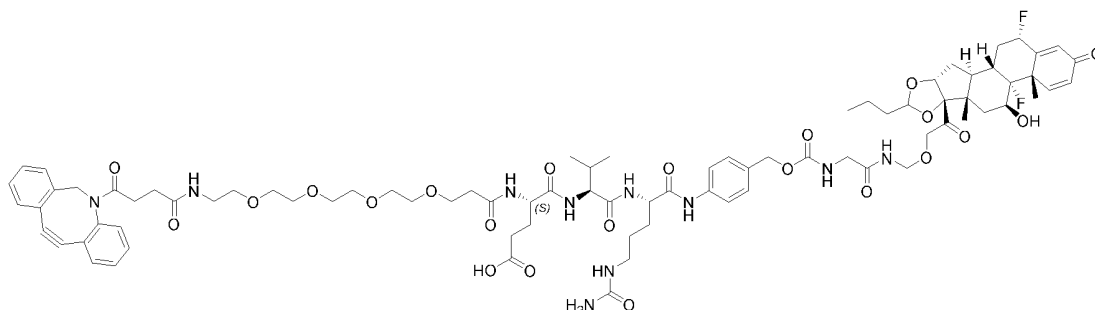
[00421] С соблюдением процедуры для **103-9a**, за исключением замены **104-8b** вместо **103-8b**, получили соединение **104-9a** (0.39 г, 65% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 601.3 (M/2 + H)⁺.

(4R)-4-амино-4-{{(1S)-1-{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-({4-[(1S)-1-{{(2S)-1-2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил}-2-оксоэтокси}-4-метил-1-оксопентан-2-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамоил}окси)метил]фенил}карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}бутановая кислота (**104-9b**)



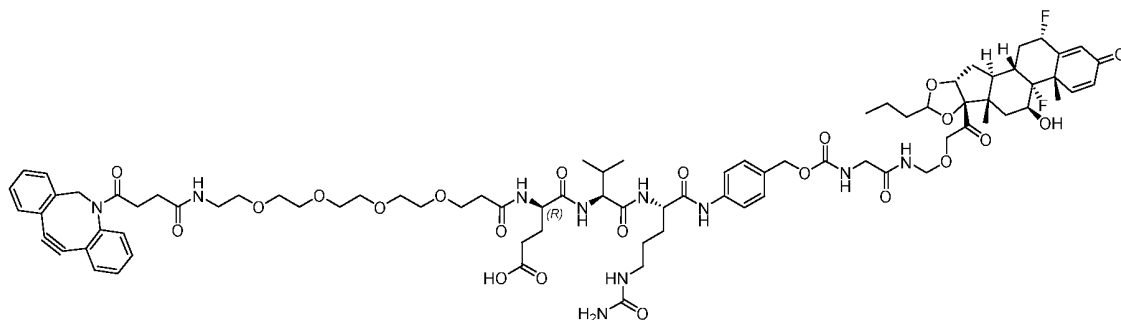
[00422] С соблюдением процедуры для **103-9a**, за исключением замены **104-8b** вместо **103-8b**, **Вос-D-Glu(OTBU)-ОН** вместо **Вос-L-Glu(OTBU)-ОН**, получили соединение **104-9b** (0.39 г, 65% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 601.3 (M/2 + H)⁺.

(4S)-4-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-4-{{(1S)-1-{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[4-{{[[[2-(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9},0^{4,8},0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил}-2-оксоэтокси}метил)карбамоил}метил}карбамоил)окси}метил}фенил)карбамоил}бутил}карбамоил}-2-метилпропил}карбамоил}бутановая кислота (LP18)



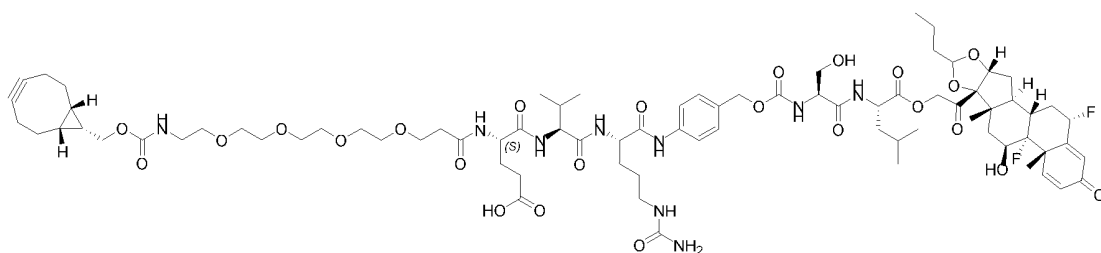
[00423] К раствору соединения **103-9a** (57 мг, 53 мкмоль) в DMF (1 мл) добавили соединение **5-1c** (36 мг, 56 мкмоль) и DIPEA (27 мг, 0.21 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 4 часов, что контролировали посредством LCMS. Затем полученную смесь напрямую очистили при rгer-HPLC (способ B) и получили соединение **LP18** (12 мг, 15% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 811.4 (M/2 + H)⁺.

(4R)-4-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тераоксапентадекан-15-амидо]-4-{{(1S)-1-{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[4-{{[[[2-(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9},0^{4,8},0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}метил)карбамоил}метил}карбамоил)окси}метил}фенил)карбамоил}бутил}карбамоил}-2-метилпропил}карбамоил}бутановая кислота (LP19)



[00424] С соблюдением процедуры для **LP18**, за исключением замены **103-9b** вместо **103-9a**, получили соединение **LP19** (14 мг, 17% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 811.4 (M/2 + H)⁺.

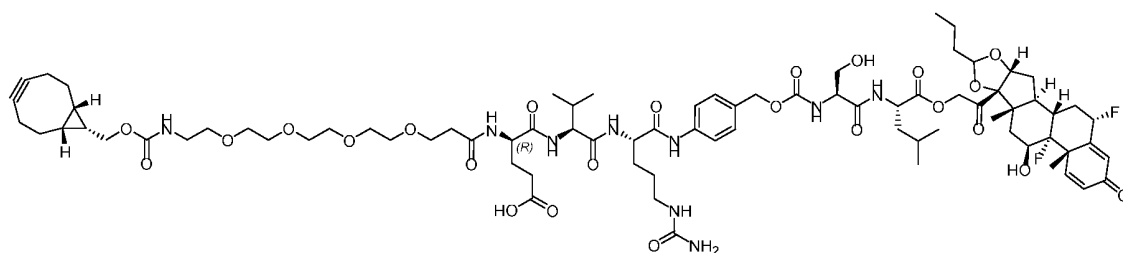
(4S)-4-{1-[(эндo-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметокси)карбонил)амино]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}-4-[[[(1S)-1-{[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-(4-{[(1S)-1-{[(2S)-1-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтоксид}-4-метил-1-оксопентан-2-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамоил}окси)метил]фенил]карбамоил)бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}бутановая кислота (LP20)



[00425] К раствору соединения **104-9a** (64 мг, 53 мкмоль) в DMF (1 мл) добавили соединение **5-1d** (30 мг, 56 мкмоль) and DIPEA (27 мг, 0.21 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 4 часов, что контролировали посредством LCMS. Затем полученную смесь напрямую очистили при rper-HPLC (способ B) и и получили соединение **LP20** (17 мг, 20% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 813.0 (M/2 + H)⁺.

(4R)-4-{1-[(эндo-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметокси)карбонил)амино]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо}-4-[[[(1S)-1-{[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-(4-{[(1S)-1-{[(2S)-1-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифлоро-11-гидрокси-9,13-

диметиламин-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}-4-метил-1-оксопентан-2-ил]карбамоил}-2-гидроксиэтил]карбамоил}окси)метил]фенил}карбамоил)бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}бутановая кислота (LP21)



[00426] С соблюдением процедуры для **LP20**, за исключением замены **104-9b** вместо **104-9a**, получили соединение **LP21** (14 мг, 17% выход) в виде белого твердого вещества. ESI м/з: 813.0 (M/2 + H)⁺.

[00427] В нижеприведенной Таблице 5a представлены линкер-нагрузки, приготовленные с использованием описанных здесь способов.

Таблица 5a. Примеры линкер-нагрузок

LP (ЛН)	Нагрузка	Название линкера	Структуры
LP1	101a	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-MEDA-100	
LP2	101b	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-DMEDA-100	
LP3	101c	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-DEEDA-100	

LP (ЛН)	Нагрузка	Название линкера	Структуры
LP4	101d	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-Pip-100	
LP5	102e	NHS-дисульфид-SEA-100	
LP6	102f	NHS-дисульфид-SEMA-100	
LP7	102e	BCN-PEG3-дисульфид-SEA-100	
LP8	102f	BCN-PEG3-дисульфид-SEMA-100	
LP9	103a	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-Gly-AMO-Bud	
LP10	103b	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-Gly-AMO-100	

LP (ЛН)	Нагруз ка	Название линкера	Структуры
LP11	103b	DIBAC- suc-PEG4- GGFG- AMO-100	
LP12	104a	BCN- PEG4- vcPAB- Leu-Aib- 100	
LP13	104b	BCN- PEG4- vcPAB-Ser- Leu-100	
LP18	103b	DIBAC- suc-PEG4- EVC-PAB- Gly-AMO- 100	
LP19	103b	DIBAC- suc-PEG4- dEVC- PAB-Gly- AMO-100	
LP20	104b	BCN- PEG4- EVC-PAB- Ser-Leu- 100	
LP21	104b	BCN- PEG4- dEVC- PAB-Ser- Leu-100	

Таблица 6а. Характеризационные данные для линкер-нагрузок

LP (ЛН)	cLogP	MF	MB	Чистота HPLC (%)	МС (м/з) 100%	Высочайш ий пик м/з
LP1	4.26	C ₇₈ H ₁₀₁ F ₂ N ₉ O ₁₉	1506.71	95	753.9 (m/2+H)	753.9 (m/2+H)
LP2	4.48	C ₇₉ H ₁₀₃ F ₂ N ₉ O ₁₉	1520.71	97	761.0 (m/2+H)	761.0 (m/2+H)
LP3	5.20	C ₈₁ H ₁₀₇ F ₂ N ₉ O ₁₉	1548.76	95	775.0 (m/2+H)	775.0 (m/2+H)
LP4	4.31	C ₇₉ H ₁₀₁ F ₂ N ₉ O ₁₉	1518.69	99	760.0 (m/2+H)	760.0 (m/2+H)
LP5	3.40	C ₃₇ H ₄₈ F ₂ N ₂ O ₁₁ S ₂	798.91	99	799.3 (m+H)	799.3 (m+H)
LP6	3.62	C ₃₈ H ₅₀ F ₂ N ₂ O ₁₁ S ₂	812.94	97	813.3 (m+H)	813.3 (m+H)
LP7	5.20	C ₅₂ H ₇₅ F ₂ N ₃ O ₁₃ S ₂	1052.29	97	526.7 (m/2+H)	526.7 (m/2+H)
LP8	5.42	C ₅₃ H ₇₇ F ₂ N ₃ O ₁₃ S ₂	1066.32	98	533.8 (m/2+H)	533.8 (m/2+H)
LP9	3.65	C ₇₇ H ₁₀₁ N ₉ O ₁₉	1456.70	96	729.0 (m/2+H)	729.0 (m/2+H)
LP10	3.35	C ₇₇ H ₉₉ F ₂ N ₉ O ₁₉	1492.68	95	513.8 (фрагме нт)	747.0 (m/2+H)
LP11	1.96	C ₇₁ H ₈₇ F ₂ N ₇ O ₁₇	1348.51	95	450.2 (m/3+H)	675.2 (m/2+H)
LP12	5.61	C ₇₆ H ₁₁₀ F ₂ N ₈ O ₂₀	1493.75	90	747.6 (m/2+H)	747.6 (m/2+H)
LP13	4.13	C ₇₅ H ₁₀₈ F ₂ N ₈ O ₂₁	1495.70	95	748.4 (m/2+H)	748.4 (m/2+H)
LP18	2.46	C ₈₂ H ₁₀₆ F ₂ N ₁₀ O ₂ 2	1621.77	95	811 (m/2+H)	811 (m/2+H)
LP19	2.46	C ₈₂ H ₁₀₆ F ₂ N ₁₀ O ₂ 2	1621.77	95	811 (m/2+H)	811 (m/2+H)
LP20	3.25	C ₈₀ H ₁₁₅ F ₂ N ₉ O ₂₄	1624.81	95	813 (m/2+H)	813 (m/2+H)
LP21	3.25	C ₈₀ H ₁₁₅ F ₂ N ₉ O ₂₄	1624.81	95	813 (m/2+H)	813 (m/2+H)

ПРИМЕР 2

[00428] Данный пример демонстрирует конкретные процедуры для сайт-специфической конъюгации алкин-линкер-нагрузки к антителу.

[00429] В данном примере сайт-специфические конъюгаты создаются за два этапа. Первый этап представляет собой МТГ-основанное ферментное присоединение малой молекулы, такой как азид-PEG₃-амин (*supra*), к антителу, имеющему Q-метку (например, WO2017/147542) (в дальнейшем именуемая "конъюгация на основе МТГ"). Антитело, имеющее N297Q мутацию или N297D мутацию, имеет Q295/Q297 или Q295, которых стимулируют присоединяться к МТГ для ферментно-основанных сайт-специфических конъюгаций, где Q295 и/или Q297 были определены как Q-метка. На втором этапе проводится присоединение линкер-нагрузки к азидо-функционализованному антителу через [2+3] циклоприсоединение, например, 1,3-двухполярное циклоприсоединение между азидами и циклооктинами (также называемое клик-химия без соединений меди). См. документы *Baskin, J. M.; Prescher, J. A.; Laughlin, S. T.; Agard, N. J.; Chang, P. V.; Miller, I. A.; Lo, A.; Codelli, J. A.; Bertozzi, C. R. PNAS 2007, 104 (43), 16793–7*, содержание которых включается в настоящий документ полностью посредством ссылки, где реактивная группа (**RG**) представляет собой DIBAC фрагмент, конъюгация выполняется с азидо-функционализированным антителом через [2+3] циклоприсоединение. Данный процесс дает сайт-специфические и стоиχειометрические конъюгаты.

[00430] Конъюгация ADC через [2+3] клик-реакцию.

[00431] Этап 1: Приготовление азидо-функционализованного антитела.

[00432] IgG агликозилированного человеческого антитела (IgG1, IgG4 и т.д.) или изотип человеческого IgG1 с N297Q мутацией (номенклатура EU), в PBS (pH 6.5–8.0) смешивают с ≥ 200 молярными эквивалентами азидо-dPEG₃-амин (MB= 218.26 г/моль). Полученный раствор смешивают с МТГ (ЕС 2.3.2.13 из Zedira, Дармштадт, Германия, или Modernist Pantry [L# 210115A] - ACTIVA TI содержит мальтодекстрин из Ajinomoto, Япония) (25 ед/мл; 5ед МТГ на мг антитела), в результате чего получают итоговую концентрацию антитела 0.5–5 мг/мл, и затем раствор инкубируют при 37 °C на протяжении 4–24 ч при аккуратном встряхивании. Реакцию контролируют посредством ESI-MS. По завершении реакции избыток амина и МТГ удаляют посредством SEC или колоночной хроматографии на основе белка А, в результате чего получают азидо-функционализованное антитело. Данный продукт характеризуют посредством SDS-PAGE

и ESI-MS. Азидо-dPEG₃-амин добавляют к двум сайтам антитела, что дает повышение 204 Да для конъюгата 2DAR антитело-PEG₃-азид.

[00433] **Этап 2:** Приготовление сайт-специфических конъюгатов лекарственного средства к антителу с помощью реакции клик-химии.

[00434] Сайт-специфические конъюгаты антитело-лекарственное средство с человеческим IgG (IgG1, IgG4 и т.д.) в Таблице 7 готовят посредством [2+3] клик-реакции между азидо-функционализированными антителами и алкин-содержащей линкер-нагрузкой. Далее описана подробная процедура конъюгации. Сайт-специфический конъюгат антитела с линкер-нагрузкой (**LP**) готовят посредством инкубирования **mAb-PEG₃-N₃** (1–3 мг / мл) в водной среде (например, PBS, PBS с содержанием 5% глицерина, HBS) с ≥ 6 моляр. эквивалентами **LP**, растворенными в подходящем органическом растворителе, таком как DMSO, DMF или DMA (т.е. реакционная смесь содержит 5-20% органический растворитель, об/об) от 24 °C до 37 °C на протяжении более 6 ч. Протекание реакции контролируют посредством ESI-MS, и отсутствие **mAb-PEG₃-N₃** указывает на завершение конъюгации. Излишнее количество **LP** и органического растворителя удаляют посредством SEC чрез элюирование с PBS или посредством колоночной хроматографии на основе белка А через элюирование с кислым буфером с последующей нейтрализацией при помощи Tris (pH8.0).

[00435] Конечный продукт концентрируют посредством ультра-центрифугирования и характеризуют посредством UV, SEC, SDS-PAGE и ESI-MS.

ПРИМЕР 3

[00436] Данный пример демонстрирует способ выполнения несайт-специфической конъюгации лекарственного средства с антителом при помощи тиол-малеимидной реакции.

[00437] Конъюгация через цистеины антитела выполняется за два этапа с использованием способов, аналогичных способам, описанным в *Mol Pharm.* 2015 Jun 1;12(6):1863-71.

[00438] Моноклональное антитело (mAb, 10 мг/мл в 50 mM HEPES, 150 mM NaCl) с pH 7.5 восстанавливают 1 mM дитиотреитола (0.006 мг на мг антитела) или TCEP (2.5 моляр. эквивалент антитела) при 37 °C в течение 30 минут. Концентрацию антитела вычисляют на основе поглощения при 280 нм на Nanodrop (ThermoFisher Scientific) и коэффициента экстинкции антитела. После гелевой фильтрации (G-25, pH 4.5 ацетат натрия) соединение LP в DMSO (10 мг/мл) добавляют к восстановленному антителу и pH

смеси корректируют до pH 7.0 при помощи 1 М HEPES (pH 7.4). Смеси дают прореагировать на протяжении 3–14 часов. Полученный конъюгат очищают посредством SEC. Значения DAR (УФ) определяют с использованием измеренного поглощения psADC и коэффициентов экстинкции антитела и соединения **LP**.

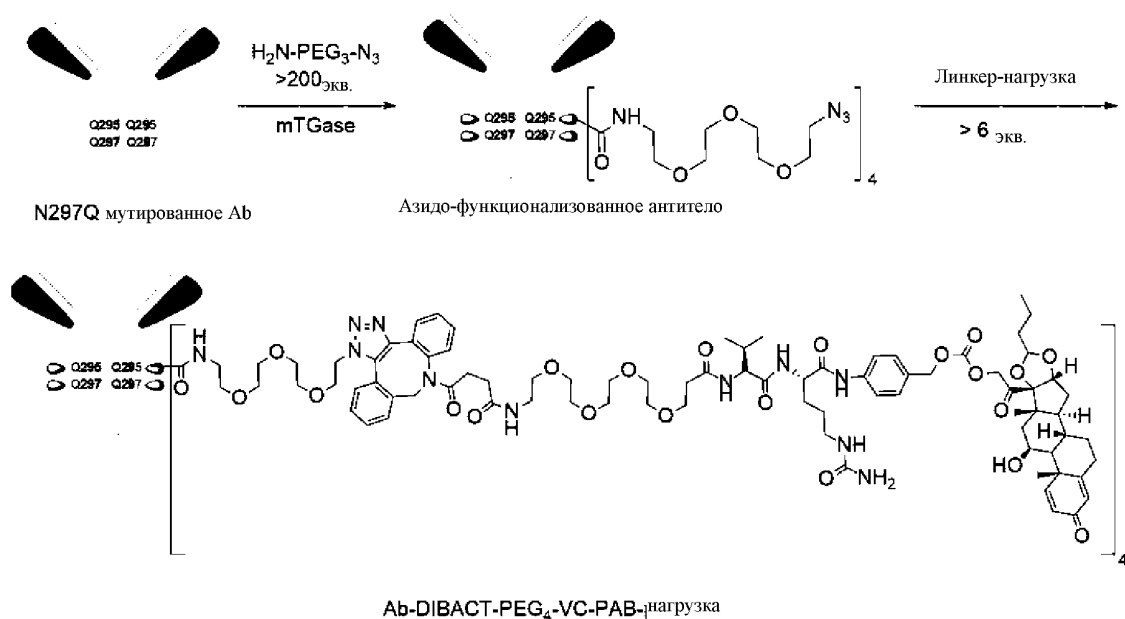
ПРИМЕР 4

Конъюгация ADC

[00439] В одном примере сайт-специфические конъюгаты получают посредством двухэтапной конъюгации антитела с мутацией N297Q или N297D на основе микробной трансглутаминазы (MTG) (MTG EC 2.3.2.13, Zedira, Дармштадт, Германия) (здесь “на основе MTG”). На первом этапе антитело с мутацией N297Q функционализируется с азидо-PEG₃-амином посредством ферментной реакции на основе MTG. См., например, Международную патентную заявку PCT № PCT/US17/19537, поданную 24 февраля 2017 года, содержание которой включается в настоящий документ полностью посредством ссылки во всех целях. На втором этапе алкин-функционализированная линкер-нагрузка присоединяется к азидо-функционализованному антителу посредством реакции [2+3] 1, 3–двухполярного циклоприсоединения с конъюгацией с азидо-функционализованным антителом, полученным посредством [2+3] циклизации). Данный процесс дает сайт-специфические и стоиоиметрические конъюгаты.

ПРИМЕР 5

[00440] Следующий пример описывает способ получения конъюгата азидо-функционализованное антитело-лекарственное средство, указанного в Таблице 7.



[00441] Агликозилированное антитело с изотопом человеческого IgG1 в BupH™ (pH 7.6–7.8) смешали с ≥ 200 моляр. эквивалентами азидо-dPEG₃-амин (MB 218.26 г/моль). Полученный раствор смешали с трансклутаминой (25 ед/мл; 5 ед МТГ на мг антитела), в результате чего получили итоговую концентрацию антитела в 0.5–3 мг/мл и затем раствор инкубировали при 37 °С в течение 4–24 часов при аккуратном встряхивании. Реакцию контролировали посредством SDS–PAGE или ESI–MS. По завершении реакции избыток амина и МТГ удалили посредством эксклюзионной хроматографии по размеру (SEC) и получили азидо-функционализованное антитело. Данный продукт проанализировали посредством SDS–PAGE и ESI–MS. Азидо-dPEG₃-амин добавили к двум сайтам – Q295 и Q297– антитела, что дало повышение 804 Да для конъюгата 4DAR агликозилированное антитело–PEG₃–азид.

[00442] Следующий пример демонстрирует способ выполнения сайт-специфической конъюгации лекарственного средства с антителом при помощи реакций клик-химии.

[00443] Сайт-специфические конъюгаты агликозилированное антитело-лекарственное средство с человеческим IgG1 с содержанием мутации N297Q приготовили посредством [2+3] клик-реакции между азидо-функционализованными антителами с алкин-содержащей линкер-нагрузкой. В частности, анти PRLR Ab–PEG₃–N₃ конъюгировали с **2b**, **2g**, **2l**, **2r**, или **2s**; и анти HER2 Ab–PEG₃–N₃ конъюгировали с **2b**, **2g**, **2l**, **2r**, или **2s**. Эти конъюгаты антитела против HER2 синтезировали для работы в качестве изотипического контроля в описанных далее анализах. Далее, для удобства, антитела против HER2 называются “изотипическими” антителами.

