

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202092909 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.04.07

(51) Int. Cl. C07D 487/04 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.05.29

(54) НОВЫЙ БЕНЗОДИАЗЕПИН, ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ И ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 62/677,498

(32) 2018.05.29

(33) US

(86) PCT/IB2019/000691

(87) WO 2019/229536 2019.12.05

(88) 2020.03.05

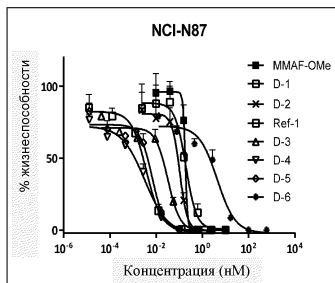
(71) Заявитель:
ИНТОСЕЛЛ, ИНК. (KR)

(72) Изобретатель:

Парк Тэкё, У Сун Хо, Ким Суньянг,
Парк Сухо, Чо Дзунгун, Дзунг
Доохван, Сео Донгхоон, Ли Дзаехо, Ли
Сангкванг, Юн Сангхисон, Ли Хян
Сук, Парк Окку, Сео Беомсеок, Ким
Сена, Соль Мина (KR)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) В изобретении предложены соединения и композиции, способные увеличить продолжительность жизни, и способы их применения.



A1

202092909

202092909

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-565890EA/032

НОВЫЙ БЕНЗОДИАЗЕПИН ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ И ПРИМЕНЕНИЕ

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

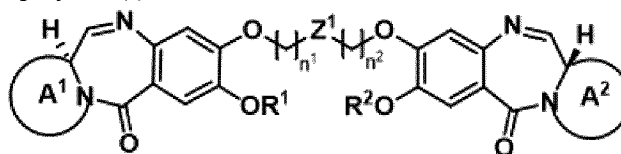
Данная заявка испрашивает преимущество по предварительной заявке на патент США № 62/677 498, поданной 29 мая 2018 г., содержание которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Уровень техники

Конъюгаты антитело-лекарственный препарат (ADC - antibody-drug conjugate) являются высокоэффективным классом противораковых агентов с эффективностью при ряде раковых заболеваний. ADC обычно включают в себя три различных компонента: агент, связывающийся с клеткой, или нацеливающий фрагмент; линкер и цитотоксический агент. Линкерный компонент ADC является важной особенностью при разработке противораковых агентов направленного действия, которые обладают желательной специфичностью к мишени, *то есть* высокой активностью в опухолевых клетках, но низкой активностью в здоровых клетках. Применение нацеливающих фрагментов в комбинации с цитотоксическими агентами, которые в случае отсутствия направленного действия могли бы нанести вред здоровым тканям, также меняет исчисление желаемых компонентов таких цитотоксических агентов. Поэтому существует необходимость в улучшенных линкерах и цитотоксических агентах, пригодных для получения ADC.

Сущность изобретения

В определенных аспектах в настоящем документе предложены соединения, имеющие структуру формулы (I):



(I)

или их фармацевтически приемлемая соль,

где:

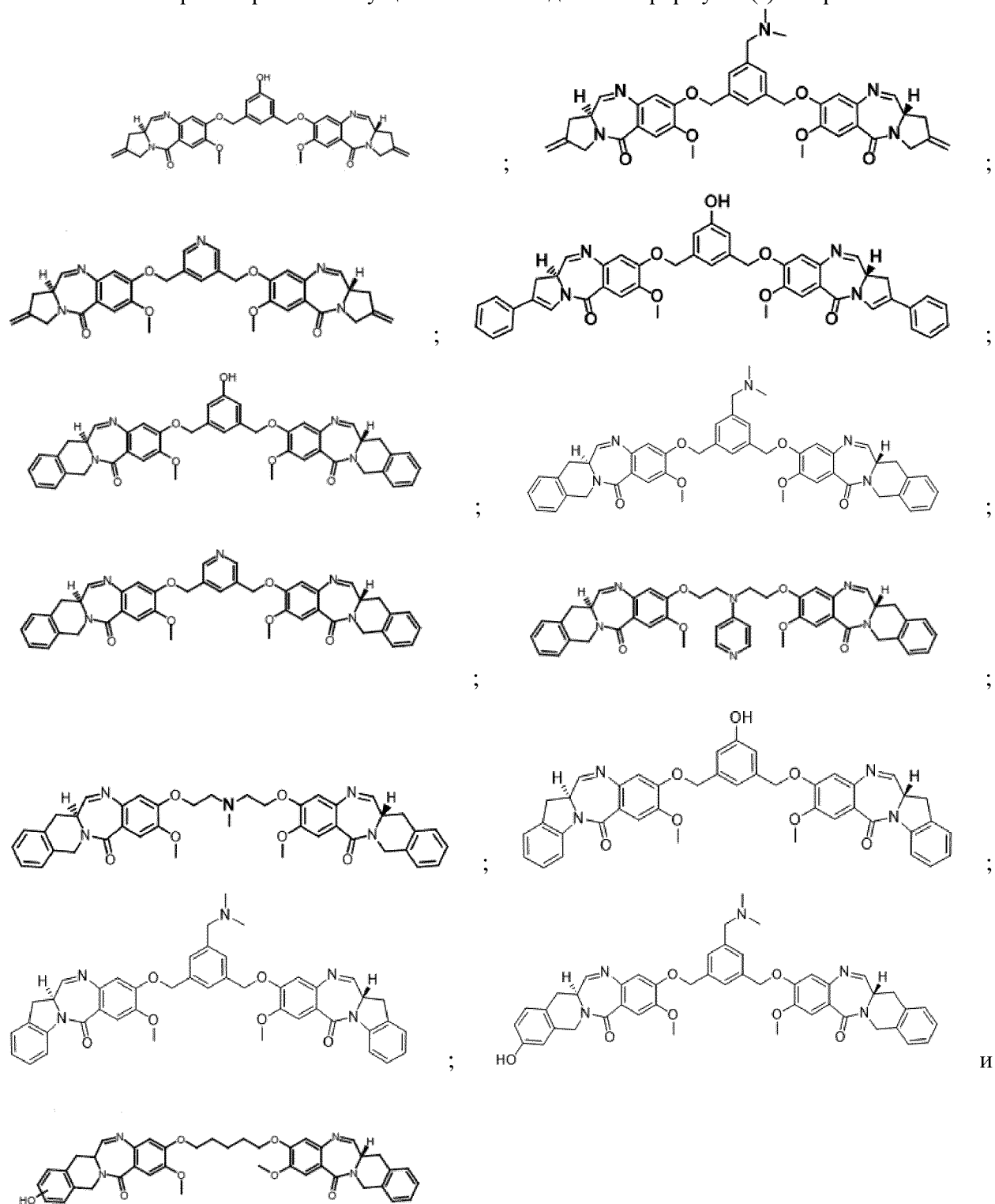
A¹ и A² каждый независимо представляют гетероциклическое кольцо, предпочтительно пяти- или шестичленное кольцо, необязательно слитое с или замещенное одним или более арильными или гетероарильными кольцами;

R¹ и R² каждый независимо представляют собой алкильную группу, предпочтительно низшую алкильную группу;

Z¹ представляет собой метилен или связывающую группу; и

n¹ и n² каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до 5.

В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) выбрано из:

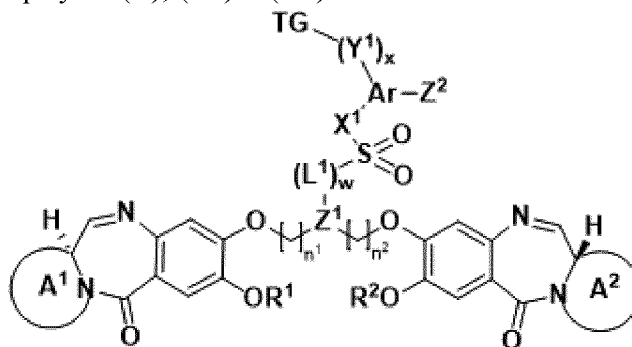


или их фармацевтически приемлемой соли.

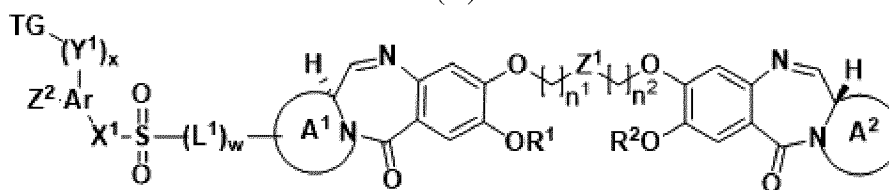
В некоторых аспектах в настоящем документе предложены конъюгаты, содержащие соединение формулы (I), расщепляемый линкер и нацеливающий агент, причем расщепляемый линкер связывает с возможностью расщепления соединение с активным нацеливающим агентом. В предпочтительных вариантах осуществления нацеливающий агент представляет собой агент, связывающийся с клеткой.

В определенных аспектах в настоящем документе предложены соединения,

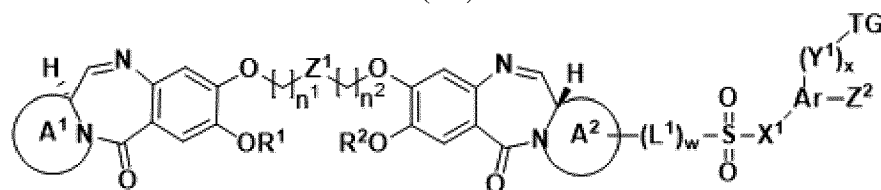
имеющие структуру формулы (II), (IIa) и (IIb):



(II)



(IIa)



(IIb)

или их фармацевтически приемлемая соль,

где:

A^1 и A^2 каждый независимо представляют гетероциклическое кольцо, предпочтительно пяти- или шестичленное кольцо, необязательно слитое с или замещенное одним или более арильными или гетероарильными кольцами;

R^1 и R^2 каждый независимо представляют собой алкильную группу;

Z^1 представляет собой связывающую группу;

Z^2 отсутствует или представляет собой связывающую группу;

L^1 представляет собой связывающую группу, присоединенную к SO_2 посредством гетероатома, выбранного из O, S и N, предпочтительно O или N, и выбранного таким образом, что расщепление связи между L^1 и SO_2 способствует расщеплению связи между L^1 и Z^1 для высвобождения активного агента;

X^1 представляет собой -O-, $-CR^b_2-$ или $-NR^a-$, предпочтительно -O-;

Ar представляет собой кольцо, например, такое как арил, гетероарил, циклоалкил или гетероциклоалкил, предпочтительно арил или гетероарил;

Y^1 представляет собой $-(CR^b_2)_yN(R^a)-$, $-(CR^b_2)_yO-$ или $-(CR^b_2)_yS-$, расположенный таким образом, что атом N, O или S присоединен к TG, если y равен от 1 до 5; где X^1 и Y^1 расположены на смежных атомах с Ar;

TG представляет собой триггерную группу, которая при активации генерирует атом

N, O или S, способный вступать в реакцию с SO_2 для смещения Z^2 и образования 5-6-членного кольца, включая X-SO_2 и промежуточные атомы Ar;

каждый R^a представляет собой водород или низший алкил; и

каждый R^b независимо представляет собой водород или низший алкил; или

два R^b вместе с атомом углевода, к которому они присоединены, образуют 3-5-членное кольцо, предпочтительно 3-4-членное кольцо;

n^1 и n^2 каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до 5;

w и x каждый независимо представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1; и

y представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 5.

В определенных аспектах в настоящем документе предложены конъюгаты, имеющие структуру формулы (III):



(III)

или их фармацевтически приемлемая соль,

где:

LG представляет собой связывающую группу;

CB представляет собой агент, связывающийся с клеткой;

cb и dl каждый независимо представляют собой целые числа, имеющие значение от 1 до около 20, предпочтительно от 1 до около 10, например, 1; и

каждый D-L независимо представляет собой группу, имеющую структуру соединения формулы (I) или (II).

Настоящее изобретение также относится к композициям (*например*, фармацевтическим композициям), содержащим соединение формулы (I), (II), (IIIa), (IIIb) или конъюгат формулы (III) и носитель (*например*, фармацевтически приемлемый носитель).

В определенных аспектах в настоящем изобретении предложены способы доставки активного агента в клетку, включающие в себя введение конъюгата формулы (III) или его фармацевтической композиции, где нацеливающий фрагмент выбран для связывания с молекулой, ассоциированной с клеткой-мишенью. В определенных аспектах изобретение относится к конъюгатам формулы (III) и их фармацевтическим композициям для использования в способе доставки активного агента к клетке, где нацеливающий фрагмент выбран для связывания с молекулой, ассоциированной с клеткой-мишенью. В частности, настоящие соединения, конъюгаты и композиции могут быть применимы для ингибирования аномального клеточного роста или лечения пролиферативного расстройства у млекопитающего (*например*, человека), такого как, где клетка-мишень представляет собой раковую клетку, а нацеливающий фрагмент выбран для связывания с молекулой, ассоциированной с раковой клеткой (и не ассоциированной со здоровыми клетками или по меньшей мере преимущественно ассоциированной с опухолевыми

клетками, а не здоровыми клетками).

Конъюгаты формулы (III) и их фармацевтические композиции могут быть применимы для лечения состояний, таких как рак, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, болезнь «трансплантат против хозяина» (БТПХ), отторжение трансплантата, волчанка, миозит, инфекция, иммунодефицит, например, СПИД, и воспалительные заболевания у млекопитающего (*например*, человека).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **ФИГ. 1** показана цитотоксическая активность *in vitro* соединений D-1, D-2, D-3, D-4, D-5 и D-6 против NCI-N87.

На **ФИГ. 2** показана цитотоксическая активность *in vitro* соединений D-1, D-2, D-3, D-4, D-5 и D-6 против JMT-1.

На **ФИГ. 3** показана цитотоксическая активность *in vitro* соединений D-1, D-2, D-3 и D-5 против Calu-6.

На **ФИГ. 4** показана цитотоксическая активность *in vitro* соединений D-1, D-2, D-3 и D-5 против A-498.

На **ФИГ. 5** показана цитотоксическая активность *in vitro* соединений D-1, D-2, D-3 и D-5 против HCT-116.

На **ФИГ. 6** показана цитотоксическая активность *in vitro* соединений D-1, D-2, D-3 и D-5 против MIA-PaCa-2.

На **ФИГ. 7** показана цитотоксическая активность *in vitro* соединений D-1, D-2, D-3 и D-5 против PC-3.

На **ФИГ. 8** показана цитотоксическая активность *in vitro* соединений D-1, D-2, D-3 и D-5 против HEK-293E.

На **ФИГ. 9** показана цитотоксическая активность *in vitro* соединений D-1, D-2, D-3 и D-5 против SK-OV-3.

На **ФИГ. 10** показан анализ *in vitro* конъюгатов T-2-AB T-3-AB и T-7-AB против NCI-N87.

На **ФИГ. 11** показан анализ *in vitro* конъюгатов T-2-AB T-3-AB и T-7-AB против JMT-1.

На **ФИГ. 12** показан анализ *in vitro* конъюгатов T-2-AB, T-3-AB и T-7-AB против SK-BR-3.

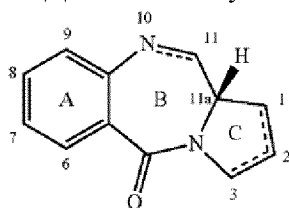
На **ФИГ. 13 и 14** показано тестирование *in vivo* конъюгата T-2-AB.

Подробное описание сущности изобретения

Некоторые пирролобензодиазепины (ПБД) обладают способностью распознавать и связываться с конкретными последовательностями ДНК; предпочтительной последовательностью является PuGPr. Первый противоопухолевый ПБД антибиотик антрамицин был открыт в 1965 г. (Leimgruber et al, J. Am. Chem. Soc, 87:5793-5795 (1965); Leimgruber et al, J. Am. Chem. Soc., 87:5791-5793 (1965)). С тех пор был зарегистрирован ряд встречающихся в природе ПБД, и было разработано более 10 путей синтеза различных аналогов (Thurston et al, Chem. Rev. 1994:433-465 (1994)). К членам семейства относится

аббеймицин (Hochlowski et al, J. Antibiotics, 40:145-148 (1987)), чикамицин (Konishi et al, J. Antibiotics, 37:200-206 (1984)), DC-81 (патент Японии № 58-180 487; Thurston et al, Chem. Brit, 26:161-112 (1990); Bose et al, Tetrahedron, 48:751-758 (1992)), мазетрамицин (Kuminoto et al, J. Antibiotics, 33:665-667 (1980)), неотрамицины А и В (Takeuchi et al, J. Antibiotics, 29:93-96 (1976)), поротрамицин (Tsunakawa et al, J. Antibiotics, 41:1366-1373 (1988)), протракарцин (Shimizu et al, J. Antibiotics, 29:2492-2503 (1982); Langley and Thurston, /, Org. Chem., 52:91-97 (1987)), сибаномицин (DC-102) (Hara et al, J. Antibiotics, 41:702-704 (1988); Itoh et al, J. Antibiotics, 41:1281-1284 (1988)), сибиромицин (Leber et al, J. Am. Chem. Soc, 110:2992-2993 (1988)) и томаймицин (Arima et al, J. Antibiotics, 25:437-444 (1972)).

ПБД имеют общую структуру:



Они различаются по количеству, типу и положению заместителей, как в их ароматических кольцах А, так и в пирроло С-кольцах, а также по степени насыщения С-кольца. В В-кольце присутствует имин ($N=C$), карбиноламин ($NH-CH(OH)$) или метиловый эфир карбиноламина ($NH-CH(OMe)$) в положении N10-C11, которое является электрофильным центром, ответственным за алкилирование ДНК. Все известные натуральные продукты имеют (S)-конфигурацию в хиральном положении C1, что дает им поворот вправо, если смотреть с кольца С на кольцо А. Это придает им соответствующую трехмерную форму для структуры, изоспиральной малой бороздке В-формы ДНК, приводя к плотной посадке в сайте связывания (Kohn, In Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975); Hurley and Needham-VanDevanter, Acc. Chem. Res., 19:230-237 (1986)). Их способность образовывать аддукт в малой бороздке позволяет им вмешиваться в процессинг ДНК, следовательно они могут использоваться в качестве противоопухолевых агентов.

Индолинобензодиазепины (ИБД) отличаются от ПБД тем, что С-кольцо ПБД заменено индолино кольцом. Для удобства некоторые положения А-кольца и В-кольца в ИБД принимают аналогичную номенклатуру, что и положения в ПБД, например, положения С6-С9, N10 и C11.

В настоящем документе предложены соединения и их конъюгаты, содержащие соединение ПДБ или ИБД и необязательно расщепляемый линкер, а также предложены способы их применения. В определенных вариантах осуществления соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, содержат активный агент (*например*, соединение формулы (I)), содержат функциональную группу, которая подвергается химической реакции (*например*, физико-химической реакции и/или биологической реакции) в заданных условиях для высвобождения нуклеофильного гетероатома, и

функциональную группу SO_2 , расположенную проксимально относительно нуклеофильного гетероатома таким образом, что она может вступать в реакцию с нуклеофильным гетероатомом в ходе реакции внутримолекулярной циклизации с высвобождением активного агента. В некоторых вариантах осуществления соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, дополнительно содержат нацеливающий фрагмент (*например*, олигопептид, полипептид, антитело и т. д.), обладающий специфичностью связывания для желаемого рецептора-мишени или другой молекулы, ассоциированной с клеткой-мишенью.

Определения

Если в настоящем документе не определено иное, научные и технические термины, используемые в настоящей заявке, должны иметь значения, которые обычно понимаются средними специалистами в данной области техники. Как правило, номенклатура, используемая в связи с химическими методами, методиками культуры клеток и тканей, молекулярной биологии, клеточной и онкологической биологии, нейробиологии, нейрохимии, вирусологии, иммунологии, микробиологии, фармакологии, генетики и химии белков и нуклеиновых кислот, описанными в настоящем документе, хорошо известны и широко используются в данной области.

Способы и методики настоящего описания, как правило, выполняются, если не указано иное, в соответствии с обычными способами, хорошо известными в данной области техники и описанными в различных общих и более конкретных ссылках, которые цитируются и обсуждаются в данном описании. *См., например*, “Principles of Neural Science”, McGraw-Hill Medical, New York, N.Y. (2000); Motulsky, “Intuitive Biostatistics”, Oxford University Press, Inc. (1995); Lodish et al., “Molecular Cell Biology, 4th ed.”, W. H. Freeman & Co., New York (2000); Griffiths et al., “Introduction to Genetic Analysis, 7th ed.”, W. H. Freeman & Co., N.Y. (1999); и Gilbert et al., “Developmental Biology, 6th ed.”, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA (2000).

Химические термины, используемые в настоящем документе, если здесь не указано иное, используются в соответствии с общепринятым применением в данной области техники, как показано в “The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms”, Parker S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco, C.A. (1985).

Все вышеперечисленное и любые другие публикации, патенты и опубликованные патентные заявки, упомянутые в данной заявке, специально включены в настоящий документ посредством ссылки. В случае конфликта настоящее описание, включая его конкретные определения, будет иметь преимущественную силу.

Термин «агент» используется в настоящем документе для обозначения химического соединения (такого как органическое или неорганическое соединение, смесь химических соединений), биологической макромолекулы (такой как нуклеиновая кислота, антитело, включая их части, а также гуманизированные, химерные и человеческие антитела и моноклональные антитела, белок или его часть, *например*, пептид, липид, углеводов), или экстракт, полученный из биологических материалов, таких как клетки или

ткани бактерий, растений, грибов или животных (особенно млекопитающих). Агенты включают в себя, например, агенты, структура которых известна, и агенты, структура которых неизвестна.

«Пациент», «субъект» или «индивидуум» используются взаимозаменяемо и относятся к человеку или животному, не являющемуся человеком. Эти термины включают в себя млекопитающих, таких как люди, приматы, сельскохозяйственные животные (включая коров, свиней *и т. д.*), домашние животные (*например*, собаки, кошки *и т. д.*) и грызуны (*например*, мыши и крысы).

«Лечение» состояния или пациента означает принятие мер для получения полезных или желаемых результатов, включая клинические результаты. В контексте настоящего документа и как хорошо известно в данной области, «лечение» представляет собой подход для получения благоприятных или желательных результатов, включая клинические результаты. Полезные или желательные клинические результаты могут включать в себя без ограничения ослабление или улучшение одного или нескольких симптомов или состояний, уменьшение степени заболевания, стабилизированное (*то есть* не ухудшающееся) состояние заболевания, предотвращение распространения заболевания, задержку или замедление развития заболевания, улучшение или временное смягчение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), определяемую или не обнаруживаемую. «Лечение» также может означать продление выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью, если лечение не проводится.

Термин «предотвращение» является общепризнанным в данной области техники и при использовании в отношении состояния, такого как местное рецидивирование (*например*, боль), заболевания, такого как рак, синдрома комплекса, такого как сердечная недостаточность, или любого другого медицинского состояния хорошо понимается в данной области техники и включает в себя введение композиции, которая уменьшает частоту или замедляет появление симптомов медицинского состояния у субъекта по сравнению с субъектом, который не получает композиции. Таким образом, профилактика рака включает в себя, например, уменьшение количества обнаруживаемых раковых образований в популяции пациентов, получающих профилактическое лечение, по сравнению с нелеченной контрольной популяцией и/или задержку появления выявляемых раковых образований в леченной популяции по сравнению с нелеченной контрольной популяцией, *например*, на статистически и/или клинически значимое количество.

«Применение» или «введение» субстанции, соединения или агента субъекту может быть осуществлено с использованием одного из множества способов, известных специалистам в данной области техники. Например, соединение или агент можно вводить внутривенно, артериально, внутрикочно, внутримышечно, внутрибрюшинно, подкожно, через глаза, сублингвально, перорально (путем приема внутрь), интраназально (путем ингаляции), внутриспинально, интрацеребрально и трансдермально (путем абсорбции, *например*, через кожный проток). Соединение или агент также можно соответствующим образом вводить с помощью перезаряжаемых или биоразлагаемых полимерных устройств

или других устройств, *например*, пластырей и насосов, или составов, которые обеспечивают пролонгированное, медленное или контролируемое высвобождение соединения или агента. Введение также может быть выполнено, например, один раз, много раз и/или в течение одного или нескольких продолжительных периодов.

Подходящие способы введения вещества, соединения или агента субъекту также будут зависеть, например, от возраста и/или физического состояния субъекта и химических и биологических свойств соединения или агента (*например*, растворимости, усвояемости, биодоступности, стабильности и токсичности). В некоторых вариантах осуществления соединение или агент вводят перорально, *например*, субъекту путем приема внутрь. В некоторых вариантах осуществления перорально вводимое соединение или агент находится в составе с пролонгированным или замедленным высвобождением или вводится с использованием устройства для такого медленного или пролонгированного высвобождения.

Используемое в настоящем документе выражение «совместное введение» относится к любой форме введения двух или нескольких различных терапевтических агентов, так что второй агент вводят, в то время как ранее введенный терапевтический агент все еще эффективен в организме (*например*, два агента являются одновременно эффективными у пациента, что может включать в себя синергетическое действие двух агентов). Например, различные терапевтические соединения могут вводиться либо в одной и той же композиции, либо в отдельных композициях, одновременно или последовательно. Таким образом, индивидуум, который получает такое лечение, может получить пользу от комбинированного действия различных терапевтических агентов.

«Терапевтически эффективное количество» или «терапевтически эффективная доза» лекарственного средства или агента представляет собой количество лекарственного средства или агента, которое при введении субъекту будет иметь предполагаемый терапевтический эффект. Полный терапевтический эффект необязательно возникает при введении одной дозы и может происходить только после введения серии доз. Таким образом, терапевтически эффективное количество может быть введено за одно или несколько введений. Точное эффективное количество, необходимое для субъекта, будет зависеть, например, от размера, состояния здоровья и возраста субъекта, а также от характера и степени тяжести состояния, подвергаемого лечению, такого как рак или MDS. Специалист может легко определять эффективное количество для данной ситуации путем рутинных экспериментов.

Термин «алкенил», используемый в настоящем документе, относится к алифатической группе, содержащей по меньшей мере одну двойную связь, и предназначен для включения как «незамещенных алкенилов», так и «замещенных алкенилов», последние из которых относятся к алкенильным фрагментам, имеющим заместители, замещающие водород на одном или более атомах углерода алкенильной группы. Такие заместители могут встречаться на одном или более атомах углерода, которые включены или не включены в одну или более двойных связей. Более того, такие заместители

включают в себя все то, что подразумевается для алкильных групп, как обсуждается выше, за исключением случаев, когда стабильность является неприемлемой. Например, подразумевается замещение алкенильных групп одной или более алкильными, карбоциклическими, арильными, гетероциклическими или гетероарильными группами.

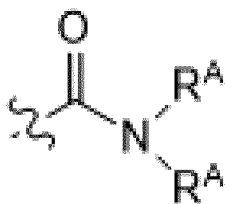
«Алкильная» группа или «алкан» представляет собой неароматический углеводород с линейной или разветвленной цепью, который является полностью насыщенным. Как правило, алкильная группа с линейной или разветвленной цепью имеет от 1 до около 20 атомов углерода, предпочтительно от 1 до около 10 атомов, если не указано иное. Примеры алкильных групп с линейной и разветвленной цепью включают в себя метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, гексил, пентил и октил. C_1 - C_6 алкильная группа с линейной или разветвленной цепью также называется «низшей алкильной» группой.

Кроме того, термин «алкил» (или «низший алкил»), используемый в описании, примерах и формуле изобретения, предназначен для включения как «незамещенных алкилов», так и «замещенных алкилов», последний из которых относится к алкильным фрагментам, имеющим заместители, замещающие водород на одном или более атомах углерода углеводородного каркаса. Такие заместители, если не указано иное, могут включать в себя, например, галоген (*например*, фтор), гидроксил, карбонил (такой как карбоксил, алкоксикарбонил, формил или ацил), тиокарбонил (такой как тиоэфир, тиоацетат или тиоформат), алкокси, фосфорил, фосфат, фосфонат, фосфинат, амина, амидо, амидин, имин, циано, нитро, азидо, сульфгидрил, алкилтио, сульфат, сульфонат, сульфоамид, сульфоамидо, сульфонил, гетероциклический, алкил или ароматический или гетероароматический фрагмент. В предпочтительных вариантах осуществления заместители на замещенных алкилах выбраны из C_{1-6} алкила, C_{3-6} циклоалкила, галогена, карбонила, циано или гидроксила. В более предпочтительных вариантах осуществления заместители на замещенных алкилах выбраны из фтора, карбонила, циано или гидроксила. Специалистам в данной области будет понятно, что фрагменты, замещенные в углеводородной цепи, сами могут быть замещены, если это необходимо. Например, заместители замещенного алкила могут включать в себя замещенные и незамещенные формы амина, азидо, имино, амидо, фосфорила (включая фосфонат и фосфинат), сульфонила (включая сульфат, сульфоамидо, сульфоамид и сульфонат) и силильные группы, а также простые эфиры, алкилтио, карбонилы (включая кетоны, альдегиды, карбоксилаты и сложные эфиры), $-CF_3$, $-CN$ и тому подобное. Типичные замещенные алкилы описаны ниже. Циклоалкилы могут быть дополнительно замещены алкилами, алкенилами, алкокси, алкилтио, аминалками, карбонилзамещенными алкилами, $-CF_3$, $-CN$ и тому подобными.

Подразумевается, что термин « C_{x-y} », применяемый в сочетании с химическим фрагментом, таким как ацил, ацилокси, алкил, алкенил, алкинил или алкокси, включает в себя группы, которые содержат от x до y атомов углерода в цепи. Например, термин « C_{x-y} алкил» относится к замещенным или незамещенным насыщенным углеводородным

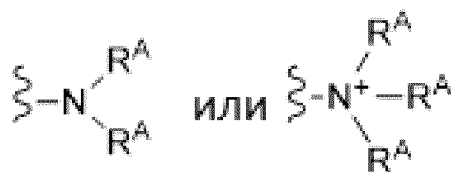
группам, включая алкил с линейной цепью и алкильные группы с разветвленной цепью, которые содержат от x до y атомов углерода в цепи, включая галогеналкильные группы. Предпочтительные галогеналкильные группы включают в себя трифторметил, дифторметил, 2,2,2-трифторэтил и пentaфторэтил. C_0 алкил представляет собой водород, где группа находится в концевом положении связи, если она внутренняя. Термины « C_{2-y} алкенил» и « C_{2-y} алкинил» относятся к замещенным или незамещенным ненасыщенным алифатическим группам, аналогичным по длине и возможным заменам описанным выше алкилам, но содержащим по меньшей мере одну двойную или тройную связь, соответственно.

Термин «амид», используемый в настоящем документе, относится к группе



где каждый R^A независимо представляет собой водород или гидрокарбильную группу, или два R^A , взятые вместе с атомом N, к которому они присоединены, составляют гетероцикл, имеющий от 4 до 8 атомов в кольцевой структуре.

Термины «амин» и «амино» являются общепризнанными в данной области техники и относятся как к незамещенным, так и к замещенным аминам и их солям, *например*, фрагменту, который может быть представлен



где каждый R^A независимо представляет собой водород или гидрокарбильную группу, или два R^A , взятые вместе с атомом N, к которому они присоединены, составляют гетероцикл, имеющий от 4 до 8 атомов в кольцевой структуре.

Используемый в настоящем документе термин «арил» относится к замещенным или незамещенным однокольцевым ароматическим группам, в которых каждый атом кольца представляет собой углерод. Предпочтительно кольцо представляет собой 6- или 10-членное кольцо, более предпочтительно 6-членное кольцо. Термин «арил» также включает в себя полициклические кольцевые системы, имеющие два или более циклических колец, в которых два или более атомов углерода являются общими для двух смежных колец, при этом по меньшей мере одно из колец является ароматическим, *например*, другие циклические кольца могут представлять собой циклоалкилы, циклоалкенилы, циклоалкинилы, арилы, гетероарилы и/или гетероциклилы. Арильные группы включают в себя бензол, нафталин, фенантрен, фенол, анилин и тому подобное.

«Циклоалкильная» группа представляет собой циклический углеводород, который

является полностью насыщенным. «Циклоалкил» включает в себя моноциклические и бициклические кольца. Как правило, моноциклическая циклоалкильная группа имеет от 3 до около 10 атомов углерода, более типично от 3 до 8 атомов углерода, если не указано иное. Второе кольцо бициклического циклоалкила может быть выбрано из насыщенных, ненасыщенных и ароматических колец. Циклоалкил включает в себя бициклические молекулы, в которых один, два или три или более атомов распределены между двумя кольцами. Термин «конденсированный циклоалкил» относится к бициклическому циклоалкилу, в котором каждое из колец имеет два смежных атома с другим кольцом. Второе кольцо конденсированного бициклического циклоалкила может быть выбрано из насыщенных, ненасыщенных и ароматических колец. «Циклоалкенильная» группа представляет собой циклический углеводород, содержащий одну или более двойных связей.

Термины «гало» и «галоген», используемые в настоящем описании, означают галоген и включают в себя хлор, фтор, бром и йод.

Термины «гетероарил» и «гетарил» включают в себя замещенные или незамещенные ароматические однокольцевые структуры, предпочтительно 5-7-членные кольца, более предпочтительно 5-6-членные кольца, чьи кольцевые структуры включают в себя по меньшей мере один гетероатом, предпочтительно от одного до четырех гетероатомов, более предпочтительно один или два гетероатома. Термины «гетероарил» и «гетарил» также включают в себя полициклические кольцевые системы, имеющие два или более циклических колец, в которых два или более углеродов являются общими для двух соседних колец, причем по меньшей мере одно из колец является гетероароматическим, *например*, другие циклические кольца могут быть циклоалкилами, циклоалкенилами, циклоалкинилами, арилами, гетероарилами и/или гетероциклами. Гетероарильные группы включают в себя, например, пиррол, фуран, тиюфен, имидазол, оксазол, тиазол, пиразол, пиридин, пиразин, пиридазин и пиримидин и тому подобное.

Используемый в настоящем документе термин «гетероатом» означает атом любого элемента, кроме углерода или водорода. Предпочтительными гетероатомами являются азот, кислород и сера.

Термины «гетероцикл», «гетероцикл» и «гетероциклический» относятся к замещенным или незамещенным неароматическим кольцевым структурам, предпочтительно 3-10-членным кольцам, более предпочтительно 3-7-членным кольцам, чьи кольцевые структуры включают в себя по меньшей мере один гетероатом, предпочтительно от одного до четырех гетероатомов, более предпочтительно один или два гетероатома. Термины «гетероцикл» и «гетероциклический» также включают в себя полициклические кольцевые системы, имеющие два или более циклических колец, в которых два или несколько углеродов являются общими для двух соседних колец, причем по меньшей мере одно из колец является гетероциклическим, *например*, другие циклические кольца могут быть циклоалкилами, циклоалкенилами, циклоалкинилами, арилами, гетероарилами и/или гетероциклами. Гетероциклильные группы включают в

себя, например, пиперидин, пиперазин, пирролидин, тетрагидропиран, тетрагидрофуран, морфолин, лактоны, лактамы и тому подобное.

Термин «низший» при использовании в сочетании с химическим фрагментом, таким как ацил, ацилокси, алкил, алкенил, алкинил или алкокси, подразумевает включение групп, где в заместителе имеется десять или меньше неводородных атомов, предпочтительно шесть или меньше. «Низший алкил», например, относится к алкильной группе, которая содержит десять или менее атомов углерода, предпочтительно шесть или менее. В определенных вариантах осуществления ацильные, ацилокси, алкильные, алкенильные, алкинильные или алкокси заместители, определенные в настоящем описании, представляют собой, соответственно, низший ацил, низший ацилокси, низший алкил, низший алкенил, низший алкинил или низший алкокси, независимо от того, появляются ли они отдельно или в комбинации с другими заместителями, такими как в перечислениях гидроксильного и алкильного (в этом случае, например, атомы в арильной группе не учитываются при подсчете атомов углерода в алкильном заместителе).

Термин «замещенный» относится к фрагментам, имеющим заместители, замещающие водород в одном или более атомах углерода основной цепи. Будет понятно, что термины «замещение» или «замещенный» включают в себя подразумеваемую оговорку о том, что такое замещение соответствует разрешенной валентности замещенного атома и заместителя, и что замещение приводит к стабильному соединению, *например*, к соединению, которое спонтанно не претерпевает превращение, такое как перегруппировка, циклизация, отщепление и *т. д.* В контексте настоящего документа термин «замещенный» предполагает включение всех допустимых заместителей органических соединений. В широком аспекте допустимые заместители включают в себя ациклические и циклические, разветвленные и неразветвленные, карбоциклические и гетероциклические, ароматические и неароматические заместители органических соединений. Допустимые заместители могут быть одним или несколькими и одинаковыми или разными для соответствующих органических соединений. Для целей данного изобретения гетероатомы, такие как азот, могут иметь водородные заместители и/или любые допустимые заместители органических соединений, описанных здесь, которые удовлетворяют валентности гетероатомов. Заместители могут включать в себя любые заместители, описанные в настоящем документе, *например*, галоген, гидроксил, карбонил (такой как карбоксил, алкоксикарбонил, формил или ацил), тиокарбонил (такой как тиоэфир, тиоацетат или тиоформиат), алкокси, фосфорил, фосфат, фосфонат, фосфинат, амино, амидо, амидин, имин, циано, нитро, азидо, сульфгидрил, алкилтио, сульфат, сульфонат, сульфоамид, сульфонамид, сульфонил, гетероцикл, алкил или ароматический или гетероароматический фрагмент. В предпочтительных вариантах осуществления заместители на замещенных алкилах выбраны из C_{1-6} алкила, C_{3-6} циклоалкила, галогена, карбонила, циано или гидроксила. В более предпочтительных вариантах осуществления заместители на замещенных алкилах выбраны из фтора, карбонила, циано или гидроксила. Специалистам в данной области техники будет

понятно, что заместители сами могут быть замещены, если это необходимо. Если специально не указано, что они являются «незамещенными», подразумевается, что ссылки на химические фрагменты в настоящем описании включают в себя замещенные варианты. Например, ссылка на «арильную» группу или фрагмент неявно включает в себя как замещенные, так и незамещенные варианты.

«Защитная группа» относится к группе атомов, которые в случае присоединения к реакционноспособной функциональной группе в молекуле маскируют, уменьшают или предотвращают реакционную способность функциональной группы. Как правило, защитная группа может быть избирательно удалена при необходимости в процессе синтеза. Примеры защитных групп можно найти в Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 3rd Ed., 1999, John Wiley & Sons, NY and Harrison et al., *Compendium of Synthetic Organic Methods*, Vols. 1-8, 1971-1996, John Wiley & Sons, NY. Типичные защитные группы азота включают в себя без ограничения формил, ацетил, трифторацетил, бензил, бензилоксикарбонил («CBZ»), трет-бутоксикарбонил («Boc»), триметилсилил («TMS»), 2-триметилсилил-этансульфонил («TES»), тритил и замещенные тритильные группы, аллилоксикарбонил, 9-флуоренилметилоксикарбонил («Fmoc»), нитро-вератрилоксикарбонил («Nvoc») и тому подобное. Типичные гидроксильные защитные группы включают в себя без ограничения группы, в которых гидроксильная группа является ацилированной (этерифицированной) или алкилированной, такие как простые бензиловые и тритиловые эфиры, а также простые алкиловые эфиры, простые тетрагидропираниловые эфиры, простые триалкилсилиловые эфиры (*например*, TMS или TIPS группы), простые гликолевые эфиры, такие как производные этиленгликоля и пропиленгликоля, а также простые аллиловые эфиры.

Используемый в настоящем документе термин «модулировать» включает в себя ингибирование или подавление функции или активности (такой как пролиферация клеток), а также усиление функции или активности.

Фраза «фармацевтически приемлемый» признана в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления термин включает в себя композиции, вспомогательные вещества, адъюванты, полимеры и другие материалы и/или лекарственные формы, которые в рамках здравого медицинского заключения подходят для использования в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соразмерных с разумным соотношением пользы/риска.

Термин «фармацевтически приемлемая соль» или «соль» используется в настоящем документе для обозначения соли присоединения кислоты или соли присоединения основания, которая подходит для лечения пациентов или совместима с ним.

Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемая соль присоединения кислоты» означает любую нетоксичную органическую или неорганическую соль любых основных соединений, представленных формулой I.

Иллюстративные неорганические кислоты, которые образуют подходящие соли, включают в себя соляную, бромистоводородную, серную и фосфорную кислоты, а также соли металлов, такие как моногидроортофосфат натрия и гидросульфат калия. Иллюстративные органические кислоты, которые образуют подходящие соли, включают в себя моно-, ди- и трикарбоновые кислоты, такие как гликолевая, молочная, пировиноградная, малоновая, янтарная, глутаровая, фумаровая, яблочная, винная, лимонная, аскорбиновая, малеиновая, бензойная, фенилуксусная, коричная и салициловая кислоты, а также сульфоновые кислоты, такие как п-толуолсульфоновая и метансульфоновая кислоты. Могут быть образованы моно- или дикислотные соли, и такие соли могут существовать в гидратированной, сольватированной или практически безводной форме. Как правило, кислотно-аддитивные соли соединений формулы I более растворимы в воде и различных гидрофильных органических растворителях и обычно демонстрируют более высокие температуры плавления по сравнению с их формами свободного основания. Выбор подходящей соли будет известен специалисту в данной области техники. Другие фармацевтически неприемлемые соли, *например*, оксалаты, могут быть использованы, например, для выделения соединений формулы I для лабораторного применения или для последующего превращения в фармацевтически приемлемую соль присоединения кислоты.

Термин «фармацевтически приемлемая соль присоединения основания», как он используется в настоящем документе, означает любую нетоксичную соль присоединения органического или неорганического основания любых кислотных соединений, представленных формулой I, или любых их промежуточных соединений. Иллюстративные неорганические основания, которые образуют подходящие соли, включают в себя гидроксид лития, натрия, калия, кальция, магния или бария. Иллюстративные органические основания, которые образуют подходящие соли, включают в себя алифатические, алициклические или ароматические органические амины, такие как метиламин, триметиламин и пиколин или аммиак. Выбор подходящей соли будет известен специалисту в данной области техники.

Многие из соединений, полезных в способах и композициях данного описания, имеют по меньшей мере один стереогенный центр в своей структуре. Этот стереогенный центр может присутствовать в конфигурации R или S, указанные обозначения R и S используются в соответствии с правилами, описанными в Pure Appl. Chem. (1976), 45, 11-30. В описании рассматриваются все стереоизомерные формы, такие как энантиомерные и диастереоизомерные формы соединений, солей, пролекарств или их смесей (включая все возможные смеси стереоизомеров). Смотрите, *например*, WO 01/062726.

Кроме того, некоторые соединения, которые содержат алкенильные группы, могут существовать в виде Z (zusammen, вместе) или E (entgegen, напротив) изомеров. В каждом случае описание включает в себя как смеси, так и отдельные индивидуальные изомеры.

Некоторые из соединений могут также существовать в таутомерных формах. Такие формы, хотя они явно не указаны в формулах, описанных в настоящем документе,

предназначены для включения в объем настоящего описания.

«Пролекарство» или «фармацевтически приемлемое пролекарство» относится к соединению, которое метаболизируется, например, гидролизуется или окисляется, в хозяине после введения с образованием соединения по настоящему изобретению (*например*, соединений формулы I). Типичные примеры пролекарств включают в себя соединения, которые имеют биологически лабильные или расщепляемые (защитные) группы на функциональном фрагменте активного соединения. Пролекарства включают в себя соединения, которые можно окислять, восстанавливать, аминировать, дезаминировать, гидроксिलировать, дегидроксिलировать, гидролизовать, дегидролизировать, алкилировать, дезалкилировать, ацилировать, дезацилировать, фосфорилировать или дефосфорилировать для получения активного соединения. Примеры пролекарств, использующих сложный эфир или фосфорамидат в качестве биологически лабильных или расщепляемых (защитных) групп, раскрыты в патентах США 6,875,751, 7,585,851 и 7,964,580, описания которых включены в настоящий документ посредством ссылки. Пролекарства настоящего изобретения метаболизируются с образованием соединения формулы I. Настоящее описание включает в свой объем пролекарства соединений, описанных в настоящем документе. Обычные процедуры выбора и приготовления подходящих пролекарств описаны, например, в “Design of Prodrugs” Ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

Фраза «фармацевтически приемлемый носитель» при использовании в настоящем документе означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый фильтр, разбавитель, вспомогательное вещество, растворитель или инкапсулирующий материал, пригодный для приготовления лекарственного средства для медицинского или терапевтического применения.

Термины «аномальный рост клеток» и «пролиферативное расстройство» используются в данной заявке взаимозаменяемо. Термин «аномальный рост клеток» в контексте настоящего документа, если не указано иное, относится к росту клеток, который не зависит от нормальных регуляторных механизмов (*например*, от потери контактного ингибирования). Это включает в себя, например, аномальный рост: (1) опухолевых клеток (опухолей), которые распространяются путем экспрессии мутированной тирозинкиназы или сверхэкспрессии рецепторной тирозинкиназы; (2) доброкачественных и злокачественных клеток других пролиферативных заболеваний, при которых происходит aberrантная активация тирозинкиназы; (3) любых опухолей, которые распространяются с помощью рецепторных тирозинкиназ; (4) любых опухолей, которые распространяются за счет aberrантной активации серина/треонин-киназы; и (5) доброкачественных и злокачественных клеток других пролиферативных заболеваний, при которых происходит aberrантная активация серина/треонин-киназы.

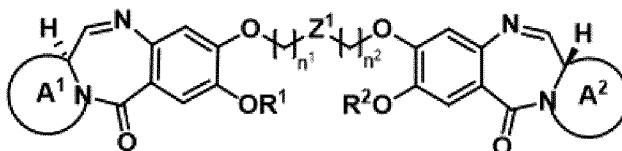
Термины «рак» и «раковый» относятся или описывают физиологическое состояние у млекопитающих, которое обычно характеризуется нерегулируемым ростом клеток. Термин «опухоль» включает в себя одну или более раковых клеток. Примеры рака

включают в себя без ограничения карциному, лимфому, бластоми, саркому и лейкоз или лимфоидные злокачественные новообразования. Более конкретные примеры таких видов рака включают в себя плоскоклеточный рак (*например*, эпителиальный плоскоклеточный рак), рак легкого, включая мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого («НМКРЛ»), аденокарциному легкого и плоскоклеточный рак легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудка, включая рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластоми, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, колоректальный рак, рак эндометрия или рак матки, рак слюнной железы, рак почки, рак простаты, рак влагалища, рак щитовидной железы, карциному печени, рак анального канала, рак полового члена, острый лейкоз, а также рак головы/мозга и шеи.

Соединения и конъюгаты по изобретению

Соединения формулы (I)

В настоящем изобретении предложены соединения, имеющие структуру формулы (I):



(I)

или их фармацевтически приемлемая соль,

где:

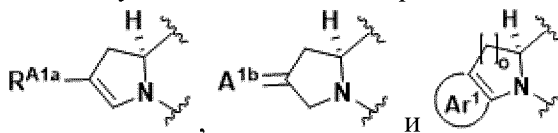
A^1 и A^2 каждый независимо представляют гетероциклическое кольцо, предпочтительно пятичленное кольцо, необязательно слитое с одним или более арильными или гетероарильными кольцами;

R^1 и R^2 каждый независимо представляют собой алкильную группу, предпочтительно низшую алкильную группу;

Z^1 представляет собой метилен или связывающую группу; и

n^1 и n^2 каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до 5.

В некоторых вариантах осуществления A^1 выбран из:



где:

R^{A1a} представляет собой H, алкил, алкенил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил;

R^{A1b} представляет собой CHR^{A1ba} ;

R^{A1ba} представляет собой H, галоген, алкил, $-CO_2$ -алкил, CHO или CO_2H ;

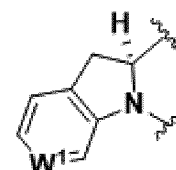
Ar^1 представляет собой арил или гетероарил, предпочтительно шестичленный арил

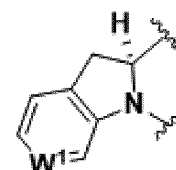
или гетероарил, необязательно замещенный один или более раз галогеном, гидроксилом, циано, нитро, алкилом, галогеналкилом, циклоалкилом, карбоксилем, амином, арилом или гетероарилом; и

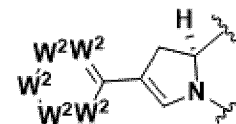
о представляет собой целое число, имеющее значение 1 или 2; и

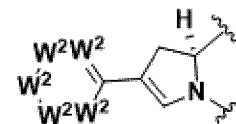
р представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 5.

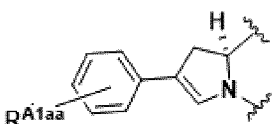
В некоторых вариантах осуществления Ar^1 представляет собой арил или гетероарил, необязательно замещенный одним или более из R^{A1c} , где R^{A1c} представляет собой галоген, OH, CN, NO₂, алкил, алкокси, CO₂H, CO₂-алкил или $(CH_2)_pN(R^{A1ca})_2$; каждый R^{A1ca} независимо выбран из H или алкила; а р представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 5.

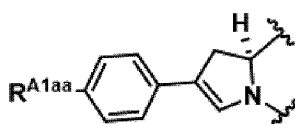


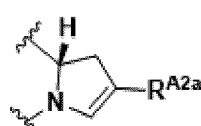
В некоторых вариантах осуществления A^1 представляет собой , где W^1 представляет собой CR^{W1} или N; а R^{W1} представляет собой H, алкил или циклоалкил.

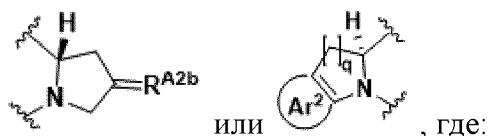


В некоторых вариантах осуществления A^1 представляет собой , где каждый W^2 независимо представляет собой CR^{A1aa} или N; а R^{A1aa} представляет собой H, OH, алкил, алкокси, алкиламино или диалкиламино. В некоторых таких вариантах

осуществления A^1 представляет собой . В предпочтительных таких

вариантах осуществления A^1 представляет собой .

В некоторых вариантах осуществления A^2 представляет собой ,



R^{A2a} представляет собой H, алкил, алкенил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил;

R^{A2b} представляет собой CHR^{A2ba} ;

R^{A2ba} представляет собой H, галоген, алкил, -CO₂-алкил, CHO или CO₂H;

Ar^2 представляет собой арил или гетероарил, предпочтительно шестичленный арил или гетероарил, необязательно замещенный одним или более из R^{A2c} ;

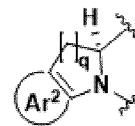
R^{A2c} представляет собой галоген, OH, CN, NO₂, алкил, алкокси, CO₂H, CO₂-алкил или $(CH_2)_rN(R^{A2ca})_2$;

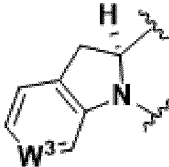
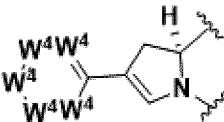
каждый R^{A2ca} независимо выбран из H или алкила;

q представляет собой целое число, имеющее значение 1 или 2; и

r представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления A^2 представляет собой



выбранный из  и , где

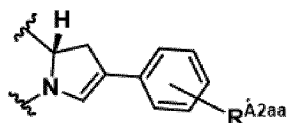
W^3 представляет собой CR^{W3} или N, при условии что не более трех W^4 представляют собой N, и предпочтительно не более одного W^4 представляет собой N;

R^{W3} представляет собой H, алкил или циклоалкил;

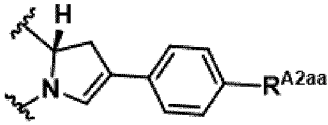
каждый W^4 независимо представляет собой CR^{A2aa} или N; и

R^{A2aa} представляет собой H, OH, алкил, алкокси, алкиламино или диалкиламино.

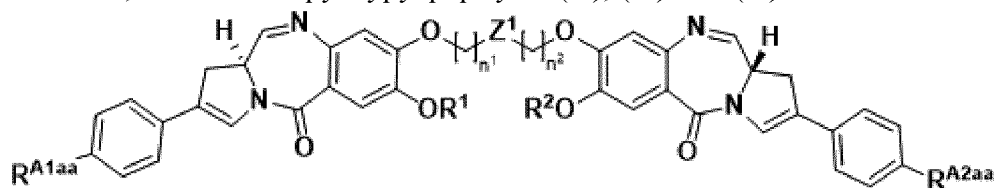
В некоторых таких вариантах осуществления A^2 представляет собой



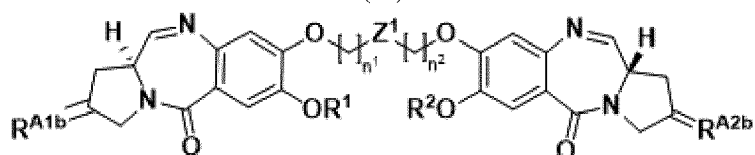
В предпочтительных таких вариантах осуществления A^2

представляет собой .

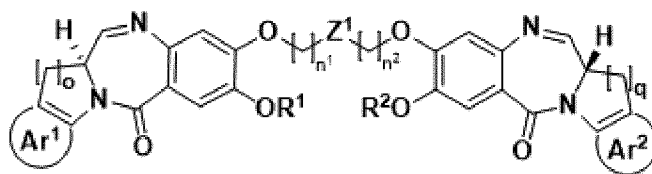
В определенных вариантах осуществления соединение формулы (I) представляет собой соединение, имеющее структуру формулы (Ia), (Ib) или (Ic):



(Ia)



(Ib)



(Ic)

или его фармацевтически приемлемую соль, причем:

R^{A1aa} и R^{A2aa} каждый независимо представляют собой H, OH, алкил, алкокси, алкиламино или диалкиламино;

R^{A1b} представляет собой CHR^{A1ba} ;

R^{A1ba} представляет собой H, галоген, алкил, $-CO_2$ -алкил, CHO или CO_2H ;

R^{A2b} представляет собой CHR^{A2ba} ;

R^{A2ba} представляет собой H, галоген, алкил, $-CO_2$ -алкил, CHO или CO_2H ;

Ar^1 представляет собой арил или гетероарил, предпочтительно шестичленный арил или гетероарил, необязательно замещенный один или более раз галогеном, гидроксильной группой, циано, нитро, алкилом, галогеналкилом, циклоалкилом, карбоксильной группой, амино, арилом или гетероарилом;

R^{A1c} представляет собой галоген, OH, CN, NO_2 , алкил, алкокси, CO_2H , CO_2 -алкил или $(CH_2)_pN(R^{A1ca})_2$;

каждый R^{A1ca} независимо выбран из H или алкила;

Ar^2 представляет собой арил или гетероарил, предпочтительно шестичленный арил или гетероарил, необязательно замещенный один или более раз галогеном, гидроксильной группой, циано, нитро, алкилом, галогеналкилом, циклоалкилом, карбоксильной группой, амино, арилом или гетероарилом;

R^{A2c} представляет собой галоген, OH, CN, NO_2 , алкил, алкокси, CO_2H , CO_2 -алкил или $(CH_2)_rN(R^{A2ca})_2$;

каждый R^{A2ca} независимо выбран из H или алкила;

о и q представляют собой целые числа, каждый независимо имеющие значение 1 или 2.

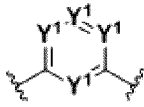
В некоторых таких вариантах осуществления Ar^1 представляет собой арил или гетероарил, необязательно замещенный одним или более из R^{A1c} , где R^{A1c} представляет собой галоген, OH, CN, NO_2 , алкил, алкокси, CO_2H , CO_2 -алкил или $(CH_2)_pN(R^{A1ca})_2$; каждый R^{A1ca} независимо выбран из H или алкила; а p представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 5. Аналогичным образом, в определенных вариантах осуществления Ar^2 представляет собой арил или гетероарил, необязательно замещенный одним или более из R^{A1c} , где R^{A2c} представляет собой галоген, OH, CN, NO_2 , алкил, алкокси, CO_2H , CO_2 -алкил или $(CH_2)_rN(R^{A2ca})_2$; каждый R^{A2ca} независимо выбран из H или алкила; а r представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления R^1 и R^2 являются одинаковыми. В предпочтительных вариантах осуществления R^1 и R^2 представляют собой метил.

В некоторых вариантах осуществления Z^1 обеспечивает амин или фенол для

конъюгации. Таким образом, в определенных таких вариантах осуществления, например, Z^1 содержит амино, гидроксизамещенный арил или азотсодержащий гетероарил и может необязательно быть дополнительно замещенным. В других таких вариантах осуществления R^{Y1a} или R^{Z1a} обеспечивает амин или фенол для конъюгации. Например, R^{Z1a} может быть выбран из амино (*например*, алкилзамещенного амина), гидроксизамещенного арила или азотсодержащего гетероарила и может необязательно быть дополнительно замещенным.

В определенных вариантах осуществления Z^1 представляет собой метилен.

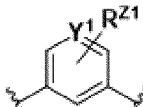
В других вариантах осуществления Z^1 представляет собой , где:

Y^1 представляет собой CR^{Y1} или N, предпочтительно при этом только один Y^1 представляет собой N;

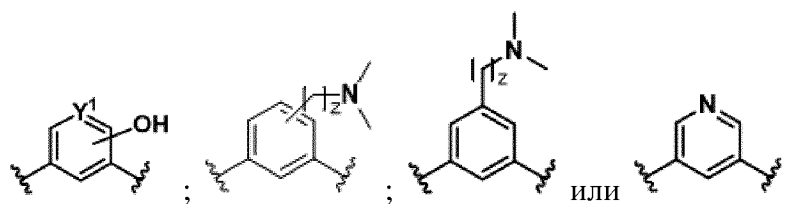
R^{Y1} представляет собой H, гидроксил, амино, амидо или $(CH_2)_y(R^{Y1a})$;

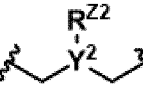
R^{Y1a} представляет собой амино (*например*, вторичный или третичный амино), арил или гетероарил;

y представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10. В

предпочтительных вариантах осуществления Z^1 представляет собой , где R^{Z1} отсутствует, представляет собой гидроксил, амино, амидо или $(CH_2)_z(R^{Z1a})$; а R^{Z1a} представляет собой амино (*например*, вторичный или третичный амино), арил или гетероарил; а z представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10.