[00444] Далее описана подробная процедура конъюгации. Сайт-специфический конъюгат антитела с линкер-нагрузкой (**LP** или **2**) приготовили посредством инкубирования **mAb-PEG₃-N₃** (1–3 мг / мл) в водной среде (например, PBS, PBS с содержанием 5% глицерина, HBS) с ≥ 6 молярными эквивалентами **LP**, растворенными в подходящем органическом растворителе, таком как DMSO, DMF или DMA (т.е. реакционная смесь содержит 5-20% органический растворитель, об/об) при температуре от 24 °C до 37 °C на протяжении более 6 ч. Протекание реакции контролировали посредством ESI-MS, и отсутствие **mAb-PEG₃-N₃** означало завершение конъюгации. Излишнее количество **LP** и органического растворителя удалили посредством SEC через элюирование с PBS или посредством колоночной хроматографии на основе белка А через элюирование с кислым буфером с последующей нейтрализацией при помощи Tris (pH8.0). Очищенные конъюгаты проанализировали посредством SEC, SDS-PAGE и ESI-MS. В Таблице 7 приведен перечень стероидных антитело-конъюгатов от соответствующих LP, их молекулярный вес и значения ESI-DAR.

[00445] В конкретном примере на азидо-функционализованное антитело (1 мг) в 0.800 мл PBSg (PBS, 5% глицерин, pH 7.4) воздействовали 6-моляр. эквивалентами **2b** (конц. 10 мг/мл в DMSO) на протяжении 6 -12 часов при КТ и избыток линкер-нагрузки (LP) удалили посредством эксклюзионной хроматографии по размеру (SEC, Superdex 200 HR, GE Healthcare). Конечный продукт концентрировали посредством ультрацентрифугирования и характеризовали посредством UV, SEC, SDS-PAGE и ESI-MS.

ПРИМЕР 6

Характеризация ADC

[00446] Для анализа целостности и чистоты ADC применяют SDS-PAGE.

[00447] Согласно одному способу, условия проведения SDS-PAGE включают невосстановленные и восстановленные образцы (2–4 мкг) вместе с эталонным набором предокрашенных маркерных белков (Invitrogen, кат. № 10748–010; № партии 1671922.), которые помещают на дорожку в (1.0 мм x 10 лунок) Novex 4 – 20% трис-глициновом геле, и процесс выполняется при 180 В, 300 мА на протяжении 80 минут.

Невосстановленный образец готовят при помощи Novex трис-глицинового SDS буфера (2X) (Invitrogen, кат. № LC2676), а восстановленный образец готовят при использовании SDS буфера для образца (2X) с содержанием 10% 2-мекаптоэтанола.

[00448] Молекулярный вес антител и psADC при SDS-PAGE определяют для невосстанавливающих и восстанавливающих условий. Сдвиги массы могут быть

неочевидными в невозстанавливающих условиях из-за относительно малого процента изменений массы. Тем не менее, массы тяжелых цепей повышаются от голых антител до азидо-функционализированных антител и далее до конъюгата psADC. Может быть обнаружен или может быть не обнаружен материал с поперечной связью.

[00449] ADC анализируют на чистоту посредством эксклюзионной хроматографии по размеру (SEC).

[00450] Для определения чистоты конъюгатов антитело-лекарственное средство выполняют эксклюзионную хроматографию по размеру. Аналитические эксперименты SEC проводятся с использованием прибора Waters 600, на HR-колонке Superdex 200 (1.0 x30см), с расходом 0.80 мл/мин с использованием PBS pH 7.4, и контролируются на λ 280 нм с использованием Waters 2998 PDA. Образец для анализа состоит из 200 мкл PBS (pH 7.4) с 30–100 мкл исследуемого образца. Очистки препаративной SEC выполняют с использованием прибора АКТА от GE Healthcare, на колонке Superdex 200 PG (2.6x60 см), с расходом 2 мл/минс элюированием с PBSg при pH 7.4 и контролируют на λ 280нм.

[00451] Антитело и ADC анализируют посредством анализа массы исходного вещества при помощи LC–ESI–MS, что описывается далее.

[00452] Измерение массы исходного вещества для образцов ADC посредством LC–ESI–MS провели для определения профиля распределения лекарственного препарата-нагрузки и вычисления среднего отношения DAR. Каждый исследуемый образец (20-50 нг, 5мкл) поместили в колонку Acquity UPLC Protein BEH C4 (10K psi, 300 Å, 1.7 мкм, 75мкм × 100 мм; кат. № 186003810). После 3 мин обессоливания белок был элюирован и масс-спектры были получены при помощи масс-спектрометра Waters Synapt G2–Si.

[00453] В Таблице 7 приведен перечень конъюгатов будесонид-спейсер-линкер - антитело от соответствующих LPs (2b, 2g, 2l, 2r, и 2s), их молекулярный вес голых антител, азидо-функционализированных антител, LP и стероидных ADC, а также значений ESI-DAR. В Таблице Ab означает антитело, Ab–N₃ означает азидо-функционализированное антитело, а Ab-стероидные конъюгаты означают нецитотоксические стероидные антитело-конъюгаты с соответствующими LP. Как указано в Таблице 7, большинство сайт-специфических ADC имеют 4DAR.

Таблица 7.

LP (ЛН)		Ab, Ab–N ₃ , или Ab-стероидные конъюгаты		
EX	МС м/з	Название	МВ (Да)	DAR

LP (ЛН)		Ab, Ab-N ₃ , или Ab-стероидные конъюгаты		
EX	МС м/з	Название	МВ (Да)	DAR
		Анти-PRLR Ab	144602	-
PEG ₃ -N ₃	218.3	Анти-PRLR Ab -N ₃	145385	4
2b	1369.7	Анти- PRLR Ab- 2b	150894	4
2g	1426.7	Анти- PRLR Ab- 2g	151097	4
2l	1373.7	Анти- PRLR Ab- 2l	150884	4
2r	729.8	Анти- PRLR Ab- 2r	148330	4
2s	809.8	Анти- PRLR Ab- 2s	148623	4
		Анти-HER2 (изотипическое) Ab	145126	-
PEG ₃ -N ₃	218.3	Изотипическое Ab - N ₃	145930	4
2b	1369.7	Изотипическое Ab- 2b	151439	3.8
2g	1426.7	Изотипическое Ab- 2g	151652	4
2l	1373.7	Изотипическое Ab- 2l	151445	3.9
2r	729.8	Изотипическое Ab – 2r	148876	4
2s	809.8	Изотипическое Ab- 2s	149169	4

ПРИМЕР 7

[00454] Для анализа активации ГР будесонидом и описанных здесь стероидов в зависимости от времени провели клеточный анализ репортерного гена люциферазы ко-активатора глюкокортикоидного рецептора (ГР).

[00455] Для создания клеточной линии для анализа была сконструирована клеточная линия HEK293 для экспрессии человеческого полноразмерного PRLR. Затем такую стабильную клеточную линию далее трансфицировали pBIND-ГР вектором (Кат. № E1581, Promega) и pGL4.35 [Luc2P/9xGAL4UAS/Hygro] вектором (Кат. № E1370, Promega), чтобы ген люциферазы транскрибировался при стероидном связывании на ГР. Полученная стабильная клеточная линия называется здесь HEK293/PRLR/GRE-Luc.

[00456] Активность стероидов в клетках HEK293/PRLR/GRE-Luc изучали через 24, 48 и 72 часа инкубирования после добавления исследуемых реактивов. Для данного

анализа 20000 клеток посеяли на 96-луночные планшеты в среду с содержанием DMEM, дополненную 10% FBS и пенициллином/стрептомицином (полная среда) и культивировали на протяжении ночи при 37°C в 5% CO₂. Для создания кривых ответов на дозы свободных стероидов и/или их ncADC последовательно разбавленные реактивы от 100 нМ до 5.1 пМ добавили к клеткам и инкубировали на протяжении 24, 48 и 72 часов при 37°C. Активность люциферазы определяли добавлением 100 мкл реактива One-Glo™ (Promega, кат. № E6130), инкубирования при комнатной температуре на протяжении 5 минут, относительные световые единицы (ОСЕ) измерили на люминометре Victor (Perkin Elmer).

[00457] На первом этапе анализа анти-PRLR Ab ncADC (Anti-PRLR Ab-2r, Anti-PRLR Ab-2s и Anti-PRLR Ab-2b), изотип. Ab ncADC (изотип. Ab-2r, изотип. Ab-2s и изотип. Ab-2b) и свободную нагрузку будесонида проанализировали в ходе анализа клеток HEK293/PRLR/GRE-Luc с использованием описанного выше протокола с инкубированием в течение 24, 48 или 72 часов в ходе одного этапа анализа. На втором этапе анализа анти-PRLR Ab ncADC (анти-PRLR Ab-2b, анти-PRLR Ab-2l, и анти-PRLR Ab-2g), изотип. Ab ncADC (изотип. Ab-2b, изотип. Ab-2l и изотип. Ab-2g), только антитела (анти-PRLR Ab и изотип. Ab) и свободную нагрузку будесонида проанализировали в ходе клеточного анализа HEK293/PRLR/GRE-Luc с использованием описанного выше протокола с инкубированием в течение 72 часов. Значения EC₅₀ определили с использованием четырехпараметрического логистического уравнения по 10-точечной характеристике с применением GraphPad Prism. Доставка стероидов обуславливала активацию репортера Luc в клетках HEK293/PRLR/GRE-Luc.

[00458] ФИГ. 1А-С и Таблица 8 иллюстрируют результаты первого этапа анализа. Как показано на ФИГ.1А-С, конъюгат **анти-PRLR Ab-2b** индуцировал активацию клеток HEK293/PRLR/GRE-Luc через 24, 48 и 72 часа, при этом значение EC₅₀ было менее ≤ 10 нМ во всех трех временных точках и была показана >15-кратная селективность в отношении контрольного изотип.-Ab-2b. Конъюгат анти-PRLR Ab-2s индуцировал активацию в клетках HEK293/PRLR/GRE-Luc через 24, 48 и 72 часа, тем не менее, он не показал селективность в отношении контрольного изотип.-2s. Конъюгат анти-PRLR Ab-2r индуцировал активацию в клетках 293/PRLR/GRE-Luc с <5-кратной селективностью через 24 и 48 часов, но повысил активацию только через 72 часа с EC₅₀ в 13.4 нМ.

[00459] На втором этапе анализа, что показано на ФИГ.2 и в Таблице 9, конъюгат **анти-PRLR Ab-2b** индуцировал активацию в клетках HEK293/PRLR/GRE-Luc, с EC₅₀ в 0.48 нМ и показал приблизительно 14-кратную селективность в отношении контрольного

изотип.-Ab-2b. Конъюгат **анти-PRLR Ab-2g** индуцировал активацию в клетках HEK293/PRLR/GRE-Luc с EC₅₀ в 1.9 нМ с приблизительно 3.7-кратной селективностью в отношении контрольного **изотип.-Ab-2g**. Конъюгат **анти-PRLR Ab-2l** индуцировал активацию в клетках HEK293/PRLR/GRE-Luc с EC₅₀ в 8.98 нМ, при этом **изотип.-Ab-2l** не продемонстрировало активацию в ходе этого анализа.

Таблица 8.

Молекула	HEK293/PRLR/GRE-Luc клетки		
	EC ₅₀ (24 ч)	EC ₅₀ (48 ч)	EC ₅₀ (72 ч)
Анти-PRLR Ab-2s	0.9078	0.4239	0.4823
Анти-PRLR Ab-2r	34.98	18.33	13.35
Анти-PRLR Ab-2b	1.225	0.4674	0.4291
Изотипическое Ab-2s	1.461	0.6594	0.4904
Изотипическое Ab-2r	109.2	64.01	310.9
Изотипическое Ab-2b	15.04	8.201	5.243
1a	0.5732	0.5679	1.043

Таблица 9.

Стероидные ADC	HEK293/PRLR/GRE-Luc клетки EC ₅₀ (нМ) через 72 часа
Анти-PRLR Ab-2b	0.29
Анти-PRLR Ab-2l	8.98
Анти-PRLR Ab-2i	>90.9
Анти-PRLR Ab-2g	1.90
Изотипическое Ab-2b	4.16
Изотипическое Ab-2l	НА
Изотипическое Ab-2i	НА
Изотипическое Ab-2g	7.11
Будесонид (1a)	5.42
Анти-PRLR Ab	НА
Изотипическое Ab	НА

где НА означает неактивное

ПРИМЕР 8

[00460] Данный пример описывает мышиную модель ЛПС-индуцированного высвобождения цитокинов.

[00461] Цель настоящего исследования заключается в том, чтобы проанализировать исследуемые соединения в плане ингибирования ЛПС-индуцированного высвобождения цитокинов у мышей. Исследуемые соединения вводят за 48 ч, 24 ч и 2 ч до анализа с ЛПС, уровни цитокинов в образцах крови, включая TNF- α и IL6, измерили через 2 ч и 4 ч после анализа с LPS.

[00462] Материалы и реактивы

[00463] Липополисахарид (ЛПС), полученный от E. Coli K12, можно купить в Invivogen (Сан-Диего, штат Калифорния, США, кат. № Tlrl-eklps), Дексаметазон можно приобрести в ADAMAS (Эмеривилл, штат Калифорния, США, кат. № 50-02-2). Набор TNF- α ELISA мыши можно приобрести в ebioscience (ThermoFisher Scientific, кат. №88-7324). Набор IL6 ELISA мыши можно приобрести в ebioscience (ThermoFisher Scientific, кат. №88-7064).

[00464] Экспериментальные методы

[00465] Животные:

[00466] В данном исследовании использовали всего 18 мышей C57BL/6j, ранее не получавших никаких препаратов. Эти животные были самцами, с весом тела в 18-20 г в начале исследования. Животных приобрели в Shanghai Laboratory Animal Center, CAS (SLAC), и поместили в виварий ChemPartner в свободную от патогенной флоры среду. После прибытия животных проверили в плане состояния здоровья, включая шерстный покров, конечности, отверстия и аномальные признаки в позе или движениях, их акклиматизация к среде длилась более 7 дней.

[00467] Животных поместили по 3 мыши в клетку из поликарбоната с индивидуальной вентиляцией в свободную от патогенной флоры среду; средства регулирования среды в клетках были настроены на поддержание температуры в 20-26°C, влажности в 40-70% и на цикл 12-часового освещения/12-часовой темноты.

[00468] Стандартный корм (SLAC-M01, из Shanghai Laboratories Animal Center) и очищенную воду (фильтрованную воду качества воды для городского потребления) обеспечивали *ad libitum* на всем протяжении периода исследования.

[00469] Экспериментальные процедуры

[00470] Разделение на группы: Животных в случайном порядке распределили по 6 группам (A-F) до начала исследования. Каждая группа включала 3 мыши. Группа А служила в качестве наивной контрольной группы; Группа В получала дексаметазон и служила положительным контролем; Группа С получала исследуемое соединение, и Группы D-F получали исследуемые соединения.

[00471] Процедура эксперимента

[00472] Все мыши получили ЛПС, растворенный в PBS, с дозой в 0.5мг/кг посредством внутрибрюшинной инъекции. Мыши в группе А получили PBS, мыши в группе В получили Dex (5мг/кг) и мыши в группе С получили 4b (5мг/кг) посредством внутрибрюшинной инъекции, за 2 часа до провокации ЛПС; мыши в группе D, E и F получили дозу в 5мг/кг посредством внутрибрюшинной инъекции, за 2 ч, 24 ч и 48 ч до провокации ЛПС, соответственно.

[00473] Образцы крови взяли через 2 ч и 4 ч после провокации ЛПС, в пробирки с гепарином. Образцы крови центрифугировали, взяли образцы плазмы и хранили их при - 80 °C до проведения анализа.

[00474] Уровни TNF α в плазме измерили с использованием наборов ELISA в соответствии со стандартными процедурами. Измерили различные PK параметры (например, T_{макс}, C_{макс}, предел. t_{1/2}, AUC_{посл} и AUC_{INF}).

[00475] Образцы крови взяли через 2 ч после провокации LPS; измерили уровни TNF- α в плазме. Данные выразили как среднее $\pm$ SEM (средняя погрешность среднего), *p<0.05, **p<0.01 vs Группа А, посредством однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA).

ПРИМЕР 9

Дендритные клетки мышей

[00476] Чтобы определить влияние исследуемого соединения на *ex-vivo* ЛПС-индуцированные воспалительные иммунные ответы, CD11c⁺ дендритные клетки (ДК) выделили из селезенки мышей C57Bl/6 дикого типа (Jackson Labs, Протокол №426.0). ДК из селезенки выделили с использованием расщепления Коллагеназой D (400ед/мл

коллагеназы D (Roche кат. №11088858001), 20 г/мл ДНКазы I (Roche кат. №10104159001), 2% FCS в HEPES-буферизованной RPMI-1640) и инкубировали при 37 °C на протяжении 25 минут. После инкубирования ткань селезенки промыли RPMI-1640 и отфильтровали через 70 мкм фильтр, затем выполнили лизис эритроцитов с использованием буфера для лизиса ACK (Gibco кат. № A1049201) в течение 1 минуты. Клеточную суспензию в последующем промыли дважды с использованием RPMI-1640. Классические ДК выделили из суспензии мононуклеарных клеток с использованием магнитных микрогранул CD11c (Milteny Biotec кат. № 130108338). Если описать процесс вкратце, клеточную суспензию промыли дважды с использованием подвижного буфера autoMACS (Milteny Biotec кат. № 130091221) до 30-минутной инкубации при 4 °C с CD11c⁺ микрогранулы, в соответствии с утвержденными протоколами Milteny Biotec. CD11c⁺ клетки выделили посредством позитивной селекции, промыли, суспендировали в полной среде RPMI [RPMI-1640 (ThermoFisher Scientific, кат. № 15140122) с содержанием 10% FBS (ThermoFisher Scientific, кат. № 10082147) и 1% пенициллина-стрептомицина (ThermoFisher Scientific, кат. № 11875093)] и выполнили количественный анализ перед культивированием 2x10⁵ клеток на лунку. Контрольную полную среду RPMI, полную среду RPMI с соединением Формулы (III) (при 10нМ и 100нМ) или полную среду RPMI с дексаметазоном (Sigma, кат. № D4902-25мг) (с 10нМ и 100нМ) добавили к клеткам в 96-луночную чашку для культивирования. ДК/контроль, клетки, на которые воздействовали исследуемым соединением или дексаметазоном, инкубировали на протяжении 24 часов при 37 °C перед стимуляцией с использованием 10нг/мл LPS на протяжении 24 часов.

Дендритные клетки человека

[00477] Чтобы определить влияние исследуемого соединения на *ex-vivo* ЛПС-индуцированные воспалительные иммунные ответы в клетках врожденной иммунной системы человека, CD14⁺ моноциты (Lonza кат. №2W-400C) выделяют и культивируют в присутствии полной среды RPMI [RPMI-1640 (ThermoFisher Scientific, кат. №15140122) с содержанием 10% FBS (ThermoFisher Scientific, кат. №10082147) и 1% пенициллина-стрептомицина (ThermoFisher Scientific, кат. №11875093)], дополненной человеческим IL4 (50нг/мл) (Milteny Biotec, кат. №130-093-922) и человеческим GM-CSF (100 нг/мл) (Milteny Biotec, кат. №130093866) на протяжении 7 дней. Полную среду RPMI с IL4 и GM-CSF меняют каждые три дня. Создают два специфических условия культивирования: Условие 1: Инкубирование CD14⁺ моноцитов с контрольной полной средой RPMI, полной средой RPMI с исследуемым соединением (с 10 нМ и 100 нМ) или полной средой с RPMI с дексаметазоном (Sigma) (с 10нМ и 100 нМ) на протяжении 7 дней культивирования или

Условие 2: Инкубирование CD14⁺ моноцитов с контрольной полной средой RPMI на протяжении 5 дней перед инкубированием с контрольной полной средой RPMI, полной средой RPMI с исследуемым соединением (с 10 нМ и 100 нМ) или полной средой RPMI с дексаметазоном (Sigma, кат. №D4902-25mg) (с 10нМ и 100 нМ) до дня 7. На день 7 различные экспериментальные группы стимулируют 10 нг/мл ЛПС на протяжении 24 часов.

Измерение цитокинов в супернатантах через 24 часа после воздействия LPS ex vivo

[00478] Супернатанты собирают в 96-луночные планшеты для тканевых культур с круглым дном через 24 часа после провокации ЛПС и хранят при -20 °C до проведения дальнейшего анализа. Концентрации цитокинов в супернатантах измеряют с использованием набора для иммунологического анализа Pro-inflammatory Panel 1 (mouse) multiplex immunoassay kit (MesoScale Discovery, кат. №K15048D) в соответствии с инструкциями производителя или набора для иммунологического анализа Pro-inflammatory Panel 1 (human) multiplex immunoassay kit (MesoScale Discovery, кат. №K15049D). Если описать процесс вкратце, 50 мкл/лунку калибровочных маркеров и образцов (разбавленных в Разбавителе 1:2) добавляют на планшеты с предварительным нанесением иммобилизованных антител и инкубируют при комнатной температуре при встряхивании с частотой 700 об/мин в течение 2 часов. Затем планшеты промывают 3 раза при использовании 1хPBS с содержанием 0.05% (в/об) Tween-20, с последующим добавлением 25 мкл раствора для детекции антител, разбавленного в Разбавителе 45. После 2-часового инкубирования при комнатной температуре при встряхивании планшеты промывают 3 раза и в каждую лунку добавляют 150 мкл 2х буфера считывания. Затем немедленно определяют электрохемилюминесценцию на приборе MSD Spector[®]. Анализ данных выполняется с использованием программного обеспечения GraphPad Prism[™]. Статистическую значимость в группах определяют посредством однофакторного Анова с рассчитанными апостериорным критерием множественного сравнения Turkey и стандартной погрешностью среднего (SEM±). Измеряют производство IL12p70, IL1β, IL6, KC-GRO и TNF-α при помощи CD11c⁺ ДК. Измеряют экспрессию IL12p70, IL1β, IL6, и TNF-α ДК, полученными от человеческих моноцитов.

ПРИМЕР 10

Стабильность в плазме 103a

[00479] Стабильность в плазме можно измерить в соответствии со следующим протоколом.

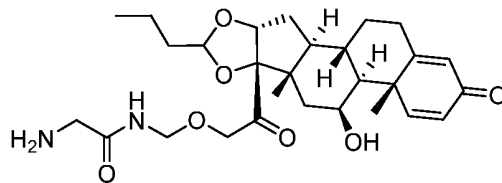
[00480] Предварительно нагретый 0.05 М фосфат натрия и 0.07 М NaCl буфер, pH 7.4: 14.505 г/л $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 1.483 г/л $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и 4.095 г/л NaCl растворили в деионизированной воде. Основной раствор затем титровали фосфорной кислотой до pH 7.40 и хранили в охлажденном состоянии до 7 дней. pH проверили в день эксперимента и корректировали, если внешние характеристики составляли 7.4 ± 0.1 .

[00481] Подготовка плазмы: замороженную плазму оттаивали при температуре 37 °C. Плазму центрифугировали при 3000 об/мин на протяжении 8 минут для удаления сгустков, пипетировали и супернатант собрали в качестве плазмы, которая будет использоваться в эксперименте. pH плазмы проверили и записали и плазму применяли только в диапазоне pH от 7.4 до 8. Если уровень pH превышал 8, плазму утилизировали. Первоначальный уровень pH плазмы не корректировали до pH 7.4 при помощи кислоты или посредством барботирования CO_2 . При использовании инкубатора 5% CO_2 и PBS буфера pH of 7.4 достигли спустя 4 часа равновесного диализа. Плазму положили на лед до использования.