В более предпочтительных вариантах осуществления Z^1 представляет собой



В еще одних вариантах осуществления Z^1 представляет собой , где:

Y^2 представляет собой CR^{Y2} или N;

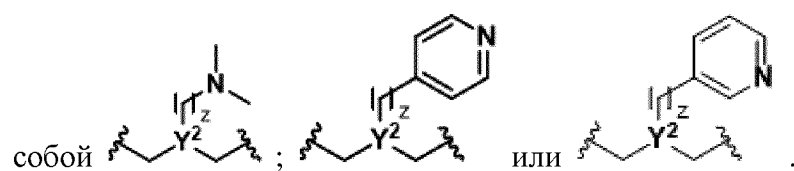
R^{Y2} представляет собой H или алкил, предпочтительно низший алкил;

R^{Z2} представляет собой $(CH_2)_z R^{Z2a}$;

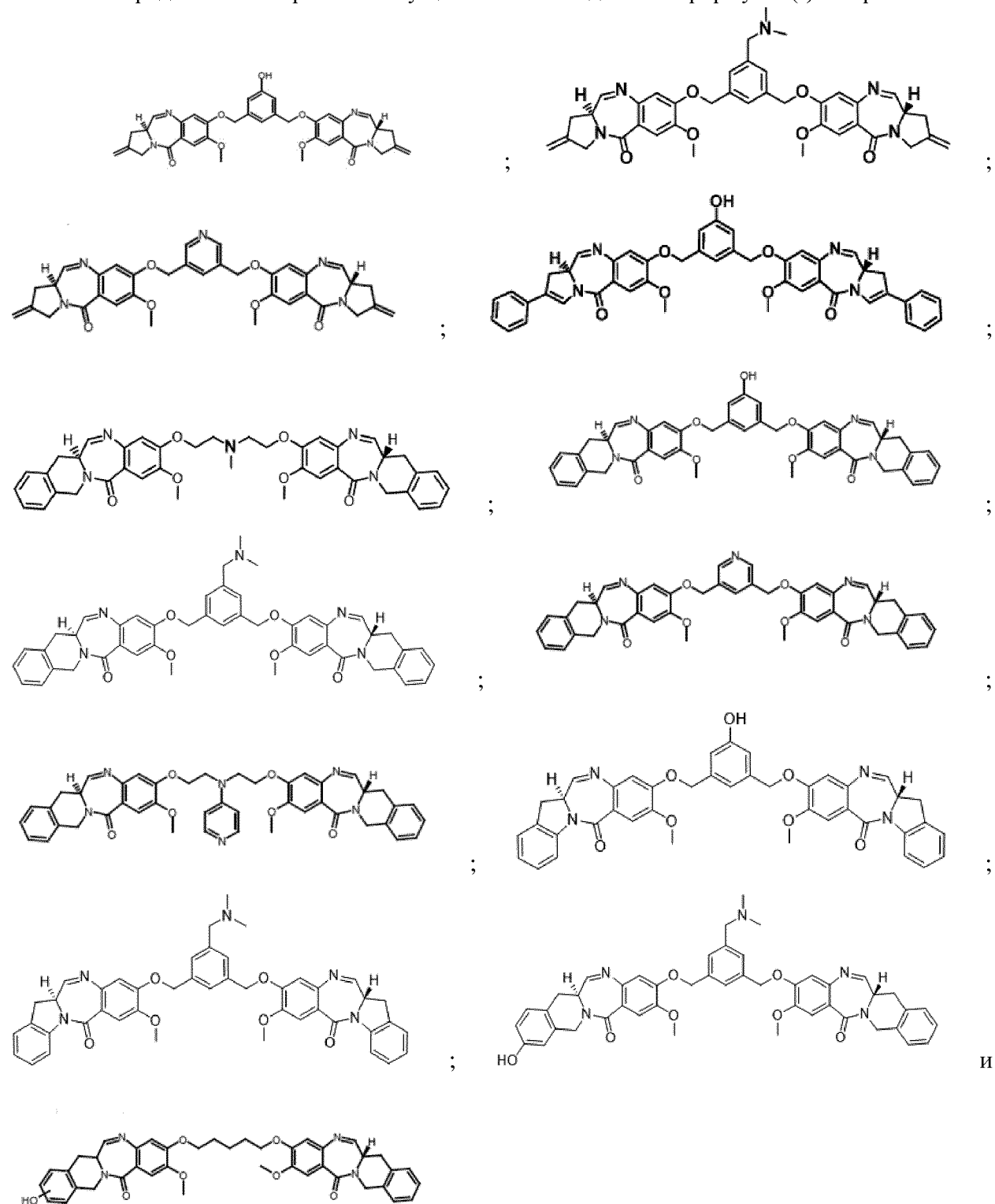
R^{Z2a} представляет собой амино (*например*, вторичный или третичный амино), арил или гетероарил; и

z представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10.

В определенных предпочтительных вариантах осуществления Z^1 представляет



В определенных вариантах осуществления соединение формулы (I) выбрано из:



или их фармацевтически приемлемой соли.

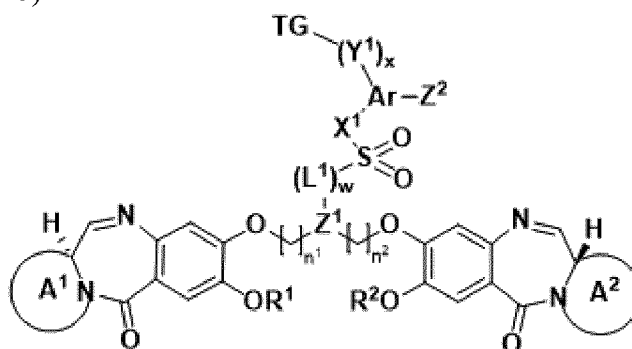
Конъюгаты формулы (I)

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложены

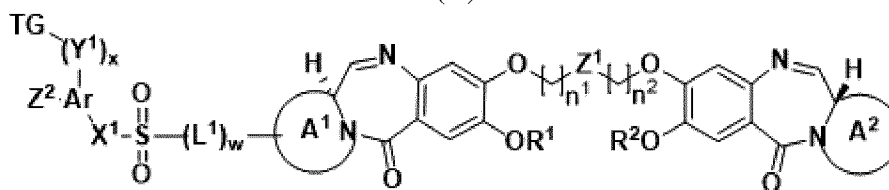
конъюгаты, содержащие соединения формулы (I), расщепляемый линкер и нацеливающий агент, причем расщепляемый линкер связывает с возможностью расщепления соединение с нацеливающим агентом. В предпочтительных вариантах осуществления нацеливающий агент представляет собой агент, связывающийся с клеткой. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит функциональную группу, которая подвергается химической реакции (*например*, физико-химической реакции и/или биологической реакции) в заданных условиях для высвобождения нуклеофильного гетероатома, и функциональную группу SO_2 , расположенную проксимально относительно нуклеофильного гетероатома. В предпочтительных вариантах осуществления функциональная группа SO_2 вступает в реакцию с нуклеофильным гетероатомом в ходе реакции внутримолекулярной циклизации с высвобождением активного агента. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты дополнительно содержат нацеливающий фрагмент (*например*, олигопептид, полипептид, антитело и *т. д.*), обладающий специфичностью связывания для желаемого рецептора-мишени или другой молекулы, ассоциированной с клеткой-мишенью.

Соединения формулы (II), (IIa) и (IIb)

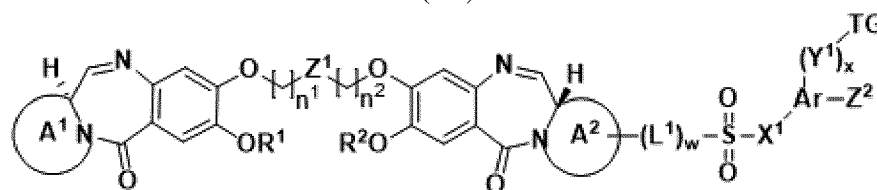
В настоящем документе также предложены соединения, имеющие структуру формулы (II), (IIa) и (IIb)



(II)



(IIa)



(IIb)

или их фармацевтически приемлемая соль,

где:

A^1 и A^2 каждый независимо представляют гетероциклическое кольцо, предпочтительно пяти- или шестичленное кольцо, необязательно слитое с или замещенное арильным или гетероарильным кольцом;

R^1 и R^2 каждый независимо представляют собой алкильную группу;

Z^1 представляет собой связывающую группу; и

n^1 и n^2 каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до 5.

Z^2 отсутствует или представляет собой связывающую группу;

L^1 представляет собой связывающую группу, присоединенную к SO_2 посредством гетероатома, выбранного из O, S и N, предпочтительно O или N, и выбранного таким образом, что расщепление связи между L^1 и SO_2 способствует расщеплению связи между L^1 и Z^1 для высвобождения активного агента;

X^1 представляет собой -O-, $-CR^b_2-$ или $-NR^a-$, предпочтительно -O-;

Ar представляет собой кольцо, например, такое как арил, гетероарил, циклоалкил или гетероциклоалкил, предпочтительно арил или гетероарил;

Y^1 представляет собой $-(CR^b_2)_yN(R^a)-$, $-(CR^b_2)_yO-$ или $-(CR^b_2)_yS-$, расположенный таким образом, что атом N, O или S присоединен к ТГ, если y равен 1; где X^1 и Y^1 расположены на смежных атомах с Ar;

ТГ представляет собой триггерную группу, которая при активации генерирует атом N, O или S, способный вступать в реакцию с SO_2 для смещения Z и образования 5-6-членного кольца, включая $X-SO_2$ и промежуточные атомы Ar;

w и x каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение 0 или 1;

каждый R^a представляет собой водород или низший алкил;

каждый R^b независимо представляет собой водород или низший алкил; или

два R^b вместе с атомом углевода, к которому они присоединены, образуют 3-5-членное кольцо, предпочтительно 3-4-членное кольцо; и

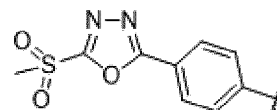
у представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10.

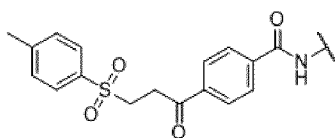
В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой -O-.

В других вариантах осуществления Ar представляет собой арил. В предпочтительных вариантах осуществления фенил или нафтил.

В других вариантах осуществления Z^2 представляет собой связывающую группу, содержащую одну или несколько групп, выбранных из изоцианида, изотиоцианида, 2-пиридилдисульфида, галогенацетамида ($-NHC(O)CH_2$ -галогено), малеимида, диена,

алкена, галогенида, тозилата (TsO^-), альдегида, сульфоната ($R-SO_3^-$),





, фосфоновой кислоты ($-P(=O)(OH)_2$), кетона, C_8-C_{10} циклоалкинила, $-OH$, $-NHOH$, $-NHNH_2$, $-SH$, карбоновой кислоты ($-COOH$), ацетилена ($-C\equiv CH$), азиды ($-N_3$), амино ($-NH_2$), сульфоновой кислоты ($-SO_3H$), производного алкинона ($-C(O)C\equiv C-R^a$) и дигидрофосфата ($-OP(=O)(OH)_2$).

В еще одних вариантах осуществления x равен 0.

В различных вариантах осуществления переменные формулы (II), (IIa) и (IIb) соответствуют определению для формулы (I) выше.

Дополнительные варианты осуществления конъюгатов, связывающих групп, триггерных групп и тому подобное представлены в предварительной заявке на патент США № 62/597,226, которая полностью включена в настоящее описание посредством ссылки.

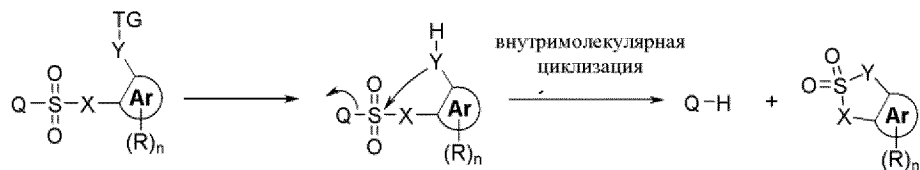
Высвобождение активного агента

Как описано выше, в определенных вариантах осуществления соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, способны диссоциировать один или более активных агентов, представленных формулой (II), посредством реакции внутримолекулярной циклизации после химической реакции, которая активирует триггерную группу. В определенных вариантах осуществления химическая реакция представляет собой физико-химическую реакцию и/или биохимическую реакцию.

В некоторых вариантах осуществления соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, содержат нуклеофильную функциональную группу (Y или Y'), введенную на смежном атоме на Ag относительно X (например, O). Как правило, нуклеофильную функциональную группу маскирует триггерная группа (ТГ), как более подробно описано ниже. После активации триггерная группа высвобождает нуклеофильную функциональную группу для вступления в реакцию с близлежащим фрагментом SO_2 в ходе внутримолекулярной циклизации, в конечном итоге высвобождая один или более соединений формулы (II), (IIa) или (IIb). В некоторых таких вариантах осуществления один или более активных агентов высвобождаются посредством реакции внутримолекулярной циклизации после химической реакции, физико-химической реакции и/или биохимической реакции (см., например, схему реакции 1), или активный агент высвобождается посредством 1,6-элиминации или 1,4-элиминации после реакции внутримолекулярной циклизации (см., например, схему реакции 2).

Например, когда Y представляет собой $-Y'-TG$, а Q непосредственно конъюгирован с группой SO_2 , активный агент может высвобождаться посредством механизма, показанного в схеме реакции 1:

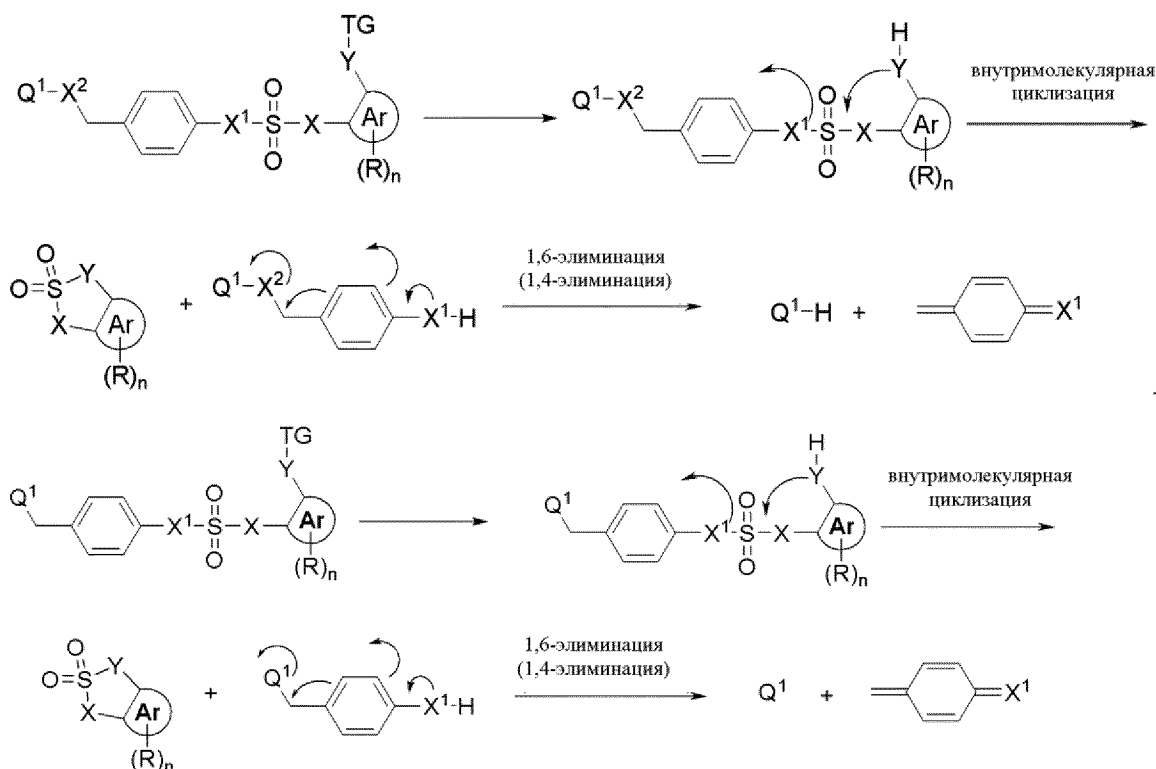
Схема реакции 1



Когда

Q представляет собой $*-X_1-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-X_2-Q_1$, Q^1 может высвобождаться посредством механизма, показанного в схеме реакции 2:

Схема реакции 2



В некоторых вариантах осуществления Q^1 при высвобождении представляет собой активный агент, содержащий по меньшей мере одну функциональную группу, выбранную из -OH, -NH-, -SH и -COOH. В соответствии с этими вариантами осуществления, как дополнительно описано в настоящем документе, Q^1 конъюгирован с соединением, как описано в настоящем документе, с помощью -OH, -NH-, -SH и -COOH, например, посредством функциональной группы, выбранной из сложного эфира, амида, тиоэфира, карбамата, мочевины, оксима, гидразона и т. д. В некоторых таких вариантах осуществления Q^2 используется вместо Q^1 , а Q^2 представляет собой лекарственный препарат, содержащий аминогруппу. В других вариантах осуществления Q^2 представляет собой активный агент, способный связываться с аммониевым звеном. В других вариантах осуществления Q^2 способен диссоциировать в своей исходной форме, имеющей аминогруппу, после высвобождения Q^2 , где активный агент может представлять собой

лекарственный препарат, токсин, аффинный лиганд, зонд для обнаружения или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, являются химически и физиологически стабильными. В некоторых таких вариантах осуществления соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, достигают желаемой клетки-мишени в состоянии, при котором происходит незначительная диссоциация активного агента в крови, тем самым селективно высвобождая лекарственный препарат.

Триггерные группы (ТГ)

В некоторых вариантах осуществления конъюгаты по настоящему изобретению включают в себя триггерную группу (ТГ). ТГ представляют собой группы, которые могут быть расщеплены, предпочтительно селективно расщеплены в ходе химической реакции, такой как биологическая реакция. Как правило, триггерные группы служат для маскировки нуклеофильной природы группы Y или Y', тем самым обеспечивая стабильность (*например*, предотвращая саморасщепление или внутримолекулярную циклизацию до того, как конъюгат достигнет целевого местоположения или испытывает предварительно заданное условие триггера) для соединений и конъюгатов, описанных в настоящем документе. После активации триггерная группа высвобождает нуклеофильную группу Y и допускает процесс саморасщепления или внутримолекулярной циклизации, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления ТГ содержит последовательность (такую как пептидная последовательность) или фрагмент, распознаваемый TEV, трипсином, тромбином, катепсином В, каспином D, катепсином К, каспазой 1, матричной металлопротеиназой (ММР) и т. п., который может быть гидролизован ферментом (*например*, оксидоредуктазой, трансферазой, гидролазой, лиазой, изомеразой, лигазой и т.д.) и/или может включать в себя фрагмент, выбранный из фосфодиэфира, фосфолипида, сложного эфира, β -галактозы, β -глюкозы, фукозы, олигосахара и т. п.

В некоторых вариантах осуществления ТГ содержит реакционноспособный химический фрагмент или функциональную группу, которые могут быть расщеплены в условиях использования нуклеофильного реагента (*например*, силилового эфира, 2-N-ацилнитробензолсульфонамида, ненасыщенного винилсульфида, сульфонамида после активации, производного малондиальдегид-индола, левулиноилового эфира, гидразона или ацилгидразона).

В некоторых вариантах осуществления ТГ может содержать реакционноспособный химический фрагмент или функциональную группу, которая может быть расщеплена в условиях использования основного реагента (*например*, 2-цианоэтиловый эфир, этиленгликолилдисукцинат, 2-сульфонилэтиловый эфир, алкилтиоэфир или тиофениловый эфир).

В некоторых вариантах осуществления ТГ может содержать реакционноспособный химический фрагмент или функциональную группу, которая может быть расщеплена

фотооблучением (*например*, производное 2-нитробензила, фенациловый эфир, 8-хинолинилбензолсульфонат, кумарин, фосфотриэфир, бис-арилгидразон или производное биман би-тиопропионовой кислоты).

В некоторых вариантах осуществления ТГ может содержать реакционноспособный химический фрагмент или функциональную группу, которые могут быть расщеплены в условиях использования восстанавливающего агента (*например*, гидроксилamina, дисульфида, левулината, нитро или производного 4-нитробензила).

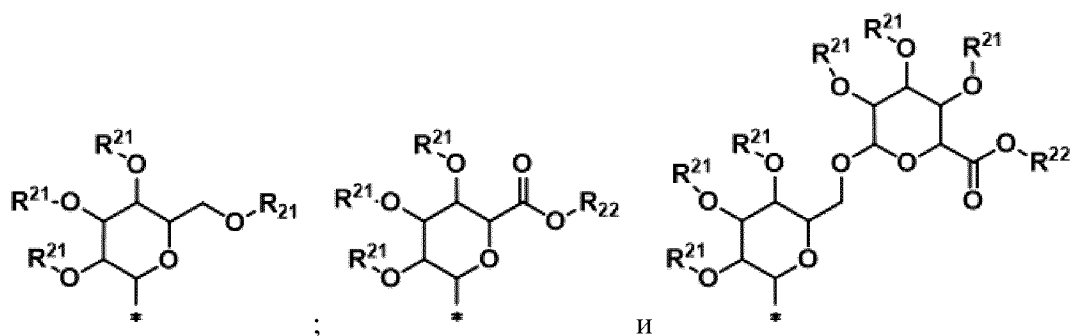
В некоторых вариантах осуществления ТГ может содержать реакционноспособный химический фрагмент или функциональную группу, которые могут быть расщеплены в кислой среде (*например*, сахараиды, аналог трет-бутилкарбамата, диалкил или диарилдиалкоксисилан, ортоэфир, ацеталь, аконитил, гидразон, β -тиопропионат, фосфорамидат, имин, тритил, виниловый эфир, поликеталь и производное алкил-2-(дифенилфосфино)бензоата; алкиловый сложный эфир, сложный эфир 8-гидроксихинолина и сложный эфир пиколината).

В некоторых вариантах осуществления ТГ может содержать реакционноспособный химический фрагмент или функциональную группу, которые могут быть расщеплены в окислительных условиях (*например*, боронат, вицинальный диол, производное парметоксибензила или соединение селена).

В определенных предпочтительных вариантах осуществления ТГ содержит сахараид, который может быть расщеплен в кислых или ферментативных условиях. В определенных предпочтительных вариантах осуществления триггерная группа представляет собой $-\text{NO}_2$, который может быть расщеплен в восстанавливающих условиях. В определенных предпочтительных вариантах осуществления триггерная группа представляет собой боронат, который может быть расщеплен в окислительных условиях. В определенных предпочтительных вариантах осуществления триггерная группа представляет собой сложный эфир, который может быть расщеплен в кислых, основных или ферментативных условиях. В определенных предпочтительных вариантах осуществления триггерная группа представляет собой гидразон, который может быть расщеплен в нуклеофильных условиях или в кислой среде. В определенных предпочтительных вариантах осуществления триггерная группа представляет собой гидроксилamin, который может быть расщеплен в восстанавливающих условиях.

Сахаридные триггерные группы

В некоторых вариантах осуществления соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, содержат сахараидную триггерную группу, например, триггерную группу, выбранную из:



где каждый R^{21} независимо представляет собой водород или выбран таким образом, что $O-R^{21}$ представляет собой гидроксизащитную группу (*например*, ацетил); а R^{22} представляет собой водород или низший алкил (*например*, C_1 - C_6 -алкил). В некоторых вариантах осуществления гидроксизащитная группа может использоваться в органическом синтезе, включая без ограничения: метиловый эфир, метоксиметиловый эфир, метилтиометиловый эфир, 2-метоксиэтоксиметиловый эфир, бис(2-хлорэтокси)метиловый эфир, тетрагидропираниловый эфир, тетрагидротиопираниловый эфир, 4-метокситетрагидропираниловый эфир, 4-метокситетрагидротиопираниловый эфир, тетрагидрофураниловый эфир, 1-этоксиэтиловый эфир, 1-метил-1-метоксиэтиловый эфир, 2-(фенилселенил)этиловый эфир, трет-бутиловый эфир, аллиловый эфир, бензиловый эфир, о-нитробензиловый эфир, трифенилметиловый эфир, α -нафтилдифенилметиловый эфир, п-метоксифенилдифенилметиловый эфир, 9-(9-фенил-10-оксо)антриловый эфир, триметилсилиловый эфир, изопропилдиметилсилиловый эфир, трет-бутилдиметилсилиловый эфир, трет-бутилдифенилсилиловый эфир, трибензилсилиловый эфир, триизопропилсилиловый эфир, формиатный сложный эфир, ацетатный сложный эфир, трихлорацетатный сложный эфир, феноксиацетатный сложный эфир, изобутиратный сложный эфир, пивалоатный сложный эфир, адамантоатный сложный эфир, бензоатный сложный эфир, 2,4,6-триметилбензоатный сложный эфир, метилкарбонат, 2,2,2-трихлорэтилкарбонат, аллилкарбонат, п-нитрофенилкарбонат, бензилкарбонат, п-нитробензилкарбонат, S-бензилтиокарбонат, N-фенилкарбамат, нитратный сложный эфир, 2,4-динитрофенилсульфенатный сложный эфир и т. д., но не ограничиваясь ими.

Защитные группы в качестве триггерных групп

В некоторых вариантах осуществления ТГ представляет собой группу, которая способна расщепляться посредством химической реакции, физико-химической реакции и/или биологической реакции. В определенных вариантах осуществления ТГ представляет собой защитную группу. В некоторых таких вариантах осуществления защитная группа представляет собой аминную защитную группу, спиртовую защитную группу или тиоловую защитную группу.

Аминные защитные группы

В некоторых вариантах осуществления аминная защитная группа представляет собой общую защитную группу, которую можно использовать в органическом синтезе, включая без ограничения: м-нитрофенилкарбамат, 3,5-диметоксибензил карбамат, о-

нитробензил карбамат, фенил(о-нитрофенил)метилкарбамат, алкилкарбамат, 9-флуоренилметилкарбамат, 2,2,2-трихлорэтилкарбамат, 2-триметилсилилэтилкарбамат (Теос), трет-бутилкарбамат (Вос), винилкарбамат (Vос), аллилкарбамат (Alloc), 1-изопропилаллилкарбамат (Iраос), 8-хинолилкарбамат, N-гидроксипиперидинилкарбамат, бензилкарбамат, п-метоксибензилкарбамат, п-нитробензилкарбамат, дифенилметилкарбамат, ацетамид, хлорацетамид, трихлорацетамид, фенилацетамид, бензамид, N-фталимид, N-2,3-дифенилмалеимид, N-2,5-диметилпиррол, N-1,1-диметилтиометиленамин, N-бензилиденамин, бензолсульфенамид, о-нитробензолсульфенамид, трифенилметилсульфенамид, п-толуолсульфонамид, метансульфонамид, *и т.д.*, но не ограничиваясь ими.

Спиртовые защитные группы

В некоторых вариантах осуществления спиртовая защитная группа представляет собой общую защитную группу, которую можно использовать в органическом синтезе, включая без ограничения: метиловый эфир, метоксиметиловый эфир (эфир MOM), бензилоксиметиловый эфир (эфир BOM), 2-(триметилсилил)этоксиметиловый эфир (эфир SEM), фенилтиометиловый эфир (эфир PTM), 2,2-дихлор-1,1-дифторэтиловый эфир, п-бромфенациловый эфир, хлорпропилметиловый эфир, изопропиловый эфир, циклогексиловый эфир, 4-метоксибензил, 2,6-дихлорбензиловый эфир, 4-(диметиламинокарбонил)бензиловый эфир, 9-антрилметиловый эфир, 4-пиколиловый эфир, метилтиометиловый эфир (эфир MTM), 2-метоксизетоксиметиловый эфир (эфир МЭМ), бис(2-хлорэтокси)метиловый эфир, тетрагидропираниловый эфир (эфир THP), тетрагидротиопираниловый эфир, 4-метокситетрагидропираниловый эфир, 4-метокситетрагидротиопираниловый эфир, тетрагидрофураниловый эфир, 1-этоксизэтиловый эфир, 1-метил-1-метоксизэтиловый эфир, 2-(фенилселенил)этиловый эфир), трет-бутиловый эфир, аллиловый эфир, бензиловый эфир, о-нитробензиловый эфир, трифенилметиловый эфир, α-нафтилдифенилметиловый эфир, п-метоксифенилдифенилметиловый эфир, 9-(9-фенил-10-оксо)антриловый эфир, триметилсилиловый эфир (эфир TMS), изопропилдиметилсилиловый эфир, трет-бутилдиметилсилиловый эфир (эфир TBDMS), трет-бутилдифенилсилиловый эфир, трибензилсилиловый эфир, триизопропилсилиловый эфир, формиатный сложный эфир, ацетатный сложный эфир, трихлорацетатный сложный эфир, феноксиацетатный сложный эфир, изобутиратный сложный эфир, пивалоатный сложный эфир, адамантоатный сложный эфир, бензоатный сложный эфир, сложный эфир 2,4,6-триметилбензоат(мезитоат), метилкарбонат, 2,2,2-трихлорэтилкарбонат, аллилкарбонат, п-нитрофенилкарбонат, бензилкарбонат, п-нитробензилкарбонат, S-бензилтиокарбонат, N-фенилкарбамат, нитратный сложный эфир, 2,4-динитрофенилсульфенатный сложный эфир, диметилфосфиниловый сложный эфир (сложный эфир DMP), диметилтиофосфиниловый сложный эфир (сложный эфир MPT), арилметансульфонат, арилтолуолсульфонат *и т. д.*, но не ограничиваясь ими.

Тиоловые защитные группы

В определенных вариантах осуществления тиоловую защитную группу можно использовать в органическом синтезе, включая без ограничения: S-бензилтиоэфир, S-p-метоксибензилтиоэфир, S-o- или p-гидроксил- или ацетоксибензилтиоэфир, S-p-нитробензилтиоэфир, S-4-пиколилтиоэфир, S-2-пиколил-N-оксид-тиоэфир, S-9-антриметилтиоэфир, S-9-флуоренилметилтиоэфир, S-метоксиметилмонетиоацеталь, производное A-ацетила, производное S-бензоила, S-(N-этилкарбамат), S-(N-метоксиметилкарбамат) и т. д., но не ограничиваясь ими.

Связывающая группа

В некоторых вариантах осуществления соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, содержат связывающую группу, соединяющую каждый СВ и Аг посредством ковалентной связи. Типичными связывающими группами являются стабильные негидролизуемые фрагменты, такие как, например, линейный или разветвленный, насыщенный или ненасыщенный C_{10} - C_{100} -алкилен. В определенных вариантах осуществления связывающее звено удовлетворяет по меньшей мере двум, а более предпочтительно по меньшей мере трем из четырех следующих критериев:

- (i) по меньшей мере один $-CH_2-$ в алкиленовом фрагменте замещен (*то есть* заменен) одним или более гетероатомами, выбранными из $-NH-$, $-C(=O)-$, $-O-$, $-S-$ и $-P-$;
- (ii) по меньшей мере один гетероарил включен в алкиленовый фрагмент;
- (iii) по меньшей мере один аминокислотный фрагмент, сахарная связь, пептидная связь или амидная связь включены в алкиленовый фрагмент; и
- (iv) алкилен может быть дополнительно замещен одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из C_1 - C_{20} алкила, C_6 - C_{20} арил C_1 - C_8 алкила, $-(CH_2)_sCOOH$ и $-(CH_2)_pNH_2$, где s представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 10, а p представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10.

В определенных вариантах осуществления связывающее звено содержит по меньшей мере два, а более предпочтительно по меньшей мере три из следующих:

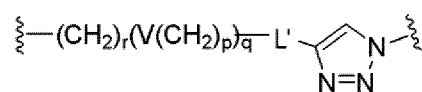
- (i) по меньшей мере один гетероатом, выбранный из $-NH-$, $-C(=O)-$, $-O-$, $-S-$ и $-P-$;
- (ii) по меньшей мере один гетероарил;
- (iii) по меньшей мере один аминокислотный фрагмент, сахарную связь, пептидную связь или амидную связь; и
- (iv) алкилен может быть дополнительно замещен одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из C_1 - C_{20} алкила, C_6 - C_{20} арил C_1 - C_8 алкила, $-(CH_2)_sCOOH$ и $-(CH_2)_pNH_2$, где s представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 10, а p представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10.

В других вариантах осуществления связывающая группа, соединяющая каждый СВ и Аг, содержит функциональную группу, полученную в результате химической клик-реакции.

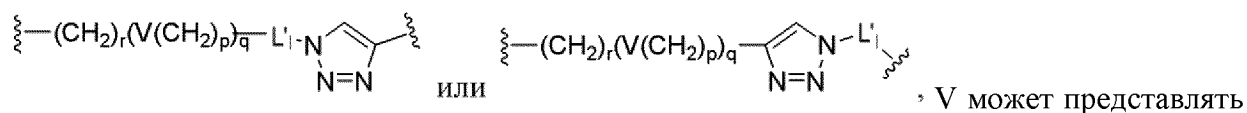
В альтернативных вариантах осуществления связывающее звено содержит реакционноспособную функциональную группу, способную участвовать в химической клик-реакции.

Химическая клик-реакция представляет собой реакцию, которая может быть выполнена в мягких условиях и является чрезвычайно селективной для функциональных групп, которые обычно не обнаруживаются в биологических молекулах (*например*, азидная группа, ацетиленовая группа и *т. д.*). Соответственно, эту реакцию можно проводить в присутствии сложных триггерных групп, нацеливающих фрагментов и *т. д.* Кроме того, клик-химия обладает высокой реакционной специфичностью. Например, химическая клик-реакция между азидной группой и ацетиленовой группой протекает селективно, без вмешательства других функциональных групп, присутствующих в молекуле. Например, в результате азид-ацетиленовой клик-химии можно получить триазольный фрагмент с высоким выходом.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления связывающая группа,

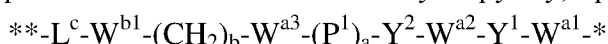


соединяющая каждый СВ и Аг, содержит



, V может представлять собой одинарную связь, -O-, -S-, -NR²¹-, -C(O)NR²²-, -NR²³C(O)-, -NR²⁴SO₂- или -SO₂NR²⁵-, каждый из R²¹-R²⁵ могут независимо представлять собой водород, (C₁-C₆)алкил, (C₁-C₆)алкил(C₆-C₂₀)арил или (C₁-C₆)алкил(C₃-C₂₀)гетероарил, r может представлять собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10, p может представлять собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10, q может представлять собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10 и L'' может представлять собой одинарную связь.

В других вариантах осуществления связывающее звено, соединяющее каждый СВ и Аг, представляет собой связывающую группу, представленную формулой (A):



(A)

где:

* представляет собой точку присоединения к СВ;

** представляет собой точку присоединения к Аг;

каждый из W^{a1}, W^{a2} и W^{a3} независимо представляет собой -NH-, -C(=O)- или (-CH₂-)_b;

W^{b1} представляет собой амидную связь или триазилилен;

P¹ представляет собой линкер, соединяющий W^{a3} и Y², и представляет собой аминокислотный фрагмент, пептидную связь или амидную связь;

L^c представляет собой алкилен;

Y² представляет собой одинарную связь, -W^{a4}-(CH₂)_c-W^{b2}-(CH₂)_d-W^{a5}- или -W^{a6}-(CH₂)_e-CR^eR^f-X-;

R^e представляет собой C₁-C₈ алкил или СВ-W_{a7}-Y₃-W_{c1}-(CH₂)_f;

R^f представляет собой $B-W^{a7}-Y^3-W^{c1}-(CH_2)_f$;

X представляет собой $-NHC(=O)-(CH_2)_g-W^{a8}$ или $-C(=O)NH-(CH_2)_h-W^{a9}$;

каждый из W^{a4} , W^{a5} , W^{a6} , W^{a7} , W^{a8} и W^{a9} независимо представляет собой $-NH-$, $-C(=O)-$ или $-CH_2-$;

W^{b2} представляет собой амидную связь или триазилилен;

W^{c1} представляет собой $-NHC(=O)-$ или $-C(=O)NH-$;

Y^3 представляет собой $-(CH_2)_i-(X'CH_2CH_2)_j-(CH_2)_k$;

X' представляет собой $-O-$, $-S-$, $-NH-$ или $-CH_2-$;

CB соответствует определению выше;

каждый из b, c, d, e, f, g, h, i и j независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10;

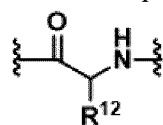
каждый из k и y независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10;

Y^1 представляет собой $-(CH_2)_q-(CH_2CH_2X'')_o$ или $-(CH_2)_q-(X''CH_2CH_2)_o$;

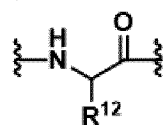
X'' представляет собой $-O-$, $-S-$, $-NH-$ или $-CH_2-$; и

o и q представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10;

В некоторых вариантах осуществления P^1 содержит по меньшей мере одно звено, представленное формулой (B) или (C):



(B)



(C)

где:

R^{12} представляет собой водород, C_1 - C_8 -алкил, боковую цепь аминокислоты, такую как боковая цепь природной аминокислоты (например, H, метил, изопропил, изобутил, втор-бутил, S-метилтиоэфир, бензил, индол, пирролидин, пирролин, гидроксиметил, тирозил, лизил, имидазол, глицил, глутамил, карбамоилбутановая кислота, карбоксамид, аспарагиновая кислота, 1-гидроксиэтил и 2-гидроксиэтил), $-(CH_2)_sCOR^{13}$ или $-(CH_2)_pNR^{14}R^{15}$;

R^{13} представляет собой OH или $-NH(CH_2)_s(X''CH_2CH_2)_sZ$;

каждый из R^{14} и R^{15} независимо представляют собой водород или $-(C(O)(CH_2)_s(X''CH_2CH_2)_sZ)_m-CB$;

X'' представляет собой $-O-$, $-S-$, $-NH-$ или $-CH_2-$;

Z и CB соответствуют определению выше;

p представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10;

s и s'' представляют собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10;

s' представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10; и

m представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1.

В некоторых вариантах осуществления формулы (B) или (C):

R^{12} представляет собой водород, алкил, боковую цепь аминокислоты, $-(CH_2)_sC(O)R^{13}$ или $-(CH_2)_pNR^{14}R^{15}$;

p представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10;

s представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10;

R^{13} представляет собой OH или $-NH(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''-(CB)_m$;

каждый из R^{14} и R^{15} независимо представляет собой водород или $-C(O)(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''-(CB)_m$;

s'' представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10;

s' представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10;

m представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1;

X''' представляет собой -O-, -S-, -NH- или $-CH_2-$; и

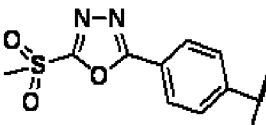
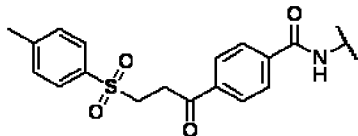
Z'' представляет собой связывающую группу, соединяющую CB с остатком R^{14} или R^{15} ; или Z'' представляет собой связывающую группу, содержащую реакционноспособную группу.

В некоторых таких вариантах осуществления формулы (B) или (C):

R^{13} представляет собой OH или $-NH(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''$;

каждый из R^{14} и R^{15} независимо представляют собой водород или $-C(O)(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''$; и

Z'' представляет собой реакционноспособный предшественник связывающего звена, выбранный из изоцианида, изотиоцианида, 2-пиридилдисульфида, галоацетамида ($-NHC(O)CH_2$ -гал), малеимида, диена, алкена, галогенида, тозилата (TsO^-), альдегида,

сульфоната ($R-SO_3^-$), , , фосфоновой кислоты ($-P(=O)(OH)_2$), кетона, C_8 - C_{10} циклоалкинила, -OH, -NHOH, -NHNH₂, -SH, карбоновой кислоты ($-COOH$), ацетилена ($-C\equiv CH$), азиды ($-N_3$), амина ($-NH_2$), сульфоновой кислоты ($-SO_3H$), производного алкинона ($-C(O)C\equiv C-R^a$, где R^a представляет собой C_1 - C_{10} -алкил) и дигидрофосфат ($-OP(=O)(OH)_2$).

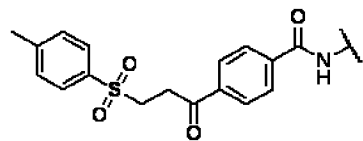
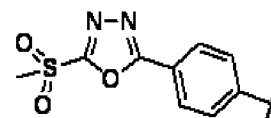
В других таких вариантах осуществления формулы (B) или (C):

R^{13} представляет собой OH или $-NH(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''CB$;

R^{14} и R^{15} каждый независимо представляют собой водород или $-C(O)(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''CB$; и

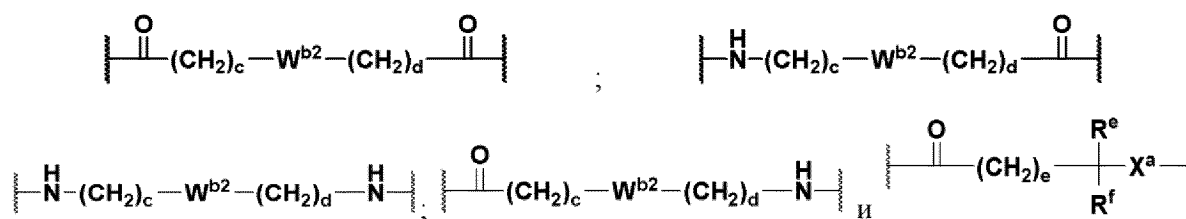
Z'' представляет собой связывающее звено, соединяющее CB с остатком R^{14} или R^{15} , образованным из предшественника, выбранного из изоцианида, изотиоцианида, 2-пиридилдисульфида, галоацетамида ($-NHC(O)CH_2$ -гал), малеимида, диена, алкена,

галогенида, тозилата (TsO^-), альдегида, сульфоната (R-SO_3^-),



, фосфоновой кислоты ($-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})_2$), кетона, $\text{C}_8\text{-C}_{10}$ циклоалкинила, $-\text{OH}$, $-\text{NHOH}$, $-\text{NHNH}_2$, $-\text{SH}$, карбоновой кислоты ($-\text{COOH}$), ацетилена ($-\text{C}\equiv\text{CH}$), азиды ($-\text{N}_3$), амино ($-\text{NH}_2$), сульфоновой кислоты ($-\text{SO}_3\text{H}$), производного алкинона ($-\text{C}(\text{O})\text{C}\equiv\text{C-R}^a$, где R^a представляет собой $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкил) и дигидрофосфат ($-\text{OP}(=\text{O})(\text{OH})_2$).

В некоторых вариантах осуществления Y^2 представляет собой одинарную связь или выбран из:



где:



R^e представляет собой $\text{C}_1\text{-C}_8$ -алкил или $-(\text{L}^{1'}-\text{Z})_m\text{CB}$;

R^f представляет собой $\text{B-W}_{b2}\text{-(CH}_2\text{)}_i\text{-(X''CH}_2\text{CH}_2\text{)}_j\text{-NH-C(=O)-(CH}_2\text{)}_f$;

X^a представляет собой $-\text{NHC(=O)-(CH}_2\text{)}_g\text{-NH-}$ или $-\text{C(=O)NH-(CH}_2\text{)}_h\text{-NH-}$;

W^{b2} представляет собой $-\text{C(=O)NH-}$ или $-\text{NHC(=O)-}$;

каждый из c, d, e, f, g, h, i и j независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10;

X'' представляет собой $-\text{O-}$, $-\text{S-}$, $-\text{NH-}$ или $-\text{CH}_2\text{-}$; и

$\text{L}^{1'}$, Z , m и B соответствуют определению выше;

В некоторых вариантах осуществления связывающее звено, соединяющее каждый CB и Ag , представляет собой связывающую группу, содержащую группы $(\text{CH}_2)_b$, L^c , $(\text{P}^1)_a$, W^{a1} , W^{a2} , W^{a3} , Y^1 и Y^2 , связанные друг с другом ковалентными связями, где:

каждый из W^{a1} , W^{a2} и W^{a3} независимо представляет собой $-\text{NH-}$, $-\text{C(=O)-}$ или $-\text{CH}_2\text{-}$;

W^{b1} представляет собой амидную связь или триазилен;

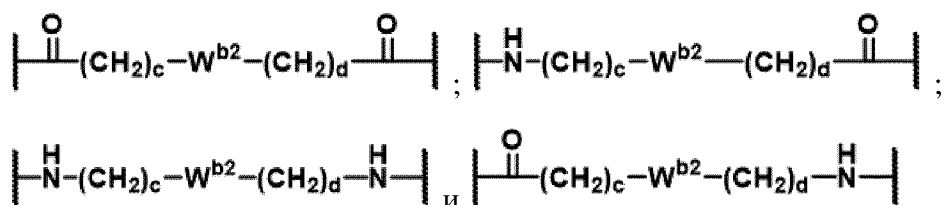
P^1 представляет собой амидную связь, аминокислотный остаток или пептид;

L^c представляет собой алкилен;

Y^1 представляет собой $-(\text{CH}_2)_q\text{-(CH}_2\text{CH}_2\text{X'')}_o\text{-}$ или $-(\text{CH}_2)_q\text{-(X''CH}_2\text{CH}_2\text{X'')}_o\text{-}$;

X'' представляет собой $-\text{O-}$, $-\text{S-}$, $-\text{NH-}$ или $-\text{CH}_2\text{-}$;

Y^2 представляет собой одинарную связь или группу, выбранную из:



W^{b2} представляет собой амидную связь или триазилилен;

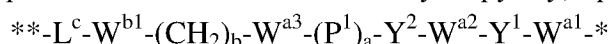
a равно от 0 до 10;

b , c и d каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10; и

o и q каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10.

В некоторых вариантах осуществления R^{12} представляет собой боковую цепь природной аминокислоты. В других вариантах осуществления R^{12} представляет собой боковую цепь неприродной аминокислоты.

В других вариантах осуществления связывающее звено, соединяющее каждый СВ и Аг, представляет собой связывающую группу, представленную формулой (А):



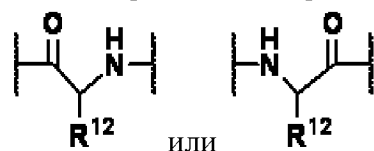
(А)

где:

* представляет собой точку присоединения к СВ; а

** представляет собой точку присоединения к Аг.

В некоторых таких вариантах осуществления P^1 представляет собой



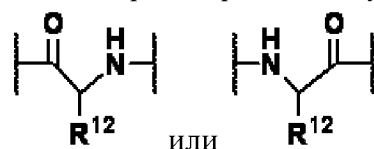
где:

R^{12} представляет собой водород, алкил, боковую цепь аминокислоты, $-(\text{CH}_2)_s\text{COOH}$ или $-(\text{CH}_2)_p\text{NH}_2$;

p представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10; и

каждый из s и s'' независимо представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10.

В некоторых вариантах осуществления P^1 представляет собой



где:

R^{12} представляет собой водород, алкил, боковую цепь аминокислоты, $-(\text{CH}_2)_s\text{C}(\text{O})\text{R}^{13}$ или $-(\text{CH}_2)_p\text{NR}^{14}\text{R}^{15}$;

p представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10;

s представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10;

R^{13} представляет собой OH или $-NH(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''-(CB)_m$;

каждый из R^{14} и R^{15} независимо представляет собой водород или $-C(O)(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''-(CB)_m$;

s'' представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10;

s' представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10;

m представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1;

X''' представляет собой -O-, -S-, -NH- или $-CH_2-$; и

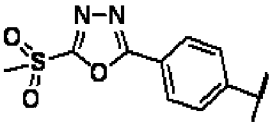
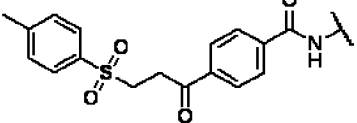
Z'' представляет собой связывающую группу, соединяющую CB с остатком R^{14} или R^{15} ; или Z'' представляет собой связывающую группу, содержащую реакционноспособную группу.

В некоторых таких вариантах осуществления P^1 :

R^{13} представляет собой OH или $-NH(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''$;

каждый из R^{14} и R^{15} независимо представляют собой водород или $-C(O)(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''$; и

Z'' представляет собой реакционноспособный предшественник связывающего звена, выбранный из изоцианида, изотиоцианида, 2-пиридилдисульфида, галоацетамида ($-NHC(O)CH_2$ -гал), малеимида, диена, алкена, галогенида, тозилата (TsO^-), альдегида,

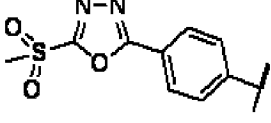
сульфоната ($R-SO_3^-$), , , фосфоновой кислоты ($-P(=O)(OH)_2$), кетона, C_8 - C_{10} циклоалкинила, -OH, -NHOH, -NHNH₂, -SH, карбоновой кислоты ($-COOH$), ацетилена ($-C\equiv CH$), азиды ($-N_3$), амина ($-NH_2$), сульфоновой кислоты ($-SO_3H$), производного алкинона ($-C(O)C\equiv C-R^a$, где R^a представляет собой C_1 - C_{10} -алкил) и дигидрофосфат ($-OP(=O)(OH)_2$).

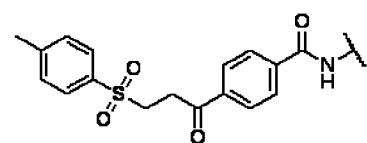
В некоторых таких вариантах осуществления P^1 :

R^{13} представляет собой OH или $-NH(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''CB$;

R^{14} и R^{15} каждый независимо представляют собой водород или $-C(O)(CH_2)_s(X'''CH_2CH_2)_sZ''CB$; и

Z'' представляет собой связывающее звено, соединяющее CB с остатком R^{14} или R^{15} , образованным из предшественника, выбранного из изоцианида, изотиоцианида, 2-пиридилдисульфида, галоацетамида ($-NHC(O)CH_2$ -гал), малеимида, диена, алкена,

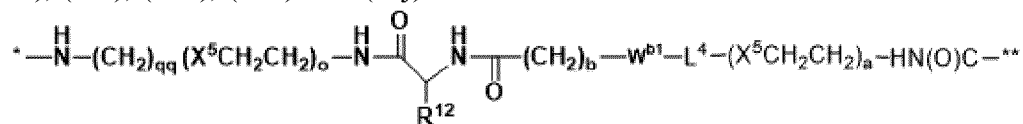
галогенида, тозилата (TsO^-), альдегида, сульфоната ($R-SO_3^-$), ,



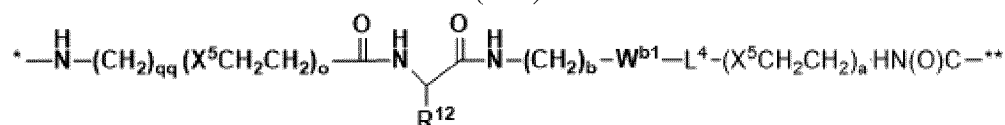
, фосфоновой кислоты ($-P(=O)(OH)_2$), кетона, C_8 - C_{10}

циклоалкинила, -ОН, -НОН, -NHNH₂, -SH, карбоновой кислоты (-COOH), ацетилена (-C≡CH), азида (-N₃), amino (-NH₂), сульфоновой кислоты (-SO₃H), производного алкинона (-C(O)C≡C-R^a, где R^a представляет собой C₁-C₁₀-алкил) и дигидрофосфат (-OP(=O)(OH)₂).

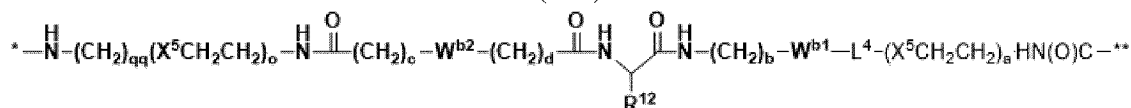
В альтернативных вариантах осуществления связывающее звено, соединяющее СВ и Ag, представляет собой связывающую группу, представленную формулами (IIIb), (IIIc), (IIId), (IIIe), (IIIf), (IIIh), (IIIh) или (IIIj):



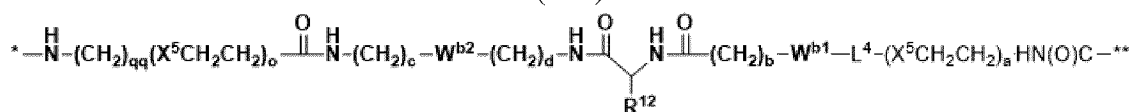
(IIIb)



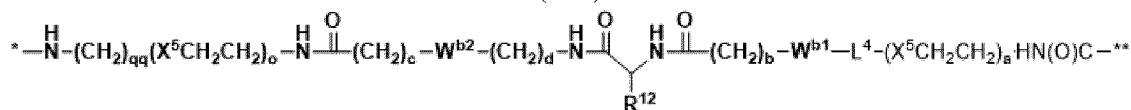
(IIIc)



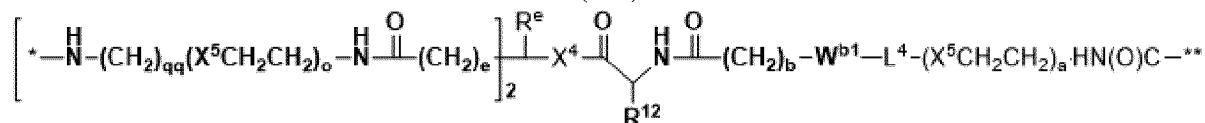
(IIId)



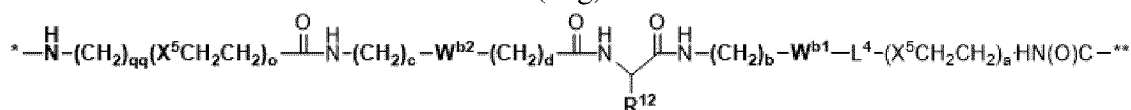
(IIIe)



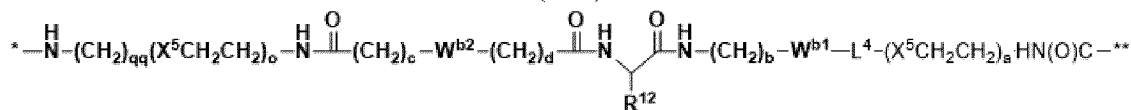
(IIIf)



(IIIg)



(IIIh)



(IIIj)

где:

R^e представляет собой алкил;

X⁵ представляет собой -O-, -S-, -NH- или -CH₂-;

каждый из W^{b1} и W^{b2} независимо представляет собой $-C(O)NH-$, $-NHC(O)-$,



R^{12} представляет собой водород, алкил, боковую цепь аминокислоты, $-(CH_2)_sC(O)R^{13}$ или $-(CH_2)_pNR^{14}R^{15}$;

R^{13} представляет собой OH или $-NH(CH_2)_s(X^4CH_2CH_2)_sZ''-(CB)_m$;

каждый из R^{14} и R^{15} независимо представляет собой водород или $-C(O)(CH_2)_s(X''''CH_2CH_2)_sZ''-(CB)_m$;

каждый из s и s'' независимо представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10;

m представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1;

X^4 и X^5 каждый независимо представляют собой $-O-$, $-S-$, $-NH-$ или $-CH_2-$; и

каждый из b , c , d , e , g , h , o и q независимо представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10.

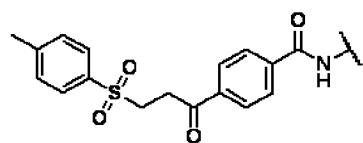
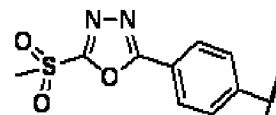
В некоторых таких вариантах осуществления формулы (IIIb), (IIIc), (IIIe), (IIIg), (IIIh), (IIIi) или (IIIj):

R^{13} представляет собой OH или $-NH(CH_2)_s(X''''CH_2CH_2)_sZ''CB$;

R^{14} и R^{15} каждый независимо представляют собой водород или $-C(O)(CH_2)_s(X''''CH_2CH_2)_sZ''CB$; и

Z'' представляет собой связывающее звено, соединяющее CB с остатком R^{14} или R^{15} , образованным из предшественника, выбранного из изоцианида, изотиоцианида, 2-пиридилдисульфида, галоацетамида ($-NHC(O)CH_2$ -гал), малеимида, диена, алкена,

галогенида, тозилата (TsO^-), альдегида, сульфоната ($R-SO_3^-$),



, фосфоновой кислоты ($-P(=O)(OH)_2$), кетона, C_8-C_{10} циклоалкинила, $-OH$, $-NHOH$, $-NHNH_2$, $-SH$, карбоновой кислоты ($-COOH$), ацетилена ($-C\equiv CH$), азиды ($-N_3$), амино ($-NH_2$), сульфоновой кислоты ($-SO_3H$), производного алкинона ($-C(O)C\equiv C-R^a$, где R^a представляет собой C_1-C_{10} -алкил) и дигидрофосфат ($-OP(=O)(OH)_2$).

Нацеливающие фрагменты

Соединения и конъюгаты по настоящему изобретению могут дополнительно содержать лиганд или нацеливающий фрагмент, CB . В некоторых вариантах осуществления лиганд или нацеливающий фрагмент представляет собой любой элемент молекулярного распознавания, который может подвергаться специфическому взаимодействию по меньшей мере с одним другим молекулярным фрагментом посредством, например, нековалентных связей, таких как водородные связи, координация

металлов, гидрофобные силы, силы Ван-дер-Ваальса, π - π -взаимодействия, галогенные связи, электростатические и/или электромагнитные эффекты. В некоторых вариантах осуществления СВ выбран из наночастицы, иммуноглобулина, нуклеиновой кислоты, белка, олигопептида, полипептида, антитела, фрагмента антигенного полипептида, антитела с повторностями и т. п.

Соединения и конъюгаты по настоящему изобретению могут содержать один или более нацеливающих фрагментов. То есть переменная *св* может иметь значение целого числа, выбранного из 1, 2, 3, 4, 5, 1-10 или 1-20.

В некоторых вариантах осуществления СВ содержит две или более независимо выбранных природных аминокислот или неприродных аминокислот, конъюгированных ковалентными связями (*например*, пептидными связями), а пептид может включать в себя 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более природных аминокислот или неприродных аминокислот, которые конъюгированы пептидными связями. В некоторых вариантах осуществления лиганд содержит более короткие аминокислотные последовательности (*например*, фрагменты природных белков или фрагменты синтетического полипептида), а также полноразмерные белки (*например*, предварительно сконструированные белки).

В некоторых вариантах осуществления СВ выбран из антитела, гормона, лекарственного препарата, аналога антитела (*например*, не являющегося IgG), белка, олигопептида, полипептида и т. д., которые связываются с рецептором. В определенных вариантах осуществления СВ селективно нацеливает лекарственный препарат в конкретный орган, ткань или клетку. В других вариантах осуществления СВ специфически связывается с рецептором, сверхэкспрессированным в раковых клетках по сравнению с нормальными клетками, и может быть классифицирован на моноклональное антитело (mAb) или фрагмент антитела и низкомолекулярное вещество не являющееся антителом. Предпочтительно СВ выбирают из пептидов, специфических для опухолевых клеток пептидов, специфических для опухолевых клеток аптамеров, специфических для опухолевых клеток углеводов, специфических для опухолевых клеток моноклональных антител, поликлональных антител и фрагментов антител, которые были идентифицированы при скрининге библиотеки.

Типичные лиганды или нацеливающие фрагменты включают в себя без ограничения карнитин, инозит, липоевую кислоту, пиридоксаль, аскорбиновую кислоту, ниацин, пантотеновую кислоту, фолиевую кислоту, рибофлавин, тиамин, биотин, витамин B₁₂, другие водорастворимые витамины (витамин B), жирорастворимые витамины (витамин A, D, E, K), RGD (Arg-Gly-Asp), NGR (Asn-Gly-Arg), трансферрин, рецептор VIP (вазоактивный интестинальный пептид), пептид APRPG (Ala-Pro-Arg-Pro-Gly), TRX-20 (тиоредоксин-20), интегрин, нуклеолин, аминоксипептидазу N (CD13), эндоглин, рецептор фактора роста сосудистого эпителия, рецептор липопротеина низкой плотности, рецептор трансферрина, рецептор соматостатина, бомбезин, нейропептид Y, гормональный рецептор, высвобождающий лютеинизирующий гормон, рецептор фолиевой кислоты,

рецептор эпидермального фактора роста, трансформирующий фактор роста, рецептор фактора роста фибробластов, рецептор асиалогликопротеина, рецептор галектина-3, рецептор Е-селектина, рецептор гиалуроновой кислоты, простат-специфический мембранный антиген (PSMA), рецептор холецистокинина А, рецептор холецистокинина В, рецептор домена дискоидина, рецептор муцина, опиоидный рецептор, рецептор плазминогена, рецептор брадикинина, рецептор инсулина, рецептор инсулиноподобного фактора роста, рецептор ангиотензина AT1, рецептор ангиотензина AT2, рецептор гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (рецептор GM-CSF), рецептор галактозамина, рецептор сигма-2, дельта-подобный лиганд-3 (DLL-3), аминопептидаза Р, меланотрансферрин, лептин, столбнячный токсин Tet1, столбнячный токсин G23, пептид RVG (гликопротеин вируса бешенства), HER2 (рецептор 2 эпидермального фактора роста человека), GPNMB (неметастатический гликопротеин b), Ley, CA6, CanAng, SLC44A4 (семейство транспортеров растворенных веществ 44, член 4), CEACAM5 (молекула клеточной адгезии 5, связанная с карциноэмбриональным антигеном), нектин-4, карбоновая ангидраза 9, TNNB2, 5T4, CD30, CD37, CD74, CD70, PMEL17, EphA2 (рецептор эфрина A2), Троп-2, SC-16, тканевой фактор, ENPP-3 (AGS-16), SLITRK6 (SLIT- и NTRK-подобный член семейства 6), CD27, антиген Льюиса Y, LIV1, GPR161 (G-белок-связанный рецептор 161), PBR (периферический бензодиазеоиновый рецептор), рецептор MERTK (тирозинкиназа рецептора Mer), CD71, LLT1 (лектиноподобный транскрипт 1 или CLED2D), рецептор интерлейкина-22, рецептор сигма-1, рецептор, активируемый пролифераторами пероксисом, DLL3, C4.4a, cKIT, EphrinA, CTLA4 (белок 4, ассоциированный с цитотоксическим Т-лимфоцитом), FGFR2b (рецептор 2b фактора роста фибробластов), рецептор N-ацетилхолина, рецептор рилизинг-гормона гонадотропина, рецептор гастрин-рилизинг-пептида, рецептор морфогенетического белка костей, тип рецептора 1B (BMPR1B), E16 (LAT1, SLC7A5), STEAP1 (шестой трансмембранный эпителиальный антиген простаты), 0772P (CA125, MUC16), MPF (MSLN, мезотелин), Napi3b (SLC34A2), Sema5b (семафорин 5b), ETBR (рецептор эндотелина типа B), MSG783(RNF124), STEAP2 (шестой трансмембранный эпителиальный антиген простаты 2), TrpM4 (катионный канал транзитного рецепторного потенциала 5, подсемейство M, член 4), CRIPTO (фактор роста, происходящий от тератокарциномы), CD21, CD79b, FcRH2 (IFGP4), HER2 (ErbB2), NCA (CEACM6), MDP (DPEP1), IL20R-альфа (IN20Ra), Brevican (BCAN), EphB2R, ASLG659 (B7h), CD276, PSCA (предшественник антигена простатических стволовых клеток), GEDA, BAFF-R (BR3), CD22 (BL-CAM), CD79a, CXCR5, HLA-DOB, P2X5, CD72, LY64, FcRH1, IRTA2, TENB2, SSTR2, SSTR5, SSTR1, SSTR3, SSTR4, ITGAV (интегрин, альфа 5), ITGB6 (интегрин, бета 6), MET, MUC1, EGFRvIII, CD33, CD19, IL2RA (рецептор интерлейкина 2, альфа), AXL, BCMA, CTA (раково-тестикулярные антигены), CD174, CLEC14A, GPR78, CD25, CD32, LGR5 (GPR49), CD133 (проминин), ASG5, ENPP3 (эктонуклеотид-пирофосфатаза/фосфодиэстераза 3), PRR4 (пролин-богатый белок 4), GCC (гуанилат циклаза 2C), Liv-1 (SLC39A6), CD56, CanAg, TIM-1, RG-1, B7-H4, PTK7,

CD138, Клаудин, Her3 (ErbB3), RON (MST1R), CD20, TNC (тенасцин C), FAP, DKK-1, CD52, CS1 (SLAMF7), аннексин A1, V-CAM, gp100, MART-1, MAGE-1 (ген-1, кодирующий антиген меланомы), MAGE-3 (меланома-ассоциированные антиген 3), BAGE, GAGE-1, MUM-1 (онкоген множественной миеломы 1), CDK4, TRP-1 (gp75), TAG-72 (ассоциированный с опухолью гликопротеин-72), ганглиозид GD2, GD3, GM2, GM3, VEP8, VEP9, My1, VIM-D5, D156-22, OX40, RNAK, PD-L1, TNFR1, TNFR2 и т. д.

Мишени

В некоторых вариантах осуществления мишень или мишени элемента молекулярного распознавания специфично связаны с одним или более конкретными типами клеток или тканей. В некоторых вариантах осуществления мишени специфично связаны с одним или более конкретными болезненными состояниями. В некоторых вариантах осуществления мишени специфично связаны с одним или более конкретными стадиями развития. Например, специфический в отношении клеточного типа маркер обычно экспрессируется на уровнях по меньшей мере в 2 раза больше в этом типе клеток, чем в эталонной популяции клеток. В некоторых вариантах осуществления специфический в отношении клеточного типа маркер присутствует на уровнях по меньшей мере в 3 раза, по меньшей мере в 4 раза, по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 6 раз, по меньшей мере в 7 раз, по меньшей мере в 8 раз, по меньшей мере в 9 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 50 раз, по меньшей мере в 100 раз или по меньшей мере в 1000 раз больше, чем его средняя экспрессия в эталонной популяции. Обнаружение или измерение специфического в отношении клеточного типа маркера позволит отличить клеточный тип или типы, представляющие интерес, от клеток многих, большинства или всех других типов. В некоторых вариантах осуществления мишень может содержать белок, углевод, липид и/или нуклеиновую кислоту, как описано в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления вещество считается «нацеленным», если оно специфически связывается с нацеливающим фрагментом, таким как нацеливающий фрагмент нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления нацеливающий фрагмент, такой как нацеливающий фрагмент нуклеиновой кислоты, специфически связывается с мишенью в жестких условиях.

В определенных вариантах осуществления конъюгаты и соединения, описанные в настоящем документе, содержат нацеливающий фрагмент, который специфически связывается с одной или более мишенями (*например*, антигенами), связанными с органом, тканью, клеткой, компонентом внеклеточного матрикса и/или внутриклеточным компартментом. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты и соединения, описанные в настоящем документе, содержат нацеливающий фрагмент, который специфически связывается с мишенями, связанными с конкретным органом или системой органов. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты и соединения, описанные в настоящем документе, содержат нацеливающий фрагмент, который специфически связывается с одной или более внутриклеточными мишенями (*например*, органеллой,

внутриклеточным белком). В некоторых вариантах осуществления конъюгаты и соединения, описанные в настоящем документе, содержат нацеливающий фрагмент, который специфически связывается с мишенями, связанными с пораженными органами, тканями, клетками, компонентами внеклеточного матрикса и/или внутриклеточными компартментами. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты и соединения, описанные в настоящем документе, содержат нацеливающий фрагмент, который специфически связывается с мишенями, связанными с конкретными клеточными типами (*например*, эндотелиальные клетки, раковые клетки, злокачественные клетки, клетки рака простаты и т. д.).

В некоторых вариантах осуществления конъюгаты и соединения, описанные в настоящем документе, содержат нацеливающий фрагмент, который связывается с мишенью, специфической для одного или более конкретных типов тканей (*например*, ткань печени *в сравнении с* тканью простаты). В некоторых вариантах осуществления конъюгаты и соединения, описанные в настоящем документе, содержат нацеливающий фрагмент, который связывается с мишенью, специфической для одного или более конкретных клеточных типов (*например*, Т-клетки *в сравнении с* В-клетками). В некоторых вариантах осуществления конъюгаты и соединения, описанные в настоящем документе, содержат нацеливающий фрагмент, который связывается с мишенью, специфической для одного или более конкретных состояний заболевания (*например*, опухолевые клетки *в сравнении со* здоровыми клетками). В некоторых вариантах осуществления конъюгаты и соединения, описанные в настоящем документе, содержат нацеливающий фрагмент, который связывается с мишенью, специфической для одной или более конкретных стадий развития (*например*, стволовые клетки *в сравнении с* дифференцированными клетками).

В некоторых вариантах осуществления мишень может представлять собой маркер, который исключительно или преимущественно связан с одним или несколькими клеточными типами, с одним или несколькими заболеваниями и/или с одной или несколькими стадиями развития. Специфический в отношении клеточного типа маркер обычно экспрессируется на уровнях по меньшей мере в 2 раза больше в этом типе клеток, чем в эталонной популяции клеток, которая может состоять, например, из смеси, содержащей клетки из множества (*например*, 5-10 или более) различных тканей или органов в приблизительно равных количествах. В некоторых вариантах осуществления специфический в отношении клеточного типа маркер присутствует на уровнях по меньшей мере в 3 раза, по меньшей мере в 4 раза, по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 6 раз, по меньшей мере в 7 раз, по меньшей мере в 8 раз, по меньшей мере в 9 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 50 раз, по меньшей мере в 100 раз или по меньшей мере в 1000 раз больше, чем его средняя экспрессия в эталонной популяции. Обнаружение или измерение специфического в отношении клеточного типа маркера позволит отличить клеточный тип или типы, представляющие интерес, от клеток многих, большинства или всех других типов.

В некоторых вариантах осуществления мишень содержит белок, углевод, липид и/или нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления мишень содержит белок и/или его характерную часть, такую как опухолевый маркер, интегрин, рецептор клеточной поверхности, трансмембранный белок, межклеточный белок, ионный канал, мембранный транспортерный белок, фермент, антитело, химерный белок, гликопротеин *и т. д.* В некоторых вариантах осуществления мишень содержит углевод и/или его характерную часть, такую как гликопротеин, сахар (*например*, моносахарид, дисахарид, полисахарид), гликокаликс (*то есть* обогащенная углеводами периферическая зона на внешней поверхности большинства эукариотических клеток) *и т. д.* В некоторых вариантах осуществления мишень содержит липид и/или его характерную часть, такую как масло, жирная кислота, глицерид, гормон, стероид (*например*, холестерин, желчная кислота), витамин (*например*, витамин Е), фосфолипид, сфинголипид, липопротеин *и т. д.* В некоторых вариантах осуществления мишень содержит нуклеиновую кислоту и/или ее характерную часть, такую как ДНК; РНК; модифицированная ДНК; модифицированная РНК; нуклеиновая кислота, которая включает в себя любую комбинацию ДНК, РНК, модифицированной ДНК и модифицированной РНК.

В данной области техники известно множество маркеров. Типичные маркеры включают в себя белки клеточной поверхности, *например*, рецепторы. Типичные рецепторы включают в себя без ограничения рецептор трансферрина; рецептор ЛПНП; рецепторы фактора роста, такие как члены семейства рецепторов эпидермального фактора роста (*например*, EGFR, Her2, Her3, Her4) или рецепторы фактора роста эндотелия сосудов, рецепторы цитокинов, молекулы клеточной адгезии, интегрины, селектины и молекулы CD. Маркер может представлять собой молекулу, которая присутствует исключительно или в больших количествах в злокачественной клетке, *например*, в опухолевом антигене.

Конъюгаты антитело-лекарственный препарат (ADC)

В некоторых вариантах осуществления СВ представляет собой антитело, а Q представляет собой лекарственный препарат. Соответственно, соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, могут быть использованы для конъюгирования антитела с лекарственным фрагментом с образованием конъюгата антитело-лекарственный препарат (ADC). Конъюгаты антитело-лекарственный препарата (ADC) могут повышать терапевтическую эффективность при лечении заболевания, *например*, рака, вследствие способности ADC избирательно доставлять один или несколько лекарственных фрагментов к тканям-мишеням, например, ассоциированный с опухолью антиген. Таким образом, в определенных вариантах осуществления в изобретении предлагаются ADC для терапевтического применения, *например*, лечения рака.

ADC настоящему по изобретению содержат антитело, связанное с одним или более лекарственными фрагментами. Специфичность ADC определяется специфичностью антитела. В одном варианте осуществления антитело связано с одним или более цитотоксическими лекарственными препаратами, которые доставляются к раковой клетке.

Примеры препаратов, которые можно использовать в ADC по изобретению, приведены ниже. Термины «лекарственный препарат», «агент» и «лекарственный фрагмент» используются в настоящем документе взаимозаменяемо. Термины «связанный» и «конъюгированный» также используются в настоящем документе взаимозаменяемо и указывают на то, что антитело и фрагмент ковалентно связаны.

В определенных аспектах настоящее изобретение относится к ADC, композициям, содержащим ADC, способам лечения и способам составления композиций ADC. ADC содержат антитело, или фрагмент антитела, конъюгированный с цитотоксическим соединением. В некоторых вариантах осуществления цитотоксическое соединение конъюгировано с антителом посредством линкера. В других вариантах осуществления цитотоксическое соединение связано непосредственно с антителом. Типы антител, линкеров и цитотоксических соединений, охватываемые настоящим изобретением, описаны ниже.

В некоторых вариантах осуществления ADC имеет следующую формулу (формула (III)):



(III)

или его фармацевтически приемлемую соль,

где:

LG представляет собой связывающую группу;

CB представляет собой агент, связывающийся с клеткой;

cb и dl каждый независимо представляют собой целые числа, имеющие значение от 1 до около 20, предпочтительно от 1 до около 10; и

каждый D-L независимо представляет собой группу, имеющую структуру соединения формулы (I) или (II).

Антитела

Антитело ADC может представлять собой любое антитело, которое обычно, но необязательно специфически, связывается с антигеном, экспрессируемым на поверхности интересующей клетки-мишени. Антиген не обязательно, но в некоторых вариантах осуществления способен к интернализации связанного с ним ADC в клетку. Интересующие клетки-мишени могут включать в себя клетки, в которых желательна индукция апоптоза. Антигены-мишени могут представлять собой любой белок, гликопротеин, полисахарид, липопротеин и *т. д.*, экспрессируемые в интересующей клетке-мишени, но обычно они представляют собой белки, которые либо уникально экспрессируются в клетке-мишени, а не в нормальных или здоровых клетках, или которые сверхэкспрессируются на клетке-мишени по сравнению с нормальными или здоровыми клетками, так что ADC селективно нацеливаются на конкретные интересующие клетки, такие как, например, опухолевые клетки. Как будет понятно специалистам в данной области техники, специфический антиген и, следовательно, выбранное антитело будут зависеть от идентичности желаемой клетки-мишени, представляющей интерес. В

конкретных вариантах осуществления антитело ADC представляет собой антитело, подходящее для введения человеку.

Антитела (Ab) и иммуноглобулины (Igs) представляют собой гликопротеины, имеющие аналогичные структурные характеристики. Хотя антитела проявляют специфичность связывания с конкретной мишенью, иммуноглобулины включают в себя как антитела, так и другие подобные антителам молекулы, которые не обладают специфичностью мишени. Нативные антитела и иммуноглобулины обычно представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины около 150000 дальтон, состоящие из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Каждая тяжелая цепь имеет на одном конце переменный домен (VH), за которым следует ряд константных доменов. Каждая легкая цепь имеет переменный домен (VL) на одном конце и константный домен на другом конце.

Ссылки на «VH» относятся к переменной области тяжелой цепи иммуноглобулина антитела, включая тяжелую цепь Fv, scFv или Fab. Ссылки на «VL» относятся к переменной области легкой цепи иммуноглобулина, включая легкую цепь Fv, scFv, dsFv или Fab.

Термин «антитело» используется в настоящем документе в самом широком смысле и относится к молекуле иммуноглобулина, которая специфически связывается или является иммунологически реактивной с конкретным антигеном и включает в себя поликлональные, моноклональные, полученные с помощью генной инженерии и иным образом модифицированные формы антител, включая без ограничения мышинные, химерные антитела, гуманизированные антитела, гетероконъюгатные антитела (*например*, биспецифичные антитела, диатела, триателами и тетратела) и антигенсвязывающие фрагменты антител, включая, *например*, фрагменты Fab', F(ab')₂, Fab, Fv, rIgG и scFv. Термин «scFv» относится к одноцепочечному антителу Fv, в котором переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи из традиционного антитела были соединены с образованием одной цепи.

Антитела могут быть мышинными, человеческими, гуманизированными, химерными или полученными из других видов. Антитело представляет собой белок, генерируемый иммунной системой, который способен распознавать и связываться с конкретным антигеном. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York). Антиген-мишень обычно имеет множество сайтов связывания, также называемых эпитопами, распознаваемых CDR на множественных антителах. Каждое антитело, которое специфически связывается с другим эпитопом, имеет различную структуру. Таким образом, один антиген может иметь более одного соответствующего антитела. Антитело включает в себя полноразмерную молекулу иммуноглобулина или иммунологически активную часть полноразмерной молекулы иммуноглобулина, *то есть* молекулу, которая содержит антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывает антиген интересующей мишени или его часть, причем такие мишени включают в себя без ограничения раковую клетку или клетки,

которые продуцируют аутоиммунные антитела, связанные с аутоиммунным заболеванием. Описываемый в настоящем документе иммуноглобулин может быть любого типа (*например*, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), класса (*например*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса молекулы иммуноглобулина. Иммуноглобулины могут быть получены из любых видов. Однако в одном аспекте иммуноглобулин имеет происхождение от человека, мыши или кролика.

Термин «фрагмент антитела» относится к части полноразмерного антитела, обычно к мишени связывания или вариабельной области. Примеры фрагментов антител включают в себя фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv. Фрагмент «Fv» представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный сайт распознавания и связывания мишени. Эта область состоит из димера одного вариабельного домена тяжелой цепи и одного вариабельного домена легкой цепи в а плотной нековалентной ассоциации (димер VH-VL). Именно в указанной конфигурации три CDR каждого вариабельного домена взаимодействуют для того, чтобы определить целевой сайт связывания на поверхности димера VH-VL. Часто шесть CDR придают антителу специфичность связывания с мишенью. Однако в некоторых случаях даже один вариабельный домен (или половина Fv, содержащего только три CDR, специфичных для мишени) может иметь способность распознавать и связывать цель. «Одноцепочечные Fv» или «scFv» фрагменты антитела содержат домены VH и VL антитела в одной полипептидной цепи. В целом, полипептид Fv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами VH и VL, дающий возможность scFv образовывать требуемую структуру для связывания с мишенью. «Однодоменные антитела» состоят из отдельных доменов VH или VL, которые проявляют достаточную аффинность к мишени. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой верблюжье антитело (см., *например*, Riechmann, 1999, Journal of Immunological Methods 231:25-38).

Фрагмент Fab содержит константный домен легкой цепи и первый константный домен (CH1) тяжелой цепи. Фрагменты Fab' отличаются от фрагментов Fab добавлением нескольких остатков на карбоксильном конце домена CH1 тяжелой цепи, в том числе одного или более цистеинов из шарнирной области антитела. Фрагменты F(ab') получают путем расщепления дисульфидной связи в шарнирных цистеинах продукта расщепления пепсина F(ab')₂. Дополнительные способы химического связывания фрагментов антител хорошо известны специалистам в данной области техники.

Вариабельные домены как легкой цепи, так и тяжелой цепи имеют определяющие комплементарность области (CDR), также известные как гипервариабельные области. Более консервативные фрагменты вариабельных доменов называются каркасными (FR). Как известно в данной области техники, положение/граница аминокислоты, определяющая гипервариабельную область антитела, может варьироваться в зависимости от контекста и различных определений, известных в данной области техники. Некоторые положения в вариабельном домене могут рассматриваться как гибридные гипервариабельные положения в том смысле, что эти положения можно считать

находящимися внутри гипервариабельной области по одному набору критериев, в то время как считается, что они находятся вне гипервариабельной области по другому набору критериев. Одно или более из этих положений также можно найти в расширенных гипервариабельных областях. CDR в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости с помощью областей FR и, вместе с CDR из другой цепи, участвуют в образовании сайта связывания антител с мишенью (см. Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institute of Health, Bethesda, Md. 1987)). В контексте настоящего документа нумерация аминокислотных остатков иммуноглобулина осуществляется в соответствии с системой нумерации аминокислотных остатков иммуноглобулина Kabat et al., если не указано иное.

В определенных вариантах осуществления антитела ADC по настоящему изобретению представляют собой моноклональные антитела. Термин «моноклональное антитело» (mAb) относится к антителу, которое получено из одной копии или клона, включая, *например*, любой эукариотический, прокариотический или фаговый клон, а не к способу, с помощью которого его получают. Предпочтительно моноклональное антитело по настоящему изобретению существует в гомогенной или по существу гомогенной популяции. Моноклональное антитело включает в себя как интактные молекулы, так и фрагменты антител (такие как, например, фрагменты Fab и F(ab')₂), которые способны специфически связываться с белком. Фрагменты Fab и F(ab')₂ лишены фрагмента Fc интактного антитела, быстрее выводятся из системы кровообращения животного и могут иметь меньшее неспецифическое связывание с тканью, чем интактное антитело (Wahl et al., 1983, *J. Nucl. Med* 24:316). Моноклональные антитела, пригодные для использования в настоящем изобретении, могут быть получены с использованием широкого спектра методов, известных в данной области техники, включая использование технологий гибридомной, рекомбинантной и фаговой индикации или их комбинации. Антитела по настоящему изобретению включают в себя химерные, приматизированные, гуманизированные или человеческие антитела.

Хотя в большинстве случаев антитела состоят только из генетически кодируемых аминокислот, в некоторых вариантах осуществления неcodируемые аминокислоты могут быть специфически включены. Примеры неcodированных аминокислот, которые могут быть включены в антитела для использования в контролирующей стехиометрии и местоположении прикрепления, а также способы получения таких модифицированных антител, обсуждаются в Tian et al., 2014, *Proc Nat'l Acad Sci USA* 111(5):1766-1771 and Axup et al., 2012, *Proc Nat'l Acad Sci USA* 109(40):16101-16106, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления антитело ADC, описанное в настоящем документе, представляет собой химерное антитело. Используемый в настоящем документе термин «химерное» антитело относится к антителу, имеющему переменные последовательности, полученные из нечеловеческого иммуноглобулина, такого как антитело крысы или мыши, и константные области человеческого иммуноглобулина,

обычно выбираемые из матрицы иммуноглобулина человека. Способы получения химерных антител известны в данной области техники. См., например, Morrison, 1985, Science 229(4719):1202-7; Oi et al., 1986, BioTechniques 4:214-221; Gillies et al., 1985, J. Immunol. Methods 125:191-202; патенты США №№ 5,807,715; 4,816,567 и 4,816,397, содержание которых в полном объеме включено в настоящий документ посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления антитело ADC, описанное в настоящем документе, представляет собой гуманизированное антитело. «Гуманизированные» формы антител нечеловеческого происхождения (например, мышинные) представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие субдомены связывания антител с мишенью), которые содержат минимальные последовательности, полученные из иммуноглобулина нечеловеческого происхождения. В общем, гуманизированное антитело будет содержать по существу все из по меньшей мере одного и, как правило, двух переменных доменов, в которых все или по существу все области CDR соответствуют доменам иммуноглобулина, не относящегося к человеку, и все или по существу все области FR являются областями последовательности человеческого иммуноглобулина. Гуманизированное антитело также может содержать по меньшей мере часть константной области (Fc) иммуноглобулина, как правило, консенсусную последовательность иммуноглобулина человека. Способы получения гуманизации антител известны в данной области техники. См., например, Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-7; патенты США №№ 5,530,101; 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762 и патент США № 6,180,370, выданный Queen et al.; EP239400; публикацию PCT WO 91/09967; патент США № 5,225,539; EP592106; EP519596; Padlan, 1991, Mol. Immunol., 28:489-498; Studnicka et al., 1994, Prot. Eng. 7:805-814; Roguska et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:969-973 и патент США № 5,565,332, которые все в полном объеме включены в настоящий документ посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления антитело ADC, описанное в настоящем документе, представляет собой человеческое антитело. Полностью «человеческие» антитела могут быть желательны для терапевтического лечения пациентов-людей. Используемый в настоящем документе термин «человеческие антитела» включает в себя антитела, имеющие аминокислотную последовательность иммуноглобулина человека, и включает в себя антитела, выделенные из библиотек иммуноглобулина человека или животных, трансгенных по одному или нескольким иммуноглобулинам человека, и которые не экспрессируют эндогенные иммуноглобулины. Человеческие антитела могут быть получены различными способами, известными в данной области техники, включая способы фагового дисплея с использованием библиотек антител, полученных из последовательностей иммуноглобулина человека. См. патенты США №№ 4,444,887, 4,716,111, 6,114,598, 6,207,418, 6,235,883, 7,227,002, 8,809,151, а также опубликованную заявку на патент США № 2013/189218, содержание которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. Человеческие антитела также могут быть

получены с использованием трансгенных мышей, которые не способны экспрессировать функциональные эндогенные иммуноглобулины, но которые могут экспрессировать гены иммуноглобулина человека. См., *например*, патенты США №№ 5,413,923; 5,625,126; 5,633,425; 5,569,825; 5,661,016; 5,545,806; 5,814,318; 5,885,793; 5,916,771; 5,939,598; 7,723,270; 8,809,051, а также опубликованную заявку на патент США № 2013/117871, содержание которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. Кроме того, можно привлекать такие компании, как Medarex (Princeton, N.J.), Astellas Pharma (Deerfield, Ill.) и Regeneron (Tarrytown, N.Y.), которые могут предоставлять человеческие антитела, направленные против выбранного антигена, используя технологию, аналогичную описанной выше. Полностью человеческие антитела, которые распознают выбранный эпитоп, могут быть получены с использованием методики, называемой «направляемый отбор». В этом подходе выбранное нечеловеческое моноклональное антитело, *например*, мышинное антитело, используется для направления отбора полностью человеческого антитела, распознающего один и тот же эпитоп (Jespers et al., 1988, Biotechnology 12:899-903).

В определенных вариантах осуществления антитело ADC, описанное в настоящем документе, представляет собой приматизированное антитело. Термин «приматизированное антитело» относится к антителу, содержащему переменные области обезьяны и константные области человека. Способы получения приматизированных антител известны в данной области техники. См., *например*, патенты США №№ 5,658,570; 5,681,722 и 5,693,780, которые включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В определенных вариантах осуществления антитело ADC, описанное в настоящем документе, представляет собой биспецифическое антитело или антитело с двумя переменными доменами (DVD). Биспецифические антитела и DVD-антитела представляют собой моноклональные, часто человеческие или гуманизированные антитела, которые обладают специфичностью связывания по меньшей мере для двух разных антигенов. DVD описаны, например, в патенте США № 7,612,181, описание которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления антитело ADC, описанное в настоящем документе, представляет собой дериватизированное антитело. Например, но не в качестве ограничения, дериватизированные антитела обычно модифицируют гликозилированием, ацетилированием, пегилированием, фосфорилированием, амидированием, дериватизацией известными защитными/блокирующими группами, протеолитическим расщеплением, связыванием с клеточным лигандом или другим белком *и т. д.* Любой из многочисленных способов химической модификации может быть выполнен согласно известным методикам, включая без ограничения специфическое химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез туникамицина *и т. д.* Кроме того, производное может содержать одну или несколько неприродных аминокислот, *например*, используя технологию ambrix (см., *например*, Wolfson, 2006, Chem. Biol.

13(10):1011-2).

В определенных вариантах осуществления антитело ADC, описанное в настоящем документе, имеет последовательность, которая была модифицирована для изменения по меньшей мере одной биологической эффекторной функции, опосредованной константной областью, относительно соответствующей последовательности дикого типа. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело может быть модифицировано для снижения по меньшей мере одной биологической эффекторной функции, опосредованной константной областью, по сравнению с немодифицированным антителом, *например*, сниженного связывания с Fc-рецептором (FcR). Связывание FcR может быть снижено посредством мутации сегмента константной области иммуноглобулина антитела в определенных областях, необходимых для взаимодействий FcR (*см.*, *например*, Canfield and Morrison, 1991, J. Exp. Med 173:1483-1491; и Lund et al., 1991, J. Immunol. 147:2657-2662).

В определенных вариантах осуществления антитело ADC, описанное в настоящем документе, модифицировано для приобретения или улучшения по меньшей мере одной опосредованной константной областью биологической эффекторной функции относительно немодифицированного антитела, *например*, для усиления взаимодействий FcγR (*см.*, *например*, US 2006/0134709). Например, антитело с константной областью, которая связывает FcγRIIA, FcγRIIB и/или FcγRIIA с большей аффинностью, чем соответствующая константная область дикого типа, может быть получено в соответствии со способами, описанными в настоящем документе.

В некоторых конкретных вариантах осуществления антитело ADC, описанное в настоящем документе, представляет собой антитело, которое связывает опухолевые клетки, такое как антитело против рецептора клеточной поверхности или ассоциированный с опухолью антиген (ТАА). В попытках открыть эффективные клеточные мишени для диагностики и лечения рака, исследователи пытались идентифицировать трансмембранные или иным образом связанные с опухолью полипептиды, которые специфически экспрессируются на поверхности одного или более конкретных типов раковых клеток по сравнению с одной или более нормальными нераковыми клетками. Часто такие ассоциированные с опухолью полипептиды экспрессируются на поверхности раковых клеток в большей степени, чем на поверхности нераковых клеток. Такие рецепторы клеточной поверхности и опухолевые антигены известны в данной области техники и могут быть получены для использования при генерировании антител с использованием способов и информации, которые хорошо известны в данной области техники.

Типичные рецепторы клеточной поверхности и ТАА

Примеры рецепторов клеточной поверхности и ТАА, на которые может быть нацелено антитело ADC, описанное в настоящем документе, включают в себя без ограничения различные рецепторы и ТАА, перечисленные ниже в таблице 1. Для удобства информация, относящаяся к этим антигенам, все из которых известны в данной области

техники, приведена ниже и включает в себя названия, альтернативные названия, номера доступа Genbank и первичные справочные материалы с соблюдением соглашений по идентификации последовательностей нуклеиновых кислот и белков Национального центра биотехнологической информации (NCBI). Последовательности нуклеиновых кислот и белков, соответствующие перечисленным рецепторам клеточной поверхности и ТАА, доступны в общедоступных базах данных, таких как GenBank.

Таблица I.

4-1BB
5AC
5T4
Альфа-фетопроtein
ангиопоэтин 2
ASLG659
TCL1
BMPR1B
Бревикан (BCAN, ВЕНАВ)
Антиген С2-42
C5
CA-125
CA-125 (имитация)
CA-IX (карбоангидраза 9)
CCR4
CD140a
CD152
CD19
CD20
CD200
CD21 (C3DR) 1)
CD22 (CD22-В изоформа В-клеточного рецептора)
CD221
CD23 (рецептор gE)
CD28
CD30 (TNFRSF8)
CD33
CD37

CD38 (гидролаза циклической АДФ-рибозы)
CD4
CD40
v6 CD44
CD51
CD52
CD56
CD70
CD72 (Lyb-2, В-клеточный дифференцированный антиген CD72)
CD74
CD79a (CD79A, CD79 α , иммуноглобулин-ассоциированный альфа) номер доступа Genbank NP_001774.10)
CD79b (CD79B, CD79 β , B29)
CD80
CEA
CEA-ассоциированный антиген
ch4D5
CLDN18.2
CRIPTO (CR, CR1, CRGF, TDGF1 фактор роста, происходящий от тератокарциномы)
CTLA-4
CXCR5
DLL4
DR5
E16 (LAT1, SLC7A5) EGFL7
EGFR
EpCAM
EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5)
Эписиалин
ERBB3
ETBR (рецептор эндотелина типа В)
FCRH1 (Fc-рецептор-подобный белок 1)
FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1, SPAP1B, SPAP1C, содержащий SH2-домен фосфатазный якорный белок
Экстра домен-В фибронектина

Рецептор фолата 1
Рецептор Frizzled
GD2
Ганглиозид GD3
GEDA
GPNMB
HER1
HER2 (ErbB2)
HER2/neu
HER3
HGF
HLA-DOB
HLA-DR
Киназа рецептора фактора рассеяния человека
Рецептор IGF-1
IgG4
IL-13
IL20R α (IL20Ra, ZCYTOR7)
IL-6
ILGF2
ILFR1R
интегрин α
интегрин $\alpha 5\beta 1$
интегрин $\alpha v\beta 3$
IRTA2 (рецептор иммуноглобулинового суперсемейства, ассоциированный с транслокацией 2, хромосома гена 1q21)
Антиген Льюиса Y
LY64 (RP105)
MCP-1
MDP (DPEP1)
MPF (MSLN, SMR, мезотелин, мегакариоцит-потенцирующий фактор)
MS4A1
MSG783 (RNF124, гипотетический белок FLJ20315)
MUC1

Муциноподобный рако-ассоциированный антиген
Napi3 (NAPI-3B, NPTIIb, SLC34A2, натрий-зависимый фосфатный транспортер 3b типа II)
NCA (CEACAM6)
P2X5 (лиганд-ионный канал 5 пуриnergического рецептора P2X)
PD-1
PDCD1
PDGF-R α
Простатспецифический мембранный антиген
PSCA (предшественник антигена стволовых клеток предстательной железы)
PSCA hlg
RANKL
RON
SDC1
Sema 5b
SLAMF7 (CS-1)
STEAP1
STEAP2 (HGNC_8639, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, ассоциированный с раком предстательной железы ген 1)
TAG-72
TEM1
Тенасцин C
TENB2, (TMEFF2, томорегулин, TPEF, HPP1, TR)
TGF- β
TRAIL-E2
TRAIL-R1
TRAIL-R2
TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, катионный канал транзитного рецепторного потенциала, подсемейство M, член 4)
TA CTAA16.88
TWEAK-R
TYRP1 (гликопротеин 75)
VEGF
VEGF-A

EGFR-1
VEGFR-2
Виментин

Типовые антитела

Типовые антитела, которые следует использовать с ADC по настоящему изобретению, включают в себя без ограничения 3F8 (GD2), абаговомаб (CA-125 (имитация)), адекватумумаб (ЕpCAM), афутузумаб (CD20), алазизумаба пегол (VEGFR2), ALD518 (IL-6), алемтузумаб (CD52), алтумомаба пентетат (CEA), аматуксимаб (мезотелин), анатумомнаба мафенатокс (TAG-72), аполизумаб (HLA-DR), арцитумомаб (CEA), бавитуксимаб (фосфатидилсерин), бектумомаб (CD22), белимумаб (BAFF), бесилесомаб (CEA-ассоциированный антиген), бевацизумаб (VEGF-A), биватузумаба мертанзин (CD44 v6), блинатумомаб (CD19), брентуксимаба ведотин ((CD30 (TNFRSF8))), кантузумаба мертанзин (муциноподобный рако-ассоциированный антиген), кантузумаба равтансин (MUC1), капромаба пендетид (клетки рака предстательной железы), карлумаб (MCP-1), катумаксомаб (ЕpCAM, CD3), CC49 (Tag-72), cBR96-DOX ADC (антиген Льюиса Y), цетуксимаб (EGFR), цитатузумаба богатокс (ЕpCAM), циксутумумаб (рецептор IGF-1), кливатузумаба тетраксетан (MUC1), конатумумаб (TRAIL-E2), дацетузумаб (CD40), далотузумаб (инсулиноподобный рецептор фактора роста 1), дератумумаб ((CD38 (гидролаза циклической АДФ-рибозы))), демцизумаб (DLL4), денозумаб (RANKL), детумомаб (клетка В-лимфомы), дрозитумаб (DR5), дусигитумаб (ILGF2), экромексимаб (ганглиозид D3), экулизумаб (C5), эдреколомаб (ЕpCAM), элотузумаб (SLAMF7), элсилимомаб (IL-6), энаватузумаб (рецептор TWEAK), энотикумаб (DLL4), энситуксимаб (5AC), эпитумомаба цитуксетан (эпизиалин), эпратузумаб (CD22), эртумаксомаб ((HER2/нец, CD3)), этанзицумаб (интегрин $\alpha\beta 3$), фарлетузумаб (рецептор фолата 1), FBTA05 (CD20), фиклатузумаб (HGF), фигитумумаб (рецептор IGF-1), фланвотумаб ((TYRP1 (гликопротеин 75))), фрезолимумаб (TGF-1), галиксимаб (CD80), ганитумаб (IGF-I), гемтузумаба озогамидин (CD33), гирентуксимаб ((карбоновая ангидраза 9 (CA-IX))), глембатумумаба ведотин (GPNMB), ибритумомаба тиуксетан (CD20), икрукумаб (VEGFR-1), иговомаб (CA-125), IMAB362 (CLDN18.2), имгатузумаб (EGFR), индатуксимаба равтанзин (SDC1), интетумумаб (CD51), инотузумаба озогамидин (CD22), ипилимумаб (CD152), иратумумаб ((CD30 (TNFRSF8))), лабетузумаб (CEA), ламбролизумаб (PDCD1), лексатумумаб (TRAIL-R2), линтузумаб (CD33), лорвотузумаба мертанзин (CD56), лукатумумаб (CD40), лумиликсимаб ((CD23 (рецептор IgE))), мапатумумаб (TRAIL-R1), маргетуксимаб (ch4DS), матузумаб (EGFR), милатузумаб (CD74), митумомаб (ганглиозид GD3), могамулизумаб (CCR4), моксетумомаба пазудотокс (CD22), наколомаба тафенатокс (C2-42 антиген), наптумомаба эстафенатокс (5T4), нарнатумаб (RON), натализумаб (интегрин $\alpha 4$), нецитумумаб (EGFR), несвакумаб (ангиопозтин 2), нимотузумаб (EGFR), ниволумаб (IgG4), окаратузумаб (CD20),

офатумумаб (CD20), оларатумаб (PDGF-R α), онартузумаб (киназа рецептора фактора рассеяния человека), онтуксизумаб (TEM1), опортузумаба монато (EpcAM), ореговумаб (CA-125), отлртузумаб (CD37), панитумумаб (EGFR) панкомаб (специфичное для опухоли гликозилирование MUC1), парзатузумаб (EGFL7), патритумаб (HER3), пемтумумаб (MUC1), пертузумаб (HER2/neu), пидилизумаб (PD-1), пинатузумаба ведотин (CD22), притумумаб (виментин), ракотумумаб (N-гликолилнейраминавая кислота), радретумаб (экстра домен-B фибронектина), рамуцирумаб (VEGFR2), рилотумумаб (HGF), ритуксимаб (CD20), робатумумаб (рецептор IGF-1), самализумаб (CD200), сатумумаба пендетид (TAG-72), серибантумаб (ERBB3), сибротузумаб (FAP), SGN-CD19A (CD19), SGN-CD33A (CD33), силтуксимаб (IL-6), солитомаб (EpcAM), сонепсизумаб (сфингозин-1-фосфат), табалумб (BAFF), такатузумаба тетраксетан (альфа-фетопротеин), таплитумумаба паптокс (CD19), тенатумумаб (тенасцин C), тепротумумаб (CD221), TGN1412 (CD28), тицилимумаб (CTLA-4), тигатузумаб (TRAIL-R2), TNX-650 (IL-13), товетумаб (CD40a), трастузумаб (HER2/neu), TRBS07 (GD2), тремелимумаб (CTLA-4), тукотузумаба целмолейкин (EpcAM), ублитуксимаб (MS4A), урелумаб (4-1BB), вандетаниб (VEGF), вантуктумаб (рецептор Frizzled), волоиксимаб (интегрин $\alpha 5\beta 1$), ворзетузумаба мафодотин (CD70), вотумумаб (опухолевый антиген CTAA16.88), залутумумаб (EGFR), занолимумаб (CD4) и затуксимаб (HER1).

Способы получения антител

Антитело ADC может быть получено путем рекомбинантной экспрессии генов легкой и тяжелой цепей иммуноглобулина в клетке-хозяине. Например, для экспрессии антитела рекомбинантным способом клетку-хозяина трансфицируют одним или более рекомбинантными векторами экспрессии, несущими фрагменты ДНК, кодирующие легкие и тяжелые цепи иммуноглобулина антитела таким образом, что легкие и тяжелые цепи экспрессируются в клетке-хозяине и, необязательно, секретируются в среду, в которой культивируются клетки-хозяева, из которой можно извлечь антитела. Стандартные методики рекомбинантной ДНК используются для получения генов тяжелых и легких цепей антител, включения этих генов в рекомбинантные векторы экспрессии и введения векторов в клетки-хозяева, такие как описаны в *Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition* (Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), Cold Spring Harbor, N. Y., 1989), *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel, F. M. et al., eds., Greene Publishing Associates, 1989) и в патенте США № 4,816,397.

В одном варианте осуществления антитела к варианту Fc аналогичны их эквивалентам дикого типа, но по изменениям в их доменах Fc. Для получения нуклеиновых кислот, кодирующих такие антитела к варианту Fc, можно синтезировать фрагмент ДНК, кодирующий домен Fc или часть домена Fc антитела дикого типа (называемого «домен Fc дикого типа»), и использовать его в качестве матрицы для мутагенеза с целью генерации антитела, как описано в настоящем документе, с использованием рутинных методов мутагенеза; альтернативно, фрагмент ДНК, кодирующий антитело, может быть синтезирован напрямую.

Сразу после получения фрагментов ДНК, кодирующих домены Fc дикого типа, можно проводить последующие манипуляции с этими фрагментами ДНК с помощью стандартных методов рекомбинантной ДНК, например, для преобразования генов константной области в гены цепи полноразмерного антитела. В ходе данных манипуляций фрагмент ДНК, кодирующий СН, функционально связан с другим фрагментом ДНК, кодирующим другой белок, такой как переменная область антитела или гибкий линкер. В контексте настоящего документа термин «функционально связанный» означает, что два фрагмента ДНК объединены таким образом, что аминокислотные последовательности, кодируемые этими двумя фрагментами ДНК, остаются в рамке.

Для экспрессии антител варианта Fc ДНК, кодирующие частичную или полноразмерную легкую и тяжелую цепи, полученные, как описано выше, вставляют в векторы экспрессии таким образом, что гены оперативно связаны с транскрипционными и трансляционными регуляторными последовательностями. В этом контексте термин «функционально связанный» означает, что ген антитела лигируется в вектор таким образом, что транскрипционные и трансляционные регуляторные последовательности в векторе выполняют свою предусмотренную функцию регуляции транскрипции и трансляции гена антитела. Вектор экспрессии и последовательности регуляции экспрессии выбираются так, чтобы быть совместимыми с используемой клеткой-хозяином экспрессии. Ген легкой цепи вариантного антитела и ген тяжелой цепи антитела могут быть вставлены в отдельные векторы или, что более типично, оба гена вставлены в один и тот же вектор экспрессии.

Гены антител вставляют в вектор экспрессии стандартными способами (*например*, лигированием комплементарных сайтов рестрикции на фрагменте и векторе гена антитела или лигированием тупого конца в случае отсутствия сайтов рестрикции). До вставки последовательностей вариантного Fc-домена вектор экспрессии уже может нести последовательности переменной области антитела. Дополнительно или альтернативно, рекомбинантный вектор экспрессии может кодировать сигнальный пептид, который облегчает секрецию цепи антитела из клетки-хозяина. Ген цепи антитела может быть клонирован в вектор так, чтобы сигнальный пептид в рамке был связан с аминоконцом гена цепи антитела. Сигнальный пептид может представлять собой сигнальный пептид иммуноглобулина или гетерологичный сигнальный пептид (*то есть* сигнальный пептид из белка, не являющегося иммуноглобулином).

В дополнение к генам цепи антител рекомбинантные векторы экспрессии несут регуляторные последовательности, которые контролируют экспрессию генов цепи антител в клетке-хозяине. Предполагается, что термин «регуляторная последовательность» включает в себя промоторы, энхансеры и другие элементы регуляции экспрессии (*например*, сигналы полиаденилирования), которые регулируют транскрипцию или трансляцию генов цепи антитела. Такие регуляторные последовательности описаны, например, в Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185 (Academic Press, San Diego, Calif., 1990). Специалистам в данной

области техники будет понятно, что конструкция вектора экспрессии, включая выбор регуляторных последовательностей, может зависеть от таких факторов, как выбор клетки-хозяина, подлежащей трансформации, желаемый уровень экспрессии белка *и т. д.* Подходящие регуляторные последовательности для экспрессии клеток-хозяев млекопитающих включают в себя вирусные элементы, которые направляют высокие уровни экспрессии белка в клетках млекопитающих, такие как промоторы и/или энхансеры, полученные из цитомегаловируса (ЦМВ) (такого как промотор/энхансер ЦМВ), вируса обезьяны 40 (SV40) (такого как промотор/энхансер SV40), аденовируса (*например*, аденовирусный главный поздний промотор (AdMLP)) и полиомы. Дальнейшее описание вирусных регуляторных элементов и их последовательностей см., *например*, в патенте США № 5,168,062 за авторством Stinski, патенте США № 4,510,245 за авторством Bell et al. и патенте США № 4,968,615 за авторством Schaffner et al.

В дополнение к генам цепи антител и регуляторным последовательностям, рекомбинантные векторы экспрессии могут нести дополнительные последовательности, такие как последовательности, которые регулируют репликацию вектора в клетках-хозяевах (*например*, точки начала репликации), и селективируемые маркерные гены. Селективируемый маркерный ген облегчает отбор клеток-хозяев, в которые был введен вектор (см., *например*, патенты США №№ 4,399,216, 4,634,665 и 5,179,017, все за авторством Axel et al.). Например, селективируемый маркерный ген обычно придает устойчивость по отношению к лекарственным препаратам, таким как G418, пурамицин, бластидин, гигромицин или метотрексат, клетке-хозяину, в которую был введен вектор. Подходящие селективируемые маркерные гены включают в себя ген дигидрофолатредуктазы (DHFR) (для применения в клетках-хозяевах DHFR с селекцией/амплификацией с помощью метотрексата) и ген нео (для селекции G418). Для экспрессии легкой и тяжелой цепей вектор(ы) экспрессии, кодирующие тяжелую и легкую цепи, трансфицируют в клетку-хозяина стандартными методами. Предполагается, что различные формы термина «трансфекция» охватывают широкий спектр методов, широко используемых для введения экзогенной ДНК в прокариотическую или эукариотическую клетку-хозяина, *например*, электропорацию, липофекцию, осаждение фосфатом кальция, трансфекцию DEAE-декстраном и тому подобное.

Можно экспрессировать антитела либо в прокариотических, либо в эукариотических клетках-хозяевах. В определенных вариантах осуществления экспрессия антител осуществляется в эукариотических клетках, *например*, в клетках-хозяевах млекопитающих, для оптимальной секреции правильно свернутого и иммунологически активного антитела. Типовые клетки-хозяева млекопитающих для экспрессии рекомбинантных антител включают в себя клетки яичника китайского хомячка (клетки CHO) (в том числе клетки DHFR- CHO, описанные в Urlaub and Chasin, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, используемые с селективируемым маркером DHFR, *например*, как описано в Kaufman and Sharp, 1982, Mol. Biol. 159:601-621), клетки миеломы NS0, клетки COS, клетки 293 и клетки SP2/0. При введении рекомбинантных векторов

экспрессии, кодирующих гены антител, в клетки-хозяева млекопитающих антитела получают путем культивирования клеток-хозяев в течение периода времени, достаточного для обеспечения возможности экспрессии антитела в клетках-хозяевах или секреции антитела в культуральную среду, в которой выращивают клетки-хозяева. Антитела могут быть выделены из культуральной среды с использованием стандартных методов очистки белка. Клетки-хозяева также можно использовать для получения частей интактных антител, таких как фрагменты Fab или молекулы scFv.

В некоторых вариантах осуществления антитело ADC может представлять собой бифункциональное антитело. Такие антитела, в которых одна тяжелая и одна легкая цепь являются специфичными для одного антигена, а другая тяжелая и легкая цепь являются специфичными для второго антигена, могут быть получены путем сшивания антитела со вторым антителом стандартными методами химического сшивания. Бифункциональные антитела также могут быть получены путем экспрессии нуклеиновой кислоты, сконструированной для кодирования бифункционального антитела.

В определенных вариантах осуществления двойные специфические антитела, *то есть* антитела, которые связывают один антиген и второй, неродственный антиген с использованием одного и того же сайта связывания, могут быть получены путем мутации аминокислотных остатков в CDR легкой цепи и/или тяжелой цепи. Типовые вторые антигены включают в себя провоспалительный цитокин (такой как, например, лимфотоксин, интерферон- γ или интерлейкин-1). Двойные специфические антитела могут быть получены, *например*, путем мутации аминокислотных остатков на периферии антигенсвязывающего сайта (см., *например*, Bostrom et al., 2009, Science 323:1610-1614). Двойные функциональные антитела могут быть получены путем экспрессии нуклеиновой кислоты, сконструированной для кодирования двойного специфического антитела.

Антитела также могут быть получены с помощью химического синтеза (*например*, способами, описанными в Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed., 1984 The Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.). Антитела также могут быть получены с использованием бесклеточной платформы (см., *например*, Chu et al., Biochemia No. 2, 2001 (Roche Molecular Biologicals)).

Способы рекомбинантной экспрессии гибридных белков Fc описаны в Flanagan et al., Methods in Molecular Biology, vol. 378: Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols.

Сразу после получения антитела методом рекомбинантной экспрессии его можно очистить любым способом, известным в данной области техники, для очистки молекулы иммуноглобулина, например, хроматографией (*например*, ионный обмен, аффинность, в частности, по аффинности к антигену после выбора белка А или белка G, и колоночная хроматография с распределением по размерам), центрифугированием, дифференциальной растворимостью или любой другой стандартной методикой очистки белков.

После выделения антитела в случае необходимости может быть дополнительно очищено, *например*, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (см., *например*, Fisher, Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology (Work and Burdon, eds., Elsevier, 1980)) или гель-фильтрационной хроматографии на колонке

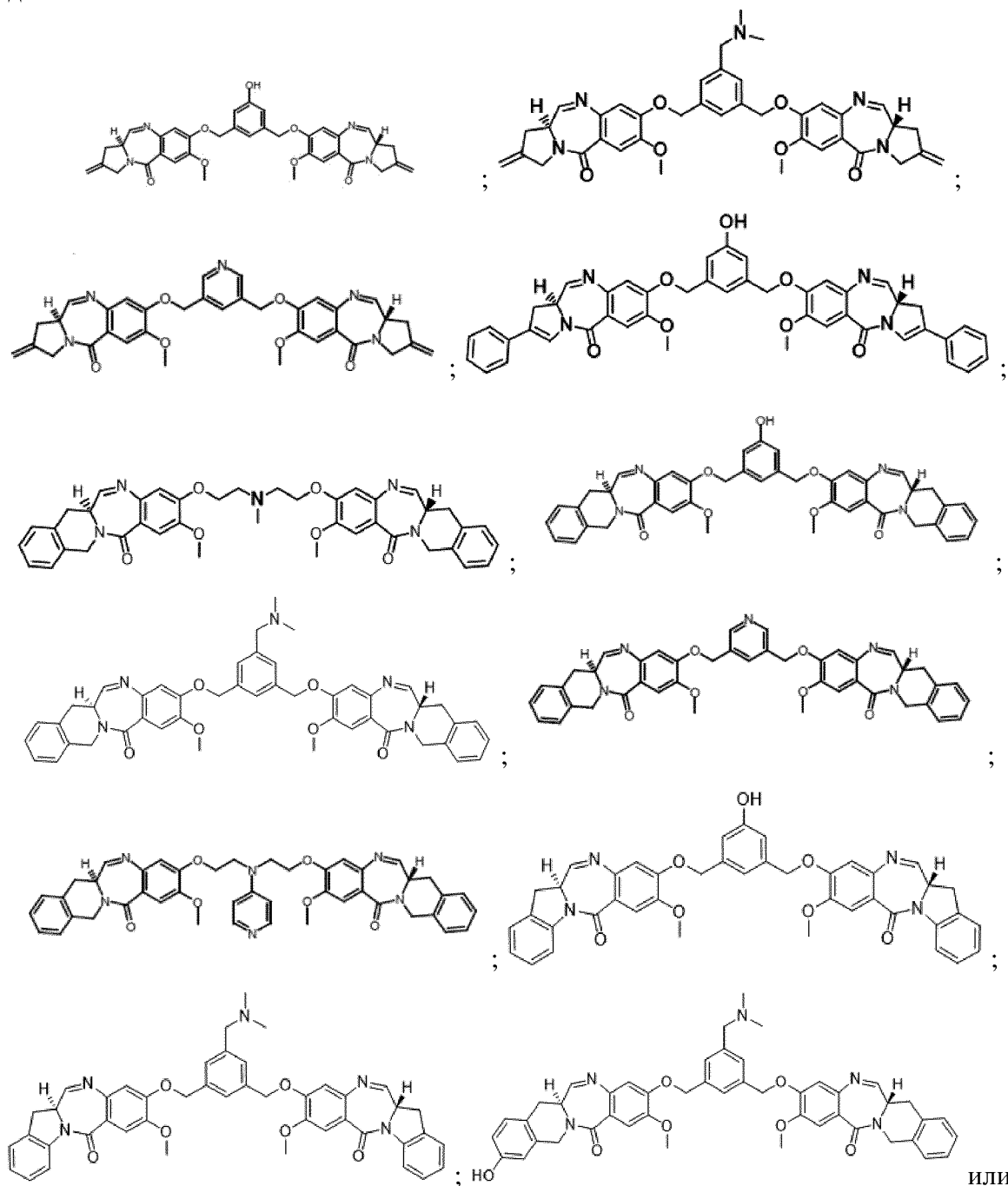
Superdex™ 75 (Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Швеция).

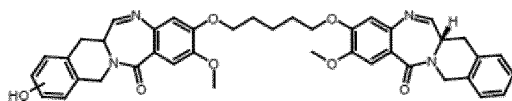
Способы лечения

Варианты прицельного лечения

Нацеливающий фрагмент конъюгата может распознаваться клеткой, обеспечивая тем самым так называемое прицельное лечение.

В некоторых вариантах осуществления конъюгаты, описанные в настоящем документе, содержат активный агент, как описано в настоящем документе, например, активный агент формулы (I). В некоторых таких вариантах осуществления активный агент представляет собой:





Клеточная пролиферация и апоптоз

Описанные в настоящем документе соединения и конъюгаты могут быть использованы в способах индукции апоптоза в клетках.

Нарушение регуляции апоптоза связано с различными заболеваниями, включая, например, аутоиммунные расстройства (*например*, системную красную волчанку, ревматоидный артрит, болезнь «трансплантат против хозяина», миастению гравис или синдром Шегрена), хронические воспалительные состояния (*например*, псориаз, астму или болезнь Крона), гиперпролиферативные расстройства (*например*, рак молочной железы, рак легкого), вирусные инфекции (*например*, герпес, папиллому или ВИЧ) и другие состояния, такие как остеоартрит и атеросклероз. Соединения, конъюгаты и композиции, описанные в настоящем документе, могут использоваться для лечения или ослабления любого из этих заболеваний. Такие способы лечения обычно включают в себя введение субъекту, страдающему от заболевания, количества соединения, конъюгата или композиции, описанных в настоящем документе, достаточного для обеспечения терапевтического эффекта. Идентичность антитела вводимого соединения, конъюгата или композиции будет зависеть от заболевания, подлежащего лечению, поэтому антитело должно связывать антиген клеточной поверхности, экспрессируемый в клеточном типе, где было бы полезным ингибирование. Достигнутый терапевтический эффект также будет зависеть от конкретного заболевания, подлежащего лечению. В определенных случаях соединения и композиции, описанные в настоящем документе, могут лечить или ослаблять само заболевание или симптомы заболевания при применении в виде монотерапии. В других случаях соединения и композиции, описанные в настоящем документе, могут быть частью общей схемы лечения, включая другие агенты, которые вместе с ингибитором или соединениями и композициями, описанными в настоящем документе, лечат или ослабляют заболевание, подлежащее лечению, или симптомы заболевания. Агенты, используемые для лечения или ослабления специфических заболеваний, которые можно вводить в дополнение к соединениям и композициям, описанным в настоящем документе, или вместе с ними, будут очевидны специалистам в данной области техники.

Хотя полное излечение всегда желательно в любом терапевтическом режиме, для достижения терапевтического эффекта не требуется достижения излечения. Терапевтический эффект может включать в себя остановку или замедление прогрессирования заболевания, регрессию заболевания без излечения и/или ослабление или замедление прогрессирования симптомов заболевания. Продленная выживаемость по сравнению со статистическими средними показателями и/или улучшенное качество жизни также могут рассматриваться как терапевтический эффект.

Одним конкретным классом заболеваний, которые включают в себя нарушение регуляции апоптоза и которые представляют собой поистине значимое бремя для здоровья во всем мире, являются различные виды рака. В конкретном варианте осуществления соединения и композиции, описанные в настоящем документе, могут быть использованы для лечения различных видов рака. Рак может представлять собой, например, солидные опухоли или гематологические опухоли. Виды рака, которые можно лечить с помощью описанных в настоящем документе соединений и композиций, включают в себя без ограничения рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак костного мозга, рак шейки матки, хронический лимфоцитарный лейкоз, колоректальный рак, рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, лимфобластный лейкоз, фолликулярную лимфому, лимфоидные злокачественные опухоли Т-клеточного или В-клеточного происхождения, меланому, миелогенный лейкоз, миелому, рак полости рта, рак яичников, немелкоклеточный рак легкого, хронический лимфоцитарный лейкоз, миелому, рак предстательной железы, мелкоклеточный рак легких и рак селезенки. Соединения и композиции, описанные в настоящем документе, могут быть особенно полезны при лечении рака, поскольку антитело может быть использовано для специфического воздействия на опухолевую клетку, тем самым потенциально предотвращая или ослабляя нежелательные побочные эффекты и/или токсичность, которые могут быть связаны с системным введением неконъюгированных ингибиторов. Один из вариантов осуществления относится к способу лечения заболевания, связанного с нарушением регуляции внутреннего апоптоза, включающему в себя введение субъекту, страдающему от заболевания, связанного с нарушением регуляции апоптоза, количества описанных в настоящем документе соединений и композиций, эффективных для обеспечения терапевтического эффекта, в котором лиганд соединений и композиций, описанных в настоящем документе, связывает рецептор клеточной поверхности на клетке с нарушенным внутренним апоптозом. Один вариант осуществления относится к способу лечения рака, включающему в себя введение субъекту, страдающему от рака, соединения и композиции, описанных в настоящем документе, в которых лиганд способен связывать рецептор клеточной поверхности или ассоциированный с опухолью антиген, экспрессируемый на поверхности раковых клеток, в количестве, эффективном для обеспечения терапевтического эффекта.

В контексте онкогенного рака терапевтический эффект, помимо включения эффектов, обсуждаемых выше, может также конкретно включать в себя остановку или замедление прогрессирования роста опухоли, регрессирование роста опухоли, эрадикацию одной или нескольких опухолей и/или повышение выживаемости пациентов по сравнению со статистическими средними показателями для типа и стадии рака, подлежащего лечению. В одном варианте осуществления рак, подлежащий лечению, представляет собой онкогенный рак.

Соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, могут применяться в виде монотерапии для обеспечения терапевтического эффекта или могут применяться в

дополнение к другим химиотерапевтическим агентам и/или лучевой терапии или вместе с ними. Химиотерапевтические агенты, в дополнение к которым соединения и композиции, описанные в настоящем документе, могут быть использованы в качестве вспомогательной терапии, могут быть нацеленными (например, ADC, ингибиторы протеинкиназы *и т. д.*) или ненацеленными (например, неспецифические цитотоксические агенты, такие как радионуклеотиды, алкилирующие агенты и интеркалирующие агенты). Ненацеленные химиотерапевтические агенты, в дополнение к которым могут быть введены соединения и композиции, описанные в настоящем документе, включают в себя без ограничения метотрексат, таксол, L-аспарагиназу, меркаптопурин, тиогуанин, гидроксимочевину, цитарабин, циклофосфамид, ифосфамид, нитрозомочевину, цисплатин, карбоплатин, митомицин, дакарбазин, прокарбизин, топотекан, азотистые иприты, цитоксан, этопозид, 5-фторурацил, BCNU, иринотекан, камптотецины, блеомицин, доксорубицин, идарубицин, даунорубицин, дактиномицин, пликамицин, митоксантрон, аспарагиназу, винбластин, винкристин, винорелбин, паклитаксел, калихеамицин и доцетаксел.

Описанные в настоящем документе соединения и конъюгаты, которые могут быть неэффективными в качестве монотерапии для лечения рака, могут вводиться в дополнение к другим химиотерапевтическим агентам или лучевой терапии или вместе с ними для обеспечения терапевтического эффекта. Один вариант осуществления относится к способу, в котором соединение или композицию, описанную в настоящем документе, вводят в количестве, эффективном для повышения чувствительности опухолевых клеток к стандартной химиотерапии и/или лучевой терапии. Соответственно, в контексте лечения различных видов рака термин «терапевтический эффект» включает в себя введение соединений и композиций, описанных в настоящем документе, в добавление к химиотерапевтическим агентам и/или лучевой терапии или вместе с ними либо пациентам, которые еще не начали прохождение такой терапии, либо у которых имеются, но еще не проявлялись признаки резистентности, или пациентам, у которых начали проявляться признаки резистентности, в качестве средства повышения чувствительности опухолей к химиотерапии и/или лучевой терапии.