[00482] Раствор добавки исследуемых соединений и эталонных соединений. 0.5 mM раствор добавки исследуемых соединений A: 10 мкл 10 mM исходного раствора исследуемых соединений добавили к 190 мкл DMSO. 0.02 mM раствор добавки B: 40 мкл раствора добавки A добавили к 960 мкл 0.05 mM буфера фосфата натрия с 0.5% BSA.

[00483] Плазму и раствор добавки B предварительно нагревали при 37 °C в течение 5 мин. 10 мкл предварительно нагретого раствора добавки B добавили в лунки, выбранные для всех временных точек (0, 0.25, 1, 8, 24 ч). Для 0-мин 400 мкл ACN с содержанием IS добавили в лунки планшета 0-мин и затем добавили 90 мкл плазмы. 90 мкл предварительно нагретой плазмы добавили в лунки, назначенные для временных точек (0.25, 1, 8, 24 ч) и запустили отсчет времени. По истечении 0.25, 1, 8, 24 ч 400 мкл ACN с содержанием IS добавили в лунки соответствующих планшетов, соответственно, чтобы остановить реакцию. После охлаждения планшеты встряхивали на вибраторе (IKA, MTS 2/4) на протяжении 10 мин (600 об/мин) и затем центрифугировали с 5594 g в течение 15 мин (Thermo Multifuge × 3R). 50 мкл супернатанта из каждой лунки перенесли на 96-луночный планшет образцов с содержанием 50 мкл ультра чистой воды (Millipore, ZMQS50F01) для анализа LC/MS.

[00484] Данные стабильности в человеческой плазме для соединения **103a** показаны в нижеприведенной таблице.



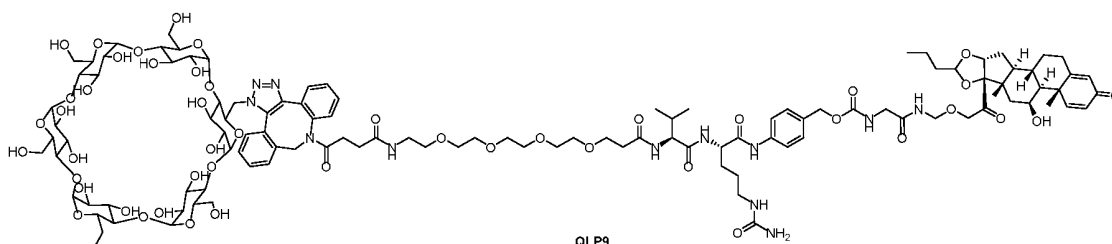
Исследуемый образец	Оставшийся процент (%)					T _{1/2} (ч)
	0ч	0.25ч	1ч	8ч	24ч	
Прокаин	100.00	НПКО	НПКО	НПКО	НПКО	<0.25
103a	100.00	107.04	96.48	78.87	38.03	16.79
Отношение площадей						
Будесонид, высвобожденный из 103a	0.054	0.052	0.042	0.047	0.049	

НПКО: ниже предела количественного обнаружения

ПРИМЕР 11

Стабильность pH линкер-нагрузки

[00485] Поскольку растворимость нагрузки **103a,b** и их линкер-нагрузок **LP9,10** низкие (< 0.02 мг/мл вод. DMSO (20%)), стабильность pH этих соединений не анализировалась. **LP9** охладил при помощи CD-N₃ и получили следующее соединение **QLP9**, которое было растворимо в воде и использовалось для теста на стабильность pH.



[00486] **Синтез соединения QLP9:** К раствору **LP9** (5 мг, 3.4 мкмоль) в DMF (1.0 мл) добавили соединение CD-N₃ (7.0 мг, 6.8 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ на протяжении ночи, что контролировали посредством LCMS. Реакционную смесь очистили напрямую при rper-HPLC и получили соединение **QLP9** (5 мг, 60% выход) в виде белого твердого вещества. ESI m/z: 819.0 (M/3 + H)⁺.

[00487] **pH стабильность в буферах:** Стабильность **QLP9** в DMSO, pH 5.0, 7.4 и 8.5 PBS буферах (с содержанием 20% DMSO) проанализировали, и соединение оказалось стабильным в таких растворах спустя 7 дней.

ПРИМЕР 12

Клеточный анализ репортерного гена люциферазы глюкокортикоидного рецептора (ГР)

[00488] Для анализа активности агониста ГР описанных здесь соединений применили клеточный анализ репортерного гена люциферазы ГР. В ходе данного анализа использовали следующие материалы.

	Информация о векторе (если применяется))
Клетки HEK293	ATCC, кат. № CRL-1573
HEK293/UAS-Luc/pBIND GR	
Питательная среда: DME с высоким содержанием глюкозы, 10% FBS, 100 ед/мл пенициллина, 100 мг/мл, стрептомицин, 53 мкг/мл глутамина, 100 мкг/мл гигромицина, 500 мкг/мл G418	
DME с высоким содержанием глюкозы, 500 мл	Irvine Scientific #9033
Фетальная бычья сыворотка	Saradigm # 1500-500
L-глутаминовый раствор пенициллина-стрептомицина 100X	Gibco # 10378-016
Вектор pGL4.35[luc2p/9XGAL 4UAS/гигро]	Promega, кат. № E137A
Вектор pBIND-GR, селективный маркер представляет собой неомицин	Promega, кат. № E158A
Гигромицин-B 100 мг/мл	InvivoGen # ant-hg-5
G418 100 мг/мл	GIBCO #11811-098
96-луночный планшет для иммуноанализа Nunclon delta, стерильный, белый, с плоским дном	Thermo Scientific # 13610
Среда для анализа: Та же, что и питательная среда	
DMSO диметиламин сульфоксид, для культивирования клеток	ATCC. #4-x.
ONE Glo	Promega, кат. № E6130
Прибор	Планшетный ридер Envision, Perkin Elmer
Планшеты для разведения	Axygen Scientific, кат. № P-DW-11-C-S
Трипсин-EDTA	Millipore кат. №SM-2004-C
PBS IX без солей кальция и магния	Irvine Scientific # 9240
Исследуемое соединение 1a	Sigma/1278201 /RO36WO

	Информация о векторе (если применяется)
Исследуемое соединение 100	
Исследуемое соединение 105a	
Исследуемое соединение 103a	
Исследуемое соединение 103b	
Исследуемое соединение Дексаметазон	Sigma/D1756-25MG/BCBV3214

[00489] Для получения клеточной линии для анализа клетки HEK293 ко-трансфицировали векторами pBind-GR (Promega, кат. № *E158A*) и pGL4.35 [Luc2P/9xGAL4UAS/гигро] (Promega, кат. № *E137A*). Вектор pBind-GR экспрессирует слитый белок, состоящий из дрожжевого Gal4DNA-связывающего домена и ГР лиганд-связывающего домена, который может связываться с активирующей последовательностью (АП) Gal4 в векторе экспрессии люциферазы и индуцировать экспрессию люциферазы после связывания с агонистом ГР. Селекцию клеток выполняли на протяжении минимум 2 недель в G418 + гигромицин. Полученная клеточная линия называется HEK293/UASLuc/pBIND-GR.

[00490] Клетки посеяли в 96-луночные планшеты (20000 клеток/лунка) в среду для анализа (DME с высоким содержанием глюкозы, дополненной 10% FBS, 100 ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 53 мкг/мл глутамина, 500 мкг/мл G418 и 100 мкг/мл гигромицина) за один день до анализа. Трехкратные последовательные разведения исследуемых соединений приготовили в 100% DMSO, перенесли в свежую среду для анализа и добавили к клеткам. Итоговую концентрацию DMSO поддерживали на постоянном уровне в 0.2%, а итоговые концентрации исследуемых соединений варьировались от 100 нМ до 0.015 нМ. Последняя лунка в планшете служила пустой контрольной пробой, содержащей только среду для анализа, и 0.2% DMSO (необработанная лунка), и для нее был построен график как продолжение 3-кратного последовательного разведения.

[00491] Через сорок восемь часов активность люциферазы определили после добавления реактива One-Glo™ (Promega, кат. № E6130). Относительные световые единицы (ОСЕ) измерили на люминометре Envision (PerkinElmer), а значения EC₅₀ определили с использованием четырехпараметрического логистического уравнения по десятиточечной кривой ответа на дозу (GraphPad Prism). Отношение сигнала к шуму

(С/Ш) определили при помощи отношения макс. ОСЕ на кривой ответа на дозу к ОСЕ в необработанных лунках.

[00492] Как показано в нижеприведенной таблице, значения EC_{50} варьировались от 51.8 пМ до 3.24 нМ, а значения С/Ш варьировались от 12.4 до 17.3. Исследуемое соединение **100** оказалось в 5.6 раз более эффективным по сравнению с **1a** (будесонидом) и в 5.9 раз более эффективным по сравнению с Дексаметазоном. Спейсерное присоединение к **1a** для получения **103a** дало значения EC_{50} , сопоставимые с **1a**. Аналогичным образом, спейсерное присоединение к **100** для получения **103b** дало значения EC_{50} , сопоставимые с **100**. Спейсерное присоединение к **100** для получения **105a** дало значения EC_{50} , которые были в 2.7 раз менее эффективными по сравнению с **100**. Значения С/Ш были сопоставимыми для всех исследуемых соединений.

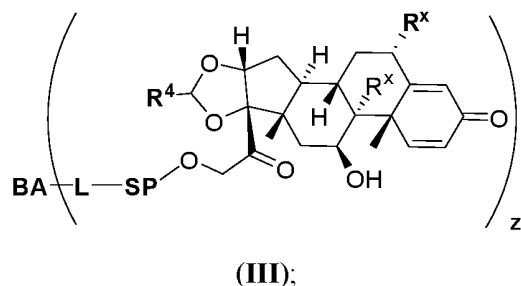
Активность репортера ГР под воздействием агонистов ГР

Исследуемое соединение	EC_{50} (М)	С/Ш
Дексаметазон	3.24E-09	17.3
1a	3.06E-10	15.3
103a	4.84E-10	14.6
100	5.47E-11	14.5
103b	5.18E-11	16.6
105b	1.49E-10	12.4

[00493] Описанные выше варианты осуществления и примеры даны исключительно в иллюстративных целях и являются неограничивающими. Специалистам в данной области известны способы выполнения стандартной экспериментальной работы, множество эквивалентов конкретных соединений, материалы и процедуры. Считается, что все такие эквиваленты входят в пределы объема приложенной формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

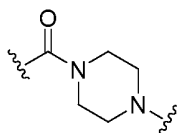
1. Соединение Формулы (III):



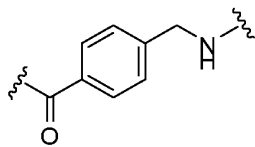
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,

где:

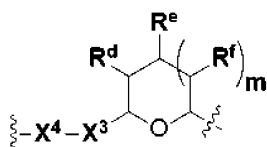
R⁴ представляет собой алкил, арил, ариалкил или N-содержащий гетероциклоалкил; оба **R^x** представляют собой водород; и **SP** представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-**X¹**-, где **X¹** присоединяется к **L** в Формуле (III), -C(O)-N(H)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-, где S присоединяется к **L** в Формуле (III), -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-, где S присоединяется к **L** в Формуле (III),



, где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет собой к **L** в Формуле (III), -CH₂-NH-, где N присоединяется к **L** в Формуле (III),



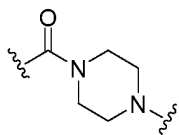
, где N присоединяется к **L** в Формуле (III), -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III), -C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III), и где в каждом случае C₁-C₁₀-алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидроксигруппами, -C(O)-N(**R⁵**)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)NH-**X²**-, где **X²** присоединяется к **L** в Формуле (III), или



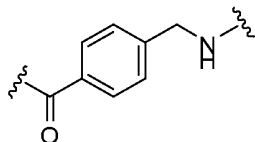
где **X⁴** присоединяется к **L** в Формуле (III); или

оба **R^x** представляют собой фтор; и **SP** представляет собой -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-**X^{1b}**-, где **X^{1b}** присоединяется к **L** в Формуле (III),

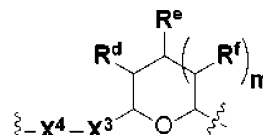
$-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-X^{1b}$ -, где X^{1b} присоединяется к **L** в Формуле (III),



где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет собой к **L** в Формуле (III), $-CH_2-NH-$, где N присоединяется к **L** в Формуле (III),



где N присоединяется к **L** в Формуле (III), $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III), $-C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}$ -, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III) и где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси, $-C(O)-N(R^5)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-$



$C(O)NH-X^2$ -, где X^2 присоединяется к **L** в Формуле (III), или

где X^4 присоединяется к **L** в Формуле (III); и

X^1 представляет собой $-N(C_{1-6}\text{алкил})-$;

X^{1b} представляет собой $-S-$, $-NH-$ или $-N(C_{1-6}\text{алкил})-$;

X^2 представляет собой $-NH-$;

X^3 представляет собой $-CH_2-$, X^3 представляет собой $-CH_2-O-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-C(O)-$, где $C(O)$ присоединяется к X^4 или X^3 представляет собой $-C(O)-$;

X^4 представляет собой $-O-$;

R^5 представляет собой H, $-OH$, $-OCH_3$ или C_{1-6} алкил;

R^{50} и R^{50a} представляет собой независимо водород или C_1-C_6 -алкил;

R^d , R^e и R^f представляет собой независимо $-H$, $-OH$, гидроксипалкил, алкоксикарбонил, $-C(O)OH$ или $-CH_2OR^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-CH_2C(O)OH$ или $-CH_2C(O)O(\text{алкил})$; и

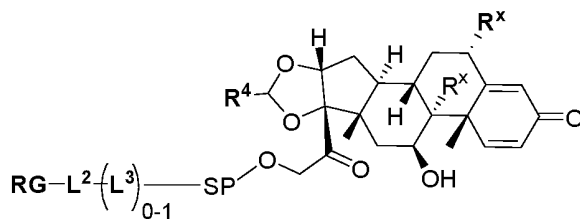
m представляет собой 0 или 1;

z представляет собой целое число, выбранное из 1-30, включительно;

L представляет собой линкер; и

ВА представляет собой связующий агент.

2. Соединение Формулы (II):



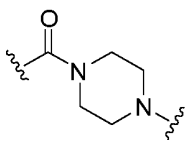
(II);

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,

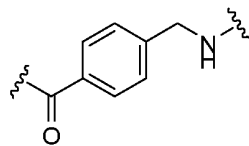
где:

R⁴ представляет собой алкил, арил, ариалкил или N-содержащий гетероциклоалкил;

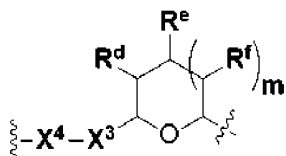
оба **R⁵** представляют собой водород; **SP** is -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-**X¹**-, где **X¹** присоединяется к (**L³**)₀₋₁ в Формуле (II), -C(O)-N(H)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-, где S присоединяется к (**L³**)₀₋₁ в Формуле (II), -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-(C₁-C₁₀-алкилен)-S-, где S присоединяется к (**L³**)₀₋₁



в Формуле (II), где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет собой к (**L³**)₀₋₁ в Формуле (II), -CH₂-NH-, где N присоединяется к

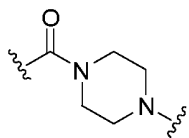


(**L³**)₀₋₁ в Формуле (II), где N присоединяется к (**L³**)₀₋₁ в Формуле (II), -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к (**L³**)₀₋₁ в Формуле (II), -C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-, где NR^{50a} присоединяется к (**L³**)₀₋₁ в Формуле (II) и где в каждом случае C₁-C₁₀-алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидроксидными, -C(O)-N(R⁵)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)NH-**X²**-, где **X²** присоединяется к (**L³**)₀₋₁ в Формуле

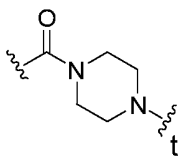


(II), или где **X⁴** присоединяется к **L³** в Формуле (II); или

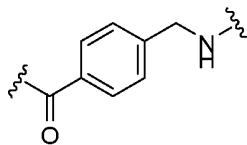
оба **R⁵** представляют собой фтор; **SP** is -C(O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(O)-, -C(O)-N(C₁₋₆алкил)-C₁-C₁₀-алкилен-**X^{1b}**-, где **X^{1b}** присоединяется к (**L³**)₀₋₁ в Формуле (II), -C(O)-N(H)-(C₁-C₁₀-алкилен)-**X^{1b}**-, где **X^{1b}** присоединяется к (**L³**)₀₋₁ в Формуле (II),



где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет



собой к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), to L, $-CH_2-NH-$, где N присоединяется к



$(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), где N присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле

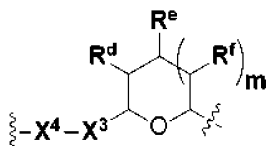
(II), $-(C_1-C_{10}-алкилен)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-алкилен)-NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется

к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $-C(O)-(C_1-C_{10}-алкилен)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-алкилен)-NR^{50a}-$,

где NR^{50a} присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II) и где в каждом случае C_1-C_{10} -

алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси,

$-C(O)-N(R^5)-(C_1-C_{10}-алкилен)-C(O)NH-X^2-$, где X^2 присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в



Формуле (II), или

где X^4 присоединяется к $(L^3)_{0-1}$ в Формуле

(II); и

X^1 представляет собой $-N(C_{1-6}алкил)-$;

X^{1b} представляет собой $-S-$, $-NH-$ или $-N(C_{1-6}алкил)-$;

X^2 представляет собой $-NH-$;

X^3 представляет собой $-CH_2-$, X^3 представляет собой $-CH_2-O-(C_1-C_{10}-алкилен)-C(O)-$, где $C(O)$ присоединяется к X^4 или X^3 представляет собой $-C(O)-$;

X^4 представляет собой $-O-$;

R^5 представляет собой H, $-OH$, $-OCH_3$ или C_{1-6} -алкил;

R^{50} и R^{50a} представляет собой независимо водород или C_1-C_6 -алкил;

R^d , R^e и R^f представляет собой независимо $-H$, $-OH$, гидроксиалкил, алкоксикарбонил, $-C(O)OH$ или $-CH_2OR^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-CH_2C(O)OH$ или $-CH_2C(O)O(алкил)$; и

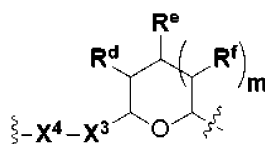
m представляет собой 0 или 1;

RG представляет собой реактивная группа;

L^2 представляет собой соединительный линкер; и

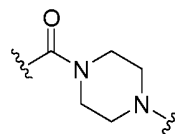
L^3 , если имеется, представляет собой саморасщепляющийся линкер.

3. Соединение по пункту 1 или 2, где R^4 представляет собой линейный или разветвленный алкил.
4. Соединение по пункту 1 или 2, где R^4 представляет собой арил.
5. Соединение по пункту 1 или 2, где R^4 представляет собой ариалкил.
6. Соединение по пункту 1 или 2, где R^4 -N-содержащий гетероциклоалкил.
7. Соединение по любому из пунктов 1-6, где R^4 представляет собой в R-конфигурации.
8. Соединение по любому из пунктов 1-7, где
оба R^x представляют собой водород; и SP is $-C(O)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)-$, $-C(O)-N(C_{1-6}$ алкил)- C_1-C_{10} -алкилен- X^1- , где X^1 присоединяется к L в Формуле (III) или $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $S-$, где S присоединяется к L в Формуле (III) или $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $-C(O)-N(C_{1-6}$ алкил)- $(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $S-$, где S присоединяется к L в Формуле (III) или $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к L в Формуле (III) или $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $-C(O)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50a}-$, где NR^{50a} присоединяется к L в Формуле (III) или $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II) и где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси-, $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)NH-X^2-$, где X^2 присоединяется к L в Формуле (III)



или $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), или $-X^4-X^3$ где X^4 присоединяется к L в Формуле (III) или $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II); или

оба R^x представляют собой фтор; и SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-6}$ алкил)- C_1-C_{10} -алкилен- $X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется к L в Формуле (III) или $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $X^{1b}-$, где X^{1b} присоединяется



к L в Формуле (III) или $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), где точка присоединения на правой стороне (т.е. на N) представляет собой к L в Формуле (III) или $(L^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50a}-$, где

NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (II), $-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен})-\text{NR}^{50a}$, где NR^{50a} присоединяется к **L** в Формуле (III) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (II) и где в каждом случае $\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен}$ независимо и опционально замещается одной или несколькими гидроксигруппами, или $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^5)-(\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен})-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{X}^2$, где X^2 присоединяется к **L** в Формуле (III) или $(\text{L}^3)_{0-1}$ в Формуле (II).

9. Соединение по любому из пунктов 1-8, где **SP** представляет собой $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен}-\text{C}(\text{O})-$.

10. Соединение по любому из пунктов 1-9, где **SP** представляет собой $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_2-\text{C}_5\text{-алкилен}-\text{C}(\text{O})-$.

11. Соединение по любому из пунктов 1-10, где **SP** представляет собой $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$.

12. Соединение по любому из пунктов 1-8, где **SP** представляет собой $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^5)-\text{C}_1-\text{C}_{10}\text{-алкилен}-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{X}^2$.

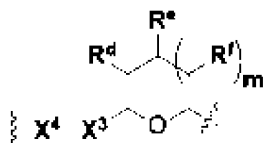
13. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 12, где **SP** представляет собой $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^5)-\text{C}_1-\text{C}_5\text{-алкилен}-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{NH}-$.

14. Соединение по любому из пунктов 1-8, 12 и 13, где **SP** представляет собой $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^5)-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{NH}-$.

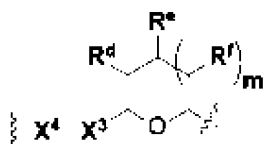
15. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 12-14, где R^5 представляет собой H или $\text{C}_{1-6}\text{-алкил}$.

16. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 12-15, где R^5 представляет собой H или $-\text{CH}_3$.

17. Соединение по любому из пунктов 1-8, где **SP** представляет собой



25. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 17-22, где **SP** представляет собой



и **X³** представляет собой -C(O)-.

26. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 17-25, где **R^d** и **R^e** независимо представляет собой -H или -OH.

27. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 17-25, где **R^d** и **R^e** представляет собой -H.

28. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 17-25, где **R^d** и **R^e** представляет собой -OH.

29. Соединение по любому из пунктов 1-8, где **SP** представляет собой -(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}-.

30. Соединение по любому из пунктов 1-8, где **SP** представляет собой -(линейный C₁-C₃-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(линейный C₁-C₃-алкилен)-NR^{50a}-.

31. Соединение по любому из пунктов 1-8, где **SP** представляет собой -C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}- и где в каждом случае C₁-C₁₀-алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси.

32. Соединение по любому из пунктов 1-8, где **SP** представляет собой -(разветвленный C₁-C₆-алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₆-гидрокси-алкилен)-NR^{50a}-.

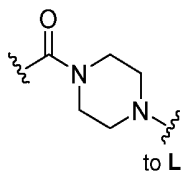
33. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 29-32, где **R⁵⁰** и **R^{50a}** представляет собой независимо водород или метил.

34. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 29-32, где **R⁵⁰** и **R^{50a}** представляет собой в каждом случае водород.

35. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 29-32, где **R⁵⁰** и **R^{50a}** представляет собой в каждом случае метил.

36. Соединение по любому из пунктов 1-35, где оба **R^x** представляют собой водород.