Фармацевтические композиции и способы их введения

Соединения и конъюгаты, описанные в настоящем документе, могут быть использованы для лечения индивидуума, нуждающегося в этом. В определенных вариантах осуществления индивидуум представляет собой млекопитающее, такое как человек, или млекопитающее, не являющееся человеком. При введении животному, такому как человек, композицию или соединение предпочтительно вводят в виде фармацевтической композиции, содержащей, например, описанное соединение и фармацевтически приемлемый носитель.

Фармацевтически приемлемые носители хорошо известны в данной области техники и включают в себя, например, водные растворы, такие как вода или физиологически забуференный солевой раствор, или другие растворители или носители, такие как гликоли, глицерин, масла, такие как оливковое масло, или инъекционные

органические сложные эфиры. В предпочтительных вариантах осуществления, когда такие фармацевтические композиции предназначены для введения человеку, особенно для инвазивных путей введения (*то есть* путей, таких как инъекция или имплантация, которые обеспечивают преодолевающий перенос или диффузию через эпителиальный барьер), водный раствор не содержит пирогенов или практически не содержит пирогенов. Вспомогательные вещества могут быть выбраны, например, для осуществления отсроченного высвобождения агента или для избирательного нацеливания на одну или несколько клеток, тканей или органов. Фармацевтическая композиция может быть в форме единичной дозы, такой как таблетка, капсула (включая вскрываемую капсулу и желатиновую капсулу), гранула, лиофильный препарат для разведения, порошок, раствор, сироп, суппозиторий, инъекция или тому подобное. Композиция также может присутствовать в системе трансдермальной доставки, *например*, кожном пластыре. Композиция также может присутствовать в растворе, подходящем для местного применения, таком как мазь или крем.

Фармацевтически приемлемый носитель может содержать физиологически приемлемые агенты, которые действуют, например, для стабилизации, увеличения растворимости или увеличения абсорбции соединения, такого как соединение по изобретению. Такие физиологически приемлемые агенты включают в себя, например, углеводы, такие как глюкоза, сахароза или декстраны, антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или глутатион, хелатирующие агенты, низкомолекулярные белки или другие стабилизаторы или вспомогательные вещества. Выбор фармацевтически приемлемого носителя, включая физиологически приемлемый агент, зависит, например, от пути введения композиции. Препарат фармацевтической композиции может быть самоэмульгирующей системой доставки лекарств или системой лекарственной доставки с самопроизвольным формированием микроэмульсии. Фармацевтическая композиция (препарат) также может представлять собой липосому или другую полимерную матрицу, в которую может быть включено, например, соединение по изобретению. Например, липосомы, которые содержат фосфолипиды или другие липиды, являются нетоксичными, физиологически приемлемыми и метаболизируемыми носителями, которые относительно просты в изготовлении и применении.

Фраза «фармацевтически приемлемый» используется в настоящем документе для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые в рамках здравого медицинского заключения подходят для использования в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соизмеримых с разумным соотношением польза/риск.

Фраза «фармацевтически приемлемый носитель», в контексте настоящего документа, означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, растворитель или инкапсулирующий материал. Каждый носитель должен быть

«приемлемым» в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами состава и не причиняет вреда пациенту. Некоторые примеры материалов, которые могут служить фармацевтически приемлемыми носителями, включают в себя: (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; (3) целлюлозу и ее производные, такие как натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; (4) порошкообразный трагакант; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) вспомогательные вещества, такие как масло какао и воски для суппозиторий; (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) гликоли, такие как пропиленгликоль; (11) полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновую кислоту; (16) апирогенную воду; (17) изотонический солевой раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) фосфатные буферные растворы и (21) другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических композициях.

Фармацевтическую композицию (препарат) можно вводить субъекту любым из ряда способов введения, включая, например, пероральное введение (например, капли, как в водных или неводных растворах или суспензиях, таблетки, капсулы (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), болюсы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык); всасывание через слизистую оболочку полости рта (*например*, сублингвально); анально, ректально или вагинально (например, в виде пессария, крема или пены); парентерально (включая внутримышечно, внутривенно, подкожно или интратекально, как, например, стерильный раствор или суспензию); назально; внутрибрюшинно; подкожно; трансдермально (например, в виде пластыря, нанесенного на кожу) и местно (например, в виде крема, мази или спрея, нанесенных на кожу, или в виде глазных капель). Соединение также может быть составлено для ингаляции. В определенных вариантах осуществления соединение может быть просто растворено или суспендировано в стерильной воде. Подробности подходящих путей введения и подходящих для них композиций можно найти, например, в патентах США №№ 6,110,973, 5,763,493, 5,731,000, 5,541,231, 5,427,798, 5,358,970 и 4,172,896, а также в цитированных в них патентах.

Составы можно удобно предоставлять в стандартной дозированной форме и можно получать любыми способами, хорошо известными в области фармации. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом-носителем для получения единичной дозированной формы, будет варьироваться в зависимости от организма, который лечат, конкретного способа введения. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом носителя для получения единичной дозированной формы, обычно будет таким количеством соединения, которое оказывает терапевтический эффект. В целом, из ста процентов это количество будет

варьировать от около 1 процента до около девяноста девяти процентов активного ингредиента, предпочтительно от около 5 процентов до около 70 процентов, наиболее предпочтительно от около 10 процентов до около 30 процентов.

Способы приготовления этих составов или композиций включают в себя стадию объединения активного соединения, такого как соединение по изобретению, с носителем и, необязательно, одним или несколькими дополнительными ингредиентами. Обычно составы получают путем равномерного и тщательного объединения соединения по настоящему изобретению с жидкими носителями, или тонкоизмельченными твердыми носителями, или ими обоими, а затем при необходимости формованием продукта.

Композиции по изобретению, подходящие для перорального введения, могут быть в форме капсул (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), крахмальных капсул, пилюль, таблеток, леденцов (с использованием ароматизированной основы, обычно сахарозы и гуммиарабика или трагаканта), лиофильных препаратов, порошков, гранул или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости, или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или вода-в-масле, или в виде эликсира или сиропа, или в виде пастилок (с использованием инертной основы, такой как желатин и глицерин, или сахароза и гуммиарабик) и/или в виде средств для полоскания рта и тому подобного, каждая из которых содержит заранее определенное количество соединения по настоящему изобретению в качестве активного ингредиента. Соединения, конъюгаты или их композиции также можно вводить в виде болюса, электуария или пасты.

Для приготовления твердых дозированных форм для перорального введения (капсулы (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), таблетки, пилюли, драже, порошки, гранулы и тому подобное) активный ингредиент смешивают с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, такими как цитрат натрия или фосфат дикальция, и/или любым из следующего: (1) наполнители или добавки, такие как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; (2) связывающие вещества, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или гуммиарабик; (3) увлажнители, такие как глицерин; (4) разрыхлители, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный крахмал или крахмал из тапиоки, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия; (5) замедляющие растворение агенты, такие как парафин; (6) ускорители абсорбции, такие как четвертичные аммониевые соединения; (7) смачивающие агенты, такие как, например, цетиловый спирт и моностеарат глицерина; (8) абсорбенты, такие как каолин и бентонитовая глина; (9) смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси; (10) комплексообразующие агенты, такие как модифицированные и немодифицированные циклодекстрины; и (11) красители. В случае капсул (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), таблеток и пилюль фармацевтические композиции также могут содержать буферные агенты. Твердые композиции подобного типа также могут применяться в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с

применением таких вспомогательных веществ как лактоза или молочные сахара, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и тому подобное

Таблетку можно получать путем прессования или формовки, необязательно, с одним или несколькими вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть приготовлены с использованием связывающего вещества (например, желатина или гидроксипропилметилцеллюлозы), смазывающего вещества, инертного разбавителя, консерванта, разрыхлителя (например, натрий гликолята крахмала или сшитой натрий карбоксиметилцеллюлозы), поверхностно-активного или диспергирующего агента. Формованные таблетки могут быть изготовлены путем формования в подходящем аппарате смеси порошкообразного соединения, увлажненного инертным жидким разбавителем.

Таблетки и другие твердые лекарственные формы фармацевтических композиций, такие как драже, капсулы (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), пилюли и гранулы, могут быть необязательно с насечкой или приготовлены с покрытиями и оболочками, такими как кишечнорастворимые покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области фармацевтики. Они также могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечить медленное или контролируемое высвобождение в нем активного ингредиента с использованием, например, гидроксипропилметилцеллюлозы в различных пропорциях, чтобы обеспечить желаемый профиль высвобождения, другие полимерные матрицы, липосомы и/или микросферы. Они могут быть стерилизованы, например, фильтрованием через задерживающий бактерии фильтр или включением стерилизующих агентов в форме стерильных твердых композиций, которые можно растворить в стерильной воде или в некоторой другой стерильной инъекционной среде непосредственно перед использованием. Эти композиции также могут необязательно содержать замутнители и могут представлять собой композицию, из которой они высвобождают только активный(ые) ингредиент(ы) или предпочтительно в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно с задержкой. Примерами заливочных композиций, которые можно использовать, являются полимерные вещества и воски. Активный ингредиент также может находиться в микроинкапсулированной форме, если это уместно, с одним или более вышеописанными вспомогательными веществами.

Жидкие лекарственные формы, пригодные для перорального введения, включают в себя фармацевтически приемлемые эмульсии, лиофильные препараты для разведения, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к активному ингредиенту жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области техники, такие как, например, вода или другие растворители, циклодекстрины и их производные, солюбилизирующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, зародышевое, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные

эффиры жирных кислот с сорбитаном и их смеси.

Помимо инертных разбавителей, пероральные композиции могут также включать в себя адъюванты, такие как смачивающие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, подсластители, ароматизаторы, красители, отдушки и консерванты.

Суспензии, в дополнение к активным соединениям, могут содержать суспендирующие агенты, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, сложные эфиры полиоксиэтиленсорбита и сорбитана, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант и их смеси.

Составы фармацевтических композиций для ректального, вагинального или уретрального введения могут быть представлены в виде суппозитория, который может быть приготовлен путем смешивания одного или более активных соединений с одним или более подходящими нераздражающими вспомогательными веществами или носителями, содержащими, например, масло какао, полиэтиленгликоль, воск для суппозитория или салицилат, и которые являются твердыми при комнатной температуре, но жидкими при температуре тела и, следовательно, растают в ректальной или вагинальной полости с высвобождением активного соединения.

Составы фармацевтических композиций для введения в полость рта могут быть представлены в виде жидкости для полоскания рта, или перорального спрея, или пероральной мази.

Альтернативно или дополнительно, композиции могут быть составлены для доставки через катетер, стент, проводник или другое внутрисветное устройство. Доставка через такие устройства может быть в особенности применима для доставки в мочевой пузырь, мочеиспускательный канал, мочеточник, прямую кишку или кишечник.

Составы, которые подходят для вагинального введения, также включают в себя формы в виде pessaries, тампонов, кремов, гелей, паст, пен или спрея, содержащие носители, являющиеся известными в данной области техники.

Лекарственные формы для местного или трансдермального введения включают в себя порошки, спреи, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, растворы, пластыри и ингаляторы. Активное соединение может быть смешано в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и с любыми консервантами, буферами или пропеллентами, которые могут потребоваться.

Мази, пасты, кремы и гели могут содержать в дополнение к активному соединению вспомогательные вещества, такие как животные и растительные жиры, масла, воски, парафины, крахмал, трагакант, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, силиконы, бентониты, кремниевую кислоту, тальк и оксид цинка или их смеси.

Порошки и спреи могут содержать в дополнение к активному соединению вспомогательные вещества, такие как лактоза, тальк, кремниевая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция и порошок полиамидов, или смеси этих веществ. Спреи могут дополнительно содержать обычные пропелленты, такие как хлорфторуглеводороды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан.

Трансдермальные пластыри имеют дополнительное преимущество, заключающееся в обеспечении контролируемой доставки соединения по настоящему изобретению в организм. Такие лекарственные формы могут быть изготовлены путем растворения или диспергирования активного соединения в подходящей среде. Усилители абсорбции также могут быть использованы для увеличения потока соединения через кожу. Скорость такого потока может контролироваться либо предоставлением регулирующей скорости мембраны, либо диспергированием соединения в полимерной матрице или геле.

Офтальмологические составы, глазные мази, порошки, растворы и тому подобное также рассматриваются как входящие в объем настоящего изобретения. Типичные офтальмологические составы описаны в публикациях США 2005/0080056, 2005/0059744, 2005/0031697 и 2005/004074; и патенте США № 6,583,124, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки. Если желательно, жидкие офтальмологические составы имеют свойства, подобные свойствам слезных жидкостей, внутриглазной жидкости или жидкой части стекловидного тела, или совместимы с такими жидкостями.

Фразы «парентеральное введение» и «введенный парентерально», используемые в настоящем документе, означают способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции, и включают в себя без ограничения внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрикапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную и интрастернальную инъекцию и инфузию.

Фармацевтические композиции, подходящие для парентерального введения, содержат одно или более активных соединений в сочетании с одним или более фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями или стерильными порошками, которые могут быть разведены в стерильные инъекционные растворы или дисперсии непосредственно перед применением, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические агенты, растворимые вещества, которые делают состав изотоническим с кровью предполагаемого реципиента, или суспендирующими или загущающими агентами.

Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые могут использоваться в фармацевтических композициях по изобретению, включают в себя воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и тому подобное) и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и инъекционные органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Надлежащая текучесть может поддерживаться, например, путем использования материалов для покрытия, таких как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и путем использования поверхностно-активных веществ.

Эти композиции также могут содержать адъюванты, такие как консерванты, смачивающие агенты, эмульгирующие агенты и диспергирующие агенты. Предотвращение действия микроорганизмов может быть обеспечено включением различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, парабена, хлорбутанола, фенолсорбиновой кислоты и тому подобного. Также может быть желательно включать в композиции изотонические агенты, такие как сахара, хлорид натрия и тому подобное. Кроме того, пролонгированное всасывание инъекционной фармацевтической формы может быть вызвано включением агентов, которые замедляют всасывание, таких как моностеарат алюминия и желатин.

В некоторых случаях для пролонгирования действия лекарственного средства желательно замедлять абсорбцию лекарственного средства при подкожной или внутримышечной инъекции. Это можно осуществлять посредством применения жидкой суспензии кристаллического или аморфного материала, имеющего плохую растворимость в воде. Скорость абсорбции лекарственного средства зависит от скорости его растворения, которая в свою очередь может зависеть от размера кристалла и кристаллической формы. Альтернативно, замедленное всасывание парентерально вводимой лекарственной формы осуществляют путем растворения или суспендирования лекарственного средства в масляном носителе.

Инъекционные депо-формы получают путем формирования микрокапсулированных матриц рассматриваемых соединений в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения лекарственного средства и полимера и природы конкретного используемого полимера скорость высвобождения лекарства можно контролировать. Примеры других биологически разлагаемых полимеров включают в себя сложные поли(ортоэфир) и поли(ангидриды). Депо-инъекционные составы также готовят путем заключения лекарственного средства в липосомы или микроэмульсии, которые совместимы с тканями организма.

Для использования в способах этого изобретения активные соединения могут быть даны сами по себе или в виде фармацевтической композиции, содержащей, например, от 0,1 до около 99,5% (более предпочтительно от около 0,5 до около 90,0%) активного ингредиента в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение по настоящему изобретению вводят совместно с одним или более дополнительными соединениями/агентами.

В некоторых таких вариантах осуществления совместное введение является одновременным. В некоторых таких вариантах осуществления соединения по настоящему изобретению комбинируют с одним или более дополнительными соединениями. В некоторых других таких вариантах осуществления соединения по изобретению вводят отдельно, но одновременно с одним или более дополнительными соединениями. В некоторых таких вариантах осуществления совместное введение является

последовательным, причем введение соединения по изобретению предшествует или следует за введением одного или более дополнительных соединений в течение минут или часов.

Способы введения соединения по настоящему изобретению также могут обеспечиваться перезаряжаемыми или биоразлагаемыми устройствами. В последние годы были разработаны и испытаны *in vivo* различные полимерные устройства с медленным высвобождением для контролируемой доставки лекарств, включая белковые биофармацевтические препараты. Различные биосовместимые полимеры (включая гидрогели), включая как биоразлагаемые, так и неразлагаемые полимеры, могут быть использованы для формирования имплантата для замедленного высвобождения соединения в конкретном целевом месте.

Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в фармацевтических композициях можно варьировать, чтобы получить количество активного ингредиента, которое эффективно для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, без токсического эффекта для пациента.

Выбранный уровень дозировки будет зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, конъюгата или комбинации соединений и/или конъюгатов, либо их сложного эфира, соли или амида, путь введения, время введения, скорость выведения конкретных используемых соединений, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, используемые в комбинации с применяемыми конкретными соединениями, возраст, пол, вес, состояние, общее состояние здоровья и предшествующую историю болезни пациента, которого лечат, и подобные факторы, хорошо известные в данной области медицины.

Врач или ветеринар, имеющий обычные навыки в данной области техники, может легко определять и назначать терапевтически эффективное количество требуемой фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринар может начинать прием доз фармацевтической композиции или соединения с уровней ниже, чем требуется для достижения желаемого терапевтического эффекта, и постепенно увеличивать дозировку до тех пор, пока не будет достигнут желаемый эффект. «Терапевтически эффективное количество» означает концентрацию соединения, которая является достаточной для достижения желаемого терапевтического эффекта. Обычно считается, что эффективное количество соединения будет варьироваться в зависимости от веса, пола, возраста и истории болезни субъекта. Другие факторы, которые влияют на эффективное количество, могут включать в себя без ограничения тяжесть состояния пациента, расстройство, которое лечат, стабильность соединения и, если желательно, другой тип терапевтического средства, вводимого с соединением по изобретению. Большая общая доза может быть доставлена путем многократного введения агента. Способы определения эффективности и дозировки известны специалистам в данной области техники (Isselbacher et al. (1996) Harrison's Principles of Internal Medicine 13 ed., 1814-1882, включенный в настоящий

документ посредством ссылки).

В общем, подходящая суточная доза активного соединения, используемого в композициях и способах по изобретению, будет представлять собой такое количество соединения, которое является самой низкой дозой, эффективной для получения терапевтического эффекта. Такая эффективная доза обычно будет зависеть от описанных выше факторов.

При желании эффективную суточную дозу активного соединения или конъюгата можно вводить в виде одной, двух, трех, четырех, пяти, шести или более частей дозы, вводимых отдельно с соответствующими интервалами в течение дня, необязательно в единичных дозированных формах. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения активное соединение может вводиться два или три раза в день. В предпочтительных вариантах осуществления активное соединение будет вводиться один раз в день.

Пациентом, получающим такое лечение, является любое нуждающееся животное, включая приматов, в частности людей; и другие млекопитающие, такие как лошади, крупный рогатый скот, свиньи и овцы; и домашние животные в целом.

В определенных вариантах осуществления соединения или конъюгаты, описанные в данном документе, могут использоваться отдельно или совместно с другим типом терапевтического агента. Используемое в настоящем документе выражение «совместное введение» относится к любой форме введения двух или более различных терапевтических соединений или конъюгатов таким образом, что второе соединение или конъюгат вводят в то время как ранее введенное терапевтическое соединение или конъюгат все еще действует в организме (*например*, два соединения или конъюгата являются одновременно эффективными у пациента, что может включать в себя синергетическое действие двух соединений или конъюгатов). Например, различные терапевтические соединения или конъюгаты могут вводиться либо в одном и том же составе, либо в отдельных составах, одновременно или последовательно. В определенных вариантах осуществления различные терапевтические соединения или конъюгаты могут вводиться в течение одного часа, 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 72 часов, недели или более после введения другого. Таким образом, индивидуум, который получает такое лечение, может получить пользу от комбинированного действия различных терапевтических соединений или конъюгатов.

Данное изобретение включает в себя использование фармацевтически приемлемых солей соединений или конъюгатов, раскрытых в настоящем документе. В определенных вариантах осуществления предполагаемые соли по изобретению включают в себя без ограничения соли алкила, диалкила, триалкила или тетраалкиламмония. В определенных вариантах осуществления предполагаемые соли по изобретению включают в себя без ограничения L-аргинин, бенентамин, бензатин, бетаин, гидроксид кальция, холин, динол, диэтаноламин, диэтиламин, 2-(диэтиламино)этанол, этаноламин, этилендиамин, N-метилглюкамин, гидрабамин, 1H-имидазол, литий, L-лизин, магний, 4-(2-

гидроксиэтил)морфолин, пиперазин, калий, 1-(2-гидроксиэтил)пирролидин, натрий, триэтаноламин, трометамин и соли цинка. В определенных вариантах осуществления предполагаемые соли по изобретению включают в себя без ограничения соли Na, Ca, K, Mg, Zn или других металлов.

Фармацевтически приемлемые соли присоединения кислот также могут существовать в виде различных сольватов, таких как вода, метанол, этанол, диметилформамид и тому подобное. Могут быть также получены смеси таких сольватов. Источником такого сольвата может быть растворитель кристаллизации, принадлежащий к растворителю для получения или кристаллизации или случайный для такого растворителя.

В композициях также могут присутствовать увлажняющие агенты, эмульгаторы и смазывающие вещества, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также красители, антиадгезивные агенты, покрытия, подсластители, вкусовые добавки и ароматизаторы, консерванты и антиоксиданты.

Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают в себя: (1) водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и тому подобное; (2) маслорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол (ВНА), бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и тому подобное; и (3) металлохелатирующие агенты, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и тому подобное.

Примеры

Теперь изобретение, в целом описываемое, будет более легко понято со ссылкой на следующие примеры, которые включены только в целях иллюстрации определенных аспектов и вариантов осуществления настоящего изобретения и не предназначены для ограничения изобретения.

Протоколы синтеза

Аббревиатуры

AcO : ацетил

AcOH : уксусная кислота

ЭА : этилацетат

ДХМ : дихлорметан

m-CPBA : метахлорпероксибензойная кислота

TBDMSOTf : трет-бутилдиметилсилилтрифлат

TBDMS : трет-бутилдиметилсилил

ДМФА : диметилформамид

ЭДКИ : 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид

NOBt : 1-гидроксибензотриазола гидрат

ACN : ацетонитрил

- TBDMS-Cl : трет-бутилдиметилсилилхлорид
 DBU : 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен
 ТГФ : тетрагидрофуран
 DCC : N, N'-дициклогексилкарбодиимид
 ДМАП : 4-диметиламинопиридин
 NHS : N-гидроксисукцинимид
 ДИПЭА : диизопропилэтиламин
 ТЭА : триэтиламин
 ДЭАД : диэтилазодикарбоксилат
 Вос : трет-бутилоксикарбонил
 ЛАН : литийалюминийгидрид
 КДИ : 1,1'-карбонилдиимидазол
 ВЕМР : 2-трет-бутилимино-2-диэтиламино-1,3-диметилпергидро-1,3,2-
 диазафосфорин
 TPSCl : трифенилхлоросилан
 tfa : трифторацетил
 PyVor : бензотриазол-1-ил-окситрипирролидинофосфонийгексафторфосфат
 HBTU : N, N, N',N'-тетраметил-О-(1Н-бензотриазол-1-ил)урония гексафторфосфат
 ТФУ : трифторуксусная кислота
 DIC : N, N'-диизопропилкарбодиимид
 DMPA : 2,2-диметокси-2-фенилацетофенон
 ТБАФ : Тетра-н-бутиламмонийфторид
 AgOTf : Трифторметансульфонат серебра
 (BimC4A)₃ : трикалия 5,5',5''-[2,2',2''-нитрилотрис (метилен)трис(1Н-
 бензимидазол-2,1-диил)]трипентаноат

Таблица А.

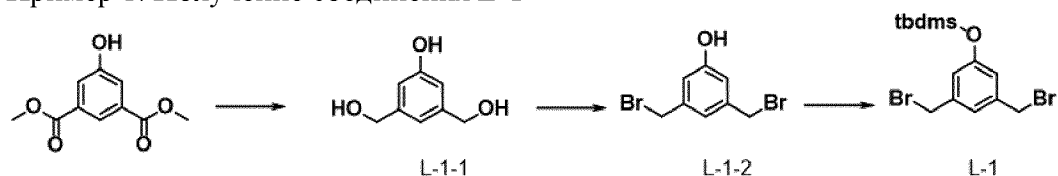
Соединение №	Структура
Соединения типа пирролобензодиазепина (ПБД)	
D-1	
D-2	

D-10	
D-11	
D-14	 R=H, OH или OMe
D-15	
D-7	
D-8	
Соединения типа тетрагидроизохинолинбензодиазепина (ТБД)	
D-3	
D-4	

D-5	
D-6	
D-9	
Ref 1	
Ref 2	

Получение линкера

Пример 1: Получение соединения L-1



Получение соединения L-1-1

К раствору диметил-5-гидроксиизофталата (5 г, 23,79 ммоль) в сухом ТГФ (300 мл) по каплям добавляли ЛАН (3,6 г, 95,15 ммоль) при -78°C в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 часов. После завершения реакции добавляли 15% раствор NaOH (4 мл), H_2O (8 мл) и ЭА (100 мл) и затем реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа. Смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-1-1 (3,02 г, 82%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 6,66 (с, 1H), 6,58 (с, 2H), 4,38 (с, 4H).

Получение соединения L-1-2

Раствор соединения L-1-1 (2 г, 12,97 ммоль) растворяли в HBr (5,0 мл, 33% в AcOH) в атмосфере N_2 . После перемешивания при 60°C в течение 18 часов реакцию гасили добавлением раствора NaHCO_3 (pH~8). Затем к реакционной смеси добавляли дистиллированную воду (50 мл) и ЭА (100 мл $\times$ 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-1-2 (2,9 г, 80%).

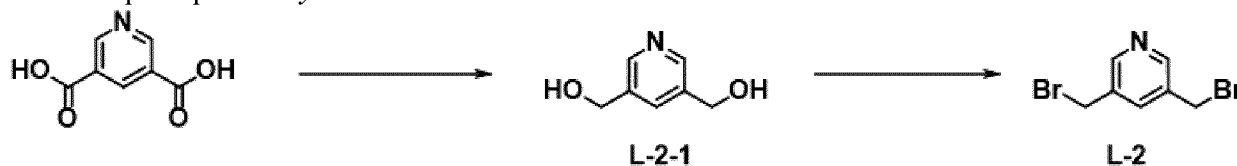
^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,99 (с, 1H), 6,81 (с, 2H), 4,85 (с, 2H), 4,41 (с, 2H).

Получение соединения L-1

К раствору соединения L-1-2 (100 мг, 0,36 ммоль) в сухом ДХМ (3 мл) добавляли имидазол (27 мг, 0,39 ммоль) и TBDMS-Cl (59 мг, 0,39 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 16 часов к реакционной смеси добавляли дистиллированную воду (50 мл) и ЭА (100 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-1 (110 мг, 79%).

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,00 (с, 1H), 6,80 (с, 2H), 4,41 (с, 4H), 0,99 (с, 9H), 0,21 (с, 6H).

Пример 2: Получение соединения L-2



Получение соединения L-2-1

К раствору 3,5-пиридиндикарбоновой кислоты (1,0 г, 5,98 ммоль) в безводном ТГФ (50 мл) при $0^\circ C$ в атмосфере N_2 добавляли комплекс трифторида бора и тетрагидрофурана (30,0 мл, 30,0 ммоль, 1М ТГФ). Реакционную смесь оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 18 часов. Смесь гасили 2N HCl до pH 2 и экстрагировали дистиллированной водой (20 мл) и ЭА (50 мл $\times$ 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали препаративной ТСХ с получением соединения L-2-1 (363 мг, 48%).

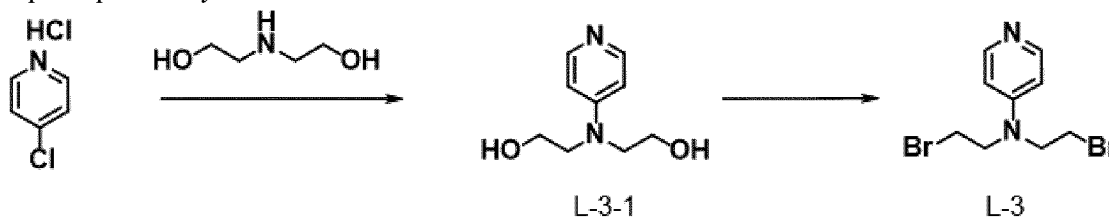
1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ 8,38 (с, 2H), 7,99 (с, 1H), 5,59 (т, $J=4,0$ Гц, 2H), 4,61 (д, $J=5,2$ Гц, 2H).

Получение соединения L-2

Смесь L-2-1 (100 мг, 0,72 ммоль) и HBr (1,5 мл, 48% в AcOH) перемешивали при $120^\circ C$ в течение 3 часов. Реакцию гасили раствором $NaHCO_3$ до pH~8. К ней добавляли дистиллированную воду (20 мл) и ЭА (50 мл $\times$ 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали препаративной ТСХ с получением соединения L-2 (123,5 мг, 65%).

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,56 (с, 2H), 7,77 (с, 1H), 4,47 (с, 2H).

Пример 3: Получение соединения L-3



Получение соединения L-3-1

Раствор 4-хлорпиридин гидрохлорида (1,0 г, 6,67 ммоль) и диэтаноламина (1,05 г,

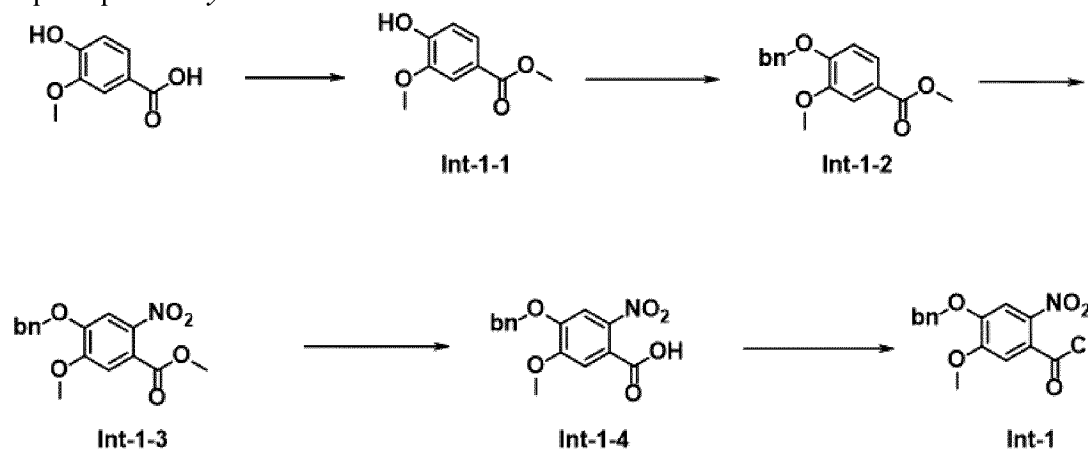
10,00 ммоль) в H_2O (12 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали NaOH (1,07 г, 26,67 ммоль) и нагревали до 110°C в течение 1 часа в микроволновом реакторе. После этого реакцию гасили дистиллированной водой (18 мл)/метанолом (10 мл) и экстрагировали ЭА (200 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-3-1 (160 мг, 13%).

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,10 (д, $J=5,6$ Гц, 2H), 6,83 (д, $J=6,0$ Гц, 2H), 4,91 (уш с, 2H), 3,57 (с, 8H). ЭИ-МС m/z : 183 (M^++1).

Получение соединения L-3

Смесь соединения L-3-1 (10 мг, 0,05 ммоль) и HBr (2,0 мл, 48% в H_2O) вводили в реакцию в микроволновой печи при 150°C в течение 3 часов. После того как смесь концентрировали при пониженном давлении, соединение L-3 использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки (20 мг). ЭИ-МС m/z : 309 (M^++1).

Пример 4: Получение соединения Int-1



Получение соединения Int-1-1

К раствору ванилиновой кислоты (50,0 г, 0,30 моль) в MeOH (700 мл) по каплям добавляли SOCl_2 (207 мл, 2,85 моль) и перемешивали при 0°C в атмосфере N_2 . Реакционную смесь оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь концентрировали при пониженном давлении, а pH доводили до 7-8. Смесь экстрагировали дистиллированной водой (100 мл) и ЭА (200 мл $\times$ 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения Int-1-1 (54,2 г, колич.).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,64 (дд, $J=6,4, 1,6$ Гц, 1H), 7,55 (с, 1H), 6,94 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 3,95 (с, 3H), 3,89 (с, 3H).

Получение соединения Int-1-2

К раствору соединения Int-1-1 (54,2 г, 0,30 моль) в ДМФА (200 мл) добавляли K_2CO_3 (61,6 г, 0,45 моль) и бензилбромид (39,0 мл, 0,33 моль) в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 6 часов при 100°C смесь охлаждали до комнатной температуры

и разбавляли дистиллированной водой (100 мл) и ЭА (200 мл × 2). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения Int-1-2 (79,8 г, 98%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,60 (дд, J=6,4, 2,0 Гц, 1H), 7,56 (д, J=2,0 Гц, 1H), 7,44-7,31 (м, 5H), 6,89 (д, J=8,4 Гц, 1H), 5,22 (с, 2H), 3,94 (с, 3H), 3,88 (с, 3H).

Получение соединения Int-1-3

К раствору соединения Int-1-2 (79,8 г, 0,29 моль) в уксусном ангидриде (550 мл) в атмосфере N₂ при 0°C добавляли полу-(пентагидрат) нитрата меди (II) (75,0 г, 0,32 моль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 6 часов, реакцию гасили ледяной водой (800 мл), и твердое вещество выпадало в осадок. Твердое вещество фильтровали и промывали дистиллированной водой (100 мл) и гексаном (200 мл × 2) с получением соединения Int-1-3 (85,5 г, 92%).

$$^1\text{H ЯМР (400 МГц, CDCl}_3) \delta 7,52 (\text{с, 1H}), 7,45\text{--}7,35 (\text{м, 5H}), 7,08 (\text{с, 1H}), 5,22 (\text{с, 2H}), 3,98 (\text{с, 3H}), 3,91 (\text{с, 3H}).$$

Получение соединения Int-1-4

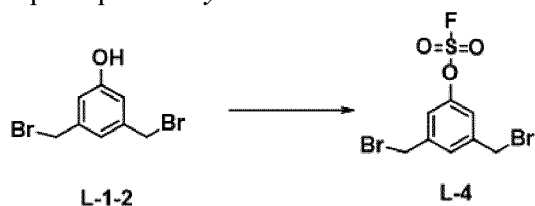
К раствору соединения Int-1-3 (85,5 г, 0,27 моль) в ТГФ (800 мл) и MeOH (300 мл) добавляли 2N NaOH (404 мл, 0,81 моль). После перемешивания в течение 5 часов при 65°C реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и доводили до pH 2 добавлением раствора 2N HCl, а затем экстрагировали дистиллированной водой (100 мл) и ЭА (300 мл X 2). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Твердое вещество собирали и промывали гексаном с получением соединения Int-1-4 (79,2 г, 97%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 7,69 (с, 1H), 7,47-7,35 (м, 5H), 7,03 (с, 1H), 5,24 (с, 2H), 3,91 (с, 3H).

Получение соединения Int-1

К раствору соединения Int-1-4 (100 мг, 0,33 ммоль) в безводном ТГФ (500 мкл) и безводном ДХМ (1,5 мл) медленно по каплям добавляли оксалилхлорид (42,4 мкл) и добавляли 1 каплю ДМФА при 0°C в атмосфере N₂. После перемешивания в течение 30 минут реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Соединение Int-1 использовали непосредственно на следующей стадии без дальнейшей очистки.

Пример 5: Получение соединения L-4

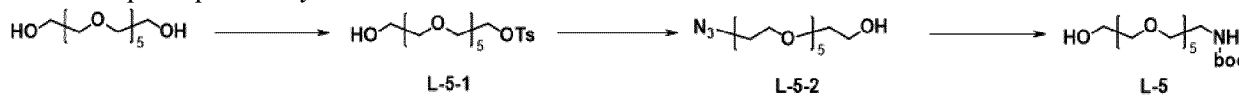


К раствору соединения L-1-2 (1,0 г, 3,57 ммоль) в ДХМ (35 мл) добавляли ТЭА (0,45 мл, 3,21 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N₂. Газ SO₂F₂ вводили через баллон и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем

смесь промывали ДХМ (50 мл) и добавляли воду (30 мл). Органический слой промывали водным раствором NaHCO_3 , сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-4 (941,7 мг, 73%).

^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 7,47 (с, 1H), 7,32 (с, 2H), 4,46 (с, 4H).

Пример 6: Получение соединения L-5



Получение соединения L-5-1

К раствору гексаэтиленгликоля (5,0 г, 17,71 ммоль) в безводном ДХМ (178 мл) добавляли KI (294 мг, 1,77 ммоль) и Ag_2O (4,92 г, 19,48 ммоль) в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. После завершения реакции смесь фильтровали через целит и промывали ДХМ (100 мл). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-5-1 (5,98 г, 73%).

^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 7,80 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,35 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 4,16 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 3,71-3,58 (м, 22H), 2,88 (уш, 1H), 2,45 (с, 3H).

Получение соединения L-5-2

К раствору соединения L-5-1 (5,98 г, 13,7 ммоль) в ДМФА (30 мл) добавляли NaN_3 (1,34 г, 20,55 ммоль) в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали при 110 °С в течение 1 часа и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-5-2 (4,1 г, 97%).

^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 3,72-3,60 (м, 22H), 3,39 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 2,78 (уш, 1H).

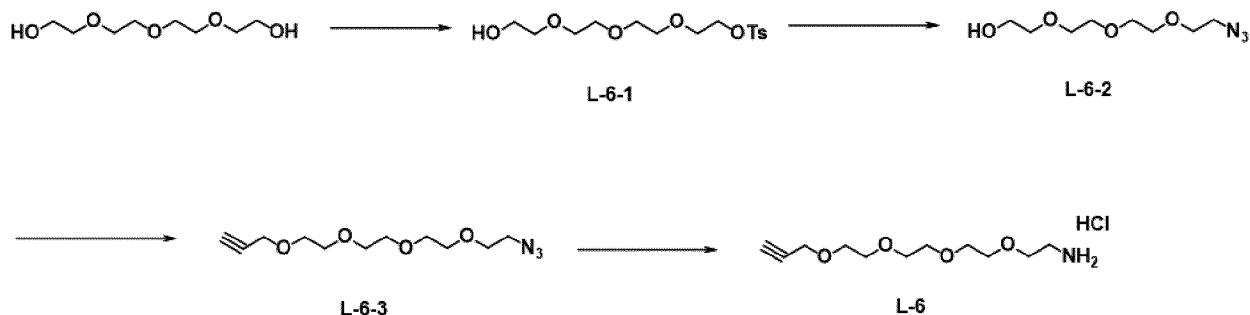
Получение соединения L-5

5% Pd/C (1,04 г, 0,49 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору L-5-2 (1,0 г, 3,25 ммоль) в EtOH (5 мл) при комнатной температуре. Газообразный водород барботировали через реакционную смесь в течение 4 часов. Смесь фильтровали через целит для удаления Pd/C и концентрировали при пониженном давлении. После того как остаток растворяли в ДХМ (25 мл), к нему добавляли BOC_2O (852,1 мг, 3,9 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-5 (330 мг, 28%).

^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 5,19 (уш с, 1H), 3,73 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 3,67 (с, 12H), 3,63-3,60 (м, 6H), 3,54 (т, $J=5,2$ Гц, 2H), 3,34-3,27 (м, 1H), 1,44 (с, 9H).

ЭИ-МС m/z : 382 (M^++1).

Пример 7: Получение соединения L-6



Соединение L-6 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry, 2012, 50(19), 3986-3995, включенном в настоящий документ посредством ссылки.

Получение соединения L-6-1

Выход 30%

^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 7,80 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,34 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 4,16 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 3,74-3,58 (м, 14H), 2,45 (с, 3H).

Получение соединения L-6-2

Выход 68%

^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 3,74-3,61 (м, 14H), 3,40 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 2,45 (т, $J=6,0$ Гц, 2H).

Получение соединения L-6-3

Выход 63%

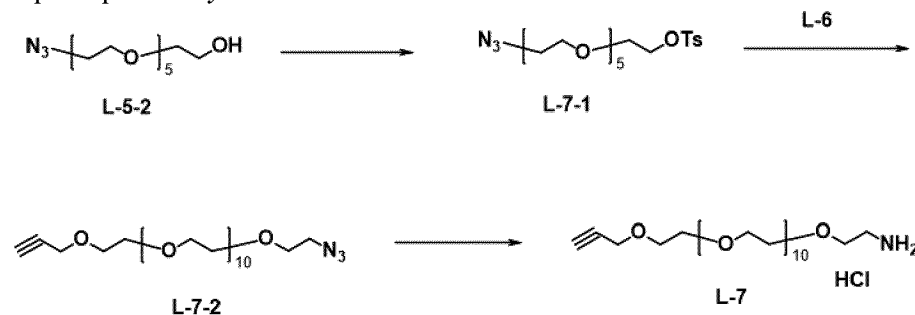
^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 4,21 (д, $J=2,4$ Гц, 2H), 3,72-3,67 (м, 14H), 3,39 (т, $J=5,2$ Гц, 2H), 2,43 (т, $J=2,4$ Гц, 1H).

Получение соединения L-6

Выход 76%

^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 4,20 (д, $J=2,4$ Гц, 2H), 3,71-3,61 (м, 12H), 3,51 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 2,87 (т, $J=5,6$ Гц, 2H), 2,43 (т, $J=2,4$ Гц, 1H).

Пример 8: Получение соединения L-7



Получение соединения L-7-1

Соединение L-5-2 (1,9 г, 6,18 ммоль) растворяли в ДХМ (20 мл) в атмосфере N_2 . К нему добавляли триэтиламин (2,0 мл, 14,22 ммоль) и p -TsCl (2,4 г, 12,36 ммоль) и смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. После завершения реакции смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-7-1 (2,58 г, 91%).

^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 7,80 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,35 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 4,16 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 3,70-3,61 (м, 16H), 3,56 (с, 1H), 3,39 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 2,45 (с, 3H).

ЭИ-МС m/z : 462 ($M^+ + 1$).

Получение соединения L-7-2

Гомогенный раствор L-6 (1,1 г, 3,4 ммоль) в безводном ТГФ (30 мл) в атмосфере N_2 обрабатывали NaH (60% дисперсия в минеральном масле, 135 мг, 3,4 ммоль) и охлаждали до 0°C . После того как смесь перемешивали при 0°C в течение 20 минут, к ней добавляли L-7-1 (1,56 г, 3,4 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи.

Реакционную смесь оставляли остыть, гасили MeOH (5 мл) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-7-2 (1,91 г, 93%).

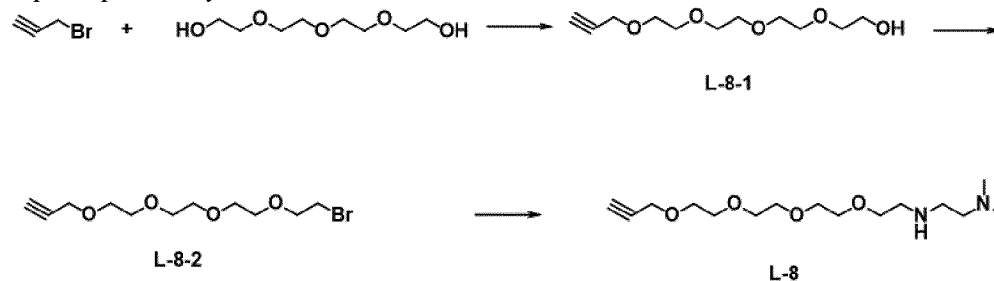
ЭИ-МС m/z : 610 ($M^+ + 1$).

Получение соединения L-7

При 0°C к раствору соединения L-7-2 (906,7 мг, 1,49 ммоль) в ЭА (4 мл) и эфире (4 мл) в атмосфере N_2 медленно добавляли 5% раствор HCl (8 мл) и трифенилфосфин (390 мг, 1,49 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение ночи. Смесь разбавляли ДХМ (10 мл). Водный слой экстрагировали ДХМ (10 мл $\times$ 3). Водную фазу концентрировали под высоким вакуумом с получением соединения L-7 (495 мг, 54%).

ЭИ-МС m/z : 584 ($M^+ + 1$).

Пример 9: Получение соединения L-8



Получение соединения L-8-1

При -20°C в атмосфере N_2 к раствору KOtBu (943 мг, 8,41 ммоль) в сухом ТГФ (50 мл) добавляли тетраэтиленгликоль (4,35 мл, 25,22 ммоль) с последующим добавлением пропаргилбромид (1,0 г, 8,41 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 17 часов. Реакцию гасили добавлением MeOH (1 мл) и H_2O (50 мл) с охлаждением на ледяной бане и экстрагировали ЭА (100 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-8-1 (1,46 г, 75%).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,26-4,20 (м, 2H), 3,78-3,60 (м, 16H), 2,42-2,40 (м, 1H).

Получение соединения L-8-2

К раствору CBr_4 (1,43 г, 4,31 ммоль) в сухом ДХМ (20 мл), охлажденном на ледяной бане, добавляли трифенилфосфин (1,13 г, 4,31 ммоль) с последующим

добавлением L-8-1 (500 мг, 2,15 ммоль). Смесь оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 18 часов. Реакционную смесь разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали ДХМ (100 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-8-2 (410 мг, 65%).

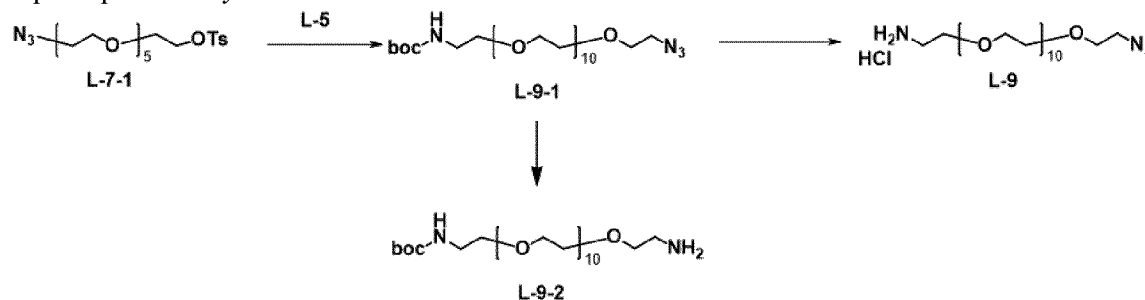
^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 4,21 (с, 2H), 3,82 (т, $J=6,4$ Гц, 2H), 3,74-3,64 (м, 12H), 3,45 (т, $J=6,4$ Гц, 2H), 2,45-2,42 (м, 1H).

Получение соединения L-8

К раствору соединения L-8-2 (300 мг, 1,02 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли N, N-диметилендиамин (555 мкл, 5,08 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. После завершения реакции смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-8 (218 мг, 71%).

ЭИ-МС m/z : 303 (M^{+1}).

Пример 10: Получение соединения L-9



Получение соединения L-9-1

При 0°C в атмосфере N_2 к раствору L-5 (450 мг, 1,18 ммоль) в безводном ТГФ (10 мл) добавляли NaN (60% дисперсия в минеральном масле, 47,2 мг, 1,18 ммоль) с последующим добавлением L-7-1 (544,5 мг, 1,18 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи, а затем охлаждали на ледяной бане и по каплям добавляли MeOH (5 мл). После того как смесь концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения L-9-1 (582,9 мг, 74%).

ЭИ-МС m/z : 671 (M^{+1}).

Получение соединения L-9-2

Мутный раствор L-9-1 (112,3 мг, 0,17 ммоль) в эфире (1,5 мл), ТГФ (3,0 мл) и H_2O (1,5 мл) при 0°C в атмосфере N_2 обрабатывали трифенилфосфином (44 мг, 0,17 ммоль, 1,0 экв.) и перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали ДХМ (100 мл $\times$ 3). Водный слой концентрировали при пониженном давлении с получением соединения L-9-2 (107 мг, колич.) в виде бесцветного масла.

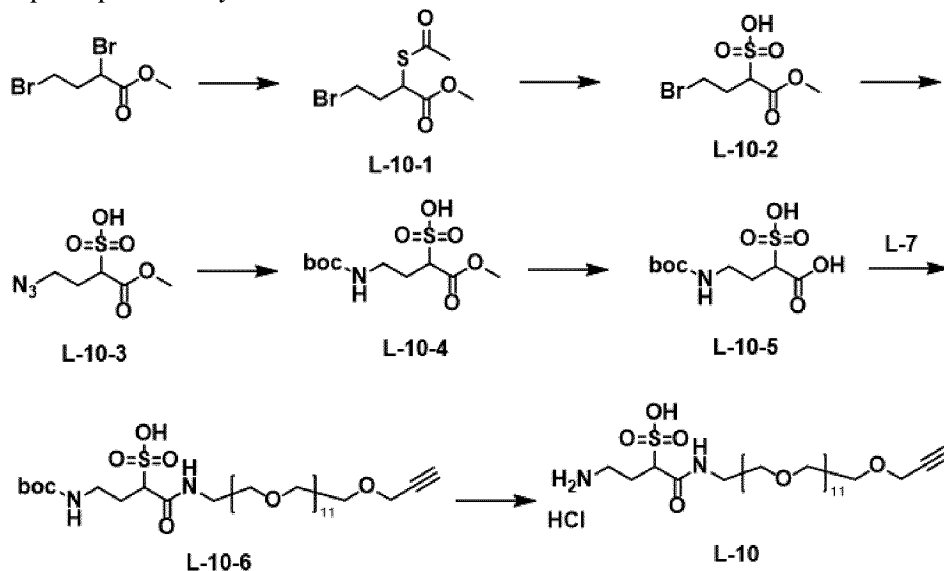
ЭИ-МС m/z : 645 (M^{+1}).

Получение соединения L-9

К раствору соединения L-9-1 (582,9 мг, 0,87 ммоль) в ДХМ (3 мл) добавляли 4М-НCl (в 1,4-диоксане, 1 мл) при 0°C в атмосфере N₂. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь концентрировали с получением соединения L-9 (527,6 мг, колич.).

ЭИ-МС m/z: 571 (M⁺+1)

Пример 11: Получение соединения L-10



Получение соединения L-10-1

К гомогенному раствору метил 2,4-дибромбутирата (10 г, 38,47 ммоль) в сухом ТГФ (100 мл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ по каплям добавляли смесь тиюксусной кислоты (2,75 мл, 38,47 ммоль, 1,0 экв.) и ДИПЭА (8,5 мл, 48,9 ммоль, 1,3 экв.) в сухом ТГФ (50 мл) в течение 1,5 часов. После перемешивания в течение 4 часов при -20°C в атмосфере N₂ смесь концентрировали, разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали ЭА (200 мл × 3). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Нex:ЭА=12:1) с получением соединения L-10-1 (9,67 г, 98%) в виде твердого вещества белого цвета.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ 4,38 (т, J=7,6 Гц, 1H), 3,46-3,39 (м, 2H), 2,56-2,47 (м, 1H), 2,36 (с, 3H), 2,32-2,23 (м, 1H).

Получение соединения L-10-2

К L-10-1 (9,67 г, 37,90 ммоль) в AcOH (80 мл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ добавляли 35% перекись водорода (40 мл). Смесь перемешивали в течение ночи, затем концентрировали, разбавляли водой (20 мл), нейтрализовали NaHCO₃ и промывали ЭА/Нex (1/1, 30 мл X 2). Водный слой концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (ДХМ: MeOH: AcOH=8: 1: 0,01-5: 1: 0,01) с получением соединения L-10-2 (7,0 г, 71%) в виде твердого вещества белого цвета.

¹H ЯМР (600 МГц, D₂O) δ 4,11 (дд, J=5,4, 4,8 Гц, 1H), 3,82 (с, 3H), 3,65-3,62 (м, 1H), 3,52-3,47(м, 1H), 2,62-2,48 (м, 2H).

Получение соединения L-10-3

К раствору L-10-2 (7,0 г, 26,81 ммоль) в ДМФА (20 мл) добавляли NaN_3 (4,5 г, 69,71 ммоль, 2,6 экв.) в атмосфере N_2 и смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. После завершения реакции смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (ДХМ: MeOH : AcOH =7: 1: 0,01-5: 1: 0,01) с получением соединения L-10-3 (5,4 г, 90%) в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (600 МГц, D_2O) δ 3,82 (дд, $J=4,2, 6,0$ Гц, 1H), 3,63 (с, 3H), 3,36-3,26 (м, 2H), 2,29-2,02 (м, 2H).

Получение соединения L-10-4

В круглодонную колбу объемом 50 мл добавляли L-10-3 (500 мг, 2,24 ммоль), 10 мл MeOH , 5% Pd/C (715 мг, 0,34 ммоль, 0,15 экв.) и Woc_2O (538 мг, 2,46 ммоль, 1,1 экв.). После откачки воздуха смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере H_2 в течение 15 часов. Катализатор фильтровали через целит, а целит промывали MeOH (20 мл x 2). Растворитель удаляли с помощью ротационного испарителя, а остаток очищали колоночной хроматографией (ДХМ: MeOH : AcOH =7: 1: 0,01-5: 1: 0,01) с получением соединения L-10-4 (450,2 мг, 68%) в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (600 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 6,79 (с, 1H), 4,13 (уш с, 1H), 3,55 (с, 3H), 2,88-2,80 (м, 2H), 1,96-1,88 (м, 2H), 1,3 6(с, 9H).

Получение соединения L-10-5

Гомогенный раствор L-10-4 (100 мг, 0,34 ммоль) в ТГФ/воде (4 мл/8 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали LiOH (21,2 мг, 0,50 ммоль, 1,5 экв.) и перемешивали в течение 8 часов. Реакционную смесь нейтрализовали раствором 2N HCl и концентрировали при пониженном давлении. Соединение L-10-5 использовали непосредственно на следующей стадии без дальнейшей очистки.

ЭИ-МС m/z : 284 (M^++1).

Получение соединения L-10-6

Гомогенный раствор L-10-5 (0,34 ммоль), N-гидроксисукцинимид (77,4 мг, 0,67 ммоль, 2,0 экв) и ЭДКИ- HCl (260,7 мг, 1,36 ммоль, 4,0 экв.) в ДМФА (2 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 перемешивали в течение ночи. Смесь обрабатывали L-7 (210,8 мг, 0,34 ммоль, 1,0 экв.), ДИПЭА (177,6 мкл, 1,02 ммоль, 3,0 экв.) и перемешивали в течение ночи. Реакцию концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (ДХМ: MeOH : AcOH =12: 1: 0,01-5: 1: 0,01) с получением соединения L-10-6 (159,1 мг, 55%) в виде масла желтого цвета.

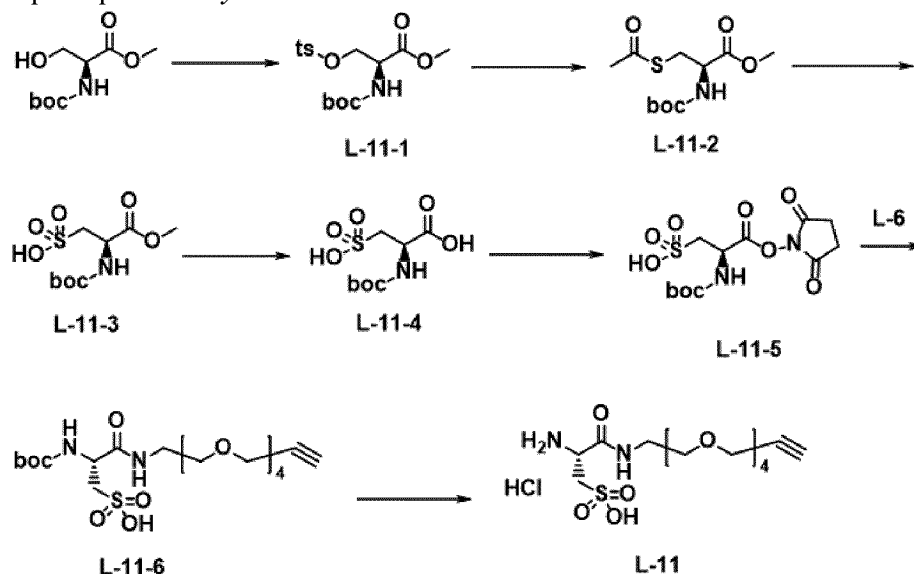
ЭИ-МС m/z : 850 (M^++1).

Получение соединения L-10

Гомогенный раствор L-10-6 (100 мг, 0,12 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали с- HCl (500 мкл) и перемешивали в течение 30 минут. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением соединения L-10 (92 мг, 99%) в виде масла желтого цвета.

ЭИ-МС m/z : 749 ($M^+ + 1$).

Пример 12: Получение соединения L-11



Получение соединения L-11-1

Гомогенный раствор метилового сложного эфира Вос-L-серина (5,0 г, 22,8 ммоль) в ДХМ (30 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали пиридином (8 мл), Р-толуолсульфонилхлоридом (5,22 г, 27,4 ммоль, 1,2 экв.) и перемешивали в течение ночи. Реакцию гасили добавлением воды (50 мл) и экстрагировали ЕА (100 мл $\times$ 3). Объединенный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Гекс:ЭА=9:1-2:1) с получением соединения L-11-1 (7,0 г, 82%) в виде твердого вещества белого цвета.

1H ЯМР (600 МГц, $CDCl_3$) δ 7,76 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,35 (д, $J=7,8$ Гц, 2H), 5,29 (с, 1H), 4,53-4,47 (м, 1H), 4,39 (дд, $J=2,4, 7,8$ Гц, 1H), 4,29 (д, $J=7,2, 2,4$ Гц, 1H), 3,69 (с, 3H), 2,45 (с, 3H).

Получение соединения L-11-2

Суспензию $CsCO_3$ (1,05 г, 3,21 ммоль, 0,6 экв.) в ДМФА (12 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали тиоуксусной кислотой (498 мкл, 6,96 ммоль, 1,3 экв.) и L-11-1 (2,0 г, 5,36 ммоль) в ДМФА (8 мл) и перемешивали в течение ночи. Смесь гасили добавлением воды (50 мл) и экстрагировали ЭА (100 мл $\times$ 3). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Гекс:ЭА=5:1) с получением соединения L-11-2 (1,4 г, 95%) в виде твердого вещества белого цвета.

1H ЯМР (600 МГц, $CDCl_3$) δ 5,24 (с, 1H), 4,53-4,49 (м, 1H), 3,75 (с, 3H), 2,45 (с, 3H), 4,41-4,31 (м, 2H).

Получение соединения L-11-3

К L-11-2 (1,2 г, 4,33 ммоль) в $AcOH$ (10 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 добавляли 35% перекись водорода (4 мл). Смесь перемешивали в течение 7 часов, затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток разбавляли водой (5

мл) и подщелачивали насыщенным водным раствором NaHCO_3 при 0°C до pH 9. Добавляли Woc_2O (1,4 г, 6,49 ммоль, 1,5 экв.) и полученную смесь перемешивали в течение ночи. Смесь нейтрализовали 2N HCl при 0°C и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (ДХМ: MeOH : AcOH =8: 1: 0,01-5: 1: 0,01) с получением соединения L-11-3 (521,5 мг, 42%) в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 6,96 (д, $J=7,2$ Гц, 1H), 4,20 (к, $J=6,8, 4,8$ Гц, 1H), 3,58 (с, 3H), 2,84 (дд, $J=14, 6,4$ Гц, 1H), 2,76 (дд, $J=9,2, 4,4$ Гц, 1H), 1,37 (с, 9H).

Получение соединения L-11-4

Гомогенный раствор L-11-3 (71 мг, 0,25 ммоль) в ТГФ/ H_2O (2,0 мл/4,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали LiOH (17,3 мг, 0,41, 1,5 экв.) и перемешивали в течение 3 часов. Смесь нейтрализовали 2N HCl при 0°C и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения L-11-4 (67 мг, 99%) в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 6,40 (д, $J=7,2$ Гц, 1H), 3,96 (к, $J=6,4, 5,6$ Гц, 1H), 2,88-2,78 (н, 2H), 1,36 (с, 9H).

Получение соединения L-11-5

L-11-4 (35 мг, 0,13 ммоль), N-гидроксисукцинимид (22,4 мг, 0,19 ммоль, 1,5 экв.) и ЭДКИ- HCl (50 мг, 0,26 ммоль, 2,0 экв.) растворяли в ДМФА (2 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После того как смесь перемешивали в течение ночи, соединение L-11-5 использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЭИ-МС m/z : 367 (M^++1).

Получение соединения L-11-6

К перемешиваемому раствору L-11-5 (0,13 ммоль) в ДМФА (2 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 добавляли N-гидроксисукцинимид (22,4 мг, 0,19 ммоль, 1,5 экв.) и ЭДКИ- HCl (50 мг, 0,26 ммоль, 2,0 экв.). Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. После того как полученную смесь концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали колоночной хроматографией (ДХМ: MeOH : AcOH =12: 1: 0,01-5: 1: 0,01) с получением соединения L-11-6 (34,8 мг, 64%) в виде масла желтого цвета.

ЭИ-МС m/z : 483 (M^++1).

Получение соединения L-11

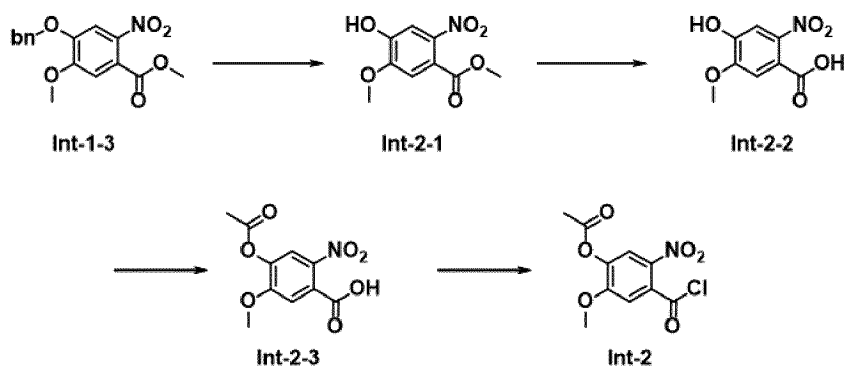
s-HCl (300 мкл) добавляли к перемешиваемому раствору L-11-6 (29,6 мг, 0,061 ммоль в 1,4-диоксане (1,2 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 и смесь перемешивали в течение 30 минут. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением соединения L-11 (25,4 мг, 99%) в виде масла желтого цвета.

ЭИ-МС m/z : 382 (M^++1).

Пример 13: *Получение соединения L-12*

CN(CCO)CCO>>CN(CBr)CCBr
L-13

Пример 15: Получение соединения Int-2



Получение соединения Int-2-1

К коричневому раствору соединения Int-1-3 (24,8 г, 78,2 ммоль) в ДХМ (500 мл) при -78°C в атмосфере N_2 добавляли 1М BCl_3 в ДХМ (93,8 мл, 93,8 ммоль, 1,2 экв.) и перемешивали в течение 3 часов. После того как реакцию гасили MeOH (100 мл), смесь оставляли нагреться до комнатной температуры, а затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ДХМ (600 мл). Полученную смесь промывали насыщенным NaHCO_3 (100 мл) и соевым раствором (100 мл), затем сушили над безводным Na_2SO_4 и фильтровали. Удаление растворителя давало Int-2-1 (17,5 г, 98%) в виде твердого вещества желтого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,47 (с, 1H), 7,14 (с, 1H), 6,03 (с, 1H), 4,02 (с, 3H), 3,90 (с, 3H).

Получение соединения Int-2-2

Коричневый раствор соединения Int-2-1 (17,5 г, 77,03 ммоль) в 1,4-диоксане (250 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали 6N NaOH (38,5 мл, 231,0 ммоль). После перемешивания в течение 5 часов при 40°C смесь оставляли охладиться до 0°C и подкисляли 2N HCl . Смесь разбавляли H_2O (150 мл) и экстрагировали ЭА (300 мл $\times$ 3). Объединенный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный осадок собирали фильтрацией, промывали гексаном и сушили в вакууме с получением соединения Int-2-2 (15,9 г, 97%) в виде твердого вещества желтого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10,6 (уш с, 1H), 7,31 (с, 1H), 7,25 (с, 1H), 3,90 (с, 3H), 3,57 (с, 3H).

Получение соединения Int-2-3

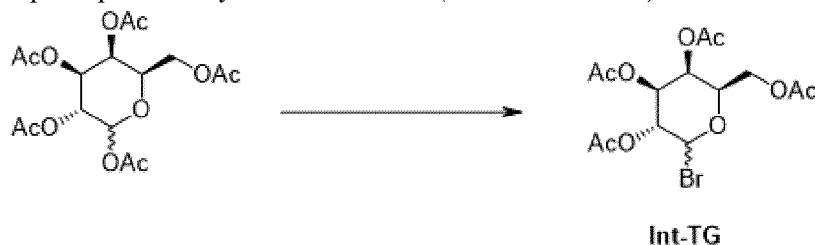
Коричневый раствор соединения Int-2-2 (15,9 г, 74,6 ммоль) в безводном ТГФ (370 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали ДМАП (1,8 г, 14,92 ммоль, 0,2 экв.), уксусным ангидридом (8,5 мл, 87,5 ммоль, 1,2 экв.) и ТЭА (15,6 мл, 111,9 ммоль, 1,5 экв.) и перемешивали в течение 6 часов. Реакционную смесь разбавляли водой (150 мл) и экстрагировали ЭА (300 мл $\times$ 2). Объединенный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения Int-2-3 (18 г, 95%) в виде твердого вещества желтого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,99 (с, 1H), 7,46 (с, 1H), 3,94 (с, 3H), 2,30 (с, 3H).

Получение соединения Int-2

Коричневый раствор соединения Int-2-3 (14,4 г, 56,43 ммоль) в безводном ТГФ (15 мл) и безводном ДХМ (40 мл) при 0°C в атмосфере N₂ обрабатывали оксалилхлоридом (7,6 мл, 84,64 ммоль, 1,5 экв.) и ДМФА (2 капли) и перемешивали в течение 6 часов. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Соединение Int-2 использовали непосредственно на следующей стадии без дальнейшей очистки.

Пример 16: Получение BGal-Br (далее «Int-TG»)



Пентаацетат β-D-галактозы (Alfa, CAS 4163-60-4, 5,0 г, 12,81 ммоль) растворяли в 33% HBr в AcOH (20 мл) при 0°C в атмосфере N₂. Смесь оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 часов. Все летучие материалы удаляли с помощью ротационного испарителя. Полученный остаток гасили насыщенным бикарбонатом натрия (1000 мл) и экстрагировали ЭА (1000 мл). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения Int-TG (5,2 г, 99%).

¹H ЯМР (400 Гц, CDCl₃) δ 6,70 (д, J=4,0 Гц, 1H), 5,52 (д, J=2,4 Гц, 1H), 5,41 (дд, J=7,6, 2,8 Гц, 1H), 5,05 (дд, J=6,4, 4,0 Гц, 1H), 4,49 (т, J=6,4 Гц, 1H), 4,22-4,09 (м, 2H), 2,16-2,01 (м, 12H).

Пример 17: Получение соединения Int-TG1 и Int-TG2

К раствору 3-формил-4-гидроксibenзойной кислоты (5 г, 43,06 ммоль) в ДМФА (100 мл) добавляли бензилбромид (5,1 мл, 43,06 ммоль) и NaHCO₃ (2,53 г, 43,06 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N₂. Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре в атмосфере N₂. Реакционную смесь разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали ЭА (200 мл × 2). Полученный органический слой сушили над безводным CaCl₂, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колонной хроматографией с получением соединения Int-TG1-1 (2,56 г, 39%).

Получение соединения Int-TG1-2

¹H ЯМР (400 Гц, CDCl₃) δ 10,34 (с, 1H), 8,55 (д, J=2,0 Гц, 1H), 8,26 (дд, J=6,8, 2,0 Гц, 1H), 7,45-7,35 (м, 5H), 7,17 (д, J=8,8 Гц, 1H), 5,63-5,60 (м, 1H), 5,50 (д, J=3,6 Гц, 1H), 5,37 (с, 2H), 5,23 (д, J=8,0 Гц, 1H), 5,16 (дд, J=7,2, 3,6 Гц, 1H) 4,24-4,10 (м, 4H), 2,20 (с, 3H), 2,10-2,03 (м, 9H).

Получение соединения Int-TG1-3

К раствору соединения Int-TG1-2 (2,1 г, 3,58 ммоль) в ДХМ (30 мл) добавляли *m*-CPBA (2,65 г, 10,74 ммоль) при 0°C в атмосфере N₂. После перемешивания в течение 7 часов при 0 °C смесь гасили добавлением насыщенного бикарбоната натрия (40 мл × 2). Смесь разделяли и органические слои промывали солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в ДХМ (5 мл), затем охлаждали на ледяной бане и добавляли гидразин-гидрат (261 мкл, 5,37 ммоль). После перемешивания при 0°C в течение 1 часа реакцию гасили 1M HCl (10 мл) и экстрагировали ЭА (30 мл × 2). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения Int-TG1-3 (1,1 г, 55%).

ЭИ-МС *m/z*: 574 (M⁺+Na)

Получение соединения Int-TG1-4

К раствору соединения Int-TG1-3 (280 мг, 0,49 ммоль) в ДХМ (5 мл) добавляли TBDMS-OTf (224 мкл, 0,97 ммоль) и Et₃N (207 мкл, 1,46 ммоль) при 0°C в атмосфере N₂. Смесь перемешивали в течение 1,5 часов при комнатной температуре, а затем гасили добавлением лимонной кислоты (20 мл). Объединенный органический слой промывали солевым раствором (20 мл) и водой (20 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения Int-TG1-4 (246,3 мг, 68%).

¹H ЯМР (400 Гц, CDCl₃) δ 7,67 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,57 (с, 1H), 7,44-7,34 (м, 5H), 7,02 (д, J=8,4 Гц, 1H), 5,49-5,44 (м, 2H), 5,30 (с, 2H), 5,19 (д, J=7,6 Гц, 1H), 5,10 (дд, J=6,8, 3,2 Гц, 1H), 4,20-4,11 (м, 2H), 4,05 (т, J=6,8 Гц, 2H), 2,19 (с, 3H), 2,04(с, 3H), 2,01 (д, J=6,0 Гц, 6H), 1,02 (с, 9H), 0,20 (д, J=15,6 Гц, 6H).

Получение соединения Int-TG1-5

Палладий на угле, 5% Pd/C (87,5 мг, 0,04 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору Int-TG1-4 (283,2 мг, 0,41 ммоль) в ЭА (5 мл) в атмосфере N₂. Колбу промывали барботированием газообразного водорода через раствор при комнатной температуре. Смесь перемешивали при той же температуре в течение 1 часа. Смесь разбавляли ЭА (30 мл), фильтровали через целит, слой целита промывали ЭА (50 мл × 2). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Соединение IntB-TG1-5 использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки (246 мг, колич).

¹H ЯМР (400 Гц, CDCl₃) δ 7,67 (д, J=8,8 Гц, 1H), 7,57 (с, 1H), 7,05 (д, J=8,4 Гц, 1H), 5,49-5,45 (м, 2H), 5,22 (д, J=7,6 Гц, 1H), 5,12 (дд, J=7,2, 3,6 Гц, 1H), 4,20-4,06 (м, 4H), 2,19 (с, 3H), 2,05(с, 3H), 2,02 (д, J=7,6 Гц, 6H), 1,01 (с, 9H), 0,21 (д, J=15,2 Гц, 6H).

Получение соединения Int-TG1

К раствору соединения Int-TG1-5 (243,2 мг, 0,41 ммоль) и 11-азидо-3,6,9-триоксаундекан-1-амин (Aldrich, CAS 134179-38-7, 89,5 мг, 0,41 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли RuBOP (275 мг, 0,53 ммоль) и ДИПЭА (176 мкл, 1,02 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N₂. Смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной

температуре в атмосфере N_2 . Реакцию дистиллированной водой (10 мл) и экстрагировали ЭА (30 мл $\times$ 2). Полученный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения Int-TG1 (272,8 мг, 84%).

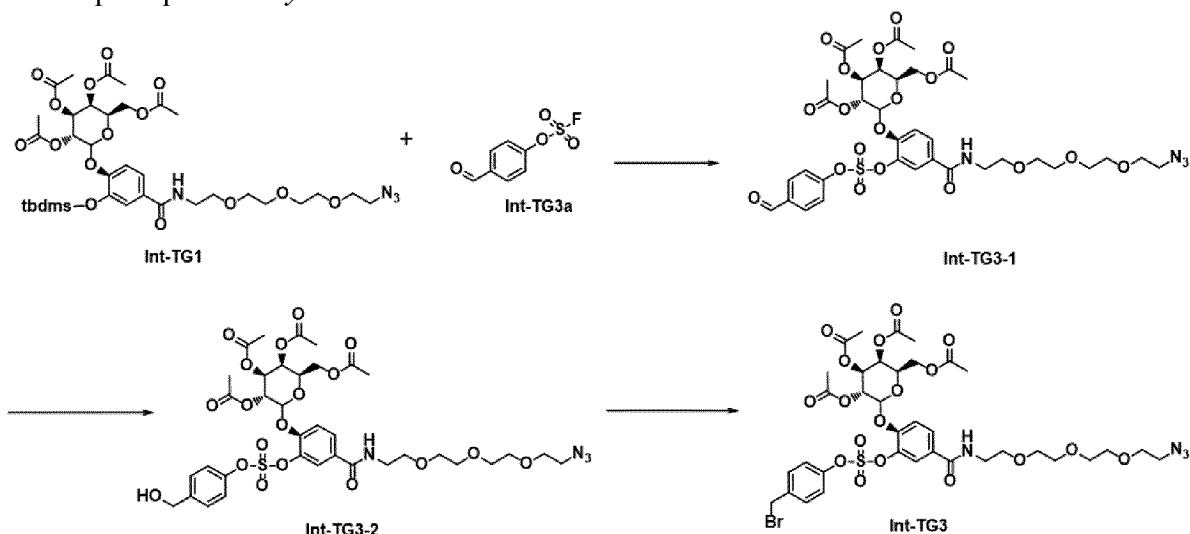
1H ЯМР (400 Гц, $CDCl_3$) δ 7,34(с, 1H), 7,31 (д, $J=9,2$ Гц, 1H), 7,02 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 6,73(с, 1H), 5,48-5,44 (м, 2H), 5,19 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,10 (дд, $J=6,4$, 3,6 Гц, 1H), 4,20-4,10 (м, 2H), 4,06 (т, $J=6,4$ Гц, 2H), 3,66 (с, 14H), 3,38 (т, $J=4,4$ Гц, 2H), 2,19 (с, 3H), 2,02 (т, $J=8,4$ Гц, 9H), 1,00 (с, 9H), 0,20 (д, $J=14,4$ Гц, 6H).

ЭИ-МС m/z : 799 ($M^+ + 1$).

Получение соединения Int-TG2

К раствору соединения Int-TG1-5 (246 мг, 0,41 ммоль) и L-9 (249,5 мг, 0,41 ммоль) в ДМФА (3 мл) добавляли RuBOP (278 мг, 0,53 ммоль) и ДИПЭА (179 мкл, 1,02 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 2 часов реакционную смесь подвергали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50 $\times$ 250 мм; скорость потока: 40 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения Int-TG2 (384,6 мг, 81%). ЭИ-МС m/z : 1152 (M^+).

Пример 18: Получение соединения Int-TG3



Получение соединения Int-TG3a

К раствору 4-гидроксibenзальдегида (1 г, 8,19 ммоль) в ДХМ (3 мл) добавляли Et_3N (2,28 мл, 16,38 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . Газ SO_2F_2 вводили через баллон и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Смесь экстрагировали ДХМ (30 мл $\times$ 3) и солевым раствором (30 мл), органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения Int-TG3a (790 мг, 63%).

1H ЯМР (400 Гц, $CDCl_3$) δ 10,06 (с, 1H), 8,05 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,55 (д, $J=8,8$ Гц,

2H).

Получение соединения Int-TG3-1

К раствору соединения Int-TG1 (100 мг, 0,13 ммоль) и соединения Int-TG3a (26 мг, 0,13 ммоль) в безводном ACN (3 мл) добавляли DBU (4 мкл, 25 мкмоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, промывали дистиллированной водой (10 мл) и экстрагировали ЭА (15 мл × 2). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения Int-TG3-1 (103 мг, 94%).

ЭИ-МС m/z: 869 (M⁺+1).

Получение соединения Int-TG3-2

К раствору соединения Int-TG3-1 (103 мг, 0,12 ммоль) в ТГФ (8 мл) добавляли NaBH₄ (9 мг, 0,24 ммоль) при 0°C в атмосфере N₂. После перемешивания в течение 2 часов реакцию гасили дистиллированной водой (10 мл) и экстрагировали ЭА (10 мл × 2). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения Int-TG3-2 (101 мг, 98%).

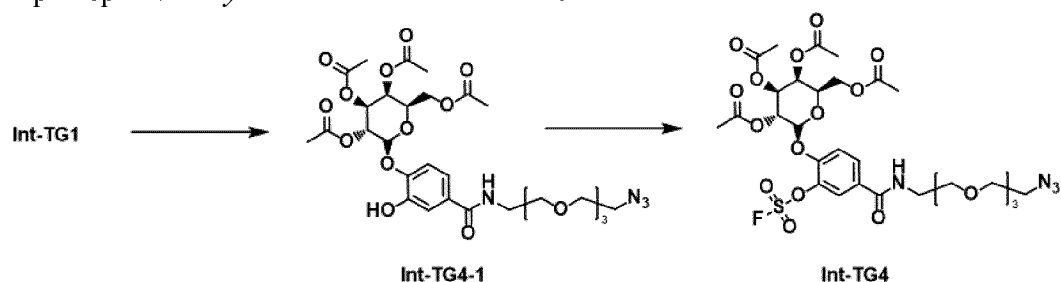
ЭИ-МС m/z: 871 (M⁺+1).

Получение соединения Int-TG3

К раствору соединения Int-TG3-2 (320,5 мг, 0,037 ммоль) в ДХМ (3 мл) добавляли 1М PBr₃ в ДХМ (165 мкл, 0,19 ммоль) при 0°C в атмосфере N₂. После перемешивания в течение 2 часов смесь гасили добавлением насыщенного бикарбоната натрия (8 мл × 2). Органические слои промывали солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения Int-TG3 (202,6 мг, 59%).

ЭИ-МС m/z: 934 (M⁺+1).

Пример 19: Получение соединения Int-TG4



Получение соединения Int-TG4-1

Гомогенный раствор соединения Int-TG1 (210 мг, 0,26 ммоль) в сухом ТГФ (2 мл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ обрабатывали 1М ТБАФ в ТГФ (315 мкл, 0,32 ммоль, 1,2 экв.) и перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали ЭА (200 мл × 2). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Гекс:ЭА=2:1) с получением соединения Int-TG4-1 (151 мг, 84%) в виде пенистого твердого вещества белого цвета.

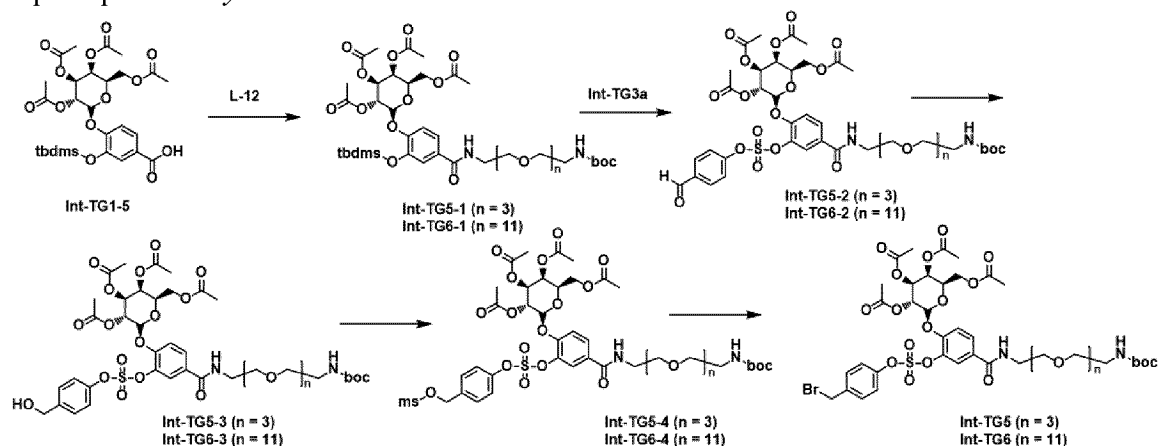
^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 7,36-7,33 (м, 2H), 7,00 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 6,72-6,64 (м, 1H), 6,05 (с, 1H), 5,52-5,44 (м, 2H), 5,18-5,12 (м, 1H), 4,98 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 4,28-4,07 (м, 3H), 3,70-3,62 (м, 14H), 3,36 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 2,22 (с, 3H), 2,12 (с, 3H), 2,0 (с, 3H), 2,03 (с, 3H); ЭИ-МС m/z : 685 (M^++1).

Получение соединения Int-TG4

Гомогенный раствор соединения Int-TG4-1 (151 мг, 0,22 ммоль) в ДХМ (5 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали ТЭА (92,4 мкл, 0,66 ммоль, 3,0 экв.), газ SO_2F_2 вводили через баллон и смесь перемешивали в течение 16 часов. Затем смесь экстрагировали ЭА (100 мл) и водой (100 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Гекс:ЭА=1:1) с получением соединения Int-TG4 (137 мг, 81%) в виде пенистого твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (400 Гц, CDCl_3) δ 7,88 (с, 1H), 7,68 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,30 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,05 (уш с, 1H), 5,62-5,56 (м, 1H), 5,48 (д, $J=2,8$ Гц, 1H), 5,17 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 5,12 (дд, $J=7,2, 3,2$ Гц, 1H), 4,26-4,08 (м, 3H), 3,72-3,60 (м, 14H), 3,36 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 2,20 (с, 3H), 2,08 (с, 6H), 2,02 (с, 3H); ЭИ-МС m/z : 767 (M^++1).

Пример 20: Получение соединения Int-TG5 и TG-6



Получение соединения Int-TG5-1

Гомогенный раствор соединения Int-TG1-5 (1,0 г, 0,26 ммоль) и L-12 (586 мг, 2,0 ммоль, 1,2 экв.) в ДМФА (10 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали РуВОР (1,13 г, 2,17 ммоль, 1,3 экв.), ДИПЭА (873 мкл, 5,01 ммоль, 3,0 экв.) и перемешивали в течение 4 часов. Реакцию гасили водой (20 мл) и экстрагировали ЭА (30 мл $\times$ 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Гекс:ЭА=1:1-1:3) с получением соединения Int-TG5-1 (1,05 г, 72%) в виде пенистого твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 874 (M^++1).

Получение соединения Int-TG5-2

Гомогенный раствор соединения Int-TG5-1 (500 мг, 0,57 ммоль) и соединения Int-TG3a (140 мг, 0,69 ммоль, 1,2 экв.) в безводном ACN (10 мл) при комнатной температуре в

атмосфере N_2 обрабатывали ВЕМР (66,3 мкл, 0,23 ммоль, 0,4 экв.) и перемешивали в течение 4 часов. Реакцию гасили водой (20 мл) и экстрагировали ЭА (30 мл $\times$ 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (4% MeOH в ДХМ) с получением соединения Int-TG5-2 (495 мг, 85%) в виде пенистого твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z: 869 ($M^+ + 1$).

Получение соединения Int-TG5-3

Раствор соединения Int-TG5-2 (495 мг, 0,52 ммоль) в безводном ТГФ (5,0 мл) при 0°C в атмосфере N_2 обрабатывали $NaBH_4$ (39,7 мг, 1,05 ммоль, 2,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов. Реакцию гасили водой (20 мл) и экстрагировали ЭА (30 мл $\times$ 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (2%-3% MeOH в ДХМ) с получением соединения Int-TG5-3 (418 мг, 91%) в виде пенистого твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z: 945 ($M^+ + 1$).

Получение соединения Int-TG5-4

Раствор соединения Int-TG5-3 (214,2 мг, 0,23 ммоль) в безводном ТГФ (5,0 мл) при 0°C в атмосфере N_2 обрабатывали метансульфонилхлоридом (24,6 мкл, 0,32 ммоль, 1,4 экв.) и ТЭА (79,2 мкл, 0,57 ммоль, 1,5 экв.) и перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию гасили водой (10 мл) и экстрагировали ДХМ (20 мл $\times$ 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (100% ДХМ-5% MeOH в ДХМ) с получением соединения Int-TG5-4 (164 мг, 70%) в виде пенистого твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z: 1024 ($M^+ + 1$).

Получение соединения Int-TG5

Раствор соединения Int-TG5-4 (164 мг, 0,16 ммоль) в безводном ТГФ (10 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали LiBr (69,6 мг, 0,80 ммоль, 5,0 экв.) и перемешивали в течение 3 часов. Реакционную смесь разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали ДХМ (20 мл $\times$ 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (3%-5% MeOH в ДХМ) с получением соединения Int-TG5 (161 мг, 99%) в виде пенистого твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z: 1008 ($M^+ + 1$).F

Соединение Int-6 синтезировали аналогично способу получения соединения Int-5.

Получение соединения Int-TG6-1

Выход 72%, бесцветное масло

ЭИ-МС m/z: 1226 ($M^+ + 1$).

Получение соединения Int-TG6-2

Выход 82%, бесцветное масло

ЭИ-МС m/z : 1296 ($M^+ + 1$).

Получение соединения Int-TG6-3

Выход 75%, бесцветное масло

ЭИ-МС m/z : 1298 ($M^+ + 1$).

Получение соединения Int-TG6-4

Выход 82%, бесцветное масло

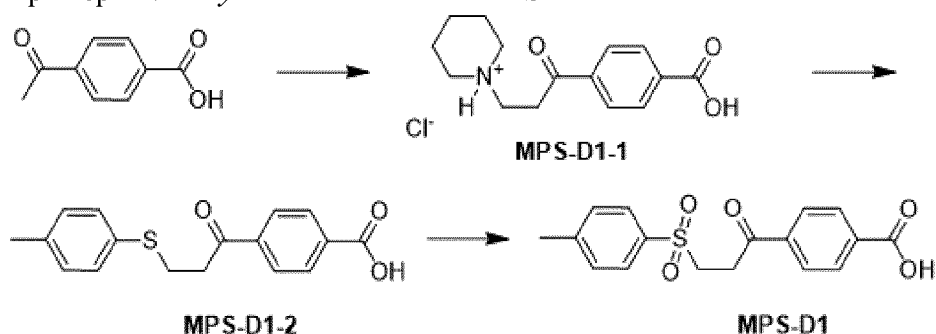
ЭИ-МС m/z : 1376 ($M^+ + 1$).

Получение соединения Int-TG6

Выход 82%, бесцветное масло

ЭИ-МС m/z : 1361 ($M^+ + 1$).

Пример 21: Получение соединения MPS-D1



Получение соединения MPS-D1-1

К раствору 4-ацетилбензойной кислоты (9 г, 54,82 ммоль) в EtOH (50 мл) добавляли гидрохлорид пиперидина (6,66 г, 54,82 ммоль), параформальдегид (4,95 г, 164,5 ммоль) и конц. HCl (0,6 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания при 100°C в течение 16 часов смесь затем охлаждали до комнатной температуры, по каплям добавляли ацетон (90 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1 часа. Твердое вещество фильтровали и промывали диэтиловым эфиром (30 мл $\times$ 2) с получением соединения MPS-D1-1 (6,11 г, 38%).

1H ЯМР (400 Гц, $DMCO-d_6$) δ 8,08 (с, 4H), 5,73 (с, 1H), 3,65 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 3,35 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 3,31 (м, 6H), 1,74 (с, 4H).

Получение соединения MPS-D1-2

К раствору MPS-D1-1 (6,11 г, 20,52 ммоль) в EtOH (40 мл) и MeOH (26 мл) добавляли 4-метоксибензолтиол (2,55 г, 20,52 ммоль) и пиперидин (0,3 мл, 3,08 ммоль) при комнатной температуре. После перемешивания при 100°C в течение 16 часов смесь охлаждали до 0°C и дополнительно перемешивали в течение 1 часа. Твердое вещество фильтровали и промывали эфиром (30 мл $\times$ 2) с получением соединения MPS-D1-2 (5,56 г, 90%).

1H ЯМР (400 Гц, $CDCl_3$) δ 8,04-7,99 (м, 4H), 7,27 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,15 (д, $J=7,6$ Гц, 2H), 3,39-3,36 (м, 2H), 3,25-3,21 (м, 2H), 2,27 (с, 3H).

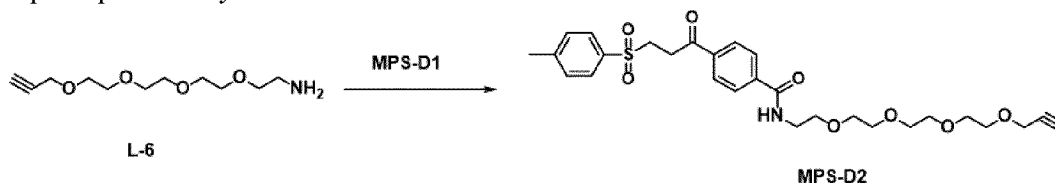
Получение соединения MPS-D1

К раствору MPS-D1b (5,56 г, 18,51 ммоль) в MeOH (90 мл) и дистиллированной

воды (90 мл) добавляли оксон (25,03 г, 40,72 ммоль) при 0°C в атмосфере N₂. После перемешивания при комнатной температуре в течение 14 часов смесь гасили дистиллированной водой (100 мл) и хлороформом (150 мл × 3). Органический слой промывали солевым раствором (200 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения MPS-D1 (5,29 г, 86%).

¹H ЯМР (400 Гц, CDCl₃) δ 8,04-7,99 (м, 4H), 7,81 (д, J=8,4 Гц, 2H), 7,46 (д, J=8,4 Гц, 2H), 3,63 (т, J=7,2 Гц, 2H), 3,41 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,44 (с, 3H). ЭИ-МС m/z: 333 (M⁺+1).

Пример 22: Получение соединения MPS-D2

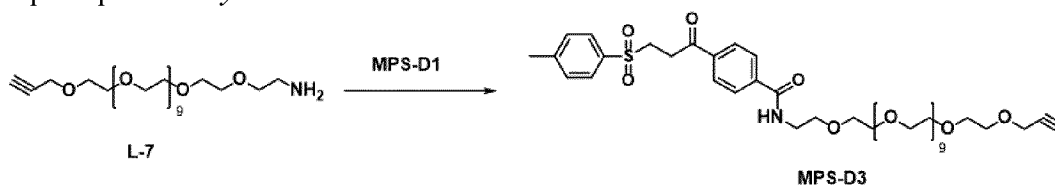


Получение соединения MPS-D2

Соединение MPS-D1 (652,4 мг, 1,96 ммоль) и соединение L-6 (500 мг, 1,96 ммоль) растворяли в ДМФА (5 мл) в атмосфере N₂. К ним добавляли HBTU (893,3 мг, 2,36 ммоль) и ДИПЭА (0,684 мл, 3,93 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Смесь разбавляли H₂O (20 мл) и экстрагировали ЭА (30 мл × 2). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения MPS-D2 (854,1 мг, 80%).

¹H ЯМР (400 Гц, CDCl₃) δ 8,11-7,94 (м, 4H), 7,83 (д, J=7,6 Гц, 2H), 7,44 (уш с, 1H), 7,38 (д, J=8,0 Гц, 2H), 4,15 (с, 2H), 3,69-3,65 (м, 14H), 3,58-3,48(м, 4H), 2,80 (с, 1H), 2,46(с, 3H). ЭИ-МС m/z: 546 (M⁺+1).

Пример 23: Получение соединения MPS-D3

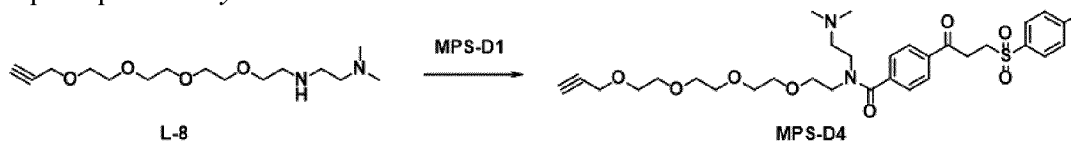


Соединение MPS-D3 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 22.

Выход 72%

ЭИ-МС m/z : 899 ($M^+ + 1$).

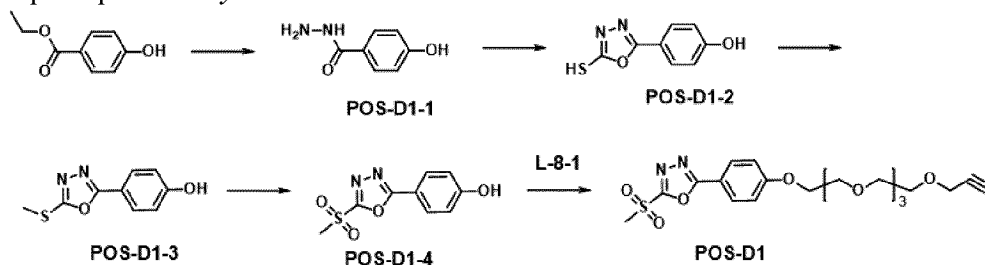
Пример 24: Получение соединения MPS-D4



К раствору соединения L-8 (60 мг, 0,20 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли MPS-D1 (79 мг, 0,024 ммоль), HBTU (90 мг, 0,24 ммоль) и ДИПЭА (103 мкл, 0,59 ммоль) при 0°C в

атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней. Смесь разбавляли H_2O (50 мл) и экстрагировали ЭА (100 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения MPS-D4 (59 мг, 48%). ЭИ-МС m/z : 617 ($M^+ + 1$).

Пример 25: Получение соединения POS-D1



Получение соединения POS-D1-1

К раствору этил 4-гидробензоата (20 г, 120,35 ммоль) в EtOH (60 мл) добавляли $NH_2NH_2 \cdot H_2O$ (88 мл, 1805,4 ммоль) в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали в течение ночи с обратным холодильником. Смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении с последующим растиранием с EtOH, получая при этом соединение POS-D1-1 (17,54 г, 96%).

1H ЯМР (400 Гц, $DMCO-d_6$) δ 9,50 (с, 1H), 7,68 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,78 (д, $J=8,8$ Гц, 2H), 4,37 (с, 2H). ЭИ-МС m/z : 431 ($M^+ + 1$).

Получение соединения POS-D1-2

К раствору соединения POS-D1-1 (17,54 г, 115,28 ммоль) в EtOH (200 мл) и ДМФА (100 мл) добавляли CS_2 (45 мл, 749,32 ммоль) и KOH (6,5 г, 115,28 ммоль) в атмосфере N_2 . После перемешивания при 85°C в течение 18 часов реакционную смесь доводили до pH 4 добавлением раствора 1M HCl и разбавляли дистиллированной водой (500 мл) и ЭА (500 мл x 2). Органический слой промывали H_2O (500 мл) и соевым раствором (500 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток подвергали растиранию в эфире/Hex с получением соединения POS-D1-2 (20,7 г, 93%).

1H ЯМР (400 Гц, $DMCO-d_6$) δ 10,44 (с, 1H), 7,72 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,94 (д, $J=8,0$ Гц, 2H). ЭИ-МС m/z : 195 ($M^+ + 1$).

Получение соединения POS-D1-3

К раствору соединения POS-D1-2 (5 г, 25,75 ммоль) в ТГФ (100 мл) по каплям добавляли Et_3N (4,3 мл, 30,9 ммоль) и MeI (1,76 мл, 28,33 ммоль) при 0 °C. После перемешивания при 0°C в течение 10 минут смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. Смесь разбавляли H_2O (150 мл) и экстрагировали ЭА (100 мл X 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток подвергали растиранию с эфиром с получением соединения POS-D1-3 (5,15 г, 96%).

1H ЯМР (400 Гц, $DMCO-d_6$) δ 7,80 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,94 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 2,74 (с,

3Н). ЭИ-МС m/z : 209 ($M^+ + 1$).

Получение соединения POS-D1-4

К раствору соединения POS-D1-3 (3,2 г, 15,37 ммоль) в EtOH (150 мл) добавляли 70% *m*-CPBA (11,4 г, 46,11 ммоль) при 0 °С в атмосфере N_2 . После перемешивания при комнатной температуре в течение 5 часов дополнительно добавляли 70% *m*-CPBA (11,4 г, 46,11 ммоль). Затем смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и гасили H_2O (500 мл), насыщенным $NaHCO_3$ (300 мл) и экстрагировали ЭА (500 мл $\times$ 2). Органический слой промывали солевым раствором (300 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток подвергали растиранию в Нех/ЭА=1:1 (100 мл) с получением соединения POS-D1-4 (3,2 г, 89%).

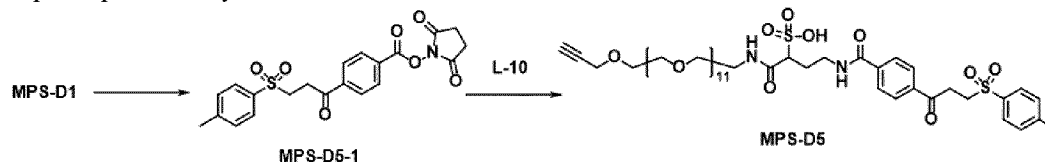
1H ЯМР (400 Гц, $DMCO-d_6$) δ 7,95 (д, $J=8,8$ Гц, 2Н), 7,01 (д, $J=8,8$ Гц, 2Н), 3,69 (4с, 3Н). ЭИ-МС m/z : 241 ($M^+ + 1$).

Получение соединения POS-D1

К раствору POS-D1-4 (310 мг, 1,29 ммоль) и L-8-1 (660 мг, 2,84 ммоль) в ТГФ (8 мл) и ДМФА (0,8 мл) добавляли PPh_3 (667 мг, 2,58 ммоль). Смесь охлаждали до 0 °С, к ней добавляли ДЭАД (1,17 мл, 2,58 ммоль) и смесь перемешивали при 0 °С в течение 3 часов. Смесь разбавляли водой (15 мл) и экстрагировали ЭА (15 мл $\times$ 2). Полученный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения POS-D1 (205 мг, 30%).

ЭИ-МС m/z : 455 ($M^+ + 1$).

Пример 26: Получение соединения MPS-D5



Получение соединения MPS-D5-1

MPS-D1 (100 мг, 0,30 ммоль) растворяли в ДМФА (1 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 с последующим добавлением N-гидроксисукцинимид (41,6 мг, 0,36 ммоль, 1,2 экв.), а затем ЭДКИ- HCl (115,4 мг, 0,60 ммоль, 2,0 экв.). После того как смесь перемешивали в течение ночи, соединение MPS-D5-1 использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЭИ-МС m/z : 430 ($M^+ + 1$).

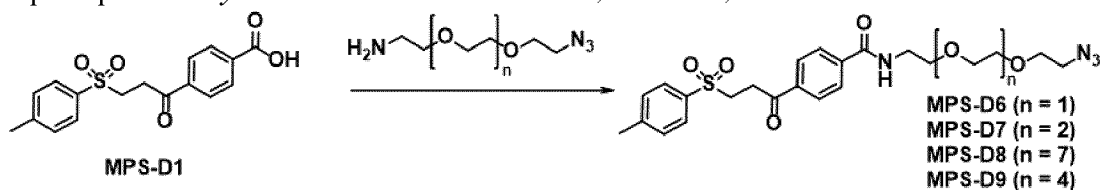
Получение соединения MPS-D5

Гомогенный раствор L-10 (38,2 мг, 0,05 ммоль) и MPS-D5-1 (23 мг, 0,54 ммоль, 1.1 экв.) в ДМФА (1 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали ДИПЭА (25,4 мкл, 0,15 ммоль, 3,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов. Смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2 $\times$ 250 мм; скорость потока: 40 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения MPS-D5 (10,3 мг, 20%) виде масла желтого

цвета.

ЭИ-МС m/z : 1064 ($M^+ + 1$).

Пример 27: Получение соединений MPS-D6, MPS-D7, MPS-D8 и MPS-D9



Соединения MPS-D6, MPS-D7, MPS-D8 и MPS-D9 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 22.

Получение соединения MPS-D6

Выход 53%, твердое вещество светло-желтого цвета

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,98 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,88 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,83 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,38 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 6,75 (уш с, 1H), 3,74-3,66 (м, 10H), 3,58-3,48 (м, 4H), 3,37 (т, $J=5,2$ Гц, 2H), 2,46 (с, 3H); ЭИ-МС m/z : 489 ($M^+ + 1$).

Получение соединения MPS-D7

Выход 52%, твердое вещество желтого цвета

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,98 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,90 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,83 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,38 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 6,93 (уш с, 1H), 3,74-3,62 (м, 14H), 3,58-3,47 (м, 4H), 3,34 (т, $J=5,2$ Гц, 2H), 2,46 (с, 3H); ЭИ-МС m/z : 533 ($M^+ + 1$).

Получение соединения MPS-D8

Выход 53%, масло желтого цвета

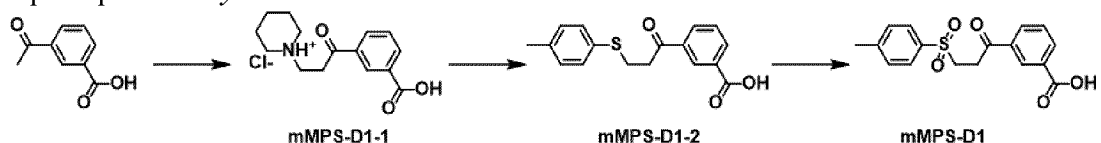
ЭИ-МС m/z : 753 ($M^+ + 1$).

Получение соединения MPS-D9

Выход 84%, масло светло-желтого цвета

ЭИ-МС m/z : 621 ($M^+ + 1$).

Пример 28: Получение соединения mMPS-D1



Получение соединения mMPS-D1-1

Смесь 3-ацетилбензойной кислоты (3 г, 18,28 ммоль), пиперидин HCl (2,22 г, 18,28 ммоль, 1 экв.) и параформальдегида (1,65 г, 54,83 ммоль, 3 экв.) в EtOH (18 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали конц. HCl (0,2 мл) и нагревали с обратным холодильником в течение ночи. Смесь оставляли охладиться до комнатной температуры, гасили ацетоном (30 мл) и перемешивали при 0°C в течение 1 часа. Твердое вещество собирали фильтрованием, промывали диэтиловым эфиром (70 мл) и сушили в условиях высокого вакуума с получением соединения mMPS-D1-1 (2,78 г, 51%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 262 ($M^+ + 1$).

Получение соединения mMPS-D1-2

Мутную смесь mMPS-D1-1 (1,45 г, 4,87 ммоль) и 4-метилбензолтиола (605 мг, 4,87 ммоль, 1 экв.) в EtOH (11 мл) и MeOH (7,5 мл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ обрабатывали пиперидином (72 мкл, 0,73 ммоль, 0,15 экв.) и нагревали с обратным холодильником в течение 6 часов. Реакционную смесь оставляли охладиться до 0°C в течение 1 часа с получением твердого вещества белого цвета. Добавляли диэтиловый эфир, чтобы в осадок выпало больше твердого вещества, которое собирали фильтрацией, промывали диэтиловым эфиром (70 мл) и сушили в условиях высокого вакуума с получением соединения mMPS-D1-2 (1,05 г, 72%) в виде твердого вещества белого цвета.

¹H ЯМР (600 Гц, ДМСО-д6) δ 8,40 (с, 1H), 8,18-8,15 (м, 2H), 7,66-7,63 (м, 1H), 7,26 (д, J=7,8 Гц, 2H), 7,14 (д, J=7,8 Гц, 2H), 3,40-3,37 (м, 2H), 3,26-3,23 (м, 2H), 2,27 (с, 3H).

ЭИ-МС m/z: 301 (M⁺+1).

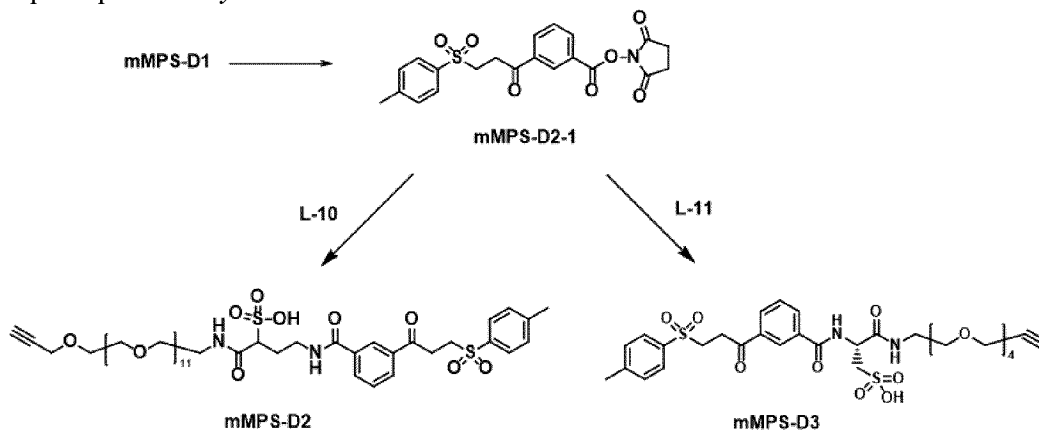
Получение соединения mMPS-D1

Мутный раствор mMPS-D1-2 (500 мг, 1,67 ммоль) в MeOH (30 мл) и H₂O (30 мл) при 0°C в атмосфере N₂ обрабатывали оксоном (2,25 г, 3,66 ммоль, 2,2 экв.). Смесь оставили нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь гасили H₂O (120 мл) и экстрагировали CHCl₃ (100 мл X 3). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (200 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением соединения mMPS-D1 (258 мг, 47%) в виде твердого вещества желтоватого цвета.

¹H ЯМР (600 Гц, ДМСО-д6) δ 8,37-8,36 (м, 1H), 8,20-8,16 (м, 2H), 7,81 (д, J=7,8 Гц, 2H), 7,68-7,65 (м, 1H), 7,46 (д, J=8,4 Гц, 2H), 3,66-3,63 (м, 2H), 3,44-3,41 (м, 2H), 2,41 (с, 3H).

ЭИ-МС m/z: 333 (M⁺+1).

Пример 29: Получение соединения mMPS-D2 и mMPS-D3



Получение соединения mMPS-D2-1

Мутный раствор mMPS-D1 (50 мг, 0,15 ммоль) в ДМФА (1 мл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ обрабатывали N-гидроксисукцинимидом (21 мг, 0,18 ммоль, 1,2 экв.) и ЭДКИ-HCl (58 мг, 0,30 ммоль, 2,0 экв.). После того как смесь перемешивали в течение ночи, соединение mMPS-D2-1 использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЭИ-МС m/z : 430 ($M^+ + 1$).

Получение соединения mMPS-D2

Гомогенный раствор L-10 (35,3 мг, 0,045 ммоль) и mMPS-D2-1 (21,3 мг, 0,05 ммоль, 1,1 экв.) в ДМФА (1 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали ДИПЭА (23,4 мкл, 0,135 ммоль, 3,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонок: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 40 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в АСН, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения mMPS-D2 (10,8 мг, 22%) в виде масла желтого цвета.

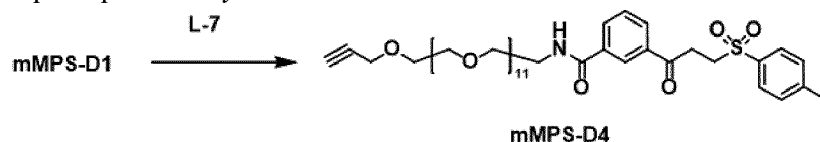
ЭИ-МС m/z : 1064 ($M^+ + 1$).

Получение соединения mMPS-D3

Гомогенный раствор L-11 (10 мг, 0,024 ммоль) и mMPS-D2-1 (11,3 мг, 0,026 ммоль, 1,1 экв.) в ДМФА (1 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали ДИПЭА (20,8 мкл, 0,12 ммоль, 5,0 экв.) и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонок: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в АСН, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения mMPS-D3 (10,8 мг, 22%) в виде масла желтого цвета.

ЭИ-МС m/z : 697 ($M^+ + 1$).

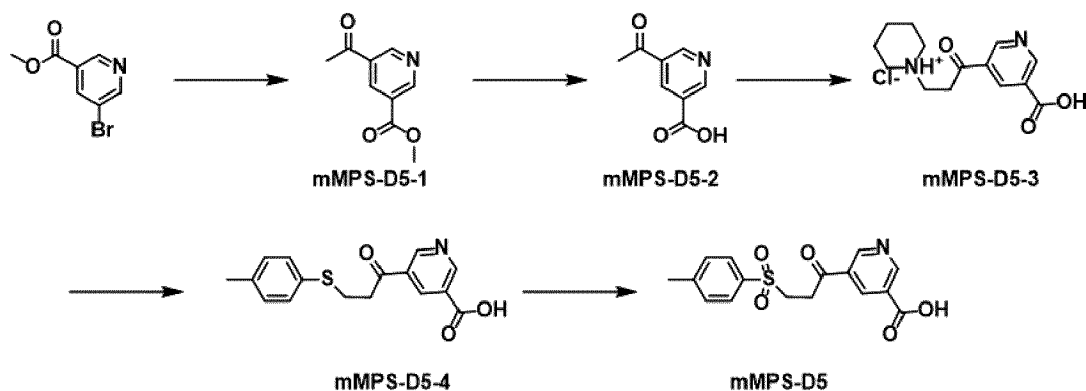
Пример 30: Получение соединения mMPS-D4



Гомогенный раствор mMPS-D1 (124,6 мг, 0,37 ммоль) и L-7 (120,4 мг, 0,45 ммоль, 1,2 экв.) в безводном ДМФА при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали ДИПЭА (0,13 мл, 0,75 ммоль, 2 экв.) и HBTU (178,6 мг, 0,45 ммоль, 1,2 экв.) и перемешивали в течение 3,5 часов. Реакцию гасили H_2O (40 мл) и экстрагировали ДХМ (50 мл X 3). Объединенный органический слой промывали H_2O (40 мл X 2), солевым раствором (40 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали флэш-хроматографией (Гекс:ЭА=1:1-1:5) с получением соединения mMPS-D4 (123,1 мг, 60%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 546 ($M^+ + 1$).

Пример 31: Получение соединения mMPS-D5



Получение соединения mMPS-D5-1

Раствор метил 5-бромникотината (3 г, 13,89 ммоль), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (487 мг, 0,96 ммоль, 0,05 экв.) и трибутил(1-этоксивинил)тина (5,86 мл, 17,36 ммоль, 1,25 экв.) в безводном толуоле (60 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 нагревали с обратным холодильником в течение 3 часов. После этого смесь охлаждали до 0 °С, фильтровали через целит и промывали MeOH (100 мл). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток, растворенный в MeOH (30 мл) и 10М HCl (30 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 , оставляли стоять в течение 2 часов. Реакцию гасили насыщенным Na_2CO_3 (120 мл) и экстрагировали ЭА (150 мл X 3). Органический слой промывали солевым раствором (250 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (EA:HEX= 1:2) с получением соединения mMPS-D5-1 (2,22 г, 89%) в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,37 (с, 1H), 9,31 (с, 1H), 8,79 (с, 1H), 4,00 (с, 3H), 2,69 (с, 3H).

Получение соединения mMPS-D5-2

Гомогенный раствор mMPS-D5-1 (636 мг, 3,55 ммоль) в MeOH (11 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали 1N NaOH (10,64 мл) и перемешивали в течение 1 часа. После того как смесь концентрировали при пониженном давлении реакцию гасили 1N HCl (pH 2) и экстрагировали ЭА (80 мл X 3). Органический слой промывали солевым раствором (150 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения mMPS-D5-2 (неочищенное) в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,31 (с, 1H), 9,25 (с, 1H), 8,64 (с, 1H), 2,69 (с, 3H).

Соединения mMPS-D5-3, mMPS-D5-4 и mMPS-D5 синтезировали аналогично способу получения соединения MPS-D1 из примера 21.

Получение соединения mMPS-D5-3

Выход 30%, твердое вещество белого цвета.

ЭИ-МС m/z: 264 ($\text{M}^+ + 1$).

Получение соединения mMPS-D5-4

Выход 11%, твердое вещество белого цвета.

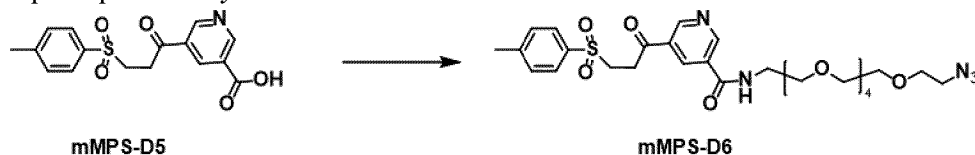
^1H ЯМР (400 Гц, ДМСО- d_6) δ 9,26 (д, $J=2$ Гц, 1H), 9,23 (д, $J=2$ Гц, 1H), 8,58 (м, 1H), 7,26 (д, $J=8$ Гц, 2H), 7,13 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 3,46 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 3,24 (д, $J=7,2$ Гц, 2H), 2,26 (с, 3H); ЭИ-МС m/z : 302 (M^++1).

Получение соединения mMPS-D5

Выход 43%, твердое вещество белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 334 (M^++1).

Пример 32: Получение соединения mMPS-D5

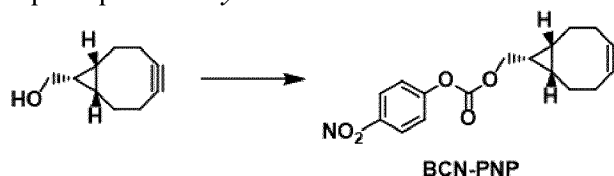


Соединение mMPS-D6 синтезировали аналогично способу получения соединения MPS-D9 из примера 27.

Выход 13%, масло желтоватого цвета.

ЭИ-МС m/z : 622 (M^++1).

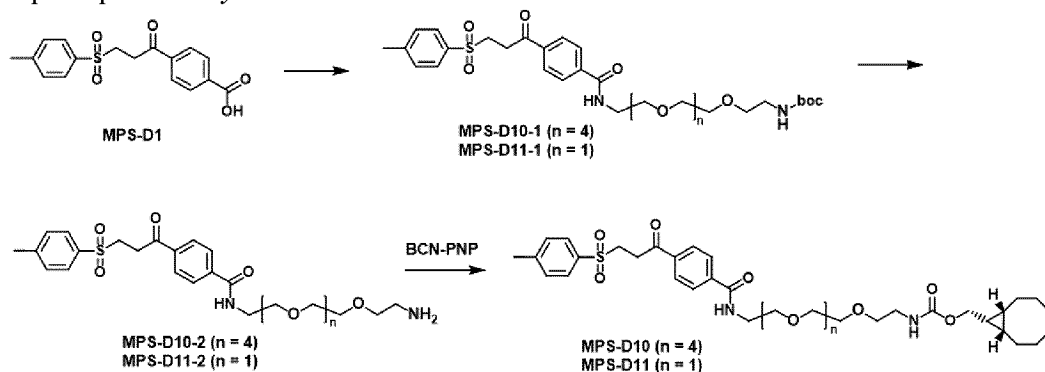
Пример 33: Получение соединения BCN-PNP



(1R,8S,9s)-бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметанол (800 мг, 5,3 ммоль) растворяли в ДХМ (125 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . К нему добавляли пиридин (1,22 мл, 15,9 ммоль, 3,0 экв.) и 4-нитрофенилхлорформиат (1,75 г, 8,74 ммоль, 1,6 экв.). После того как смесь перемешивали в течение 4 часов при такой же температуре, реакцию гасили добавлением насыщенного раствора NH_4Cl (100 мл) и экстрагировали ЭА (100 мл х 4). Органический слой сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией (Гекс:ЭА=10:1) с получением соединения BCN- PNP (1,34 г, 84%) в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (600 МГц, CDCl_3) δ 8,29 (д, $J=9$ Гц, 2H), 7,39 (д, $J=9$ Гц, 2H), 4,41 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 2,36-2,24 (м, 6H), 1,62-1,55 (м, 2H), 1,53-1,49 (м, 1H), 1,07 (т, $J=10,2$ Гц, 2H).

Пример 34: Получение соединений MPS-D10 и MPS-D11



Соединения MPS-D10-1 и MPS-D11-1 синтезировали аналогично способу

получения соединения MPS-D2 из примера 22.

Получение соединения MPS-D10-1

Выход 71%, масло светло-желтого цвета

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,99-7,93 (м, 4H), 7,83 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,39 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,30 (уш с, 1H), 5,01 (уш с, 1H), 3,74-3,46 (м, 26H), 3,34-3,26 (м, 2H), 2,46 (с, 3H), 1,43 (с, 9H); ЭИ-МС m/z : 695 (M^++1).

Получение соединения MPS-D11-1

Выход 71%, масло светло-желтого цвета

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,02-7,86 (м, 4H), 7,83 (д, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,38 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 6,91 (уш с, 1H), 4,98 (уш с, 1H), 3,72-3,44 (м, 10H), 3,36-3,24 (м, 2H), 2,46 (с, 3H), 1,43 (с, 9H); ЭИ-МС m/z : 563 (M^++1).

Соединения MPS-D10-2 и MPS-D11-2 синтезировали аналогично способу получения соединения L-9 из примера 10.

Получение соединения MPS-D10-2

Выход 99%, масло светло-желтого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,74 (т, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,98 (дд, $J=12, 8,4$ Гц, 2H), 7,82 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,46 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 3,68-3,36 (м, 24H), 3,01-2,94 (м, 2H), 2,22 (с, 3H); ЭИ-МС m/z : 595 (M^++1).

Получение соединения MPS-D11-2

Выход колич., масло светло-желтого цвета.

ЭИ-МС m/z : 463 (M^++1).

Получение соединения MPS-D10

Гомогенный раствор MPS-D10-2 (63 мг, 0,10 ммоль) и BСN-PNP (31,5 мг, 0,10 ммоль, 1,0 экв.) в безводном ДМФА (2,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали ДИПЭА (52 мкл, 0,3 ммоль, 3 экв.) и НВТУ (57 мг, 0,15 ммоль, 1,5 экв.) и перемешивали в течение 2 часов. Реакцию гасили H_2O (20 мл) и экстрагировали ЭА (30 мл X 3). Объединенный органический слой промывали солевым раствором (10 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали препаративной ТСХ с получением соединения mMPS-D10 (57 мг, 74%). ЭИ-МС m/z : 771 (M^++1).

Получение соединения MPS-D11

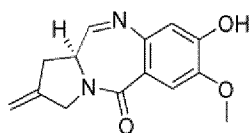
Соединение MPS-D11 синтезировали аналогично способу получения соединения MPS-D10.

Выход 82%, масло светло-желтого цвета.

ЭИ-МС m/z : 639 (M^++1).