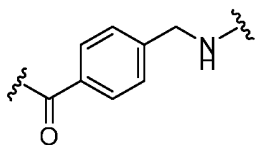
37. Соединение по любому из пунктов 1-8, где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$ или $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-S-$.
38. Соединение по любому из пунктов 1-8, где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_1-C_{10}\text{-алкилен}-X^1-$.
39. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 38, где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-C_2-C_5\text{-алкилен}-X^1-$.
40. Соединение по любому из пунктов 1-8, 38 и 39, где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}\text{алкил})-CH_2CH_2-X^1-$.
41. Соединение по любому из пунктов 1-8, 38 и 39, где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой $-C(O)-N(CH_3)-C_2-C_5\text{-алкилен}-N(CH_3)-$.
42. Соединение по любому из пунктов 1-8 и 38-41, где оба R^x представляют собой водород и **SP** представляет собой $-C(O)-N(CH_3)-CH_2CH_2-N(CH_3)-$.
43. Соединение по любому из пунктов 1-35, где оба R^x представляют собой фтор.
44. Соединение по любому из пунктов 1-8, где оба R^x представляют собой фтор и **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-X^{1b}-$ или $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-X^{1b}-$.
45. Соединение по пункту 44, где **SP** представляет собой $-C(O)-N(H)-(C_1-C_6\text{-алкилен})-X^{1b}-$ или $-C(O)-N(C_{1-6}\text{алкил})-(C_1-C_6\text{-алкилен})-X^{1b}-$.
46. Соединение по пункту 44 или 45, где X^{1b} представляет собой S.
47. Соединение по пункту 44 или 45, где X^{1b} представляет собой NH или $N(C_{1-6}\text{алкил})$.
48. Соединение по пункту 44 или 45, где X^{1b} представляет собой NH или $N(CH_3)$.
49. Соединение по любому из пунктов 1-8, где оба R^x представляют собой фтор и **SP**



представляет собой

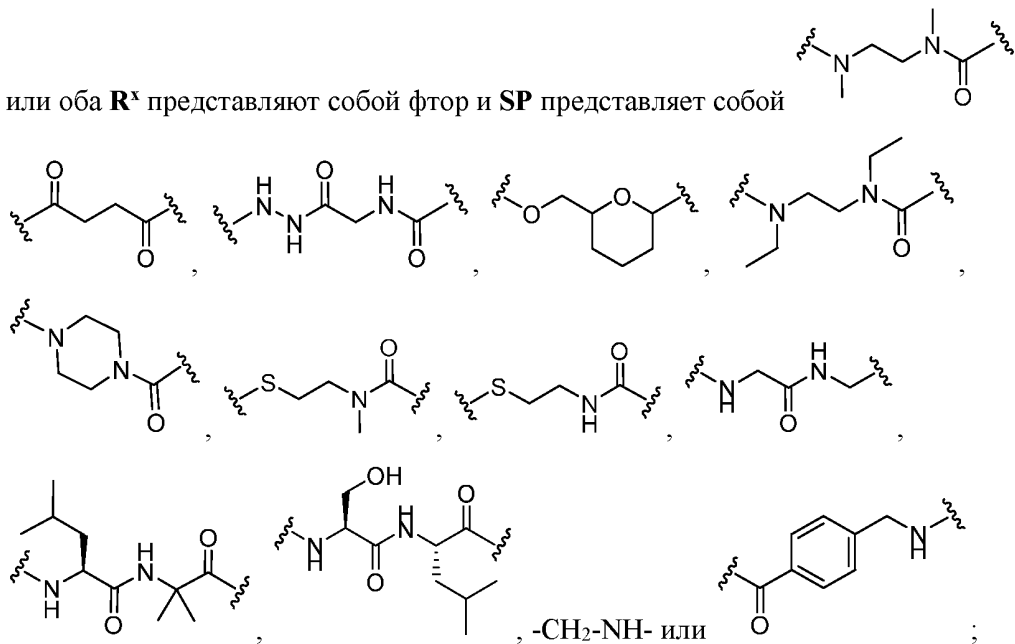
50. Соединение по любому из пунктов 1-7, где **SP** представляет собой $-\text{CH}_2-\text{NH}-$.

51. Соединение по любому из пунктов 1-7, где **SP** представляет собой

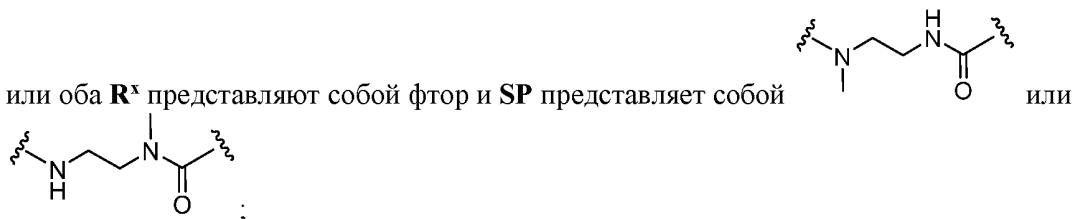


52. Соединение по любому из пунктов 1-7, где оба **R^x** представляют собой водород

или оба **R^x** представляют собой фтор и **SP** представляет собой



или оба **R^x** представляют собой фтор и **SP** представляет собой



и где левосторонняя точка присоединения в вышеуказанных структурах присоединяется к **L** или $(\text{L}^3)_{0-1}$.

53. Соединение Формулы (III) по любому из пунктов 1 и 3-52, где **z** выбирается из 1-10, включительно.

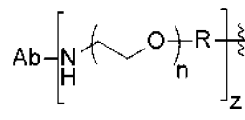
54. Соединение Формулы (III) по любому из пунктов 1 и 3-53, где **z** выбирается из 2-4, включительно.

55. Соединение Формулы (III) по любому из пунктов 1 и 3-54, где **z** представляет собой 4.

56. Соединение Формулы (III) по любому из пунктов 1 и 3-54, где **z** представляет собой 2.

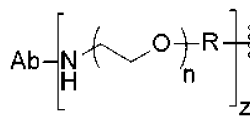
57. Соединение Формулы (III) по любому из пунктов 1 и 3-56, где **ВА** содержит антитело или антигенсвязывающий фрагмент.

58. Соединение Формулы (III) по любому из пунктов 1 и 3-57, где **ВА** содержит



антитело, имеющее следующую структуру , где Ab представляет собой моноклональное антитело, поликлональное антитело, фрагмент антитела или биспецифическое антитело; R представляет собой C₂₋₄-алкилен, n представляет собой целое число, которое выбирается из 1 представляет собой 10, включительно, и **z** представляет собой целое число, которое выбирается из 1-10, включительно.

59. Соединение Формулы (III) по любому из пунктов 1 и 3-59, где **ВА** содержит



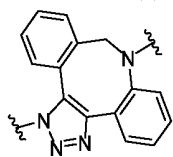
антитело, имеющее следующую структуру , где Ab представляет собой моноклональное антитело, поликлональное антитело, фрагмент антитела или биспецифическое антитело; R представляет собой C₂₋₄-алкилен; и n представляет собой целое число, которое выбирается из 2 представляет собой 4, включительно.

60. Соединение Формулы (III) по любому из пунктов 1 и 3-59, где **ВА** содержит MSR1.

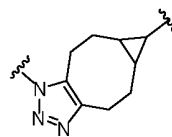
61. Соединение Формулы (III) по любому из пунктов 1 и 3-60, где **L** представляет собой -L¹-L²-(L³)₀₋₁-, где L¹ присоединяется к **ВА** и L³ присоединяется к **SP**; и где L¹ представляет собой остаток реактивной группы; L² представляет собой соединительный линкер; и L³, если имеется представляет собой саморасщепляющийся линкер.

62. Соединение Формулы (III) по любому из пунктов 1 и 3-61, где **L** представляет собой -L¹-L²-L³-.

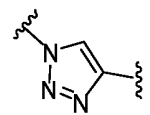
63. Соединение Формулы (III) по пункту 61 или 62, где L^1 выбирается из



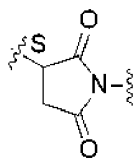
или региоизомера или смеси его изомеров;



;



;

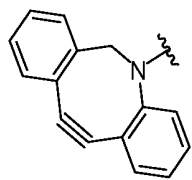


или региоизомера или смеси его изомеров, где S означает S атом на цистеиновой остатке, через который остаток реактивной группы присоединяется к **BA**; и

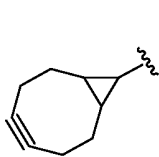


где N означает N атом на лизиновом остатке, через который остаток реактивной группы присоединяется к **BA**.

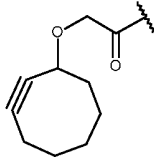
64. Соединение Формулы (II) по любому из пунктов 2-52, где **RG** выбирается из



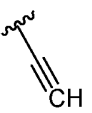
, $N=N=N$,



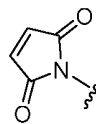
,



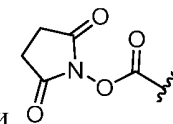
,



,

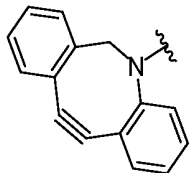


и



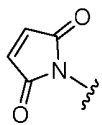
.

65. Соединение Формулы (II) по любому из пунктов 2-52, где **RG** представляет



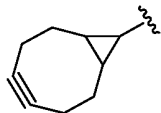
собой .

66. Соединение Формулы (II) по любому из пунктов 2-52, где **RG** представляет



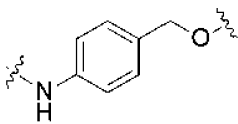
собой .

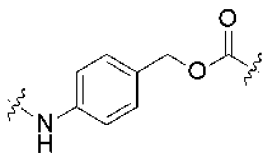
67. Соединение Формулы (II) по любому из пунктов 2-52, где **RG** представляет

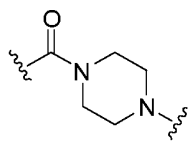


собой .

68. Соединение по любому из пунктов 1-67, где для соединения формулы (III) L представляет собой $-L^1-L^2-L^3$)₀₋₁; и где

L^3 в соединении формулы (II) или (III) представляет собой , где NH группа присоединяется к L^2 , когда SP представляет собой $-C(O)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)-$; или

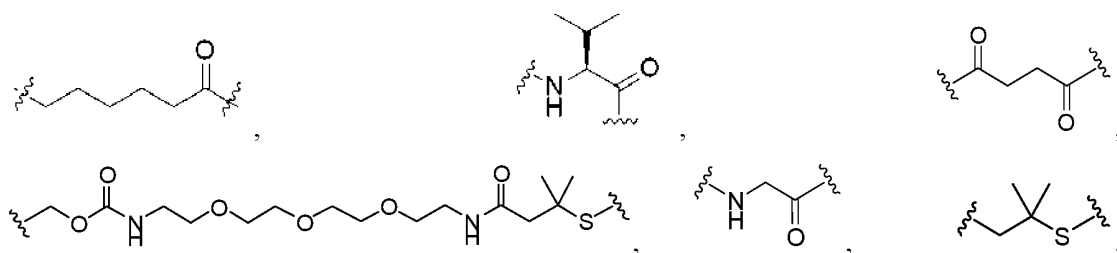
L^3 в соединении формулы (II) или (III) представляет собой , где NH группа присоединяется к L^2 , когда SP представляет собой $-C(O)-N(C_{1-3}$ алкил)- C_1-C_{10} -алкилен- X^{1b} -, $-C(O)-N(C_{1-3}$ алкил)- C_1-C_{10} -алкилен- X^{1b} -, где X^{1b} представляет собой $-NH-$ или $-N(C_{1-6}$ алкил)-, $-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- X^{1b} -, где X^{1b} представляет собой

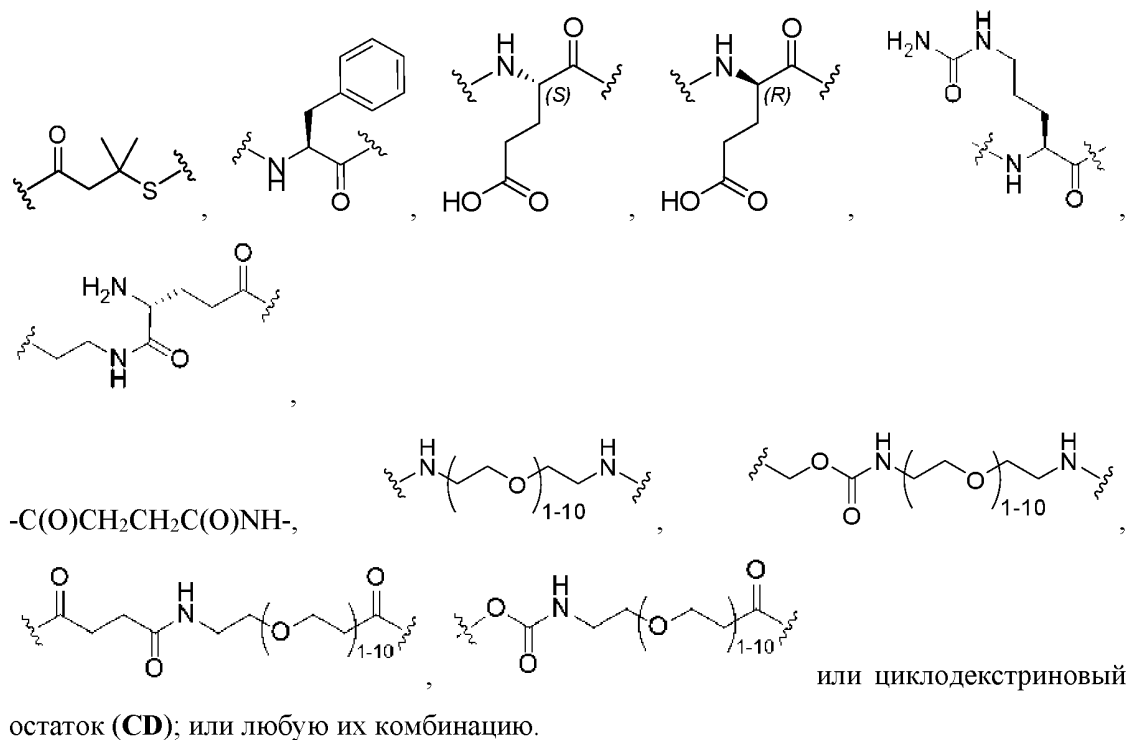
, $-NH-$ или $-N(C_{1-6}$ алкил)-, $-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- NR^{50a} -, $-C(O)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- $NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}$ -алкилен)- NR^{50a} -, где в каждом случае C_1-C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидроксильными группами: или $-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}$ -алкилен- $C(O)NH-X^2$ -, или

L^3 в соединении формулы (II) или (III) отсутствует.

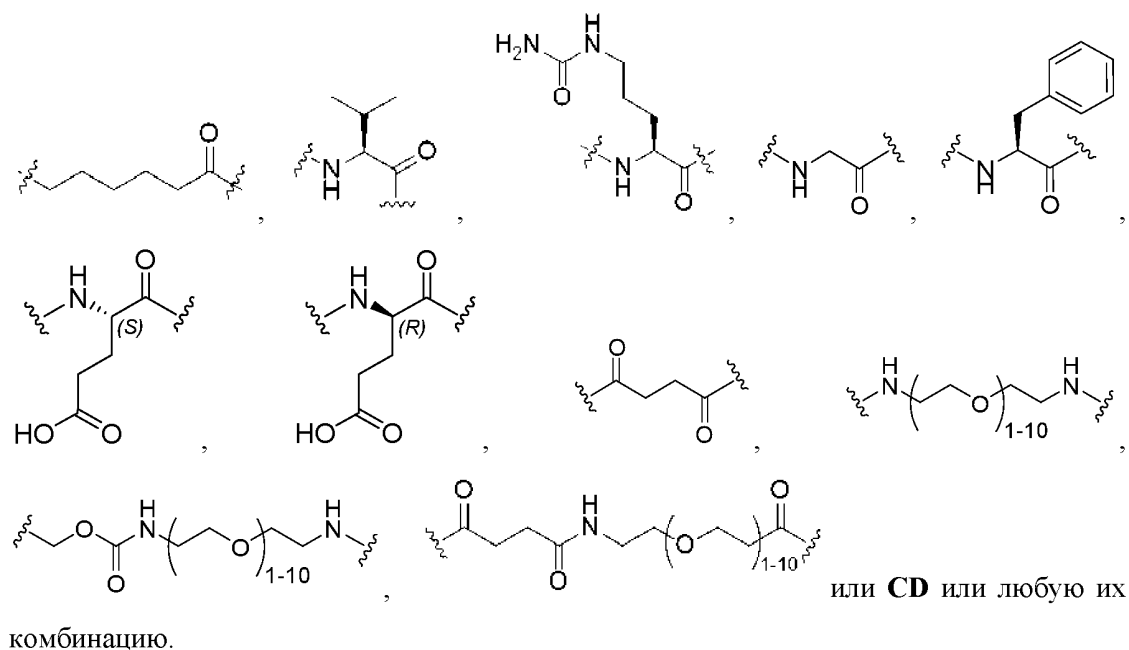
69. Соединение по любому из пунктов 1-68, где для соединения формулы (III) L представляет собой $-L^1-L^2-L^3$;₀₋₁; и где L^2 в соединении формулы (II) или (III) содержит PEG, дипептидный остаток, трипептид, тетоапептид, пентапептид, $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$, CD или $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2C(O)-$ или любую их комбинацию.

70. Соединение по любому из пунктов 1-68, где для соединения формулы (III) L представляет собой $-L^1-L^2-L^3$;₀₋₁; и где L^2 в соединении формулы (II) или (III) содержит

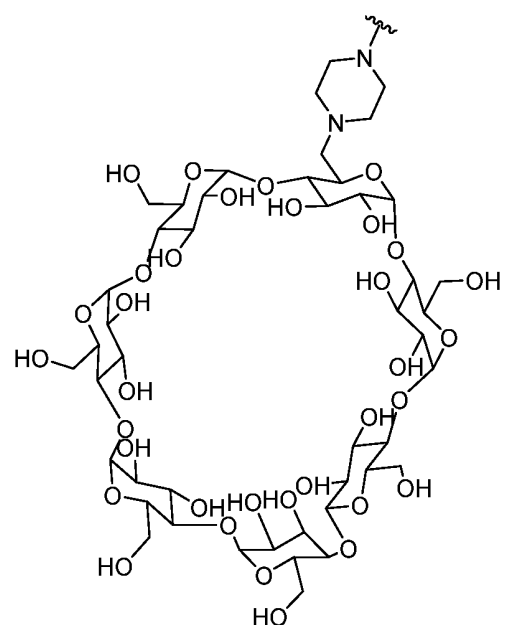
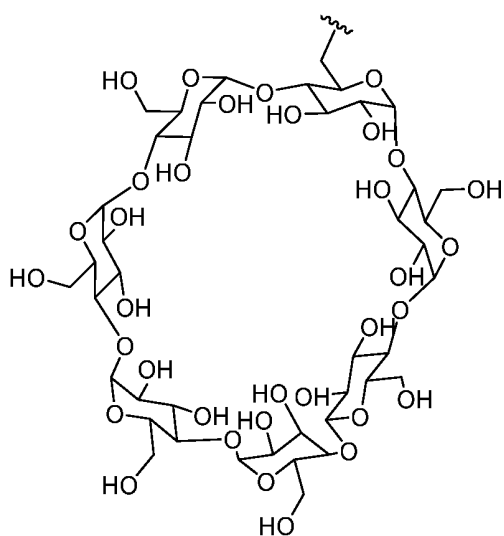
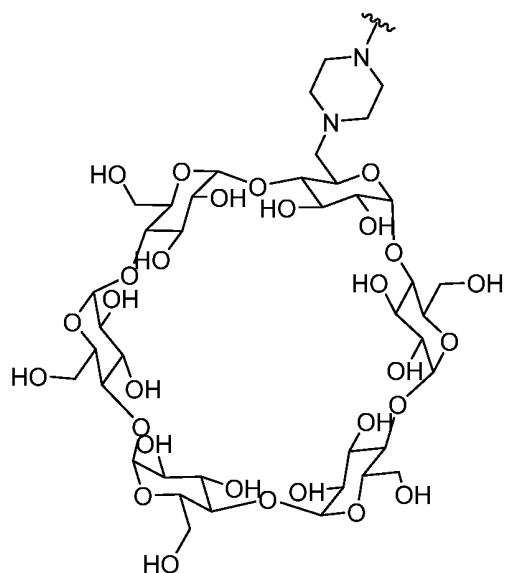
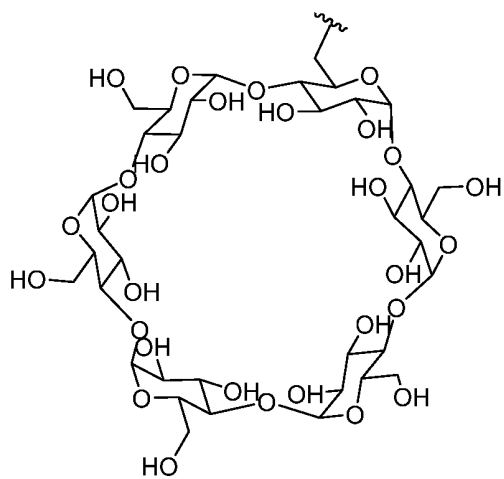




71. Соединение по любому из пунктов 1-68, где для соединения формулы (III) L представляет собой -L¹-L²-L³)₀₋₁-, и где L² в соединении формулы (II) или (III) содержит

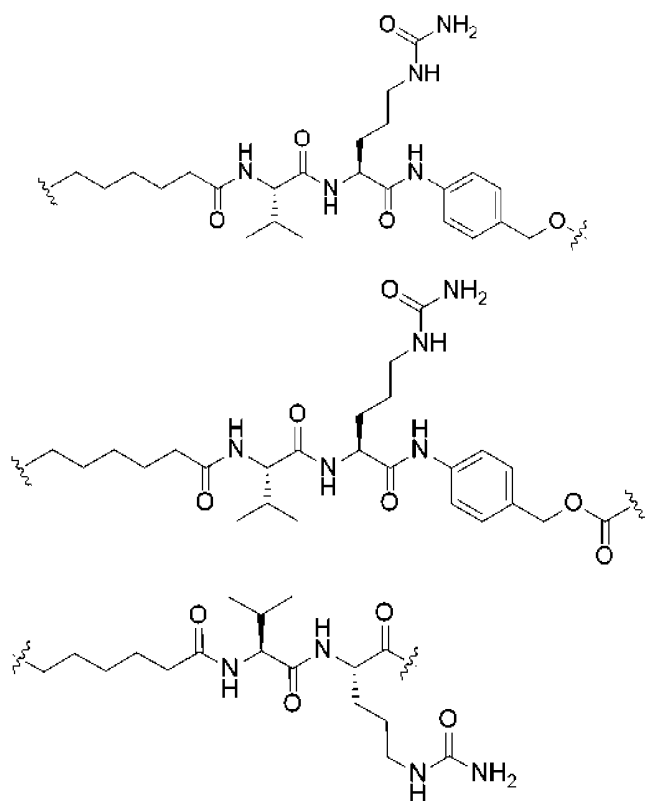


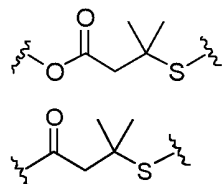
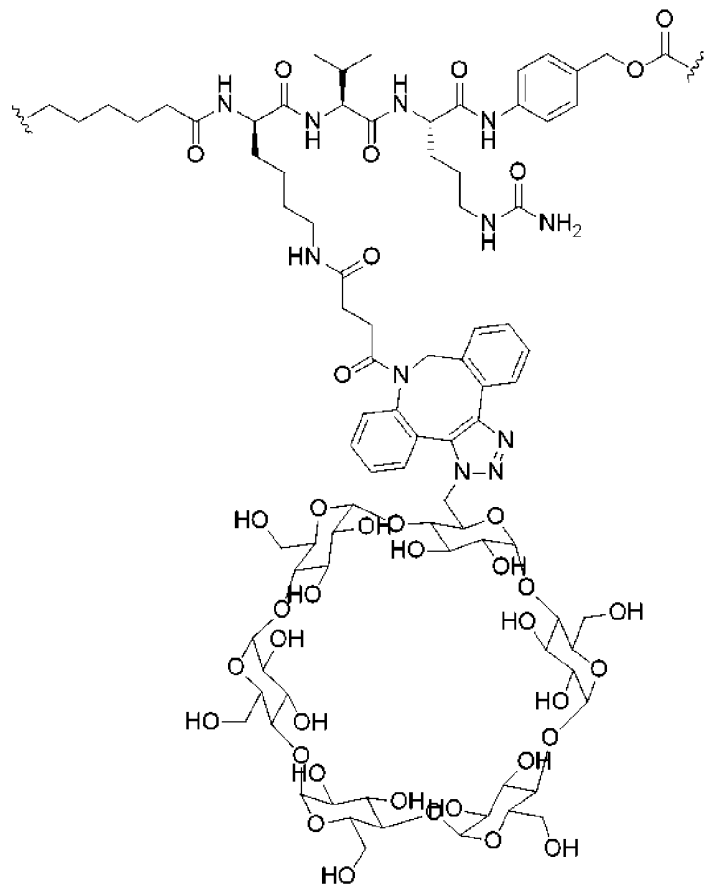
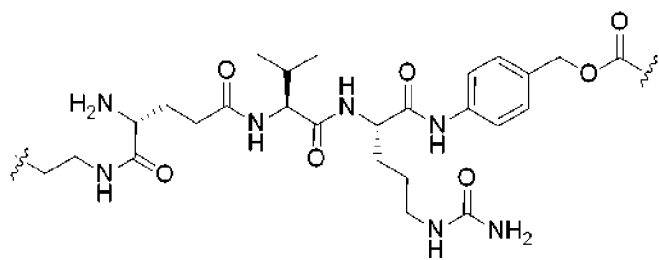
72. Соединение по любому из пунктов 69-71, где **CD** выбирается из группы, состоящей из

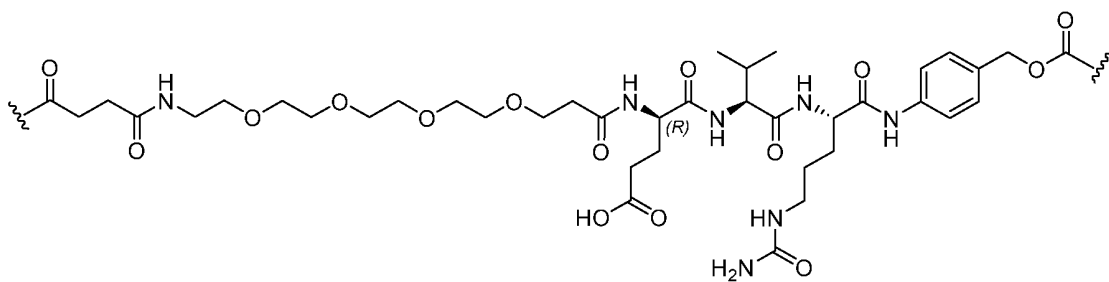
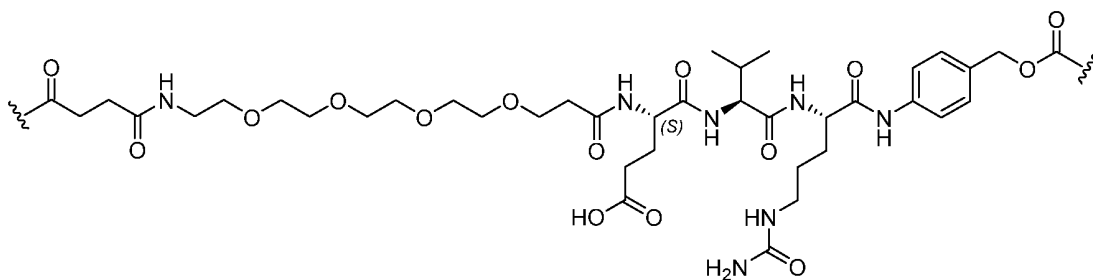
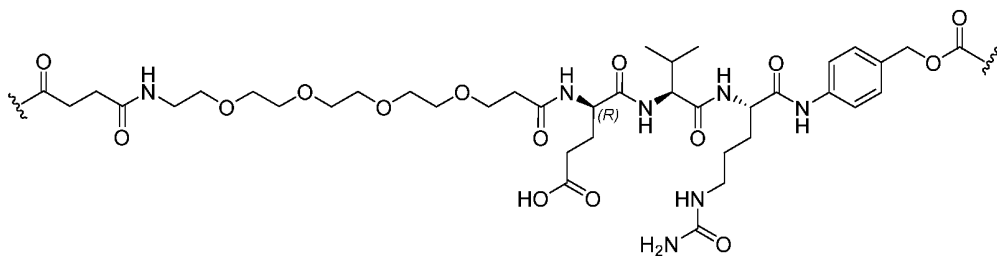
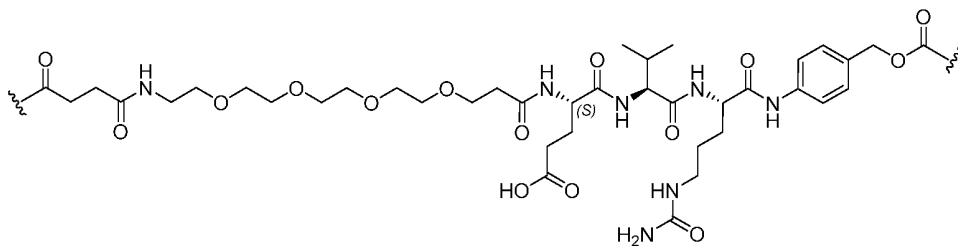
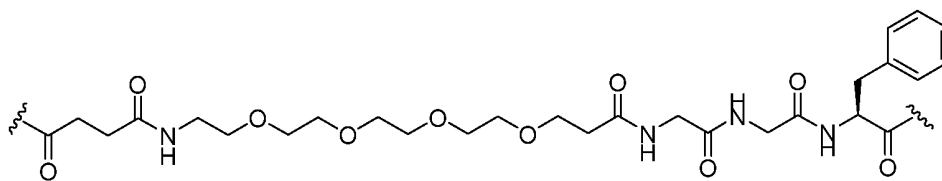
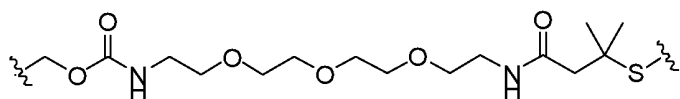
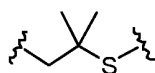


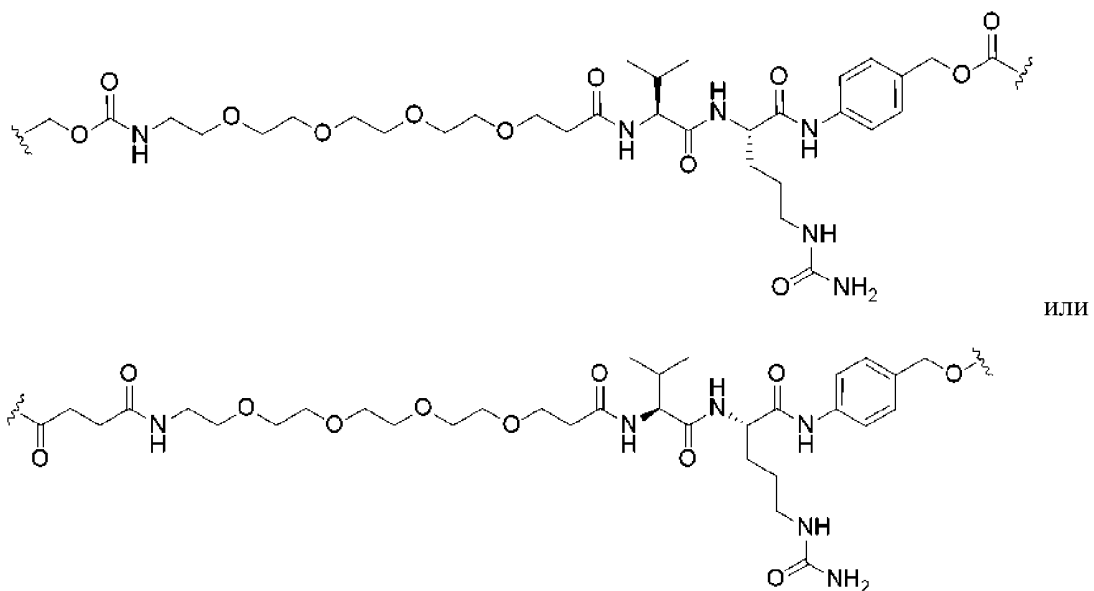
и

73. Соединение по любому из пунктов 1-67, где для соединения формулы (III) L представляет собой $-L^1-L^2-L^3)_{0-1}-$; и где $-L^2-(L^3)_{0-1}-$ в соединении формулы (II) или (III) содержит



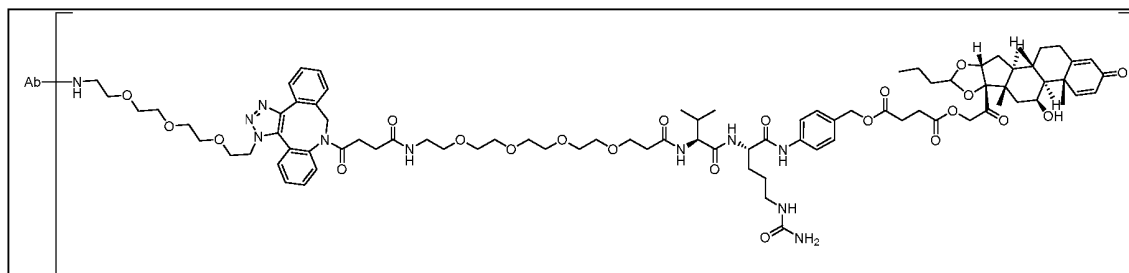




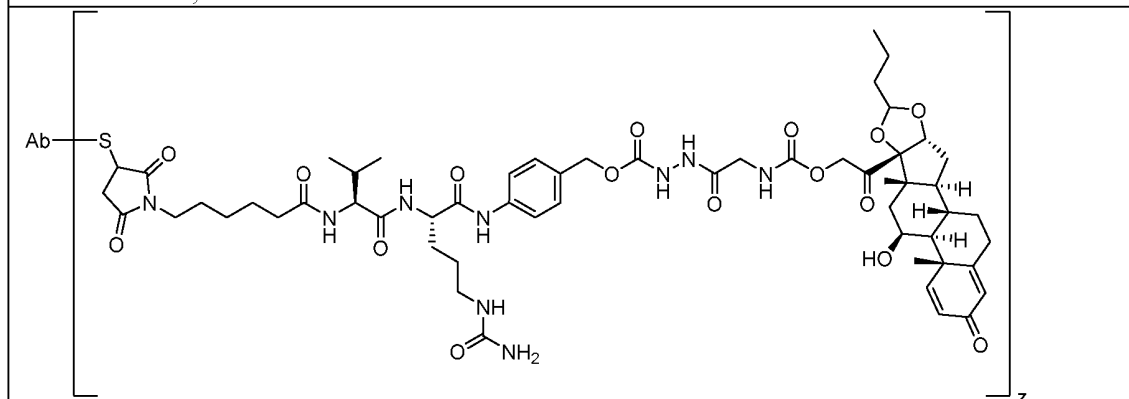


74. Соединение по пункту 1, где соединение представляет собой:

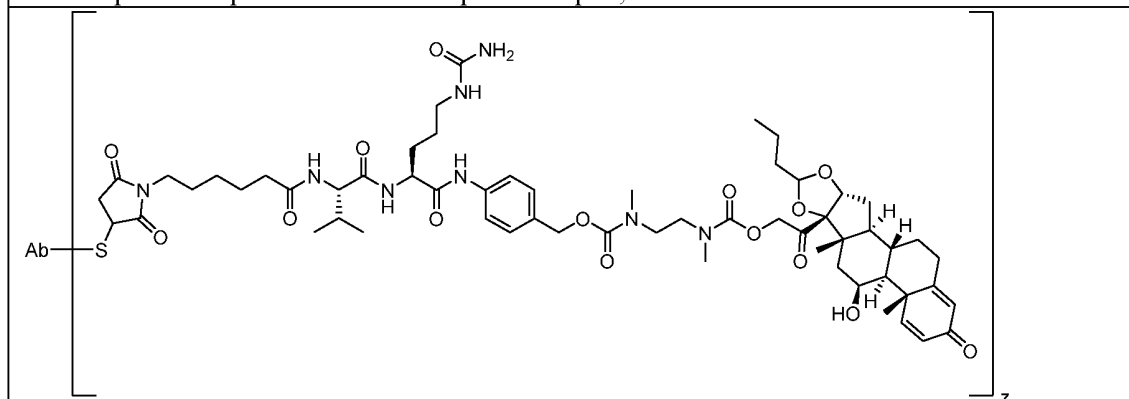
или стереоизомер или смесь стереоизомеров;



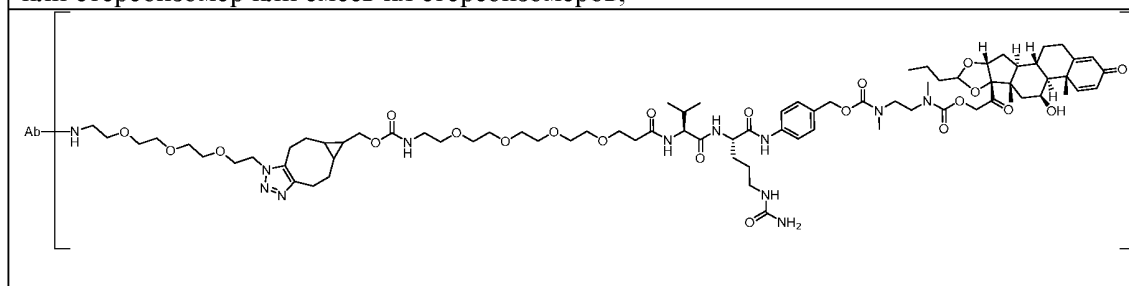
или их смесь;

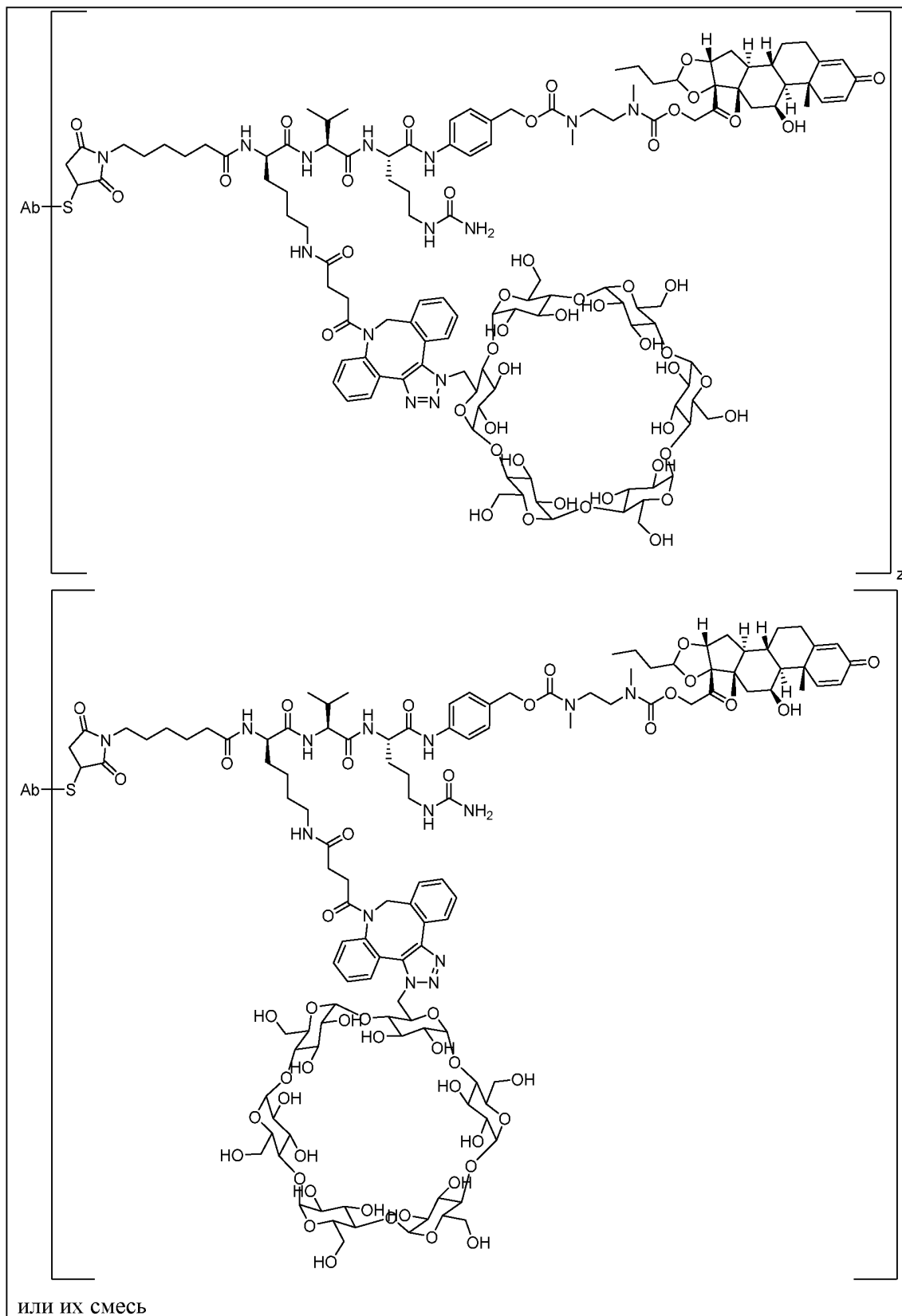


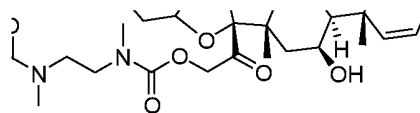
или стереоизомер или смесь их стереоизомеров;



или стереоизомер или смесь их стереоизомеров;



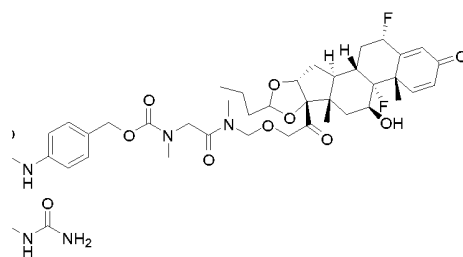




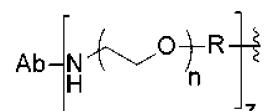
где L1 — остаток реактивной группы,
содержащий триазольный фрагмент

или стереоизомер или смесь их стереоизомеров

или их смесь



или их смесь

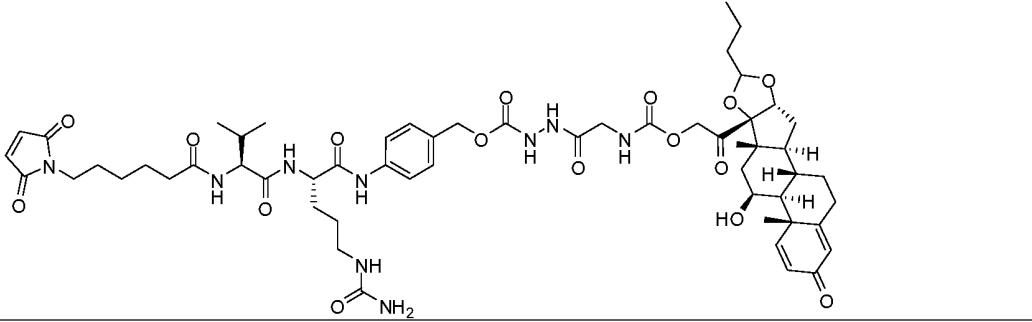
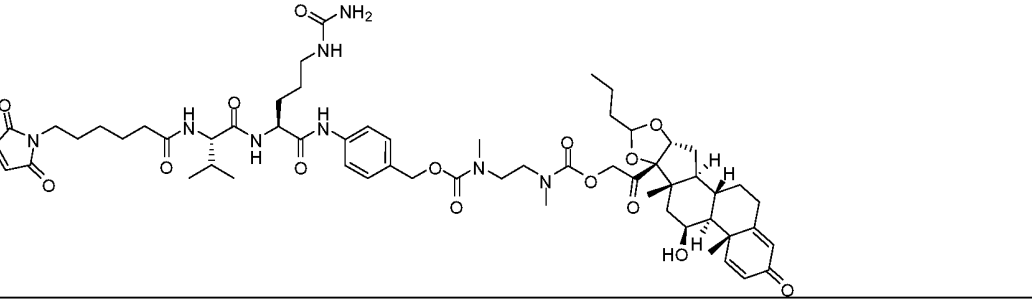
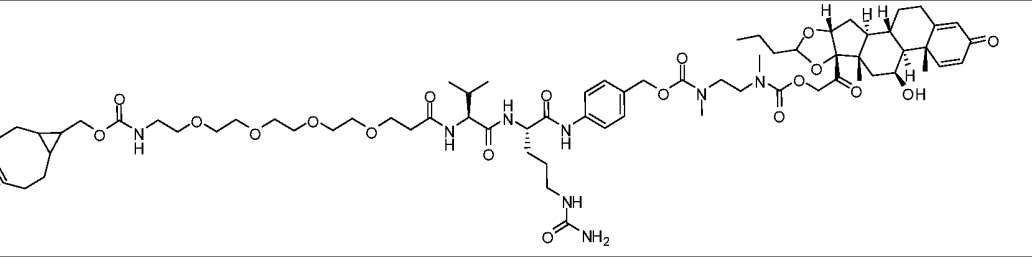
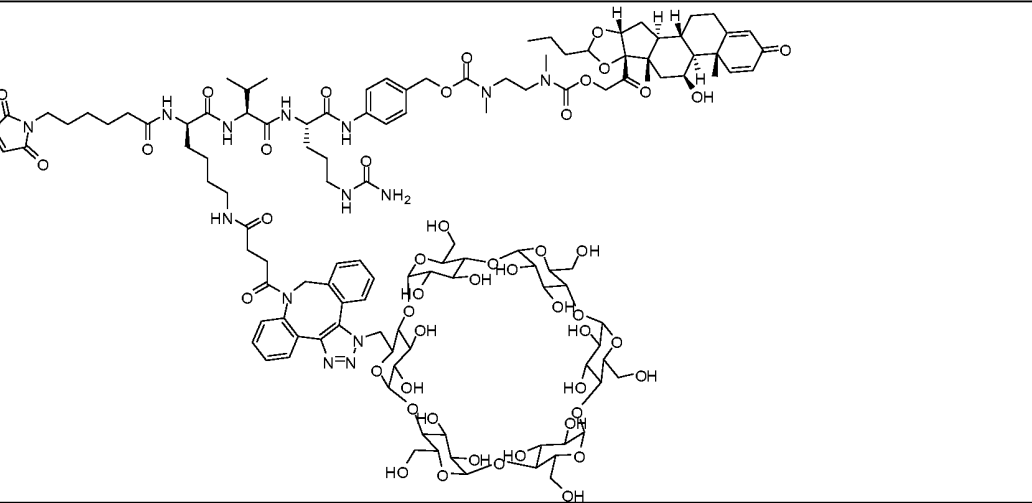
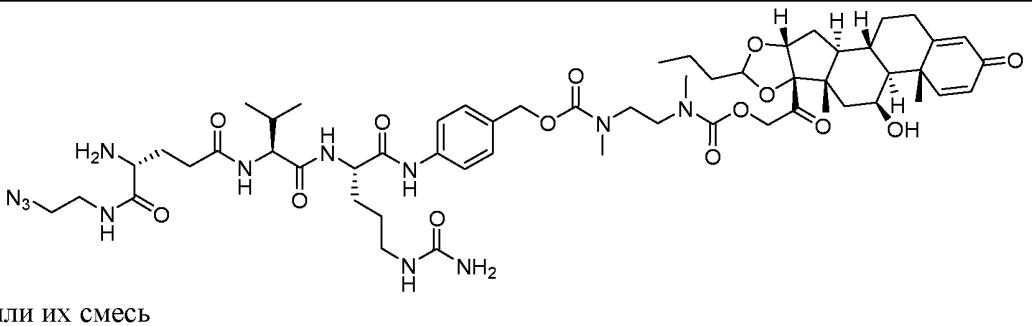


где **ВА** содержит антитело, имеющее следующую структуру $\text{Ab}-\left[\text{N} \left(\text{CH}_2 \right)_n \text{O} \right]_z \text{R}$, где **Ab**- моноклональное антитело, поликлональное антитело, фрагмент антитела или биспецифическое антитело; **R** представляет собой C_{2-4} -алкилен; и **n** представляет собой целое число, которое выбирается от 2 до 4, включительно.