Получение мономеров

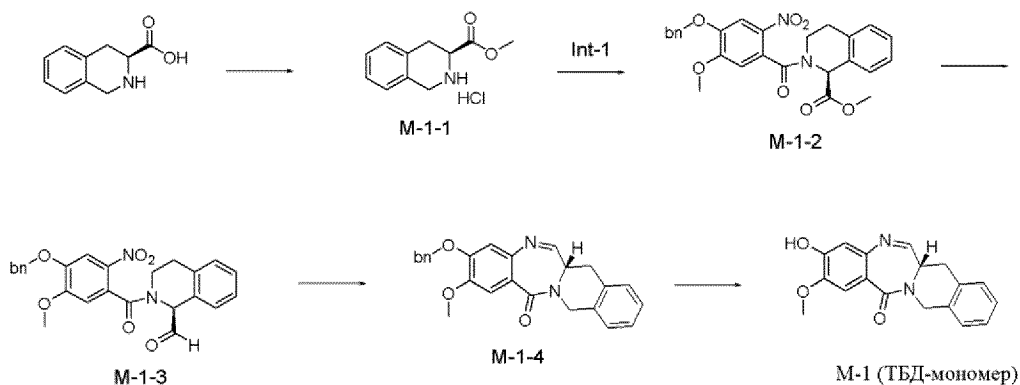
Пример 35: *Получение тирролобензодиазетинового мономера (далее «ПБД-мономера»)*



ПБД-мономер.

ПБД-мономер получали путем проведения реакции аналогичным способом, описанным в ЕР20071813614.

Пример 36: *Получение тетрагидроизохинолинобензодиазетинового мономера (далее «ТБД-мономера»)*



Получение соединения М-1-1

К раствору (s)-(-)-1, 2, 3, 4-тетрагидроизохинолин-3-карбоновой кислоты (5,0 г, 28,22 ммоль) в MeOH (140 мл) по каплям добавляли SOCl_2 (2,30 мл, 31,04 ммоль) при 0°C в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 21 часа при 40°C смесь концентрировали при пониженном давлении. Диэтиловый эфир (50 мл) добавляли для получения осадка, который фильтровали диэтиловым эфиром с получением соединения М-1-1 (6,42 г, выход 99%).

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10,02 (с, 2H), 7,27 (с, 4H), 4,60-4,56 (м, 1H), 4,39-4,29 (м, 2H), 3,82 (с, 3H), 3,19-3,12 (м, 2H); ЭИ-МС m/z : 192 ($\text{M}^+ + 1$).

Получение соединения М-1-2

К раствору соединения Int-1 (9,07 г, 28,22 ммоль) в безводном ТГФ (50 мл) добавляли соединение М-1-1 (6,42 г, 28,22 ммоль) в ТГФ (100 мл) и ТЭА (7,9 мл, 56,43 ммоль) при 0 °С. После перемешивания в течение 2 часов при комнатной температуре реакционную смесь разбавляли дистиллированной водой (500 мл) и экстрагировали ЭА (800 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-1-2 (12,01 г, 90%). ЭИ-МС m/z : 477 ($\text{M}^+ + 1$).

Получение соединения М-1-3

К раствору соединения М-1-2 (4 г, 8,39 ммоль) в безводном ДХМ (18 мл) и толуоле (52 мл) по каплям добавляли DIBAL (16,8 мл, 16,79 ммоль, 1,0М в толуоле) при -78°C в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 4 часов при -78°C реакцию гасили MeOH (0,4 мл) и 2N HCl (25 мл) при -78 °С. Смесь разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали ЭА (500 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и

концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-1-3 (3,07 г, 82%). ЭИ-МС m/z : 447 ($M^+ + 1$).

Получение соединения М-1-4

К раствору соединения М-1-3 (3 г, 6,72 ммоль) в ТГФ (130 мл) и дистиллированной воды (86 мл) добавляли $Na_2S_2O_4 \cdot 2H_2O$ (11,3 г, 53,76 ммоль) при комнатной температуре. После перемешивания в течение 5 часов реакционную смесь концентрировали четыре раза при пониженном давлении, используя толуол в качестве соразтворителя, удаляя тем самым воду. Затем полученное твердое вещество желтого цвета растворяли в безводном MeOH (220 мл) и к нему добавляли ацетилхлорид (4,8 мл, 67,19 ммоль). После перемешивания в течение 15 минут реакционную смесь доводили до pH 7 добавлением насыщенного раствора $NaHCO_3$, разбавляли дистиллированной водой (100 мл) и экстрагировали ЭА (250 мл $\times$ 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-1-4 (2,48 г, 93%).

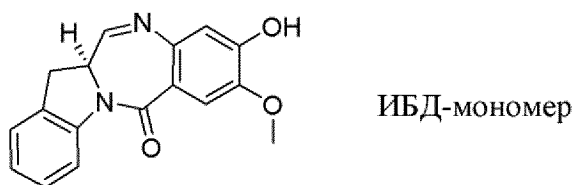
1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,55 (с, 1H), 7,45-7,27 (м, 10H), 6,84 (с, 1H), 5,24-5,15 (м, 2H), 5,00 (д, $J=15,2$, 1H), 4,56 (д, $J=15,6$, 1H), 3,97 (с, 3H), 3,93-3,92 (м, 1H), 3,31-3,12 (м, 2H). ЭИ-МС m/z : 399($M^+ + 1$).

Получение соединения М-1

К раствору соединения М-1-4 (1 г, 2,51 ммоль) в безводном ДХМ (10 мл) добавляли метансульфоновую кислоту (5 мл) в ДХМ (10 мл) при 0 °С. После перемешивания в течение 3 часов при 0°С смесь гасили раствором $NaHCO_3$, водой (100 мл) и экстрагировали ЭА (400 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-1 (703 мг, 91%).

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,54 (с, 1H), 7,48 (д, $J=4,8$ Гц, 1H), 7,37-7,26 (м, 4H), 6,88 (с, 1H), 6,03 (с, 1H), 5,00 (д, $J=15,6$ Гц, 1H), 4,56 (д, $J=15,6$ Гц, 1H), 3,98 (с, 3H), 3,95-3,90 (м, 1H), 3,30-3,13 (м, 2H). ЭИ-МС m/z : 309($M^+ + 1$).

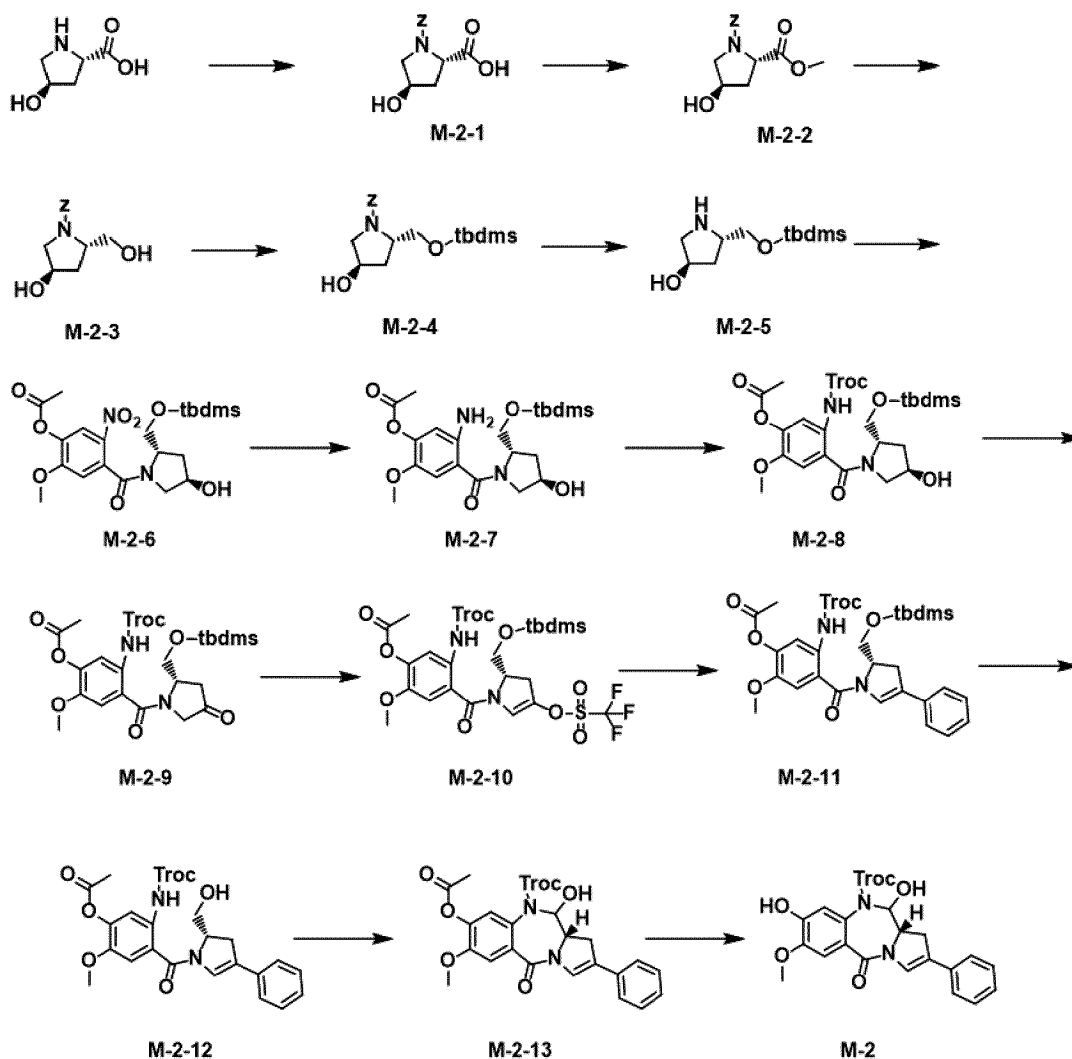
Пример 37: *Получение индолинобензодиазетинового мономера (далее «ИБД-мономера»)*



ИБД-мономер получали путем проведения реакции аналогичным способом синтеза, описанным в WO2010091150.

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,27 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,88 (д, $J=4,4$ Гц, 1H), 7,56 (с, 1H), 7,33-7,30 (м, 1H), 7,11 (т, $J=7,6$ Гц, 1H), 6,92 (с, 1H), 4,50-4,46 (м, 1H), 3,99 (с, 3H), 3,78-3,67 (м, 1H), 3,53-3,50 (м, 1H). ЭИ-МС m/z : 295 ($M^+ + 1$).

Пример 38: *Получения ПБД-соединения, несущего C2-арильные заместители*



Получение соединения M-2-1

К перемешиваемому раствору *trans*-4-гидрокси-L-пролина (30 г, 230 ммоль) и NaHCO_3 (43 г, 570 ммоль, 2,5 экв.) в H_2O /толуоле (500 мл/120 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 добавляли Cbz-Cl (37,4 мл, 260 ммоль, 1,15 экв.). После добавления смесь перемешивали при данной температуре в течение ночи. Смесь экстрагировали ЭА (500 мл $\times$ 3). Органический слой промывали водой (500 мл $\times$ 2) и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения M-2-1 (57,5 г, 95%) в виде масла светло-коричневого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,7 (уш с, 1H), 7,40-7,28 (м, 5H), 5,18-5,02 (м, 2H), 4,31-4,24 (м, 2H), 3,51-3,35 (м, 2H), 2,23-2,10 (м, 1H), 2,00-1,87 (м, 1H); ЭИ-МС m/z : 266 ($\text{M}^+ + 1$).

Получение соединения M-2-2

Коричневый раствор соединения M-2-1 (57,5 г, 220 ммоль) в MeOH (400 мл) при 0°C в атмосфере N_2 обрабатывали тионилхлоридом (45,3 мл, 610 ммоль, 2,8 экв.). Реакционную смесь оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением соединения M-2-2 (60,5 г, колич.) в виде масла светло-коричневого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,38-7,28 (м, 5H), 5,23-5,09 (м, 2H), 4,56-4,47 (м, 2H), 3,80 (с, 1H), 3,76-3,66 (м, 2H), 3,58-3,52 (м, 1H) 2,38-2,26 (м, 1H), 2,16-2,08 (м, 1H) ; ЭИ-МС m/z : 270 ($\text{M}^+ + 1$).

Получение соединения М-2-3

Коричневый раствор соединения М-2-2 (60,5 г, 220 ммоль) в безводном ТГФ (500 мл) при 0°C в атмосфере N_2 обрабатывали LiBH_4 (3,9 г, 180 ммоль, 0,8 экв.) и перемешивали в течение 30 минут. А затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение дополнительных 2 дней. Смесь гасили водой (200 мл) и 2N HCl (100 мл). Органический растворитель удаляли с помощью ротационного испарителя. Остаток экстрагировали ЭА (500 мл $\times$ 3), а затем органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения М-2-3 (54,6 г, 98%) в виде масла светло-коричневого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,39-7,30 (м, 5H), 5,21-5,12 (м, 2H), 4,66 (д, $J=7,2$ Гц, 1H), 4,39 (с, 1H), 4,21 (к, $J=7,6$, 7,2 Гц, 1H), 3,76 (т, $J=9,6$ Гц, 2H), 3,66-3,58 (м, 1H), 3,50 (дд, $J=8,0$, 4,0 Гц, 1H), 2,10-2,23 (м, 1H), 1,78-1,64 (м, 1H); ЭИ-МС m/z : 252 ($\text{M}^+ + 1$).

Получение соединения М-2-4

Коричневый раствор М-2-3 (53 г, 210 ммоль) в безводном ДХМ (500 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали трет-бутилдиметилсилилхлоридом (25,4 г, 170 ммоль, 0,8 экв.), ТЭА (30 мл, 210 ммоль, 1,0 экв.) и DBU (6,3 мл, 42,2 ммоль, 0,2 экв.). После добавления смесь перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь промывали NH_4Cl (300 мл) с последующим промыванием соевым раствором (300 мл), а затем органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Гекс:ЭА=1:1) с получением соединения М-2-4 (48,2 г, 63%) в виде масла светло-коричневого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,38-7,28 (м, 5H), 5,20-5,08 (м, 2H), 4,50 (с, 1H), 4,12-4,00 (м, 1H), 3,97 (дд, $J=6,4$, 4,0 Гц, 1H), 3,71 (дд, $J=5,6$, 4,8 Гц, 1H), 3,66-3,58 (м, 1H), 3,52-3,48 (м, 1H), 2,28-2,18 (м, 1H), 2,02-1,92 (м, 1H), 0,10 -0,08 (м, 6H); ЭИ-МС m/z : 366 ($\text{M}^+ + 1$).

Получение соединения М-2-5

Палладий на угле, 5% Pd/C (1,3 г, 1,23 ммоль, 0,03 экв.) добавляли к перемешиваемому раствору М-2-4 (15 г, 41,0 ммоль) в ЭА (50 мл) в атмосфере N_2 . Колбу промывали барботированием газообразного водорода через раствор при комнатной температуре. Смесь перемешивали при той же температуре в течение 5 часов. Смесь разбавляли ЭА (30 мл), фильтровали через целит, слой целита промывали ЭА (50 мл $\times$ 2). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением соединения М-2-5 (9,5 г, колич.) в виде масла светло-коричневого цвета.

^1H ЯМР 400 МГц, CDCl_3) δ 4,41 (уш с, 1H), 3,60-3,44 (м, 3H), 3,12 (дд, $J=7,2$ Гц, 4,8 Гц, 1H), 2,89 (д, $J=12$ Гц, 1H), 1,84-1,79 (м, 1H), 1,74-1,67 (м, 1H), 0,89 (с, 9H), 0,06 (с, 6H) ; ЭИ-МС m/z : 232 ($\text{M}^+ + 1$).

Получение соединения М-2-6

Коричневый раствор соединения М-2-5 (11,9 г, 51,42 ммоль) и Int-2 (14,4 г, 56,6 ммоль, 1,1 экв.) в безводном ТГФ (400 мл) при 0°C в атмосфере N₂ обрабатывали ДИПЭА (26,9 мл, 154,3 ммоль, 3,0 экв.) и перемешивали в течение 5 часов. Реакционную смесь разбавляли дистиллированной водой (50 мл) и экстрагировали ЭА (150 мл x 2). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Hex:ЭА=2:1-2:1) с получением соединения М-2-6 (20 г, 83%) в виде твердого вещества желтого цвета.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,95 (с, 1H), 6,87 (с, 1H), 4,60-4,51(м, 1H), 4,49- 4,41 (м, 1H), 4,24-4,08 (м, 1H), 3,91 (с, 3H), 3,80-3,68 (м, 1H), 3,37 (дд, J=7,6 Гц, 4,0 Гц, 1H), 3,14 (д, J=10,4 Гц, 1H), 2,35 (с, 3H), 2,18-2,08 (м, 1H), 0,91 (с, 9H), 0,1 (с 6H); ЭИ-МС m/z: 469 (M⁺+1).

Получение соединения М-2-7

Палладий на угле, 5% Pd/C (9,1 г, 4,27 ммоль, 0,1 экв.) добавляли к перемешиваемому раствору М-2-6 (20 г, 42,68 ммоль) в ЭА (213 мл) в атмосфере N₂. Колбу промывали барботированием газообразного водорода через раствор при комнатной температуре. После перемешивания в течение 8 часов смесь разбавляли ЭА (50 мл), фильтровали через целит, слой целита промывали ЭА (50 мл x 2). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением соединения М-2-7 (18,5 г, 99%) в виде твердого вещества желтого цвета.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,81 (с, 1H), 6,44 (с, 1H), 5,79 (уш с, 1H), 4,58-4,50 (м, 1H), 4,42-4,36 (м, 1H), 4,10 (уш с, 1H), 3,79 (с, 3H), 3,59 (дд, J=8,4 Гц, 2,8 Гц, 1H), 3,50 (д, J=11,2 Гц, 1H), 2,30-2,24 (м, 1H), 2,06-2,01 (м, 1H), 0,89 (с, 9H), 0,05 (д, J=1,6 Гц, 6H); ЭИ-МС m/z: 439 (M⁺+1).

Получение соединения М-2-8

Желтый раствор М-2-7 (18,5 г, 42,18 ммоль) в безводном ДХМ (210 мл) при 0°C в атмосфере N₂ обрабатывали 2,2,2-трихлорэтилхлорформиатом (6,4 мл, 46,4 ммоль, 1,1 экв.) и пиридином (6,9 мл, 87,4 ммоль, 2,0 экв.), а затем перемешивали в течение 3 часов. Смесь промывали раствором CuSO₄ (50 мл) и соевым раствором (100 мл X 2). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Hex:ЭА=2:1) с получением соединения М-2-8 (21,2 г, 82%) в виде твердого вещества коричневого цвета.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,87 (уш с, 1H), 7,86 (с, 1H), 6,89 (с, 1H), 4,84 (д, J=12,8 Гц, 1H), 4,71 (д, J=10,8 Гц, 1H), 4,61 (уш с, 1H), 4,45 (с, 1H), 4,20 (уш с, 1H), 3,78 (с, 3H), 3,70-3,62 (м, 1H), 3,57 (с, 2H), 2,32 (с, 4H), 2,11-2,02 (м, 1H), 1,80 (с, 1H), 0,90 (с, 9H), 0,05 (с, 6H); ЭИ-МС m/z: 615(M⁺+1).

Получение соединения М-2-9

Гомогенный раствор оксалилхлорида (21 мл, 24,4 ммоль, 1,5 экв.) в безводном ДХМ (50 мл) при -78°C в атмосфере N₂ обрабатывали ДМСО (3,5 мл, 48,9 ммоль, 3,0 экв.) в безводном ДХМ (20 мл) и перемешивали в течение 1 часа. Раствор М-2-8 (10 г, 0,33 ммоль) в безводном ДХМ (100 мл) по каплям добавляли к реакционной смеси и

перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь обрабатывали ТЭА (22,7 мл, 162,9 ммоль, 10 экв.) и перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Смесь экстрагировали раствором NH_4Cl (30 мл) и ДХМ (100 мл X 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Hex:ЭА=4:1-1:1) с получением соединения М-2-9 (8,2 г, 83%) в виде твердого вещества коричневого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,68 (уш с, 1H), 7,91 (с, 1H), 6,86 (с, 1H), 5,12 (уш с, 1H), 4,80 (с, 2H), 4,13 (уш с, 1H), 4,04 (д, $J=17,2$ Гц, 1H), 3,98 -3,86 (м, 1H), 3,80 (с, 3H), 3,76-3,62 (м, 1H), 2,84-2,72 (м, 2H), 2,54 (д, $J=17,2$ Гц, 1H), 2,32 (с, 3H), 2,08-1,98 (м, 1H), 0,88 (с, 9H), 0,21 (с, 6H); ЭИ-МС m/z : 612 (M^++1).

Получение соединения М-2-10

Желтый раствор М-2-9 (2,0 г, 3,27 ммоль) и 2,6-лутидина (4,6 мл, 12 экв.) в безводном ДХМ (100 мл) при -10°C в атмосфере N_2 обрабатывали трифлатным ангидридом (5,5 мл, 32,68 ммоль, 10 экв.) и перемешивали в течение 6 часов. Реакционную смесь оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение дополнительного 1 часа. Смесь разбавляли дистиллированной водой (50 мл) и экстрагировали ДХМ (100 мл X 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Hex:ЭА=4:1) с получением соединения М-2-10 (502 мг, 21%) в виде масла желтого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,78 (уш с, 1H), 7,97 (с, 1H), 6,85 (с, 1H), 6,80 (с, 1H), 4,86-4,72 (м, 3H), 4,20-4,32 (м, 1H), 3,80 (с, 3H), 3,76-3,68 (м, 1H), 3,20-3,00 (м, 2H), 2,33 (с, 3H), 0,89 (с, 9H), 0,06 (д, $J=10,6$ Гц 6H); ЭИ-МС m/z : 745 (M^++1).

Получение соединения М-2-11

Желтый раствор М-2-10 (500 мг, 0,67 ммоль) в толуоле (4,0 мл), H_2O (0,6 мл) и этаноле (4,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали 4,4,5,5-тетраметил-2-фенил-1,3,2-диоксабороланом (164,6 мг, 0,81 ммоль, 1,2 экв.), $\text{Pd}(\text{TPP})_4$ (77,5 мг, 0,067 ммоль, 0,1 экв.) и ТЭА (234,2 мкл, 1,68 ммоль, 2,5 экв.), а затем перемешивали в течение 3 часов. Смесь разбавляли дистиллированной водой (100 мл) и экстрагировали ЭА (100 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Hex:ЭА=3:1) с получением соединения М-2-11 (343 мг, 76%) в виде твердого вещества желтого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,76 (уш с, 1H), 7,96 (с, 1H), 7,38-7,28 (м, 5H), 6,98 (с, 1H), 6,93 (с, 1H), 4,78-4,68 (м, 3H), 4,16-4,04 (м, 2H), 3,92-3,84 (м, 1H), 3,79 (с, 3H), 3,24-3,12 (м, 1H), 3,08-2,90 (м, 1H), 2,34 (с, 3H), 0,85 (с, 9H), 0,05 (с, 6H); ЭИ-МС m/z : 673 (M^++1).

Получение соединения М-2-12

Желтый раствор М-2-11 (340 мг, 0,505 ммоль) в ТГФ (4,0 мл) и H_2O (2,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали уксусной кислотой (8,0 мл) и

перемешивали в течение 20 часов. Смесь разбавляли дистиллированной водой (10 мл) и экстрагировали ЭА (20 мл X 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Hex:ЭА=2:1) с получением соединения М-2-12 (250 мг, 89%) в виде твердого вещества желтого цвета.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,86 (уш с, 1H), 7,87 (с, 1H), 7,36-7,28 (м, 5H), 7,00 (с, 1H), 6,85 (с, 1H), 4,93 (уш с, 1H), 4,75 (с, 2H), 4,16-4,10 (м, 3H), 3,82 (с, 3H), 3,64 (с, 1H), 3,33 (т, $J=13,6, 5,6$ Гц, 1H), 2,77 (д, $J=17,2$ Гц, 1H) 2,34 (с, 3H); ЭИ-МС m/z : 558 (M^++1).

Получение соединения М-2-13

Гомогенный раствор оксалилхлорида (58 мкл, 0,67 ммоль, 1,5 экв.) в безводном ДХМ (1,0 мл) при -78°C в атмосфере N_2 обрабатывали ДМСО (80 мкл, 1,12 ммоль, 3,0 экв.) в безводном ДХМ (1,0 мл) и перемешивали в течение 15 минут. Раствор М-2-12 (250 мг, 0,45 ммоль) в безводном ДХМ (3,0 мл) по каплям добавляли к реакционной смеси и перемешивали в течение 3 часов с последующим добавлением ТЭА (500 мкл, 3,58 ммоль, 8,0 экв.) и перемешиванием в течение дополнительных 30 минут при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли дистиллированной водой (5,0 мл) и экстрагировали ЭА (15 мл X 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Hex:ЭА=3:1) с получением соединения М-2-13 (202 мг, 81%) в виде твердого вещества желтого цвета.

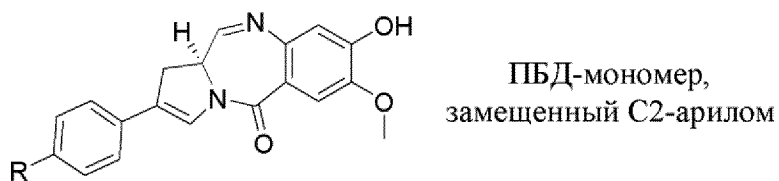
^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,45 (с, 1H), 7,38 (с, 5H), 7,12 (с, 1H), 5,84 (уш с, 1H), 5,18 (д, $J=10,6$ Гц, 1H), 4,31 (д, $J=12,8$ Гц, 1H), 4,18-4,06 (м, 3H), 3,84 (с, 3H), 3,72 (с, 1H), 3,43 (т, $J=10,0$ Гц, 1H), 3,12 (д, $J=18,0$ Гц, 1H), 2,32 (с, 3H); ЭИ-МС m/z : 556 (M^++1)

Получение соединения М-2

Желтый раствор М-2-13 (175 мг, 0,31 ммоль) в MeOH (16 мл) и H_2O (3,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали K_2CO_3 (109 мг, 0,79 ммоль, 2,5 экв.) и перемешивали в течение 2 часов. Смесь разбавляли водой (5 мл) и экстрагировали ЭА (10 мл X 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Hex:ЭА=2:1) с получением соединения М-2 (135 мг, 85%) в виде твердого вещества желтого цвета.

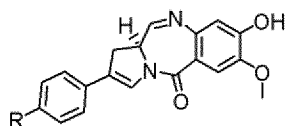
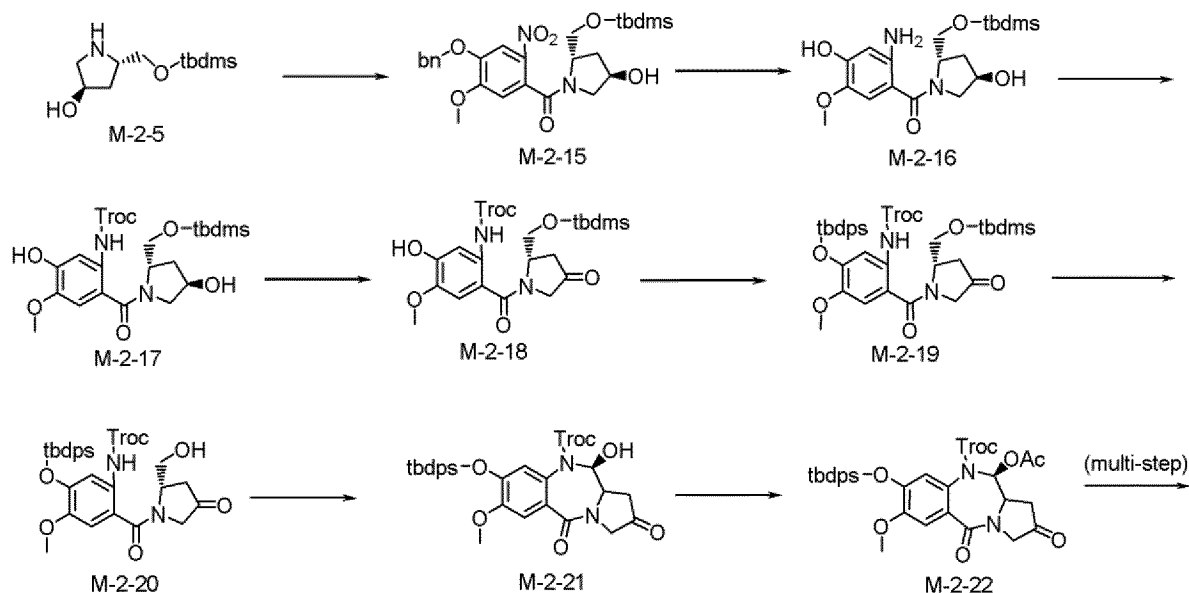
^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,49 (с, 1H), 7,37 (с, 5H), 6,94 (с, 1H), 5,93 (уш с, 1H), 5,88-5,82 (м, 1H), 5,14 (д, $J=11,6$ Гц, 1H), 4,32 (д, $J=10,8$ Гц, 1H), 4,18-4,00 (м, 2H), 3,97 (с, 3H), 3,41 (т, $J=9,6$ Гц, 1H), 3,10 (д, $J=16,0$ Гц, 1H); ЭИ-МС m/z : 514 (M^++1)

Пример 39: *Получение ПБД-соединения, несущего C2-арильные заместители*



R = H или OMe или OH

(включая Br или CN)



Получение соединения М-2-15

К раствору соединения Int-1 (10,24 г, 31,85 ммоль) в безводном ТГФ (20 мл) добавляли соединение М-2-5 (6,7 г, 28,95 ммоль) в ТГФ (20 мл) и ДИПЭА (15,1 мл, 86,86 ммоль) при 0 °С. После перемешивания в течение 5 часов при комнатной температуре реакционную смесь разбавляли дистиллированной водой (50 мл) и ЭА (2 X 150 мл). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-2-15 (12 г, 82%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,74 (с, 1H), 7,46-7,35 (м, 5H), 6,78 (с, 1H), 5,21 (с, 2H), 4,60-4,51 (м, 1H), 4,41 (уш с, 1H), 4,16-4,09 (м, 1H), 3,94 (с, 3H), 3,78-3,70 (м, 1H), 3,37 (дд, J=7,6 Гц, 4,0 Гц, 1H), 3,09 (д, J=11,6 Гц, 1H), 2,37-2,31 (м, 1H), 2,14-2,08 (м, 1H), 0,91 (с, 9H), 0,1 (д, J=4,4 Гц, 6H); ЭИ-МС m/z: 517 (M⁺+1).

Получение соединения М-2-16

К раствору соединения М-2-15 (12 г, 23,2 ммоль) в MeOH (200 мл) и ДМФА (20 мл) добавляли 5% Pd/C (2,5 г, 1,16 ммоль) в атмосфере H₂. Смесь перемешивали при

комнатной температуре в течение 5 часов. Смесь фильтровали через целит для удаления Pd/C и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения М-2-16 (8,8 г, 96%).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,71 (с, 1H), 6,30 (с, 1H), 5,79 (уш с, 1H), 4,58-4,50 (м, 1H), 4,42-4,36 (м, 1H), 4,10 (уш с, 1H), 3,79 (с, 3H), 3,59 (дд, $J=8,4$ Гц, 2,8 Гц, 1H), 3,50 (д, $J=11,2$ Гц, 1H), 2,30-2,24 (м, 1H), 2,06-2,01 (м, 1H), 0,89 (с, 9H), 0,05 (д, $J=1,6$ Гц, 6H); ЭИ-МС m/z : 397 (M^++1).

Получение соединения М-2-17

Раствор 2,2,2-трихлорэтилхлорформиата (555 мкл, 4,03 ммоль) в безводном ДХМ (20 мл) по каплям добавляли к раствору М-2-16 (2,0 г, 5,04 ммоль) и пиридина (2,0 мл, 25,2 ммоль) в безводном ДХМ (30 мл) при 0 °С. После перемешивания в течение 1 часа при 0 °С реакционную смесь промывали раствором CuSO_4 (50 мл) и соевым раствором (2 X 100 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-2-17 (1,23 г, 43%).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,05 (уш с, 1H), 7,66 (с, 1H), 6,79 (с, 1H), 5,92 (с, 1H), 5,21 (с, 2H), 4,385 (д, $J=12,4$ Гц, 1H), 4,70 (д, $J=11,6$ Гц, 1H), 4,56 (уш с, 1H), 4,30 (с, 1H), 4,14 (уш с, 1H), 3,84 (с, 3H), 3,58 (с, 2H), 2,36-2,26 (м, 1H), 2,12-2,0 (м, 1H), 1,93 (уш с, 1H), 0,90 (с, 9H), 0,04 (с, 6H); ЭИ-МС m/z : 593 (M^++1).

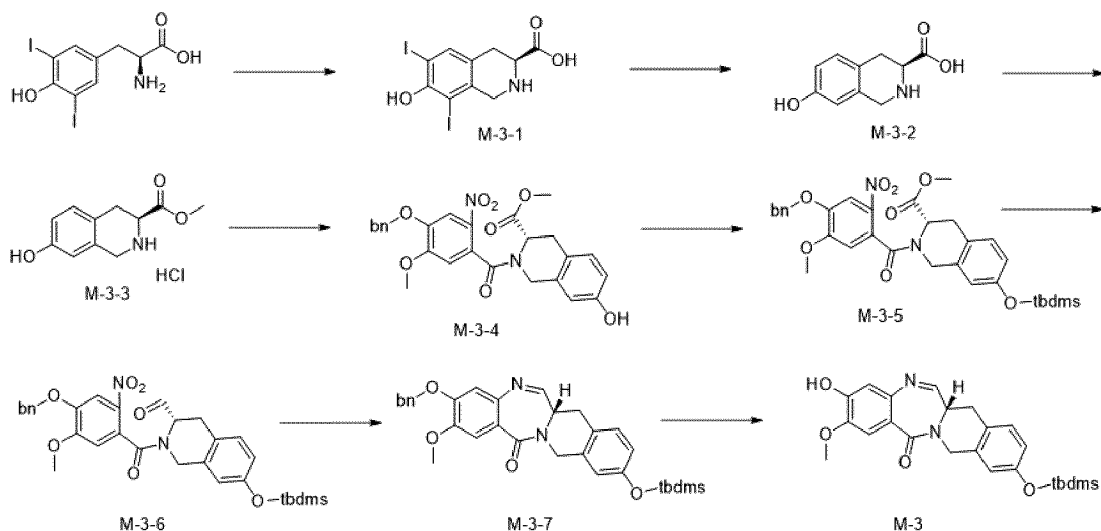
Получение соединения М-2-18

Раствор ДМСО (485,2 мкл, 6,45 ммоль) в безводном ДХМ (5 мл) по каплям добавляли к раствору оксалилхлорида (369 мкл, 4,3 ммоль) в безводном ДХМ (20 мл) при -78 °С. После перемешивания в течение 1 часа при -78 °С к реакционной смеси по каплям добавляли раствор М-2-17 (1,23 г, 2,15 ммоль) в безводном ДХМ (20 мл) и перемешивали в течение 2 часов при -78 °С. Через 2 часа к реакционной смеси добавляли ТЭА (3 мл, 21,5 ммоль) и перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Реакционную смесь экстрагировали раствором NH_4Cl (30 мл) и ДХМ (2 X 50 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-2-18 (906,7 мг, 76%). ЭИ-МС m/z : 571 (M^++1).

Получение ПБД-соединения, несущего C2-арильные заместители

ПБД-соединения синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в WO2005/085251 и Tetrahedron Letters 56(2015) 4512-4515, оба из которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

Пример 40: Получение соединения М-3



Получение соединения М-3-1

К раствору (S)-2-амино-3-(4-гидрокси-3,5-дииодфенил)пропановой кислоты (8,0 г, 18,48 ммоль) в концентрированной водной HCl (90 мл) добавляли 1,2-диметоксиэтан (7,5 мл) и параформальдегид (37% мас. в H₂O, 92,38 ммоль). Смесь энергично перемешивали и медленно нагревали до 72 °С. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 72 °С. Суспензию затем охлаждали на ледяной бане, а твердые вещества собирали фильтрацией, тщательно промывали 1,2-диметоксиэтаном (3 X 10 мл) и сушили в вакууме с получением соединения М-3-1 (2,49 г, выход 28%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 10,02 (уш с, 1H), 9,69 (с, 1H), 7,73 (с, 1H), 4,31 (дд, J=6,8 Гц, 4,4 Гц, 1H), 4,05 (к, J=18,8 Гц, 16 Гц, 2H), 3,21 (дд, J=12 Гц, 4,8 Гц, 1H), 3,12-3,02 (м, 1H); ЭИ-МС m/z: 446 (M⁺+1).

Получение соединения М-3-2

Смесь М-3-1 (1,4 г, 3,1 ммоль), ТЭА (1,4 мл, 10,38 ммоль) и 5% Pd/C (335 мг, 0,16 ммоль) в EtOH/ H₂O (40 мл/ мл) перемешивали при комнатной температуре в атмосфере H₂ в течение 3 часов. Смесь фильтровали через целит, а фильтрат концентрировали. Полученный остаток разбавляли водой, а осадок фильтровали. Твердое вещество промывали холодной водой и сушили в условиях высокого вакуума с получением соединения М-3-2 (337,3 мг, 60%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9,55 (уш с, 1H), 9,69 (с, 1H), 6,98 (д, J=9,0 Гц, 1H), 6,64 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,57 (с, 1H), 4,06 (с, 2H), 3,46 (дд, J=6,0 Гц, 4,8 Гц, 1H), 3,46 (дд, J=11,6 Гц, 5,2 Гц, 1H), 2,82-2,75 (м, 1H); ЭИ-МС m/z: 194 (M⁺+1).

Получение соединения М-3-3

К раствору М-3-2 (337,3 мг, 1,74 ммоль) в MeOH (5,0 мл) по каплям добавляли SOCl₂ (380 мкл, 5,24 ммоль) при 0°C в атмосфере N₂. После кипячения с обратным холодильником в течение 2 часов реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки (406 мг, выход 96%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9,83 (уш с, 2H), 9,56 (с, 1H), 7,05 (д, J=8,0 Гц, 1H), 6,70 (д, J=8,0 Гц, 1H), 6,63 (с, 1H), 4,53-4,49 (м, 1H), 4,28-4,22 (м, 2H), 3,81 (с, 1H), 3,18

(дд, $J=11,6$ Гц, 5,2 Гц, 1H), 3,04-2,97 (м, 1H); ЭИ-МС m/z : 208 (M^++1).

Получение соединения М-3-4

К раствору соединения Int-1 (640,9 мг, 1,86 ммоль) в безводном ТГФ (4,0 мл) добавляли соединение М-3-3 (350 мг, 1,43 ммоль) в ДМФА (5,0 мл) с последующим добавлением ДИПЭА (750 мкл, 4,3 ммоль) при 0 °С. После перемешивания в течение 2 часов при комнатной температуре смесь разбавляли дистиллированной водой (10 мл) и ЭА (2 X 50 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-3-4 (616 мг, 87%); ЭИ-МС m/z : 493 (M^++1).

Получение соединения М-3-5

Трет-бутилдиметилсилилхлорид (188,5 мг, 1,25 ммоль) добавляли к раствору М-3-4 (616 мг, 1,25 ммоль) и имидазола (102,2 мг, 1,50 ммоль) в безводном ДХМ (6,0 мл) при 0 °С. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию гасили 2N HCl (5 мл) и соевым раствором (10 мл) и экстрагировали ДХМ (10 мл x 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-3-5 (655,2 мг, 86%). ЭИ-МС m/z : 607 (M^++1).

Получение соединения М-3-6

К раствору соединения М-3-5 (309 мг, 0,51 ммоль) в безводном ДХМ (1,5 мл) и толуоле (3,5 мл) при -78°С в атмосфере N_2 по каплям добавляли DIBAL (990 мкл, 0,99 ммоль, 1,0M в толуоле). После перемешивания в течение 1,5 часов реакцию гасили MeOH (0,4 мл) и 2N HCl (15 мл) при -78 °С, а затем экстрагировали H_2O (20 мл) и ЭА (30 мл x 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-3-6 (280,4 мг, 95%); ЭИ-МС m/z : 577 (M^++1).

Получение соединения М-3-7

К раствору соединения М-3-6 (280,4 мг, 0,49 ммоль) в ТГФ (6,0 мл) и дистиллированной воды (86 мл) добавляли $Na_2S_2O_4$ (677,2 мг, 3,89 ммоль) при комнатной температуре. После перемешивания в течение 5 часов смесь концентрировали четыре раза при пониженном давлении, используя толуол в качестве соразтворителя, удаляя тем самым воду. Полученное твердое вещество желтого цвета растворяли в безводном MeOH (12 мл). К нему добавляли ацетилхлорид (345,6 мкл, 4,86 ммоль). После перемешивания в течение 15 минут реакционную смесь фильтровали, а фильтрат перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь доводили до pH 7 добавлением насыщенного раствора $NaHCO_3$ и разбавляли дистиллированной водой (10 мл) и ЭА (2 × 50 мл). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-3-7 (107,7 мг, 42%).

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,55 (с, 1H), 7,48-7,31 (м, 6H), 7,16 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 6,94 (с, 1H), 6,82-6,76 (м, 2H), 5,28-5,15 (м, 2H), 4,93 (д, $J=15,6$ Гц, 1H), 4,46 (д, $J=15,6$ Гц,

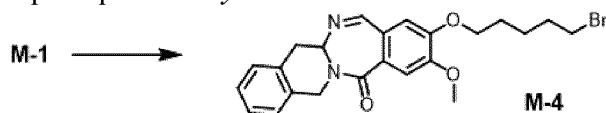
1H), 3,97 (с, 3H), 3,92-3,86 (м, 1H), 3,18 (дд, J=9,6 Гц, 5,6 Гц, 1H), 3,10-3,02 (м, 1H), 0,99 (с, 9H), 0,21 (с, 6H); ЭИ-МС m/z: 529 (M⁺+1).

Получение соединения М-3

К раствору соединения М-3-7 (53,4 мг, 0,1 ммоль) в EtOH (6,0 мл) добавляли 5% Pd/C (107,5 мг, 0,05 ммоль) в атмосфере N₂. А затем к реакционной смеси добавляли 1,4-циклогексадиен (764,4 мкл, 8,08 ммоль). После перемешивания в течение 3 часов смесь фильтровали через целит для удаления Pd/C и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения М-3 (30,3 мг, 68%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,54 (с, 1H), 7,47 (д, J=5,2 Гц, 1H), 7,20 (д, J=8,82 Гц, 1H), 6,87 (с, 1H), 6,84-6,75 (м, 2H), 5,98 (с, 1H), 4,93 (д, J=15,6 Гц, 1H), 4,47 (д, J=15,2 Гц, 1H), 3,98 (с, 3H), 3,94-3,85 (м, 1H), 3,19 (дд, J=11,2 Гц, 5,2 Гц, 1H), 3,12-3,02 (м, 1H), 0,99 (с, 9H), 0,21 (с, 6H); ЭИ-МС m/z: 439 (M⁺+1).

Пример 41: Получение соединения М-4

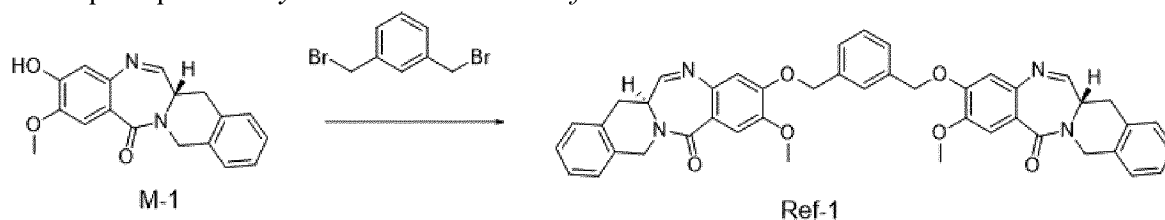


Желтый раствор соединения М-1 (6,0 мг, 0,019 ммоль) и 1,5-дибромпентана (5,26 мкл, 0,038 ммоль, 2,0 экв.) в ДМФА (1 мл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ обрабатывали K₂CO₃ (2,7 мг, 0,019 ммоль, 1,0 экв.) и перемешивали в течение 7 часов. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонок: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения 115 (7,3 мг, 82%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z: 458 (M⁺+1).

Получение гомодимеров

Пример 42: Получение соединения Ref-1

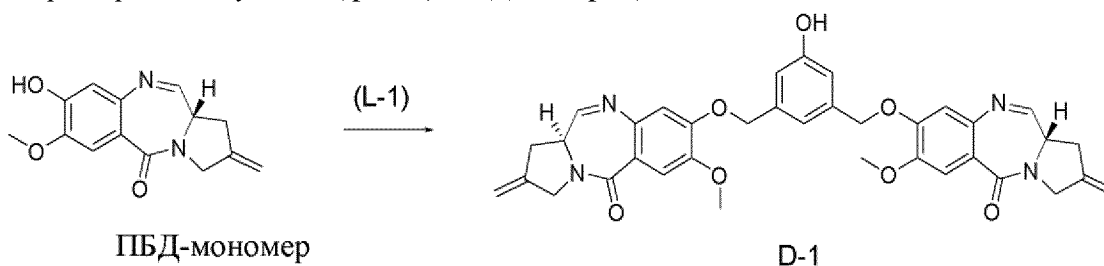


Ref-1 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в WO2016/115191 A1. К раствору соединения М-1 (10,0 мг, 0,03 ммоль) и 1,3-бис(бромметил)бензола (4,1 мг, 0,015 ммоль) в ДМФА (1,0 мл) добавляли K₂CO₃ (4,7 мг, 0,034 ммоль) в атмосфере N₂. Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ (колонок: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50×250 мм; скорость потока: 40 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А:

растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения Ref-1 (8,0 мг, 71%).

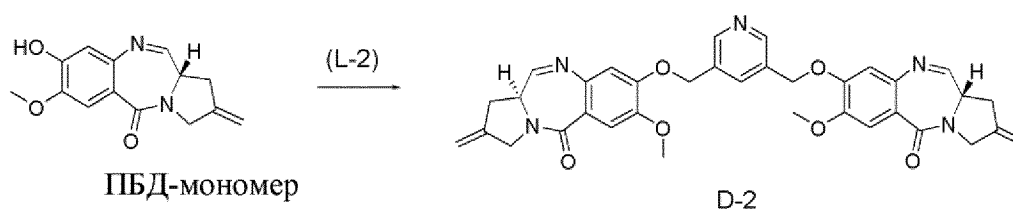
ЭИ-МС m/z : 719 ($M^+ + 1$).

Пример 43: Получение (фенол)-ПБД-димера (D-1)



К раствору соединения ПБД-мономера (индекс EP20071813614 A1, 29 мг, 0,11 ммоль) и соединения L-1 (20 мг, 0,05 ммоль) в ДМФА (2 мл) добавляли K_2CO_3 (15,4 мг, 0,11 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 17 часов смесь разбавляли ЭА (1 мл) и добавляли 1М ТБАФ в ТГФ (51 мкл, 0,05 ммоль). Смесь перемешивали в течение дополнительного 1 часа, промывали H_2O (50 мл) и водным раствором 2N HCl (5 мл) и экстрагировали ЭА (100 мл). Полученный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50×250 мм; скорость потока: 40 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения D-1 (17 мг, 53%). ЭИ-МС m/z : 635 ($M^+ + 1$).

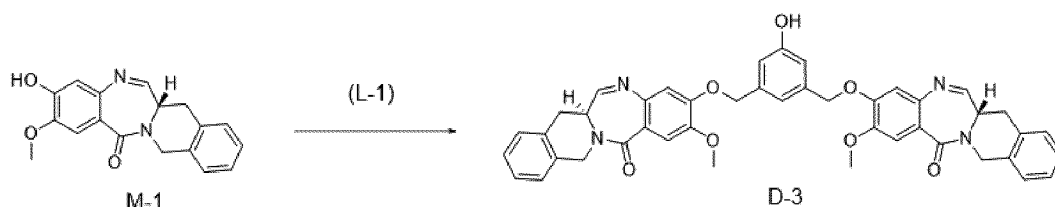
Пример 44: Получение (пиридин)-ПБД-димера (D-2)



К раствору соединения ПБД-мономера (индекс EP20071813614 A1, 39 мг, 0,15 ммоль) и соединения L-2 (20 мг, 0,08 ммоль) в ДМФА (2 мл) добавляли K_2CO_3 (21 мг, 0,15 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 5 часов смесь разбавляли ЭА (100 мл). Органический слой промывали H_2O (50 мл) и водным раствором 2N HCl (5 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения D-2 (46,4 мг, 52%).

ЭИ-МС m/z : 620 (M^+).

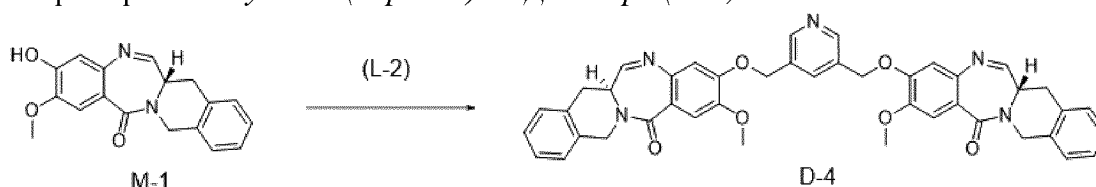
Пример 45: Получение (фенол)-ТБД-димера (D-3)



К раствору соединения М-1 (31 мг, 0,10 ммоль) и соединения L-1 (20 мг, 0,05 ммоль) в ДМФА (1,0 мл) добавляли K_2CO_3 (14 мг, 0,10 ммоль) в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 7 часов при комнатной температуре реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50×250 мм; скорость потока: 40 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в АСN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения D-3 (13 мг, 30%).

ЭИ-МС m/z : 734($M^+ + 1$).

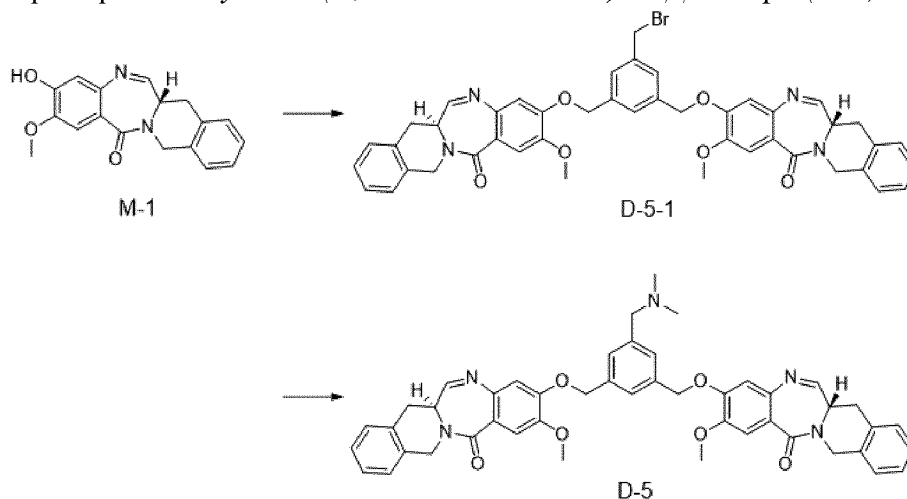
Пример 46: Получение (тиридин)-ТБД-димера (D-4)



Соединение D-4 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 44 (выход 85%).

ЭИ-МС m/z : 720 ($M^+ + 1$).

Пример 47: Получение (N, N-диметилбензил)-ТБД-димера (D-5)



Получение соединения D-5-1

К раствору соединения М-1 (100 мг, 0,32 ммоль) и 1,3,5-трис(бромметил)бензола (57 мг, 0,16 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли K_2CO_3 (45 мг, 0,32 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 4 часов добавляли ЭА (100 мл), H_2O (50 мл) и водный раствор 2N HCl (5 мл) для проведения экстракции, полученный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением

соединения D-5-1 (54 мг, 42%).

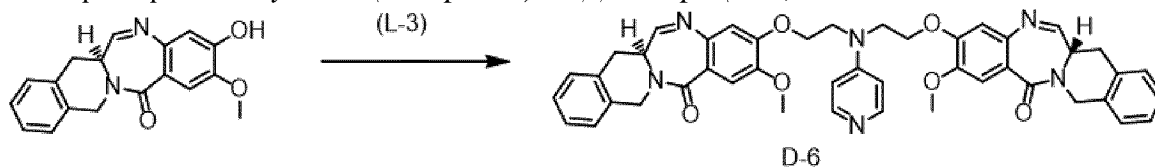
ЭИ-МС m/z : 812 (M^+).

Получение соединения D-5

Соединение D-5-1 (50 мг, 0,01 ммоль) растворяли в диметиламине (1 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 1 часа смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50×250 мм; скорость потока: 40 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в АСN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения D-5 (2,2 мг, 17%).

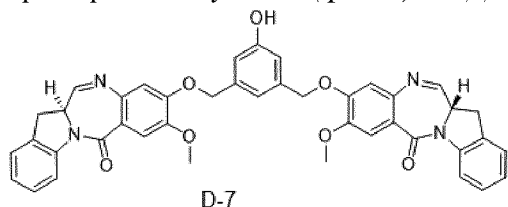
ЭИ-МС m/z : 776 ($M^+ + 1$).

Пример 48: Получение (*N*-тиридин)-ТБД-димера (D-6)



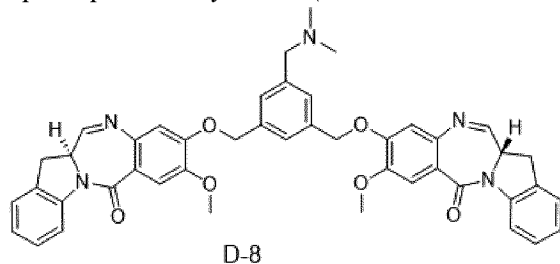
К раствору соединения M-1 (16 мг, 0,05 ммоль) и соединения L-3 (10 мг, 0,03 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли K_2CO_3 (11 мг, 0,08 ммоль) при 50°C в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 5 часов смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в АСN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения D-6 (10,5 мг, 53%). ЭИ-МС m/z : 763 (M^+).

Пример 49: Получение (фенол)-ИБД-димера (D-7)



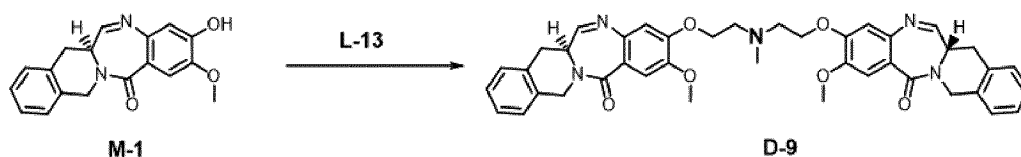
Соединение D-7 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 43. ЭИ-МС m/z : 707 ($M^+ + 1$).

Пример 50: Получение (*N,N*-диметилбензил)-ИБД-димера (D-8)



Соединение D-8 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 47 (выход 50%). ЭИ-МС m/z : 748 ($M^+ + 1$).

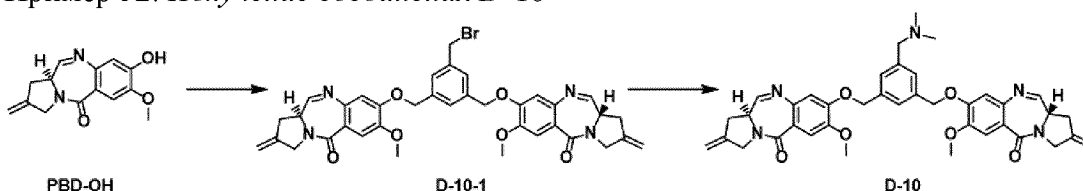
Пример 51: Получение соединения D-9



Желтый раствор соединения М-1 (50 мг, 0,16 ммоль) и соединения L-13 (19,8 мг, 0,081 ммоль, 0,5 экв.) в ДМФА (3 мл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ обрабатывали K₂CO₃ (112 мг, 0,81 ммоль, 5,0 экв.) и перемешивали в течение 3 часов. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 40 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения D-9 (31 мг, 55%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 700 ($M^+ + 1$).

Пример 52: Получение соединения D-10



Получение соединения D-10-1

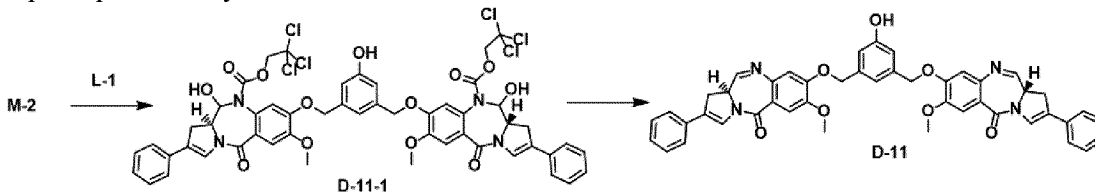
Желтый раствор соединения ПБД-ОН (250 мг, 0,97 ммоль) и 1,3,5-трибромметилбензола (172,7 мг, 0,48 ммоль, 0,5 экв.) в ДМФА (2,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ обрабатывали K₂CO₃ (200,8 мг, 1,45 ммоль, 1,5 экв.) и перемешивали в течение 3 часов. Соединение D-10-1 использовали непосредственно на следующей стадии без дальнейшей очистки.

Получение соединения D-10

Соединение D-10 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 47.

Выход 23% в виде твердого вещества белого цвета. ЭИ-МС m/z : 658 ($M^+ + 1$).

Пример 53: Получение соединения D-11



Получение соединения D-11-1

Желтый раствор соединения М-2 (20 мг, 0,038 ммоль) и L-1 (7,6 мг, 0,019 ммоль, 0,5 экв.) в ДМФА (1 мл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ обрабатывали K₂CO₃ (6,6 мг, 0,048 ммоль, 4,0 экв.) и перемешивали в течение 20 часов. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 40 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1%

муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения D-11-1 (10 мг, 46%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 1146 ($M^+ + 1$).

Получение соединения D-11

Гомогенный раствор соединения D-11-1 (10 мг, 0,009 ммоль), 10% Cd/Pb (200 мг) в ТГФ (1,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали 1N NH_4OAc (500 мкл) и перемешивали в течение 7 дней. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения D-11 (0,6 мг, 10%) в виде твердого вещества белого цвета.

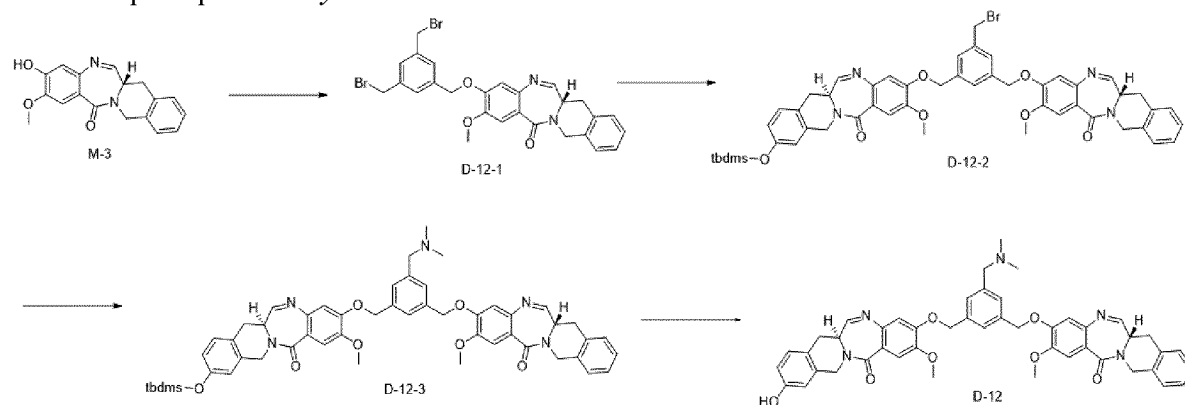
ЭИ-МС m/z : 759 ($M^+ + 1$).