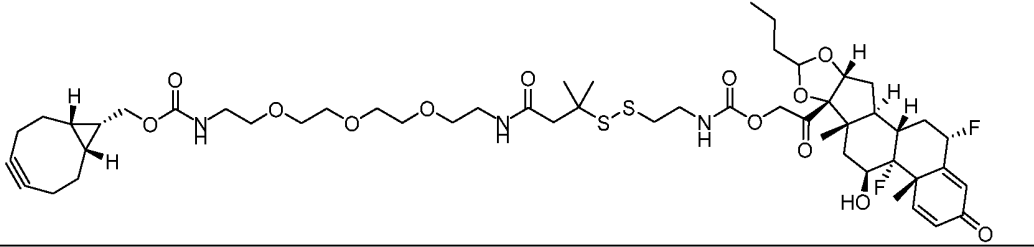
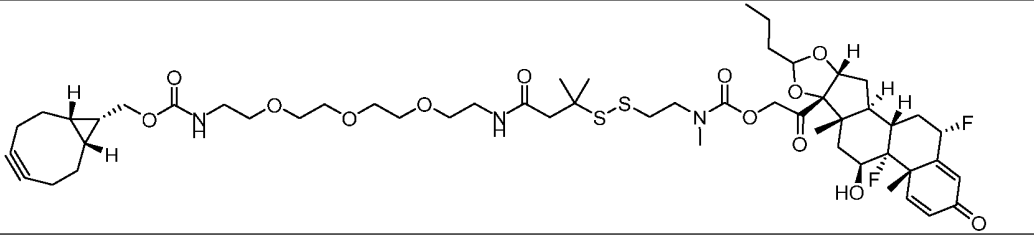
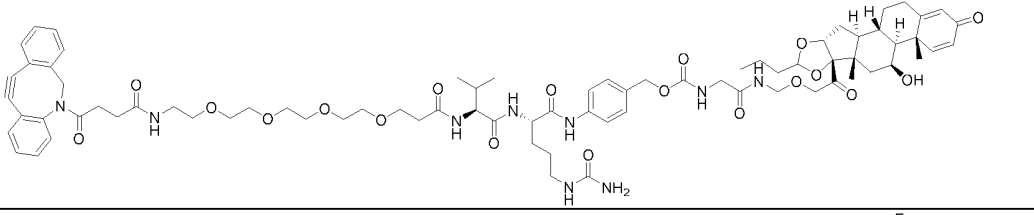
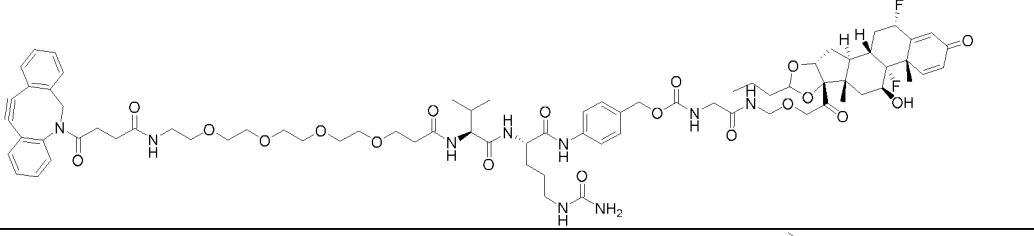
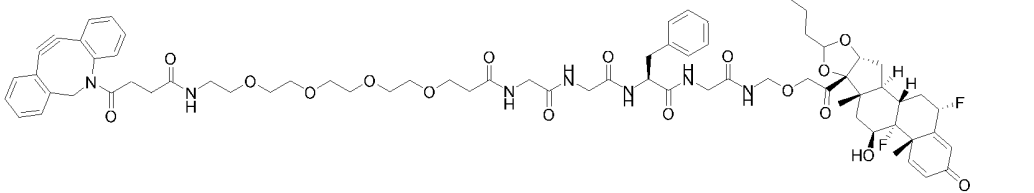
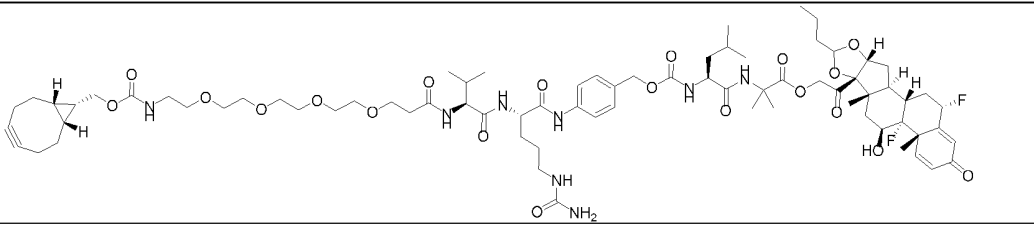
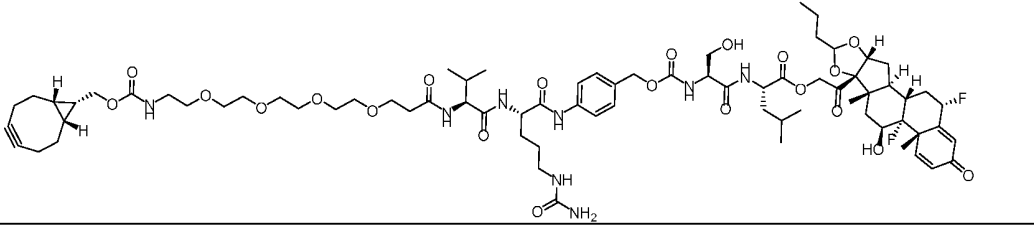
75. Соединение по пункту 74, где **Ab** представляет собой MSR1.

76. Соединение, которое выбирается из:

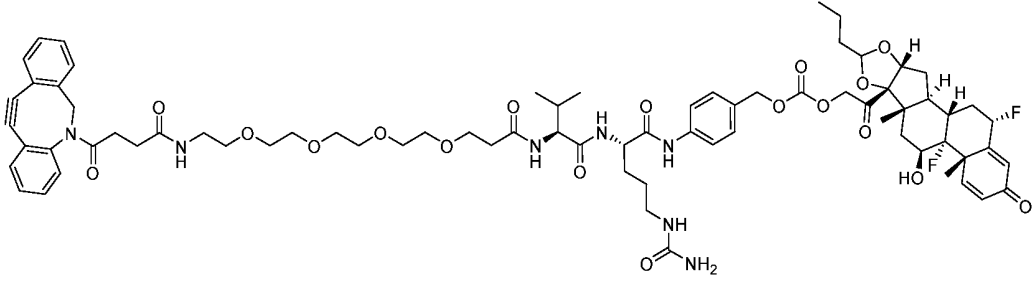
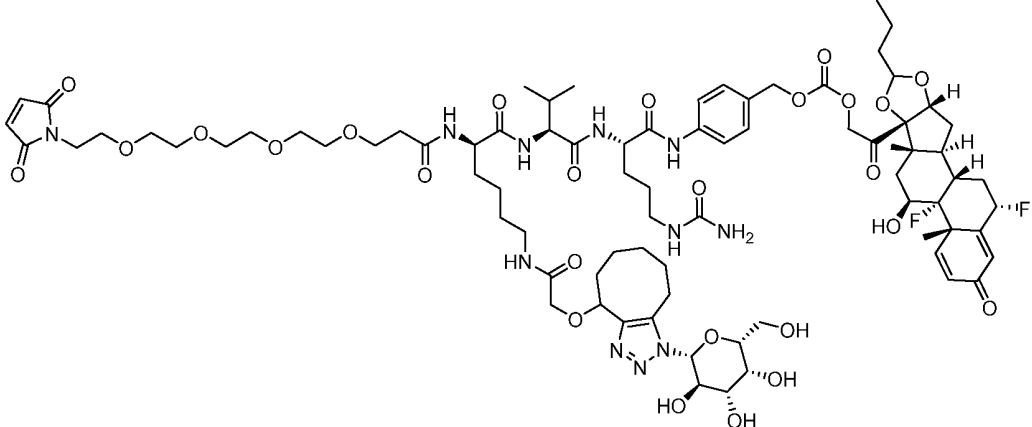
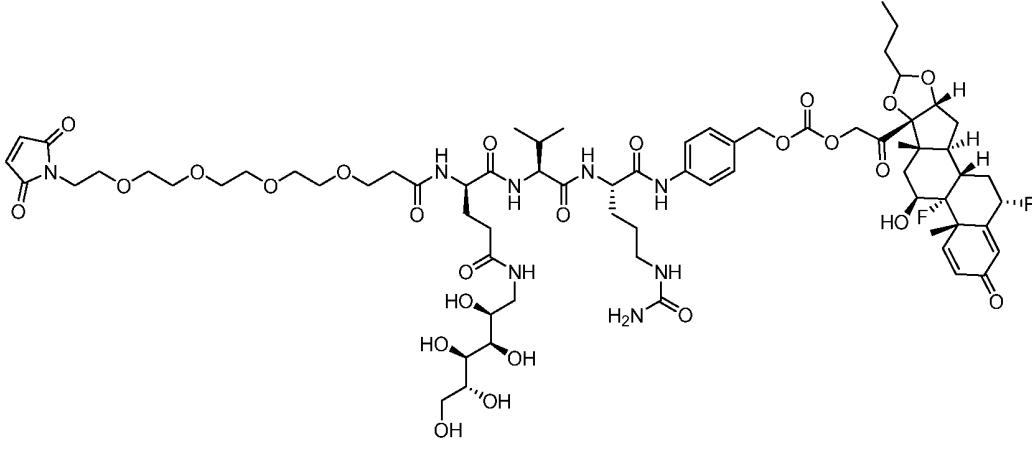
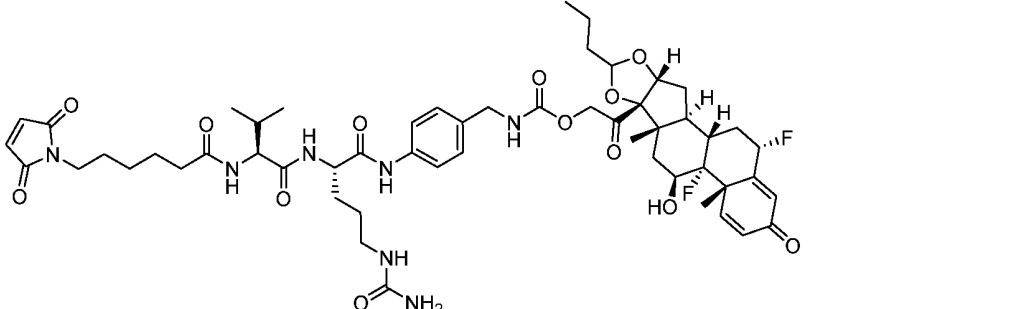
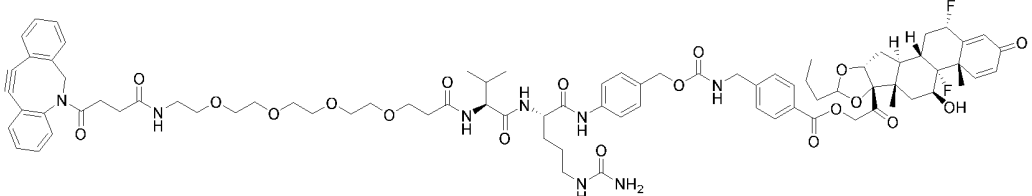
2b	
2f	
2g	

2j	
2k	
2l	
2m	
2n	 или их смесь

2q	
LP1	
LP2	
LP3	
LP4	
LP5	
LP6	

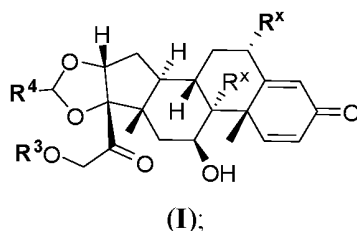
LP7	
LP8	
LP9	
LP10	
LP11	
LP12	
LP13	

LP18	
LP19	
LP20	
LP21	
LP22	
LP23	
LP24	

LP25	
LP26	
LP27	
LP28	
LP29	

LP30	
LP31	

77. Соединение по формуле (I):

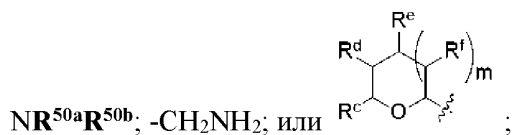


или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или производное,
где:

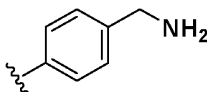
R^4 представляет собой алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил;

а) оба R^x представляют собой водород; и

R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$; $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-$



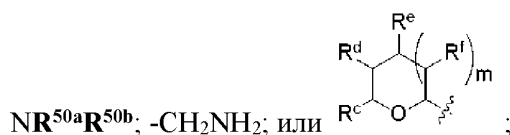
R^Z is $-C_{4-10}\text{-алкилен}-C(O)OH$; $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}R^{50b}$, где в каждом случае $C_1-C_{10}\text{-алкилен}$ независимо и опционально

замещается одной или несколькими гидроксид;  ; или $NR^{15}R^{15a}$;

R^{15} представляет собой H или C_1-C_6 алкил и R^{15a} представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-SH$ или $-(C_{1-6}\text{-алкилен})-C(O)NHNH_2$;

б) оба R^x представляют собой фтор; и

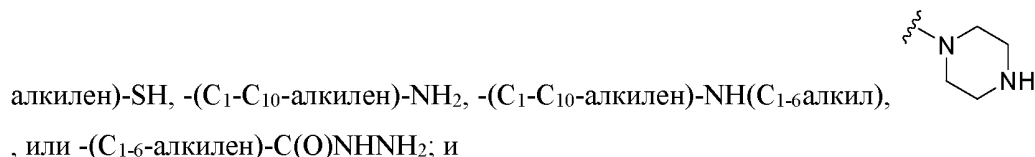
R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$; $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-$



R^Z is $-C_{4-10}\text{-алкилен}-C(O)OH$; $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}R^{50b}$, где в каждом случае $C_1-C_{10}\text{-алкилен}$ независимо и опционально



R^{16} представляет собой H или C_1-C_6 алкил и R^{16a} представляет собой $-(C_1-C_{10}-$



в каждом случае R^{50} , R^{50a} и R^{50b} представляет собой независимо водород или C_1-C_6 -алкил;

один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой $-CH_2OR^g$, а другие представляет собой независимо $-H$, $-OH$, гидроксиалкил, $-C(O)OH$ или $-CH_2OR^g$, где в каждом случае R^g представляет собой независимо $-(C_{1-6}\text{-алкилен})-C(O)OH$ или $-(C_{1-6}\text{-алкилен})-C(O)O(\text{алкил})$; или один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой гидроксиалкил, а другие представляет собой $-H$; и

m представляет собой 0 или 1.

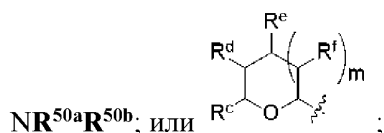
78. Соединение по пункту 77, где R^4 представляет собой алкил.

79. Соединение по пункту 77 или 78, где R^4 представляет собой в R-конфигурации.

80. Соединение по любому из пунктов 77-79, где

а) оба R^x представляют собой водород; и

R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$; $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-$

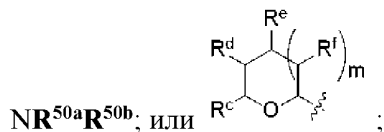


R^Z представляет собой $-C_{4-10}\text{-алкилен}-C(O)OH$; $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}R^{50b}$, где в каждом случае $C_1-C_{10}\text{-алкилен}$ независимо и опционально замещается одной или несколькими гидрокси; или $NR^{15}R^{15a}$;

R^{15} представляет собой H или C_1 - C_6 алкил и R^{15a} представляет собой $-(C_1-C_{10}$ -алкилен)-SH или $-(C_{1-6}$ -алкилен)-C(O)NHNH₂;

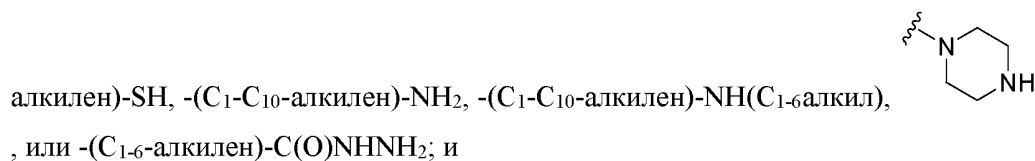
b) оба R^x представляют собой фтор; и

R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$; $-(C_1-C_{10}$ -алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-

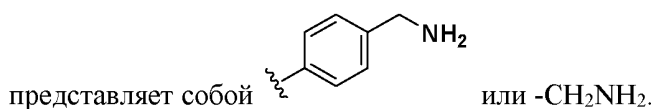


R^Z представляет собой $-C_{4-10}$ -алкилен-C(O)OH; $-(C_1-C_{10}$ -алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}, где в каждом случае C_1 - C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидроксигруппами; или NR¹⁶R^{16a};

R^{16} представляет собой H или C_1 - C_6 алкил и R^{16a} представляет собой $-(C_1-C_{10}$ -



81. Соединение по любому из пунктов 77-79, где R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$ и R^Z

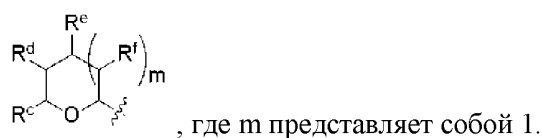


82. Соединение по любому из пунктов 77-80, где R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$.

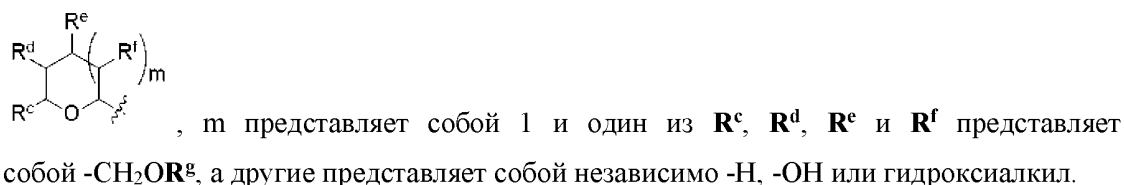
83. Соединение по пункту 82, где R^Z представляет собой $-C_{4-10}$ -алкилен-C(O)OH.

84. Соединение по пункту 82, где R^Z представляет собой $-(C_1-C_{10}$ -алкилен)-NR⁵⁰C(O)-(C₁-C₁₀-алкилен)-NR^{50a}R^{50b}, где в каждом случае C_1 - C_{10} -алкилен независимо и опционально замещается одной или несколькими гидроксигруппами.

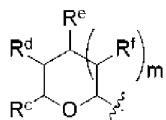
85. Соединение по любому из пунктов 77-80, где R^3 представляет собой



86. Соединение по любому из пунктов 77-80, где R^3 представляет собой



87. Соединение по любому из пунктов 77-80, где R^3 представляет собой



, m представляет собой 1 и один из R^c , R^d , R^e и R^f представляет собой гидроксилалкил, а другие представляет собой -H.

88. Соединение по любому из пунктов 77-80, где R^3 представляет собой $-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}\text{-алкилен})-NR^{50a}R^{50b}$.

89. Соединение по любому из пунктов 77-88, где оба R^x представляют собой водород.

90. Соединение по любому из пунктов 77-88, где оба R^x представляют собой фтор.

91. Соединение по любому из пунктов 77-80, где оба R^x представляют собой водород, R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$ и R^Z представляет собой $NR^{15}R^{15a}$.

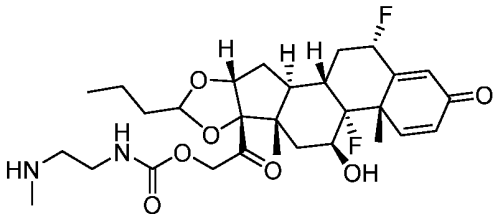
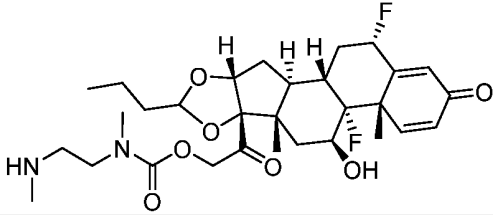
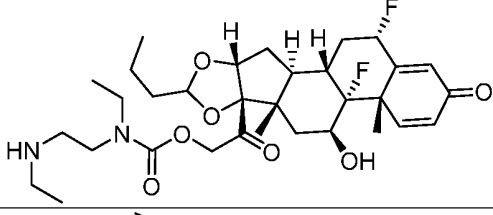
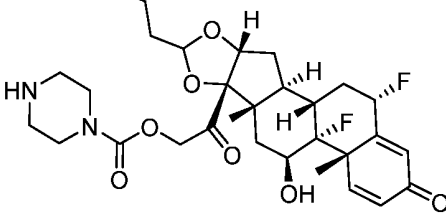
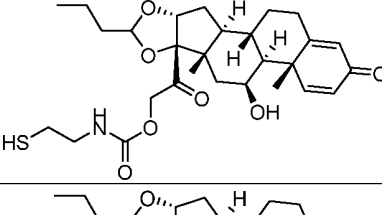
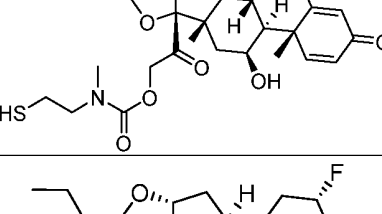
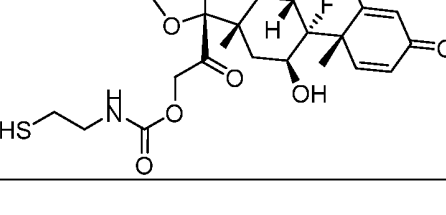
92. Соединение по пункту 91, где R^{15} представляет собой H.