Получение гетеродимеров

Таблица В.

Соединение №	Структура
D-13	
D-12	

Пример 54: Получение соединения D-12



Получение соединения D-12-1

К раствору соединения M-1 (40 мг, 0,13 ммоль) и 1,3,5-трис(бромметил)бензола (69,4 мг, 0,19 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли K_2CO_3 (17,9 мг, 0,13 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 5 часов добавляли ЭА (2 X 10 мл), H_2O (5 мл) и водный раствор 2N HCl (3 мл) для проведения экстракции, полученный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали

и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения D-12-1 (54 мг, 42%).

ЭИ-МС m/z : 585 ($M^+ + 1$).

Получение соединения D-12-2

К раствору соединения M-3 (10 мг, 0,023 ммоль) и D-12-1 (13,3 мг, 0,023 ммоль) в ДМФА (2,0 мл) добавляли K_2CO_3 (7,9 мг, 0,056 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 8 часов добавляли ЭА (2 X 15 мл), H_2O (5 мл) и водный раствор 2N HCl (3 мл) для проведения экстракции, полученный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения D-12-2 (2,5 мг, 12%).

ЭИ-МС m/z : 943 ($M^+ + 1$).

Получение соединения D-12-3

Диметиламин (5,2 мкл, 0,008 ммоль) добавляли к раствору соединения D-12-2 (2,5 мг, 0,003 ммоль) в ДМФА (0,5 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали в течение 1 часа. После завершения реакции смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонок: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения D-12-3 (1,5 мг, 63%).

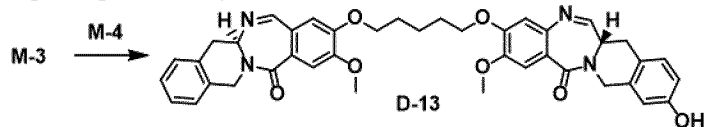
ЭИ-МС m/z : 907 ($M^+ + 1$).

Получение соединения D-12

К раствору соединения D-12-3 (1,5 мг, 0,002 ммоль), растворенного в ТГФ (1,0 мл) и H_2O (200 мкл), добавляли конц. HCl (100 мкл), затем смесь перемешивали в течение 1 часа при 0°C в атмосфере N_2 . Смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонок: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения D-12 (0,3 мг, 23%).

ЭИ-МС m/z : 792 ($M^+ + 1$).

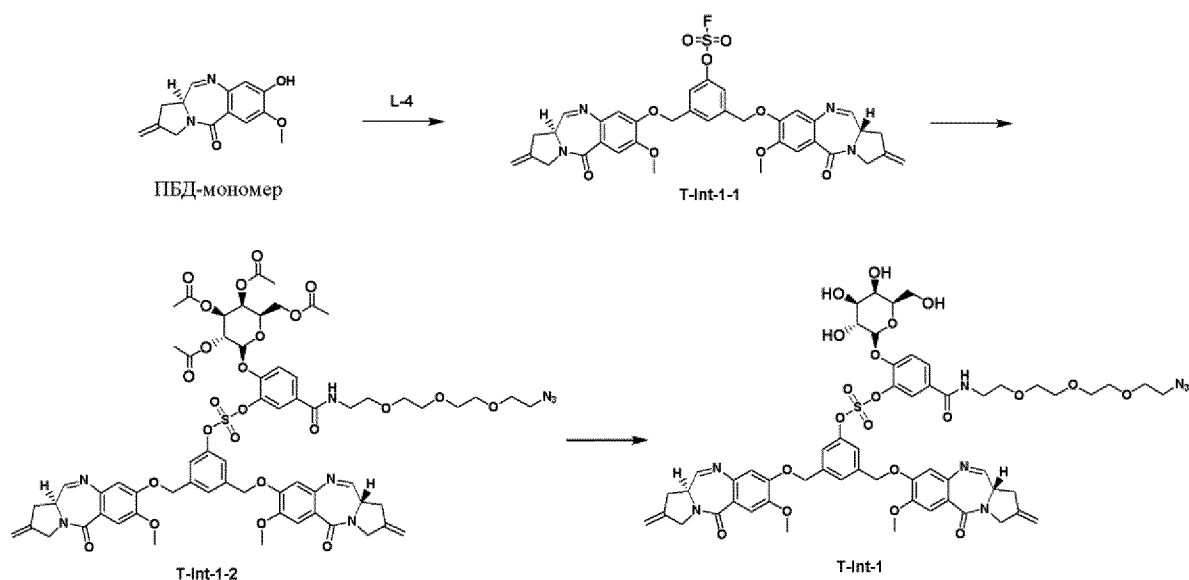
Пример 55: Получение соединения D-13



Желтый раствор соединения M-3 (2,3 мг, 0,0056 ммоль) и M-4 (3,8 мг, 0,0084 ммоль, 1,5 экв.) в ДМФА (500 мкл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали K_2CO_3 (3,9 мг, 0,028 ммоль, 5,0 экв.) и перемешивали в течение ночи. Смесь разбавляли дистиллированной водой (2,0 мл) и экстрагировали ЭА (5 мл X 2). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток разбавляли MeOH (1,0 мл), добавляли AcCl (100 мкл) и

смесь перемешивали при той же температуре в атмосфере N_2 в течение 30 минут. Смесь непосредственно очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения D-13 (1,1 мг, 28%) в виде твердого вещества белого цвета. ЭИ-МС m/z : 701 ($M^+ + 1$).

Пример 56: Получение соединения T-Int-1



Получение соединения T-Int-1-1

К раствору соединения ПБД-мономера (индекс EP20071813614 A1, 22 мг, 0,08 ммоль) и соединения L-4 (14 мг, 0,04 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли K_2CO_3 (12 мг, 0,08 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 15 часов при комнатной температуре реакционную смесь очищали ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-1-1 (13,8 мг, 51%). ЭИ-МС m/z : 717 ($M^+ + 1$).

Получение соединения T-Int-1-2

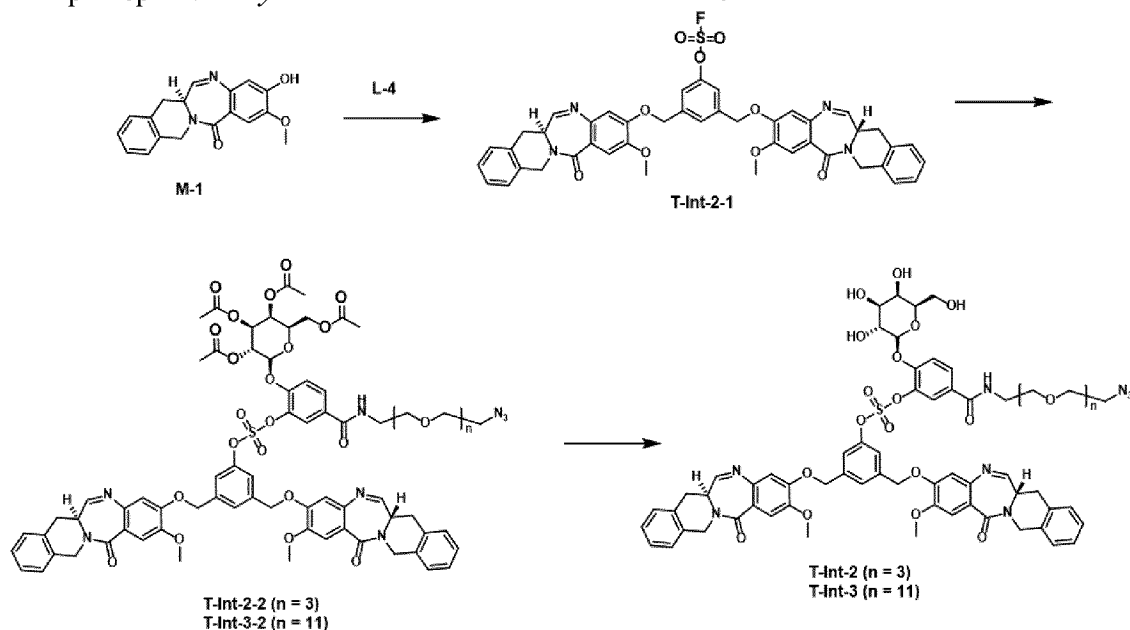
К раствору соединения T-Int-1-1 (10 мг, 0,01 ммоль) и соединения Int-TG1 (11 мг, 0,01 ммоль) в ACN (1 мл) добавляли ВЕМР (0,8 мг, 0,003 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 1 часа при комнатной температуре реакционную смесь очищали ВЭЖХ с получением соединения T-Int-1-2 (12 мг, 63%). ЭИ-МС m/z : 1382 ($M^+ + 1$).

Получение соединения T-Int-1

К раствору соединения T-Int-1-2 (10 мг, 0,007 ммоль) в MeOH (1,0 мл) добавляли K_2CO_3 (5 мг, 0,036 ммоль) в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 2 часов при комнатной температуре смесь очищали ВЭЖХ с получением соединения T-Int-1 (7,4 мг,

85%). ЭИ-МС m/z : 1214 (M^{+1}).

Пример 57: Получение соединений T-Int-2 и T-Int-3



Получение соединения T-Int-2-1

К раствору соединения M-1 (179 мг, 0,58 ммоль) и соединения L-4 (100 мг, 0,28 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли K_2CO_3 (80 мг, 0,58 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 7 часов при комнатной температуре добавляли ЭА (100 мл) и H_2O (50 мл) для проведения экстракции, полученный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией с получением соединения T-Int-2-1 (117 мг, 52%). ЭИ-МС m/z : 817 (M^{+}).

Получение соединения T-Int-2-2

К раствору соединения T-Int-2-1 (45 мг, 0,06 ммоль) и соединения Int-TG1 (55 мг, 0,07 ммоль) в ACN (1 мл) добавляли ВЕМР (20 мкл, 0,07 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 5 часов при комнатной температуре реакционную смесь очищали ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50×250 мм; скорость потока: 40 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-2-2 (67 мг, 83%). ЭИ-МС m/z : 1482(M^{+1}).

Получение соединения T-Int-3-2

Выход 63%

ЭИ-МС m/z : 1834 (M^{+1}).

Получение соединения T-Int-2

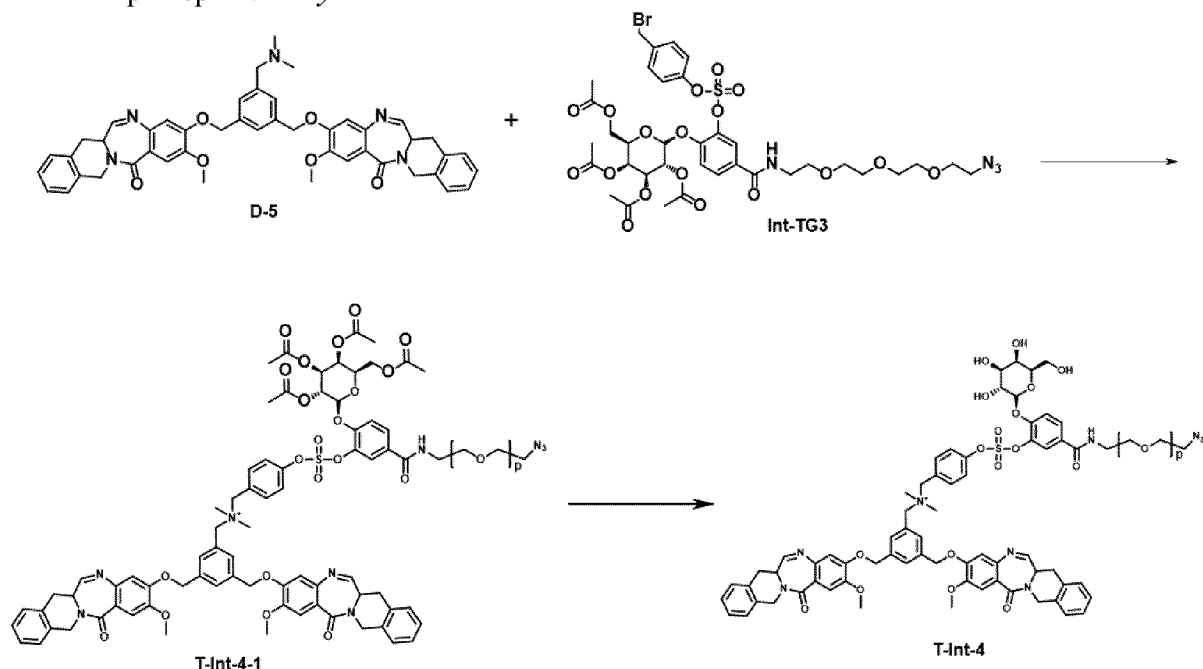
К раствору соединения T-Int-2-2 (67 мг, 0,05 ммоль) в MeOH (4 мл) добавляли K_2CO_3 (31 мг, 0,27 ммоль) в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 2 часов при комнатной температуре реакционную смесь очищали ВЭЖХ с получением соединения T-Int-2 (42 мг, 71%). ЭИ-МС m/z : 1314 (M^{+1}).

Получение соединения T-Int-3

Выход 83%

ЭИ-МС m/z : 1666 (M^{+1}).

Пример 58: Получение соединения T-Int-4



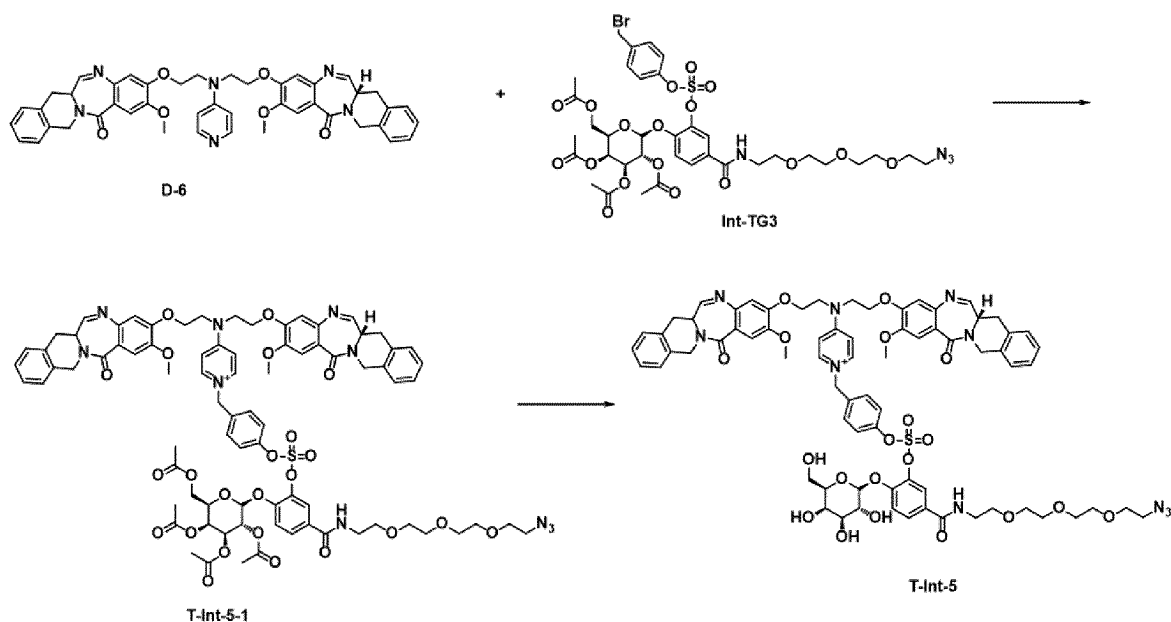
Получение соединения T-Int-4-1

К раствору соединения D-5 (8,0 мг, 0,01 ммоль) и соединения Int-TG3 (11,5 мг, 0,01 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли ДИПЭА (5,4 мкл, 0,03 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 6 часов при комнатной температуре реакционную смесь очищали ВЭЖХ с получением соединения T-Int-4 -1 (11,9 мг, 71%). ЭИ-МС m/z : 1630 (M^{+1}).

Получение соединения T-Int-4

К раствору соединения T-Int-3-1 (11,9 мг, 0,01 ммоль) в MeOH (1 мл) добавляли K_2CO_3 (5 мг, 0,04 ммоль) в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 1 часа при комнатной температуре реакционную смесь очищали ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 50×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 80: 20-20: 80, 45 минут, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-4 (6,4 мг, 60%). ЭИ-МС m/z : 1462 (M^{+1}).

Пример 59: Получение соединения T-Int-5



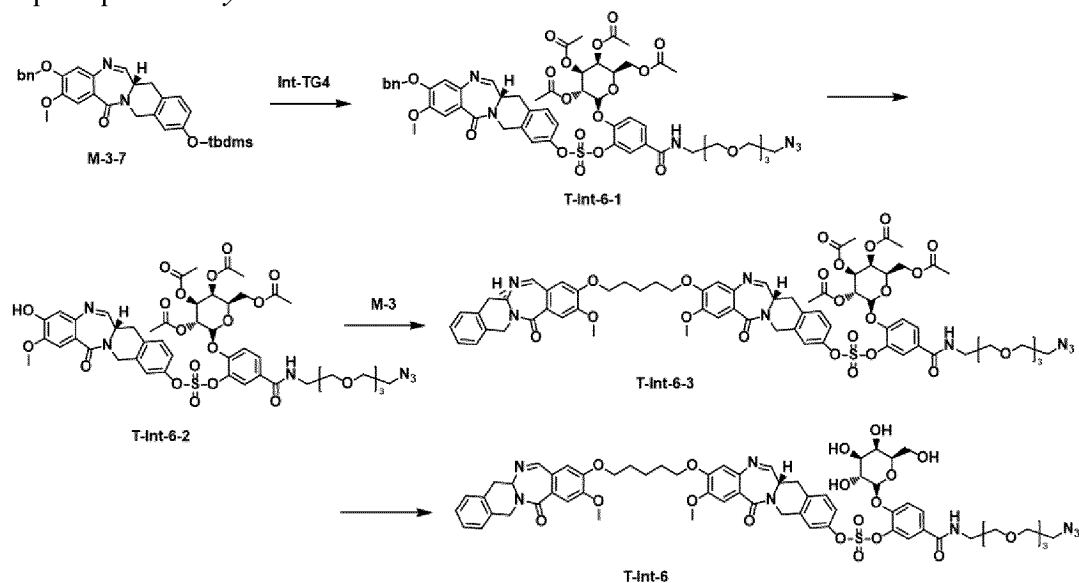
Получение соединения T-Int-5-1

К раствору соединения D-6 (5,0 мг, 0,006 ммоль) и Int-TG3 (9,0 мг, 0,009 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли ДИПЭА (5,0 мкл, 0,029 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 6 часов при комнатной температуре реакционную смесь очищали ВЭЖХ (обращенно-фазовая, C18, градиент $H_2O/ACN/0,1\%$ муравьиная кислота) с получением соединения T-Int-5-1 (10,0 мг, 94%). ЭИ-МС m/z : 1617 (M^{+1}).

Получение соединения T-Int-5

К раствору соединения T-Int-5-1 (10,0 мг, 0,006 ммоль) в MeOH (1 мл) добавляли K_2CO_3 (4,3 мг, 0,031 ммоль) в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 1 часа при комнатной температуре реакционную смесь очищали ВЭЖХ (обращенно-фазовая, C18, градиент $H_2O/ACN/0,1\%$ муравьиная кислота) с получением соединения T-Int-5 (6,1 мг, 68%). ЭИ-МС m/z : 1449 (M^{+1}).

Пример 60: Получение соединения T-Int-6



Получение соединения T-Int-6-1

Гомогенный раствор M-3-7 (23 мг, 0,043 ммоль) и Int-TG4 (33,4 мг, 0,043 ммоль, 1,0 экв.) в ACN (2,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ обрабатывали ВЕМР (5,0 мкл, 0,017 ммоль, 0,4 экв.) и перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-6-1 (37,8 мг, 75%) в виде твердого вещества желтого цвета.

ЭИ-МС m/z: 1162 (M⁺+1).

Получение соединения T-Int-6-2

Гомогенный раствор T-Int-6-1 (36,8 мг, 0,032 ммоль) в сухом ДХМ (3,0 мл) при 0°C в атмосфере N₂ обрабатывали метансульфоновой кислотой (0,5 мл) в ДХМ (2 мл) и перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-6-2 (17,7 мг, 52%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z: 1072 (M⁺+1).

Получение соединения T-Int-6-3

Соединение T-Int-6-3 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 55.

Выход 64% в виде твердого вещества белого цвета.

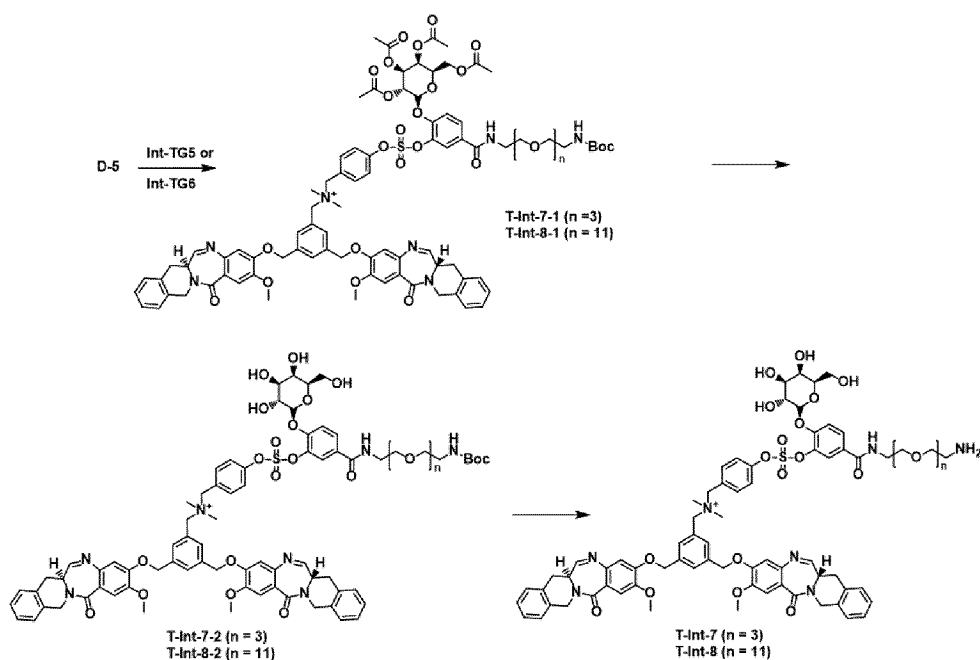
ЭИ-МС m/z: 1448 (M⁺+1).

Получение соединения T-Int-6

Гомогенный раствор соединения T-Int-6-3 (20,7 мг, 0,014 ммоль) в MeOH (1,0 мл) при 0°C в атмосфере N₂ обрабатывали K₂CO₃ (11,9 мг, 0,086 ммоль, 6,0 экв.) и перемешивали в течение 30 минут. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-6 (18,3 мг, 67%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z: 1280 (M⁺+1).

Пример 61: *Получение соединений T-Int-7 и T-Int-8*



Получение соединения T-Int-7-1

Гомогенный раствор D-5 (50 мг, 0,064 ммоль) и Int-TG5 (64,9 мг, 0,064 ммоль, 1,0 экв.) в ДМФА (2,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали ДИПЭА (44,9 мкл, 0,26 ммоль, 4,0 экв.) и перемешивали в течение 4 часов. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в АСН, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-7-1 (77 мг, 70%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 1704 ($\text{M}^+ + 1$).

Получение соединения T-Int-7-2

Соединение T-Int-7-2 синтезировали аналогично способу получения соединения T-Int-6 в примере 60.

Выход 81%, твердое вещество белого цвета

ЭИ-МС m/z : 1536 ($\text{M}^+ + 1$).

Получение соединения T-Int-7

Гомогенный раствор соединения T-Int-7-2 (56 мг, 0,036 ммоль) в безводном ДХМ (1,0 мл) при 0°C в атмосфере N_2 обрабатывали ТФУ (0,2 мл) в ДХМ (1 мл) и перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в АСН, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-7 (44,4 мг, 82%) в виде твердого вещества цвета слоновой кости.

ЭИ-МС m/z : 1436 ($\text{M}^+ + 1$).

T-Int-8 синтезировали аналогично способу получения соединения T-Int-7.

Получение соединения T-Int-8-1

Выход 84%, твердое вещество желтого цвета

ЭИ-МС m/z : 2057 ($M^+ + 1$), 1029 ($M/2^+ + 1$).

Получение соединения T-Int-8-2

Выход 84%, бесцветное масло

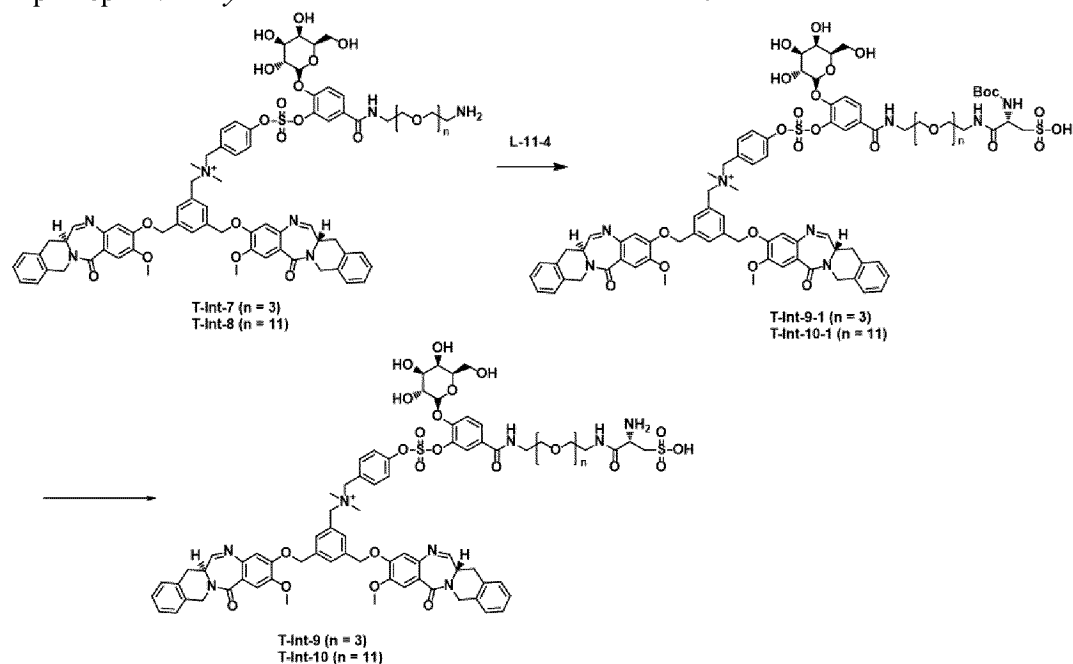
ЭИ-МС m/z : 1889 ($M^+ + 1$), 945 ($M/2^+ + 1$).

Получение соединения T-Int-8

Выход 74%, твердое вещество цвета слоновой кости

ЭИ-МС m/z : 1789 ($M^+ + 1$), 895 ($M/2^+ + 1$).

Пример 62: Получение соединений T-Int-9 и T-Int-10



Получение соединения T-Int-9-1

Гомогенный раствор T-Int-7 (20 мг, 0,014 ммоль) и L-11-4 (5,1 мг, 0,014 ммоль, 1,0 экв.) в ДМФА (2,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали ДИПЭА (7,3 мкл, 0,042 ммоль, 3,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов. Смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-9-1 (19,9 мг, 85%) в виде твердого вещества желтого цвета.

ЭИ-МС m/z : 1687 ($M^+ + 1$), 844 ($M/2^+ + 1$).

Получение соединения T-Int-9

T-Int-9 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 62.

Выход 72%, твердое вещество цвета слоновой кости

ЭИ-МС m/z : 1789 ($M^+ + 1$), 895 ($M/2^+ + 1$).

T-Int-10 синтезировали аналогично способу получения соединения T-Int-9.

Получение соединения T-Int-10-1

Выход 75%, твердое вещество цвета слоновой кости

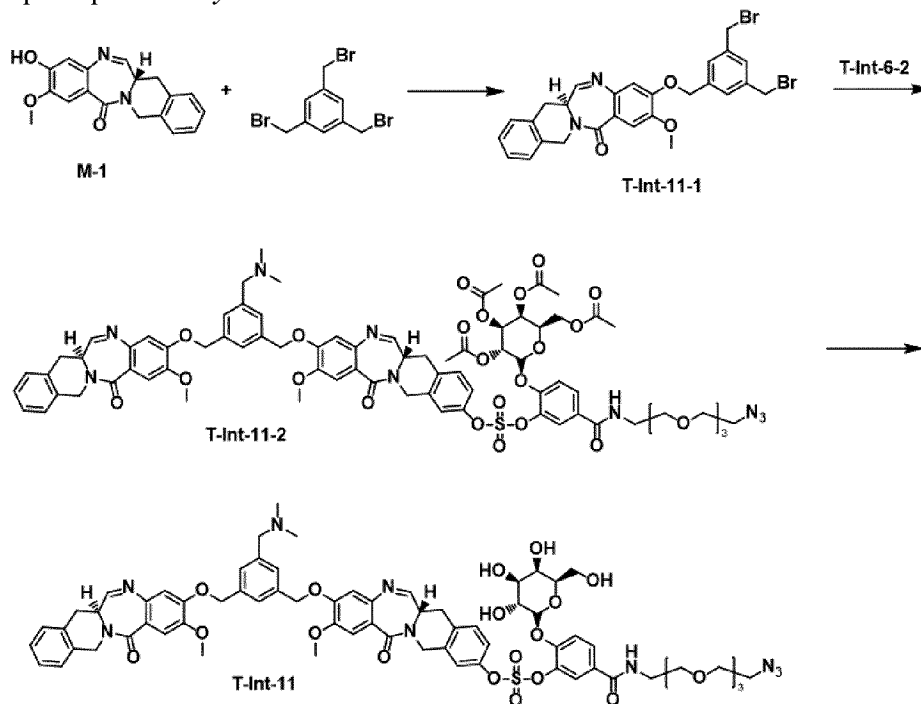
ЭИ-МС m/z : 2040 (M^++1), 1010 ($M/2^++1$).

Получение соединения T-Int-10

Выход 60%, твердое вещество цвета слоновой кости

ЭИ-МС m/z : 1940 (M^++1), 970 ($M/2^++1$).

Пример 63: Получение соединения T-Int-11



Получение соединения T-Int-11-1

Желтый раствор соединения M-1 (50 мг, 0,13 ммоль) и 1,3,5-трис(бромметил)бензола (173,6 мг, 0,49 ммоль, 3,0 экв.) в ДМФА (2 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали K_2CO_3 (44,8 мг, 0,32 ммоль, 2,0 экв.) и перемешивали в течение 3 часов. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в ACN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-11-1 (35 мг, 37%) в виде твердого вещества цвета слоновой кости.

ЭИ-МС m/z : 585 (M^++1).

Получение соединения T-Int-11-2

Соединение T-Int-11-2 синтезировали аналогично способу получения соединения D-12-2 в примере 54.

Выход 60%, твердое вещество цвета слоновой кости

ЭИ-МС m/z : 1539 (M^++1).

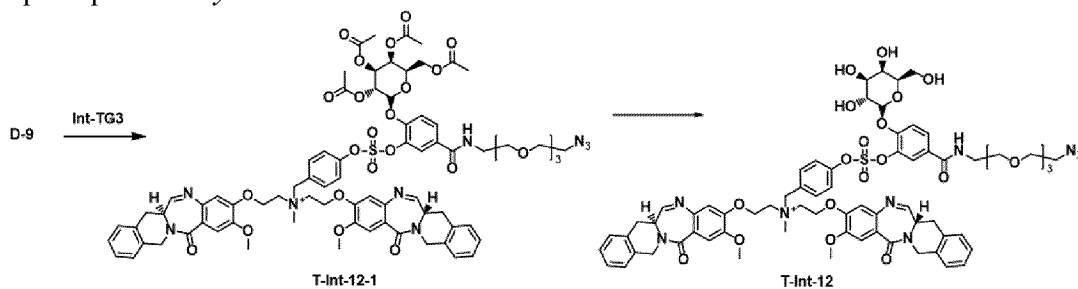
Получение соединения T-Int-11

Соединение T-Int-11 синтезировали аналогично способу получения соединения T-Int-1 в примере 56.

Выход 72%, твердое вещество белого цвета

ЭИ-МС m/z : 1371 ($M^+ + 1$).

Пример 64: *Получение соединения T-Int-12*



Соединение T-Int-12 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 59.

Получение соединения T-Int-12-1

Выход 54%, твердое вещество цвета слоновой кости

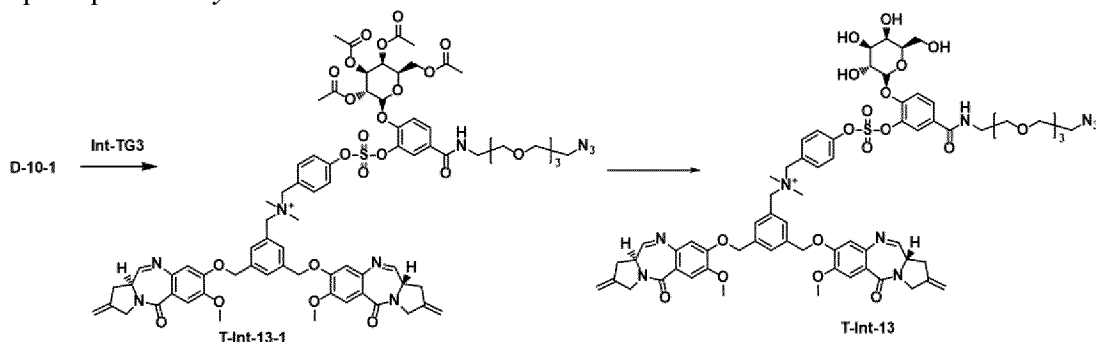
ЭИ-МС m/z : 1544 ($M^+ + 1$).

Получение соединения T-Int-12

Выход 74%, твердое вещество желтого цвета

ЭИ-МС m/z : 1386 ($M^+ + 1$).

Пример 65: *Получение соединения T-Int-13*



Соединение T-Int-13 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 59.

Получение соединения T-Int-13-1

Выход 53%, твердое вещество белого цвета

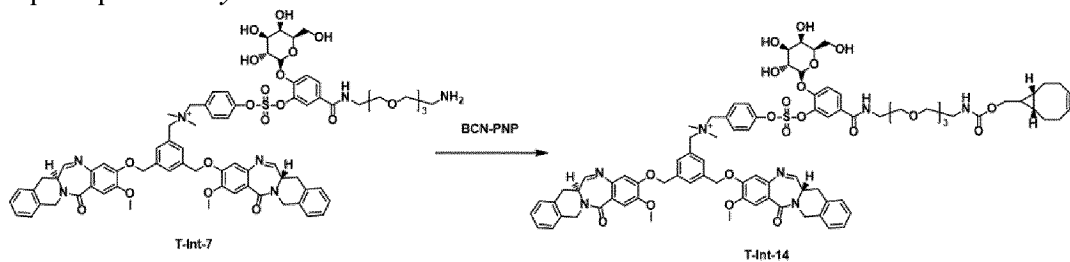
ЭИ-МС m/z : 1530 ($M^+ + 1$).

Получение соединения T-Int-13

Выход 81%, твердое вещество желтого цвета

ЭИ-МС m/z : 1362 ($M^+ + 1$).

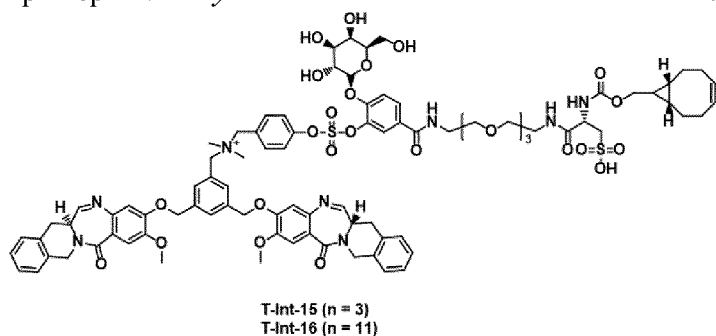
Пример 66: *Получение соединения T-Int-14*



Гомогенный раствор соединения T-Int-7 (50 мг, 0,035 ммоль) и BCN-PNP (11 мг, 0,035 ммоль, 1,0 экв.) в ДМФА (3,0 мл) при комнатной температуре в атмосфере N_2 обрабатывали ДИПЭА (11 мкл, 0,068 ммоль, 2,0 экв.) и перемешивали в течение 2 часов. Смесь очищали препаративной ВЭЖХ (колонок: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в АСН, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения T-Int-14 (22 мг, 39%) в виде твердого вещества бежевого цвета.

ЭИ-МС m/z : 1612 ($M^+ + 1$).

Пример 67: Получение соединений T-Int-15 и T-Int-16



Соединения T-Int-15 и T-Int-16 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 66.

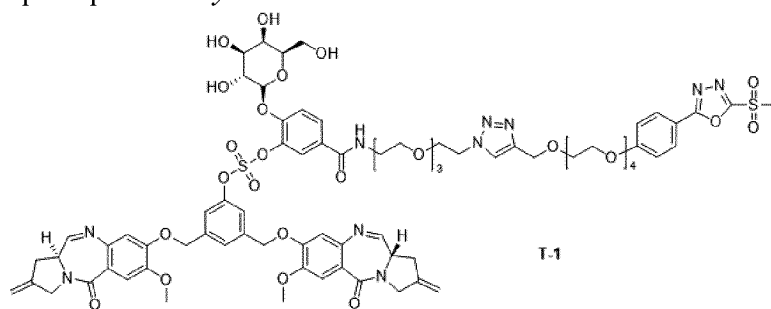
Соединение T-Int-15

Выход 35%, твердое вещество белого цвета; ЭИ-МС m/z : 1763 ($M^+ + 1$), 882 ($M/2^+ + 1$).

Соединение T-Int-16

Выход 11%, твердое вещество белого цвета; ЭИ-МС m/z : 2116 ($M^+ + 1$), 1058 ($M/2^+ + 1$).

Пример 68: Получение соединения T-1

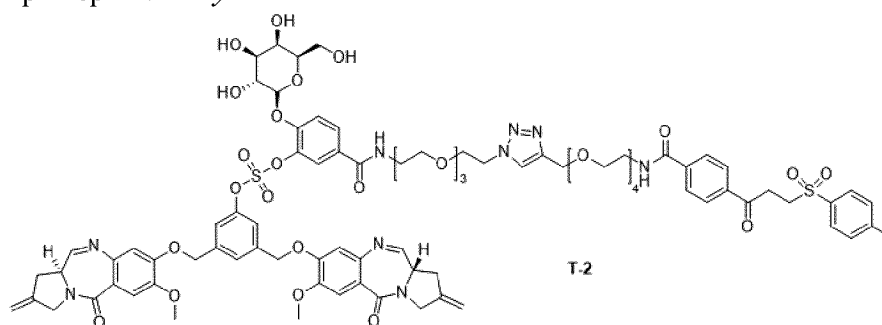


ДМСО (8643 мкл) добавляли при комнатной температуре в атмосфере азота, а соединение T-Int-1 (15 мг, 0,012 ммоль) растворяли в ДМСО (1237 мкл) и добавляли к нему. К нему добавляли $(VimC_4A)_3$, приготовленный с концентрацией 10 ммоль, в количестве 4207 мкл. Затем к нему добавляли CuBr, приготовленный с концентрацией 100 ммоль, в количестве 1237 мкл. Затем смесь перемешивали в течение 2 минут. POS-D1 (5,3 мг, 0,012 ммоль) растворяли в ДМСО (1176 мкл) и добавляли к ней с последующим перемешиванием в течение 10 минут. После завершения реакции смешанный раствор

разделяли и очищали препаративной ВЭЖХ (обращенно-фазовая, C18, градиент $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}/0,1\%$ муравьиная кислота) с получением соединения Т-1 (2,5 мг, 12%).

ЭИ-МС m/z : 1668 (M^{+1}).

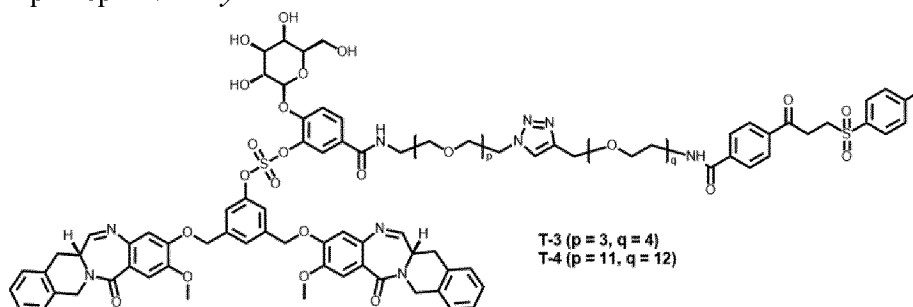
Пример 69: *Получение соединения Т-2*



Соединения Т-Int-1 и MPS-D2 реагировали аналогичным образом со способом получения соединения Т-1 из примера 68, получая при этом соединение Т-2 (выход 7%).

ЭИ-МС m/z : 1759(M^{+1}).

Пример 70: *Получение соединений Т-3 и Т-4*



Соединения Т-3 и Т-4 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 68.

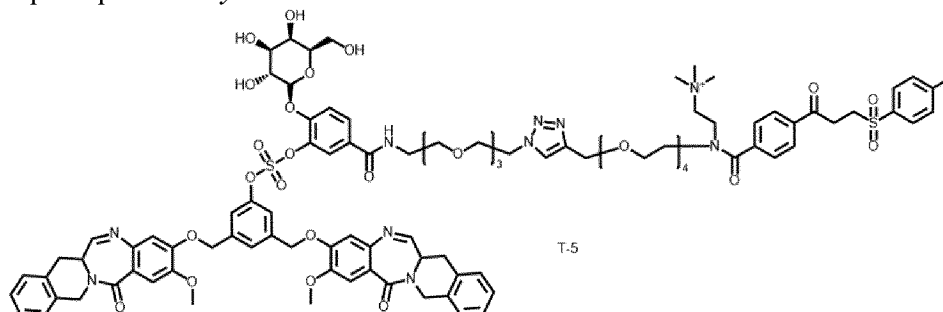
Соединение Т-3

Выход 9,0%; ЭИ-МС m/z : 1860 (M^{+1}).

Соединение Т-4

Выход 26%; ЭИ-МС m/z : 1282 ($\text{M}/2^{+1}$).

Пример 71: *Получение соединения Т-5*

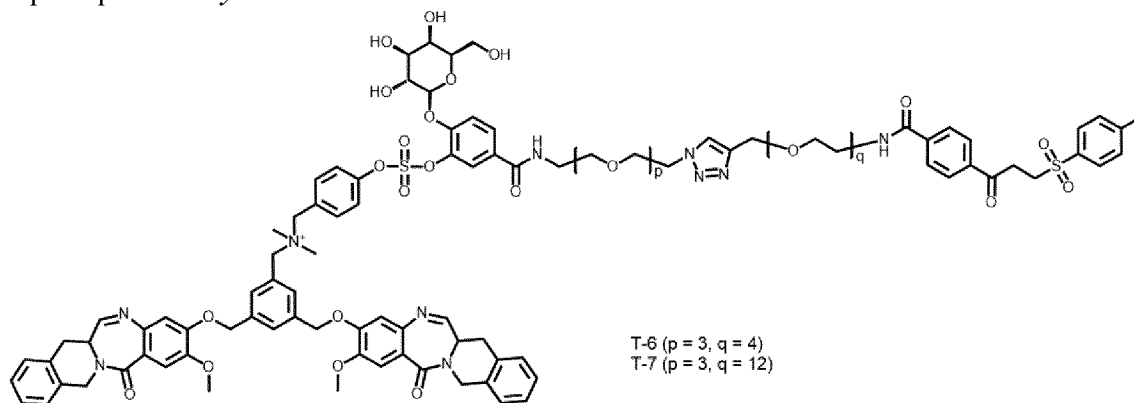


Соединение Т-5 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 68.

Выход 27%

ЭИ-МС m/z : 1945 (M^{+1}).

Пример 72: Получение соединений Т-6 и Т-7



Соединения Т-6 и Т-7 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 68.

Соединение Т-6

Выход 25%

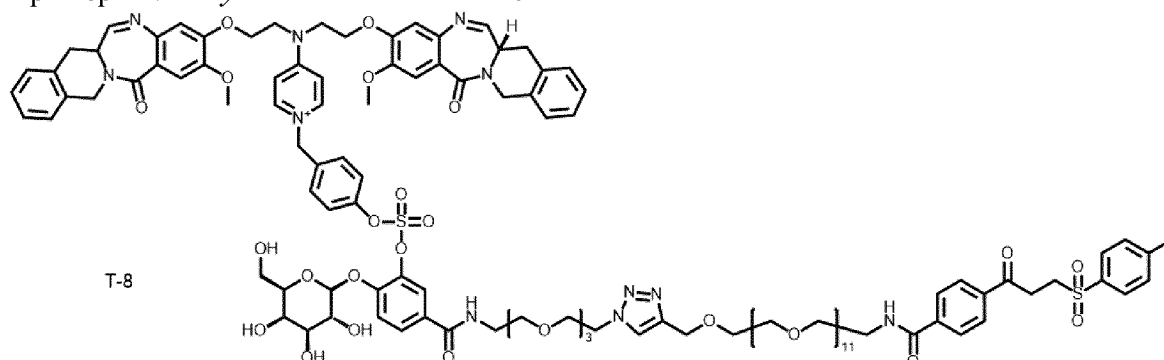
ЭИ-МС m/z: 1004 ($M/2^{+1}$).

Соединение Т-7

Выход 62%

ЭИ-МС m/z : 1180 ($M/2^{+1}$).

Пример 73: Получение соединения Т-8

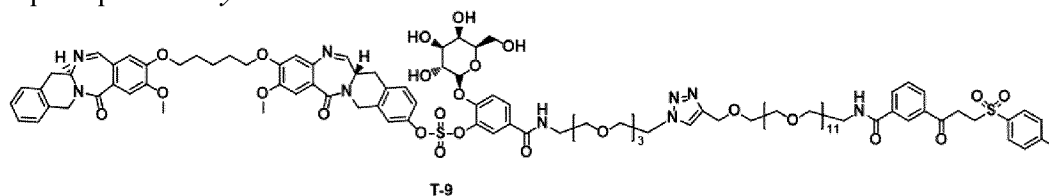


Соединение Т-8 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 68.

Выход 27%

ЭИ-МС m/z : 1174 ($M/2^{+1}$).

Пример 74: Получение соединения T-9

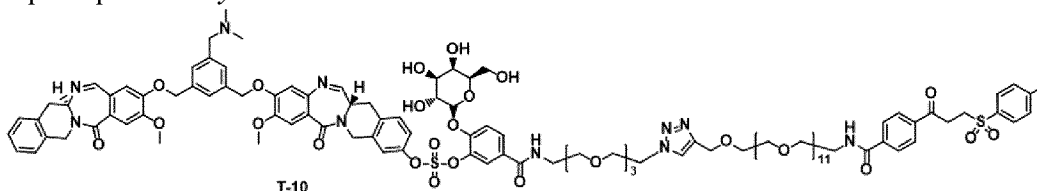


Гомогенный раствор T-Int-6 (2,2 мг, 0,0017 ммоль) и MPS-D4 (3,9 мг, 0,004 ммоль, 2,5 экв.) в ДМСО (2720 мкл) при комнатной температуре в атмосфере N₂ обрабатывали 5 mM (BimC₄A)₃ в ДМСО (1120 мкл, 0,006 ммоль, 3,5 экв.) и перемешивали в течение 10 минут. К реакционной смеси добавляли 10 mM CuBr в ДМСО (160 мкл, 0,017 ммоль, 10 экв.) и перемешивали в течение 15 минут. Реакционную смесь очищали препаративной

ВЭЖХ (колонка: Innoval ODS-2 10 мкм, 100 Å, 21,2×250 мм; скорость потока: 15 мл/мин, буфер А 0,1% муравьиная кислота в воде/буфер В 0,1% муравьиная кислота в АСN, метод градиента, растворитель А: растворитель В 95: 5-5: 95, 1 час, длина волны 214 нм) с получением соединения Т-9 (2,4 мг, 64%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 2178 ($M^+ + 1$), 1089 ($M/2^+ + 1$).

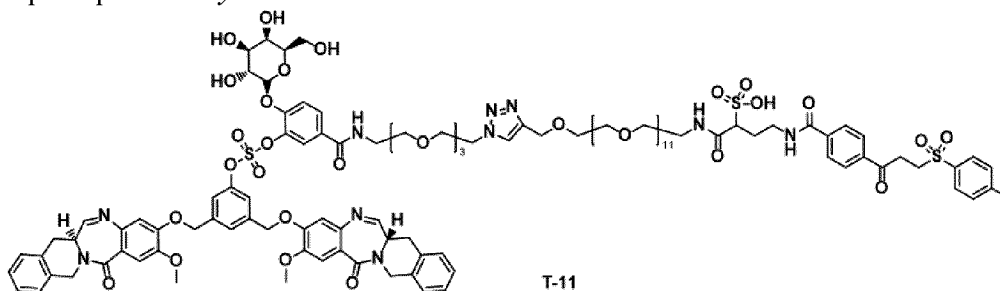
Пример 75: Получение соединения Т-10



Соединение Т-10 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 74 (выход 56%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 2269 ($M^+ + 1$), 1135 ($M/2^+ + 1$).

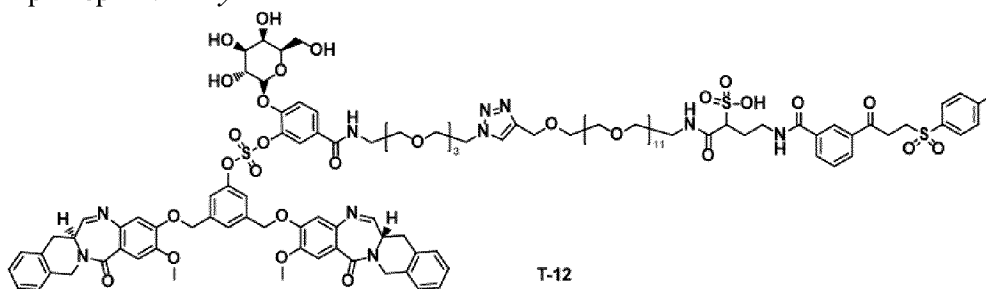
Пример 76: Получение соединения Т-11



Соединение Т-11 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 74 (выход 34%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 2377 ($M^+ + 1$), 1189 ($M/2^+ + 1$).

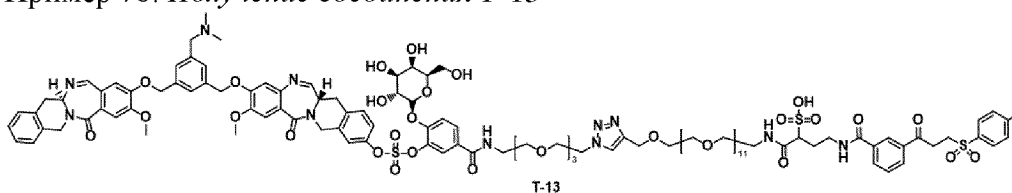
Пример 77: Получение соединения Т-12



Соединение Т-12 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 74 (выход 58%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 2377 ($M^+ + 1$), 1189 ($M/2^+ + 1$).

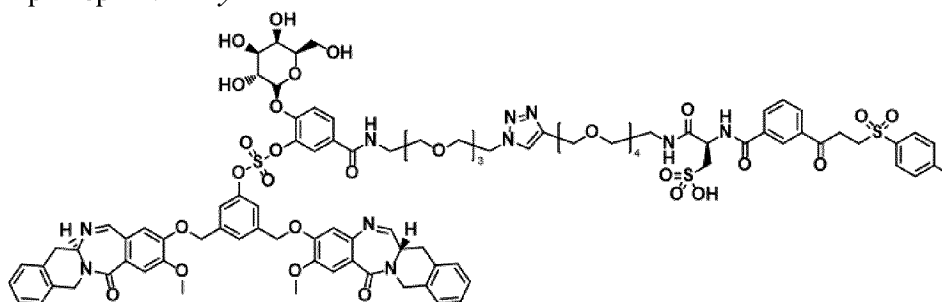
Пример 78: Получение соединения Т-13



Соединение T-13 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 74 (выход 58%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 2434 ($M^+ + 1$), 1217 ($M/2^+ + 1$).

Пример 79: Получение соединения T-14

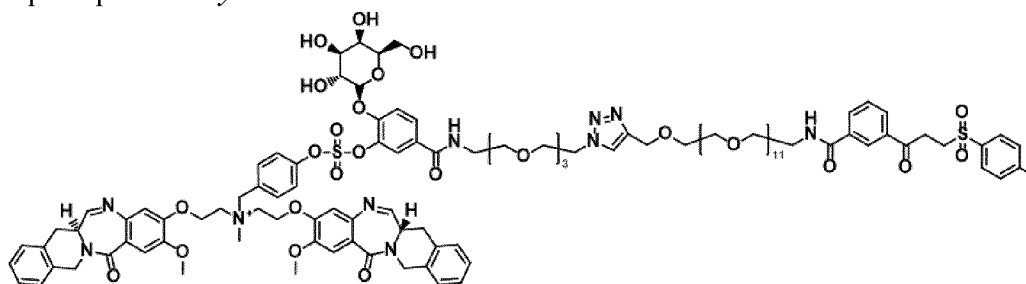


T-14

Соединение T-14 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 74 (выход 72%) в виде твердого вещества белого цвета.

ЭИ-МС m/z : 2011 ($M^+ + 1$), 1006 ($M/2^+ + 1$).

Пример 80: Получение соединения T-15

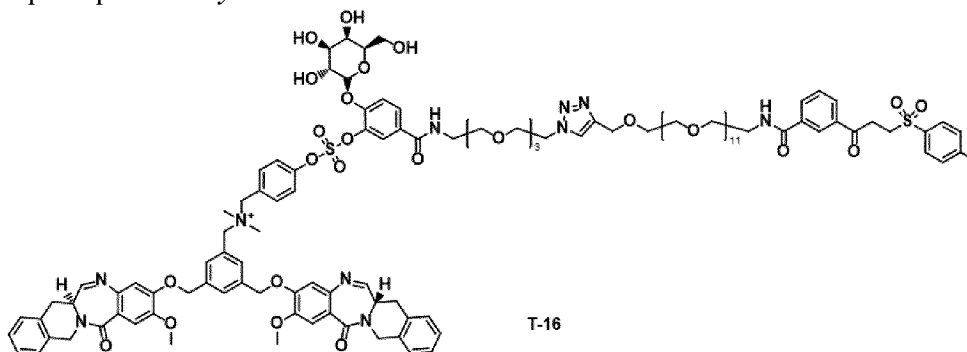


T-15

Соединение T-15 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 74 (выход 48%), в виде твердого вещества бледно-желтого цвета.

ЭИ-МС m/z : 2284 ($M^+ + 1$), 1142 ($M/2^+ + 1$).

Пример 81: Получение соединения T-16



T-16

Соединение T-16 синтезировали аналогичным путем синтеза, как описано в примере 74 (выход 69%), в виде твердого вещества бледно-желтого цвета.

ЭИ-МС m/z : 2360 ($M^+ + 1$), 1180 ($M/2^+ + 1$).

Пример 82: Получение соединения T-17

разведения соединений в ДМСО добавляли в тройные лунки 24-луночных планшетов в концентрации 5 мкл на лунку. В три лунки на каждом отдельном планшете добавляли 5 мкл ДМСО без соединения в качестве контролей. Конечная концентрация ДМСО на лунку составляла 0,5%. Планшеты инкубировали в течение 6 дней при 37°C в увлажненной атмосфере с 5% CO₂ в воздухе. Жизнеспособность клеток определяли с помощью анализа МТТ, а значение IC₅₀ получали с помощью сигмоидальной нелинейной регрессионной кривой зависимости «доза-ответ» (GraphPad Software Inc.). Результаты приведены в таблицах 1А и 1В (ниже).

Таблица 1А. Биологические и фармакокинетические данные in vitro

	NCI-N87 (IC₅₀ пМ)	JIMT-1 (IC₅₀ пМ)	SK-OV3 (IC₅₀, пМ)	MIA-PaCa2 (IC₅₀, пМ)	HCT-116 (IC₅₀, пМ)
D-1	191,1	102	175	105	109
D-2	104,4	34	74	44	36
D-3	32,2 ± 21,3	31,0 ± 15	59,6 ± 18,2	10,6 ± 4,6	13,7 ± 8,6
D-4	3,8 ± 2,4	1,7 ± 0,6			
D-5	0,5 ± 0,2	1,7 ± 0,5	10,9 ± 2,7	1,9 ± 1,6	1,4 ± 0,6
D-6	4 111 ± 1 076	2 982 ± 499			
D-7	0,118 ± 0,009				
D-8	0,062 ± 0,002				
D-9	0,184 ± 0,036				
D-10	0,663 ± 0,116				
D-11	0,173 ± 0,034				
D-12	2028 ± 1225				
D-13	2,028 ± 1,225				
Ref-1	3,5 ± 2,8	5,4 ± 1,6			
MMAF-OMe	182,4	161	244	852	392

Таблица 1В. Биологические и фармакокинетические данные in vitro

	Calu-6 (IC₅₀ пМ)	A-498 (IC₅₀ пМ)	PC-3 (IC₅₀, пМ)	HEK-293E (IC₅₀, пМ)	Улучшение растворимости
D-1	89	414	126	216	+
D-2	29	64	49	79	+
D-3	6,2	139	32,6 ± 10,3	11,4 ± 2,6	+
D-4					+
D-5	1,4	2,9	4,4 ± 2,1	2,2 ± 1,1	+

D-6					++
D-7					
D-8					
D-9					
Ref-1					
MMAF-OMe	162	233	212	970	

Пример 86: *Восстановление/окисление антител для конъюгации*

Моноклональные антитела с модифицированным цистеином восстанавливали с около 20-50-кратным избытком ТСЕР (трис(2-карбоксиэтил)фосфин гидрохлорид или DTT (дитиотреитол) в 4 мМ Трис, pH 7,3, с 1 мМ ЭДТА в течение 1 часа при 37 °С. Восстановленный тиомаб разбавляли и загружали в колонку PD-10 в ФСБ. Колонку элюировали с 10 мМ ФСБ, pH 7,3. Элюированный восстановленный тиомаб повторно восстанавливали окислением воздухом. Значение тиол/антитело проверяли путем определения концентрации восстановленных антител на основании поглощения при 280 нм раствора и концентрации тиола путем реакции с DTNB (Aldrich, № CAS D8130) и определения поглощения при 412 нм.

Пример 87: Получение конъюгата (альбумин и антитело)

Способ конъюгации 1: После реакции восстановления и повторного окисления антитело растворяли в ФСБ. Раствор соединения Т-2 (329,6 мкл, 3,0 ммоль, в виде промежуточного соединения линкер-токсин) в ДМСО обрабатывали восстановленным, повторно окисленным антителом (1650 мкл, 0,083 ммоль) и осторожно перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. К раствору реакционной смеси добавляли гидроксилламин (329,6 мкл, 1500 ммоль) и инкубировали при 37°C в течение 8 часов для блокирования обратимой реакции деконъюгации. Конъюгационную смесь загружали и элюировали через колонку PD-10 для удаления избытка промежуточного соединения лекарственное средство-линкер и других примесей. Смесь концентрировали ультрафильтрацией на центрифуге, а конъюгат очищали на колонке с непористыми частицами для ХГВ (TOSOH #0007656 TSKgel Phenyl-5PW, 21,5 x 150 мм, 13 мкм) и элюировали с помощью линейного градиента от 40 до 100% В со скоростью 0,8 мл/мин (буфер А 1,5 М сульфат аммония в 50 мМ фосфате натрия (pH 7,0); буфер В 20% ацетонитрил в 50 мМ фосфате натрия (pH 7,0)). DAR (соотношение между лекарственным средством и антителом) конъюгированного антитела анализировали с помощью ХГВ, а результаты анализа представлены в таблице 2.