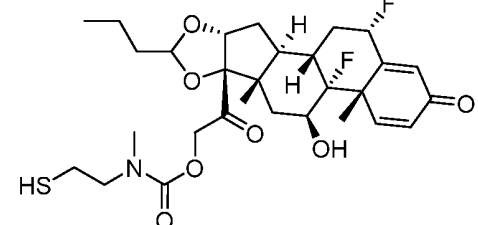
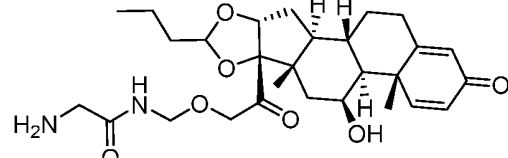
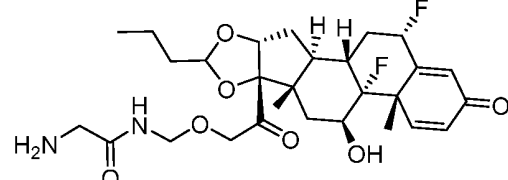
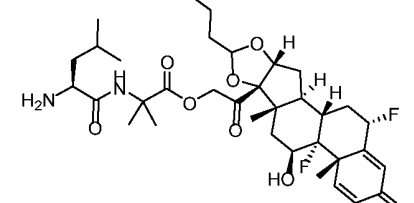
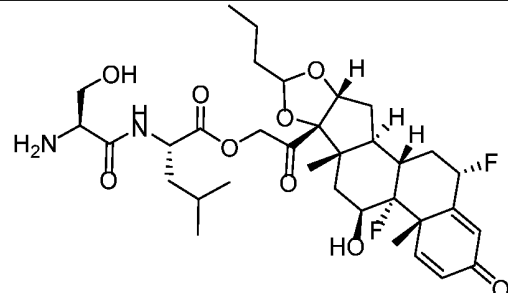
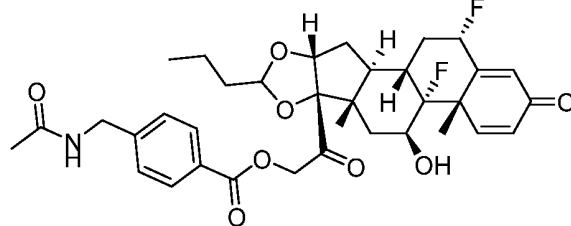
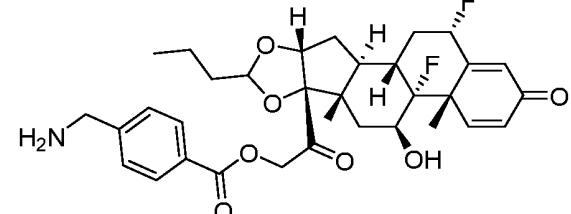
93. Соединение по пунктам 77-80, где оба R^x представляют собой фтор, R^3 представляет собой $-C(O)R^Z$ и R^Z представляет собой $NR^{16}R^{16a}$.

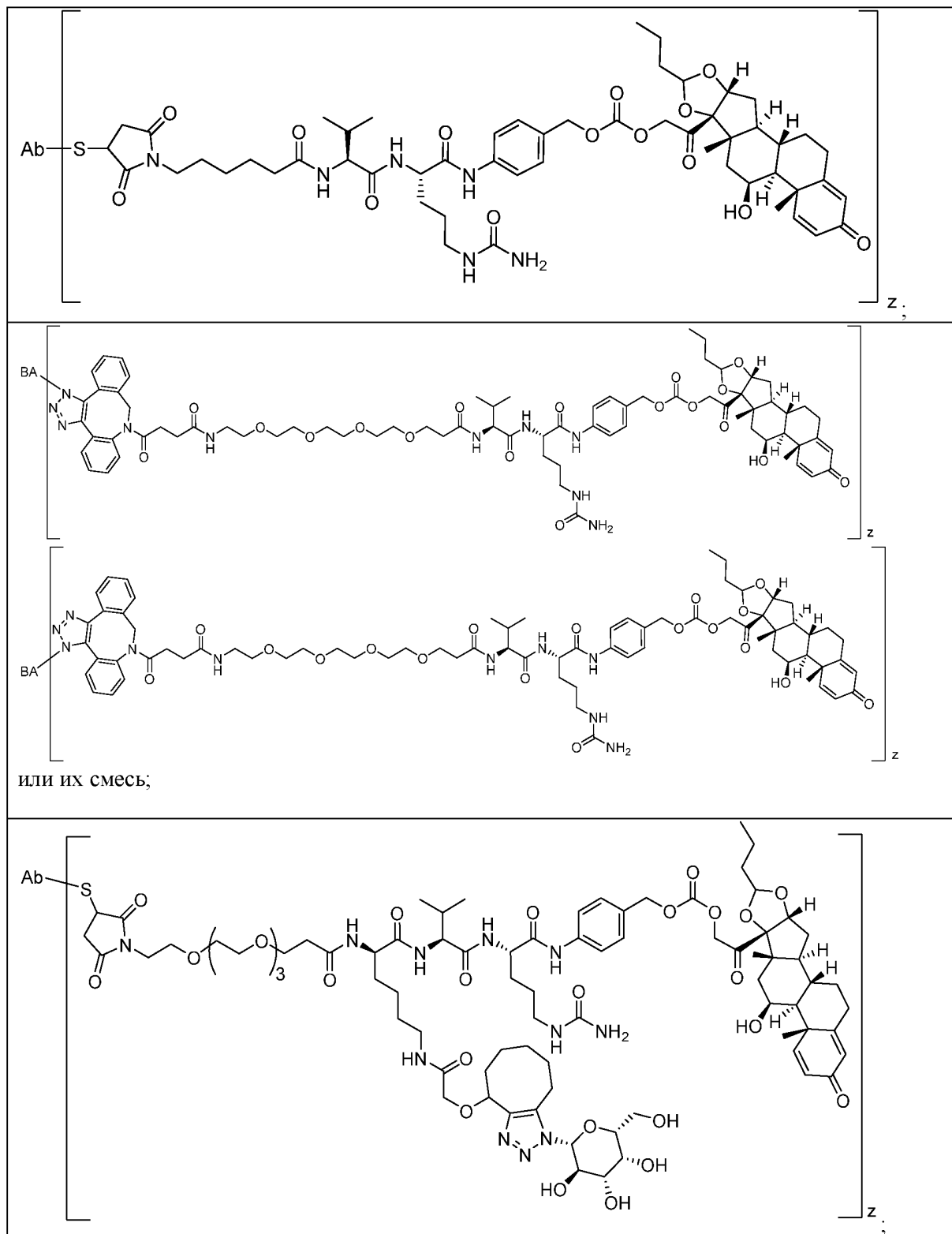
94. Соединение по пункту 93, где R^{16} представляет собой H.

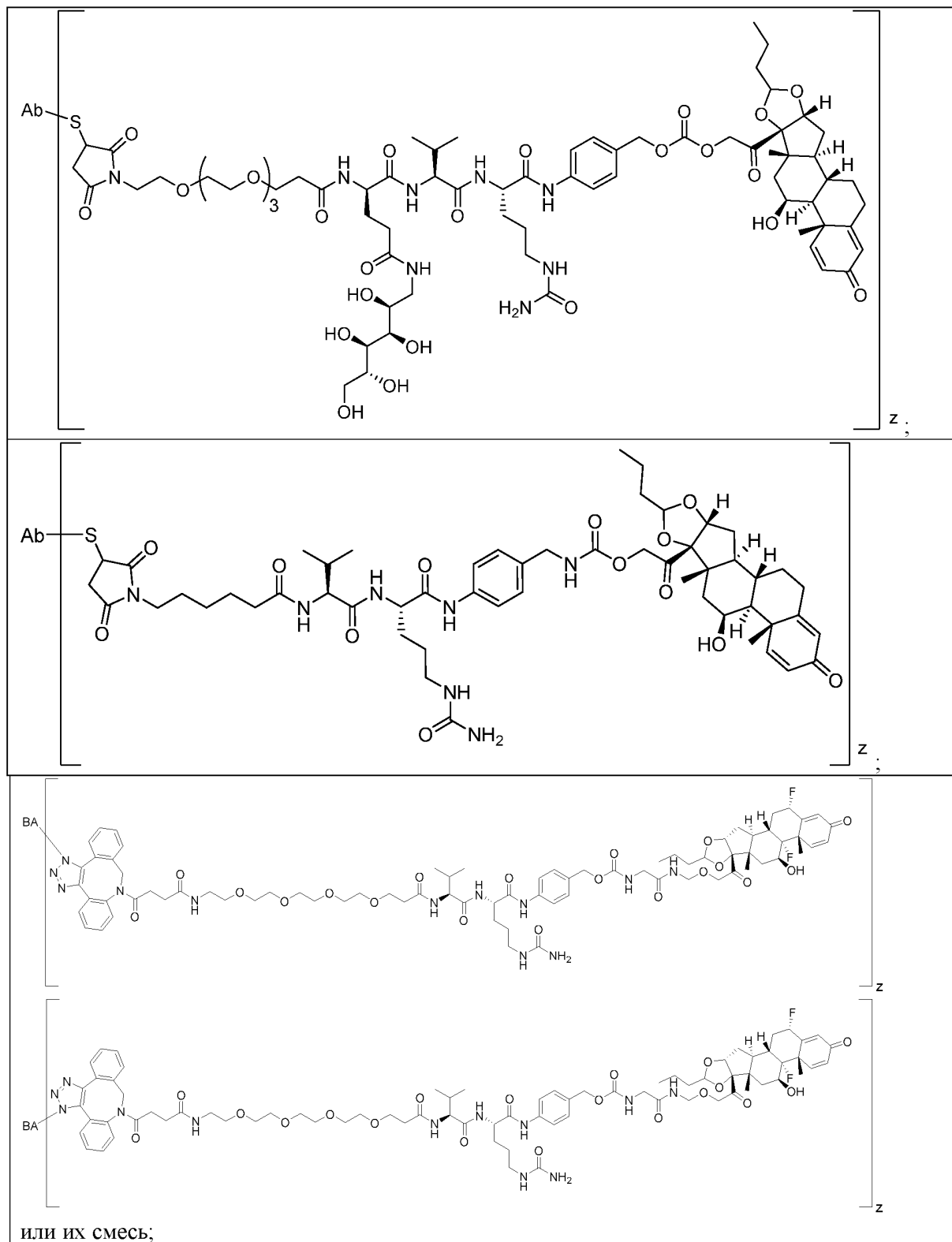
95. Соединение, которое выбирается из:

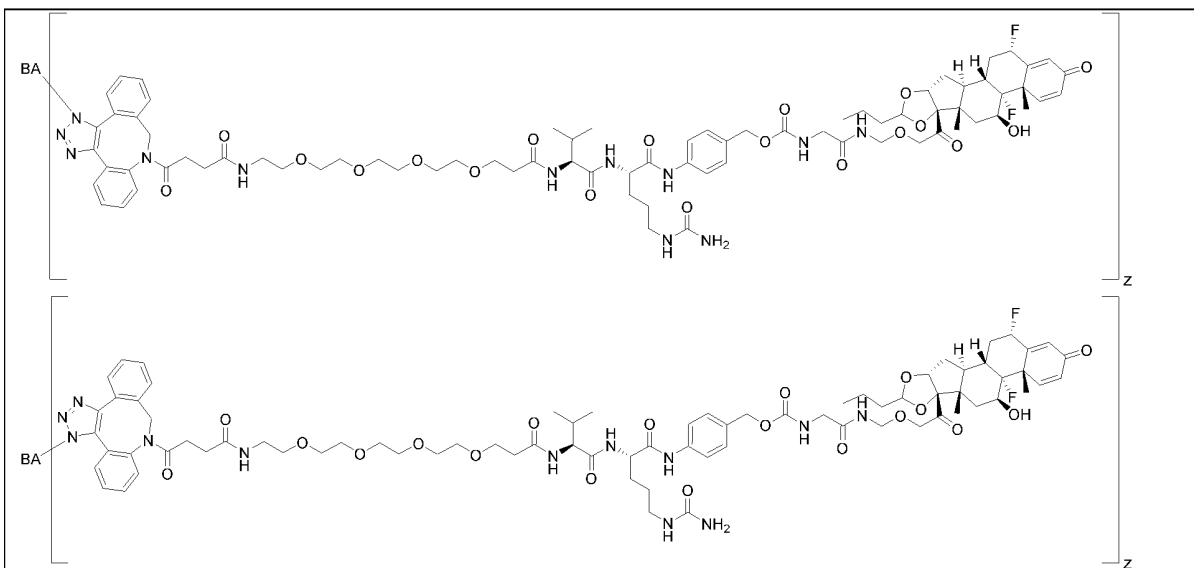
1e	
1g	
1h	

101a	
101b	
101c	
101d	
102c	
102d	
102e	

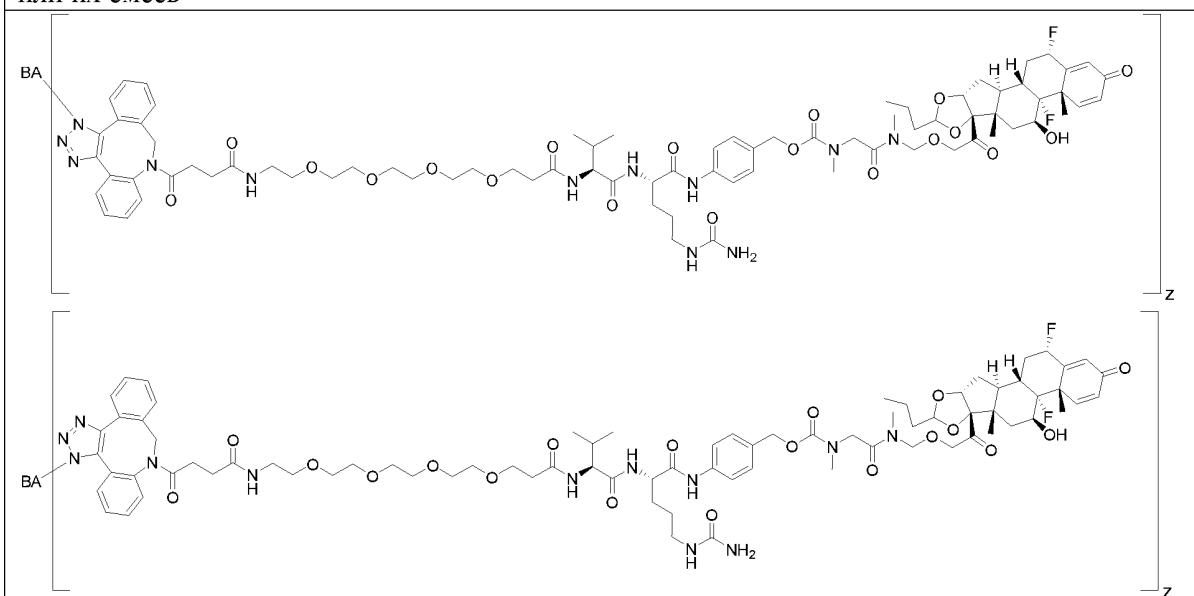
102f	
103a	
103b	
104a	
104b	
105a	
105b	



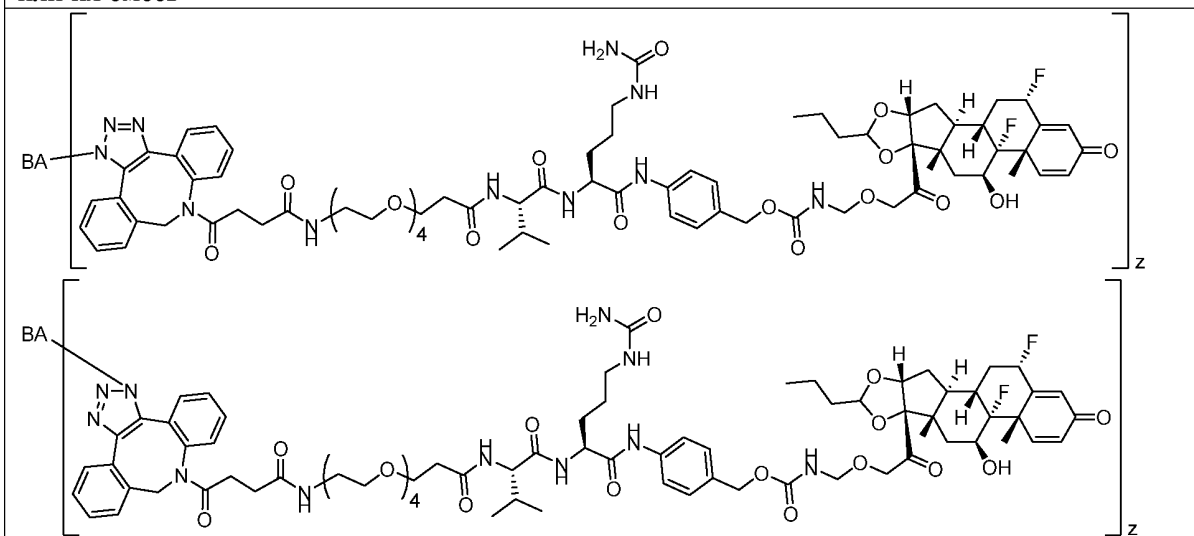




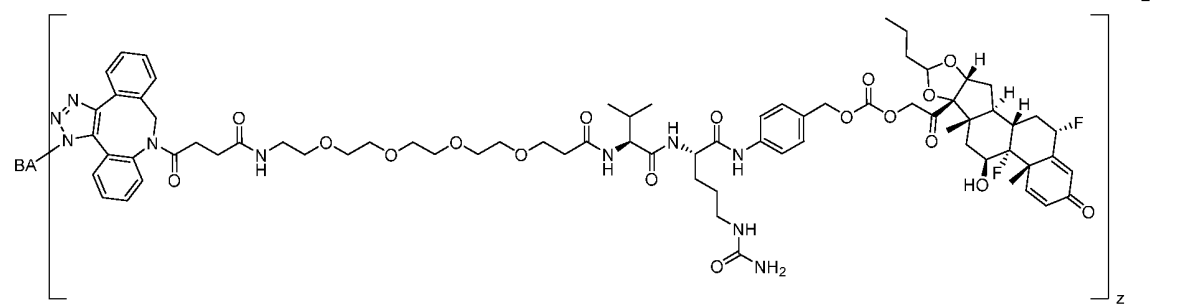
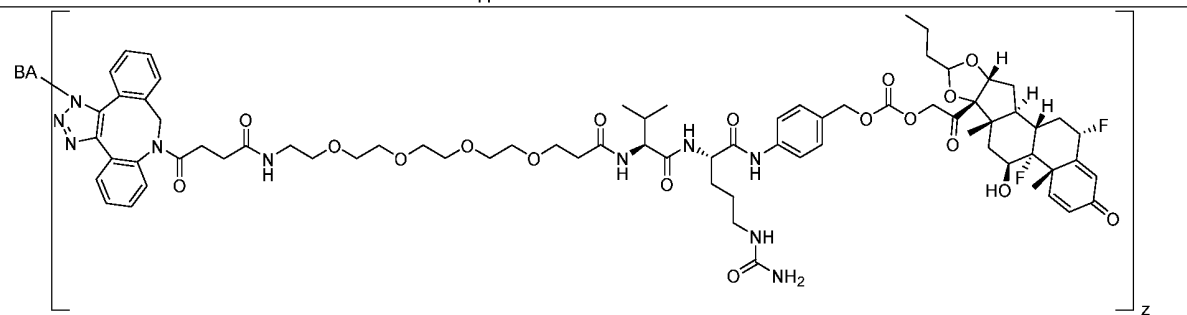
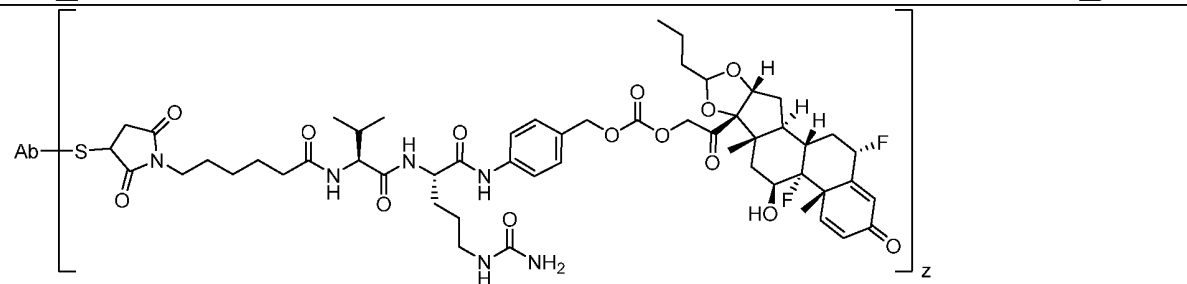
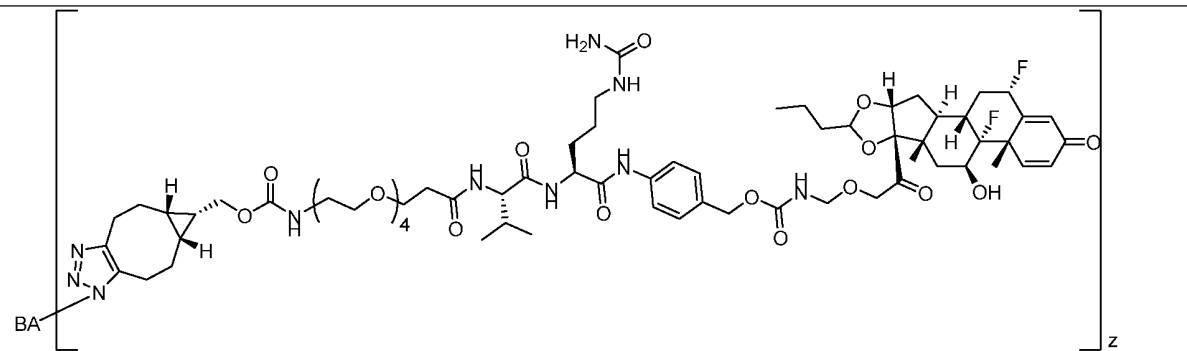
или их смесь