Соединения Т-3, Т-7, Т-8, Т-9, Т-11, Т-12, Т-13, Т-14, Т-15, Т-16 и Т-17, полученные в примерах 70, 72, 73, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 81 и 82, использовались для проведения реакции конъюгации с тиольной группой сконструированного цистеина трастузумаба (или человеческого сывороточного альбумина и т. д.), тем самым получая Т-3-AB, Т-7-AB, Т-8-AB, Т-9-AB, Т-11-AB, Т-12-AB, Т-13-AB, Т-14-AB, Т-15-AB, Т-16-AB

и T-17-AB в качестве конъюгатов с лекарственным препаратом тиомаб (TDC), соответственно, со ссылкой на способы, представленные в документе. [см. Nature Biotechnology, 2008, 26, 925-932, Bioconjugate Chem., 2013, 24, 1256-1263, Bioconjugate Chem., 2016, 27, 1324-1331, Bioconjugate Chem. 2014, 25, 460–469].

Способ конъюгации 2: Соединения MPS-D10, полученное в примере 34, MPS-D9, полученное в примере 27, и mMPS-D6, полученное в примере 32, использовались для проведения 1-^{ой} стадии реакции конъюгации с тиольными группами сконструированного цистеина антитела (напр., трастузумаба).

После процедур восстановления и повторного окисления из примера 84 антитело в ФСБ обрабатывали каждым соединением (6,62 мкл, 3,0 ммоль) в ДМСО. Через 3 часа к конъюгированному раствору добавляли борогидрид натрия (6,62 мкл, 300 ммоль) для блокирования обратимой реакции деконъюгации при КТ в течение 1 часа. Первые конъюгированные антитела очищали с помощью колонки PD-10. Для 2-^{ой} конъюгации T-Int-1 (13,24 мкл, 3,0 ммоль), полученное в примере 56, или T-Int-2 (20,0 мкл, 3,0 ммоль), полученное в примере 57, с функциональной группой, такой как N₃, для стимулирования циклоприсоединения в отсутствие катализатора Cu(I) обрабатывали конъюгированным антителом MPS-D10 (7,4 мкл, 0,117 ммоль) и инкубировали при 37 °С. Через приблизительно 24 часа конъюгаты антитело-лекарственный препарат (T-Int-1-AB и T-Int-2-AB) очищали с помощью колонки PD-10 и концентрировали ультрафильтрацией на центрифуге. В соответствии с тем же протоколом соединение T-int-14, полученное в примере 66, добавляли к MPS-D9 или конъюгированному антителу mMPS-D6 для получения T-Int-14-AB или mT-Int-14-AB. DAR (соотношение между лекарственным средством и антителом) конъюгированных антител анализировали с помощью ХГВ, а результаты анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2. Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC)

ADC	DAR	Способ конъюгации	Линкер-токсин, пример
T-2-AB	1,9	1	T-2, пример 69
T-3-AB	1,37	1	T-3, пример 70
T-7-AB	2,0	1	T-7, пример 72
T-8-AB	1,34	1	T-8, пример 73
T-9-AB	1,16	1	T-9, пример 74
T-11-AB	1,25	1	T-11, пример 76
T-12-AB	0,76	1	T-12, пример 77
T-13-AB	1,01	1	T-13, пример 78
T-14-AB	1,11	1	T-14, пример 79
T-15-AB	1,26	1	T-15, пример 80
T-16-AB	1,02	1	T-16, пример 81
T-17-AB	1,48	1	T-17, пример 82

ADC	DAR	Способ конъюгации	Линкер-токсин, пример
T-Int-1 AB	1,53	2	MPS-D10, пример 34 T-Int-1, пример 56
T-Int-2 AB	1,00	2	MPS-D10, пример 34 T-Int-2, пример 57
T-Int-14 AB	1,37	2	MPS-D9, пример 27 T-Int-14, пример 66
mT-Int-14 AB	1,33	2	mMPS-D6, пример 32 T-Int-14, пример 66

Пример 88: Анализ *in vitro* конъюгатов белок-лекарственный препарат

Раковые клетки NCI-N87, JIMT-2, SK-BR3, SK-OV3 высевали в 96-луночные планшеты с плотностью 2000-8000 клеток на лунку в 100 мкл среды и культивировали в течение 24 часов. Четыре соединения, полученные в примере 46, обрабатывали серийными разведениями 1:4 от 600 нМ до 0,009 нМ, а конъюгат антитело-лекарственный препарат T-DM1 обрабатывали серийными разведениями 1:4 от 200 нМ до 0,003 нМ. Эксперименты проводили аналогично примеру испытания 1 для количественной оценки живых клеток спустя 96 часов, и результаты показаны в таблице 2 ниже. Кроме того, результаты анализа *in vitro* соединений T-2-AB, T-3-AB, T-7-AB T-8-AB, T-9-AB, T-11-AB, T-12-AB, T-13-AB, T-14-AB, T-15-AB, T-16-AB, T-17-AB, T-Int-1-AB, T-Int--2-AB, T-Int-14-AB и mT-Int-1-AB показаны на ФИГ. 10, ФИГ. 11, ФИГ. 12 и в таблице 3.

Таблица 3. Клеточная цитотоксичность конъюгата антитело-лекарственный препарат

ADC	DAR	IC ₅₀ (нМ)			
		NCI-N87	JIMT-1	SK-BR3	SK-OV3
T-2-AB	1,9	0,015	0,075	0,013	0,018
T-3-AB	1,37	0,016	0,096		
T-7-AB	2,0	0,015±0,009	0,056±0,022	0,003	0,050±0,012
T-8-AB	1,34	>50	>50	0,504	3,329
T-9-AB	1,16	0,020	0,228		
T-11-AB	1,25	0,015	0,100		
T-12-AB	0,76	0,042			
T-13-AB	1,01	0,063			
T-14-AB	1,11	0,025			
T-15-AB	1,26	0,322			
T-16-AB	1,02	0,009	0,045		
T-17-AB	1,48	0,063			

ADC	DAR	IC ₅₀ (нМ)			
		NCI-N87	JIMT-1	SK-BR3	SK-OV3
T-Int-1 AB	1,53	0,038			
T-Int-2 AB	1,00	0,020			
T-Int-14 AB	1,37			0,003	
mT-Int-14 AB	1,33			0,003	
T-DM1	3,5	0,234±0,096	3,153±1,762	0,037±0,012	0,109±0,004

(*T-DM1: Номер CAS компании Roche: 1018448-65-1)

Пример 89: Эффективность in vivo

T-2-AB и T-7-AB получали с помощью реакции с загрузкой 15 мг. После очистки с помощью колонки для ХГВ анализ ЖХ/МС подтвердил, что молекулярная масса тиомаба (трастузумаб A121C) составляла 145 324 Да. Анализ ЖХ/МС полученного конъюгата антитело лекарственный препарат T-2-AB показал наличие масс около 148 497 Да. Эти сдвиги массы соответствовали конъюгации двух молекул D-1. А T-7-AB показал наличие масс около 149 671 Да, которые были аналогичными для двух молекул D-4.

Эффективность in vivo конъюгатов антитело-лекарственный препарат по изобретению измеряли с помощью исследований ксенотрансплантата опухоли на мышах. Самцу мыши линии BALB/c nu/nu вводили подкожно в правый бок суспензии 5×10^6 клеток NCI-N87, соответственно, в ФСБ. Мыши были рандомизированы в исследуемые группы, когда опухоли достигли размера приблизительно 95 мм^3 . Конъюгаты T-DM1 (2 мг/кг) и T-2-AB (0,5 мг/кг или 2 мг/кг) вводились в.в. (однократная инъекция в день лечения 0). Все группы лечения состояли из 6-10 животных в группе, а размер опухоли контролировали два раза в неделю путем измерения штангенциркулем. Массу опухоли рассчитывали как объем = (ширина X ширина X длина)/2. Конъюгаты T-2-AB приводили к регрессии опухоли в течение периода наблюдения, то есть 80 дней от начала эксперимента. Контрольный конъюгат T-DM1 был менее активен, чем конъюгаты по изобретению. Эти результаты показаны на Фигуре 13 и Фигуре 14.

T-7-AB образовывался в том же способе, за исключением того, что первоначальный размер опухоли составлял 150 мм^3 . Конъюгаты приводили к регрессии опухоли в течение 120 дней от начала эксперимента. Эти результаты показаны на ФИГ. 15 и ФИГ. 16.

Эти эксперименты in vivo проводились в САСТ (центр разработки противораковых терапевтических средств, Asan Medical Center, кодовый № проекта: HI15C0972).

Включение в описание изобретения сведений путем ссылки

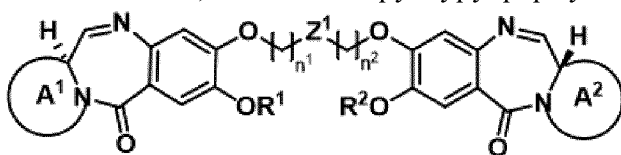
Все публикации, патенты, упомянутые в настоящем документе, включены в настоящий документ посредством ссылки в той же степени, в которой каждая индивидуальная публикация или патент специфично и индивидуально указаны для включения посредством ссылки. В случае конфликта настоящая заявка, включая любые определения в этом документе, будет иметь преимущественную силу.

Эквиваленты

Хотя были обсуждены конкретные варианты осуществления предмета изобретения, приведенное выше описание является иллюстративным, а не ограничивающим. Многие варианты изобретения станут очевидными для специалистов в данной области техники после рассмотрения этого описания и формулы изобретения ниже. Полный объем изобретения должен быть определен посредством ссылки на формулу изобретения вместе с их полным объемом эквивалентов и описания вместе с такими вариантами.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее структуру формулы (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемая соль,

где:

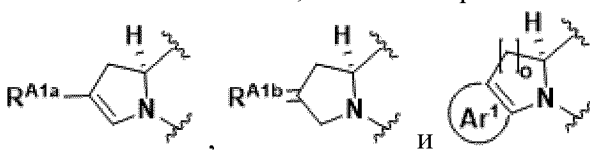
A^1 и A^2 каждый независимо представляют гетероциклическое кольцо, предпочтительно пяти- или шестичленное кольцо, необязательно слитое с или замещенное одним или более арильными или гетероарильными кольцами;

R^1 и R^2 каждый независимо представляют собой алкильную группу, предпочтительно низшую алкильную группу;

Z^1 представляет собой метилен или связывающую группу; и

n^1 и n^2 каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до 5.

2. Соединение по п. 1, где A^1 выбран из:



где:

R^{A1a} представляет собой H, алкил, алкенил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил;

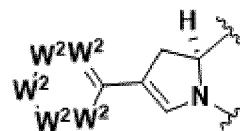
R^{A1b} представляет собой CHR^{A1ba} ;

R^{A1ba} представляет собой H, галоген, алкил, $-CO_2$ -алкил, CHO или CO_2H ;

Ar^1 представляет собой арил или гетероарил, предпочтительно шестичленный арил или гетероарил, необязательно замещенный один или более раз галогеном, гидроксильной группой, циано, нитро, алкилом, галогеналкилом, циклоалкилом, карбоксильной группой, амино, арилом или гетероарилом; и

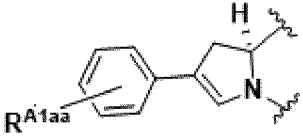
n представляет собой целое число, имеющее значение 1 или 2.

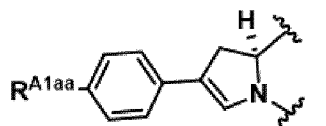
3. Соединение по п. 2, где Ar^1 представляет собой арил или гетероарил, необязательно замещенный одним или более из R^{A1c} , где R^{A1c} представляет собой галоген, OH, CN, NO_2 , алкил, алкокси, CO_2H , CO_2 -алкил или $(CH_2)_pN(R^{A1ca})_2$; каждый R^{A1ca} независимо выбран из H или алкила; а p представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 5.

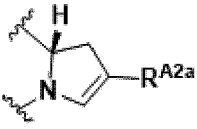


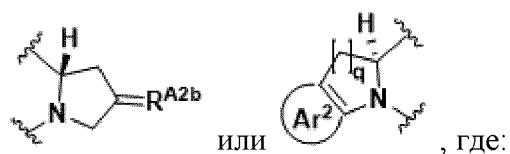
4. Соединение по пп.2 или 3, где A^1 представляет собой

каждый W^2 независимо представляет собой CR^{A1aa} или N; а R^{A1aa} представляет собой H, OH, алкил, алкокси, алкиламино или диалкиламино.

5. Соединение по п. 4, где A^1 представляет собой  или



6. Соединение по любому из пп. 1-5, где A^2 представляет собой ,



R^{A2a} представляет собой H, алкил, алкенил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил;

R^{A2b} представляет собой CHR^{A2ba} ;

R^{A2ba} представляет собой H, галоген, алкил, $-CO_2$ -алкил, CHO или CO_2H ;

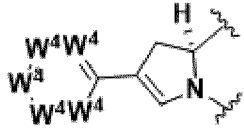
Ar^2 представляет собой арил или гетероарил, предпочтительно шестичленный арил или гетероарил, необязательно замещенный одним или более из R^{A2c} ;

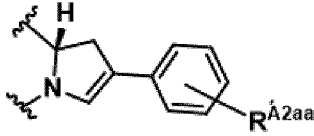
R^{A2c} представляет собой галоген, OH, CN, NO_2 , алкил, алкокси, CO_2H , CO_2 -алкил или $(CH_2)_rN(R^{A2ca})_2$;

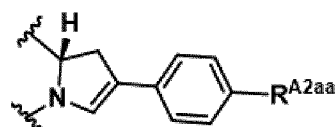
каждый R^{A2ca} независимо выбран из H или алкила;

q представляет собой целое число, имеющее значение 1 или 2; и

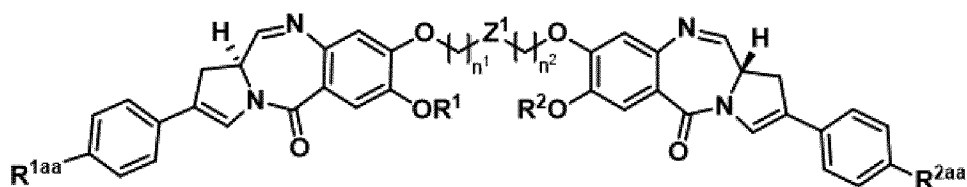
r представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 5.

7. Соединение по любому из пп. 1-5, где A^2 представляет собой , причем каждый W^4 независимо представляет собой CR^{A2aa} или N; а R^{A2aa} представляет собой H, OH, алкил, алкокси, алкиламино или диалкиламино.

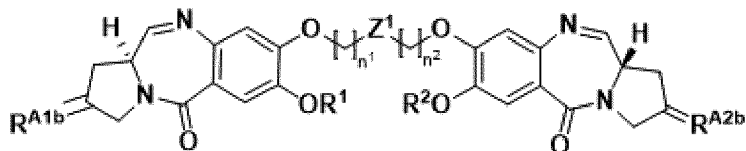
8. Соединение по п. 7, где A^2 представляет собой  или



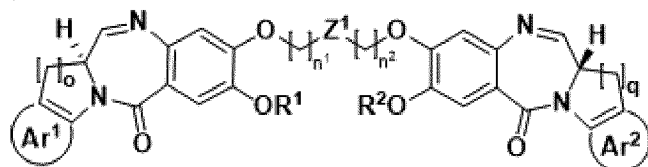
9. Соединение по п. 1, имеющее структуру формулы (Ia), (Ib) или (Ic):



(Ia)



(Ib)



(Ic)

или его фармацевтически приемлемую соль, причем:

R^{A1aa} и R^{A2aa} каждый независимо представляют собой H, OH, алкил, алкокси, алкиламино или диалкиламино;

R^{A1b} представляет собой CHR^{A1ba} ;

R^{A1ba} представляет собой H, галоген, алкил, $-CO_2$ -алкил, CHO или CO_2H ;

R^{A2b} представляет собой CHR^{A2ba} ;

R^{A2ba} представляет собой H, галоген, алкил, $-CO_2$ -алкил, CHO или CO_2H ;

Ar^1 представляет собой арил или гетероарил, предпочтительно шестичленный арил или гетероарил, необязательно замещенный один или более раз галогеном, гидроксильной группой, циано, нитро, алкилом, галогеналкилом, циклоалкилом, карбоксильной группой, амино, арилом или гетероарилем;

R^{A1c} представляет собой галоген, OH, CN, NO_2 , алкил, алкокси, CO_2H , CO_2 -алкил или $(CH_2)_pN(R^{A1ca})_2$;

каждый R^{A1ca} независимо выбран из H или алкила;

Ar^2 представляет собой арил или гетероарил, предпочтительно шестичленный арил или гетероарил, необязательно замещенный один или более раз галогеном, гидроксильной группой, циано, нитро, алкилом, галогеналкилом, циклоалкилом, карбоксильной группой, амино, арилом или гетероарилем;

R^{A2c} представляет собой галоген, OH, CN, NO_2 , алкил, алкокси, CO_2H , CO_2 -алкил или $(CH_2)_rN(R^{A2ca})_2$;

каждый R^{A2ca} независимо выбран из H или алкила;

о и q представляют собой целые числа, каждый независимо имеющие значение 1 или 2.

10. Соединение по п. 9, где Ar^1 представляет собой арил или гетероарил, необязательно замещенный одним или более из R^{A1c} , где R^{A1c} представляет собой галоген,

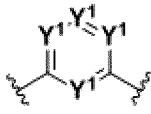
ОН, CN, NO₂, алкил, алкокси, CO₂H, CO₂-алкил или (CH₂)_pN(R^{A1ca})₂; каждый R^{A1ca} независимо выбран из Н или алкила; а р представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 5.

11. Соединение по пп. 9 или 10, где Ar² представляет собой арил или гетероарил, необязательно замещенный одним или более из R^{A1c}, где R^{A2c} представляет собой галоген, ОН, CN, NO₂, алкил, алкокси, CO₂H, CO₂-алкил или (CH₂)_rN(R^{A2ca})₂; каждый R^{A2ca} независимо выбран из Н или алкила; а r представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 5.

12. Соединение по любому из пп. 1-11, где R¹ и R² являются одинаковыми.

13. Соединение по п. 12, где R¹ и R² представляют собой метил.

14. Соединение по любому из пп. 1-13, где Z¹ представляет собой метилен.

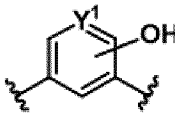
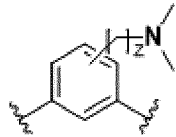
15. Соединение по любому из пп. 1-13, где Z¹ представляет собой , где:

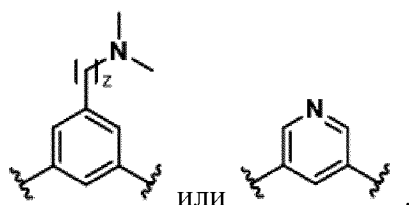
Y¹ представляет собой CR^{Y1} или N при условии, что только один Y¹ представляет собой N;

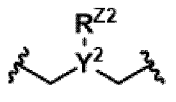
R^{Y1} представляет собой H, гидроксил, amino, амидо или (CH₂)_y(R^{Y1a});

R^{Y1a} представляет собой amino (*например*, вторичный или третичный amino), арил (*например*, фенил) или гетероарил; и

y представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10.

16. Соединение по п. 15, где Z¹ представляет собой , ,



17. Соединение по любому из пп. 1-13, где Z¹ представляет собой , где:

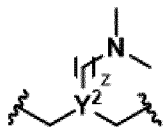
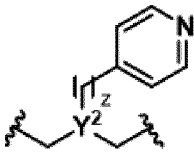
Y² представляет собой CR^{Y2} или N;

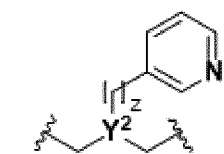
R^{Y2} представляет собой H или алкил, предпочтительно низший алкил;

R^{Z2} представляет собой (CH₂)_zR^{Z2a};

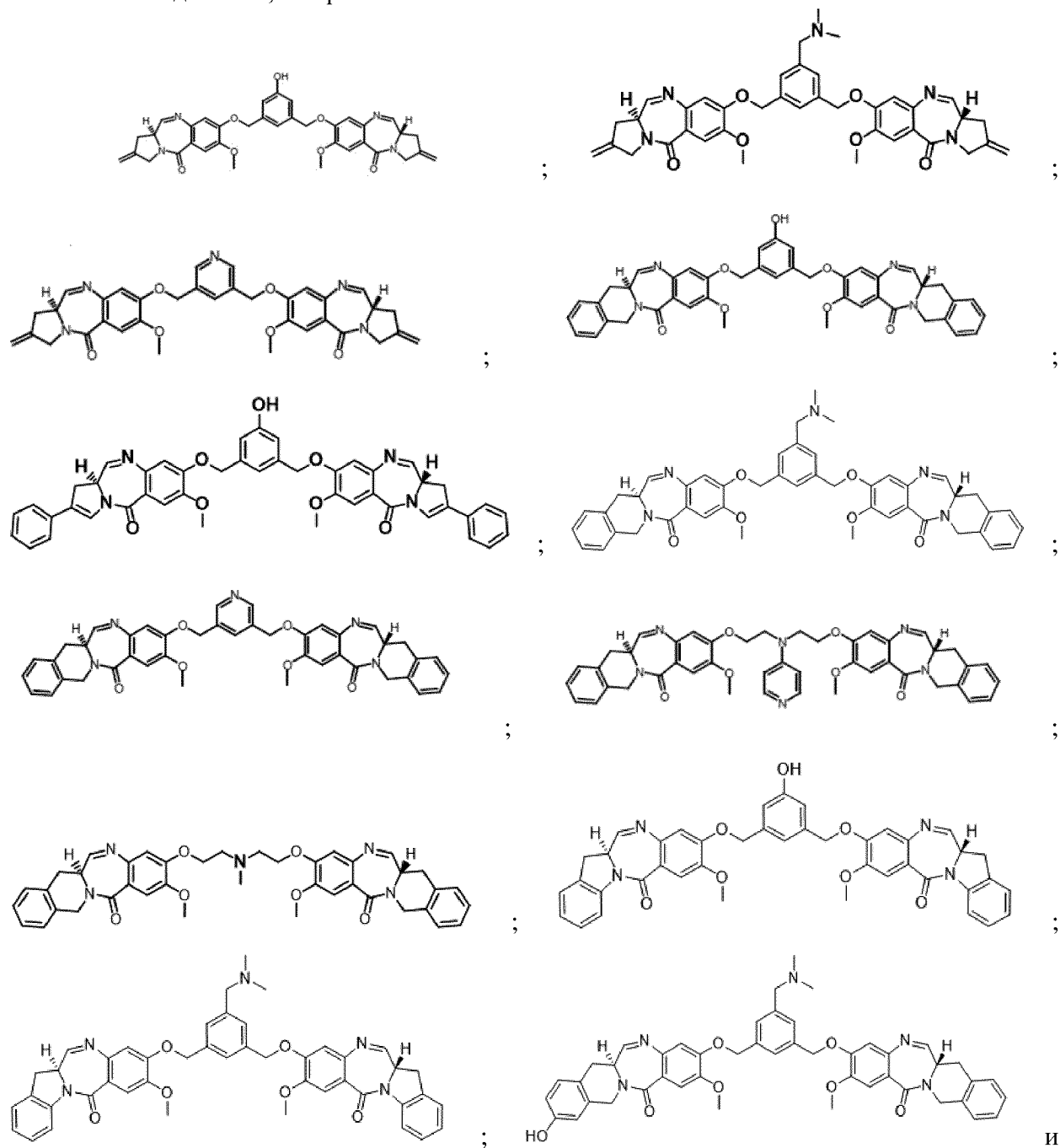
R^{Z2a} представляет собой amino (предпочтительно третичный amino), арил (*например*, фенил) или гетероарил; и

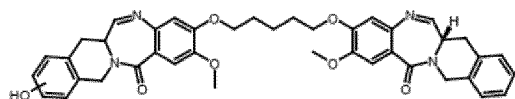
z представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10.

18. Соединение по п. 17, где Z^1 представляет собой  или 



19. Соединение, выбранное из:





или их фармацевтически приемлемой соли.

20. Конъюгат, содержащий соединение по любому из пп. 1-19, расщепляемый линкер и нацеливающий агент, причем расщепляемый линкер связывает с возможностью расщепления соединение с нацеливающим агентом.

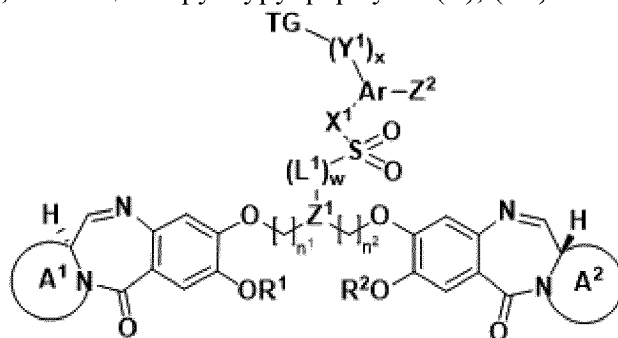
21. Конъюгат по п. 20, где нацеливающий агент представляет собой агент, связывающийся с клеткой.

22. Конъюгат по пп. 20 или 21, где линкер содержит функциональную группу, которая способна подвергаться химической реакции (*например*, физико-химической реакции и/или биологической реакции) для высвобождения нуклеофильного гетероатома; и функциональную группу SO_2 , расположенную проксимально относительно нуклеофильного гетероатома.

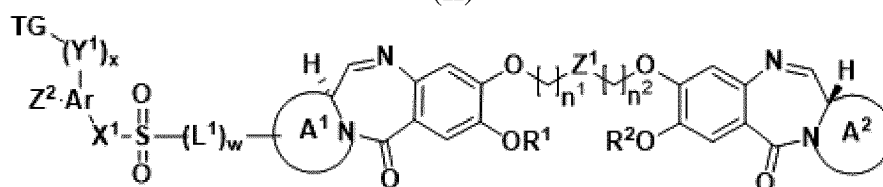
23. Конъюгат по п. 22, где функциональная группа SO_2 способна вступать в реакцию с нуклеофильным гетероатомом в ходе реакции внутримолекулярной циклизации с высвобождением активного агента.

24. Конъюгат по любому из пп. 20-23, дополнительно содержащий нацеливающий фрагмент (*например*, олигопептид, полипептид, антитело и т. д.), обладающий специфичностью связывания для желаемого рецептора-мишени или другой молекулы, ассоциированной с клеткой-мишенью.

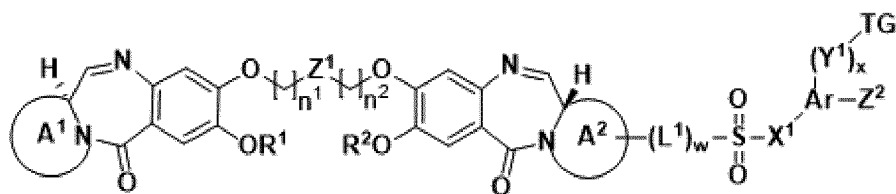
25. Соединение, имеющее структуру формулы (II), (IIa) или (IIb)



(II)



(IIa)



(IIb)

или его фармацевтически приемлемая соль,

где:

A^1 и A^2 каждый независимо представляют гетероциклическое кольцо, предпочтительно пяти- или шестичленное кольцо, необязательно слитое с или замещенное арильным или гетероарильным кольцом;

R^1 и R^2 каждый независимо представляют собой алкильную группу;

Z^1 представляет собой связывающую группу; и

n^1 и n^2 каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до 5.

Z^2 отсутствует или представляет собой связывающую группу;

L^1 представляет собой связывающую группу, присоединенную к SO_2 посредством гетероатома, выбранного из O, S и N, предпочтительно O или N, и выбранного таким образом, что расщепление связи между L^1 и SO_2 способствует расщеплению связи между L^1 и Z^1 для высвобождения активного агента;

X^1 представляет собой $-O-$, $-CR^b_2-$ или $-NR^a-$, предпочтительно $-O-$;

Ag представляет собой кольцо, например, такое как арил, гетероарил, циклоалкил или гетероциклоалкил, предпочтительно арил или гетероарил;

Y^1 представляет собой $-(CR^b_2)_yN(R^a)-$, $-(CR^b_2)_yO-$ или $-(CR^b_2)_yS-$, расположенный таким образом, что атом N, O или S присоединен к TG, если y равен 1; где X^1 и Y^1 расположены на смежных атомах с Ag;

TG представляет собой триггерную группу, которая при активации генерирует атом N, O или S, способный вступать в реакцию с SO_2 для смещения Z и образования 5-6-членного кольца, включая $X-SO_2$ и промежуточные атомы Ag;

w и x каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение 0 или 1;

каждый R^a представляет собой водород или низший алкил;

каждый R^b независимо представляет собой водород или низший алкил; или

два R^b вместе с атомом углевода, к которому они присоединены, образуют 3-5-членное кольцо, предпочтительно 3-4-членное кольцо; и

y представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10.

26. Соединение по п. 25, где X^1 представляет собой $-O-$.

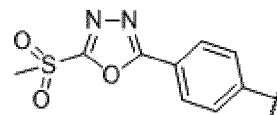
27. Соединение по пп. 25 или 26, где Ag представляет собой арил.

28. Соединение по п. 27, где Ag представляет собой фенил или нафтил.

29. Соединение по любому из пп. 25-28, где Z^2 представляет собой связывающую группу, содержащую одну или более групп, выбранных из изоцианида, изотиоцианида, 2-

пиридилдисульфида, галогенацетамида ($-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{-галогена}$), малеимида, диена,

алкена, галогенида, тозилата (TsO^-), альдегида, сульфоната (R-SO_3^-),



, , фосфоновой кислоты ($-\text{P}(\text{=O})(\text{OH})_2$), кетона, $\text{C}_8\text{-C}_{10}$ циклоалкинила, $-\text{OH}$, $-\text{NHOH}$, $-\text{NHNH}_2$, $-\text{SH}$, карбоновой кислоты ($-\text{COOH}$), ацетилен ($-\text{C}\equiv\text{CH}$), азид ($-\text{N}_3$), амино ($-\text{NH}_2$), сульфоновой кислоты ($-\text{SO}_3\text{H}$), производного алкинона ($-\text{C}(\text{O})\text{C}\equiv\text{C-R}^a$) и дигидрофосфата ($-\text{OP}(\text{=O})(\text{OH})_2$).

30. Соединение по любому из пп. 25-28, где x равно 0.

31. Соединение по п. 30, где ТГ представляет собой $-\text{NO}_2$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_r\text{C}(\text{O})\text{R}^1$, -

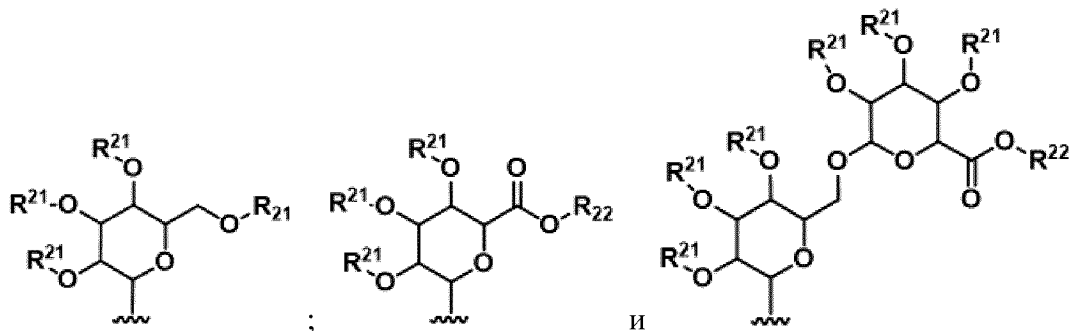
NHNH_2 , $-\text{BR}^2\text{R}^3$ или , где:

R^1 представляет собой $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил;

R^2 и R^3 каждый независимо представляют собой водород, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси или гидроксиль;

R^4 , R^5 , R^6 и R^7 каждый независимо представляют собой водород или $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил; и r представляет собой целое число, имеющее значение 1, 2, 3, 4 или 5;

32. Соединение по любому из пп. 25-28, где ТГ выбрана из:



где:

каждый R^{21} независимо представляет собой водород или ацетил; и

R^{22} представляет собой водород или низший алкил.

33. Соединение по любому из пп. 25-32, где ТГ выбрана из $-\text{NO}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{-(CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{-}$ алкила и нитробензила.

34. Конъюгат, имеющий структуру формулы (III):

$(\text{D-L})_{\text{dl}}\text{-LG-(CB)}_{\text{cb}}$

(III)

или его фармацевтически приемлемая соль,

где:

LG представляет собой связывающую группу;

CB представляет собой агент, связывающийся с клеткой;

cb и dl каждый независимо представляют собой целые числа, имеющие значение от 1 до около 20, предпочтительно от 1 до около 10; и

каждый D-L независимо представляет собой группу, имеющую структуру соединения по любому из пп. 1-16 и 22-30.

35. Конъюгат по п. 34, где LG представляет собой линейный или разветвленный, насыщенный или ненасыщенный C₁₀-C₁₀₀-алкиленовый фрагмент, содержащий по меньшей мере два из следующих элементов:

(i) по меньшей мере один гетероатом, выбранный из -NH-, -C(=O)-, -O-, -S- и -P-;

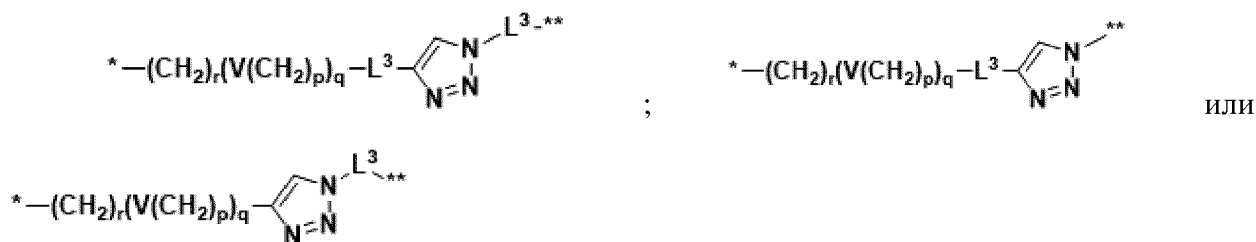
(ii) по меньшей мере один гетероарил;

(iii) по меньшей мере один аминокислотный фрагмент, сахарную связь, пептидную связь или амидную связь; и

(iv) один или более заместителей, выбранных из группы, состоящей из C₁-C₂₀ алкила, C₆-C₂₀арила, C₁-C₈ алкила, -(CH₂)_sCOOH и (CH₂)_pNH₂, s представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до 10, а p представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10.

36. Конъюгат по п. 34, где LG представляет собой функциональную группу, которая может быть получена в результате химической клик-реакции, например, триазол.

37. Конъюгат по п. 34 или 36, где LG представляет собой:



где:

* представляет точку присоединения к (D-L)_{dl};

** представляет точку присоединения к CB;

каждый V независимо представляет собой одинарную связь, -O-, -S-, -NR²¹-, -C(O)NR²²-, -NR²³C(O)-, -NR²⁴SO₂- или -SO₂NR²⁵-;

R²¹, R²², R²³, R²⁴ и R²⁵ каждый независимо представляют собой водород, (C₁-C₆)алкил, (C₁-C₆)алкил(C₆-C₂₀)арил или (C₁-C₆)алкил(C₃-C₂₀)гетероарил;

r представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10;

p представляет собой целое число, имеющее значение от 0 до около 10;

q представляет собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10; и

L³ представляет собой одинарную связь.

38. Конъюгат по пп. 34 или 36, где LG содержит группы (CH₂)_b, L^c, (P¹)_a, W^{a1}, W^{a2}, W^{a3}, Y³ и Y⁴, связанные друг с другом ковалентными связями в линейной цепи, где:

каждый из W^{a1}, W^{a2} и W^{a3} независимо представляет собой -NH-, -C(O)- или -CH₂-;

W^{b1} представляет собой амидную связь или триазилилен;

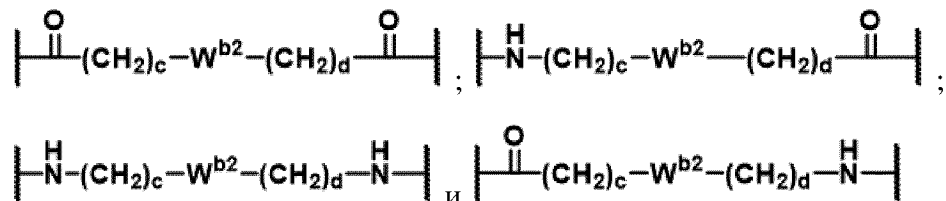
P^1 представляет собой амидную связь, аминокислотный остаток или пептид;

L^c представляет собой алкилен;

Y^1 представляет собой $-(CH_2)_q-(CH_2CH_2X^4)_o-$ или $-(CH_2)_q-(X^4CH_2CH_2X^3)_o-$;

X^4 представляет собой $-O-$, $-S-$, $-NH-$ или $-CH_2-$;

Y^2 представляет собой одинарную связь или группу, выбранную из:



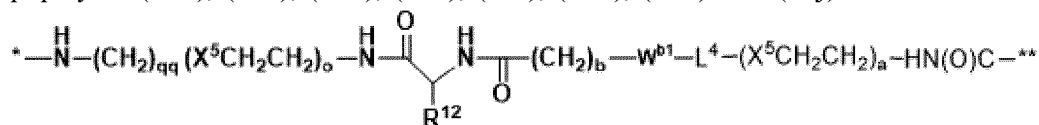
W^{b2} представляет собой амидную связь или триазилилен;

a равно от 0 до 10;

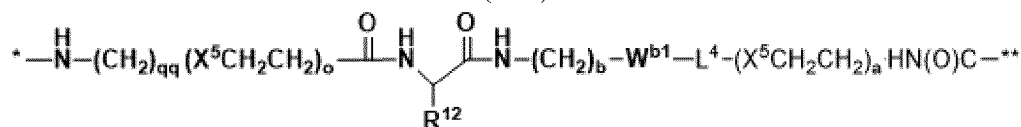
b , c и d каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10; и

o и q каждый независимо представляют собой целое число, имеющее значение от 1 до около 10.

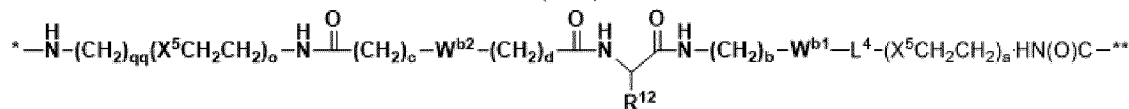
39. Конъюгат по любому из пп. 34-38, где LG представляет собой связывающую группу формулы (IIIb), (IIIc), (IIId), (IIIe), (IIIf), (IIIh), (IIIi) или (IIIj):



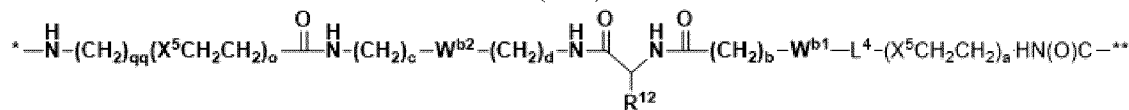
(IIIb)



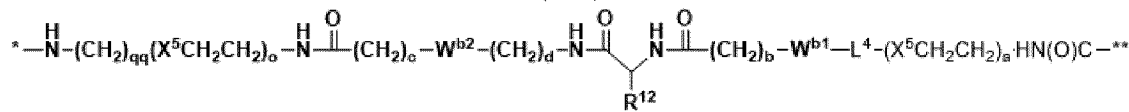
(IIIc)



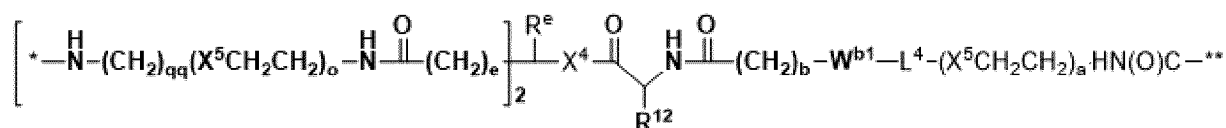
(IIId)



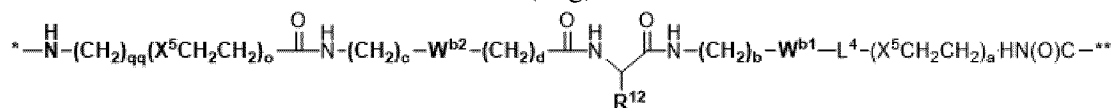
(IIIe)



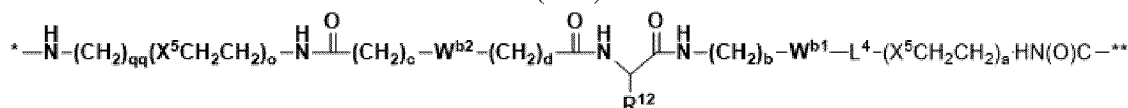
(IIIf)



(IIIg)



(IIIh)



(IIIj)

где:

 R^e представляет собой алкил; X^5 представляет собой -O-, -S-, -NH- или -CH₂-;каждый из W^{b1} и W^{b2} независимо представляет собой -C(O)NH-, -NHC(O)-,

R^{12} представляет собой водород, алкил, боковую цепь аминокислоты, -
(CH₂)_sC(O)R¹³ или -(CH₂)_pNR¹⁴R¹⁵;

 R^{13} представляет собой OH или -NH(CH₂)_s-(X⁴CH₂CH₂)_s-Z''-(CB)_m;

каждый из R^{14} и R^{15} независимо представляет собой водород или -
C(O)(CH₂)_s-(X'''CH₂CH₂)_s-Z'''-(CB)_m;

каждый из s и s''' независимо представляет собой целое число, имеющее значение
от 0 до около 10;

m представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1;

 X^4 и X^5 каждый независимо представляют собой -O-, -S-, -NH- или -CH₂-; и

каждый из b, c, d, e, g, h, o и q независимо представляет собой целое число,
имеющее значение от 1 до около 10.

40. Конъюгат по любому из пп. 34-39, где агент, связывающийся с клеткой, связывается с клеткой-мишенью, выбранной из опухолевых клеток, инфицированных вирусом клеток, клеток микроорганизмов, активированных клеток, миелоидных клеток, активированных Т-клеток, В-клеток или меланоцитов; клеток, экспрессирующих антигены CD4, CD6, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD37, CD38, CD40, CD44, CD56, EpCam, CanAg, CALLA или Her-2; антигенов Her-3 или клеток, экспрессирующих рецептор инсулинового фактора роста, рецептор эпидермального фактора роста и рецептор фолата.

41. Конъюгат по п. 40, отличающийся тем, что опухолевые клетки выбраны из клеток рака молочной железы, клеток рака предстательной железы, клеток рака яичников, клеток колоректального рака, клеток рака желудка, клеток плоскоклеточного рака, клеток

мелкоклеточного рака легкого и клеток рака яичек.

42. Конъюгат по п. 40, отличающийся тем, что агент, связывающийся с клеткой, представляет собой антитело, одноцепочечное антитело, фрагмент антитела, который специфически связывается с клеткой-мишенью, моноклональное антитело, одноцепочечное моноклональное антитело или фрагмент моноклонального антитела, который специфически связывается с клеткой-мишенью, химерное антитело, фрагмент химерного антитела, который специфически связывается с клеткой-мишенью, доменное антитело, фрагмент доменного антитела, который специфически связывается с клеткой-мишенью, лимфокин, гормон, витамин, фактор роста, колониестимулирующий фактор или молекулу, переносящую питательные вещества.

43. Конъюгат по п. 42, отличающийся тем, что антитело представляет собой антитело с измененной поверхностью, одноцепочечное антитело с измененной поверхностью или фрагмент антитела с измененной поверхностью; моноклональное антитело, одноцепочечное моноклональное антитело или фрагмент моноклонального антитела; фрагмент химерного антитела, доменное антитело или фрагмент доменного антитела; гуманизированное антитело, гуманизированное одноцепочечное антитело или фрагмент гуманизированного антитела.

44. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-19 и 25-33 или его фармацевтически приемлемую соль, или конъюгат по любому из пп. 20-24 или 34-43 и фармацевтически приемлемый носитель.

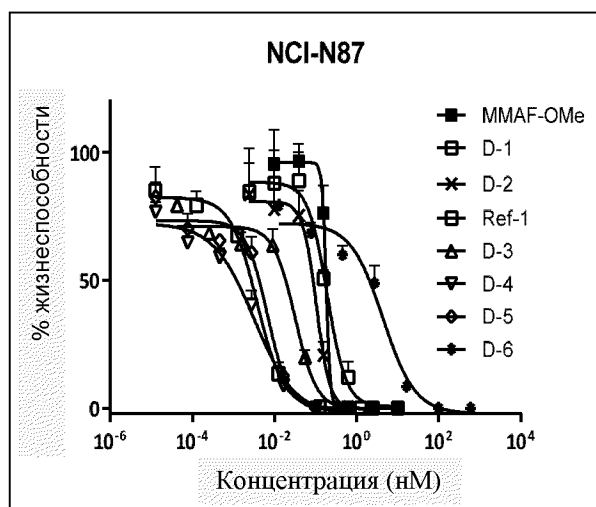
45. Фармацевтическая композиция по п. 44, дополнительно содержащая второе соединение, которое представляет собой химиотерапевтический агент.

46. Способ лечения рака у млекопитающего, включающий в себя введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-19 или 25-33, или его фармацевтически приемлемой соли, или конъюгата по любому из пп. 20-24 или 34-43.

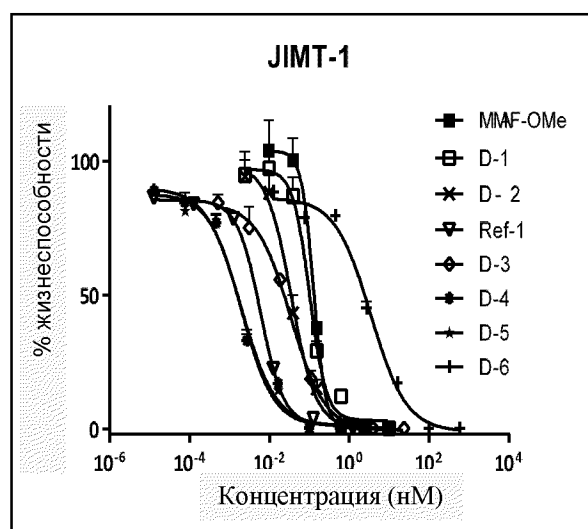
47. Способ по п. 46, дополнительно включающий в себя введение указанному млекопитающему второго соединения, которое представляет собой химиотерапевтический агент.

48. Способ по п. 47, отличающийся тем, что указанный химиотерапевтический агент вводят указанному млекопитающему последовательно.

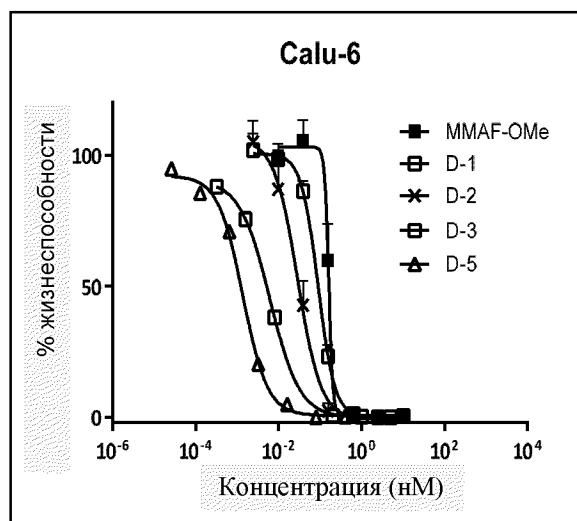
По доверенности



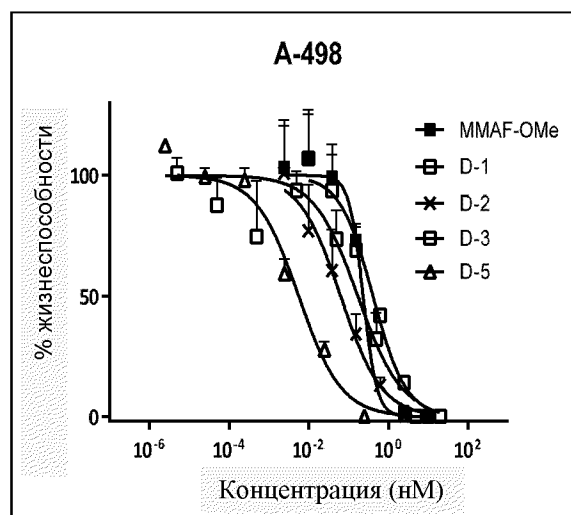
ФИГ. 1



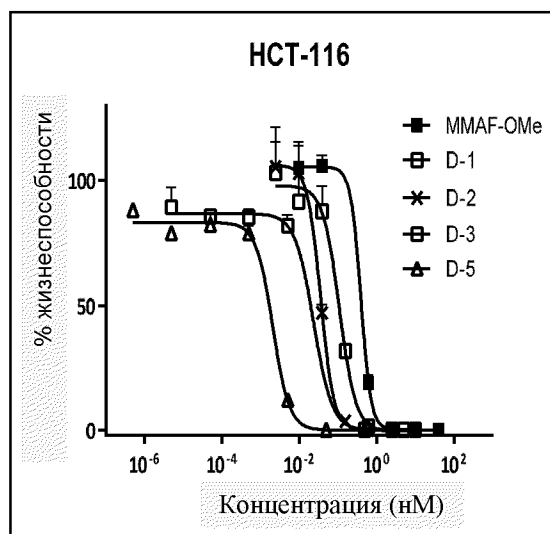
ФИГ. 2



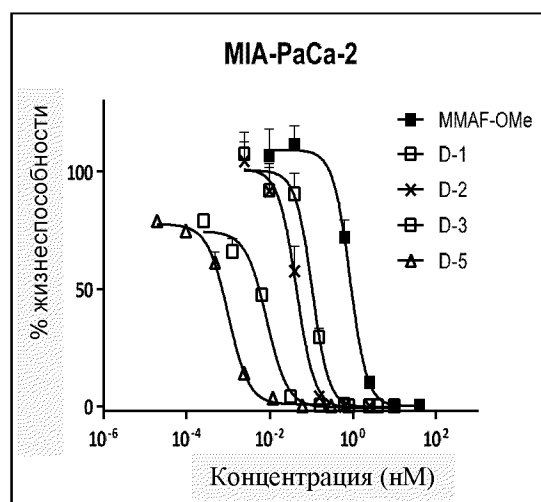
ФИГ. 3



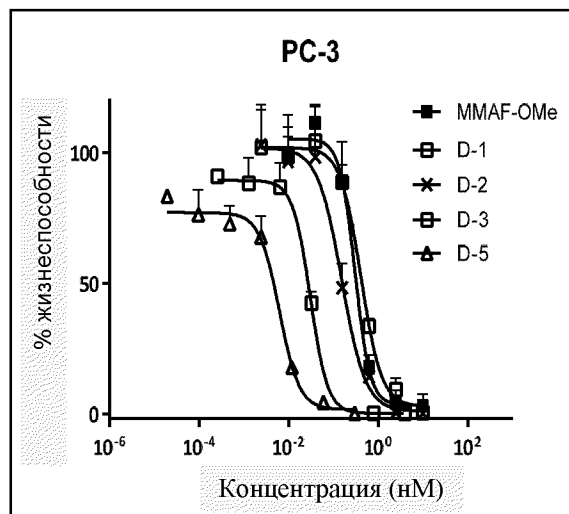
ФИГ. 4



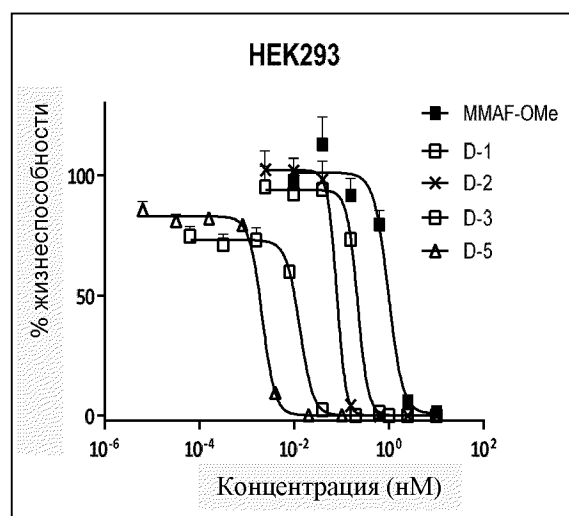
ФИГ. 5



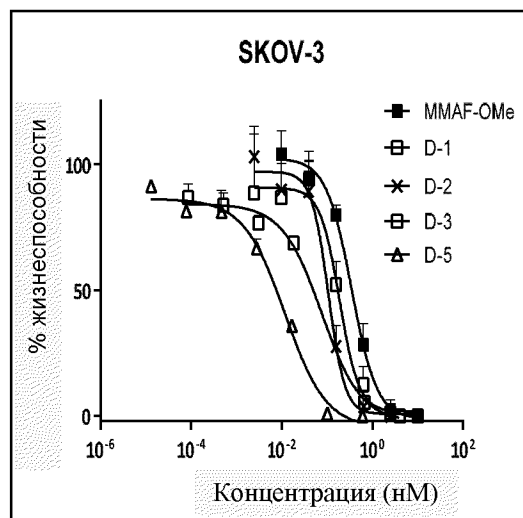
ФИГ. 6



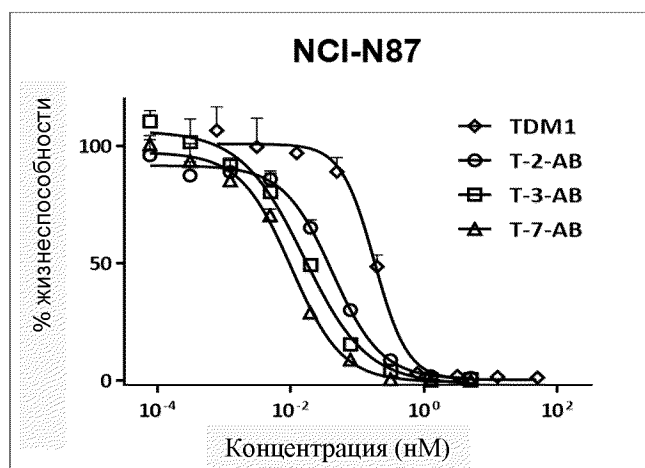
ФИГ. 7



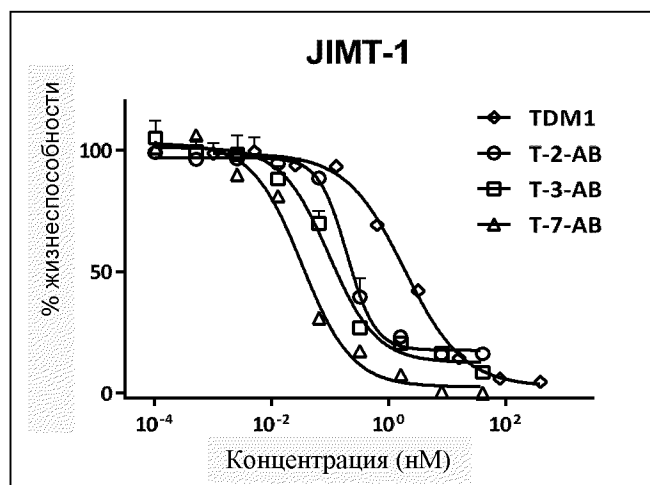
ФИГ. 8



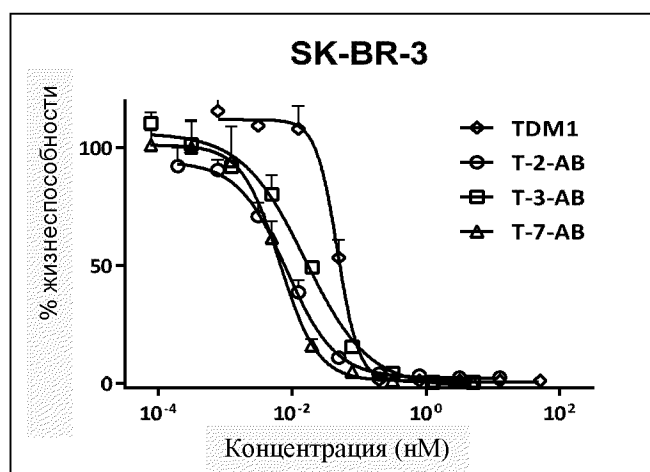
ФИГ. 9



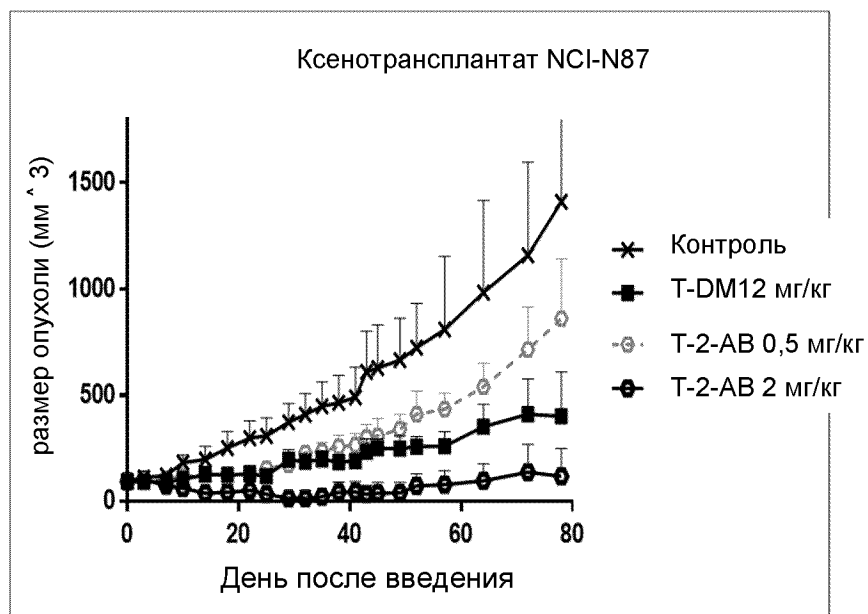
ФИГ. 10



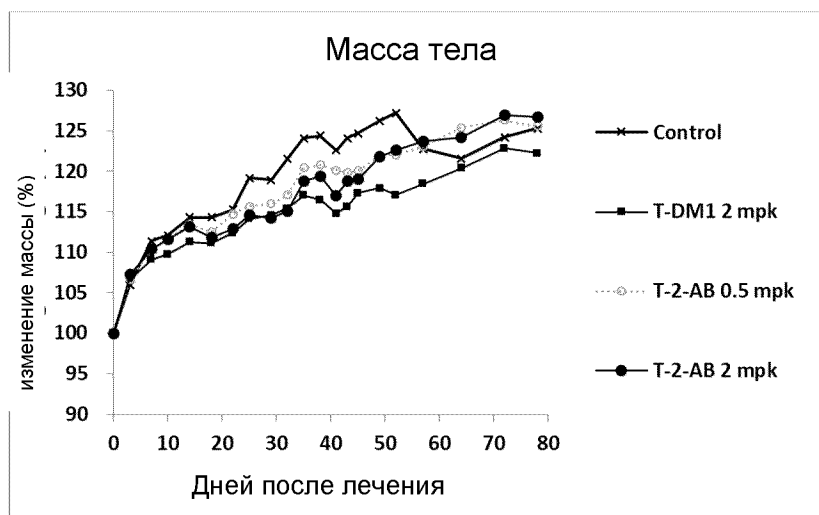
ФИГ. 11



ФИГ. 12



ФИГ. 13



ФИГ. 14