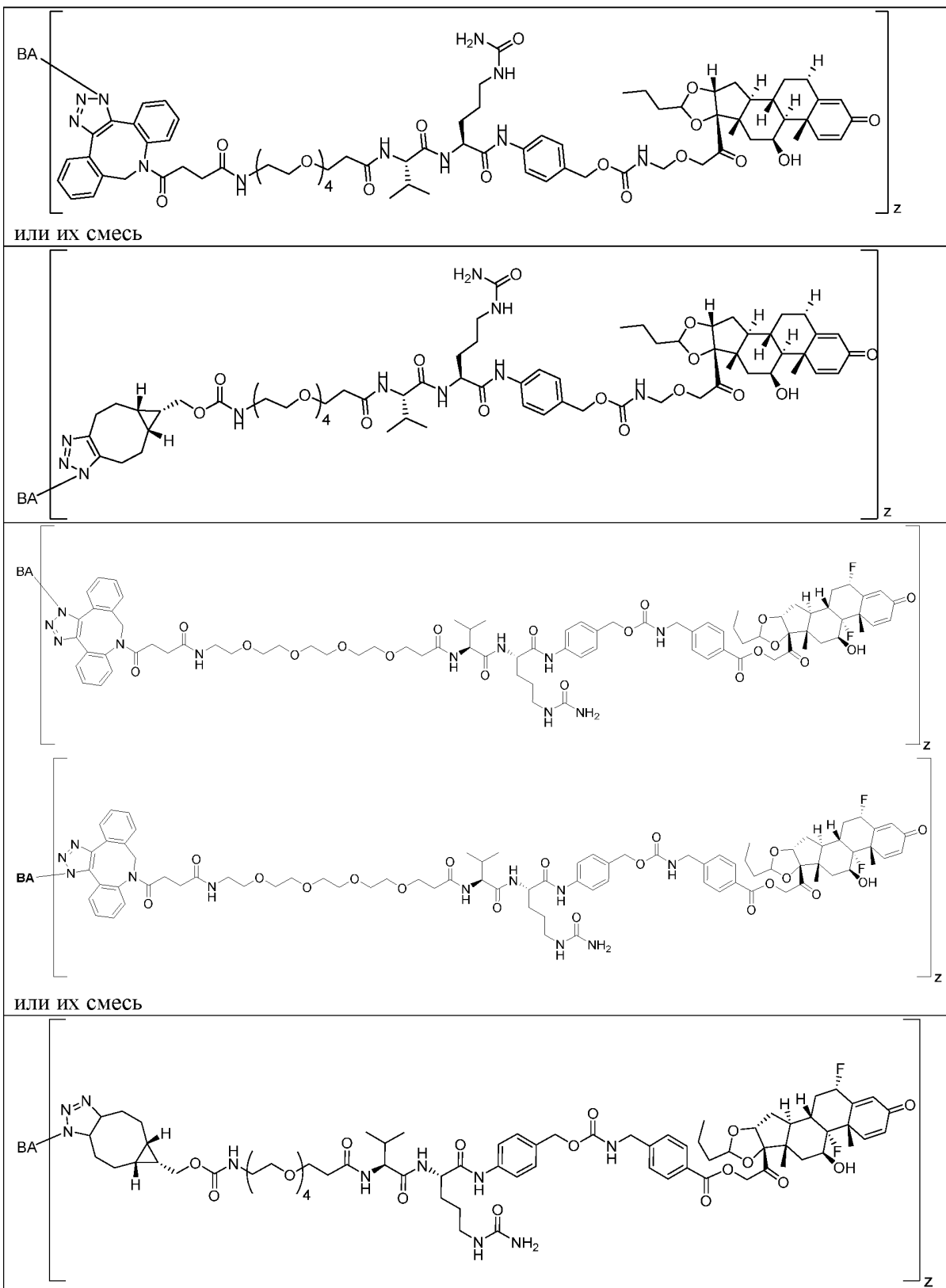
или их смесь

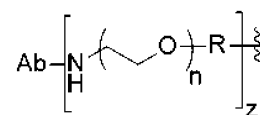
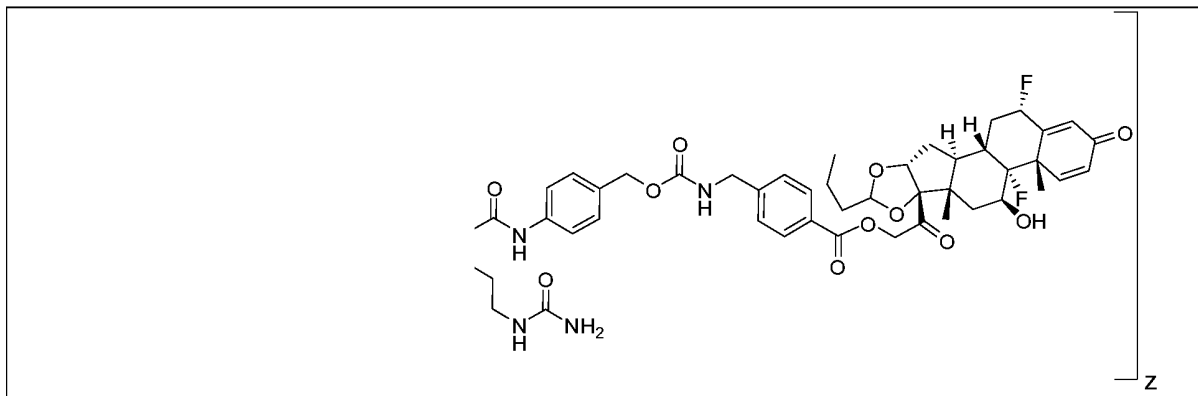


или их смесь



или их смесь





где **ВА** содержит антитело, имеющее следующую структуру

Ab представляет собой моноклональное антитело, поликлональное антитело, фрагмент антитела или биспецифическое антитело; R представляет собой C₂₋₄-алкилен; и n представляет собой целое число, которое выбирается от 2 до 4, включительно.

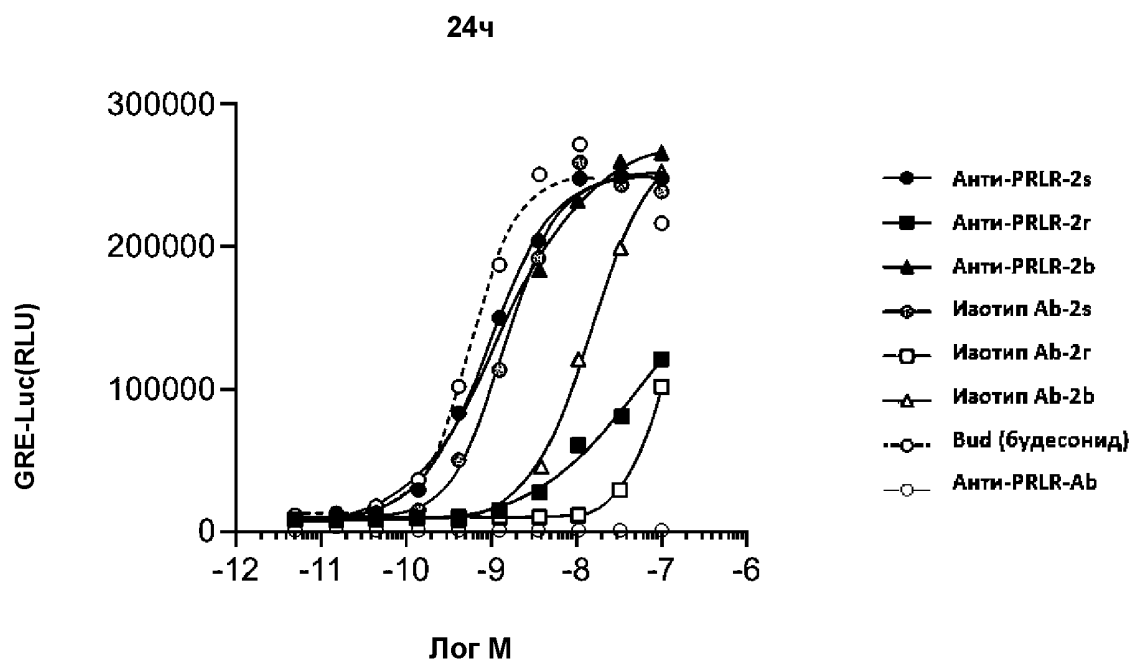
98. Соединение по пункту 94 или 95, где Ab представляет собой MSR1.

99. Способ лечения заболевания, нарушения или состояния, связанного с сигнализацией глюкокортикоидного рецептора, включающий введение пациенту с упомянутым заболеванием, нарушением или состоянием терапевтически эффективного количества соединения формулы (III) по любому из пунктов 1, 63 и 68-75 или соединения по любому из пунктов 96-98.

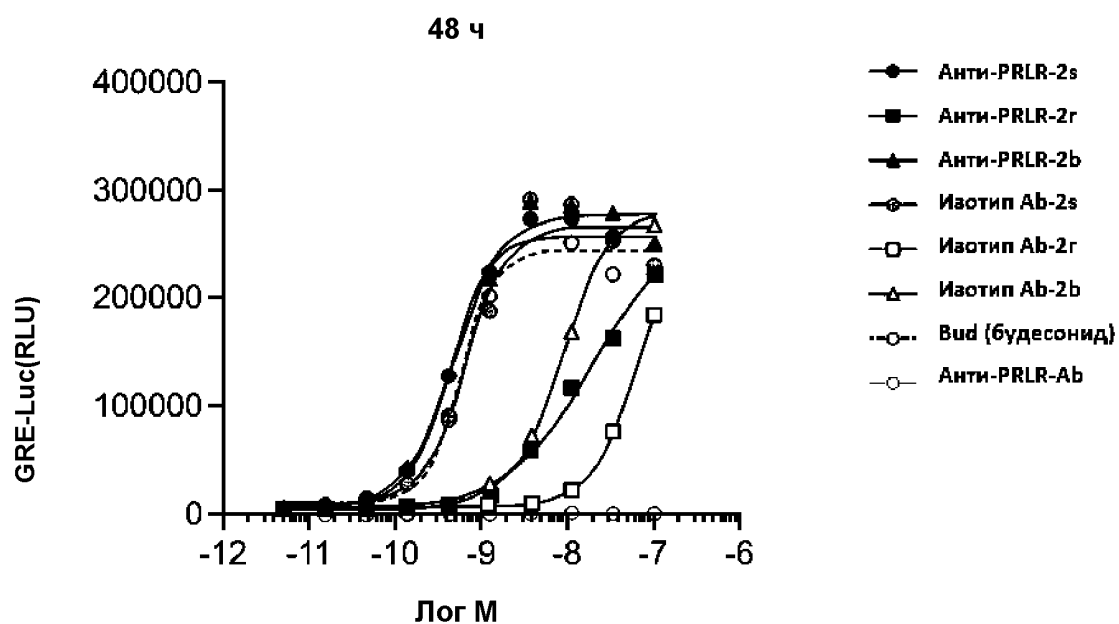
100. Способ по пункту 99, когда таким заболеванием, нарушением или состоянием является воспалительное заболевание, нарушение или состояние.

101. Способ по пункту 99 или 100, когда уменьшаются побочные действия, связанные с введением неконъюгированной стероидной нагрузки указанного соединения.

Влияние полезной нагрузки линкера на ГР активацию стероидных конъюгатов ADC, согласно тестам в HEK293/PRLR/GRE-Luc клетках



Фиг.1А



Фиг.1В

Влияние полезной нагрузки линкера на ГР активацию стероидных конъюгатов ADC, согласно тестам в HEK293/PRLR/GRE-Luc клетках

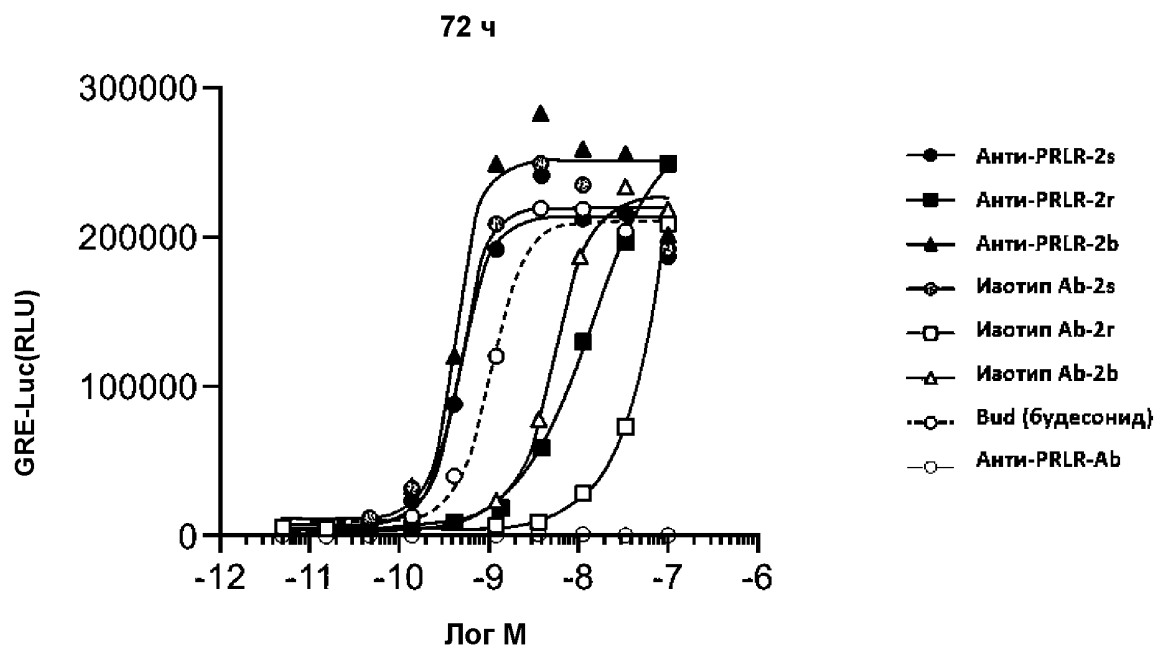


ТАБЛИЦА 8

Молекула	HEK293/PRLR/GRE-Luc клетки		
	EC ₅₀ (24 ч)	EC ₅₀ (48 ч)	EC ₅₀ (72 ч)
Анти-PRLR Ab-2s	0.9078	0.4239	0.4823
Анти-PRLR Ab-2r	34.98	18.33	13.35
Анти-PRLR Ab-2b	1.225	0.4674	0.4291
Изотип Ab-2s	1.461	0.6594	0.4904
Изотип Ab-2r	109.2	64.01	310.9
Изотип Ab-2b	15.04	8.201	5.243
1a	0.5732	0.5679	1.043

Фиг.1С

Влияние полезной нагрузки линкера на ГР активацию стероидных конъюгатов ADC, согласно тестам в HEK293/PRLR/GRE-Luc клетках

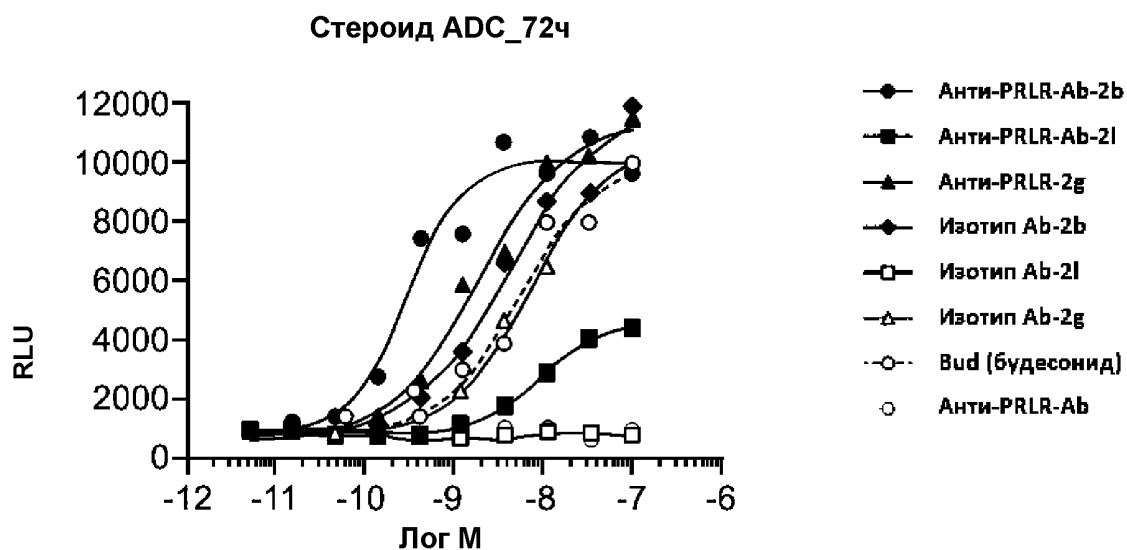
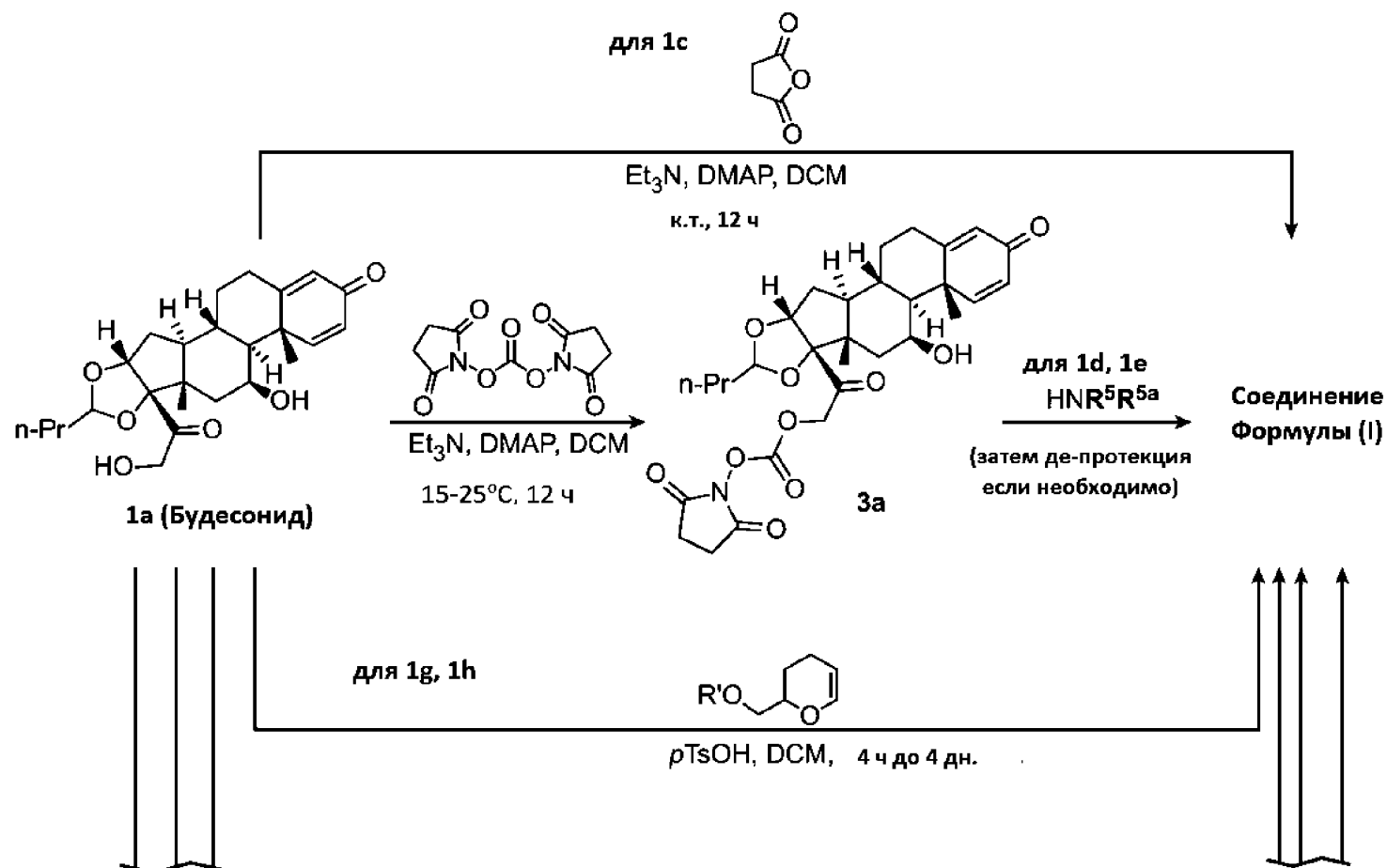


ТАБЛИЦА 9

Стероидные ADC	HEK293/PRLR/GRE-Luc клетки EC ₅₀ (нМ) через 72 часа
Анти-PRLR Ab-2b	0.29
Анти-PRLR Ab-2I	8.98
Анти-PRLR Ab-2i	>90.9
Анти-PRLR Ab-2g	1.90
Изотип Ab-2b	4.16
Изотип Ab-2I	HA
Изотип Ab-2i	HA
Изотип Ab-2g	7.11
Будесонид (1a)	5.42
Анти-PRLR Ab	HA
Изотип Ab	HA

Фиг.2

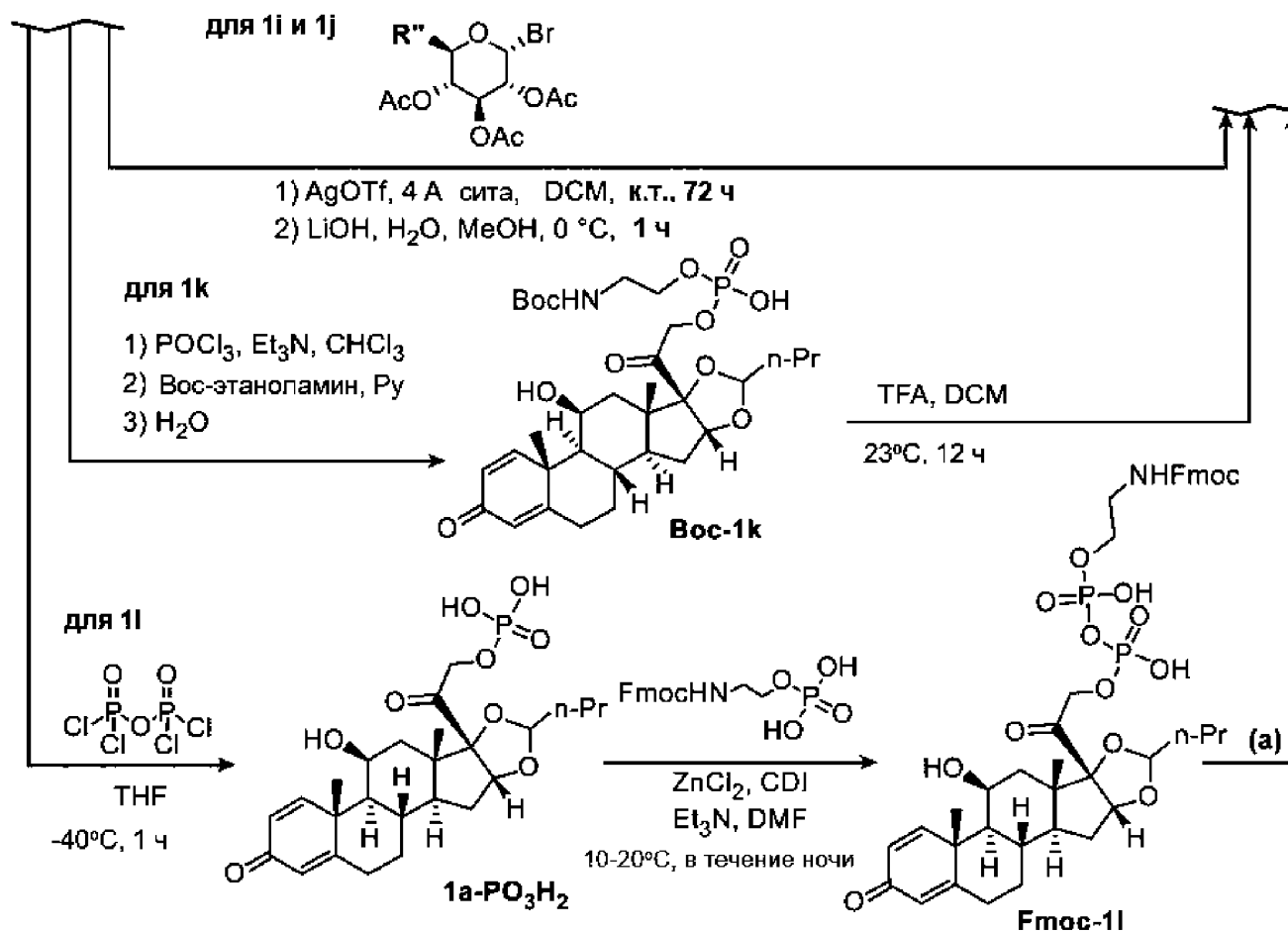
Схема 1 Синтез спейсер-будесонида 1с-1е, 1g-1i и 1j-1l



4/5

Фиг.3

Схема 1 Синтез спейсер-будесонида 1с-1е, 1g-1i и 1j-1l



(a) пиперидин, DCIM, 10-20°C, 16 ч

где Соединение по Формуле (I) представляет собой 1с, 1d, 1е, 1g, 1h, 1i, 1j, 1k, 1l

Фиг.3 (продолжение)